

ANA CRISTINA MAZUQUELI

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS
FORMULAÇÕES CONTENDO 2MG DE ACETATO
DE CIPROTERONA E 0,035MG DE ETINILESTRADIOL EM
VOLUNTÁRIAS SADIAS ATRAVÉS DE CROMATOGRÁFIA
LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

CAMPINAS

Unicamp

2008

ANA CRISTINA MAZUQUELI

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS
FORMULAÇÕES CONTENDO 2MG DE ACETATO
DE CIPROTERONA E 0,035MG DE ETINILESTRADIOL EM
VOLUNTÁRIAS SADIAS ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA
LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

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

Unicamp

2008

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

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

M458e Mazuqueli, Ana Cristina
Estudo de bioequivalência entre duas formulações contendo 2mg de acetate de ciproterona e 0,035 mg etinilestradiol em voluntárias sadias através de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas / Ana Cristina Mazuqueli. Campinas, SP : [s.n.], 2008.

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

1. Acetato de Ciproterona. 2. Etinil Estradiol. 3.
Bioequivalência. 4. Farmacocinética. 5. Espectrometria de Massa.
I. Moreno, Ronilson Agnaldo. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Bioequivalence study of two formulations with 2mg of Cyproterone Acetate and 0,35 mg Ethynilestradiol in healthy volunteers by High-performance Liquid coupled to mass spectrometry

Keywords: • Cyproterone Acetate
• Ethynil Estradiol
• Bioequivalence
• Pharmacokinetics
• Mass Spectrometry

Titulação: Mestre em Farmacologia

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
Prof. Dr. Darcio Gomes Pereira
Profa. Dra. Nelci Penalti Höehr

Data da defesa: 29 - 07 - 2008



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

A handwritten signature in black ink, appearing to read "R. Agnaldo", is written over a horizontal line.

Membros:

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

A handwritten signature in black ink, appearing to read "R. Agnaldo", is written over a horizontal line.

Prof. Dr. Dárcio Gomes Pereira

A handwritten signature in black ink, appearing to read "D. Gomes", is written over a horizontal line.

Profa. Dra. Nelci Fenalti Höehr

A handwritten signature in black ink, appearing to read "N. Höehr", is written over a horizontal line.

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

Data: 29/07/2008

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pela inspiração, a minha família, que esteve sempre presente em todos os momentos de sua realização. A todos os meus amigos, que direta ou indiretamente me apoiaram nesta caminhada e especialmente a meu esposo pelo apoio e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu orientador, Dr. Ronilson Agnaldo Moreno, pelo crédito, oportunidade e orientação. Deixo aqui minha imensa gratidão, respeito e extrema admiração por sua indiscutível competência.

Agradeço a todos os funcionários da Synchronphar que foram prestativos, principalmente aos amigos Sandro e Eduardo.

A minha prima Josimara, amiga e estaticista, por compartilhar em alguns momentos de discussões referentes à etapa estatística, que muito contribuíram para meu crescimento nesta área.

Ao amigo Wanderlei da Farmacologia, pela paciência e dedicação, pois em todos os momentos que necessitei sempre esteve presente e pronto para ajudar.

Ao meu esposo, pela minha ausência, neste período. A ele dedico mais esta etapa de realização profissional, com doce gosto de vitória. Vitória esta que será dividida com toda minha família, pois cada qual cedeu um pouco, perdeu um pouco, mas, em troca dessas concessões e perdas, ganharam a minha gratidão, o meu respeito e o maior sentimento de todos “o meu mais puro amor”, que já lhes pertencia, mas agora ele vem recheado de reconhecimento, gratidão e com senso de união familiar.

Agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, participaram deste estudo de bioequivalência.

Por agora, só posso lhes dizer o quanto vocês foram preciosos neste processo, meu muito obrigado, e a minha eterna gratidão.

*“A diferença entre o possível e o impossível
está na vontade humana.”*

Louis Pasteur

	PÁG.
RESUMO	<i>xliii</i>
ABSTRACT	<i>xlvi</i>
1- INTRODUÇÃO	51
2- OBJETIVOS	55
2.1- Objetivo geral	57
2.2- Objetivos específicos	57
3- REVISÃO DE LITERATURA	59
3.1- Considerações gerais sobre os medicamentos genéricos	61
3.2- Definições importantes	62
3.3- Genéricos no mundo	65
3.4- Histórico dos medicamentos no Brasil	65
3.5- Equivalência farmacêutica	68
3.5.1- Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução (Brasil, 2003b).....	68
3.5.2- Critérios para os estudos de equivalência farmacêutica (BRASIL, 2003b).....	70
3.6- Biodisponibilidade relativa: inferência da equivalência terapêutica..	71
3.7- Estudo de bioequivalência	73
3.7.1- Planejamento do estudo de bioequivalência.....	75
3.7.2- Parâmetros farmacocinéticos.....	78

3.7.3- Testes de bioequivalência e sua importância para os genéricos.....	79
3.7.4- Testes de bioequivalência e a garantia da qualidade dos medicamentos genéricos.....	80
3.8- Aspectos regulatórios da Vigilância Sanitária dos medicamentos genéricos no Brasil e seu impacto na saúde pública.....	80
3.9- Métodos analíticos aplicados a testes de bioequivalência.....	83
3.9.1- Extração líquido-líquido.....	84
3.9.2- Extração em fase sólida.....	85
3.9.3- Cromatografia líquida de alta performance (CLAE).....	85
3.9.4- Espectrometria de massa.....	87
3.9.5- Espectrometria massa-massa (MS/MS).....	88
3.10- Contraceptivos orais.....	96
3.10.1- Breve histórico dos contraceptivos orais.....	96
3.10.2- Dados gerais do acetato de ciproterona.....	96
3.10.3- Dados gerais do etinilestradiol.....	98
3.10.4- Associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol.....	100
4- MATERIAIS E MÉTODOS.....	107
4.1- Etapa clínica.....	109
4.1.1- Plano de estudo.....	109
4.1.2- População.....	109
4.1.3- Identificação dos medicamentos.....	110
4.1.4- Posologia.....	110
4.1.5- Local e forma de confinamento dos voluntários.....	110
4.1.6- Seleção e avaliação clínica das voluntárias.....	111

4.1.7- Exames laboratoriais.....	111
4.1.8- Critério de inclusão da voluntária.....	113
4.1.9- Critérios de exclusão da voluntária.....	114
4.1.10- Critérios para retirada do estudo.....	115
4.1.11- Avaliação de segurança (eventos adversos).....	115
4.1.12- Procedimentos de emergência.....	116
4.1.13- Avaliação da causalidade.....	117
4.1.14- Avaliação da voluntária.....	117
4.1.15- Pós-estudo.....	117
4.1.16- Condutas permitidas e não permitidas antes e durante o estudo...	118
4.1.17- Outras obrigações e restrições.....	118
4.1.18- Horários de jejum e alimentação.....	119
4.1.19- Posologia e forma de administração.....	120
4.1.20- Cronograma de coleta das amostras.....	121
4.1.21- Processamento e armazenamento inicial das amostras.....	121
4.1.22- Armazenamento e transporte das amostras.....	122
4.1.23- Amostras de retenção – inventário.....	122
4.1.24- Comitê de ética em pesquisa.....	122
4.1.25- Termo de consentimento livre e esclarecido (modelo em anexo).....	123
4.1.26- Confidencialidade.....	123
4.1.27- Financiamento e seguro.....	124
4.1.28- Manuseio dos dados e manutenção dos registros.....	124

4.2- Etapa analítica.....	124
4.2.1- Materiais e reagentes usados na análise do acetato de ciproterona.....	125
4.2.2- Materiais e Reagentes usados na análise do etinilestradiol.....	133
4.2.3- Validação do método analítico empregado para ciproterona e etinilestradiol.....	141
4.3- Etapa estatística.....	143
5- RESULTADOS.....	147
5.1- Resultados da etapa clínica.....	149
5.2- Resultados da etapa analítica.....	154
5.3- Resultados da etapa estatística.....	175
5.3.1- Análise de variância para etinilestradiol.....	176
6- DISCUSSÃO.....	185
7- CONCLUSÃO.....	191
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	195
9- ANEXOS.....	207
10- APÊNDICES.....	315

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome;
ANOVA	Análise de variância;
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization;
APPI	Atmospheric Pressure Photo Ionization;
ASC_(0-t)	Área sob a curva de concentração plasmática do fármaco vs tempo calculada pelo método dos trapézios do tempo 0 (zero) ao tempo t (em ngxh/mL);
ASC_(0-∞)	Área sob a curva de concentração plasmática do fármaco vs tempo calculada pelo método dos trapézios projetada do tempo 0 infinito (em ngxh/mL);
BE	Bioequivalência;
BPFC	Boas práticas de fabricação e controle de qualidade;
b.p.m.	Batimentos por minuto;
β-HCG	Beta-Human Chorionic Gonadotrophin;
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa;
CID	Collision Induced Dissociation;
CLAE	Cromatografia líquida de alta pressão;
C_{max}	Concentração plasmática máxima;
CONEP	Conselho Nacional de Saúde;
CQ	Controle de qualidade;
CQA	Controle de qualidade alto;
CQB	Controle de qualidade baixo;
CQM	Controle de qualidade médio;
CREMESP	Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo;
CRF	Case Report Forms (Formulário de Relato de Caso)
CRF/SP	Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo;

C_t	Última concentração plasmática do fármaco determinada experimentalmente;
CV	Coeficiente de variação;
CYP450	Cytochrome P450;
DCB	Denominação comum brasileira;
DCI	Denominação comum internacional;
DEF	Dicionário de especialidades farmacêuticas;
DIU	Dispositivo intra uterino
DP	Desvio padrão;
ECG	Eletrocardiograma;
EFS	Extração em fase sólida;
ELL	Extração líquido-líquido;
ESI	ElectroSpray Ionization;
eV	Eletro-volt;
Exp	Exponencial;
FDA	Food and Drug Administration Agency;
FSH	Follicle-Stimulating Hormone;
g	Gramas;
GCP	Good Clinical Practice;
GL	Graus de liberdade;
GS	Gás Source
h	Hora;
HAS	Hipertensão arterial sistólica;
HCG	Human Chorionic Gonadotrophine;
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography;
HIV	Human immunodeficiency virus;
IC	Intervalo de confiança;
ICH	International Conference on Harmonisation;
IFPMA	International Federation of Pharmaceutical Manufactures Association;
IMC	Índice de massa corpórea;

Kg	Quilo;
L	Litro;
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa tipo - massa;
LH	Luteinizing Hormone;
LIQ	Limite inferior de quantificação;
L/L	líquida/líquida;
Log	Logaritmo;
Ltda.	Limitada
m/z	Razão massa carga;
mg	Miligrama;
mg/d	Miligrama/dia
min.	Minuto;
mL	Mililitro;
mm	Milímetro;
mm³	Milímetro cúbico;
mmHg	Milímetro de mercúrio;
MRM	Mutiple Reaction Monitoring;
MS/MS	Espectrometria tipo massa massa;
n	Tamanho da amostra;
NaCl	Cloreto de sódio;
NCS	No Clinically Significant (cl clinicamente não significativo)
ng	Nanograma;
ng/mL	Nanograma por mL;
° C	Grau centígrado;
OMC	Organização mundial do comércio;
p	Poder do teste;
PA	Pressão arterial;
PCR	Polymerase Chain Reaction;
PI	Padrão interno;
P & D	Pesquisa e Desenvolvimento;

pg	Picograma;
r	Coeficiente de correlação linear;
R	Referência;
R2.2	Linguagem R;
RDC	Resolução da diretoria colegiada;
REBLAS	Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde;
s	Segundo;
SHBG	Sex-hormone binding globulin;
SGOT	TGO – Transaminase glutamil oxalacética;
SGTP	TGP – Transaminase glutamil pirúvica;
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SPE	Solid-phase straction
T	Teste;
T ½	Meia-vida de eliminação do fármaco, calculada com $\ln(2)/ke$;
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido;
TM	Trade market;
T_{max}	Tempo para se atingir a concentração plasmática máxima;
UI/mL	Unidades internacionais por mL;
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas;
USA	United States of America
UTI	Unidade de terapia intensiva
UV	Ultravioleta;
UV/Vs	Ultravioleta/visível
V	Volts;
v/v	Volume por volume;
vs	Versus;
WHO	World Health Organization;
µg	Micrograma;
µg/mL	Micrograma por mililitro;
µL	Microlitro;

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1- Horário da dieta padronizada no dois períodos de estudo.....	119
Tabela 2- Dieta administrada nos dois períodos de internação.....	120
Tabela 6- Medicamentos teste e referência analisado.....	125
Tabela 7- Reagentes usados na análise do acetato de ciproterona.....	125
Tabela 8- Materiais usados na análise do acetato de ciproterona.....	126
Tabela 9- Padrões de referência usados na análise do acetato de ciproterona.....	126
Tabela 10- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de curva de calibração preparadas diariamente.....	129
Tabela 11- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de controle de qualidade.....	129
Tabela 12- Condições cromatográficas e de extração do acetato de ciproterona, definidas durante à validação.....	131
Tabela 13- Íons resultantes da molécula de acetato de ciproterona e finasterida.....	131
Tabela 14- Parâmetros da fonte de ionização e gases.....	132
Tabela 15- Equipamentos de LC-MS/MS usados na análise da ciproterona.....	132
Tabela 16- Reagentes usados na análise do etinilestradiol.....	133
Tabela 17- Materiais usados na análise do etinilestradiol.....	133
Tabela 18- Padrões de referência.....	134

Tabela 19-	Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de curva de calibração preparadas diariamente.....	136
Tabela 20-	Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de controle de qualidade.....	137
Tabela 21-	Condições cromatográficas e de extração do etinilestradiol, definidas durante à validação.....	139
Tabela 22-	Íons resultantes da molécula de etinilestradiol e padrão interno..	140
Tabela 23-	Parâmetros da fonte de ionização e gases.....	140
Tabela 24-	Equipamentos de LC-MS/MS usado na análise do etinilestradiol.....	141
Tabela 26-	Estatística descritiva das 48 voluntárias selecionadas para o estudo.....	151
Tabela 27-	Estatística descritiva das 43 voluntárias que participaram do estudo.....	151
Tabela 28-	Avaliação dos sistemas na história clínica pré-estudo.....	152
Tabela 29-	Descrição da história clínica dos voluntários.....	153
Tabela 30-	Medicação utilizada no tratamento de evento adverso.....	153
Tabela 31a-	Validação do método analítico do acetato de ciproterona e do etinilestradiol.....	154
Tabela 31b-	Estabilidade da matriz biológica.....	154
Tabela 40-	Análise de variância (modelo completo) do parâmetro $C_{\max}$ e $\log C_{\max}$	176
Tabela 41-	Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro $C_{\max}$ e $\log C_{\max}$	177
Tabela 42-	Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de medias. Parâmetros $C_{\max}$ e $\log C_{\max}$	177

Tabela 43-	Análise de variância (modelo completo) parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	178
Tabela 44-	Análise de variância (modelo restrito) parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	178
Tabela 45-	Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de medias. Parâmetros ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	179
Tabela 46-	Média geométrica das razões entre o teste e referência dos parâmetros ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e C_{max} do acetato de ciproterona....	180
Tabela 47-	Análise de variância (modelo completo) do parâmetro C_{max} e $\log C_{max}$	180
Tabela 48-	Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro C_{max} e $\log C_{max}$	181
Tabela 49-	Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de medias. Parâmetros C_{max} e $\log C_{max}$	182
Tabela 50-	Análise de variância (modelo completo) parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	182
Tabela 51-	Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	183
Tabela 52-	Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de medias. Parâmetros ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$	183
Tabela 53-	Média geométrica das razões entre o teste e referência dos parâmetros ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e C_{max} do etinilestradiol.....	184

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1- Representação esquemática de um sistema de CLAE.....	86
Figura 2- Diagrama dos tipos de espectrômetro de massas e suas diversas técnicas.....	88
Figura 3- Fonte Photospray Íon (APPI).....	91
Figura 4- Esquema do analisador quadrupolar.....	92
Figura 5- Esquema de operação de analisadores quadrupolares.....	93
Figura 6- O mecanismo de MRM nos sistemas de LC-MS/MS.....	93
Figura 7- Esquema de análise em espectrômetro de massas do tipo triploquadrupolo.....	94
Figura 8- Esquema do espectrômetro de massa triploquadrupolar.....	94
Figura 9- Sistema integrado de LC-MS/MS.....	95
Figura 10- Estrutura molecular do acetato de ciproterona.....	97
Figura 11- Estrutura molecular do etinilestradiol.....	98
Figura 12- Mecanismo de Regulação Hormonal.....	104
Figura 13- Característica da população em estudo.....	152
Figura 14- Cromatogramas das amostras de plasma branco normal – acetato de ciproterona.....	155
Figura 15- Cromatogramas das amostras de plasma branco lipêmico.....	156
Figura 16- Cromatograma das amostras de plasma branco hemolizado.....	156
Figura 17- Cromatogramas do branco (A) +padrão interno (B).....	157
Figura 18- Cromatogramas da amostra LIQ em plasma normal.....	157

Figura 19-	Cromatogramas da amostra de CQB em plasma normal.....	158
Figura 20-	Cromatogramas da amostra de CQM em plasma normal.....	158
Figura 21-	Cromatogramas de amostras CQA em plasma normal.....	159
Figura 22-	Cromatogramas de supressão iônica para amostra de plasma normal.....	159
Figura 23-	Cromatograma de supressão iônica para amostra de plasma lipêmico.....	160
Figura 24-	Cromatograma de supressão iônica para amostras de plasma hemolizado.....	160
Figura 25-	Gráfico da linearidade do método.....	161
Figura 26a-	Espectrogramas de massas do analito (acetato de ciproterona)....	162
Figura 26b-	Espectrograma de massa do analito (acetato de ciproterona).....	162
Figura 27a-	Espectrograma de massa do padrão interno do acetato de ciproterona (Finasterida).....	163
Figura 27b-	Espectrograma de massa do padrão interno do acetato de ciproterona (Finasterida).....	163
Figura 28-	Cromatogramas do plasma branco normal para o etinilestradiol..	164
Figura 29-	Cromatogramas do plasma branco lipêmico para etinilestradiol..	164
Figura 30-	Cromatogramas das amostras no plasma hemolizado para etinilestradiol.....	165
Figura 31-	Cromatogramas das amostras zero branco (A) + padrão interno (B) do etinilestradiol.....	165
Figura 32-	Cromatogramas das amostra LIQ em plasma normal para etinilestradiol.....	166

Figura 33-	Cromatogramas das amostras do CQB em plasma normal para o etinilestradiol.....	166
Figura 34-	Cromatogramas das amostras do CQM em plasma normal para o etinilestradiol.....	167
Figura 35-	Cromatograma das amostras do CQA em plasma normal.....	167
Figura 36-	Cromatograma do teste de supressão iônica em plasma normal para o Etinilestradiol.....	168
Figura 37-	Cromatograma do teste de supressão iônica em plasma lipêmico para o Etinilestradiol.....	168
Figura 38-	Cromatograma do teste de supressão iônica de amostras do plasma hemolizado para o etinilestradiol.....	169
Figura 39-	Gráfico de Linearidade do método utilizado na análise do Etinilestradiol.....	169
Figura 40a-	Espectrograma de massas do analito (etinilestradiol).....	170
Figura 40b-	Espectrograma de massa do analito (etinilestradiol).....	170
Figura 41a-	Espectrograma de massa do padrão interno (17- α -etinilestradiol-D4).....	171
Figura 41b-	Espectrograma de massa do padrão interno (17- α -etinilestradiol-D4).....	171
Figura 42-	Rota proposta para dissociação do acetato de ciproterona (A) e finasterida (B).....	173
Figura 43-	Curva concentração plasmática vs tempo do acetato de ciproterona.....	174
Figura 44-	Curva concentração plasmática vs tempo do etinilestradiol.....	174

LISTA DE QUADROS

	PÁG.
Quadro 1- Solvente de diluição das soluções-mãe.....	127
Quadro 2- Solvente de diluição das soluções-mãe.....	134
Quadro 3- Análise do hemograma antes e depois da realização do estudo.....	149
Quadro 4- Análise dos parâmetros bioquímicos antes e depois do estudo.....	150

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a bioequivalência de duas formulações de acetato de ciproterona e etinilestradiol em drágea vs comprimido (Selene® comprimidos, Laboratório Eurofarma Ltda., formulação Teste e Diane® 35, Schering do Brasil, como Referência) após administração oral em 48 voluntárias adultas sadias.

O estudo foi do tipo aberto, randomizado com duas fases, em que as voluntárias receberam uma dose única de acetato de ciproterona 2mg e etinilestradiol 0,035mg. As amostras de plasma foram obtidas em um período total de 240h. As concentrações plasmáticas de acetato de ciproterona e etinilestradiol foram analisadas por um método baseado na cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa usando como fonte de ionização photospray (LC-MS/MS) utilizando finasterida como padrão interno do acetato de ciproterona e 17- α -etinilestradiol-D4 como padrão interno do etinilestradiol. A concentração plasmática do acetato de ciproterona não teve diferença significativa após a administração de ambas as formulações (formulação teste e referência do Diane®35). A média geométrica da razão entre o medicamento teste e referência com 90% IC, foi 90,66% (84,39% - 97,40%) para C_{max} , 96,20% (90,45% – 102,33%) para ASC_{0-240} e 95,86% (89,81% – 102,31%) para ASC_{0-inf} . Já para o Etinilestradiol a média geométrica da razão entre o medicamento teste e referência com 90% IC, foi de 109,92% (IC 90% = 102,67% - 117,69%) para C_{max} , 90,63% (83,75% – 98,08%) para ASC_{0-120} e 83,85% (69,98% – 100,47%) para ASC_{0-inf} . Diante dos resultados encontrados de C_{max} e ASC_{0-t} e estando dentro do intervalo de confiança entre 80% e 125% proposto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Food and Drug Administration (FDA), conclui-se que o Acetato de Ciproterona 2mg e o Etinilestradiol 0.035mg da Eurofarma Laboratórios Ltda. em comprimido é bioequivalente ao Diane®35 da Schering do Brasil, de acordo com sua taxa e extensão de absorção.

Palavras-chave: 1.Acetato de Ciproterona 2.Etinilestradiol 3. Bioequivalência 4.Farmacocinética 5.Espectrometria de Massa

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the bioequivalence of two cyproterone acetate + ethinylestradiol tablet formulations (Selene® tablet formulation elaborated by Eurofarma Laboratórios Ltda., Brazil, as test formulation, and Diane ® 35 tablet formulation by Schering of Brazil, as reference formulation) after their oral administration to 48 healthy adult females. The study was conducted using an open, randomized two-period crossover design, in which twenty-four healthy volunteers received a single oral dose of cyproterone acetate + ethinylestradiol (2mg + 0.035mg) tablet. Plasma samples were obtained over a 240-hour period. Plasma cyproterone acetate + ethinylestradiol concentrations were analyzed by a method based on liquid chromatography by positive-ion photospray ionization (LC-MS/MS), using finasteride as internal standard of cyproterone acetate and 17- α -ethinyl estradiol-D4 as internal ethinylestradiol standard. The plasma concentration of CYP acetate did not differ significantly after the administration of both formulations (test formulation and the reference Diane®), according to the geometric mean ratio between the test and reference formulations, with 90% CI: 90.66% (84.39% – 97.40%) for C_{max} , 96.20% (90.45% – 102.33%) for ASC_{0-240} and 95.86% (89.81% – 102.31%) for ASC_{0-inf} . Conversely, the geometric mean ratio between the test and reference formulations for ethinylestradiol, with 90% CI, was 109.92% (CI 90% = 102.67% – 117.69%) for C_{max} , 90.63% (83.75% – 98.08%) for ASC_{0-120} and 83.85% (69.98% – 100.47%) for ASC_{0-inf} . Considering the results of C_{max} and ASC_{0-t} within the confidence interval between 80% and 125% proposed by the Brazilian National Agency for Sanitary Surveillance (ANVISA) and for the US Food and Drug Administration (FDA), it was concluded that the cyproterone acetate 2mg and ethinylestradiol 0.035mg by Eurofarma Laboratórios Ltda. in tablet is bioequivalent to the Diane®35 by Schering of Brazil, according to its absorption and extension rate.

Key words: 1.Cyproterone Acetate 2.Ethinylestradiol 3. Bioequivalence 4.Pharmacokinetics 5.Mass Spectrometry

1- INTRODUÇÃO

Sabe-se que o acesso a medicamento é restrito em nosso país, um dos dez maiores consumidores mundiais de medicamentos, pois sofre continuamente com os elevados preços apresentados no mercado (Pitta, 2004).

O alto custo com medicamentos consumido pelas famílias, principalmente as mais pobres, e os reajustes de preço tradicionalmente acima dos índices de inflação sempre mantiveram a indústria farmacêutica brasileira como alvo de intenso e acelerado debate (Fiúza, 2001).

Diante disso, há um grande desafio: Como proteger o consumidor, que necessita do medicamento, e o acionista do laboratório, que precisa ter lucro para fazer novas pesquisas e descobrir novidades contra doenças como a Aids e o câncer. No mundo inteiro, governos tentam encontrar esse equilíbrio por meio de um controle cada vez mais rigoroso sobre as indústrias farmacêuticas (Pitta, 2004).

Uma das alternativas encontradas por países como o Estados Unidos, Japão e o continente Europeu, foi à introdução dos medicamentos genéricos, o que reduziu consideravelmente o preço dos medicamentos. O Brasil surgiu com atraso à mesma política e introduziu em 1999 a lei que define as normas para produção e comercialização dos medicamentos genéricos no país. Tentou com isso, contribuir para uma melhoria na qualidade de vida dos que necessitam de medicamentos, mas não têm poder aquisitivo suficiente para obtê-los (Pitta, 2004).

A adoção de uma política de medicamentos genéricos, envolvendo a produção, a garantia de qualidade, a prescrição, a dispensação e o uso dos mesmos é parte fundamental de uma diretriz para promoção do uso racional de medicamentos em nosso país – uma das principais diretrizes preconizadas pela Organização Mundial da Saúde.

O medicamento genérico é intercambiável com o referência (geralmente, o inovador) porque tem qualidade comprovada através de testes *in vitro* e *in vivo* e é considerado seu equivalente terapêutico, ou seja, tem a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos em relação ao referência (Storpiertis, 1999).

O acetato de ciproterona é um hormônio esteróide com propriedades progestágeno e antiandrógeno (Baumann et al., 1996).

O etinilestradiol é um estrógeno sintético, um dos componentes mais comuns de formulações de contraceptivos orais (Orme, 1991).

A associação do acetato de ciproterona com o etinilestradiol é indicada para o tratamento de distúrbios andrógeno-dependentes na mulher, tais como: acnes acompanhadas de seborréia, acne papulopustulosa e nodular, formação de nódulo e inflamação, alopecia androgênica e casos leves de hirsutismo, inibição da ovulação e contraceptivo oral quando se deseja menor efeito androgênico, na endometriose e hipersexualidade ou desvios de comportamento sexual em homens e na síndrome do ovário policístico, entre outros (Speck et al., 1976 e Baumann et al., 1996).

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Avaliar se a formulação de Ciproterona 2mg e Etinilestradiol 0,035mg (Selene®) – 2 comprimido produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda (produto teste), atinge níveis plasmáticos equivalentes aos da formulação de Ciproterona 2mg e Etinilestradiol 0,035mg drágeas (produto referência), produzido pelo Laboratório Schering do Brasil, quando administrada em 48 voluntárias sadias adultas do sexo feminino.

2.2- Objetivos específicos

- Elaborar e submeter ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) o protocolo de estudo de Biodisponibilidade relativa/Bioequivalência;
- Planejar, elaborar o desenho do estudo e determinar o tamanho da amostra (número de voluntárias);
- Desenvolver e validar os métodos de extração e quantificação das amostras biológicas, utilizando a CLAE acoplada à Espectrometria de massas (LC-MS/MS);
- Avaliar a estabilidade dos fármacos em plasma humano;
- Obter e analisar as amostras biológicas das voluntárias;
- Determinar os parâmetros farmacocinéticos;
- Analisar estatisticamente através de programas específicos validados, os dados das concentrações encontradas nos pontos de coleta definidos no protocolo de estudo.

3- REVISÃO DE LITERATURA

3.1- Considerações gerais sobre os medicamentos genéricos

Em 1999, foi criado pelo governo federal, os medicamentos genéricos, cujo objetivo foi implantar uma política de preços mais condizentes com a realidade sócioeconômica do Brasil. A Lei 9.787, “Lei dos Genéricos” foi sancionada em 10 de fevereiro de 1999 e regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 10 de agosto de 1999, com a publicação da resolução 391/99 (Pitta, 2004).

Em janeiro de 2001, foi publicada a resolução 10, em substituição à resolução 391, cujo objetivo foi dar maior agilidade ao processo de registro dos medicamentos genéricos e melhorar o fluxo das análises. Esta norma agregou informações, revisou pontos de resolução original e preencheu lacunas, tais como a regularização do registro de genéricos importados. E, em 19 de março de 2002, foi publicada pela ANVISA a Resolução RDC n°84, que foi revogada pela resolução RDC n°135 de 29 de maio de 2003 (Pitta, 2004).

Os fatores que impulsionaram a produção de genéricos são: eficácia e baixo custo dos genéricos (mais baratos que os medicamentos de marca); previsão de que 35 bilhões de dólares em patentes de medicamentos expiram nos próximos anos; crescimento dos custos de saúde; envelhecimento da população, com aumento das doenças crônicas, o que ocasiona elevados gastos públicos com o setor saúde; disseminação das novas e custosas tecnologias médicas; decréscimo da mortalidade e aumento da perspectiva de vida da população (CRESMESP e CRF, 2001).

A adoção de uma política de medicamentos genéricos, envolvendo a produção, a garantia de qualidade, a prescrição, a dispensação e o uso dos mesmos é parte fundamental de uma diretriz para promoção do uso racional de medicamentos no país – uma das principais diretrizes preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (CREMESP e CRF, 2001).

A política de medicamentos genéricos surgiu para ser mais uma aliada em garantir à população o acesso a medicamentos de qualidade, com preços bem mais baixos. Porém, para que esse objetivo seja alcançado, é fundamental a participação ativa e

consciente dos profissionais responsáveis pela prescrição e dispensação de medicamentos – médicos, odontólogos e farmacêuticos CREMESP e CRF, 2001).

A entrada da concorrência dos genéricos e sua rápida difusão, motivada pelos esforços dos planos de saúde e órgãos reguladores, também têm diminuído o tempo de monopólio efetivo do produto, e, com isso, exercido maior pressão sobre os laboratórios por novas descobertas (Fiúza, 2001).

O que não ocorreu, contudo, foi à disputa esperada entre o medicamento de marca e seu substituto genérico pelo mesmo mercado consumidor. Alguns estudos indicam que, na média, os medicamentos de marca aumentaram seus preços quando os substitutos genéricos invadiram o mercado (Frank e Salkever, 1991; Grabowski e Vernon, 1992). Estes acontecimentos foram reportados mesmo quando os genéricos praticavam preços entre 40% a 70% abaixo dos preços dos respectivos medicamentos de marca. Este aparente paradoxo pode ser explicado pela "bifurcação" que ocorre no mercado consumidor, quando da entrada dos genéricos. Os consumidores mais sensíveis aos preços dos medicamentos tendem a optar pelo substituto genérico, como é o caso de hospitais e organizações mantenedoras de saúde. Por outro lado, parcela considerável do mercado consumidor é avessa ao risco, portanto insensível aos preços dos medicamentos, como é o caso de médicos e de pacientes que não se sentem seguros ou informados devidamente a respeito da eficácia do substituto genérico. Muitas vezes o médico, mesmo estando devidamente informado a respeito de terapias alternativas, prefere continuar prescrevendo os medicamentos de marca por uma simples questão de hábito ou mesmo falta de "cultura" no que concerne à racionalização de custos. Para melhor entender, segue abaixo algumas definições importantes neste contexto (Fiúza, 2001).

3.2- Definições importantes

O medicamento genérico, no Brasil, é definido como equivalente terapêutico em relação ao medicamento de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária

ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia e segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCI (Brasil, 1999a).

Equivalentes farmacêuticos são medicamentos que contêm o mesmo fármaco, isto é, mesmo sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos (Brasil, 2003a).

Portanto, o medicamento genérico é intercambiável com o referência porque tem sua qualidade comprovada através de testes *in vitro* e *in vivo* e é considerado seu equivalente terapêutico, ou seja, tem a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos em relação ao referência (Storpiertis, 1999).

Já o medicamento de referência é o medicamento inovador, registrado no órgão federal responsável pela Vigilância Sanitária e comercializado no Brasil, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (Brasil, 1999b). O medicamento inovador é aquele medicamento comercializado nacionalmente, composto por, pelo menos, um fármaco ativo, e esse fármaco deve ter sido objeto de patente, mesmo já extinta, por parte da empresa responsável por seu desenvolvimento e introdução no mercado do país de origem. Em geral, o medicamento inovador é considerado medicamento de referência, entretanto, na sua ausência, a ANVISA indica outro medicamento como referência (Brasil, 1999c).

A eficácia e segurança do medicamento genérico em relação ao medicamento de referência, na maioria dos casos, são asseguradas por meio de estudos de bioequivalência. Em alguns casos, a bioequivalência pode ser comprovada por estudos *in vitro*, como é o caso dos produtos de uso tópico sem absorção sistêmica (Storpiertis, 1999).

Bioequivalência é o estudo comparativo entre as biodisponibilidades de dois medicamentos que possuem a mesma indicação terapêutica e são administrados pela mesma via extravascular, na mesma dose. É, portanto, considerado bioequivalente, se em um mesmo indivíduo apresentar, durante um período adequadamente estabelecido,

concentrações plasmáticas semelhantes com um mesmo fármaco, a partir de dois medicamentos, observando-se os efeitos similares (CREMESP e CRF, 2001).

Já a biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir da curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou excreção na urina. Por se tratar de um parâmetro relacionado à absorção, não se aplica a fármacos administrados por via intravascular, uma vez que o processo (absorção) não se realiza nesta via (CREMESP e CRF, 2001). A absorção é a transferência do fármaco do local de administração para a corrente sanguínea. Assim, por definição, um fármaco administrado por via intravenosa é 100% biodisponível, isto é, toda a dose do fármaco é administrada diretamente na corrente circulatória e está disponível para interagir com os receptores e desencadear o efeito farmacológico.

Cabe ressaltar que A equivalência terapêutica, para a maioria dos casos, é assegurada pela bioequivalência e constitui a base para a intercambialidade entre o medicamento de referência e o genérico.

Além disso, tem-se também o medicamento similar que é aquele que possui o mesmo princípio ativo, a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, mas não tem sua bioequivalência com o medicamento de referência comprovada (BRASIL, 2003f). Não é intercambiável, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificados por nome comercial ou de marca (Brasil, 2007).

Entretanto, os medicamentos similares, nunca foram obrigados a comprovar equivalência farmacêutica com o inovador (Storpiotis, 1999).

De acordo com a Internacional Federation of Pharmaceutical Manufacturers Association (IFPMA), associação internacional composta por produtores de medicamentos do mundo inteiro, a implementação de uma política de medicamentos genéricos depende também dos níveis médios dos preços dos medicamentos vigentes em cada país. Nos locais

onde o custo médio dos medicamentos é mais acessível, como França, Espanha e Itália, os genéricos não tiveram muito sucesso, já que grande parte da população nesses locais tem acesso garantido aos medicamentos necessários para os tratamentos. Já nos países onde a indústria farmacêutica pratica preços muito altos, como Estados Unidos, Inglaterra, Holanda e Alemanha, dentre outros, o mercado de genéricos tem evoluído cada vez mais. É esse também o caso do Brasil (CREMESP e CRF, 2001).

3.3- Genéricos no mundo

A indústria de medicamentos genéricos teve origem na década de 60, sendo os Estados Unidos o primeiro país a adotar essa política (CREMESP e CRF, 2001).

Em 1962, o National Research Council of the National Academy of Sciences foi instruído para avaliar cerca de 3 mil medicamentos. No entanto, somente em 1984 houve condições específicas para o crescimento da indústria de genéricos. Elas foram estabelecidas pelo Drug Price Competition and Patent Restoration Act, que determinou mecanismos simplificados para o registro de versões genéricas de todos os medicamentos aprovados após 1962, desde que apresentassem informações sobre sua bioequivalência com o produto original, entre outras exigências (CREMESP e CRF, 2001).

3.4- Histórico dos medicamentos no Brasil

Os medicamentos similares surgiram no país após 1971, quando o Brasil decidiu não reconhecer patentes para medicamentos. O mercado para a produção de cópias de remédios patenteados em outros países foi aberto para os laboratórios nacionais. Essa situação perdurou até 1976, quando a Lei nº 6.360/76 colocou sob controle da Vigilância Sanitária (CREMESP 2001 e CRF, 2001).

Desde 1976, as indústrias farmacêuticas foram autorizadas a registrar produtos similares ao medicamento inovador ou original. Vale lembrar que medicamento similar é aquele que contém os mesmos princípios ativos, as mesmas concentrações, as mesmas

formas farmacêuticas, a mesma posologia, podendo diferir somente em características de tamanho, forma, prazo de validade, embalagem, rotulagem e excipientes (CREMESP e CRF, 2001).

Vale lembrar que em 1983, tornou-se obrigatória a impressão do nome genérico (segundo a DCB) da substância ativa nas embalagens dos medicamentos, além da marca comercial (nome de fantasia ou marca registrada (CREMESP e CRF, 2001).

A partir de 1990, a Organização Mundial de Saúde propõe que um genérico só deve ser autorizado para comercialização quando a sua segurança, eficácia e qualidade tenham sido estabelecidas e documentadas, usando como referência o produto inovador (CREMESP e CRF, 2001).

Já em 1991, começou a tramitar na Câmara dos Deputados, em Brasília, o Projeto de Lei nº 2002 que visava abolir as marcas comerciais das embalagens de medicamentos. Este projeto deu origem ao Decreto nº 793, de 05 de abril de 1993, que determinava o uso da denominação genérica do fármaco (nome genérico) nas embalagens, em tamanho três vezes maior que o da marca do medicamento. Porém, as diretrizes desse decreto não foram implantadas integralmente, por problemas técnicos e por falta de vontade política (CREMESP e CRF, 2001).

Com a sanção, em 1996, da Lei de Patentes, voltou-se à situação anterior a 1971: medicamentos patenteados no exterior e cuja patente ainda não havia vencido não podem ser copiados, devendo esperar o prazo de vencimento da patente, que é de 20 anos. Nesta mesma época em que foi criada a Organização Mundial do Comércio (OMC), o mundo todo passou a ser pressionado para aceitar patentes de medicamentos (CREMESP e CRF, 2001).

Sendo finalmente, em 1999, criado pelo governo federal, os medicamentos genéricos.

Para garantir a política brasileira de acesso universal aos medicamentos de Aids, baseada na produção nacional de similares e genéricos, o governo federal passou a ameaçar a quebra das patentes das marcas mais recentes de anti-retrovirais. Sendo assim, em 2000, o Brasil protagonizou o início de uma discussão internacional sobre patentes de

medicamentos fazendo com que os Estados Unidos questionassem, junto a OMC, a Lei de Patentes brasileira, sendo firmado, em junho de 2001, um acordo entre os dois países, prevendo que o Brasil deveria notificar antecipadamente os Estados Unidos sempre que desejar conceder licença compulsória de patentes cujos detentores sejam laboratórios farmacêuticos norte-americanos. Em contrapartida, os Estados Unidos retiraram a denúncia contra o Brasil na OMC.

Embora os medicamentos genéricos tenham trazido inúmeros benefícios, entretanto, a finalidade principal do governo ao instituí-los era o aumento do acesso de medicamentos à população, e, este não foi plenamente atingido. Hoje, apesar dos medicamentos estarem com seus preços diminuídos e controlados pelo governo, a redução ocorrida na prática não foi suficiente para que a população mais carente, alvo principal desta política, sem acesso a medicamentos, pudesse vir a adquirir esta medicação, devido à manutenção da baixa renda. Ou seja, a população que se beneficia é aquela que já adquiria a medicação de marca, e hoje tem a opção de adquirir uma medicação de qualidade e segurança comparáveis à anteriormente administrada, por um custo menor. Assim, o genérico é apenas uma pequena ação do governo que deve ser acompanhada por inúmeras outras, para alcançar o impacto social desejado. Porém, pode-se considerar que este processo já foi iniciado (Pádua, 2003).

Depois deste leve enfoque do perfil do genérico e de definirmos os termos em questão, para garantirmos a intercambialidade, é necessário um estudo de bioequivalência, no qual se verifica as quantidades e velocidades de absorção do medicamento de referência e o que está em teste, comprovando, assim, que não apresentam diferenças estatisticamente significativas, sob as mesmas condições experimentais.

Porém, de acordo com a Resolução nº 391, de 9 de agosto de 1999, para realizar-se um estudo de bioequivalência, a empresa deverá comprovar a equivalência farmacêutica em relação ao medicamento de referência, e os resultados devem ser apresentados conforme o descrito no Anexo V desta Resolução (Guia para modelo de relatório de estudo de equivalência farmacêutica).

3.5- Equivalência farmacêutica

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

3.5.1- Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução (Brasil, 2003b)

De acordo com a RE nº 901, de 29 de maio de 2003, o estudo de equivalência farmacêutica deve ser realizado entre o medicamento teste e o medicamento de referência comercializado no País. Bem como os estudos de equivalência farmacêutica e de perfis de dissolução devem ser realizados por laboratórios devidamente autorizados pela ANVISA para essas finalidades, pertencente à Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (REBLAS).

Os estudos devem ser realizados em amostras com até seis meses de fabricação, preferencialmente, onde o medicamento de referência deve cumprir com todos os requisitos farmacopéicos e o medicamento teste deve cumprir em sua totalidade com os requisitos farmacopéicos da monografia individual, inscrita na Farmacopéia Brasileira e no caso de utilização de algum outro código autorizado pela legislação vigente. Os requisitos farmacopéicos da monografia devem ser complementados com os ensaios descritos em métodos gerais da Farmacopéia Brasileira vigente, para a forma farmacêutica em estudo. Na falta de monografia farmacopéica oficial, o estudo deve ser realizado utilizando-se método fornecido pela empresa solicitante, covalidado pelo laboratório executor do estudo, complementando-se com os ensaios descritos em métodos gerais da Farmacopéia Brasileira vigente.

Deve-se ainda, utilizar substâncias de referência oficializadas pela Farmacopéia Brasileira ou, na ausência destas, por outros códigos autorizados pela legislação vigente. E no caso da inexistência dessas substâncias, será admitido o uso de padrões de trabalho, desde que a identidade, o teor, os resíduos e o perfil de impureza sejam devidamente determinados.

Os ensaios para a comprovação da equivalência farmacêutica devem ser realizados, simultaneamente, nos medicamentos teste e referência, em que os testes de esterilidade e pirogênio podem ser dispensados para os medicamentos de referência em alguns estudos de equivalência farmacêutica, desde que a solicitação com a devida justificativa seja protocolada para apreciação da ANVISA antecipadamente à execução da equivalência farmacêutica.

Devem estar à disposição da empresa contratante e da ANVISA os históricos individuais das análises realizadas, contendo os dados utilizados na avaliação de cada ensaio: dados estatísticos, tabelas com resultados, cópia dos cromatogramas e espectros, dos medicamentos teste e referência. E no caso da transferência de metodologias da matriz para o centro de equivalência, o método será considerado validado, desde que sejam avaliados os parâmetros de precisão e especificidade.

A amostragem mínima deve possibilitar estudo completo de equivalência farmacêutica, um re-teste e a contra-prova, onde o prazo mínimo para a retenção dos lotes deve ser correspondente ao prazo de validade do produto mais um ano, tendo como parâmetro a validade do produto mais recente (teste vs referência).

Os estudos de perfis de dissolução devem utilizar o mesmo método de dissolução empregado no estudo de equivalência farmacêutica. No caso da inexistência de método de dissolução farmacopéico, os perfis de dissolução devem ser realizados em, pelo menos, três meios de dissolução diferentes, dentro da faixa de pH fisiológico. Os três meios devem ser validados. A apresentação dos perfis de dissolução em três meios poderá ser dispensada nos casos em que a empresa apresentar o dossiê de desenvolvimento analítico, comprovando que o método proposto para análise é o mais adequado para o produto. Esse procedimento também pode ser adotado nos casos em que o método de dissolução presente na(s) farmacopéia(s) não é adequado para o produto, desde que devidamente justificado.

3.5.2- Critérios para os estudos de equivalência farmacêutica (BRASIL, 2003b)

A diferença de teor do fármaco entre os medicamentos teste e referência não deve ser superior a 5,0%. Caso este limite seja ultrapassado, documentação adicional poderá ser solicitada pela ANVISA.

Deve-se apresentar estudo comparativo dos perfis de dissolução dos dois produtos (teste e referência), não sendo obrigatória, entretanto, a demonstração da semelhança entre os perfis.

A comparação de perfis de dissolução é útil nos casos em que se deseja conhecer o comportamento de dois produtos antes de submetê-los a ensaios de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, para isentar as menores dosagens desses estudos e nos casos de alterações pós-registro. Nesta comparação avalia-se a curva como um todo empregando Método Modelo Independente. Que é um método modelo independente simples, aquele que emprega um fator de diferença (F1) e um fator de semelhança (F2). O fator F1 calcula a porcentagem de diferença entre os dois perfis avaliados a cada tempo de coleta e corresponde a uma medida do erro relativo entre os perfis:

$$F1 = \left\{ \sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right\} + \left\{ \sum_{t=1}^n R_t \right\} \times 100$$

onde:

n = número de tempos de coleta;

R_t = valor de porcentagem dissolvida no tempo t, obtido com o medicamento de referência ou com a formulação original (antes da alteração);

T_t = valor de porcentagem dissolvida do produto teste ou da formulação alterada, no tempo t.

O fator F2 corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis:

$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{0,5} \times 100 \right\}$$

O procedimento é determinar o perfil de dissolução de ambos os medicamentos: teste e referência empregando 12 unidades de cada, calcular os fatores F1 e F2 utilizando as equações apresentadas anteriormente e o critério para que dois perfis de dissolução sejam considerados semelhantes:

$$F1 = 0 \text{ a } 15 \text{ e } F2 = 50 \text{ a } 100$$

Deve-se também considerar o emprego de no mínimo, cinco pontos de coleta, incluir apenas um ponto acima de 85% de dissolução para ambos os produtos, para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os primeiros pontos (15 minutos, por exemplo) não devem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%, os valores médios de R_t podem ser derivados do último lote usado como referência, sem alteração, ou de dois ou mais lotes consecutivos, sem alteração e nos casos em que a dissolução for muito rápida, apresentando valor igual ou superior a 85% de fármaco dissolvido em quinze minutos, os fatores F1 e F2 perdem o seu poder discriminativo e, portanto, não é necessário calculá-los. Nesses casos, deve-se comprovar a rápida dissolução dos produtos e mostrar a forma da curva, realizando coletas em, por exemplo: 5, 10, 15 e 20 ou 30 minutos.

3.6- Biodisponibilidade relativa: inferência da equivalência terapêutica

Antes, assumia-se que equivalentes farmacêuticos eram necessariamente equivalentes terapêuticos. É importante lembrar que são considerados equivalentes farmacêuticos os produtos que possuem entre si a mesma concentração da substância ativa, na mesma forma farmacêutica, porém, não necessariamente os mesmos excipientes, processo de fabricação etc., e não possuem estudo de biodisponibilidade ou qualquer outro

estudo clínico comparativo. Em contrapartida, um produto farmacêutico é terapêuticamente equivalente a outro se este contiver a mesma substância ativa ou mistura terapêutica e, clinicamente, demonstre que possui mesma eficácia e segurança com este produto de eficácia e segurança estabelecida por meio de ensaios clínicos (Pádua, 2003).

Porém, foi demonstrado que a hipótese de que equivalentes farmacêuticos eram terapêuticamente semelhantes estava totalmente equivocada para inúmeros fármacos. Assim, o interesse em estudos clínicos que garantissem a segurança clínica e eficácia dos medicamentos era cada vez maior. Entretanto, ensaios clínicos de eficácia são difíceis e caros. Neste caso, o produto deve mostrar o mesmo efeito terapêutico na situação clínica. Diante deste obstáculo, o estudo de biodisponibilidade comparativo foi instituído na prática médica como uma tentativa de inferir a equivalência terapêutica sem a necessidade de estudos clínicos de eficácia e segurança. Esta extrapolação fundamenta-se no fato de que, uma vez a substância ativa encontra-se na corrente sangüínea, os mecanismos farmacocinéticos posteriores (distribuição, metabolismo e excreção) não serão influenciados pela formulação e o fármaco absorvido, a partir das respectivas formas farmacêuticas, comporta-se indistintamente, exercendo o mesmo efeito terapêutico (Metzler, 1974). Da mesma forma, uma vez que o medicamento de referência, por meio de estudos de toxicidade pré-clínicos e estudos clínicos, comprova a eficácia e segurança da substância ativa liberada da sua forma farmacêutica final, entende-se que, se o medicamento, candidato a genérico, apresentar a biodisponibilidade próxima (bioequivalência) à do medicamento de referência, ou seja, dentro da faixa terapêutica, este também pode assumir que é um medicamento seguro e eficaz, e, conseqüentemente, intercambiável com o medicamento de referência (Pádua, 2003).

Segundo Shargel & Yu (1999) e Storpirtis (1999), a biodisponibilidade de uma formulação farmacêutica pode ser influenciada por dois fatores: fatores relacionados ao indivíduo (idade, sexo, peso corporal e fatores fisiológicos associados) e por fatores relacionados à forma farmacêutica (fármaco, excipientes e técnica de fabricação): tamanho de partícula, forma polimórfica, presença de solvatos ou hidratos, natureza química, solubilidade, tipo e quantidade de excipientes, método de preparação, tipo de granulação,

tempo de mistura ou agitação, condições de secagem, velocidade de compressão e instabilidade.

Diante disso, a realização de ensaios de bioequivalência para verificação da equivalência terapêutica entre formulações farmacêuticas é de fundamental importância (Pádua, 2003).

3.7- Estudo de bioequivalência

No Brasil, com o início de pesquisas farmacêuticas com formulações genéricas, a preocupação do governo em regulamentar tais medicamentos aumentou, o que resultou na publicação do Decreto nº 793, de abril de 1993. Com este decreto, o governo apontou algumas diretrizes para o controle e aprovação dos medicamentos genéricos de interesse no mercado nacional. Com a Lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999, o governo brasileiro instituiu a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA, cuja função na área de medicamento é aprovar, registrar, controlar e inspecionar a produção, a comercialização e o uso dos medicamentos no Brasil. A falta de uma política específica para medicamentos farmacêuticos e a inexistência de uma lei de patentes, até 1996, foram as principais causas da existência da multiplicidade de medicamentos que continham o mesmo princípio ativo, porém estavam sendo comercializados por laboratórios diferentes. Para sanar tais problemas, foi instituída a Lei da Política Nacional de Medicamentos Genéricos, a Lei nº 9787 de 11 de fevereiro de 1999, que regulamenta a produção, comercialização, prescrição e uso de medicamentos genéricos. Os laboratórios farmacêuticos interessados em obterem o registro do medicamento genérico junto à ANVISA deveriam seguir os procedimentos apresentados nas Resoluções de nº 896 e 898, de 29 de maio de 2003 e na Lei nº 9.87, 10 de fevereiro de 1999, que estabeleceram as bases legais para a instituição do medicamento genérico no país (Oliveira, 2003).

Muitos erros terapêuticos relacionados a diferenças na biodisponibilidade, ocorridos no passado, justificam a necessidade de testes do desempenho da forma farmacêutica em liberar a substância ativa na circulação sistêmica e, dessa forma, no sítio

de ação. Além disso, a biodisponibilidade da substância ativa a partir de um produto farmacêutico deve ser conhecida e reprodutível (Storpiertis, 1999).

Com o surgimento dos medicamentos genéricos no Brasil aumentou também a atenção para os estudos de biodisponibilidade/bioequivalência, cujo objetivo é avaliar a bioequivalência de formulações genéricas e de formulações de medicamentos já existentes no mercado (Oliveira, 2003).

Estudo este que consiste em comparar as biodisponibilidades de formulações farmacêuticas. Como visto anteriormente, o termo biodisponibilidade é considerado como sendo a velocidade e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no sítio de ação da droga. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada pela medida da concentração do princípio ativo do medicamento em sangue total, soro ou outro fluido biológico apropriado, em função do tempo (Metzler, 1974).

Os parâmetros farmacocinéticos avaliados nos estudos de bioequivalência são aqueles relacionados ao processo de absorção do fármaco a partir da forma farmacêutica administrada (Storpiertis, 1999).

Esses parâmetros relacionam-se à quantidade de fármaco absorvida, bem como a velocidade pela qual este processo ocorre. A quantidade de fármaco absorvida ou exposição do fármaco no organismo) é obtida pelo valor da área sob a curva do tempo zero ao último tempo de coleta (ASC_{0-t}). A velocidade de absorção é avaliada pela medida pontual da maior concentração plasmática do fármaco atingida experimentalmente (C_{max}) após a administração do medicamento. O parâmetro T_{max} é o tempo relacionado à C_{max} , também avaliado em estudos de bioequivalência, quando clinicamente relevante (BRASIL, 2003d).

Devido as exigências cada vez maiores dos órgãos reguladores na aprovação de medicamentos, a demanda de dispendiosos testes em seres humanos, somada à ocupação paulatina da grande maioria dos nichos de mercado pelas inovações ao longo do tempo, têm elevado significativamente o custo de desenvolvimento de um fármaco novo: nos anos 80,

ele variava entre 140 e 280 milhões de dólares (Di Masi et al. 1991); nos anos 90, o valor chegava a 350 milhões (Fagan, 1998). Os gastos em P&D subiram também como proporção da receita das empresas: em 1970, eram 8%; em 1980, haviam subido a 11,9%; em 1996, já representavam 13,5%, e, em 2000 chegaram a 20,3% (Rupprecht, 1999; PhRMA, 2000).

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

Tal fato, aliado ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade (BPFC), fornecem as bases técnicas e científicas para a intercambialidade entre genérico e seu medicamento de referência, uma vez que, nesse caso, ambos podem ser considerados equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (Marzo e Balant, 1995; Meredith, 1996; Who, 1996; Benet, 1999; Marzo, 1999; Meyer, 1999).

Portanto, o estudo de bioequivalência deve ser realizado utilizando-se obrigatoriamente o mesmo lote empregado no estudo de equivalência farmacêutica respeitadas as restrições de outras normas legais e regulamentares pertinentes e vice-versa.

3.7.1- Planejamento do estudo de bioequivalência

Para que o estudo de bioequivalência apresente resultados confiáveis é necessário que o mesmo seja bem planejado e conduzido. Esse planejamento envolve todas as etapas: clínicas, analítica e estatística (Storpirtis, 2004).

A primeira etapa é a clínica, na qual o projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido devem ser submetidos a um CEP (Comitê de Ética em Pesquisa). Nessa etapa, devem ser estabelecidos os cronogramas de coleta das amostras, de acordo com o tipo de forma farmacêutica (liberação imediata ou modificada) e a meia-vida de eliminação do fármaco. Os critérios de inclusão e exclusão de

voluntários do estudo devem ser suficientes para selecionar voluntários saudáveis, evitando que características fisiológicas dos indivíduos interfiram nos resultados (Oliveira, 2002). A forma pela qual as amostras serão coletadas, processadas, armazenadas e transportadas também faz parte do planejamento da etapa clínica (Shargel e Yu, 1999).

A etapa clínica deve ser realizada, obrigatoriamente, sob a supervisão de um médico, iniciado somente após aprovação do protocolo clínico pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) ligado ao centro. Essa etapa é caracterizada pela administração dos medicamentos teste e referência ao grupo de voluntários sadios previamente selecionados, de acordo com a lista de randomização estabelecida, seguida da coleta das amostras de líquido biológico (sangue, na maioria dos casos) (Storpiotis, 2002).

Os voluntários são selecionados de acordo com critérios estabelecidos no protocolo, sendo esses capazes de fornecer seu consentimento livre e esclarecido. Neste momento, é importante que os pesquisadores usem sua experiência clínica para avaliarem cuidadosamente cada um dos candidatos como um ser humano completo. Essa avaliação inicial é fundamental para se determinar se um candidato a sujeito de pesquisa possui realmente as condições físicas, psíquicas e sociais de participar de um estudo, considerando-se que uma das principais atribuições de um investigador é ver o sujeito de forma integral e zelar por seu bem-estar (Lousana e Oliveira, 2002).

Após a seleção e inclusão, os indivíduos são, então, internados e seguem uma dieta padronizada. Após 12 horas de jejum, os medicamentos são administrados e, de tempo em tempo, são retiradas amostras sangüíneas. Vale ressaltar que o volume de distribuição de determinado fármaco pode variar em função da idade, sexo, doença e composição orgânica de cada pessoa (Bauer, 2001). Sendo assim, são extremamente importantes os critérios de inclusão dos voluntários no estudo, para que possa obter características as mais homogêneas possíveis (Pitta, 2004).

A etapa analítica é aquela em que o fármaco é quantificado nas amostras e deve, por essa razão, ser realizada de forma a não deixar dúvidas sobre os resultados obtidos (Bressole et al., 1996; Causon, 1997). Essa etapa deve ser realizada com as Boas Práticas de Laboratório (BPL) e deve ser precedida pelos ensaios de desenvolvimento e

validação do método analítico a ser empregado para quantificar o fármaco em líquido biológico (Storpiertis, 2002). Durante o planejamento da etapa analítica, devem ser estabelecidos o analito a ser quantificado (fármaco inalterado, metabólito ou pró-fármaco), a matriz biológica utilizada (sangue total, plasma, soro ou urina) e o método analítico adequado. O método de quantificação deve ser específico para cada analito, exato e relativamente simples, de modo a minimizar erros. Toda a metodologia deve estar devidamente validada antes da realização do estudo, apresentando os parâmetros de validação previamente estabelecidos (Bressole et al., 1996; Causon, 1997, BRASIL, 2003e).

A última etapa, a estatística, deve ser realizada por profissional devidamente qualificado, geralmente estatístico com formação em bioestatística, e deve ser adequada ao desenho experimental aplicado na etapa clínica. A participação deste profissional é fundamental desde a fase de elaboração do protocolo clínico, no estabelecimento do desenho experimental, no estabelecimento do número de voluntários sadios a ser empregado (de acordo com a variabilidade do fármaco), na elaboração da lista de randomização e na determinação do tipo de análise estatística que será aplicada (Storpiertis, 2002).

O planejamento e a execução de um ensaio de bioequivalência, bem como a análise estatística efetuada, devem assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos, uma vez que devem ser consideradas as seguintes situações:

1. Concluir pela bioequivalência entre medicamentos genéricos e de referência, equivocadamente, coloca em risco a saúde da população usuária;
2. Concluir pela não bioequivalência entre os mesmos, equivocadamente, corresponde a prejuízos para o fabricante do genérico que irá modificar a formulação e/ou o processo de fabricação de seu produto e submetê-lo a novo ensaio, desnecessariamente. Deve-se também considerar os aspectos éticos envolvidos na realização de um novo ensaio (Storpiertis, 2002).

Esta etapa, bem como as demais, devem obedecer rigorosamente às normas estabelecidas pelo órgão regulador disponíveis em BRASIL (2003c).

3.7.2- Parâmetros farmacocinéticos

Concentração máxima ($C_{\max}$)

O pico da curva concentração-tempo indica a concentração máxima do fármaco, observada na matriz biológica depois da administração de uma dose. $C_{\max}$ é a medida que representa a maior concentração do fármaco observada e é diretamente proporcional ao montante total da droga absorvida pelo organismo. Para as formas farmacêuticas convencionais, como comprimidos ou cápsulas, a $C_{\max}$, normalmente ocorre em apenas um ponto, denominado $T_{\max}$. A quantidade de fármaco geralmente é expressa em termos de sua concentração relativa a um volume específico de sangue, soro ou plasma (ANVISA, 2002).

Tempo de concentração máxima ($T_{\max}$)

Esse parâmetro reflete a velocidade de absorção do fármaco em uma determinada forma farmacêutica. É a sua velocidade de absorção que determina o tempo necessário para que a concentração máxima efetiva seja atingida e, assim, tenha início o efeito farmacológico desejado. A velocidade de absorção também influencia o tempo em que o fármaco entra na corrente sangüínea. O $T_{\max}$ é, exatamente, o tempo onde foi encontrado o $C_{\max}$ ou seja, a maior concentração encontrada (Pitta, 2004).

Área sob a curva (ASC)

A ASC de um gráfico concentração-tempo representa a quantidade total de fármaco absorvida depois da administração de uma dose.

A área abaixo da curva pode ser medida matematicamente, por um método conhecido por método dos trapezóides, do tempo zero ao tempo t (ASC_0-t), onde t é o tempo relativo à última concentração determinada experimentalmente, expressa em quantidades do fármacos/volume de líquido x tempo.

Calcula-se também a área sob a curva do tempo zero ao tempo infinito ($ASC_{0-inf} = ASC_{0-t} + Ct/K_e$, onde Ct é a última concentração do fármaco determinada experimentalmente e K_e é a constante de eliminação da fase terminal. A ASC_{0-t} deve ser igual ou superior a 80% da ASC_{0-inf} (Chow e Liu, 2000) .

Definidos e encontrados todos os parâmetros necessários para o estudo, o passo seguinte será como comparar as biodisponibilidades do medicamento de referência com o medicamento em teste.

3.7.3- Testes de bioequivalência e sua importância para os genéricos

Vale lembrar que a biodisponibilidade é uma propriedade biológica, avaliada após a administração do medicamento no organismo por uma via extravascular, por meio da determinação de parâmetros relacionados à absorção do fármaco. Ela se refere à quantidade de fármaco absorvido a partir da forma farmacêutica administrada e à velocidade do processo de absorção (United States, 1998). Ou seja, indica a velocidade e a extensão da absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva de concentração vs tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina.

Vale lembrar que, por se tratar de um parâmetro relacionado à absorção, o teste não se aplica a fármacos administrados por via intravascular, uma vez que o processo de absorção não ocorre nesta via. Da mesma forma que a absorção é a transferência do fármaco do local de administração para a corrente sanguínea. Assim, por definição, um fármaco administrado por via intravenosa é 100% biodisponível, isto é, toda a dose do fármaco é administrada diretamente na corrente sanguínea e está disponível para interagir com os receptores e desencadear o efeito farmacológico (Storpiotis, 1999).

Sabendo-se que a ação terapêutica de uma substância ativa depende da sua disponibilização no local de ação, numa concentração efetiva, durante um período determinado, é previsível que, na presença de resultados farmacocinéticos semelhantes, se obtenha uma ação terapêutica equivalente. Ou seja, se um mesmo indivíduo apresentar durante um período adequadamente estabelecido, concentrações plasmáticas semelhantes

de um mesmo fármaco, a partir de dois medicamentos, supõe-se que se observem efeitos similares.

Diante disso, define-se a bioequivalência como sendo um estudo comparativo entre as biodisponibilidades de dois medicamentos que possuem a mesma indicação terapêutica e que são administrados pela mesma via extravascular e na mesma dose molar. Portanto, dois medicamentos são considerados bioequivalentes quando não forem constatadas diferenças estatisticamente significativas entre a quantidade absorvida e a velocidade da absorção.

3.7.4- Testes de bioequivalência e a garantia da qualidade dos medicamentos genéricos

Os testes exigidos de bioequivalência são realizados em laboratórios credenciados pela ANVISA. Comparam o genérico ao medicamento de referência e ambos devem ter a mesma qualidade e eficácia terapêutica. Como esses testes são “temporais”, não são a garantia de que o laboratório, durante a produção em série, manterá a fórmula ou não promoverá falsificação, reduzindo a proporção de substâncias no seu produto. Isso, no entanto, não se refere apenas à produção de genéricos. A garantia da qualidade permanente de todos os medicamentos – sejam de marca, genéricos ou similares – deve ser preocupação constante dos órgãos governamentais.

O responsável pela garantia da qualidade do medicamento genérico é o fabricante, segundo as Boas Práticas de Fabricação e Controle - BPFs. Compete à Vigilância Sanitária não só autorizar o registro, mas, principalmente, monitorar e fiscalizar sistematicamente e com rigor as práticas de fabricação.

3.8- Aspectos regulatórios da Vigilância Sanitária dos medicamentos genéricos no Brasil e seu impacto na saúde pública

A lei “mãe” que rege a Vigilância Sanitária sobre os medicamentos, correlatos, insumos farmacêuticos, entre outros, é a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, já com alterações em alguns de seus artigos. Em 1993, foi publicado no Diário Oficial da União

(D.O.U), o decreto nº 793, onde instituiu o nome genérico na embalagem. Tal Decreto, embora não fosse um regulamento técnico, foi o que primeiro levantou a questão de testes de biodisponibilidade e bioequivalência no Brasil, até então ignorada. Já em 1996, com a Lei nº 9.276, foi estabelecida a proteção patentária para os medicamentos inovadores. Em 1999, com a Lei nº 9.787, foi instituído no Brasil o medicamento genérico, regulamentado pela Resolução nº 391, de agosto de 1999. Esta resolução já sofreu algumas atualizações, e a primeira ocorreu em 2001, com a publicação da Resolução RDC nº 10. A segunda ocorreu em 2002, pela publicação da Resolução RDC nº 84. E a terceira ocorreu em 2 de junho de 2003, pela Resolução RDC nº 135 (Pádua, 2003).

Paralelamente à implantação da Lei dos Genéricos no Brasil, foi criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Sendo essa uma autarquia, sob regime especial, ou seja, uma agência reguladora caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes, durante o período de mandato e com autonomia financeira. Tal órgão incorporou as competências da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, adicionadas a novas missões: coordenação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), monitoramento de preços de medicamentos, controle de propaganda de produtos sujeitos ao regime de vigilância sanitária, entre outros, cuja missão é proteger e promover a saúde da população, garantindo a segurança sanitária de produtos e serviços, participando da construção de seu acesso. A ANVISA está vinculada ao Ministério da Saúde, fornecendo relatórios periódicos de desempenho (Pádua, 2003).

Dessa maneira, antes do medicamento, o que existia no Brasil eram medicamentos inovadores sem proteção patentária (anteriores a 1996), medicamentos inovadores com proteção patentária (após 1996) e medicamentos comercializados por simples similaridade (com ou sem marca). Aos similares, para terem concessão do registro junto ao Ministério da Saúde e serem comercializados, bastava apenas a apresentação de um relatório técnico relativamente simples, constante nos requerimentos estabelecidos na Instrução Normativa nº 1/97, enquanto, o dossiê a ser apresentado ao Ministério da Saúde para obtenção do registro genérico era e ainda é composto por rigorosos testes de qualidade como os testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência, apresentação de certificado

de boas práticas de fabricação e controle de qualidade da empresa, entre outros. Sendo assim, até a publicação da Resolução RDC nº 133, de 2 de junho de 2003, os medicamentos genéricos apresentavam, sem dúvida, maior controle sanitário por parte do Órgão Regulador, quando comparados aos medicamentos similares. Dessa forma, fazia-se necessário colaborar com a população no sentido de saber identificar o medicamento genérico na farmácia. Assim, com a Resolução nº 36/01, foi concedido prazo de seis meses para cessar a comercialização dos similares antes comercializados com denominação genérica. Caso a empresa tivesse interesse em manter estes medicamentos similares no mercado, era obrigatória a inclusão de marca ou nome comercial. Juntamente, outra estratégica foi utilizada pelo governo para facilitar distinção na farmácia entre medicamentos similares e genéricos, a instituição da tarja amarela na embalagem externa dos medicamentos genéricos. Esta medida foi oficializada pela Resolução nº 47/01. Inevitavelmente, em 2 de junho de 2003, foi publicada a nova regulamentação para os medicamentos similares, a Resolução nº 133/03. Esta, estabelece, entre outros requerimentos semelhantes aos dos medicamentos genéricos, estudos de equivalência farmacêutica e/ou biodisponibilidade relativa com o medicamento de referência aprovado pela ANVISA (Pádua, 2003).

A introdução do medicamento genérico acelerou o processo de realização de testes mais rigorosos de qualidade para os medicamentos em geral e, com isso, a sociedade foi beneficiada. Além da qualidade, o medicamento genérico propiciou à população a queda dos preços do medicamento em geral, pois o medicamento genérico tem que ser, obrigatoriamente, mais barato que o medicamento referência, para concessão de seu registro. Os medicamentos inovadores e mesmo os similares, sob pressão dessa forte concorrência, de maneira geral, tiveram seus preços reduzidos.

De acordo com esses fatos, o medicamento genérico trouxe inúmeros benefícios à população. Porém, a finalidade principal do governo ao instituir o medicamentos genérico foi aumentar o acesso da população mais carente aos medicamentos, o que não foi plenamente atingido, como dito anteriormente (Pádua, 2003).

3.9- Métodos analíticos aplicados a testes de bioequivalência

O desenvolvimento do método é a etapa mais importante nos estudos de bioequivalência, visto que a confiabilidade dos resultados desses estudos está na dependência direta da etapa analítica. O método de quantificação deve apresentar sensibilidade, especificidade/seletividade para cada analito, precisão e exatidão além de ser relativamente simples, de modo a minimizar os erros (Gonçalves, 2005).

Durante esta etapa é de suma importância o monitoramento de todos os passos do método de preparação e análise das amostras, os quais envolvem os processos de extração, separação, purificação, identificação e quantificação do fármaco na matriz biológica (Bressole, et al., 1996 e Causon, 1997).

A quantificação de fármacos em amostras biológicas, sobretudo em plasma de voluntários e/ou pacientes, coletadas em estudos clínicos de farmacocinética têm sido procedimento usual na determinação da segurança e eficácia de medicamentos (Queiroz e Lanças, 2005).

Matrizes biológicas como sangue, plasma, urina, saliva e fluido cérebro espinhal e tecidos contêm grande quantidade de compostos endógenos que podem interferir no método analítico (Gonçalves, 2005). O conhecimento dessas matrizes e da farmacocinética do princípio ativo ordena o desenvolvimento das técnicas de extração e detecção utilizadas para assegurar especificidade/seletividade para a determinação do limite de quantificação e faixa linear (Bedor, 2007).

Os componentes endógenos presentes são potenciais interferentes em análises cromatográficas (Queiroz et al., 2001). O pré-tratamento das amostras tem a finalidade de eliminar os interferentes, extrair o fármaco com altas recuperações e, em determinadas ocasiões, pré-concentrar, quando se faz necessário um aumento na sensibilidade do método (Queiroz e Lanças, 2005).

O desenvolvimento de métodos de extração está relacionado com as propriedades dos analitos de interesse, o limite inferior de quantificação desejado, a natureza da matriz, o tipo de cromatografia utilizada para etapa de separação e o tipo de detector utilizado para a quantificação (Hennion, 1999)

As técnicas mais comumente utilizadas para extração e concentração de compostos presentes em fluidos biológicos têm sido: precipitação de proteínas, extração líquido-líquido e extração em fase sólida (Barrionuevo e Lanças, 2001 e Alnouti, et al., 2005).

O desenvolvimento de um método cromatográfico nem sempre é uma tarefa simples, visto que, um número substancial de fatores relacionados ao fármaco em estudo, pode influenciar no resultado final (Ardrey, 2003).

Quanto aos testes de bioequivalência, não se tem um consenso em relação ao melhor método na mensuração da concentração de fármacos nas amostras biológicas, no entanto, sabe-se que o método precisa ser exato, preciso e específico. Assim, métodos que envolvam cromatografia líquido-gás, CLAE, técnicas de fluorescência, espectrometria de massa radioimunoensaio, entre outros, podem ser empregados.

3.9.1- Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido (ELL) é um processo de separação que se utiliza da propriedade de imiscibilidade de líquidos com a separação de misturas líquidas heterogêneas. Nesta técnica de extração ocorre a partição entre as duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) (Queiroz et al., 2001).

Para o desenvolvimento de método de extração utilizando solventes orgânicos como extratores é necessário o conhecimento das características físico-químicas do analito, tais como: polaridade, pKa, solubilidade, coeficiente de partição.

A ELL apresenta vantagens e desvantagens na sua utilização. Dentre as vantagens podemos citar o baixo custo e a boa aplicabilidade em um amplo espectro de compostos, com extratos limpos, boas recuperações e boa reprodutividade. A formação de emulsão entre a fase aquosa e a fase orgânica durante o processo de agitação, o alto nível de resíduos tóxicos ao meio ambiente e aos profissionais (Neto e Nunes, 2003) além dos processos demorados diante do elevado número de amostras se caracterizam como as

principais desvantagens da ELL, além de não se apresentar adequada para a extração de compostos altamente polares.

3.9.2- Extração em fase sólida

A extração em fase sólida (EFS) é uma técnica de separação líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão, também conhecida como cromatografia clássica (Lanças, 2004).

Em meados da década de 70, a EFS surgiu como uma nova técnica utilizada na diminuição dos problemas existentes na quantificação de compostos em matrizes complexas como o plasma humano. Hoje em dia a extração em fase sólida se configura como uma das ferramentas mais poderosas para a extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas (Queiroz et al., 2001).

As vantagens mais significativas da EFS em relação à ELL são: rapidez, recuperações mais altas, boa precisão e exatidão, extratos muito limpos, capacidade de processar pequenos e grandes volumes de amostras, cartuchos e colunas de extração descartáveis, análise de analitos voláteis, não há formação de emulsões e obtenção de uma alta seletividade pela variedade de fases sólidas e procedimentos de extração disponíveis (Lingeman e Hoekstra-Oussoren, 1997).

3.9.3- Cromatografia líquida de alta performance (CLAE)

A CLAE é um sistema de separação automatizado que funciona com uma fase móvel passando por uma fase estacionária sob alta pressão, o que originalmente levou à denominação de cromatografia líquida de alta pressão. Esta terminologia foi trocada por “cromatografia líquida de alta eficiência”, quando se constatou que o grande aporte da técnica era a melhor capacidade de separação cromatográfica e não a maior pressão e com o desenvolvimento de partículas de sílica peliculares porosas, o que permitiu operar-se dentro

de fluxos e pressões menores, e com maior grau de eficiência no processo de separação (Neto e Nunes, 2003).

Para uma melhor compreensão de um sistema de CLAE, podemos dividi-lo em seis módulos principais (Figura 1):

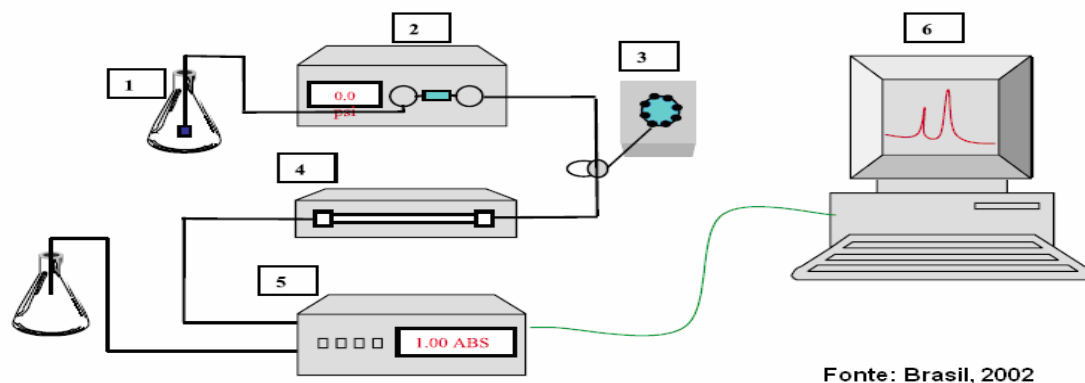


Figura 1- Representação esquemática de um sistema de CLAE: 1) Reservatório de fase móvel; 2) Bomba de alta pressão; 3) injetor de amostra; 4) Compartimento para coluna cromatográfica; 5) Sistema de detecção; 6) Sistema de dados.

Antes que as amostras sejam injetadas no CLAE, é necessário que as mesmas sejam previamente tratadas. Utiliza-se como pré-tratamentos: precipitação de proteínas do soro ou plasma, extração líquido-líquido e líquido-sólido (acima). Adiciona-se um padrão interno à amostra no início do processo para compensar perdas por transferência e variações de volume nas diferentes etapas, uma vez que o método extrativo do analisado possa vir a interferir na exatidão, precisão e seletividade do processo. A recuperação do analisado não precisa ser necessariamente de 100%, mas a extensão da recuperação do analisado e do padrão interno deve ser consistente, precisa e reprodutiva (Leslie, 1994 e United States, 2001).

O CLAE acoplado à espectrometria de massa é um método de separação química utilizado em testes de bioequivalência para análise de fármacos em fluidos biológicos com a finalidade de purificar o fluido biológico avaliado para depois introduzir

as diferentes substâncias separadas no dispositivo de análise que é o espectrômetro de massas (Leslie, 1994 e Hoffmann et al., 1996). Sem esta etapa preliminar, muitas amostras biológicas iriam produzir uma grande quantidade de picos de difícil interpretação, em virtude da multiplicidade de substâncias presentes. Foi descrito que este método é de elevada especificidade e sensibilidade, o que o torna muito adequado na análise de fármacos e seus metabólitos, substâncias polares e macromoléculas (Lelslie, 1994 e Hoffmann et al., 1996).

3.9.4- Espectrometria de massa

O espectrômetro de massas é um instrumento com a capacidade de determinação de massa molar de compostos eletricamente carregados. O espectrômetro pode ser entendido como um instrumento composto por uma fonte de íons, um separador (filtro de massas) que na realidade mede a relação massa/carga (m/z) e um detector (Moraes e Lago, 2003).

Existem diferentes mecanismos de filtragem e detecção, porém, a etapa de ionização dos compostos é a que tem a maior variedade de técnicas, pela natureza diversa das amostras e das espécies de interesse (MORAES e LAGO, 2003).

A figura abaixo, mostra a composição de um espectrômetro de massas e as principais técnicas utilizadas na fonte de íons, filtro de massas e detecção dos compostos.

A espectrometria de massas é utilizada na análise de amostras sólidas, líquidas ou gasosas, contendo espécies voláteis ou não e com aplicações voltadas desde a análise elementar até a composição de proteínas que requer diferentes processos de ionização (Moraes e Lago, 2003).

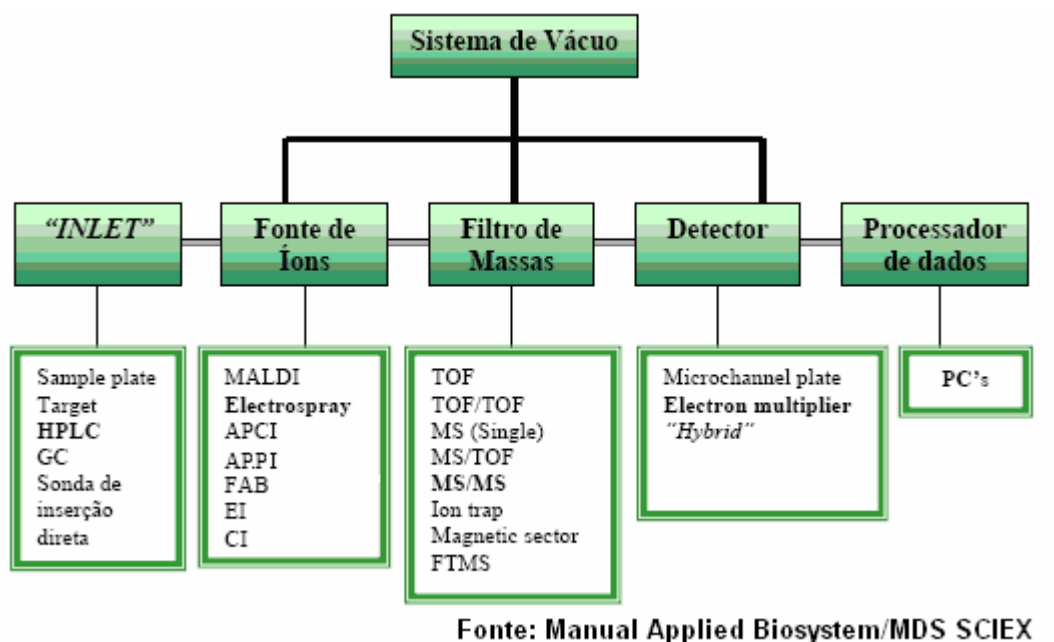
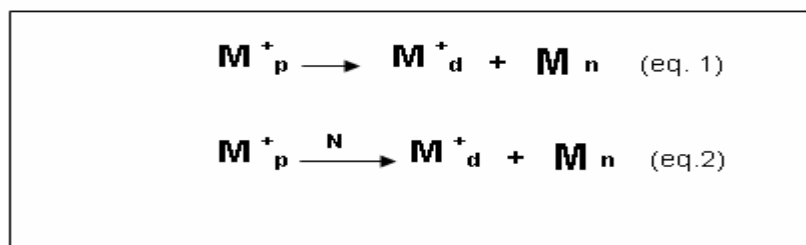


Figura 2- Diagrama dos tipos de espectrômetro de massas e suas diversas técnicas

3.9.5- Espectrometria massa-massa (MS/MS)

3.9.5.1- Conceitos e princípios

O conceito básico da espectrometria do tipo massa-massa (MS/MS) pode ser descrito como a seleção de um íon pai no primeiro estágio da análise, e a análise de íon (s) filho (s), frequentemente formado(s) em um processo CID (dissociação induzida por colisão), em um segundo estágio da análise (Kenereth et al., 1988).



Das três espécies da equação 1 (eq.1), apenas o íon filho atualmente é detectado. Entretanto, como o primeiro analisador é ajustado para deixar passar apenas o íon precursor, a relação da equação 1 determina implicitamente (M_n). O processo CID é representado pela equação 2, sendo (N) o gás inerte utilizado para a colisão (Kenereth et al., 1988).

Em resumo, no espectrômetro de massa, a substância é convertida em forma volátil, introduzida em uma câmara de vácuo e, então, ionizada. Os íons resultantes são acelerados em um campo elétrico como um feixe, que é defletido, em geral, pela aplicação de um campo magnético transverso. O grau de deflexão de íons individuais depende da razão de sua massa para sua carga (razão m/z), sendo aqueles com maior razão m/z defletidos em menor grau. Ao final do equipamento encontra-se uma estreita fenda, através da qual uma parte do feixe de íons passa a um detector, que mede sua intensidade em um momento qualquer. Ao variar a potência do campo magnético, assim também o feixe de íons (separado de acordo com suas razões m/z), passa através da fenda do detector em seqüência, produzindo um espectro (Figura 4 e 5).

A técnica de MS/MS é comumente aplicada em sistemas de triploquadrupolo, o que lhe confere alta seletividade, pois a seleção do íon precursor no primeiro quadrupolo (Q1), a fragmentação na célula de colisão (Q2) e o produto ou fragmento específico selecionado em Q3, permitem monitorar o sinal composto (precursor-fragmento) a ser quantificado. Este modo é conhecido como Single Reaction Monitoring ou Multiple Reaction Monitoring (Figura 6), onde mais de um composto está sendo monitorado, ou seja, quantificado em única corrida.

3.9.5.2- Fonte ionizadora

Diferentes interfaces são utilizadas no acoplamento entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massa, o que pode ser um problema, pois o espectrômetro requer íons em fase gasosa e as substâncias normalmente analisadas pelo CLAE são compostos não voláteis (Hoffmann et al., 1996). Tanto o eletrospray convencional quanto o

z-spray, parecem ser os métodos ideais de ionização entre o CLAE e a espectrometria de massa.

Porém, a APPI (Atmospheric Pressure Photo Ionization) é uma fonte de ionização por pressão atmosférica que melhora significativamente a sensibilidade e é ideal para a análise de esteróides e hormônios.

A figura 3, representa a fonte APPI, o que ajudará a entender seu processo de ionização. As setas vermelha e laranja indicam as diferenças da APPIxAPCI. A seta laranja indica a lâmpada de UV, ou seja, de Kriptônio que fornece 10 eV de energia inicia a reação. Os solventes da fase móvel da cromatografia líquida não absorvem ou têm pouca absorção do UV, por isso é necessária a introdução de dopantes (seta vermelha). Os dopantes, geralmente tolueno (8,83 eV) ou acetona (9,70 eV), são reagentes importantes na reação íon molécula e são introduzidos na fonte através de um gás auxiliar (GS 2 ou Aux.), vaporizando com o auxílio da sonda aquecida (heated nebulizer). Quando a mistura fase móvel e compostos entra na região de ionização (círculo pontado), as moléculas de dopantes capturam a radiação UV e são predominantemente ionizadas em consequência da alta concentração deste presente no gás auxiliar. Com a grande quantidade de fóton-íons formados pelo dopante, inicia-se um processo de reação em cascata de íon molécula, envolvendo as moléculas dos solventes ou fase móvel. Como produto final desta reação formam-se os compostos ionizados, por:

- Fóton transferência $[M + H]^+$ ou por transferência de carga $[M]^+$ dependendo da natureza do composto ionizado (modo positivo) ou;
- Ejeção de prótons $[M - H]^-$ (modo negativo)

Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI)

The PhotoSpray® Source (Figure 6) provides greater ionization efficiency for low-polarity compounds

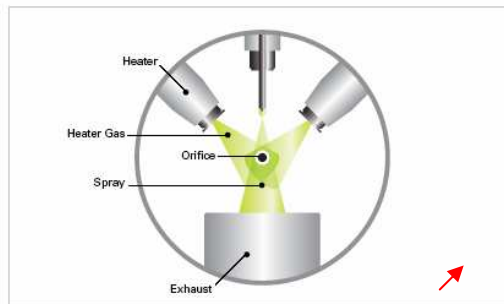


Figure 4. The TurboV™ Source

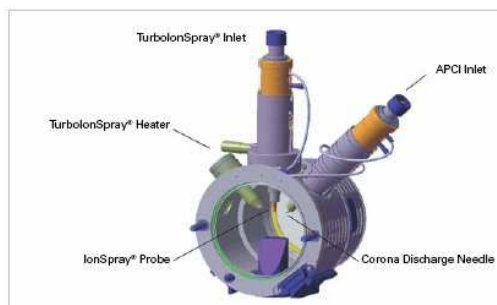


Figure 5. DuoSpray™ Source

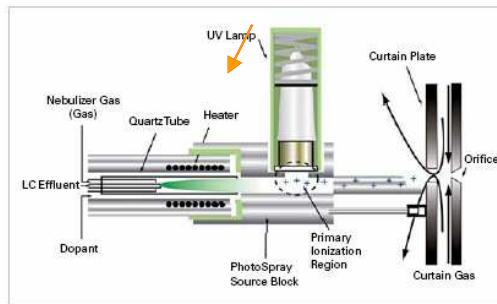


Figure 6 PhotoSpray® Source

Fonte: Manual Applied Biosystems/MDS SCIEX

Figura 3- Fonte Photospray Íon (APPI)

3.9.5.3- Decomposição iônica ativada por colisão (CID)

O método MS/MS requer a fragmentação dos íons precursores selecionados no primeiro analisador para que o segundo realize a análise dos íons produtos. A base do processo CID pode ser descrita como: a) a colisão de um íon com o um gás inerte promove um estado de excitação iônica (por causa de uma fração da energia de colisão ser transformada em energia interna); b) este aumento da energia interna faz com que o íon torne-se instável decompondo-se (Kenereth et al, 1988).

3.9.5.4- Analisadores de massa tipo quadrupolo

Assim como há uma grande variedade de fontes ionizadoras, há também vários tipos de analisadores de massa conforme visto anteriormente (Figura 2). As três características mais importantes em um analisador são: o limite de massa superior, a transmissão e a resolução. O limite de massa determina o maior valor da razão m/z que

pode ser medida. A transmissão é a razão entre o número de íons que alcançam o detector e aqueles que são produzidos na fonte. O poder de resolução é a habilidade de produzir sinais distintos para dois íons de pequena diferença de massa.

O quadrupolo é um dispositivo que usa a estabilidade das trajetórias para separar íons de acordo com suas razões m/z . Em um analisador de massa quadrupolar os tubos ou hastes (polos) estão dispostos equidistantemente de um eixo central imaginário na forma de um quadrado (Figuras 4 e 5).

Potenciais estáticos e alternados são aplicados em oposição aos pares de tubos, resultando assim um campo elétrico flutuante. Os íons positivos ou negativos vindos da fonte são injetados ao longo do eixo central do quadrupolo, que selecionará apenas os íons de massa de interesse, permitindo que estes sejam filtrados para serem detectados no analisador de massa. Portanto, os íons de massa superior ou inferior àquela selecionada serão defletidos e perdidos nas laterais do aparelho. Esta seleção é feita pela variação do potencial elétrico ou frequência; geralmente é mais fácil manter a frequência constante e alterar a voltagem. Pela alteração do campo elétrico, as massas de todos os íons formados podem ser escaneadas sequencialmente da maior para a menor ou vice-versa, originando assim, um espectro de massa (Hoffmann et al., 1996).

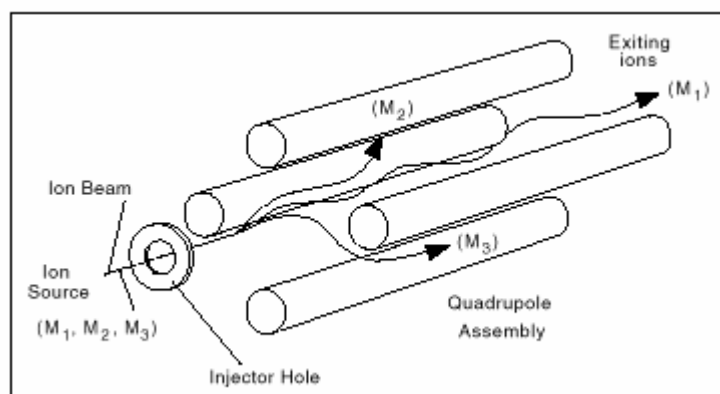


Figura 4- Esquema do analisador quadrupolar

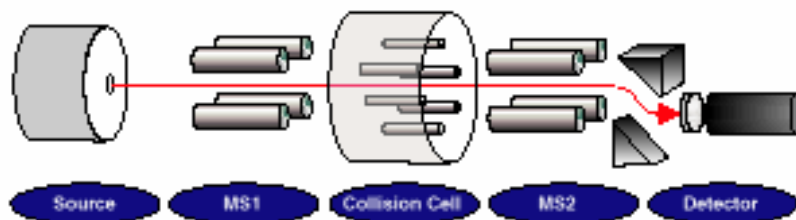


Figura 5- Esquema de operação de analisadores quadrupolares

3.9.5.5- Espectrômetro de massas tipo triploquadrupolo LC-MS/MS

A técnica de MS/MS é comumente aplicada em sistemas de triploquadrupolo, o que lhe confere alta seletividade, um íon previamente separado no primeiro quadrupolo (Q1) é fragmentado no segundo quadrupolo (Q2), através da aplicação de uma frequência de ressonância elétrica e de choques com um gás inerte (N₂). Os fragmentos gerados no Q2, do íon selecionado no Q1, são separados por suas razões massa/carga (m/z) no terceiro quadrupolo (Q3) e permitem monitorar o sinal composto (precursor-fragmento) a ser quantificado. Este modo é conhecido como Single Reaction Monitoring ou Multiple Reaction Monitoring (Figura 5) , onde mais de um composto está sendo monitorado, ou seja, quantificado em única corrida.

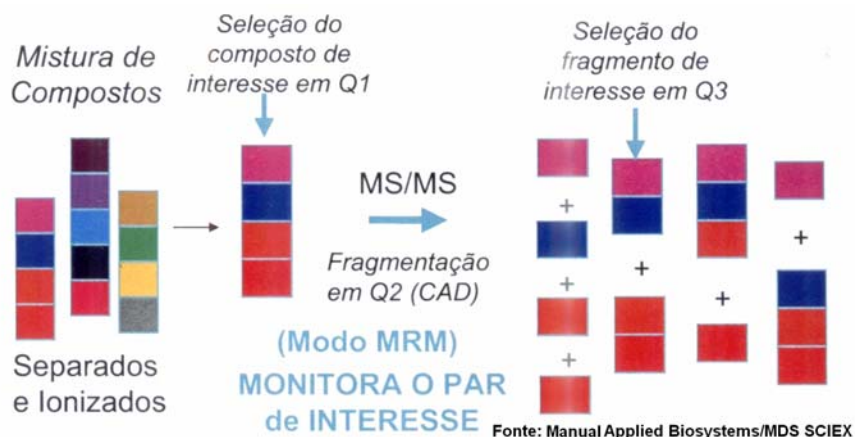


Figura 6- O mecanismo de MRM nos sistemas de LC-MS/MS

A Figura 7 também esquematiza o processo de análise (MS2) em um espectrômetro do tipo MS/MS, onde uma amostra contendo a mistura com os compostos R, M e N após o processo de ionização formará as espécies R^+ , M^+ e N^+ . Através do filtro de massas Q1, apenas a espécie M^+ é selecionada e focalizada para o Q2, onde após processo de fragmentação formará as espécies A^+ , B^+ e C^+ . Após a passagem pelo terceiro filtro de massas, Q3, há a seleção apenas do fragmento B^+ para detecção. Este processo de seleção e monitoramento de pares de íons ascendentes e descendentes torna a análise por MS/MS extremamente seletiva e sensível. Os respectivos íons filtrados pelos analisadores de massas são comumente conhecidos como “íons pais” e “íons filhos” ou “íons-precursores” e “íons-produto”.

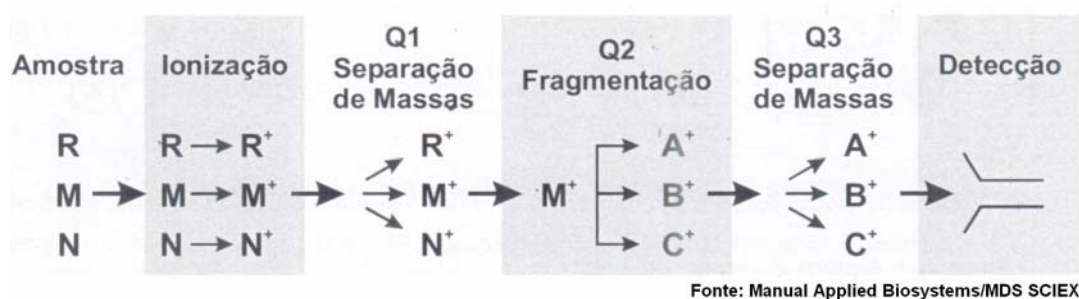


Figura 7- Esquema de análise em espectrômetro de massas do tipo triploquadrupolo

Na Figura 8, temos um esquema do interior do espectrômetro de massas do tipo triploquadrupolo.

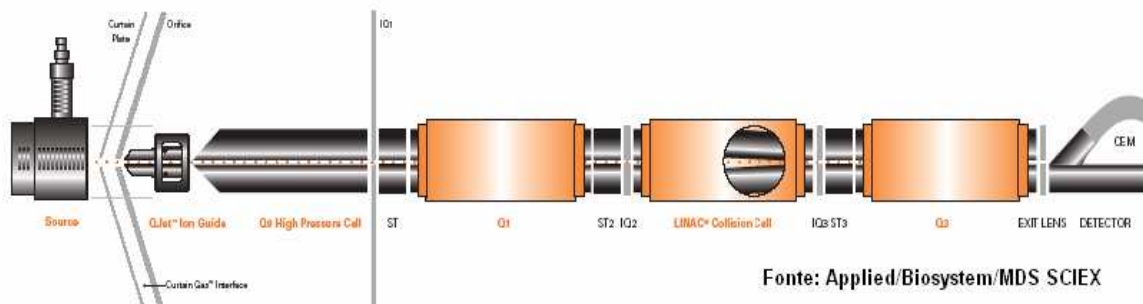


Figura 8- Esquema do Espectrômetro de Massa triploquadrupolar

3.9.5.6- Sistema integrado de LC-MS/MS

O acoplamento do detector de MS/MS à técnica de cromatografia líquida (Figura 9) permite que os compostos pré-separados por esta última sejam identificados e quantificados com alto grau de seletividade, sensibilidade e confiabilidade. Com isso, os compostos presentes em amostras complexas (ex. fluídos biológicos, alimentos) podem ser analisados livres de interferentes, proporcionando análises rápidas, sendo os métodos de purificação das amostras mais simples, consumindo menos tempo de preparo e reagentes. Outra vantagem da cromatografia líquida é que as colunas e métodos aplicados, principalmente à fase-reversa, resolvem 90% dos casos da separação de compostos orgânicos e os solventes utilizados nesta, como metanol, acetonitrila e água, são compatíveis e, em alguns casos, imprescindíveis para a formação dos íons nas fontes de API. Considerando que o espectrômetro do tipo tandem MS/MS é um filtro de massas de alta especificidade e que o sinal de um composto é monitorado pelo par precursor/fragmento (daughter íon), pode-se detectar inúmeros compostos em uma única corrida cromatográfica, em tempo curto e sem interferência, pois os compostos não necessitam ser separados com alta resolução cromatográfica, diferente da detecção universal característica do detector de ultravioleta/visível (UV-Vs).

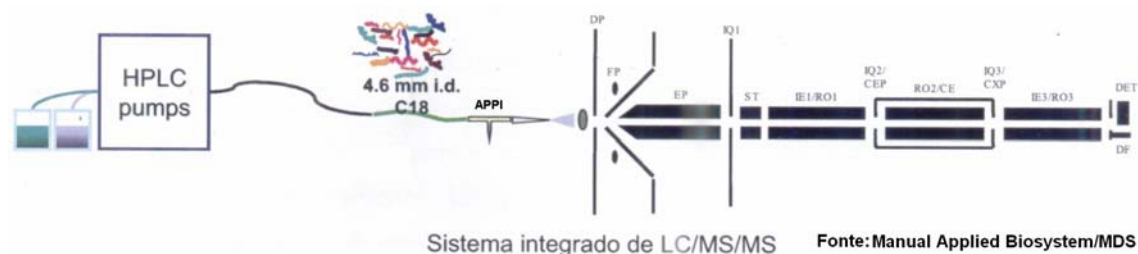


Figura 9- Sistema integrado de LC-MS/MS

3.10- Contraceptivos orais

3.10.1- Breve histórico dos contraceptivos orais

A pílula anticoncepcional começou a ser comercializada na década de 60. Ela foi um importante gatilho para a chamada revolução sexual, que permitiu às mulheres dissociarem o sexo da reprodução. Antes do anticoncepcional oral, os principais métodos contraceptivos eram o preservativo (a camisinha), a tabelinha e o coito interrompido.

Desde que foi inventada, a pílula é feita com base nos hormônios femininos progesterona e estrogênio. A primeira geração de anticoncepcionais orais trazia uma dose de hormônio muito alta, causando efeitos adversos como inchaço, ganho de peso, aumento da oleosidade da pele, além de outros riscos à saúde da mulher. A dose do hormônio estrogênio de um único comprimido de primeira geração é praticamente a mesma de uma cartela inteira atual.

Menos hormônio, menos reações adversas e a mesma segurança. Assim evoluiu a pílula, que hoje está em sua terceira geração. Além de continuarem sendo um dos mais seguros métodos contraceptivos, os anticoncepcionais também são indicados para casos de síndrome de ovários policísticos, tensão pré-menstrual e até anemia. Há estudos que apontam, inclusive, diminuição nos riscos de alguns tipos de câncer¹.

3.10.2- Dados gerais do acetato de ciproterona

O acetato de ciproterona é um hormônio esteróide com propriedades progestágeno e antiandrógeno, e é extensamente usado na terapia de câncer de próstata em homens, e ou em combinação com Etinilestradiol, para o tratamento de formas diferentes de acne e casos leves de hirsutismo em mulheres (BAUMANN et al., 1996).

¹ http://www.indice-idi.com.br/pesq/portugues/imprensa/release/ems_0505.php. Acesso em 18 mai. 2008.

Seu nome químico é (1beta,2beta)-17-Acetoxi-6-cloro-1,2-diidro-3'Hciclopropa[1,2]pregna-1,4,6-triene-3,20-dione; e seu peso molecular é de 416,95. Sua fórmula empírica é denominada por $^{2}\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{ClO}_4$. Segue abaixo sua estrutura molecular:

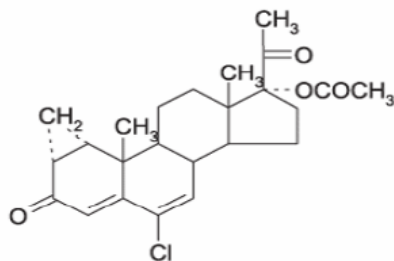


Figura 10- Estrutura molecular do acetato de ciproterona

O acetato de ciproterona, apesar do efeito antiandrógeno descrito, possui um marcante efeito progestogênico, por isso, administrado isoladamente ocasiona distúrbios do ciclo menstrual que, todavia não ocorrem durante o tratamento com ciproterona+etinilestradiol.

O tratamento de acetato de ciproterona e etinilestradiol inibe a ovulação, impedindo assim uma possível gravidez. Portanto, não é necessário o emprego simultâneo de contraceptivos hormonais ou de outro tipo (DEF, 2002/03).

3.10.2.1- Aspectos farmacêuticos do acetato de ciproterona

Acetato de ciproterona apresenta-se como pó cristalino, branco ou quase branco. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em cloreto de metileno, facilmente solúvel em acetona, solúvel em metanol e pouco solúvel em etanol. Conservar em recipientes hermeticamente fechados e protegidos da luz³.

² [http:// www.desano.com/product/cyproterone%20acetate.htm](http://www.desano.com/product/cyproterone%20acetate.htm): Acesso em 29/02/2008.

³ <http://www.usoracional.com.br/index.arquivos/reprodutor.html#Toc24799719>: Acesso em 13/02/2008.

3.10.2.2- Farmacocinética do acetato de ciproterona

O acetato de ciproterona é lentamente absorvido pelo trato gastrointestinal com pico concentração plasmática alcançada em três a quatro horas, cuja taxa de ligação às proteínas plasmáticas é de 96% e meia-vida de aproximadamente trinta e oito horas³. O acetato de ciproterona é metabolizado pelo fígado. A excreção se faz pela urina, cerca de 35%. Não há dados quando à excreção no leite materno. Aproximadamente 90% de uma dose oral foram detectados nas fezes em oito dias. Resíduos de metabólitos sofrem excreção biliar, cujo principal metabólito é o 15 beta-hidroxiprotesterona que possui atividade antiandrogênica (Martindale, 2006).

A absorção digestiva de acetato de ciproterona é pequena. O acetato de ciproterona acumula-se no tecido adiposo, daí se liberando por período de duas semanas após a suspensão da terapia.

3.10.3- Dados gerais do etinilestradiol

O etinilestradiol, um estrógeno sintético, é um dos componentes mais comuns de formulações de contraceptivos orais. O etinilestradiol é principalmente metabolizado por 2-hidroxilação seguidos por glucuronidação e conjugação de sulfato (Wilson, et al., 2004).

Seu nome químico é 17a-etinil-1,3,5(10)-estratriene-3,17b-diol, e seu peso molecular é de 296,4084. Sua fórmula empírica é denominada por $C_{20}H_{24}O_2$.

Segue abaixo sua estrutura molecular:

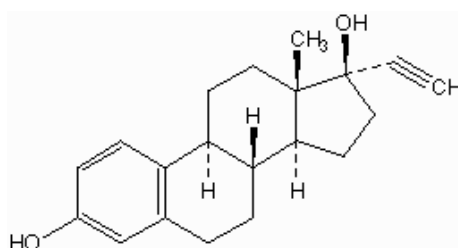


Figura 11- Estrutura molecular do etinilestradiol

⁴ <http://www.tradekey.com/ks-Beta-Estradiol>: Acesso em 05/02/2008.

Contraceptivos esteróides orais tem sido amplamente utilizados há mais de 25 anos. O Etinilestradiol foi o componente padrão de estrogênio mais utilizado daquele tempo. Houve reduções em dose durante os anos para o nível de uso habitual para 30-35 µg. O ingrediente progestágeno em preparações tem sido alterado durante os anos (Orme, 1991).

3.10.3.1- Aspectos farmacêuticos do etinilestradiol

O etinilestradiol apresenta-se na forma de pó cristalino, branco ou amarelo esbranquiçado, inodoro. É praticamente insolúvel em água, livremente solúvel em álcool, clorofórmio, éter, óleos vegetais. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos. Deve ser armazenado protegido da luz em recipiente hermeticamente fechado e não metálico.

3.10.2.2- Farmacocinética do Etinilestradiol

O Etinilestradiol administrado por via oral é rápida e completamente absorvido a partir do trato gastrointestinal. Os níveis séricos máximos de 54 a 100 pg/mL são alcançados em uma a duas horas. Durante a absorção e metabolismo de primeira passagem, o Etinilestradiol é metabolizado extensivamente, resultando em uma biodisponibilidade oral média de aproximadamente 45%, com uma ampla variação inter-individual de cerca de 20 a 65%. A ingestão concomitante de alimentos reduziu a biodisponibilidade do Etinilestradiol em cerca de 25% dos indivíduos estudados, enquanto nenhuma alteração foi observada nos outros indivíduos. O mesmo liga-se alta e inespecificamente à albumina sérica (aproximadamente 98%) e induz um aumento das concentrações séricas de SHBG (P.R., 2000).

Os níveis séricos de etinilestradiol diminuem em duas fases de disposição, caracterizadas por meias-vidas de cerca de uma hora e dez a vinte horas, respectivamente. O Etinilestradiol não é eliminado na forma inalterada; seus metabólitos são eliminados com meia-vida de aproximadamente um dia⁵.

⁵ <http://www.padmed.com.br/bulanv/pdamed>: Acesso em 13/02/2008.

Sofre extenso metabolismo hepático de primeira passagem, com biodisponibilidade variando entre 40% a 45% da dose. O principal metabólito é 2-hidróxi-etinilestradiol. Também origina numerosos metabólitos hidroxilados e metoxilados, encontrados na forma livre ou como sulfatos e glicuronídeos conjugados. A meia-vida de eliminação varia de treze a vinte e sete horas, sendo excretado por urina e fezes³.

3.10.4- Associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

3.10.4.1- Dados gerais da associação

Durante o tratamento com ciproterona-etinilestradiol diminui a secreção excessiva das glândulas sebáceas. O excesso de gordura na pele e no cabelo também diminuem.

A associação de acetato de ciproterona com um estrógeno é recomendada para distúrbios andrógeno-dependentes na mulher (Baumann et al., 1996).

3.10.4.2- Indicação terapêutica da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

A associação de ciproterona e etinilestradiol é indicada para o tratamento de manifestações androgênicas na mulher: Formas características de acne acompanhadas de seborréia; acne papulopustulosa; acne nodular; formações de nódulos e inflamações; alopecia androgênica; casos leves de hirsutismo; inibição da ovulação (DEF, 2002).

É indicado também para contracepção hormonal oral, quando é desejado menor efeito androgênico. Tratamento de endometriose. Tratamento de hipersexualidade ou desvios de comportamento sexual em homens. Outros usos: hidradenite supurativa. Terapia de ovário policístico³.

3.10.4.3- Contra-indicação da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

Acetato de ciproterona e etinilestradiol é contra-indicado nos seguintes casos: hipersensibilidade aos fármacos associados, mulheres que estejam amamentando, grávidas, coceira acentuada durante gravidez anterior, formação ou deslocamento de coágulos nas veias e artérias, diabetes grave, câncer ginecológico ou de mama tratado ou atual, icterícia ou prurido, tumores de fígado, atuais ou já tratados, distúrbios do metabolismo das gorduras, dificuldade de audição (Martindale, 2006).

É contra-indicado também para pacientes que apresentam outras doenças malignas com exceção do câncer de próstata.

Além dessas, há outras situações em que a associação é contra-indicada, como nos casos em que a paciente apresente história de desordens tromboembólicas, doença hepática aguda, distúrbios graves da função hepática, síndromes de Dubin-Johnson e de Rotor, tumores hepáticos atuais ou anteriores, diabetes melito grave com alterações vasculares, anemia falciforme, tumores hormônio-dependentes do útero ou da mama ou suspeita dos mesmos. Em casos de distúrbios do metabolismo lipídico, antecedentes de exacerbação de otosclerose durante a gravidez e herpes gravídico, em sangramento genital anormal de causa indeterminada, em todos estes casos o uso deve-se considerar o risco-benefício³.

3.10.4.4- Interações medicamentosas da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

Se o indivíduo estiver tomando regularmente outros medicamentos como barbitúricos, carbamazepina, fenitoína, rifampicina, penicilinas, tetraciclina, griseofulvin, a eficácia dessa associação pode ser reduzida (Martindale, 2006). Já o uso simultâneo com paracetamol, anticoagulantes orais, benzodiazepínicos, cafeína, corticosteróides, metoprolol, antidepressivos tricíclicos aumenta o efeito destes³. Também podem modificar-se as necessidades de hipoglicemiantes orais ou insulina. Laxantes suaves não reduzem a segurança contraceptiva (Martindale, 2006).

3.10.4.5- Farmacodinâmica e mecanismo de ação da ciproterona e etinilestradiol

O tratamento com Diane 35® leva, geralmente após três a quatro meses de terapia, à resolução das erupções da acne preexistente. A oleosidade excessiva dos cabelos e da pele geralmente desaparece mais cedo. A alopecia, a qual é acompanhada freqüentemente de seborréia, diminui do mesmo modo. Em mulheres que exibem formas leves de hirsutismo e, em particular nos casos de leve aumento de pêlos faciais, os resultados apenas tornam-se aparentes após vários meses de tratamento⁶.

O mecanismo de ação no tratamento de tais distúrbios é o seguinte: a unidade pilosebácea, que consiste na glândula sebácea e no folículo piloso, é um componente da pele sensível à ação de andrógenos. Acne, seborréia, hirsutismo e alopecia androgênica são condições clínicas resultantes de alterações neste órgão alvo que podem ser causadas pelo aumento da sensibilidade ou níveis elevados de andrógenos no plasma. Ambas as substâncias contidas em Diane 35® influenciam, benéficamente, o estado hiperandrogênico: a ciproterona, um antagonista competitivo do receptor andrógeno, apresenta efeito inibitório nas células-alvo e produz diminuição da concentração de andrógenos no sangue por meio de um efeito antigonadotrópico.

Este efeito antigonadotrópico é ampliado pelo etinilestradiol que regula o aumento, assim como a síntese de globulinas de ligação aos hormônios sexuais (SHBG) no plasma. Desse modo, reduz o andrógeno livre biologicamente presente na circulação sanguínea.

O efeito contraceptivo de Diane 35® baseia-se na interação de diversos fatores, e os mais importantes são a inibição da ovulação e alterações na secreção cervical. Os efeitos androgênicos da ciproterona decorrem da inibição competitiva dos receptores androgênicos no citosol, com bloqueio da translocação do complexo andrógeno-receptor para o núcleo. Também possui atividade progestacional, resultante da supressão de secreção e produção de gonadotrofinas hipofisárias. Determina significativa redução no

⁶ <http://www.schering.com.br/ni/Documentos/DIANE>: Acesso em 13/02/2008.

nível plasmático de testosterona, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH), e as concentrações intracelulares de diidrotestosterona livre ou ligada são reduzidas⁷.

A combinação de contraceptivos estrogênicos e progestogênicos inibe a ovulação por feedback negativo em nível hipotalâmico, alterando a secreção normal das gonadotrofinas hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) pela hipófise anterior (Figura 12). Adicionalmente ocorrem alterações no trato genital, incluindo alterações do muco cervical, o que desfavorece a penetração dos espermatozóides, mesmo se a ovulação ocorrer. Alterações endometriais produzem ambiente desfavorável à nidação. Pode ocorrer também alteração no transporte tubário do ovo fertilizado⁷.

Além da proteção contra gravidez, as combinações estrogênio/progestógeno apresentam propriedades adversas e propriedades positivas: o ciclo menstrual torna-se mais regular, a menstruação freqüentemente menos dolorosa e o sangramento menos intenso, reduzindo a possibilidade de ocorrência de deficiência de ferro⁶.

⁷ http://www.ccb.ufsc.br/~cristina/md_endocrino.htm.cristina@ccb.ufsc.br 13/02/2008.

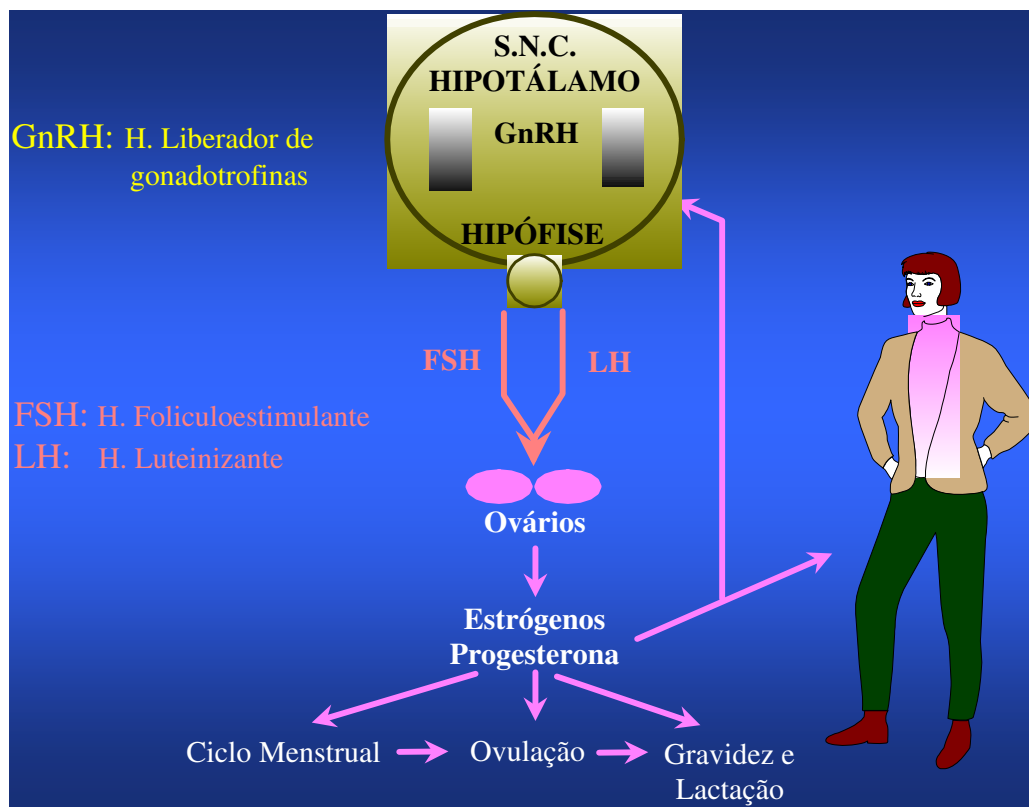


Figura 12- Mecanismo de regulação hormonal

3.10.4.6- Posologia da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

Endometriose: 27mg acetato de ciproterona e 35 microgramas de etinilestradiol, administrados diariamente por seis meses;

Acne: 2mg acetato de ciproterona e 50 microgramas de etinilestradiol, administrados diariamente por vinte e um dias do ciclo menstrual.

Hirsutismo: 100 mg de acetato de ciproterona ao dia, nos dias 5 a 14 do ciclo menstrual + 30 microgramas de etinilestradiol ao dia, nos dias 5 a 25 do ciclo menstrual.
Ou: 2 mg acetato de ciproterona e 50 microgramas de etinilestradiol, administrados diariamente por vinte e um dias do ciclo menstrual.

Contraceptivo oral: a partir do 1º dia da menstruação, uma drágea diária durante vinte e um dias. A seguir intercalam-se sete dias de pausa, durante os quais ocorrerá sangramento semelhante ao menstrual. Após a pausa, inicia-se novo ciclo de tratamento.

Hipersexualidade em homens: 50 mg, duas vezes ao dia.

Hipersexualidade em mulheres: 25-50 mg de ciproterona, do dia 5 ao dia 15 do ciclo menstrual, com adição de 50 microgramas de etinilestradiol ao dia, do dia 5 ao dia 25 do ciclo menstrual.

3.10.4.7- Apresentação farmacêutica do Diane®35

Estojo-calendário com 21 drágeas, contendo 2mg de acetato de ciproterona e 0,035 mg de etinilestradiol estão disponíveis para uso clínico, e é a dosagem da qual estudos de biodisponibilidade foram derivados⁶.

3.10.4.8- Eventos adversos da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

Em casos isolados, o tratamento pode causar cefaléias, distúrbios gástricos, náuseas, tensão mamária, variações de peso, alterações da libido e do humor. Após tratamentos prolongados aparecem, às vezes, em mulheres predispostas, pigmentações (cloasma) no rosto, que ficam mais visíveis após exposição ao sol. Por isso recomenda-se a mulheres predispostas que não se exponham durante muito tempo aos raios solares. Em casos isolados, observou-se uma diminuição da tolerância a lentes de contato (DEF 2002/03).

3.10.4.9- Superdosagem da associação de acetato de ciproterona e etinilestradiol

Não há notificação de efeitos adversos graves em relação à superdosagem. Na superdosagem podem aparecer náuseas, vômitos, e em algumas mulheres sangramento vaginal leve.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Etapa clínica

Protocolo clínico

4.1.1- Plano de estudo

O estudo foi delineado de forma a permitir que se obtenham os parâmetros farmacocinéticos relevantes para a comparação estatística visando à averiguação de bioequivalência. Neste estudo, tais parâmetros foram obtidos diretamente a partir da determinação da concentração plasmática do princípio ativo do medicamento, baseado na aplicação de um modelo não compartimental, próprio para a avaliação destas concentrações após a administração do medicamento por via oral.

4.1.1.1- Tipo de plano de estudo

O estudo foi do tipo aberto, monocêntrico, balanceado, aleatorizado, cruzado, com dois tratamentos, duas seqüências, dois períodos, nos quais as voluntárias receberam, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência. A seqüência de tratamento atribuída a cada voluntária nos períodos de estudo foi estabelecida por uma lista de aleatorização gerada automaticamente pelo sistema R2.2. As formulações foram administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue de pelo menos três meias-vidas. Os períodos de tratamento obedeceram a um intervalo mínimo de sete meias-vidas entre eles (período de *wash out* da droga).

4.1.2- População

A população estudada constituiu-se de 48 voluntárias sadias, adultas do sexo feminino com idade de 18 a 45 anos, com índice de massa corpórea maior ou igual a 19 e menor ou igual a 27. Não houve restrições quanto ao grupo étnico. As voluntárias foram recrutadas entre aquelas que se apresentaram à unidade clínica.

4.1.3- Identificação dos medicamentos

Formulação Referência: Diane35® - 2 drágeas de Ciproterona 2mg e Etinilestradiol 0,035mg produzido pela Schering do Brasil.

Formulação Teste: Selene®- 2 drágeas de Ciproterona 2mg e Etinilestradiol 0,035mg produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda.

4.1.4- Posologia

As voluntárias receberam em cada um dos períodos de internação, duas drágeas contendo 2mg e 0,035mg de Ciproterona + Etinilestradiol, por via oral em dose única, com um copo de água mineral sem gás e em temperatura ambiente (200 mL), seguindo a aleatorização do estudo (em Anexo – Tabela 3), de uma das formulações dos seguintes produtos:

- Acetato de ciproterona 2mg e Etinilestradiol 0,035mg, Schering do Brasil e acetato de ciproterona 2mg e etinilestradiol 0,035mg, Eurofarma Laboratórios Ltda.

4.1.5- Local e forma de confinamento dos voluntários

As voluntárias foram internadas no Hospital Irmãos Penteado que possui uma unidade para ensaios clínicos com 48 leitos e posto de enfermagem. A enfermagem dispõe de carrinho de emergência com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e medicação de emergência para qualquer eventualidade. Além disso, dispõe de Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Sua estrutura laboratorial possui equipamentos para processamento e armazenamento de amostras biológicas.

Foi solicitado às voluntárias que se apresentassem na sede da Unidade Clínica, situada à Rua Engenheiro Cândido Gomide, 38, Campinas, até as 18:00 horas na noite anterior de cada período do estudo, onde, realizou-se uma reunião com as voluntárias com o intuito de esclarecer dúvidas sobre o estudo, sobre as internações, coletas externas e restrições.

As voluntárias receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para leitura. Em seguida, verificou-se dos sinais vitais das voluntárias e uma consulta médica. Durante esta consulta, o médico fez a leitura do TCLE para a voluntária enfatizando os efeitos adversos que possam ocorrer e estimulando a voluntária a expor suas dúvidas. No momento da saída das voluntárias foi realizada uma vistoria dos pertences pessoais e separação destes não pertinentes à internação, com devolução ao final de cada internação. Em seguida o grupo de voluntárias foi levado, sob responsabilidade e cuidados da unidade clínica, para internação no Hospital Irmãos Penteado aproximadamente às 20:00 horas na noite anterior de cada período de tratamento, devendo permanecer na unidade por 24 horas após a administração da medicação. As voluntárias foram assistidas durante todos os períodos de tratamento, por uma averiguação sumária de suas condições quando de seu confinamento e no momento da alta, de forma que possibilitou avaliar sua aderência aos quesitos deste protocolo.

4.1.6- Seleção e avaliação clínica das voluntárias

As voluntárias foram aceitas no estudo mediante a constatação de que fossem saudáveis de acordo com o determinado pela história médica, exame físico e os exames laboratoriais que antecedem o início do estudo. As voluntárias realizaram eletrocardiograma (ECG), na avaliação inicial, pré-estudo, e após o último período de internação.

Uma vez avaliada a higidez, as voluntárias foram submetidas a uma entrevista livre para a avaliação da saúde mental, bem como condições emocionais para participar da investigação, antes do início do estudo. Após o esclarecimento de todas as dúvidas restantes, elas concordaram e assinaram o termo de consentimento para participação no estudo.

4.1.7- Exames laboratoriais

Foram realizados os seguintes exames laboratoriais, antes e após o estudo: ECG (Eletrocardiograma), análise hematológica: hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de leucócitos, contagem de glóbulos brancos e contagem de plaquetas; análise

bioquímica: uréia, creatinina, bilirrubina total, proteínas totais, albumina, glicose em jejum, fosfatase alcalina, AST, ALT, colesterol total, triglicérides, ácido úrico, γ GT; urina: sumário de urina (urina I); análise sorológica para: hepatite B, hepatite C e HIV (1+2); papanicolau: citologia oncológica; teste para gravidez: β HCG, foram realizados somente antes do estudo.

Os resultados dos exames de laboratório foram considerados “normais” quando dentro da faixa de valores declarada pelo laboratório.

O eletrocardiograma foi avaliado por um cardiologista da equipe de avaliação clínica da Unidade Clínica, que categorizou os achados específicos como normais, anormais NCS ou anormais. Os resultados considerados “Clinicamente Não Significativo) foram registrado no Formulário de Relato de Caso (CRF) das voluntárias, desde que o Investigador achar necessário.

Antes da admissão no estudo, as voluntárias foram submetidas a um exame clínico, englobando a revisão dos seguintes itens: História médica: alergias, olhos, nariz e garganta; sistema respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, geniturinário, nervoso central, hematopoético-linfático, endócrino, dermatológico, musculoesquelético; estabilidade emocional, história familiar, cirúrgica; Exame físico: olhos, orelhas, nariz, garganta, pescoço (incluindo tireóide), coração, pulmões, abdome (incluindo fígado e baço), pele, linfonodos, sistema nervoso, esqueleto e músculo; Exame ginecológico: colo do útero; Dados antropométricos: pressão arterial (medida 15 minutos após descanso, na posição sentada; pulso; altura; peso – roupas leves; índice de massa corpórea; temperatura em °C). Onde, a pressão arterial foi considerada normal quando obtivessem valores dentro dos seguintes limites: 100-140 mm Hg para a sistólica e 60-90 mm Hg para a diastólica. A frequência cardíaca considerada normal se estivesse dentro de 50-90 b.p.m. Em caso de valores destes exames encontrarem-se fora daqueles considerados como “normais”, foram repetidos a fim de certificar-se da aptidão da voluntária. E, o índice de massa corpórea foi considerado normal quando maior ou igual a 19 e menor ou igual a 27.

Os exames laboratoriais foram realizados em um período não superior a três meses que antecederam a primeira administração da medicação. Já os exames de β HCG e as sorologias têm duração de 15 dias e seis meses, respectivamente.

Os exames clínicos foram realizados em um período não superior a 15 dias que antecederam a administração da medicação. O teste de gravidez (HCG na urina) foi aplicado na noite das internações.

Os exames laboratoriais pós-estudo e ECG foram realizados cerca de 7 dias após a última coleta de sangue do ensaio, em horário previamente estabelecido. Após o recebimento dos resultados, em data já agendada por ocasião da coleta dos exames, as voluntárias compareceram para o exame clínico de alta, data em que foram dispensadas.

4.1.8- Critério de inclusão da voluntária

Os seguintes critérios foram satisfeitos para que as voluntárias pudessem participar do estudo: mulheres com idade entre 20 e 45 anos e que tivessem submetidas à laqueadura, ligadura de trompas, esterilização feminina que tivessem parceiro fixo vasectomizado em um período de um ano ou mais, ou que usavam dispositivo intra-uterino (DIU); mulheres cujo ciclo menstrual fosse regular de aproximadamente vinte e oito a trinta dias; não fizessem uso de anticoncepcional oral por trinta dias e de depósito por seis meses (“depot”); voluntária que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 19 e menor ou igual a 27; não-fumante ou ex-fumante que tivessem abandonado o fumo há, pelo menos, seis meses; apresentando 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 arterial e frequência cardíaca, exame físico, ECG, e exames laboratoriais complementares; capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o investigador 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.

4.1.9- Critérios de exclusão da voluntária

Os seguintes critérios foram definidos para as voluntárias serem excluídas do estudo: Problemas relacionados com a droga: a voluntária tem sabidamente hipersensibilidade à droga em estudo (ciproterona e etinilestradiol) ou a compostos quimicamente relacionados; uso de terapia de manutenção com qualquer droga; Doenças ou problemas de saúde: história ou presença de doenças hepáticas ou gastrointestinais ou outra condição que interfira com absorção, distribuição, excreção ou metabolismo da droga; história de patologias ginecológicas; história de doença renal, pulmonar, epilética, 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; história de distúrbios de coagulação como enfermidades tromboembolíticas e cerebrovasculares; achados eletrocardiográficos não recomendados a critério do investigador principal para participação no estudo; os resultados dos exames laboratoriais estão fora dos valores considerados normais de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados clinicamente não significativos pelo investigador; resultado do teste de citologia oncológica como anormal e considerada inadequada para participação; apresentação de sangramento vaginal de causa desconhecida. Hábitos e dependências: tem história de abuso de álcool ou drogas ou consumo expressivo de álcool; voluntárias que estejam em dieta que possa afetar a farmacocinética da droga; se a voluntária ingere mais do que cinco xícaras de café ou chá por dia; tem história de abuso de álcool ou drogas.

Condições verificadas nos dias/meses que antecedem o estudo: fez uso de medicação regular dentro das duas semanas que antecederam o início do tratamento e a data de avaliação, ou fez uso de qualquer medicação dentro de uma semana. O uso eventual de medicação, que a juízo do investigador ou médico responsável não interfere na farmacocinética da droga não sendo considerado como critério de exclusão; se foi internada por qualquer motivo entre oito semanas do início do primeiro período de tratamento deste estudo e a data da avaliação; tratamento dentro dos três meses prévios ao estudo com qualquer droga conhecida de ter um potencial tóxico; se a voluntária participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer droga experimental dentro dos três meses que antecederam o início deste estudo e a data da avaliação; a voluntária doou ou perdeu

450 mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecederam ao estudo ou doou mais de 1500 mL dentro dos dois meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação; Outras condições: história de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer droga; teste positivo de gravidez; a voluntária tem qualquer condição que a impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

4.1.10- Critérios para retirada do estudo

As seguintes condições foram consideradas como critérios para a retirada do estudo: voluntária não deseja continuar no estudo por razões pessoais; efeitos adversos da droga do estudo; voluntário não deseja continuar no estudo por razões outras que a ocorrência de eventos adversos da droga de estudo; por ex. indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo; testes laboratoriais anormais julgados de relevância clínica; doença intercorrente requerendo medicação.

Foi definido que o investigador poderia retirar a voluntária 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, 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 da voluntária.

4.1.11 Avaliação de segurança (eventos adversos)

Para fins de acompanhamento de segurança, as voluntárias foram observadas durante o estudo visando à detecção de eventos adversos. Um evento adverso é qualquer ocorrência médica não desejada em um sujeito que esteja participando de uma investigação clínica e que já tenha recebido alguma das terapias vinculadas à investigação. Esta ocorrência não necessita ter uma relação causal com a terapia. Um evento adverso pode,

portanto ser um sinal (incluindo achados anormais de exames ou sinais vitais) ou sintoma desfavorável e não intencional, ou uma doença temporalmente associada à terapia, relacionada ou não à terapia.

O investigador clínico documentou todas as experiências adversas que ocorreram durante o estudo. Tal experiência adversa inclui qualquer alteração prejudicial, patológica ou indesejada nas funções anatômicas, físicas ou metabólicas conforme indicada pelos sinais físicos, sintomas e/ou alterações laboratoriais que possam ocorrer em qualquer fase do estudo clínico associada ou não com o medicamento do estudo.

Todas as experiências adversas que ocorreram após o início do estudo foram relatadas. Todas as experiências adversas subseqüentes, se não estiver sendo administrado nenhum medicamento (isto é, durante o período de *wash out*), também foram registradas indiferentemente se são ou não consideradas relacionadas com o medicamento.

Qualquer evento adverso ocorrido durante o período de estudo foi registrado em detalhes na página apropriada para relato de evento adverso. As perguntas realizadas para saber se a voluntária teve algum evento adverso limitaram-se a perguntas gerais, como: "Como você está ?"

Foi então solicitado as voluntárias que relatassem qualquer evento adverso e quando ocorreu. Em caso do uso de medicação adicional foi notificado ao investigador que analisou a necessidade do uso.

4.1.12- Procedimentos de emergência

O Hospital manteve durante todo o período de estudo um ambiente próprio, equipado com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade.

4.1.13- Avaliação da causalidade

Foram empreendidos todos os esforços pelo investigador clínico para explicar cada experiência adversa e avaliar sua relação com o medicamento do estudo. Esta causalidade foi avaliada, usando as seguintes categorias: não relacionada, desconhecida, possível ou sim.

4.1.14- Avaliação da voluntária

Qualquer voluntária com evento adverso foi seguido clinicamente e por estudos laboratoriais (quando indicados) até que os parâmetros se estabilizassem.

4.1.15- Pós-estudo

Após três dias do final do estudo, as voluntárias foram reavaliadas clinicamente e por exames laboratoriais subsidiários realizados na fase pré-estudo.

O exame pós-estudo foi para verificar se a voluntária não apresenta nenhum sintoma de doença ou dano à saúde. O exame pós-estudo realizou-se dentro de dez dias após a coleta da última amostra de sangue para análise farmacocinética do segundo período.

Os exames pós-estudo foram os seguintes: exame físico (inclusive ECG com 12 derivações, pressão sangüínea, temperatura corporal, frequência cardíaca e peso); exames laboratoriais sangue (incluindo β HCG) e urina, exceto sorologia; bem-estar geral e medicação concomitante.

Voluntárias que apresentaram anormalidades subjetivas ou objetivas ao final do experimento foram alvos de acompanhamento.

Durante o exame pós-estudo, cada participante foi orientada a não doar sangue por pelo menos dois meses, nem participar, por um período mínimo de três meses após o estudo, de quaisquer estudos sobre drogas que impliquem a coleta de amostras de sangue.

4.1.16- Condutas permitidas e não permitidas antes e durante o estudo

Durante as internações foram considerados os períodos de jejum, incluídas as restrições de líquidos. Também não permitida a ingestão de qualquer outro alimento (incluindo doces, pastilhas, gomas, chicletes, pastilhas para garganta, salgadinhos ou biscoitos de qualquer tipo), além dos programados; três dias antes da primeira coleta de sangue até o exame de acompanhamento, todos os esforços físicos tais como esportes e trabalho manual que exigissem muito esforço teriam que ser evitados; a ingestão de alimentos ou bebidas contendo álcool não foi permitida a partir de dois dias anteriores à primeira administração pretendida da droga em estudo até a última coleta de amostra de sangue para análise farmacocinética de cada período; as voluntárias fizeram jejum de cerca de oito horas antes da primeira coleta de sangue para medidas laboratoriais e pelo menos oito horas antes de cada administração; a ingestão de produtos que contenham xantina (chocolate, chá preto e verde, café, bebidas de cola, goma de mascar, bebidas energéticas, etc.) não foram permitidas a partir de trinta e seis horas anteriores à primeira administração pretendida da droga e até a última coleta de amostra de sangue para análise farmacocinética de cada período; a ingestão de alimentos ou bebidas com pomelo (frutas), alimentos ou bebidas que contivessem semente de papoula (pães, bolos e iogurtes com semente de papoula, etc.), e a ingestão de couve de Bruxelas ou brócolis (conhecidos inibidores e indutores de CYP450) não foi permitido a partir de sete dias antes da primeira administração da droga até a última coleta de amostra de sangue do último período.

A ingestão de qualquer suco de fruta não foi permitido a partir da admissão à clínica para cada um dos períodos até a última coleta de amostra de sangue de cada período; reitera-se a proibição quanto ao fumo ou uso de drogas e medicamentos, critérios de exclusão e desligamento do estudo; caso, mesmo estando dentro dos critérios de inclusão.

4.1.17- Outras obrigações e restrições

As voluntárias permaneceram internadas durante todo o tempo previsto (doze horas antes da administração do medicamento até vinte e quatro horas após), em cada internação, devendo retornar à unidade para coletas das amostras de sangue correspondente

aos tempos de 36:00, 48:00, 72:00, 96:00, 120:00, 168:00 e 240:00 horas após a administração da medicação; as voluntárias retornaram ao Centro a fim de se submeterem a um exame físico geral, eletrocardiograma e também para coleta de amostras (sangue e urina) para os testes laboratoriais. Esta obrigação é válida mesmo em caso de desistência da voluntária (a não ser que ela tenha desistido antes de tomar a medicação), já que está vinculada à avaliação de segurança do uso do medicamento; as voluntárias devem comunicar o não cumprimento de qualquer restrição mencionada.

4.1.18- Horários de jejum e alimentação

Ao chegar ao Hospital Irmãos Penteado, as voluntárias fizeram sua última refeição do dia, onde permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (pelo menos oito horas de jejum) da noite do confinamento até quatro horas após a ingestão da medicação, realizada na manhã seguinte.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) oferecida seguiu o mesmo padrão para todas as voluntárias. Todos os alimentos e bebidas servidos foram ingeridos por completo. O cardápio foi estipulado pelo Centro e a nutricionista do hospital (Tabela 2).

4.1.18.1- Alimentos

Tabela 1- Horário da dieta padronizada no dois períodos de estudo

Tempo após administração	Refeição	Líquidos
-08:00	Jantar	Permitidos
00:00	Administração da medicação	
04:00 – 05:00	Almoço	Permitido
07:00 – 08:00	Lanche da tarde	Permitido
10:00 – 12:00	Jantar	Permitido
13:00 – 14:00	Ceia	Permitido
24:00 – 25:00	Desjejum	Permitido

4.1.18.2- Dieta padronizada nos dois períodos de estudo

Tabela 2- Dieta administrada nos dois períodos de internação

Períodos I e II	
Refeições	Dieta administrada
Jantar	Arroz, feijão, salada de alface, óleo vegetal, cebola, carne em cubos, chuchu cozido e arroz doce
Almoço	Arroz, feijão, salada de chicória, óleo vegetal, cebola, peito de frango em pedaços, batata assada, melancia
Lanche	Bolacha doce, suco de melancia
Jantar	Arroz, feijão, salada de acelga, óleo vegetal, cebola, bife à rolê, abóbora em cubos, gelatina de pêssego
Ceia	Leite puro com açúcar, bolacha salgada
Desjejum	Iogurte de coco, pão francês com margarina, banana prata

Líquidos: a ingestão de líquidos *ad libidum* foi permitida até seis horas antes da administração da droga. Água e líquidos (sem cafeína) foram permitidos *ad libidum* após 2 horas da administração da dose. Junto com a medicação foram programadas as seguintes ingestões de líquido: 200 mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente junto com a medicação.

Jejum: as voluntárias permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (pelo menos oito horas de jejum antes da medicação) da noite da internação até quatro horas após a ingestão da medicação.

As voluntárias não tomaram líquidos desde seis horas pré-administração da medicação e até duas horas após a ingestão da medicação, exceto nas ocasiões especificamente programadas.

4.1.19- Posologia e forma de administração

As voluntárias receberam em cada um dos períodos de internação, duas drágeas contendo 2mg de iproterona e 0,035mg de Etinilestradiol acima discriminados, por via oral em dose única, com um copo de água mineral sem gás e em temperatura ambiente (200 mL), seguindo a aleatorização do estudo (Anexo – Tabela 3).

4.1.20- Cronograma de coleta das amostras

A coleta das amostras foi feita por meio de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço da voluntária. Após a coleta de cada amostra, o cateter foi lavado com 1 mL de solução de heparina sódica (10 UI/mL em NaCl 0,9% estéril).

Após pelo menos oito horas de jejum foi feita uma coleta de sangue de 20 mL para controle individual e curvas padrões. A coleta pré-dose foi realizada no máximo de até 30 minutos antes da administração da medicação. E após a administração da medicação iniciou as coletas de sangue para análise farmacocinética da droga.

No total foram coletadas 42 amostras de 6 mL de sangue (21 para dosagem de etinilestradiol e 21 para ciproterona em cada período do estudo). Um total de aproximadamente 574 mL de sangue foi coletado durante os dois períodos do estudo, incluindo o volume coletado para os exames laboratoriais pré e pós-estudo. Os tempos de coleta são mostrados na Tabela 4 (em Anexo).

Foi registrado no CRF o tempo real absoluto de coleta da amostra de sangue usando-se um Timer de vinte e quatro 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 administração da droga e as respectivas coletas. Eventuais perdas de coleta de amostras também foram registradas.

4.1.21- Processamento e armazenamento inicial das amostras

Logo após a coleta (máximo de trinta minutos), as amostras de sangue foram centrifugadas em torno de 3.000 rpm por dez minutos a 4°C. Imediatamente após a centrifugação, um mínimo de 2.0 mL de plasma, para cada amostra foi transferido para o primeiro tubo criogênico e o plasma restante foi transferido para um segundo tubo criogênico como uma amostra em duplicata. As amostras de plasma foram armazenadas em frascos, igualmente identificados, a temperatura de -20°C em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na Unidade Clínica.

4.1.22- Armazenamento e transporte das amostras

Após o término do período de estudo, os frascos identificados individualmente foram embalados por voluntária e por período do estudo.

Depois de completada a etapa analítica, as amostras restantes ficaram sob a responsabilidade e os cuidados da unidade clínica, por até três meses após a entrega do relatório final ao patrocinador.

4.1.23- Amostras de retenção–inventário

O produto teste foi enviado pelo patrocinador. O patrocinador enviou quantidades extras da(s) formulação(ões) teste tanto para fins de retenção de amostra como para administração da(s) mesma(s). A formulação referência foi adquirida pela Unidade Clínica. Ao final de cada confinamento, a medicação remanescente (ambos os produtos) retornava ao Centro em suas embalagens originais, incluindo as parcialmente utilizadas e as não utilizadas, onde foram armazenadas como amostras de retenção extra, em quantidade suficiente para a repetição do estudo.

O Centro mantém, em local próprio, amostras de retenção de ambas as formulações até o vencimento do prazo de validade mais longo. Nenhuma droga pode ser desprezada sem a comunicação por escrito do patrocinador. Cabe ao Investigador Principal ou ao responsável designado por ele manter um inventário com o registro das drogas recebidas, administradas, devolvidas, enviadas ao patrocinador ou retidas conforme Tabela 5 (Anexo).

4.1.24- Comitê de ética em pesquisa

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento, foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP - credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS. O ensaio iniciou somente

após a elaboração e submissão do Protocolo escrito e aprovado pelo Comitê de Ética. O Investigador foi o responsável por obter aprovação do Protocolo de Estudo pelo Comitê de Ética. Uma cópia da aprovação foi enviada ao patrocinador, antes do início do estudo. Realizou-se a seguinte emenda: alteração do Hospital estabelecido no protocolo (Hospital Bom Samaritano) pelo Hospital Irmãos Penteado.

4.1.25- Termo de consentimento livre e esclarecido (modelo em anexo)

As voluntárias receberam uma explanação da natureza e dos objetivos do estudo, deixando clara a finalidade da pesquisa, e que a voluntária não aspire efeito terapêutico. Neste também foi esclarecido que a voluntária poderia se retirar a qualquer momento do estudo sem ser obrigada a fornecer o motivo de fazê-lo e sem que isto causasse qualquer prejuízo no seu atendimento junto ao Centro. A participação das voluntárias nas atividades de recrutamento e seleção foi acompanhada de autorização prévia conforme o Termo de Recrutamento (Anexo). Uma vez aprovada a participação da voluntária no estudo, foi solicitado a cada voluntária que, caso concordasse, assinasse o Termo de Consentimento para participar no estudo, antes da admissão no primeiro período de tratamento. O Médico responsável pela consulta pré-confinamento do centro foi responsável pela obtenção da assinatura do Termo de Consentimento.

4.1.26- Confidencialidade

Os resultados do exame médico e testes laboratoriais foram registrados no Formulário de Relato de Caso (CRF) de cada voluntária. Toda a informação obtida durante o estudo referente ao estado de saúde da voluntária está disponível aos médicos do Hospital Irmãos Penteado, cuja obrigatoriedade de manutenção do sigilo é inerente a sua função. Uma cópia dos exames laboratoriais realizados no pré e pós-estudo é fornecida às voluntárias, caso elas solicitassem.

4.1.27- Financiamento e seguro

Durante um período de seis meses, a partir da data de início do estudo clínico, as voluntárias receberam cobertura de um Seguro de Vida em Grupo da Sul América Seguros, para casos de morte, invalidez permanente e acidentes relacionados ou não ao ensaio clínico. Os acordos financeiros relativos ao estudo foram fornecidos separados.

4.1.28- Manuseio dos dados e manutenção dos registros

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

4.2- Etapa analítica

A etapa analítica consiste na fase de quantificação do fármaco no plasma. Foi realizada na unidade analítica da Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas, localizada na Av. Nações Unidas, 22.215 em Jurubatuba, São Paulo-SP.

Os critérios para realização desta etapa foram definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Os medicamentos referência e teste utilizados na análise do Acetato de Ciproterona, bem como a descrição dos lotes encontram-se na Tabela 6:

Tabela 6- Medicamento teste e referência analisados

Nome	Produto teste	Produto referência
	Selene®	Diane ®35
Ativo farmacêutico	ciproterona+etinilestradiol	ciproterona+etinilestradiol
Forma farmacêutica	Comprimido	Drágea
Número de lote	195/06	1740 A
Concentração	2 mg + 0,035mg	2 mg + 0,035mg
Validade	12/2008	03/2011
Fabricante	Eurofarma Laboratórios Ltda	Schering do Brasil

4.2.1- Materiais e reagentes usados na análise do acetato de ciproterona

Os reagentes utilizados na análise do acetato de ciproterona estão descritos na Tabela 7:

Tabela 7- Reagentes usados na análise do acetato de ciproterona

Reagentes	Descrição	Fabricante, País
Metanol	Grau CLAE	Carlo Erba, Itália
Água deionizada	Ultrapura	Millipore, Brasil
Tolueno	Grau analítico	Carlo Erba, Itália
Hexano 95%	Grau analítico	Mallinckrodt, México
Éter etílico	Grau analítico	Mallinckrodt,EUA

Na Tabela 8, foram discriminados os instrumentos utilizados na análise do acetato de ciproterona

Tabela 8- Materiais usados na análise do acetato de ciproterona

Instrumentos	Fabricante, País
Pipetas automáticas (P200,P1000)	Gilson, França
Ponteiras descartáveis – amarela (5-200) e azul (200-1000µL)	Gilson, França
Tubos de vidro 13x100 mm e 12x75 mm	Ind.de Artefatos de vidros Adenil Ltda, Brasil
Pipetas de repetição Eppendorf	Eppendorf, USA
Tubos de centrifuga de 50 e 15 mL	Costar, Brasil
Vortex mixer	Scientific Indústria, USA
Balança analítica	Mettler Toledo, Suíça
Placas 96 poços, capacidade 1000 µL	Axygen, USA
Selo de silicone	Axygen, USA

Na Tabela 9, constam os padrões utilizados na análise do acetato de ciproterona:

Tabela 9- Padrões de referência usados na análise do acetato de ciproterona

Nome usual	utilizado como	Fabricante/País	Lote	Validade
Acetato de ciproterona	Analito	Sigma-Aldrich/USA	034K1068	30/07/2010
Finasterida	Padrão interno	Sigma-Aldrich/USA	075K4712	30/05/2012

Preparação das soluções

Espécies biológicas

As amostras de plasma foram coletadas de diferentes indivíduos, nas seguintes condições: plasma humano normal, plasma humano lipêmico e plasma humano hemolizado.

Soluções utilizadas no ensaio

1 – Solução-mãe:

A precisão da pesagem deverá ser de $\pm 0,01$ mg, ser documentada aproximadamente. A substância deverá ser dissolvida no solvente específico do quadro a seguir.

No Quadro 1, estão descritos os solventes utilizados na diluição das soluções-mãe do acetato de ciproterona:

Quadro 1- Solvente de diluição das soluções-mãe

Padrão analítico	Solvente de diluição
Acetato de ciproterona	Metanol puro
Finasterida	Metanol puro

2 – Solução de trabalho

Após preparação das soluções-mãe, estas foram utilizadas na preparação das soluções de trabalho para a condução da validação do método bioanalítico. Os solventes utilizados na preparação das soluções de trabalho foram:

- Solvente de Diluição das soluções trabalho–intermediárias: metanol/água (50/50; v/v);
- Solvente de Diluição das soluções trabalho–curva e controles: metanol/água (50/50; v/v);

3 - Soluções de trabalho para curva de calibração

A partir de sucessivas diluições da solução mãe de acetato de ciproterona, utilizando como diluente metanol água (50/50 v/v), obtiveram-se as concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 0,3 $\mu\text{g/mL}$, 0,1 $\mu\text{g/mL}$, 0,05 $\mu\text{g/mL}$, 0,02 $\mu\text{g/mL}$, 0,01 $\mu\text{g/mL}$, 0,002 $\mu\text{g/mL}$ e 0,001 $\mu\text{g/mL}$.

4 - Soluções de trabalho para controle de qualidade

A partir de sucessivas diluições da solução-mãe de acetato de ciproterona, utilizando como diluente metanol água (50/50 v/v), obtiveram-se as concentrações de 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1,0 µg/mL, 0,40 µg/mL, 0,20 µg/mL, 0,0030 µg/mL, 0,0010 µg/mL.

Quantificação das amostras

Para a determinação de Acetato de Ciproterona nas amostras de plasma foi realizada uma curva de calibração, cujo intervalo entre as concentrações mínima e máxima foi elaborado de acordo com as características do fármaco e da dose administrada no estudo, a fim de englobar todas ou quase todas as concentrações a serem obtidas nas quantificações. Para garantir a reprodutividade do aparelho durante o ensaio, injetou-se uma amostra de concentração conhecida, denominada amostra de controle de qualidade. Foram utilizados três controles de qualidade (CQ), e cada um deles era injetado durante as quantificações das amostras na ordem da menor concentração à maior concentração, intercaladas a cada 10 amostras analisadas. As concentrações dos CQ utilizadas no estudo foram: 0,3 ng/mL (três vezes o valor do LIQ), 20 ng/mL (CQM) e 40 ng/mL (CQA). Os padrões da curva de calibração e os controles de qualidade foram preparados na mesma matriz biológica das amostras (plasma). O limite inferior de quantificação (LIQ) utilizado no estudo foi de 0,1 ng/mL.

Preparação da curva de calibração

A curva de calibração constitui de um branco (matriz processada sem o padrão interno), amostra zero (matriz processada com o padrão interno) e as amostras padrões a serem quantificadas. As amostras padrões foram preparadas adicionando aos plasmas humanos controles, as soluções de trabalho com o analito a ser quantificado, conforme ilustrado na Tabela 10:

Tabela 10- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de curva de calibração preparadas diariamente

	Concentração final (ng/mL)
Branco	--
Zero	--
CC8	50,0
CC7	30,0
CC6	10,0
CC5	5,0
CC4	2,0
CC3	1,0
CC2	0,2
CC1	0,1

Preparações dos controles de qualidade (CQ)

1 - Soluções de trabalho para amostras de controle de qualidade em plasma

Foram preparadas soluções de trabalho visando a preparação de amostras de controle de qualidade nas seguintes concentrações de 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,4 µg/mL, 0,20 µg/mL, 0,0030 µg/mL e 0,0010 µg/mL.

As amostras de controle de qualidade foram preparadas adicionando aos plasmas controle e soluções padrões com o analito a ser quantificado, conforme Tabela 11:

Tabela 11- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de controle de qualidade

	Concentração final (ng/mL)
CQA	40,0
CQM	20,0
CQB	0,3
LIQ	0,1

Validação da corrida analítica

A corrida analítica é constituída por curva de calibração, controle de qualidade e quantificação do analito nas amostras coletadas. O coeficiente de variação máximo permitido para os CQs foi de 15%, podendo haver duas rejeições por corrida analítica, desde que não fosse da mesma concentração. Para o LIQ, o coeficiente de variação máximo permitido foi de 20%. Para a curva de calibração, pelo menos cinco a sete concentrações deveriam apresentar coeficiente de variação de, no máximo, 15% (desde que não fosse a menor e/ou maior concentração). Para a menor concentração da curva de calibração, o coeficiente de variação não pôde exceder 20%.

Extração das amostras

O processo de extração foi aplicado para as amostras dos voluntários, amostras da curva de calibração e amostras dos controles de qualidade.

Processo de extração: foram colocados tubos de vidro teste (10 x 75 mm) em um suporte, devidamente numerados de acordo com as amostras a serem quantificadas. Em seguida, pipetou-se 300 µL de plasma em tubo de ensaio alto. Com o uso de uma pipeta, em cada tubo foi adicionado 50 µL da solução de finasterida 1ng/mL (padrão interno) e agitou-se por 10 segundos. Adicionou-se 3 mL de Éter/Hexano 80/20 e agitou-se por 40 segundos. Em seguida centrifugou-se a 3200 rpm por 2 minutos a 4°C. Congelou em banho termostatzado (temperatura mínima de -30°C) por 2 minutos. Em seguida verteu solvente orgânico para tubo de ensaio pequeno e secou sob fluxo de nitrogênio a 40°C por 10 minutos no Turbo Vap. Adicionou-se 300 µL, de solução metanol/água 50/50 e agitou-se por 10 segundos, em seguida transferiu para a placa de PCR.

Na Tabela 12, foram definidas as condições condições cromatográficas e de extração referentes a análise do acetato de ciproterona.

Tabela 12- Condições cromatográficas e de extração do acetato de ciproterona, definidas durante a validação:

Descrição	Acetato de Ciproterona
Coluna analítica	Alltech, Alltima HP C18 5um (150 x 4,6 mm i.d)
Códigos das colunas	Col - 012
Pré-coluna	Alltech, Alltima HP C18 5um (7.5 x 4,6 mm i.d)
Temperatura do amostrador	6 °C
Fluxo	1.18 mL/min (15% bomba A / 85% bomba B)
Pressão	90 bar
Temperatura da coluna	Temperatura ambiente
Volume de injeção	20 µL
Tempo de corrida	5.00 min
Tempo de retenção	3,80 ± 0,3 min (acetato de ciproterona) 3,70 ± 0,3 min (Finasterida)
Tipo de integração	IntelliQuan (Base-a-base)
Solução do auto-injetor - lavagem de seringa - porta 1	Metanol/Água (80/20, v/v)
Solução do auto-injetor - lavagem de seringa - porta 2	Metanol 100%
Tipo de extração	L/L (Líquido/Líquido)
CLAE - bomba A	Tolueno
CLAE – bomba B	Metanol/água (80/20, v/v)

Na Tabela 13, constam os íons resultantes da molécula de acetato de ciproterona e finasterida.

Tabela 13- Íons resultantes da molécula de acetato de ciproterona e finasterida

Analitos	Íon Precursor	Íon “Filho”	Tempo Final (msec)	Potencial Dissociação (volts)	Potencial Entrada (volts)	Energia Colisão (volts)	Colisão Potencial Saída (volts)
Ciproterona	417,40	357,20	200,0	120,0	10,0	23,0	20,0
Finasterida	373,40	317,40	200,0	120,0	10,0	32,0	33,6

Os parâmetros relacionados à fonte de ionização e gases encontram-se descritos na Tabela 14:

Tabela 14- Parâmetros da fonte de ionização e gases

Parâmetro	Valor
Gás de colisão	12
Gás nebulizante	16
Gás fonte íon (GS1)	45
Gás Fonte íon (GS2)	35
Transferência de voltagem íon	850
Temperatura (°C)	380

Os equipamentos de LC-MS/MS utilizados na análise do acetato de ciproterona estão descritos na Tabela 15:

Tabela 15- Equipamentos de LC-MS/MS usados na análise do acetato de ciproterona

Sistema LC-MS/MS	MS01/SK01	
Componente	Fabricante, País	Modelo
Componentes (Stacker)	Spark, Holanda	931
Mostrador automático Reliance	Spark, Holanda	930
Bomba CLAE	Spark, Holanda	750
Espectrômetro de massas		API5000™
	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	
Fonte	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	APPI (Photospray)
Sistema de dados – MS	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Analyst v1.4.2
Sistema de dados - sistema cromatográfico	Spark, Holanda	Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4

4.2.2- Materiais e Reagentes usados na análise do etinilestradiol

Abaixo estão descritos os materiais e reagentes utilizados na análise do Etinilestradiol, sendo que na Tabela 16 constam os reagentes.

Tabela 16- Reagentes usados na análise do etinilestradiol

Reagentes	Descrição	Fabricante, País
Acetonitrila	Grau CLAE	Carlo Erba, Itália
Metanol	Grau CLAE	Carlo Erba, Itália
Água deionizada	Ultrapura	Millipore, Brasil
Ácido fórmico 88%	Grau analítico	J.T. Baker, Reino Unido
Tolueno	Grau analítico	Carlo Erba, Itália
Hexano 95%	Grau analítico	Mallinckrodt, México
Éter Etílico	Grau analítico	Mallinckrodt, EUA

A Tabela 17 discrimina os materiais e equipamentos utilizados na análise do Etinilestradiol.

Tabela 17- Materiais usados na análise do etinilestradiol

Instrumentos	Fabricante, País
Pipetas automáticas (P200,P1000)	Gilson, França
Ponteiras descartáveis – Amarela (5-200) e Azul (200-1000µL)	Gilson, França
Tubos de vidro 13x100 mm e 12x75 mm	Ind.de Artefatos de vidros Adenil Ltda, Brasil
Pipetas de Repetição Eppendorf	Eppendorf, USA
Tubos de Centrifuga de 50 e 15 mL	Costar, Brasil
Vortex mixer	Scientific Indústria, USA
Balança Analítica	Mettler Toledo, Suíça
Placas 96 poços, capacidade 1000 µL	Axygen, USA
Selo de silicone	Axygen, USA
Cartuchos Hysphere C18 HD 7um	Spark, Holanda

Na Tabela 18 encontram-se os padrões que foram utilizados na análise do etinilestradiol.

Tabela 18- Padrões de referência

Nome usual	Utilizado como	Fabricante/País	Lote	Validade
Etinilestradiol	Analito	USP, EUA	Q0C162	Corrente
17- α -Etinilestradiol-D4	Padrão interno	Synfine, Canadá	A-1195-187	30/05/2012

Preparação das Soluções

Espécies biológicas

As amostras de plasma foram coletadas de diferentes indivíduos, nas seguintes condições: plasma humano normal, plasma humano lipêmico e plasma humano hemolizado.

Soluções utilizadas no ensaio

1- Solução-mãe:

A precisão da pesagem deverá ser de $\pm 0,01$ mg, ser documentada aproximadamente. A substância deverá ser dissolvida no solvente específico que encontram-se no Quadro 2:

Quadro 2- Solvente de diluição das soluções-mãe

Padrão analítico	Solvente de diluição
Etinilestradiol	Metanol puro
17-Alfa-Etinilestradiol-D4	Metanol puro

2 – Solução de trabalho para amostras de controle de qualidade em plasma

Após preparação das soluções-mãe, estas foram utilizadas na preparação das soluções de trabalho para a condução da validação do método bioanalítico. Os solventes utilizados na preparação das soluções de trabalho foram:

- Solvente de diluição soluções de trabalho–intermediárias: metanol/água (70/30; v/v);
- Solvente de diluição soluções de trabalho – curva e controles: água pura;

3 - Soluções de trabalho para curva de calibração:

A partir de sucessivas diluições da solução-mãe de etinilestradiol, utilizando como diluente metanol água (70/30 v/v), obtiveram-se as concentrações de 10 µg/mL, 0,1 µg/mL, 0,005 µg/mL, 0,003 µg/mL, 0,0015 µg/mL, 0,0009 µg/mL, 0,0006 µg/mL, 0,0003 µg/mL, 0,0001 µg/mL e 0,00005 µg/mL.

4 - Soluções de trabalho para controle de qualidade:

A partir de sucessivas diluições da solução mãe de etinilestradiol, utilizando como diluente água pura, obtiveram-se as concentrações de 10 µg/mL, 0,1 µg/mL, 0,010 µg/mL, 0,00350 µg/mL, 0,00175 µg/mL, 0,000150 µg/mL, 0,0000500 µg/mL.

Quantificação das amostras

Para a determinação do etinilestradiol nas amostras de plasma foi realizada uma curva de calibração, cujo intervalo entre as concentrações mínima e máxima foi elaborado de acordo com as características do fármaco e da dose administrada no estudo, a fim de englobar todas ou quase todas as concentrações a serem obtidas nas quantificações. Para

garantir a reprodutividade do aparelho durante o ensaio, injetou-se uma amostra de concentração conhecida, denominada amostra de controle de qualidade . Foram utilizados três controles de qualidade (CQ), e cada um deles era injetado durante as quantificações das amostras na ordem da menor concentração à maior concentração, intercaladas a cada dez amostras analisadas. As concentrações dos CQ utilizadas no estudo foram: 0,015 ng/mL (3 vezes o valor do LIQ), 0,175 ng/mL (CQM) e 0,350 ng/mL (CQA). Os padrões da curva de calibração e os controles de qualidade foram preparados na mesma matriz biológica das amostras (plasma). O limite inferior de quantificação (LIQ) utilizado no estudo foi de 0,005 ng/mL.

Preparação da curva de calibração

A curva de calibração constitui de um branco (matriz processada sem o padrão interno), amostra zero (matriz processada com o padrão interno) e as amostras padrões a serem quantificadas. As amostras padrões foram preparadas adicionando aos plasmas humanos controles, as soluções de trabalho com o analito a ser quantificado, conforme ilustrado na Tabela 19:

Tabela 19- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de curva de calibração preparadas diariamente

	Concentração final (ng/mL)
Branco	--
Zero	--
CC8	0,500
CC7	0,300
CC6	0,150
CC5	0,090
CC4	0,060
CC3	0,030
CC2	0,010
CC1	0,005

Preparações dos controles de qualidade (CQ)

- Soluções de trabalho para amostras de controle de qualidade

A partir de sucessivas diluições da solução-mãe de etinilestradiol, utilizando como diluente água pura, obtiveram-se as concentrações de 10 µg/mL, 0,1 µg/mL, 0,010 µg/mL, 0,00350 µg/mL, 0,00175 µg/mL, 0,000150 µg/mL, 0,0000500 µg/mL.

As amostras de controle de qualidade foram preparadas adicionando aos plasmas humanos controle as soluções padrões com o analito a ser quantificado, conforme Tabela 20:

Tabela 20- Concentrações das soluções em matriz biológica branca para fins de controle de qualidade

	Concentração final (ng/mL)
CQA	0,350
CQM	0,175
CQB	0,015
LIQ	0,005

Validação da corrida analítica

A corrida analítica consistiu na curva de calibração, controle de qualidade e quantificação do analito nas amostras coletadas. O coeficiente de variação máximo permitido para os CQs foi de 15%, podendo haver duas rejeições por corrida analítica, desde que não fosse da mesma concentração. Para o LIQ, o coeficiente de variação máximo permitido foi de 20%. Para a curva de calibração, pelo menos cinco a sete concentrações deveriam apresentar coeficiente de variação de, no máximo, 15% (desde que não fosse a menor e/ou maior concentração). Para a menor concentração da curva de calibração, o coeficiente de variação não pôde exceder 20%.

Extração das amostras

O processo de extração foi aplicado para as amostras das voluntárias, amostras da curva de calibração e amostras dos controles de qualidade.

Processo de extração: foram colocados tubos de vidro teste (10 x 75 mm) em um suporte, devidamente numerados de acordo com as amostras a serem quantificadas. Em seguida, pipetou-se 700 µL de plasma em tubo de ensaio alto. Com o uso de uma pipeta, em cada tubo foi adicionado 50 µL da solução de 17- α -etinilestradiol-D4 500 pg/mL (padrão interno) e agitou-se por 10 segundos. Adicionou-se 100 µL de ácido fórmico e agitou-se por 10 segundos. Adicionou-se 4 mL de éter/hexano 70/30 e agitou-se por 40 segundos. Em seguida centrifugou-se a 3200 rpm por 2 minutos a 4°C. Verteu o solvente orgânico para tubos de ensaio pequenos. Secou sob fluxo de nitrogênio a 40 °C no turbo Vap. Adicionou-se 500 µL de solução 50/50 metanol/água e agitou por 10 segundos e em seguida transferiu para a placa de PCR.

Na Tabela 21, foram descritas as condições cromatográficas e de extração do Etinilestradiol.

Tabela 21- Condições Cromatográficas e de extração do Etinilestradiol, definidas durante a validação:

Descrição	Etinilestradiol
Coluna analítica	Gemini, Phenomenex C18 5um (50 x 4,6 mm i.d)
Códigos das colunas	Col - 009
Pré-coluna	Gemini, Phenomenex C18 5um (4 x 3,0 mm i.d)
Temperatura do amostrador	6 °C
Fluxo	0.95 mL/min (84% bomba A / 16% bomba B)
Pressão	50 - 70 bar
Temperatura da coluna	Temperatura ambiente
Volume de injeção	200 µL
Tempo de corrida	2,50 min
Tempo de retenção	1,80 ± 0,3 min (etinilestradiol) 1,80 ± 0,3 min (17- α -Etinilestradiol-D4)
Tipo de integração	IntelliQuan (base-a-base)
Solução do auto-injetor - lavagem de seringa - porta 1	Água
Solução do auto-injetor - lavagem de seringa - porta 2	Acetonitrila/água (80:20)
Solução de lavagem do cartucho – porta 3 (HPD stand)	Metanol/água (30:70, v/v)
Solução de lavagem do cartucho – porta 1 (1A) (HPD mix)	Metanol 100%
Solução de lavagem do cartucho – porta 3 (IC) (HPD mix)	Metanol/água (30:30, v/v)
Solução de lavagem do cartucho – porta 6 (IF) (HPD mix)	Acetonitrila 100%
Tipo de extração	L/L (Líquido/líquido) + SPE
CLAE - bomba A	Metanol/água (75:25)
CLAE – bomba B	Tolueno
Cartucho de extração	Cartuchos Hysphere C18 HD 7um

Os íons resultantes da molécula de etinilestradiol e 17- α -Etinilestradiol-D4, encontram-se na Tabela 22:

Tabela 22- Íons resultantes da molécula de etinilestradiol e padrão interno

Analitos	Íon Precursor	Íon “Filho”	Tempo Final (msec)	Potencial Dissociação (volts)	Potencial Entrada (volts)	Energia Colisão (volts)	Colisão Potencial Saída (volts)
Etiniles-tradiol	295,1	269,1	200,0	-180	-10	-44	-18
17- α -Etiniles-tradiol-D4	299,1	273,1	200,0	-180	-10	-44	-18

Na Tabela 23, constam os parâmetros referentes a Fonte de Ionização e gases utilizados na análise do etinilestradiol.

Tabela 23- Parâmetros da Fonte de ionização e gases

Parâmetro	Valor
Gás Colisão	10
Gás Nebulizante	10
Gás Fonte Íon (GS1)	50
Gás Fonte Íon (GS2)	50
Transferência de Voltagem do Íon	-800
Temperatura (°C)	380

Os equipamentos de LC-MS/MS utilizados na análise do etinilestradiol estão descrito na Tabela 24:

Tabela 24- Equipamentos de LC-MS/MS usado na análise do etinilestradiol

Sistema LC-MS/MS		MS01/SK01
Componente	Fabricante, País	Modelo
Componentes (Stacker)	Spark, Holanda	931
Mostrador Automático Reliance	Spark, Holanda	930
HPD 1 (Standart)	Spark, Holanda	730
HPD 2 (Mix)	Spark, Holanda	730
ACE	Spark, Holanda	725
Bombas CLAE	Spark, Holanda	750
Espectrômetro de massas	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	API5000™
Fonte	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	APPI (Photospray)
Sistema de dados – MS	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Analyst v1.4.2
Sistema de dados – Extrator on-line	Spark Holland, Holanda	Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4

4.2.3- Validação do método analítico empregado para ciproteorona e etinilestradiol

A determinação da adequabilidade e confiabilidade de um método analítico para a realização de um estudo de bioequivalência é realizada por meio da averiguação de sua sensibilidade, especificidade, linearidade, acurácia, precisão e reprodutibilidade, levando-se ainda em conta a estabilidade dos compostos que estão sendo empregados. Pode-se concluir que os métodos bioanalíticos de “quantificação do acetato de ciproterona e do etinilestradiol em amostras de plasma humano utilizando a técnica de LC-MS/MS” foram validados de acordo com a RE N°899 de 29 de maio de 2003, e para esta certificação utilizou-se dos seguintes parâmetros e respectivos limites de aceitação:

Especificidade: capacidade do método em não apresentar interferência na resposta do analito, oriundas de impurezas, produtos de degradação da matriz etc. São utilizados quatro plasmas de diferentes indivíduos colhidos em jejum, um plasma hiperlipêmico e um plasma hemolizado. A especificidade é comprovada pela determinação de inexistência de interferência significativa, no tempo de retenção da droga, metabólitos

ou padrão interno, comparando-se visualmente os cromatogramas obtidos com aquele produzido pela análise de uma solução aquosa do fármaco em análise em concentração próxima ao limite de quantificação;

Sensibilidade: É avaliada por intermédio do limite de quantificação (LIQ), de forma a considerar não somente a sensibilidade em si, mas também em função dos critérios de precisão e acurácia do método. O LIQ é aprovado se forem satisfeitos os seguintes critérios: a) Inexistência de interferência ou resposta cinco vezes maior que qualquer interferência existente em brancos nos tempos de retenção em uso; b) Pico do analito identificável, claro, discreto com uma precisão de 20%, calculada pelo coeficiente de variabilidade do valor quantificado para cinco alíquotas provenientes de um mesmo controle padrão, bem como da correspondente duplicata da curva de calibração em uso. c) Acurácia de 80% a 120% em relação ao valor nominal da concentração do controle padrão utilizado, bem como da correspondente duplicata da curva de calibração em uso.

Linearidade: Capacidade que o método tem de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito. É avaliada em função da linearidade da curva de calibração empregada. E esta é aprovada se forem satisfeitos os seguintes critérios: a) Pelo menos quatro de seis padrões de cada concentração nominal, incluindo o padrão correspondente ao LIQ e o padrão de maior concentração, com desvio menor do que 15% da concentração nominal em pelo menos uma das duplicatas; b) Coeficiente de correlação da curva igual ou maior que 0.98.

Precisão e Exatidão: Precisão é o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, sendo a metodologia aplicada diversas vezes em uma mesma amostra homogênea, em condições idênticas de análise. Já a exatidão é o grau de concordância entre os resultados individuais e o valor tomado como referência. São avaliadas a partir da quantificação de pelo menos três concentrações padrão distintas (controles de qualidade CQA, CQB, CQM), determinadas em função da faixa de concentrações esperadas, tomando-se como base cinco alíquotas de cada concentração quantificadas durante uma única corrida analítica (precisão e acurácia intra-lote).

Reprodutibilidade: A avaliação se dá a partir da determinação da precisão e acurácia de três lotes provenientes de matrizes biológicas distintas (precisão e acurácia inter-lote)

Estabilidade dos compostos: é determinada em função do tempo necessário para preparação das amostras e respectiva quantificação, bem como das temperaturas de armazenamento usualmente empregadas. Para sua realização são utilizadas duas concentrações distintas da droga a ser dosada, cujas amostras são submetidas aos seguintes testes: a) Estabilidade no autosampler: Determina a estabilidade da droga e do padrão interno em fase móvel, na temperatura encontrada no autosampler, por período de tempo igual ou superior a uma corrida analítica; b) Congelamento e descongelamento: Determina a estabilidade da droga em plasma após 3 ciclos de congelamento por vinte e quatro horas e descongelamento em temperatura ambiente; c) Estabilidade de curto período em temperatura ambiente: Determina a estabilidade da droga em plasma em temperatura ambiente, por período de tempo igual ou superior ao necessário para o preparo de amostras para uma corrida analítica; d) Estabilidade de longo período: Determina a estabilidade da droga em plasma na temperatura de congelamento das amostras, por período de tempo igual ou superior ao primeiro dia de coleta de amostras e o dia da análise da última amostra; e) Estabilidade das soluções de trabalho: Determina a estabilidade da droga e do padrão interno a partir das soluções de trabalho preparadas, na temperatura em que são armazenadas, e por período de tempo equivalente à sua utilização durante a condução do estudo.

4.3- Etapa estatística

A etapa estatística em bioequivalência compõe-se basicamente por métodos associados à avaliação da bioequivalência, onde se considera o critério da bioequivalência média sob o delineamento experimental crossover 2x2. Dividiu-se em duas etapas: cálculo do tamanho da amostra/obtenção da randomização (Planejamento do estudo) e análise estatística.

Na primeira etapa além do cálculo do tamanho da amostra e da obtenção da randomização realizou-se a análise dos parâmetros bioquímicos e hemograma para verificar se as diferenças encontradas antes e após o estudo foram significativas e para isso utilizou-se a comparação entre médias de duas amostras pareadas.

De acordo com Callegari (2003) e Pagano (2004), a técnica do pareamento aumenta a eficiência do teste estatístico, tornando-o mais sensível a diferenças pequenas entre tratamentos diz-se que; o emparelhamento torna o teste mais poderoso. Neste estudo em específico utilizou-se a técnica conhecida como auto-emparelhamento, onde as medidas foram tomadas em um único indivíduo, em dois pontos distintos no tempo, ou seja, antes e depois do estudo a qual denomina-se de emparelhamento máximo, onde cada indivíduo controle de si próprio, fazendo com que o teste seja bem específico.

Para a análise da estatística de bioequivalência, de acordo com o órgão regulador, os dados foram conduzidos após transformação logarítmica baseada no modelo aditivo para todos os valores de ASC e C_{max} . O T_{max} , foi estatisticamente avaliado utilizando a diferença individual, construindo um intervalo de confiança de 90%, por meio de teste não paramétrico. Os parâmetros farmacocinéticos ASC_{0-inf} , $T_{1/2}$, e Kel foram calculados, porém, estes parâmetros não foram considerados no cálculo de bioequivalência. Para a decisão de bioequivalência, análise considerou como variável alvo ASC_{0-t} e C_{max} .

Foi empregada análise de variância (ANOVA) apropriada para o modelo de dois períodos cruzados, sob os dados $\ln ASC_{0-t}$ e $\ln C_{max}$, à qual foram considerados em seu modelo os efeitos de seqüência, voluntária dentro da seqüência, tratamento e período. Foram calculados os pontos paramétricos e estimativas dos intervalos da razão T/R (formulação teste/formulação referência) para os valores ASC_{0-t} e C_{max} . A biodisponibilidade relativa da formulação teste *versus* referência foi avaliada pelas razões das médias geométricas (pontos estimados). As formulações em estudo são consideradas com biodisponibilidade equivalente quando o intervalo de confiança (IC) de 90% da média geométrica da ASC (no que diz respeito à extensão de absorção), C_{max} (no que diz respeito à velocidade de absorção), estiverem dentro do intervalo de 80% a 125% da média geométrica da formulação referência (regra do FDA para estudos de bioequivalência e da Resolução 391/99 e Resolução 135/03 da ANVISA/MS).

O número planejado da amostra foi de 48 voluntários, calculado conforme recomendação da ANVISA. A análise farmacocinética foi realizada com os seguintes programas: Software SPSS v.12.0 para Windows, Microsoft Excel v.2002; WinNonLin Professional Network Edition, v.1.5; Módulo PK-Solution version 2.0TM; EquivTestTM para o cálculo da ANOVA e para os gráficos utilizou-se o Graph Pad Prism versão 3.02, cujas medidas farmacocinéticas encontram-se nas Tabelas 34, 35, 38 e 39 (em Anexo). A entrada de dados (concentrações plasmáticas) e seu processamento inicial foi realizado por meio de planilhas do MS Excel, com base nos dados derivados dos equipamentos de análise, dados esses que encontram-se nas Tabelas 32,33, 36 e 37 (em Anexo).

5- RESULTADOS

5.1- Resultados da etapa clínica

Um total de 48 voluntárias foi selecionado no estudo, sendo do sexo feminino, não grávidas e não lactentes, todas com idade entre 18 e 50 anos, 24 foram alocadas na sequência 1 e outras 24 na sequência 2.

As voluntárias 17, 29, 37, 45 e 48 se retiraram do estudo antes ou durante a primeira internação. As amostras de sangue foram colhidas previamente à administração e até 240 horas após, em intervalos pré-determinados. Um total de 3.641 amostras foi submetida à quantificação. O intervalo entre os tratamentos foi de 28 dias.

O estudo transcorreu sem nenhum evento adverso sério. Não houve termos prematuros relacionados aos eventos adversos, e ambas as formulações foram bem toleradas pelas voluntárias na dose administrada.

Quanto aos exames laboratoriais, tanto no hemograma como nos parâmetros bioquímicos, não houve nenhuma alteração significativa, conforme pode ser constatado nos Quadros 3 e 4 abaixo:

Quadro 3- Análise do hemograma antes e depois da realização do estudo

Exame	Valores de referência		Teste t-pareado
Hemograma completo			
Eritrócitos	4,5 a 6,1 milhões/mm ³		t = 0,541
Hemoglobina	12,8 a 17,8 g/dL		t = 0,084
Hematócrito	40,0 a 54,0 %		t = 0,118
V.C.M.	77,0 a 92,0 fL		t = 0,064
H.B.C.M.	27,0 a 32,0 pg		t = 0,072
C.H.B.C.M.	30,0 a 35,0 g/dL		t = 0,063
R.D.W.	11,5 a 14,5%		t = 0,335
	Valores relativos	Valores absolutos	
Leucócitos		4,0 a 11,0/mm ³	t = 0,147
Neutrófilos	40 a 70%	2,0 a 7,9/mm ³	t = 0,565
Segmentados	36,0 a 66,0%	2,0 a 7,9/mm ³	t = 0,656
Eosinófilos	2,0 a 4,0%	0,1 a 0,4/mm ³	t = 0,372
Basófilos	0,0 a 1,0%	0,0 a 0,1/mm ³	t = 0,800
Linfócitos	25,0 a 45,0%	1,5 a 4,0/mm ³	t = 0,736
Monócitos	2,0 a 10,0%	0,2 a 0,8/mm ³	t = 0,314
Plaquetas	150.000 a 400.000/mm ³		t = 0,063

Quadro 4- Análise dos parâmetros bioquímicos antes e depois da realização do estudo

Exame	Valores de referência	Teste t-pareado
Bioquímica		
Glicose em jejum	60 a 99 mg/dL	t = 0,568
Colesterol total	< 200 mg/dL	t = 0,197
Triglicérides	< 150 mg/dL	t = 0,569
Uréia	6,0 a 50,0 mg/dL	t = 0,059
Creatinina	0,6 a 1,1 mg/dL	t = 0,114
Ácido úrico	1,5 a 6,0 mg/dL	t = 0,177
Transaminase oxalacetica	13 a 35 U/L	t = 0,300
Transaminase pirúvica	7 a 34 U/L	t = 0,243
Fosfatase alcalina	De 20 a 49 anos - 70 a 290 U/L Acima de 50 anos – 90 a 430 U/L	t = 0,177
Gama GT	7,0 a 32,0 U/L	t = 0,672
Bilirrubina total	0,50 a 1,40 mg/dL	t = 0,377
Bilirrubina direta	0,10 a 0,60 mg/dL	t = 0,074
Bilirrubina indireta	0,10 a 0,80 mg/dL	t = 0,128
Proteínas totais	6,0 a 8,0 g%	t = 0,239
Albumina	3,5 a 5,5 g%	t = 0,138
Globulinas	1,0 a 3,0 g%	t = 0,160
Relação A/G	No mínimo 1,2	t = 0,588

Para a comparação dos resultados dos exames laboratoriais realizados antes e após o estudo aplicou-se o “Teste t para dados pareados” (comparação entre médias de duas amostras pareadas). De acordo com os valores encontrados ($t > 0,05$), verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos exames quando comparados no mesmo indivíduo, antes e após a realização do estudo de bioequivalência, tanto para os parâmetros bioquímicos quanto para o hemograma.

5.1.1- Desvios de protocolo

Ocorreram atrasos de coletas de amostras, os quais são descritos nas tabelas de atrasos. Estes foram considerados na análise da farmacocinética da droga (Anexo- Tabela 25).

Algumas voluntárias não retornaram a unidade clínica no tempo pré-estabelecido para fazer coleta depois da internação, tanto no primeiro período como no segundo.

5.1.2- Estatística descritiva das voluntárias recrutadas para o estudo

Na Tabela 26, encontram-se os parâmetros referentes aos dados antropométricos das 48 voluntárias selecionadas:

Tabela 26- Estatística descritiva das 48 voluntárias selecionadas para o estudo

Variáveis	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Mediana
Altura (cm)	48	1,61	0,06	1,48	1,77	1,61
Peso	48	60,77	7,42	45,10	76,00	61,00
IMC	48	23,58	2,29	19,02	29,96	24,03
Idade	48	37,90	5,59	21,00	45,00	39,50

Na Tabela 27, apresentou-se a análise descritiva dos dados antropométricos referente às voluntárias que participaram do estudo (43 voluntárias). Dados estes que encontram-se dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANVISA.

Tabela 27- Estatística descritiva das 43 voluntárias que participaram do estudo

Variáveis	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Mediana
Altura (cm)	43	1,61	0,06	1,48	1,74	1,61
Peso	43	60,30	7,52	46,00	76,00	60,00
IMC	43	23,29	2,15	19,26	26,67	23,44
Idade	43	37,75	5,74	21,00	45,00	40,00

Na Figura 13, pode-se observar as médias dos dados antropométricos das voluntárias que participaram do estudo.

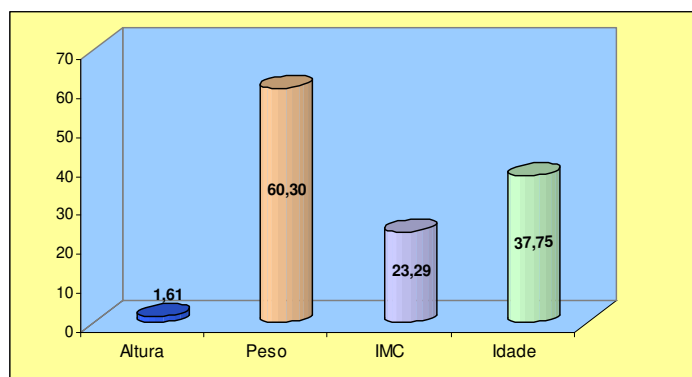


Figura 13- Característica da população em estudo

A Tabela 28 mostra os resultados encontrados no exame físico realizado nas voluntárias antes da realização do estudo, quando foram encontradas algumas ocorrências, porém nada que impedisse a participação das mesmas no estudo.

Tabela 28: Avaliação dos sistemas na história clínica pré-estudo

História	Ocorrências
Alergia	16 voluntárias apresentaram história de alergia
Cardiovascular	01 voluntária relatou ter tratado da válvula mitral em 2002
Dermatológico	01 voluntária apresentou história de problema dermatológico
Endócrino	não relatado por nenhum voluntário
Estabilidade emocional	04 voluntárias apresentaram história de estado emocional (tratada).
Gastrointestinal	10 voluntárias apresentaram problemas gastrointestinais
Genitourinário	01 voluntária apresentou problema geniturinário
Hematopoiético– linfático	03 voluntárias apresentaram problemas hematopoiéticos
História cirúrgica	48 voluntárias apresentaram história cirúrgica
História familiar	26 voluntárias apresentaram história familiar
Musculoesquelético	não relatado por nenhum voluntário
Olhos – Ouvidos – Nariz	13 voluntárias apresentaram problemas de olhos, ouvido ou nariz
Outros	02 voluntárias apresentaram outros tipos de problemas
Respiratório	04 voluntárias apresentaram problemas respiratórios
Sistema Nervoso Central	03 voluntárias apresentaram problemas de Sistema Nervoso Central

De acordo com a Tabela 29, não houve desvios considerados significativos, ou seja, a pressão estava dentro dos limites estabelecidos no protocolo (sistólica: entre 100 – 140 mmHg e diastólica: entre 60-90 mmHg). A frequência cardíaca dentro de 50-90 b.p.m.

Tabela 29- Descrição da história clínica de todos os voluntários do estudo

Características	Ocorrências
Pressão arterial	nenhum desvio significativo nos resultados
Frequência cardíaca	nenhum desvio significativo nos resultados
Temperatura	nenhum desvio significativo nos resultados
Eletrcardiograma	Nenhum desvio significativo nos resultados
Abuso de álcool e drogas	não relatado por nenhum voluntário

5.1.3- Ocorrência de eventos adversos

Foram observados 97 eventos adversos, sendo 62 relacionados com a droga, 07 considerados suspeitos e 28 não relacionados com a droga. Os eventos observados em cada voluntária estão relacionados na Tabela 54 (Anexo). Na Tabela 28 encontram-se detalhadas as medicações usadas no tratamento dos eventos de acordo com as voluntárias.

De acordo com os eventos adversos apresentados, foram administradas as medicações descritas na Tabela 30, porém desde que estes não interagissem com a medicação em estudo.

Tabela 30- Medicação utilizada no tratamento de eventos adversos

Medicação	Voluntárias	Quantidade
Dipirona gotas 500mg	2,8,13,14,15,18,22,25,26,27,32,33,42	28 gts
Bactrim oral 400mg comprimido	35	20 cps
Paracetamol 500 mg gotas	41	35 gts

5.2- Resultados da Etapa Analítica

5.2.1- Resultados da validação do método analítico do acetato de ciproterona e do etinilestradiol

O método analítico descrito foi devidamente validado, para garantir a confiabilidade dos resultados. Para validar a metodologia analítica, foram avaliados os seguintes parâmetros: sensibilidade, especificidade/seletividade, linearidade, exatidão e precisão intra e inter corrida analítica e recuperação do método de extração, levando em consideração a estabilidade dos analitos nas condições experimentais.

Tabela 31a- Validação do método analítico do acetato de ciproterona e do etinilestradiol

Parâmetros Validados	Acetato de Ciproterona	Etinilestradiol
Especificidade/Seletividade	Específico para o Acetato de Ciproterona e Finasterida (P.I.) (menos de 20% da resposta LIQ)	Específico para o Etinilestradiol e 17-Alfa-Etinilestradiol-D4
Linearidade	Boa Resposta Linear	Boa Resposta Linear
Faixa de linearidade	0,1 – 50 ng/mL	5 – 500 pg/mL
Coeficiente correlação (r)	0,99950 -0,99990	0,9995 – 0,99990
Precisão e Exatidão (LIQ)	0,1 ng/mL (1×10^{-9})	5 pg/mL (5×10^{-12})
	Precisão intra-grupo: %CV: 4.2 a 8.9 e 91.5 a 103.5%	Precisão intra-grupo: %CV: 8.2 a 14.6 e 99.8 a 102.2%
	Precisão inter-grupo: %CV: 7.7 e 100% (Valor dentro de $\pm 20\%$, que poderia ter de divergência em relação ao valor de referência)	Precisão inter-grupo: %CV: 11.4 e 101% (Valor dentro de $\pm 20\%$, que poderia ter de divergência em relação ao valor de referência)
Precisão e Exatidão do CQ (concentrações utilizadas)	0.3, 20 e 40 ng/mL	15, 175 e 350 pg/mL
	Precisão intra-grupo: %CV: 1.8 a 5.6% e 92 a 99.4%	Precisão intra-grupo: %CV: 2.1 a 9.8% e 94.6 a 103.8%
	Precisão inter-grupo: %CV: 2.2 a 5.5% e 95.5 a 100%	Precisão inter-grupo: %CV: 4.4 a 9.1% e 98.9 a 101.7%
	(Valores dentro de $\pm 15\%$ do valor referência)	(Valores dentro de $\pm 15\%$ do valor referência)
Recuperação e reprodutividade	Eficiente e seletivo para o analito e padrão interno	Eficiente e seletivo para o analito e padrão interno
	Extração média: 105,7%	Extração média: 100,4%
	Nível de QCB, CQM e CQA: 109,0%, 107,7% e 100,3%	Nível de QCA, CQM e CQB: 98,9,0%, 101,7% e 100,6%
	Recuperação P.I : 106,2%	Recuperação P.I : 101,0%
Ensaio de supressão iônica	Não há supressão significativa	Não há supressão significativa

Especificidade - Ciproterona

Para determinação deste parâmetro, são utilizados quatro plasmas de diferentes indivíduos colhidos em jejum, um plasma hiperlipêmico e um plasma hemolizado. A especificidade é comprovada pela determinação de inexistência de interferência significativa, no tempo de retenção da droga, metabólitos ou padrão interno, comparando-se visualmente os cromatogramas obtidos com aquele produzido pela análise de uma solução aquosa do fármaco em análise em concentração próxima ao Limite de Quantificação.

Cromatogramas

1 – Branco normal

A especificidade do método pode ser exemplificada através dos gráficos 1 e 2, onde nota-se que mesmo após a adição do padrão interno ao plasma branco não houve qualquer alteração quanto ao cromatograma, ou seja, o padrão interno não interfere na quantificação do acetato de ciproterona nas amostras de plasma.

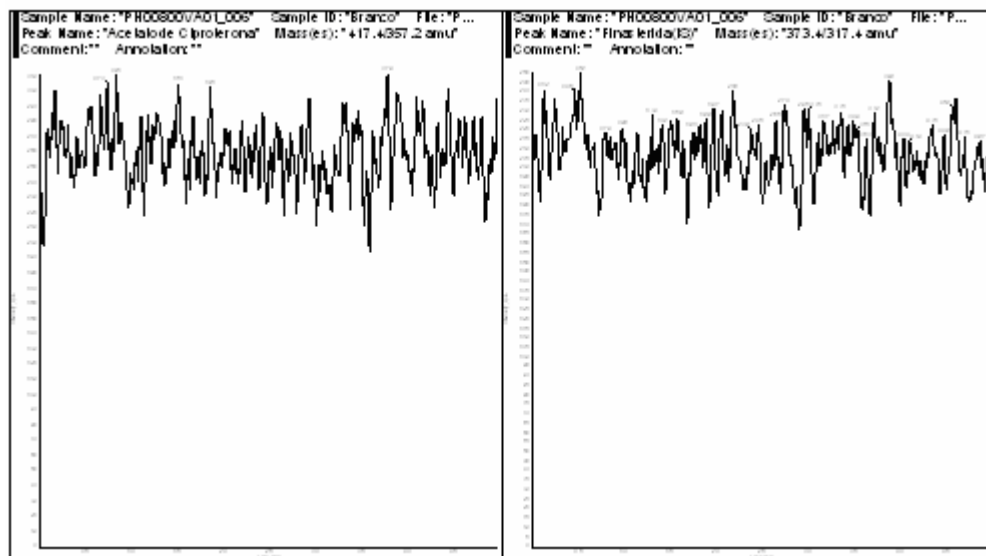


Figura 14- Cromatogramas das amostras de plasma branco normal - acetato de ciproterona

1.2 Branco lipêmico

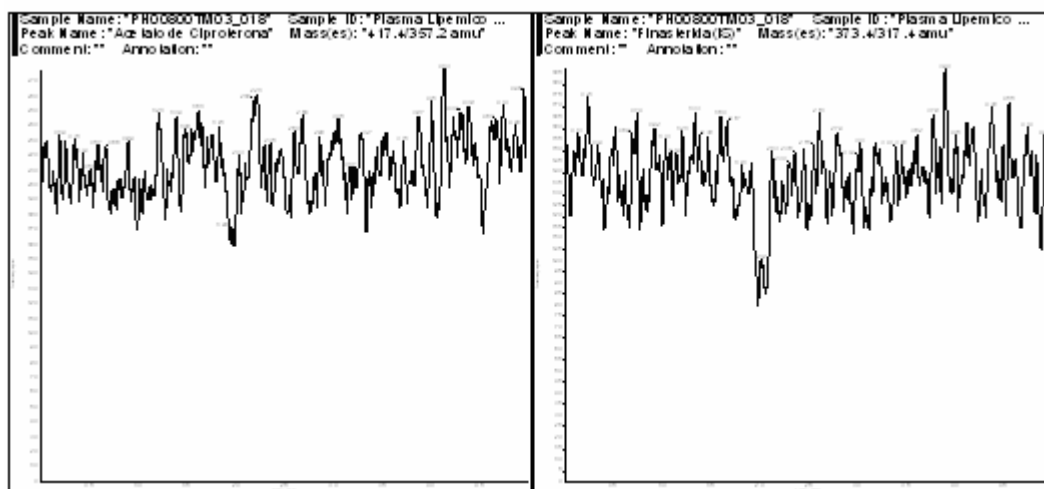


Figura 15- Cromatogramas das amostras de pPlasma branco lipêmico

1.3 Branco hemolizado

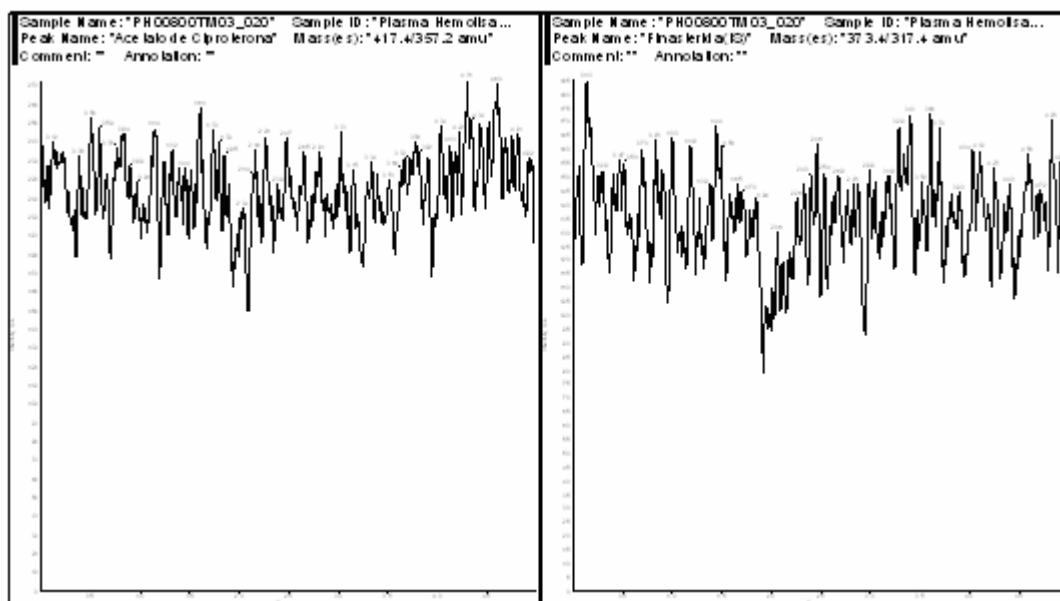


Figura 16- Cromatograma das amostras de plasma branco hemolizado

1.4 Zero (branco+ PI)

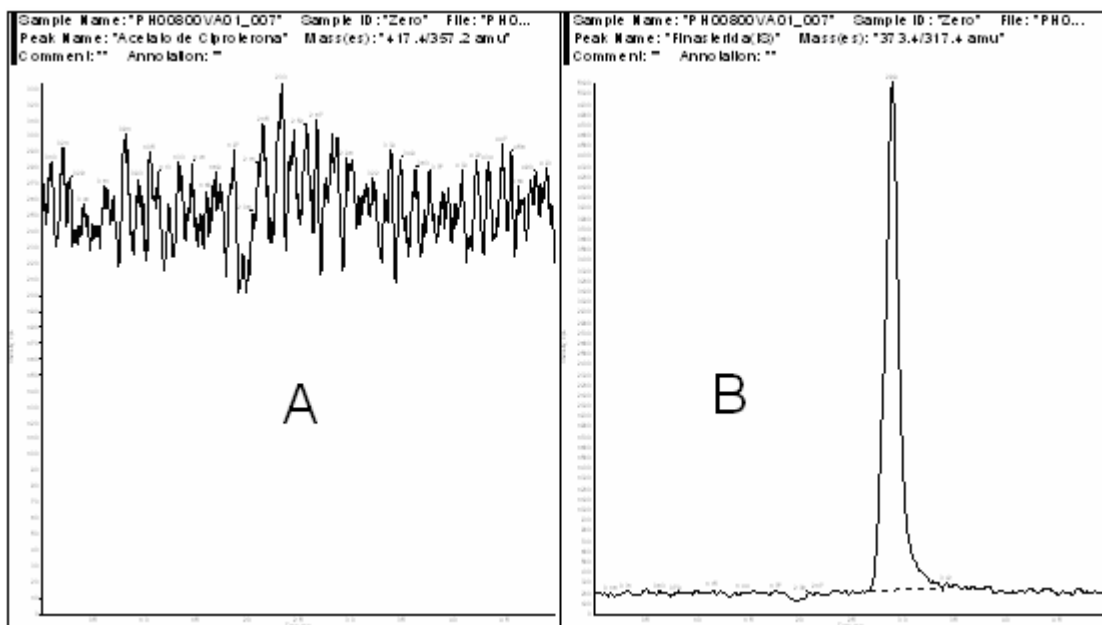


Figura 17- Cromatogramas do branco (A) + padrão interno (B)

1.5 Amostra LIQ em plasma normal

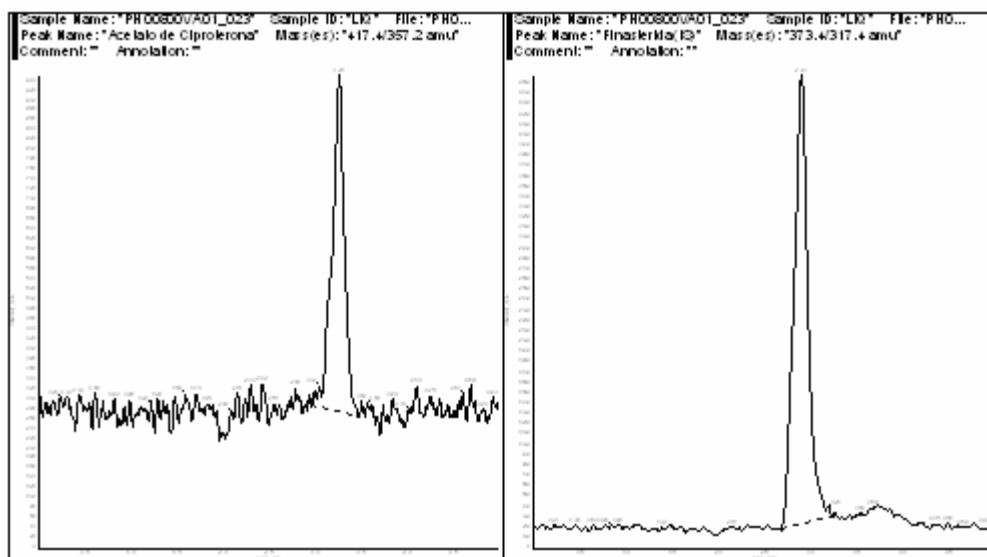


Figura 18- Cromatogramas da amostra LIQ em plasma normal

Nas figuras, a seguir, são mostrados os cromatogramas obtidos das amostras CQA, CQB e CQM nas condições cromatográficas descritas no método.

1.6 Amostra CQB em plasma normal

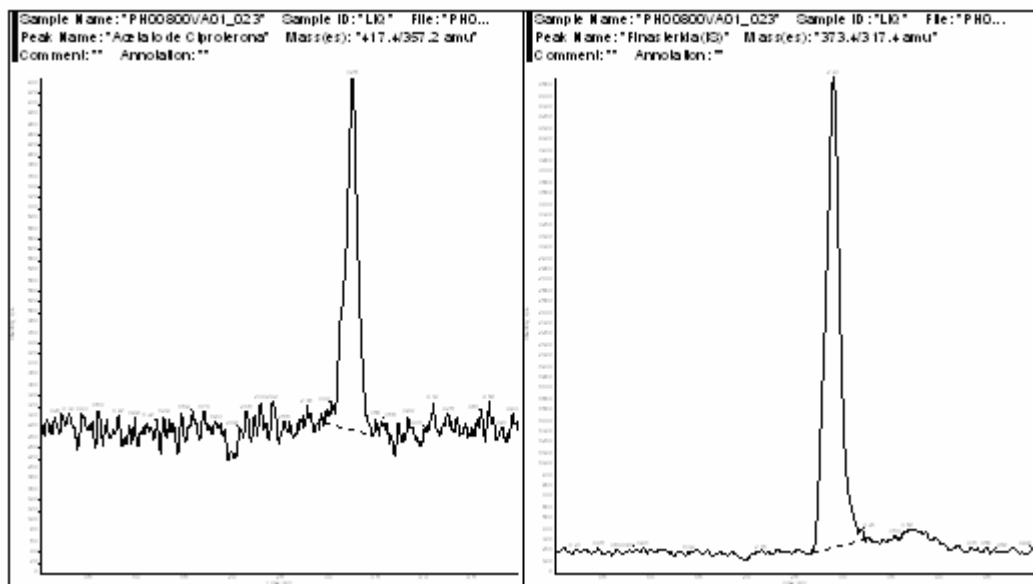


Figura 19- Cromatogramas da amostra de CQB em plasma normal

1.7 Amostra CQM em plasma normal

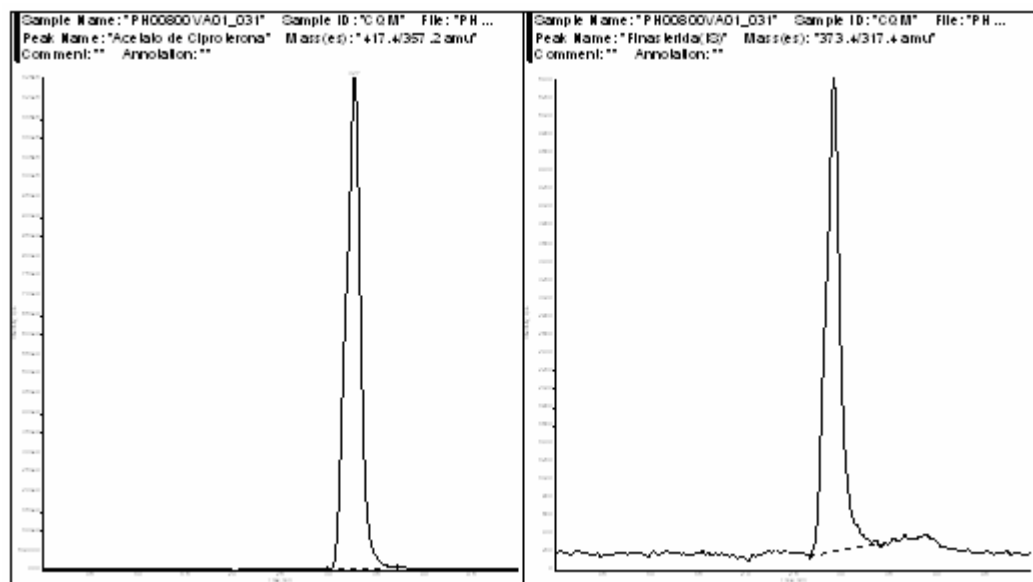


Figura 20- Cromatogramas da amostra de CQM em plasma normal

1.8 Amostra CQA em plasma normal

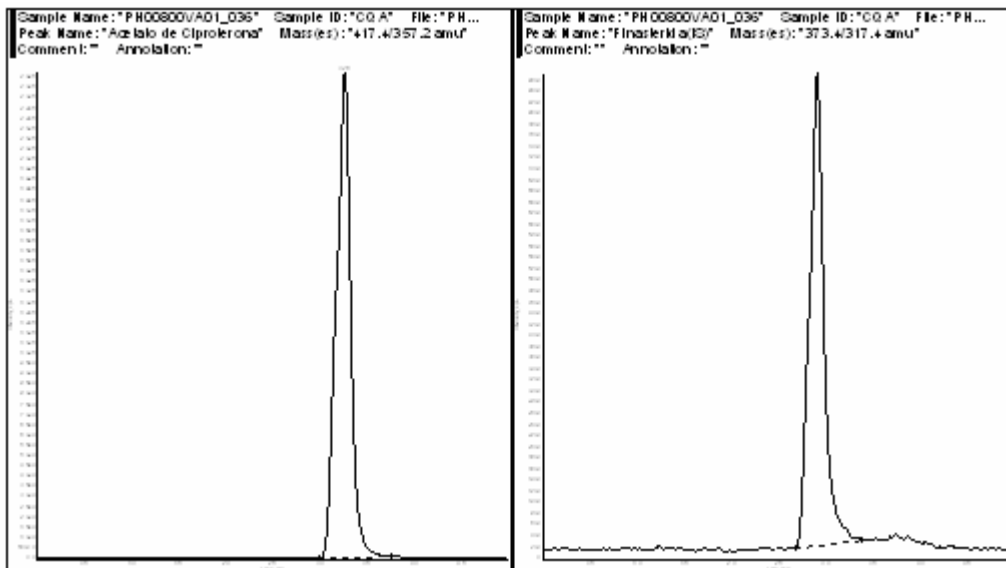


Figura 21- Cromatogramas de amostras CQA em plasma normal

1.9 Teste de supressão iônica – plasma normal

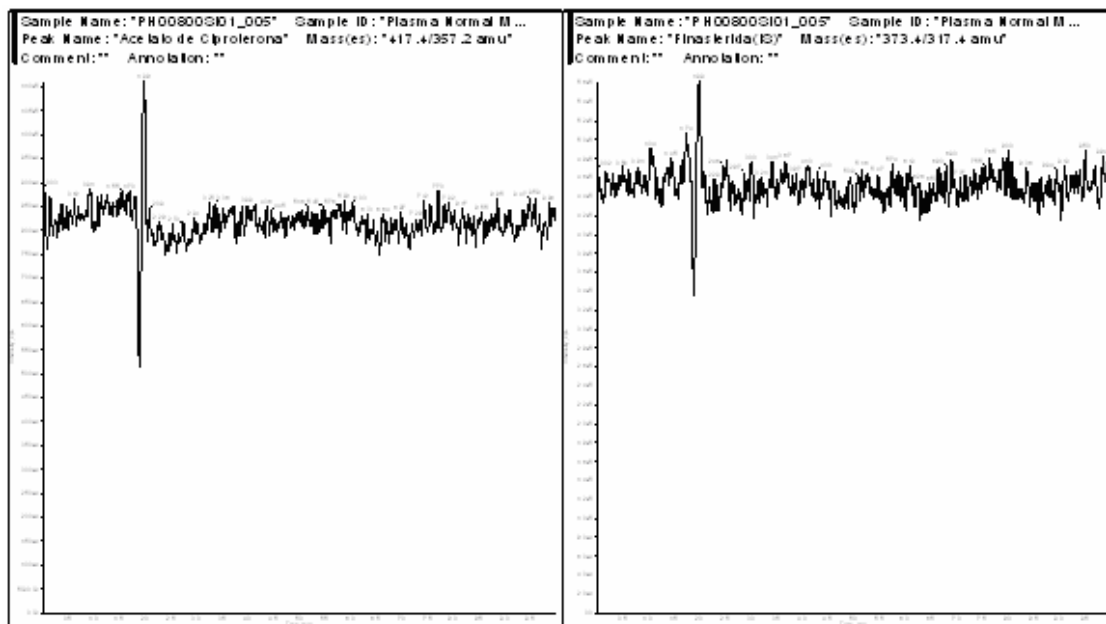


Figura 22- Cromatogramas de supressão iônica para amostra de plasma normal

1.10 Teste de supressão iônica – plasma lipêmico

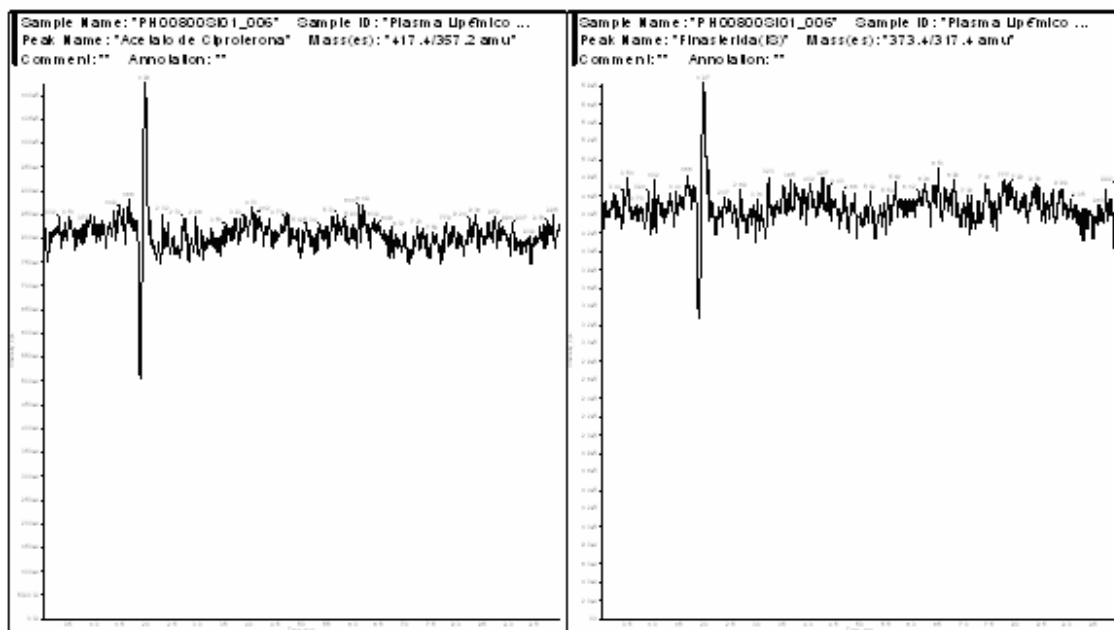


Figura 23- Cromatograma para o teste de supressão iônica em amostra de plasma lipêmico

1.11 Teste de supressão iônica – plasma hemolizado

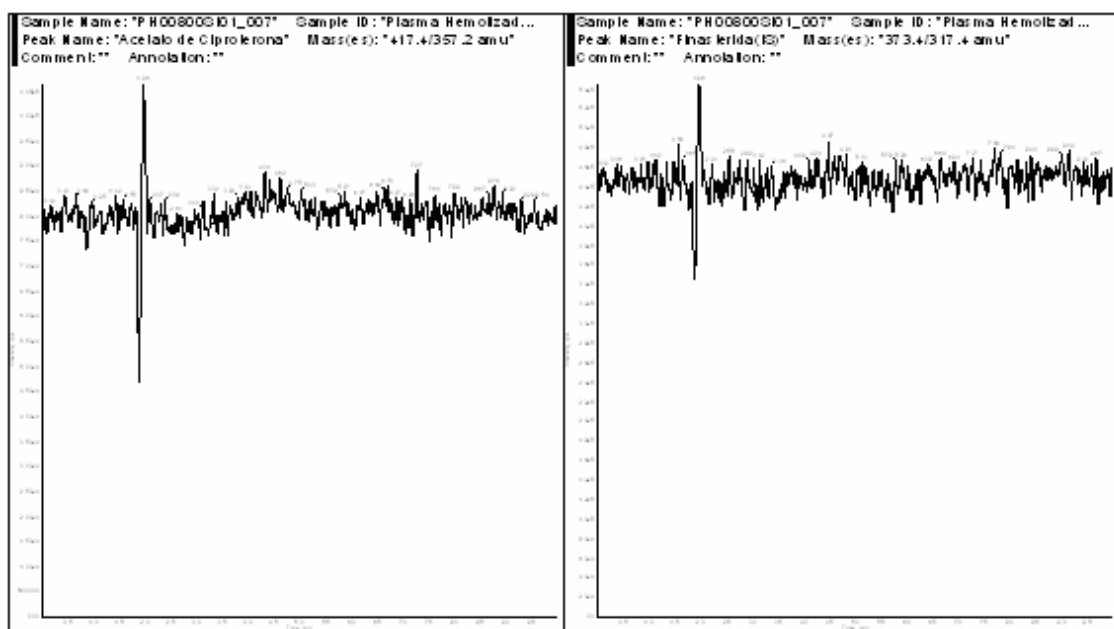


Figura 24- Cromatograma para o teste supressão iônica em amostras de plasma hemolizado

1.12 Gráfico da linearidade do método

A curva de calibração mostrou boa linearidade com 0.1 – 50ng/mL de acetato de ciproterona, onde o coeficiente de correlação médio (r) foi maior que 0.9997.

O limite inferior de quantificação (LIQ) foi de 0,1 ng/ml para acetato de ciproterona.

Coefficiente de correlação linear: 0,9997

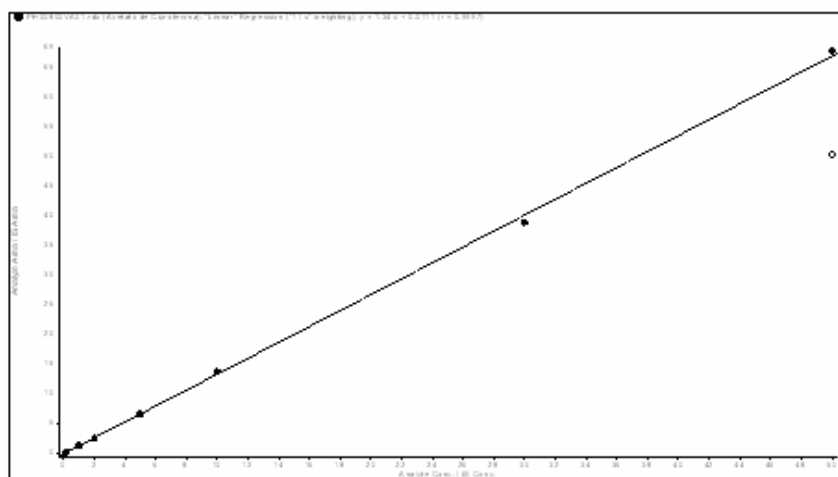


Figura 25- Gráfico da linearidade do método

1.13 Espectros de massas (Analito – acetato de ciproterona)

Condições de detecção: 417,40 – 357,20 (Analito – acetato de ciproterona)

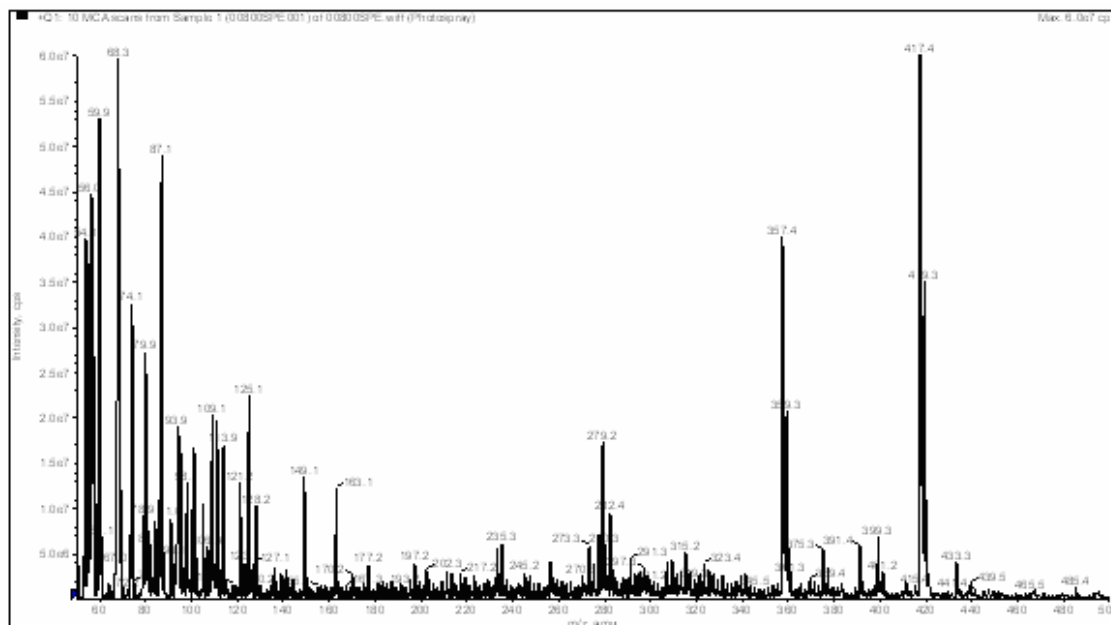


Figura 26a- Espectrogramas de massas do analito (acetato de ciproterona)

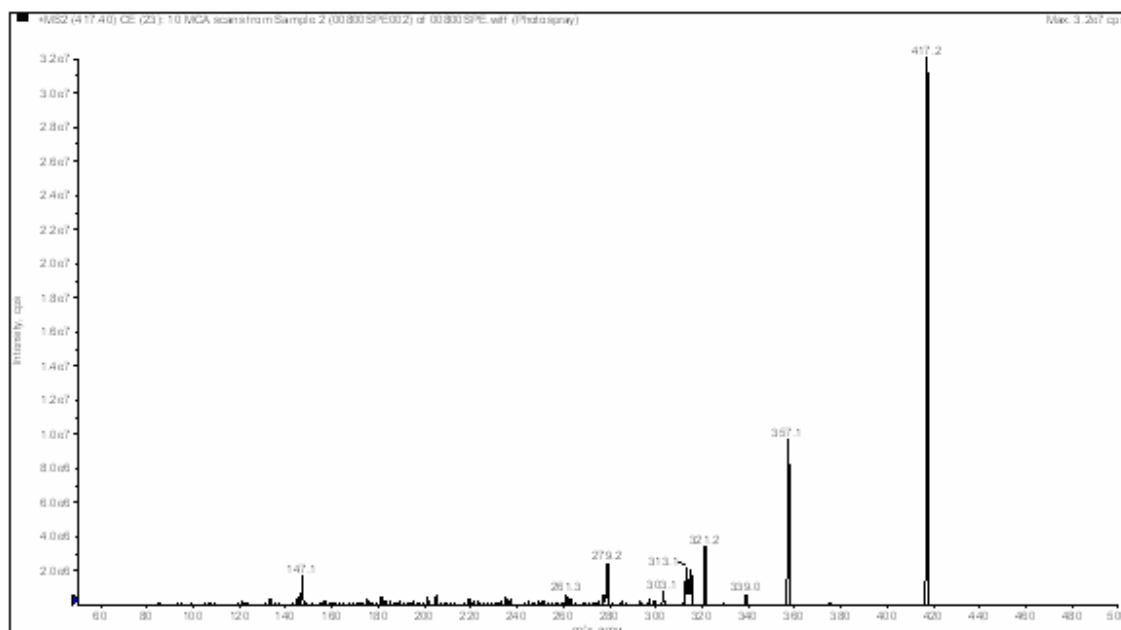


Figura 26b- Espectrograma de massa do analito (acetato de ciproterona)

1.13 Espectros de massas (padrão interno)

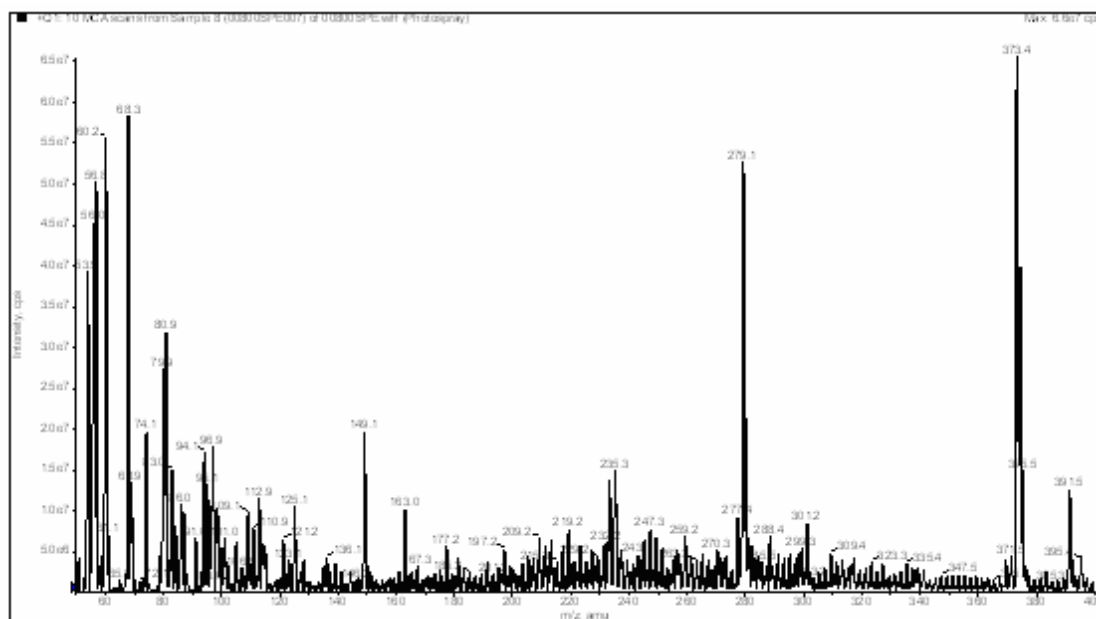


Figura 27a- Espectrograma de massa do padrão interno do acetato de ciproterona (finasterida)

Condições de detecção: 373,40 – 317,40 (padrão interno - finasterida)

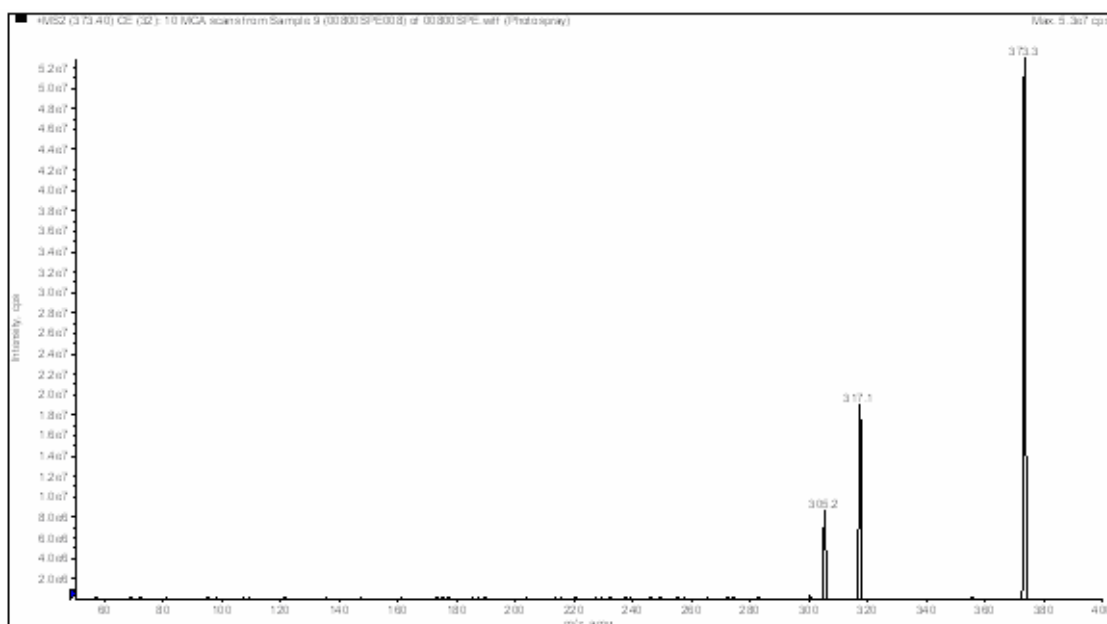


Figura 27b- Espectrograma de massa do padrão interno do acetato de ciproterona (finasterida)

Especificidade do Etinilestradiol

1.1 Branco normal

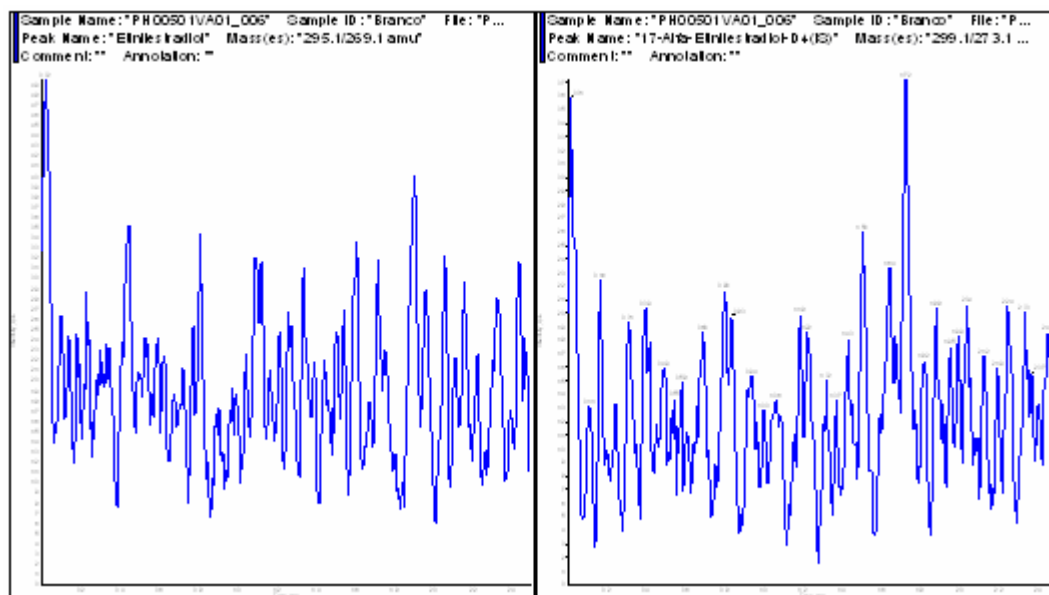


Figura 28- Cromatogramas do plasma branco normal para o etinilestradiol

1.2 Branco lipêmico

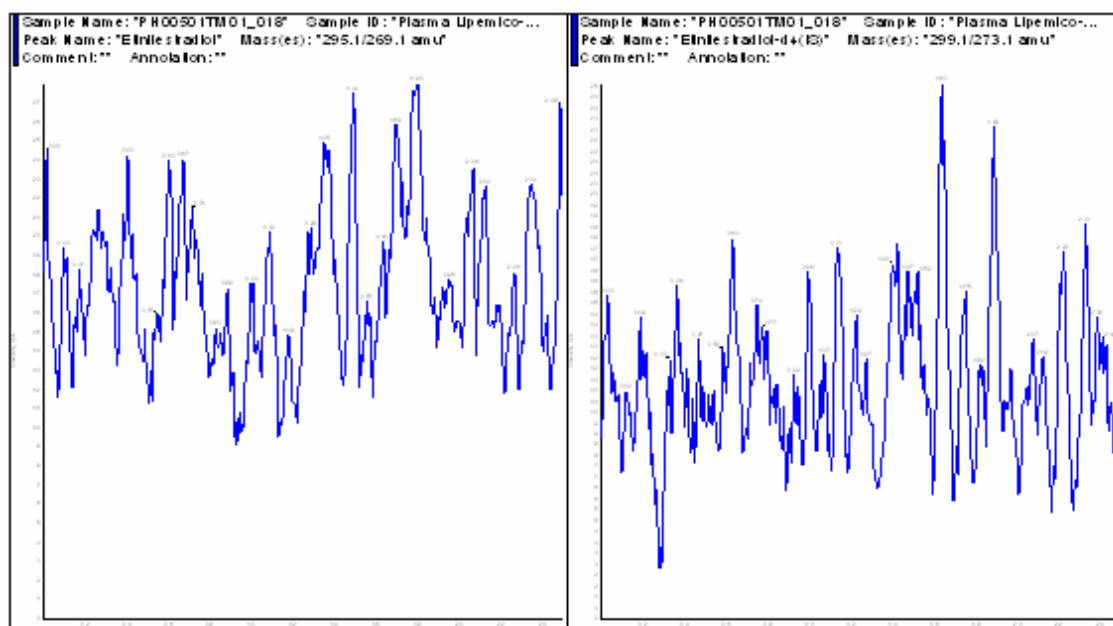


Figura 29- Cromatogramas do plasma branco lipêmico para etinilestradiol

1.3 Branco hemolizado

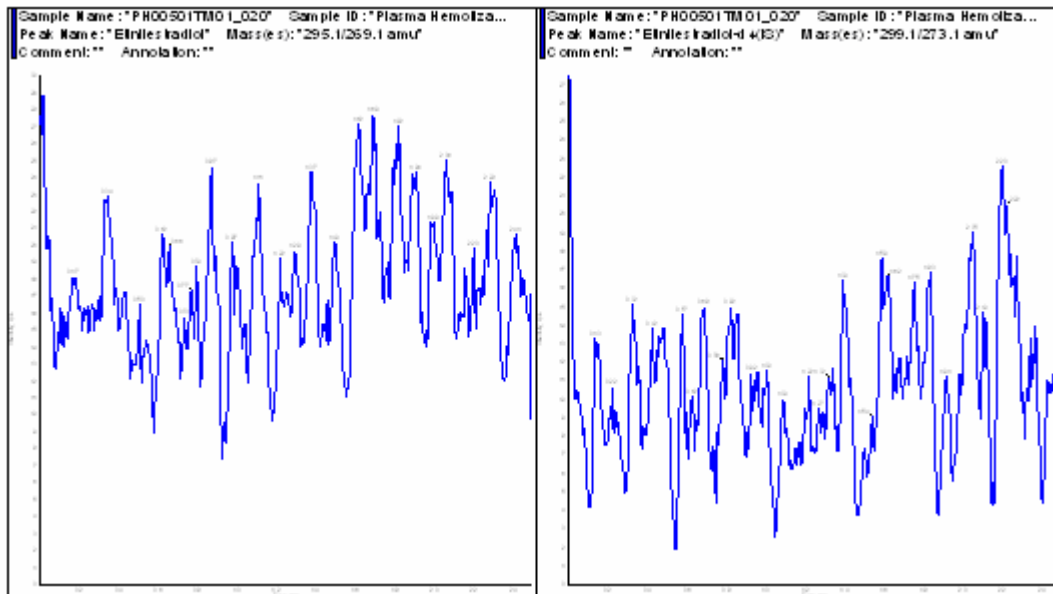


Figura 30- Cromatogramas das amostras no plasma hemolizado para o etinilestradiol

1.4 Zero (Branco + PI)

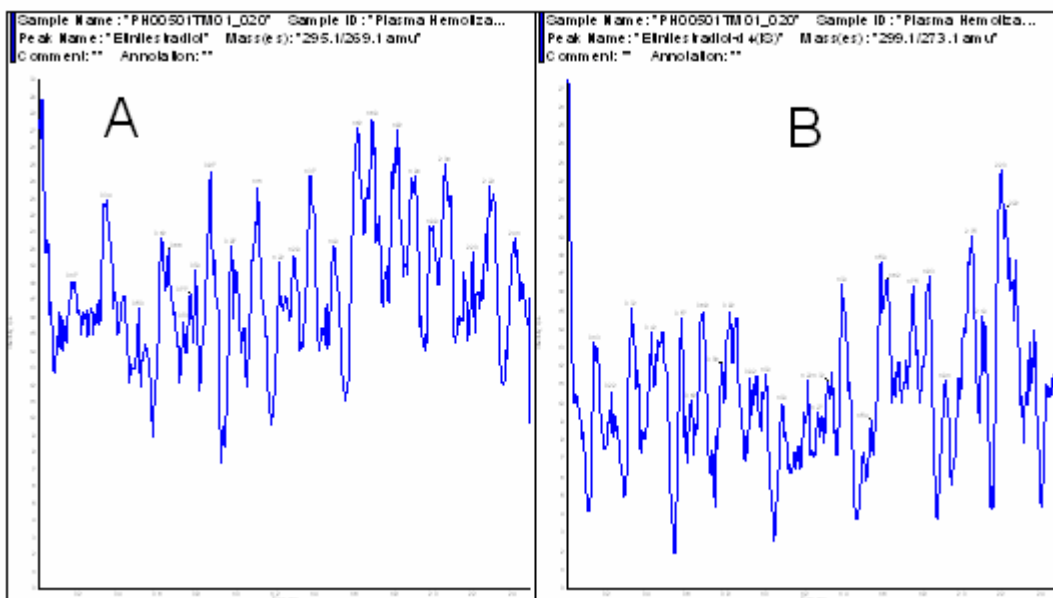


Figura 31- Cromatogramas das amostras zero branco (A) + padrão interno (B) do Etinilestradiol

1.4 Amostra LIQ em plasma normal

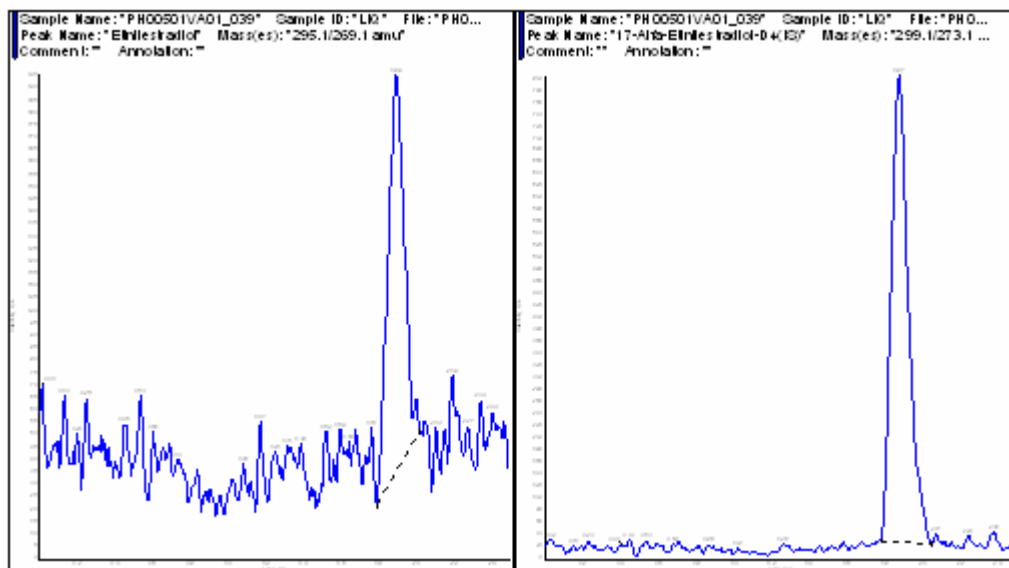


Figura 32- Cromatogramas das amostra LIQ em plasma normal para o etinilestradiol

1.5- Amostra CQB em plasma normal

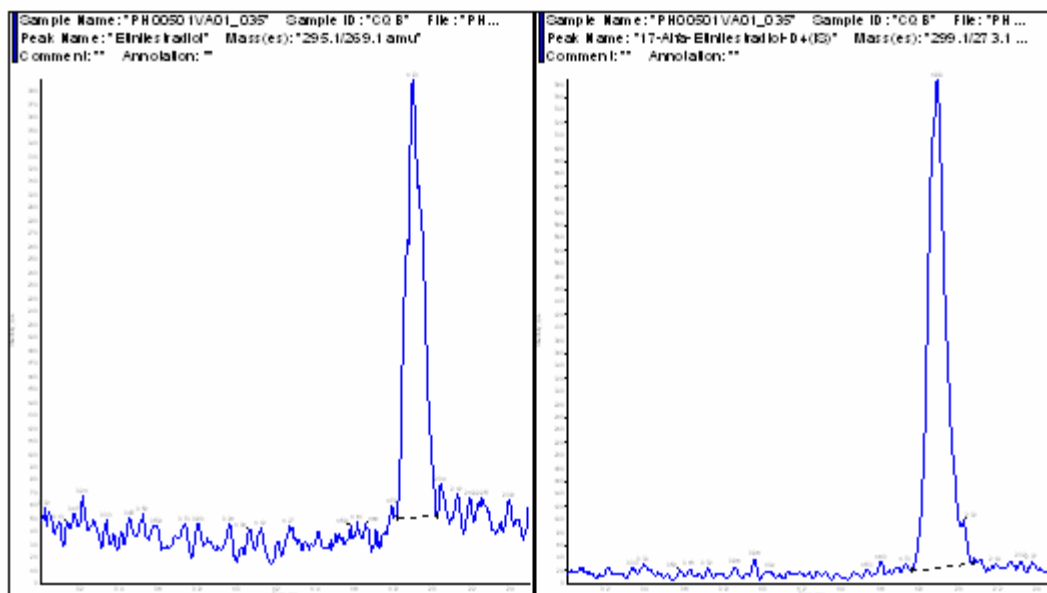


Figura 33- Cromatogramas das amostras do CQB em plasma normal para o etinilestradiol

1.6 Amostra CQM em plasma normal

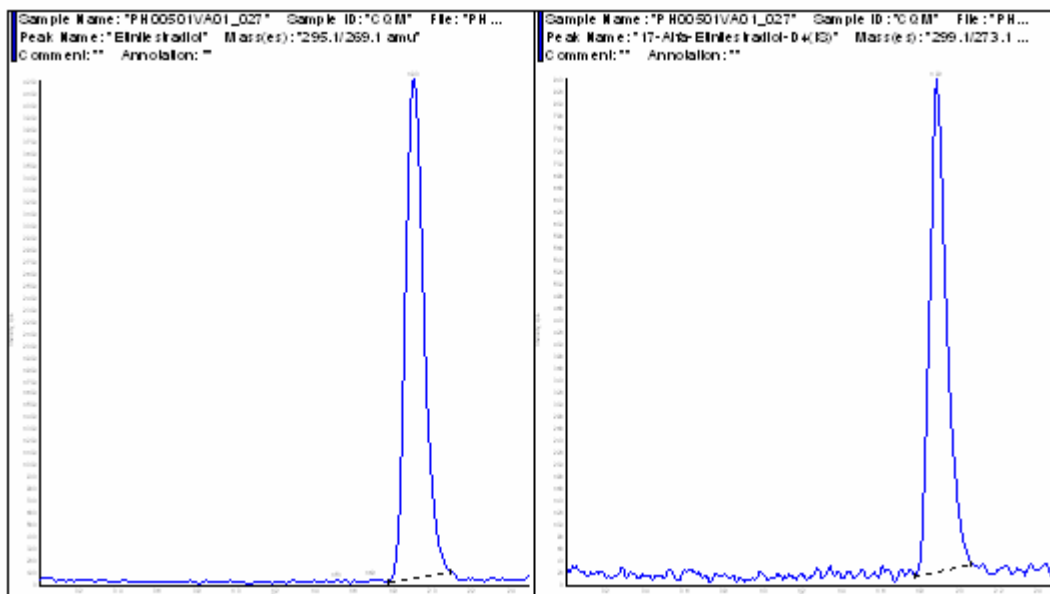


Figura 34- Cromatogramas das amostras do CQM em plasma normal para o etinilestradiol

1.7 Amostra CQA em plasma normal

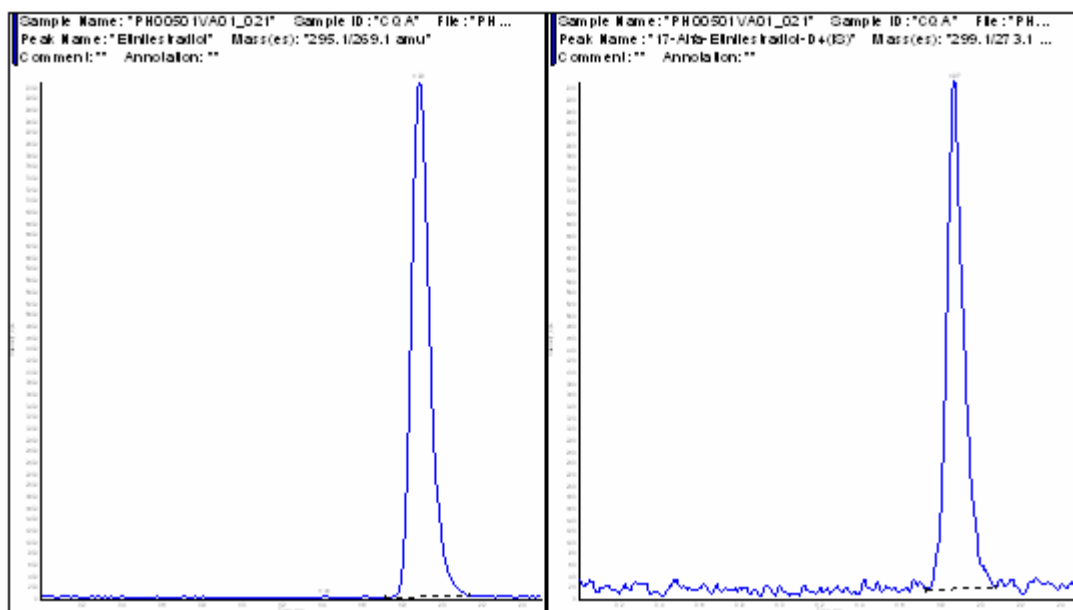


Figura 35- Cromatograma das amostras do CQA em plasma normal

1.9 Teste de supressão iônica - plasma normal

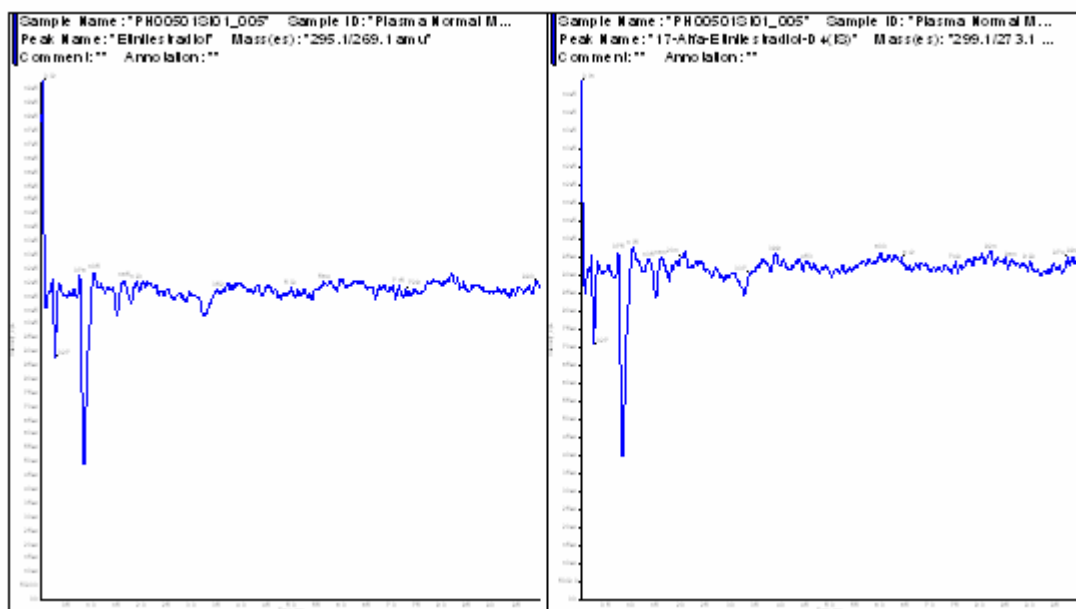


Figura 36- Cromatograma do teste de supressão iônica em plasma normal para o etinilestradiol

1.10 Teste de supressão iônica – plasma lipêmico

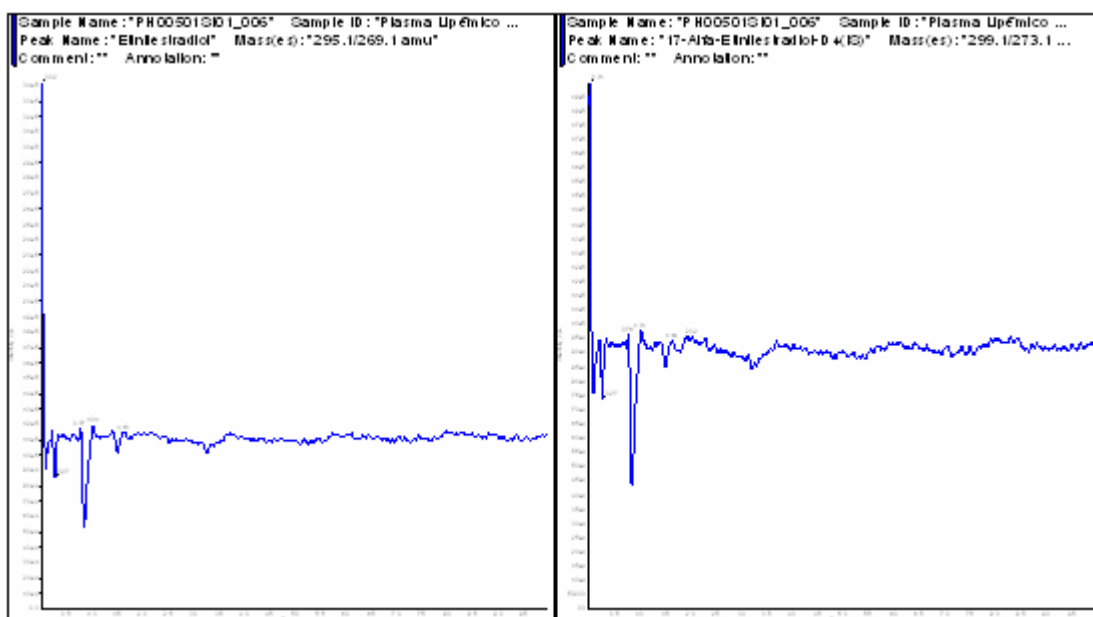


Figura 37- Cromatograma do teste de supressão iônica em plasma lipêmico para o etinilestradiol

1.11 Teste de supressão iônica – plasma hemolizado

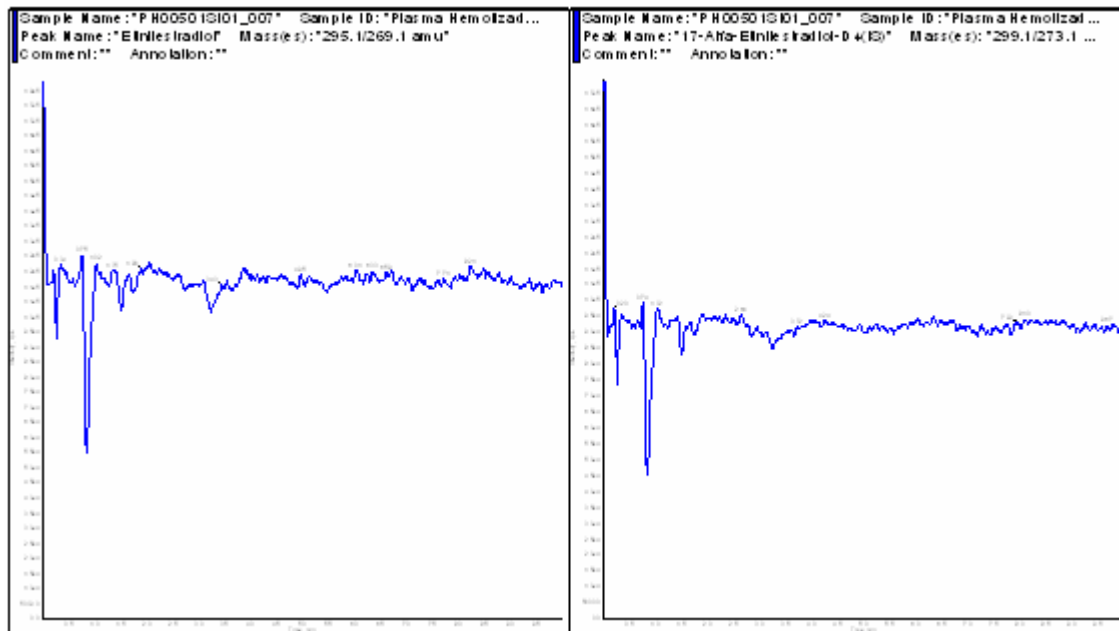


Figura 38- Cromatograma do teste de supressão iônica de amostras do plasma hemolizado para o etinilestradiol

1.12 Gráfico da linearidade do método utilizado na análise do etinilestradiol

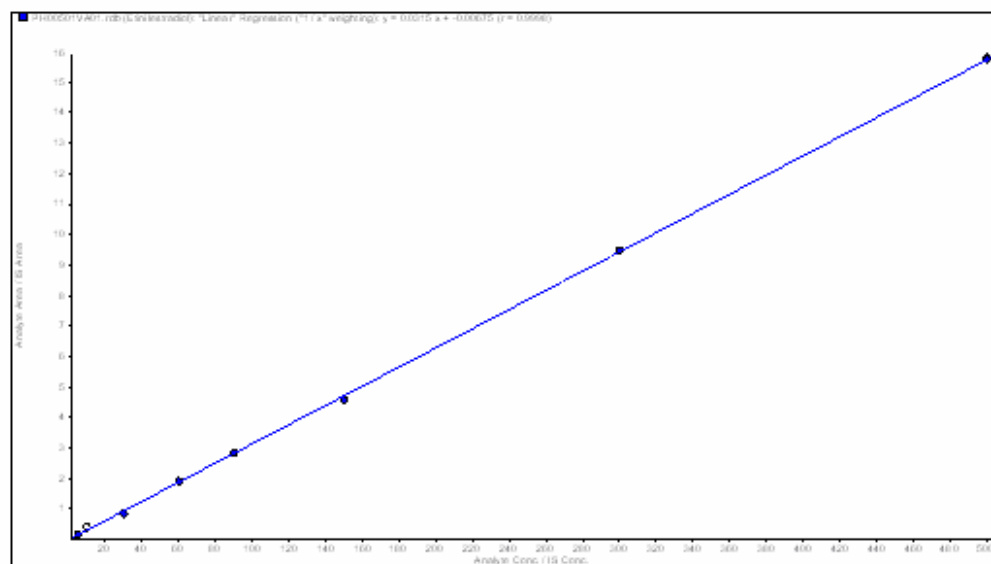


Figura 39- Gráfico de Linearidade do método utilizado na análise do etinilestradiol

1.14 Espectrograma de massas (analito - etinilestradiol)

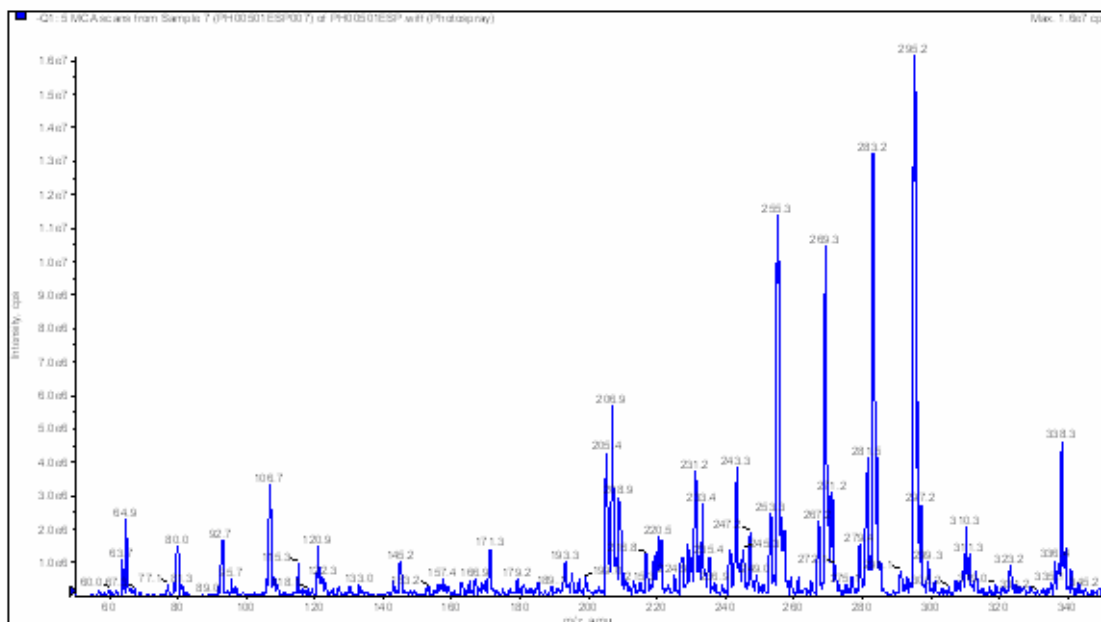


Figura 40a- Espectrograma de massas do analito (etinilestradiol)

Condições de detecção: 295,10 – 269,10 (analito – etinilestradiol)

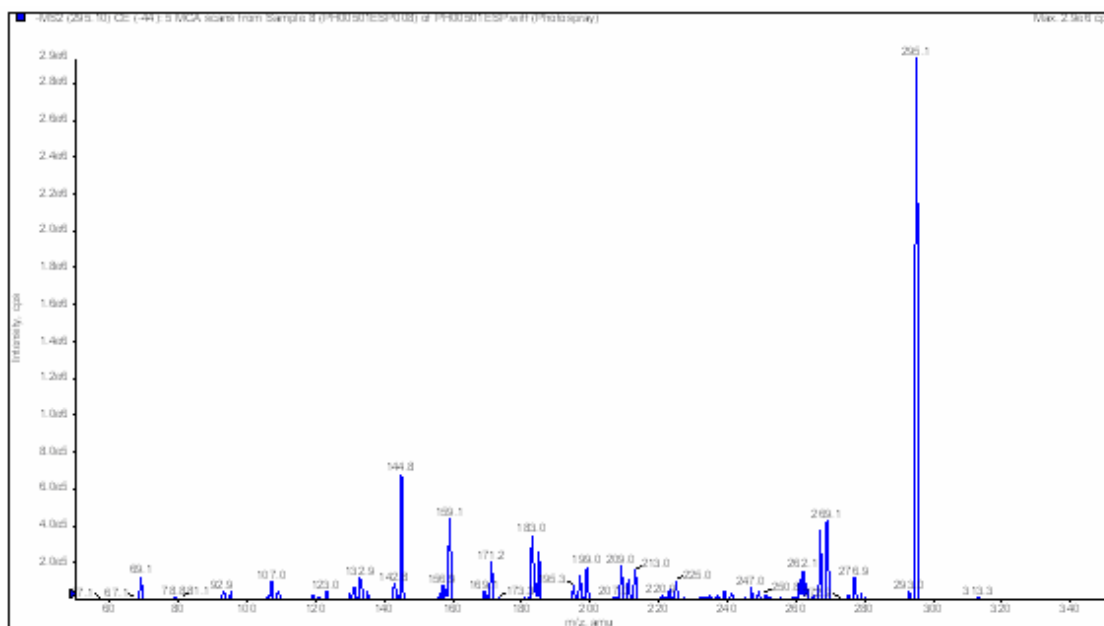


Figura 40b- Espectrograma de massa do analito (etinilestradiol)

1.15 Espectrograma de massas (padrão interno – 17- α -etinilestradiol-D4)

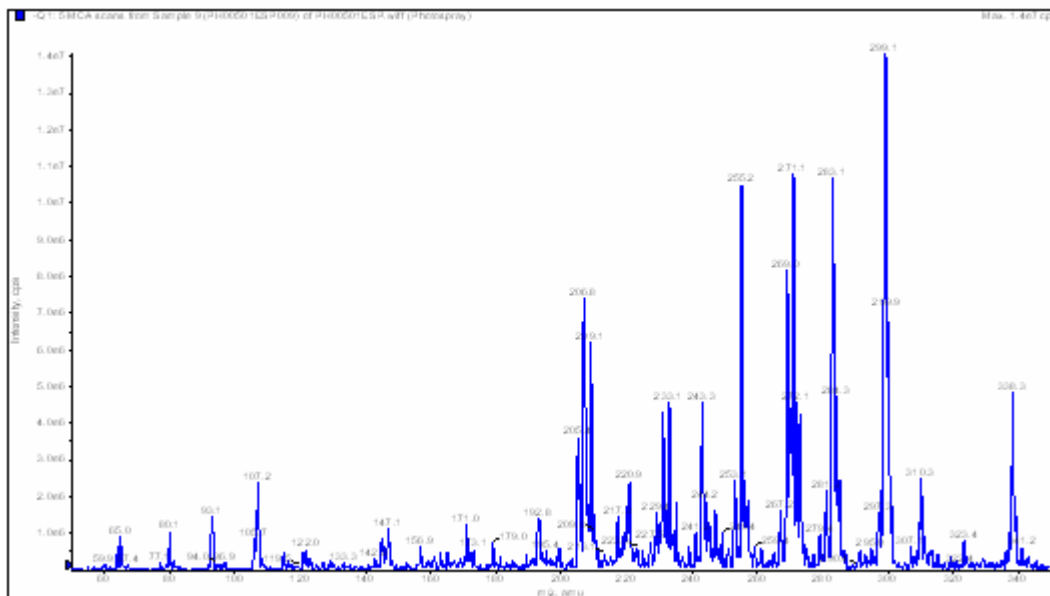


Figura 41a- Espectrograma de massa do padrão interno (17- α -Ethinilestradiol-D4)

Condições de detecção: 299,10 – 273,10 (padrão interno – 17- α -Ethinilestradiol-D4)

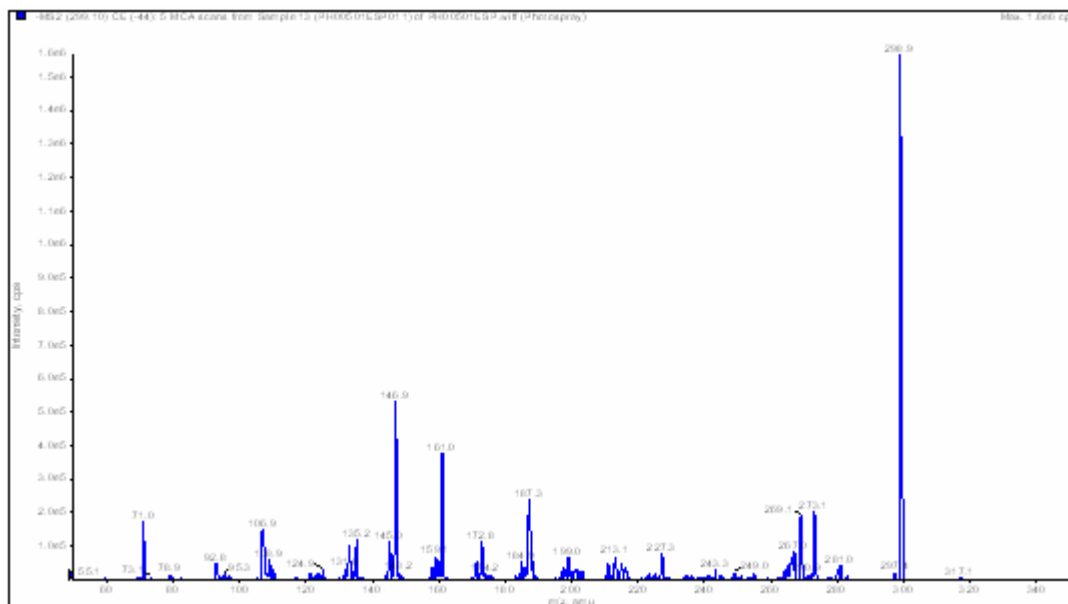


Figura 41b- Espectrograma de massa do padrão interno (17- α -Ethinilestradiol-D4)

Resultados da estabilidade do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Tabela 31b- Estabilidade da matriz biológica

Estabilidade da amostra	Acetato de Ciproterona	Etinilestradiol
Estabilidade solução-mãe	Por 14 dias	Por 42 dias
Pós-processamento	Por até 55 horas	Por até 165 horas
Curta duração	Por até 11 horas	Por até 19 horas
Congelamento e descongelamento	Pode sofrer até 3 ciclos sem sofre degradação significativa (121 dias á - 70°C)	Pode sofrer até 3 ciclos sem sofre degradação significativa
Longa duração	Do início à análise da última amostra sem degradação significativa	Do início a análise da última amostra sem degradação significativa

Segue a seguir a Figura 42, com as rotas de fragmentação propostas para as moléculas do acetato de ciproterona:

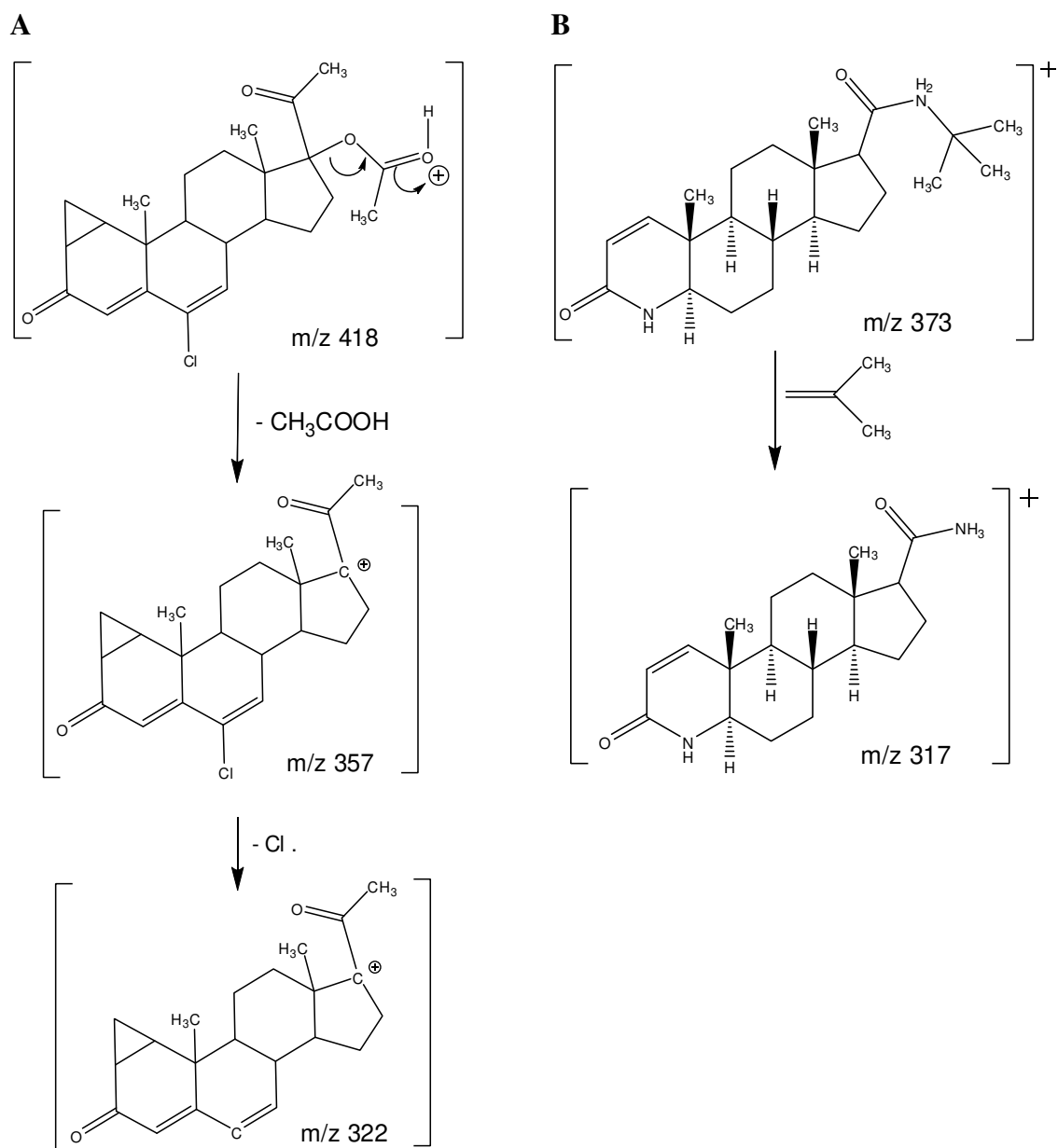


Figura 42- Rota proposta para a dissociação do acetato de ciproterona (A) e finasterida (B)

A Figura 43 representa as curvas de concentração plasmática média do acetato de ciproterona referência e teste.

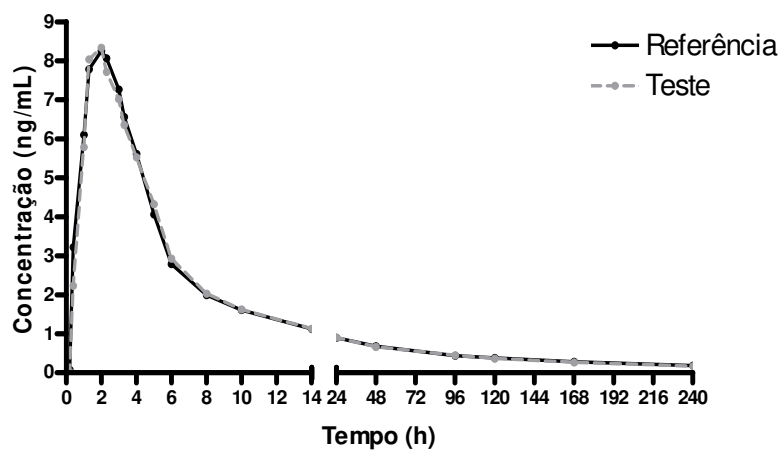


Figura 43- Curva concentração plasmática vs tempo do acetato de ciproterona.

A Figura 44 representa as curvas de concentração plasmática média do Etinilestradiol referência e teste.

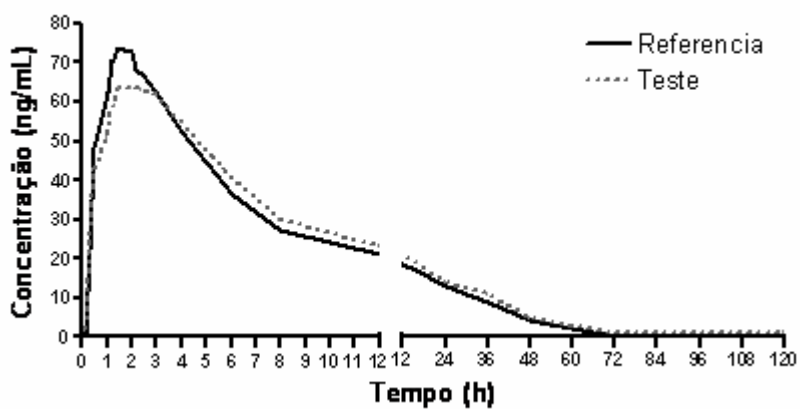


Figura 44- Curva concentração plasmática vs tempo do etinilestradiol

De acordo com as Figuras 43 e 44, observa-se que os perfis das concentrações médias da formulação teste coincidem com os resultados apresentados pela formulação referência, porém isso não é suficiente para comprovar a bioequivalência entre ambos.

5.3- Resultados da etapa estatística

Parâmetros farmacocinéticos

A curva de concentração plasmática para cada uma das 43 voluntárias, alocadas nas seqüências “RT” e “TR”, são apresentadas na tabela do Anexo. Na Tabela 25 do Anexo estão os atrasos que ocorreram na fase clínica do Acetato de Ciproterona e Etinilestradiol, para os quais foram considerados no cálculo dos parâmetros farmacocinéticos.

A randomização é apresentada na Tabela 3 em Anexo. As concentrações do Acetato de Ciproterona encontram-se nas Tabelas 32 (referência) e 33 (teste) do Anexo e as medidas farmacocinéticas do acetato de ciproterona estão nas Tabelas 34 (referência) e 35 (teste).

Já as concentrações do etinilestradiol encontram-se nas Tabelas 36 (referência) e 37 (teste) em Anexo. As principais medidas farmacocinéticas estão nas Tabelas 38 (referência) e 39 (teste) também em Anexo.

Na Figura 44 em Anexo, representa a curva de concentração plasmática média do acetato de ciproterona e na Tabela 55 estão as médias dos parâmetros farmacocinéticos. Assim como, as Figuras 46 a 88 do Anexo, representam a curva de concentração plasmática individual dos voluntários, onde encontram-se também as Tabelas 56 a 97 (em Anexo), indicando os parâmetros farmacocinéticos de cada voluntário do acetato de ciproterona.

Na Figura 89 em Anexo, representa a curva de concentração plasmática média do etinilestradiol e na Tabela 98, estão as médias dos parâmetros farmacocinéticos. Assim como, as Figuras 90 a 132 do Anexo, representam a curva de concentração plasmática individual dos voluntários, onde encontram-se também as Tabelas 99 a 141 (em Anexo), indicando os parâmetros farmacocinéticos de cada voluntário do etinilestradiol.

5.3.1- Análise de variância para acetato de ciproterona

Tabela 40- Análise de variância (modelo completo) do parâmetro $C_{\max}$ e $\log C_{\max}$.

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$C_{\max}$	Inter-individual					
	Seqüência	1	0.0222	0.0222	0.002653	0.9592
	Resíduos (Inter)	41	343.1	8.368		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	26.31	26.31	5.252	0.02713
	Período	1	2.454	2.454	0.4899	0.4879
	Resíduos	41	205.4	5.009		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$\log (C_{\max})$	Inter-individual					
	Seqüência	1	0.0003402	0.0008402	0.004709	0.9456
	Resíduos (Inter)	41	2.962	0.07224		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.2021	0.2021	5.176	0.02820
	Período	1	0.05135	0.05135	1.315	0.2581
	Resíduos	41	1.601	0.03904		

De acordo com a Tabela 40, rejeita-se o efeito *carry-over* ($p=0,9456$) e de período ($p=0,2581$). Dessa forma, o modelo do qual resultou a tabela a seguir pode ser restrito, eliminando-se o efeito de seqüência (*carry-over*), contendo somente os efeitos fixos. O modelo restrito produz a ANOVA da tabela abaixo.

Tabela 41- Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro C_{max} e $\log C_{max}$

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
C_{max}	Inter-individual	42	343.1	8.17	1.631	0.05989
	Intra-individual					
	Fármaco	1	26.67	26.67	5.324	0.02615
	Período	1	2.454	2.454	0.4899	0.4879
	Resíduos	41	205.4	5.009		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
Log (C_{max})	Inter-individual	42	2.962	0.07053	1.806	0.0303
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.2067	0.2067	5.295	0.02655
	Período	1	0.05135	0.05135	1.315	0.2581
	Resíduos	41	1.601	0.03904		

De acordo com a Tabela 41, observa-se que o efeito de período não é significativo ($p=0,2581$). E, embora o quadro da ANOVA mostre que o efeito do fármaco é significativo ($p=0,02655$), indicando desigualdade nas médias de biodisponibilidade entre as duas formulações, este resultado não implica a não bioequivalência média entre as duas formulações. A bioequivalência será definida pelo intervalo de confiança de 90%, dado na tabela a seguir:

Tabela 42- Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de médias.Parâmetros C_{max} e $\log C_{max}$.

Método	Escala	IC 90%	Intervalo de bioequivalência	CV%
Diferencia entre as médias	C_{max}	[-1.9265;-0.3015]	[-2.2364;2.2364]	20.141
	Log C_{max}	[-0.1698; -0.0263]	[-0.2231;0.2231]	19.250
Razão entre as médias	C_{max}	[82.7717;97.3034]	[80%;120%]	
	Log C_{max}	[84.3822;97.3995]	[80%;120%]	

De acordo com a Tabela 42, pode-se observar que os intervalos de confiança tanto para a diferença das médias como para a razão das médias, na escala original e logarítmica, estão dentro do intervalo de bioequivalência, ou seja, se considerar o parâmetro farmacocinético C_{max} conclui-se que os medicamentos em questão são bioequivalentes.

Tabela 43- Análise de variância (modelo completo) do parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$.

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
ASC_{0-t}	Inter-individual					
	Seqüência	1	170.4	170.4	0.0746	0.7835
	Resíduos (Inter)	41	91372	2229		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	416.6	461.6	1.038	0.3142
	Período	1	613.9	613.9	1.381	0.2468
	Resíduos	41	18231	444.7		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$\log (ASC_{0-t})$	Inter-individual					
	Seqüência	1	0.001861	0.001861	0.01676	0.8976
	Resíduos (Inter)	41	4.551	0.111		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.03965	0.03965	1.231	0.2737
	Período	1	0.01641	0.01641	0.5093	0.4795
	Resíduos	41	1.321	0.03221		

De acordo com a Tabela 43, rejeitou-se a hipótese de efeito residual ($p=0,8976$). A partir disso, apresenta-se a seguir a tabela de análise de variância do modelo *crossover* reduzido (sem efeito residual).

Tabela 44- Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$.

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
ASC_{0-t}	Inter-individual	42	91543	2180	4.902	6.486e-07
	Intra-individual					
	Fármaco	1	436.9	436.9	0.9826	0.3274
	Período	1	613.9	613.9	1.381	0.2468
	Resíduos	41	18231	444.7		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$\log (ASC_{0-t})$	Inter-individual	42	4.553	0.1084	3.366	8.293e-05
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.03845	0.03845	1.194	0.2810
	Período	1	0.01641	0.01641	0.5093	0.4795
	Resíduos	41	1.601	0.03221		

De acordo com a Tabela 44, observase que o efeito de período não é significativo ($p=0,4795$). E, embora o quadro da ANOVA mostre que o efeito de fármaco não é significativo ($p=0,2810$) indicando igualdade nas médias de biodisponibilidade entre as duas formulações, este resultado não implica bioequivalência média entre as duas formulações. A bioequivalência será definida pelo intervalo de confiança de 90%, dado na Tabela abaixo:

Tabela 45- Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de medias.
Parâmetros ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$.

Método	Escala	IC 90%	Intervalo de bioequivalência	CV%
Diferencia entre as médias	ASC_{0-t}	[-12.1646;3,1461]	[-28.9962;28.9962]	14.5447
	$\log ASC_{0-t}$	[-0.1075;0.0229]	[-0.2231;0.2231]	17.1228
Razão entre as médias	ASC_{0-t}	[91.6095;102.1700]	[80%;120%]	
	$\log ASC_{0-t}$	[99.4516;102.3317]	[80%;120%]	

De acordo com a Tabela 45, pode-se observar que os intervalos de confiança tanto para a diferença das médias como para a razão das médias, na escala original e logarítmica, estão dentro do intervalo de bioequivalência, ou seja, se considerar o parâmetro farmacocinético C_{max} conclui-se que os medicamentos em questão são bioequivalentes.

Intervalo de confiança para o acetato de ciproterona

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético $C_{máx}$ é de 90.66%, com intervalo de 90% de confiança [84,39% – 97,40%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,99 e 19,25.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético Asc_{0-t} é de 96.20%, com o intervalo de 90% de confiança [90,45% – 102,33%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,99 e 17,12.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético $Asc_{0-\infty}$ é de 95,86%, com intervalo de 90% de confiança [89,81% – 102,31%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,98 e 18,09.

Tabela 46- Média geométrica das razões entre o teste e referência dos parâmetros ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e C_{max} do acetato de ciproterona

Medidas farmacocinéticas	Razão de médias entre T e R	IC de 90% [Linf ; Lsup]	CV(%)	Poder do teste (%)	Bioequivalencia
Cmax	90,66% (a)	[84,39% ; 97,40%]	19,95	99,00	Sim
ASC0-t	96,20% (a)	[90,45% ; 102,33%]	17,12	99,00	Sim
ASC0-inf	95,86% (b)	[89,81% ; 102,31%]	18,09	98,00	Sim

^(a) Razão = $\exp(\text{média T} - \text{média R})$

^(b) Razão = $(\text{média T} \div \text{média R})$

5.3.2- Análise de variância para etinilestradiol

Tabela 47- Análise de variância (modelo completo) do parâmetro C_{max} e $\log C_{max}$.

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
C_{max}	Inter-individual					
	Seqüência	1	482.7	482.7	0.4867	0.4894
	Resíduos (Inter)	41	39669	991.7		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	1293	1293	5.615	0.02272
	Período	1	664.7	664.7	2.887	0.09707
	Resíduos	41	9210	230.3		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
Log (C_{max})	Inter-individual					
	Seqüência	1	0.02570	0.02570	0.1735	0.6793
	Resíduos (Inter)	41	5.928	0.1482		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.1625	0.1625	4.674	0.03666
	Período	1	0.123	0.123	3.537	0.06731
	Resíduos	41	1.391	0.03478		

De acordo com a Tabela 47, rejeita-se o efeito *carry-over* ($p=0,6793$) e de período ($p=0,0673$). Dessa forma, o modelo que resultou a tabela acima pode ser restrito, eliminando o efeito de seqüência (*carry-over*), contendo somente os efeitos fixos. O modelo reduzido produz a ANOVA da Tabela 48:

Tabela 48- Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro $C_{\max}$ e $\log C_{\max}$

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$C_{\max}$	Inter-individual	42	40152	979.3	4.253	5.756e-06
	Intra-individual					
	Fármaco	1	1293	1293	5.615	0.02272
	Período	1	664.7	664.7	2.887	0.09707
	Resíduos	41	9210	230.3		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
Log ($C_{\max}$)	Inter-individual	42	5.953	0.1452	4.175	7.294e-06
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.1625	0.1625	4.674	0.03666
	Período	1	0.123	0.123	3.537	0.06731
	Resíduos	41	1.391	0.03478		

De acordo com a Tabela 48, observa-se que o efeito de período não é significativo ($p=0,0673$). Embora o quadro da ANOVA mostre que o efeito do fármaco é significativo ($p=0,0366$), indicando desigualdade nas médias de biodisponibilidade entre as duas formulações, este resultado não implica em não bioequivalência média entre as duas formulações. A bioequivalência será definida pelo intervalo de confiança de 90%, dado na tabela a seguir:

Tabela 49- Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de médias.Parâmetros $C_{\max}$ e $\text{Log } C_{\max}$.

Método	Escala	IC 90%	Intervalo de bioequivalência	CV%
Diferencia entre as médias	$C_{\max}$	[2.2705;13.4219]	[-15.2595;15.2595]	19.8882
	$\text{Log } C_{\max}$	[0.0195; 0.1565]	[-0.2231;0.2231]	18.7114
Razão entre as médias	$C_{\max}$	[102.9758;117.5915]	[80%;120%]	
	$\text{Log } C_{\max}$	[102.6747;117.6911]	[80%;120%]	

De acordo com a Tabela 49, pode-se observar que os intervalos de confiança tanto para a diferença das médias como para a razão das médias, na escala original e logarítmica, estão dentro do intervalo de bioequivalência, ou seja, se considerar o parâmetro $C_{\max}$ conclui-se que os medicamentos em questão são bioequivalentes.

Tabela 50- Análise de variância (modelo completo) do parâmetro ASC_{0-t} e $\log \text{ASC}_{0-t}$.

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
ASC_{0-t}	Inter-individual					
	Seqüência	1	122338	122338	0.768	0.3861
	Resíduos (Inter)	41	6371870	159297		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	317918	317918	4.004	0.05222
	Período	1	125083	125083	1.575	0.2167
	Resíduos	41	3176170	79404		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$\text{Log } (\text{ASC}_{0-t})$	Inter-individual					
	Seqüência	1	0.06245	0.06245	0.4083	0.5265
	Resíduos (Inter)	41	6.117	0.1529		
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.2201	0.2201	4.533	0.03944
	Período	1	0.06244	0.06244	1.286	0.2635
	Resíduos	41	1.942	0.04855		

De acordo com a Tabela 50, rejeita-se a hipótese de efeito residual ($p=0,5265$). A partir disso, a tabela de análise de variância do modelo *crossover* reduzido (sem o efeito residual) é apresentada na Tabela 51:

Tabela 51- Análise de variância (modelo restrito) do parâmetro ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$

Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
ASC_{0-t}	Inter-individual	42	6494207	158395	1.995	0.01545
	Intra-individual					
	Fármaco	1	317918	317918	4.004	0.05222
	Período	1	125083	125083	1.575	0.2167
	Resíduos	41	3176170	79404		
Parâmetro	Fonte	G.L	SQ	QM	F	Valor-p
$\log (ASC_{0-t})$	Inter-individual	42	6.18	0.1507	3.104	0.0002467
	Intra-individual					
	Fármaco	1	0.2201	0.2201	4.533	0.03944
	Período	1	0.06244	0.06244	1.286	0.2635
	Resíduos	41	1.942	0.04855		

Observa-se, pela Tabela 51, que o efeito de período não é significativo ($p=0,2635$). E, embora o quadro da ANOVA mostre o efeito de fármaco como significativo ($p=0,0394$), indicando desigualdade nas médias de biodisponibilidade entre as duas formulações, este resultado não implica não bioequivalência média entre as duas formulações. A bioequivalência será definida pelo intervalo de confiança de 90%, da Tabela 52:

Tabela 52- Intervalos paramétricos de bioequivalência para a diferença e razão de médias.
Parâmetros ASC_{0-t} e $\log ASC_{0-t}$

Método	Escala	IC 90%	Intervalo de bioequivalência	CV%
Diferencia entre as médias	ASC_{0-t}	[-226.5822;-19,4985]	[-28.9962;28.9962]	27.0999
	$\log ASC_{0-t}$	[-0.1833;-0.0214]	[-0.2231;0.2231]	21.7148
	ASC_{0-t}	[78.2098;98.1248]	[80%;120%]	
Razão entre as médias	$\log ASC_{0-t}$	[83.7511;98.0814]	[80%;120%]	

Intervalo de confiança para o etinilestradiol

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético $C_{\max}$ é de 109,92%, com intervalo de 90% de confiança [102,67% – 117,69%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,99 e 18,71.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético ASC_{0-t} é de 90,63%, com o intervalo de 90% de confiança [83,75% – 98,08%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,99 e 21,71.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético $ASC_{0-\infty}$ é de 83,85%, com intervalo de 90% de confiança [69,98% – 100,47%]. O poder correspondente e o coeficiente de variação são respectivamente de 0,65 e 52,24.

Tabela 53- Média geométrica das razões entre o teste e referência dos parâmetros ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e $C_{\max}$ do etinilestradiol

Medidas farmacocinéticas	Razão de médias entre T e R	IC de 90% [Linf ; Lsup]	CV(%)	Poder do teste (%)	Bioequivalência
$C_{\max}$	109,92% (a)	[102,67% ; 117,69%]	18,71	99,00	Sim
ASC_{0-t}	90,63% (a)	[83,75% ; 98,08%]	21,71	99,00	Sim
ASC_{0-inf}	83,85% (b)	[69,98% ; 100,47%]	52,24	65,00	Não*

(a) Razão = $\exp^{(\text{média T} - \text{média R})}$

(b) Razão = (média T ÷ média R)

* Embora o parâmetro ASC_{0-inf} não tenha resultado em bioequivalente, de acordo com as exigência do Órgão Regulador, para produto farmacêutico ser bioequivalente, os IC's 90% dos parâmetros $C_{\max}$ e ASC_{0-t} têm que estar entre 80% e 125%

6- DISCUSSÃO

O Diane-35 é um contraceptivo oral com propriedades anti-andrógenas, muito comercializado para mulheres jovens e teve seu pico de venda canadense próximo de 45% entre 2000 e 2001. Porém, muitos médicos podem estar desinformados sobre as preocupações a respeito do perfil de segurança da droga e o fato de que não é aprovado para uso como um contraceptivo oral. segundo o Comitê de Segurança Médica do Reino Unido, que emitiu uma advertência recente sobre o risco da droga em causar tromboembolismo venoso, literalmente confirmado pela Saúde do Canadá em dezembro de 2002.

O Diane-35 é aprovado somente na terapia dermatológica e outros distúrbios andrógeno-sensíveis, inclusive hirsutismo e acne severo indiferente a terapia com antibiótico oral. O tratamento com Diane-35 deveria ser descontinuado após 3-4 ciclos menstruais, assim que fosse solucionado o problema de pele da mulher.

Um grande estudo do tipo caso-controle envolvendo cerca de 100.000 mulheres no Reino Unido mostrou que mulheres que usam contraceptivos orais contendo ciproterona tiveram quatro vezes mais o risco de tromboembolismo venoso quando comparados com as combinações de levonorgestrel. Um outro estudo do tipo caso-controle realizado na Nova Zelândia, relacionou embolia pulmonar fatal, com o uso de ciproterona. O estudo foi realizado entre mulheres que não usam ciproterona e mulheres que usam outro contraceptivo oral. O resultado foi o seguinte: a odds ratio foi 17,6 (95%IC [2,7-113]) entre mulheres que usam acetato de ciproterona, 5,1 (95%IC [1,2-21,4]) entre usuárias de levonorgestrel e 14,9 (95% IC [3,5-64,3]) entre usuárias de gestodeno (CMAJ, 2003).

Entre as usuárias de contraceptivos orais propensas ao tromboembolismo venoso incluem as obesas e as mulheres que têm mutações do Fator V de Leiden; as portadoras desta mutação têm trinta e cinco vezes o risco de possuí-la comparado com as mulheres que não têm esta mutação (Vandenbroucke, 2001).

De acordo com (Savidou et al., 2006), o uso do acetato de ciproterona para o tratamento de câncer de próstata, nas doses 200-300 mg/d tem manifestado doença hepática.

O Acetato de Ciproterona foi quantificado por várias técnicas, como por exemplo: radioimunoensaio (Nieuweboer et al., 1977; Kuhn et al., 1997; Dusterberg, 1984; Fiet et al., 2000). Estes métodos são sensíveis, porém consomem maior tempo e podem ser confundidos com esteróides endógenos, esteróides co-administrados e os seus metabolitos. A cromatografia líquida de alta Eficiência (CLAE) (Dikkeschei et al., 1990; Cannell et al., 1981; Frith et al., 1985; Yodo et al., 1988; Bebawy et al., 2001) e até mesmo a espectrometria de massa (Matejcek, 2007) também foram usadas, porém, para se dosar 2mg de ciproterona em um estudo de bioequivalência, necessita-se do uso de uma combinação de corridas mais rápidas e limite de quantificação extremamente baixo.

O LC-MS/MS com fonte APPI é um método muito sensível e reprodutível para a Ciproterona em plasma humano. O limite de quantificação determinado neste estudo foi de 0,1 ng/mL, ou seja, dez vezes mais baixo do que o limite de quantificação descrito por Pereira et al. (2005), que foi de 1 ng/mL.

Em 2000, o APPI foi descrito como um método inovador para o Sistema de LC-MS/MS (Robb et al., 2000). Na APPI, o tolueno é um dopante tipicamente utilizado devido ao seu potencial de ionização 8,83 eV, bem como o seu alto grau de pureza e de baixa toxicidade (Leinonen et al., 2002). Observa-se na literatura que a APPI é uma técnica altamente promissora no processamento de análises farmacêutica e proporciona um desempenho superior em relação a ionização por ESI ou APCI, ao mesmo tempo que fornece comparável ionização de compostos polares (Cai et al., 2005). Conforme descrito no presente trabalho, a ionização do tipo APPI usando como dopante o tolueno foi satisfatória.

O método de preparação da amostra descrito neste estudo é uma extração líquido-líquido simples e rápida, proporcionando pureza e reprodutividade da amostra extraída, de acordo com as exigências do FDA e Agência Nacional de Vigilância Sanitária para estudos farmacocinéticos. Então, o presente método é satisfatório em relação às questões ambientais e muito satisfatório para análise de estudos farmacocinéticos da ciproterona em plasma humano.

O etinilestradiol já foi quantificado por várias técnicas, entre elas, a radioimunoensaio (Stanczyk, 1980 e Diaz, 1981), cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (Noppe, 2005) e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (MS/MS) usando com fonte ESI, utilizada por (Wilson, 2004).

Dentre estes, o método usado por Noppe (2005) mostrou-se eficaz para o etinilestradiol conseguindo um LIQ de 3 ng/L^{-1} , melhor que o do método semelhante desenvolvido em dezembro de 2002, que alcançou um LIQ de 8 ng/L^{-1} . Porém, o melhor método foi a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com fonte ESI, alcançando um LIQ de $2,5 \text{ pg/mL}$. Diante disso, verifica-se que o método usado neste trabalho, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), usando como fonte de ionização APPI, demonstrou ser um bom método, alcançando um LIQ de 5 pg/mL , metade do valor do valor quantificado por Wilson, 2004.

Os resultados da validação indicaram que os métodos são rigorosos, precisos e acurados e são apropriados para análise do acetato de ciproterona e etinilestradiol em plasma humano.

Vale lembrar ainda que o aumento da sensibilidade do método permite ao investigador a administração de doses mais baixas do medicamento testado e com isso diminui a probabilidade de aparecimento de um número maior de eventos adversos.

Desta maneira, cumprem-se as exigências descritas na Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003, em que a validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

7- CONCLUSÃO

De acordo com o objetivo geral

Considerando que dois medicamentos são bioequivalentes quando IC de 90% para a razão entre as médias dos dados transformados em logaritmo natural de $C_{\max}$ e ASC_{0-t} estiverem entre 80% e 125%, conforme legislação vigente, e estando os resultados deste estudo de acordo com as especificações exigidas, razão entre as médias de $C_{\max}$ e ASC_{0-t} entre 80% e 125%, pode-se concluir que as duas formulações de Ciproterona+Etinilestradiol (Selene®) 2 drágeas de 2mg+0,035mg produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda e Diane® produzido pela Schering do Brasil são bioequivalentes.

De acordo com os objetivo específico

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) usada para quantificar 2mg de acetato de ciproterona e 0,035mg de etinilestradiol em plasma humano está de acordo com as especificações exigidas pelo Órgão Regulador e a validação de acordo com a Resolução 899 para estudos de bioequivalência.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alnouti, Y, Srinivasan, K, Waddell,D, Bi, H, Kavetskaia, O, Gusev, AI. Development and application of a new on-line SPE system combined with LC-MS/MS detection for high throughput direct analysis of pharmaceutical compounds in plasma. *Journal of chromatography A* 2005; 1080(2): 99-106.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de boas práticas em biodisponibilidade e bioequivalência: Módulo 3: Etapa Estatística. Brasília: ANVISA, 2003. v.1

Ardrey, RE. *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: an introduction*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2003.

Barrionuevo, WR, Lanças, FM. Solid-phase extraction (Spe) and Solid-phase microextraction of pyrethroids in water. *Quimica Nova* 2001; 24(2):172-5.

Bauer, LA *Applied clinical pharmacokinetics*. McGraw Hill, 2001.

Baumann, A, Kulmann, H, Gorkov, V, Mahler, M, Kuhn, W. Radioimmunological analysis of cyproterone acetate in human serum. Comparison with a gas chromatography/mass spectrometric method and influence of each method on the outcome of bioequivalence trial. *Arzneim. Forsch/Drug Res* 1996; 46(2):412-8.

Bebawy, LI, Mostafa, AA, Refaat, HH. Different methods for the determination of gestodene, and cyproterone acetate in raw material and dosage forms. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 25: 425-36.

Bedor, DCG. Desenvolvimento e validação de métodos bioanalíticos para dosagem de antimicrobianos em plasma humano. [Dissertação]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2007.

Benet, LZ. Understanding bioequivalence testing. *Transplant Proc*, New York 1999; 31: 75-95, suppl. 3a

Brasil. Consolidação das Leis do Trabalho. Decreto-lei n. 5.452, de 1 de maio de 1943. Aprova a consolidação das leis do trabalho. *Lex-Coletânea de Legislação: edição federal*, São Paulo; 1943. v.7. Suplemento.

Brasil. Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1999a.

Brasil. Decreto nº 3181, de 23 de setembro de 1999. Dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, e dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1999b.

Brasil. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o sistema nacional de vigilância sanitária, cria a Agência nacional de vigilância sanitária, e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1999c.

Brasil. Resolução - RDC nº 16, de 2 de março de 2007. Aprova o Regulamento técnico para medicamento genérico.

Brasil. Resolução – RDC nº 135, de 29 de maio de 2003. Regulamento técnico para medicamentos genéricos. Diário Oficial da União, Brasília, 2 junho, 2003a.

Brasil. Resolução – RDC nº 901, de 29 de maio de 2003. Estabelece o regulamento técnico para medicamentos similares e dá outras providências, 29 de maio de 2003b.

Brasil. Resolução – RE nº 898, de 29 de maio de 2003. Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003c.

Brasil. Resolução – RE nº 896, de 29 de maio de 2003. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003d.

Brasil. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003e.

Brasil. Resolução – RDC nº 133, de 2 de junho de 2003a. Estabelece o regulamento técnico para medicamentos similares e dá outras providências. Diário Oficial da União, 2003f.

Bressole, F, Bromet-Petit, M, Audran, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. *Journal of Chromatography B: Biomedical Science Applied*. 1996; 686(1): 3-10.

Cai, Y, Kingery, D, Mcconnell, O, Bach, AC. Advantages of atmospheric pressure photoionization mass spectrometry in support of drug discovery. *Rapid Commun Mass Spectrum* 2005; 19:1717-24.

Callegari, JSM. Comparação entre medias de duas amostras pareadas. In: Callegari, JSM. *Bioestatística: princípios e aplicações*. Porto Alegre: Artmed; 2003. p.78-83.

Canadian medical association Journal, 18 feb 2003; 168(4).

Cannell, GR, Mortimer, RH, Thomas, MJ. High-performance liquid chromatographic estimation of cyproterone acetate in human plasma. *Journal of Chromatography* 1981; 226: 492-7.

Causon, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: view point and discussion. *Journal of Chromatography B: Biomedical Science* 1997; 689(1): 178-180.

Chow, SC, Liu, JP. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. New York: Marcel Dekker; 2000. p.8-13.

Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo / Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. *Medicamentos genéricos. Informações para médicos, farmacêuticos e profissionais de saúde*. São Paulo, 2001.

Dicionário de Especialidades Farmacêutica. 31.ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Científicas; 2002.

Dikkeschei, LD, Wolthers, BG, Ruyter-Buitenhuis, AW, Nagel, GT, Sleijfer, DT, Willemsse, PH *et al*. Determination of megestrol acetate and cyproterone acetate in serum of patients with advanced breast cancer by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1990; 529: 145-54.

Diaz, J, Turkes, A, Read, GF, Riad-Fahmy, D.. A radioimmunoassay for ethinyl estradiol in plasma incorporating an immunosorbent, pre-assay purification procedure. *Ann Clin Biochem* 1981; 18:37-41.

Di Masi, A *et al.* Cost of innovation in the pharmaceutical industry. *Journal of Health Economics* 1991; 10(2): 107-142.

Dusterberg, B. Plasma levels of levonorgestrel, gestodene, norethisterone and cyproterone acetate on single-dose subcutaneous administration in oily solution in the rat, beagle and rhesus monkey. *J Steroids Biochem Mol Biol* 1984 43: 43-56.

Fagan, PL. As gigantes farmacêuticas: prontas para o século XXI? Cambridge: Harvard Business School 1998; 9: 698-70.

Fiet, J, Giton, F, Boudi, A, Boudou, P, Vexiau, P, Galons, H, Raynaud, JP. Highly sensitive and specific time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) of cyproterone acetate and free cyproterone. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 75: 315-22.

Fiúza, EPS, Lisboa, MB de. Bens Credenciais e Poder de Mercado: Um Estudo Econométrico da Indústria Farmacêutica Brasileira. IPEA: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Rio de Janeiro, 2001.

Frank, R, Salkever, D. Pricing, patent loss and the market for pharmaceuticals. NBER, 1991.

Frith, RG, Phillipou, G. 15-Hydroxycyproterone acetate and cyproterone acetate levels in plasma and urine. *Journal of Chromatography* 1985; 338: 179-86.

Gonçalves, TM. Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para estudo farmacocinético comparativo de duas classes de fármacos (anti-retroviral e penicilínico) em indivíduos sadios [Tese – Mestrado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco, 2005.

Grabowski, HG, Vernon, JM. Brand loyalty, entry, and price competition in pharmaceuticals after 1984 drug act. *Journal of Law and Economics* 1992 35(2): 331-350.

Hennion, MC. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of chromatography A* 1999; 856(1-2): 3-54.

Hoffmann, E de, Charette, J, Strooban, V. *Mass Spectrometry, Principles and Applications*. New York: John Wiley and Sons; 1996. 3-50.

Kenereth, L et al. *Mass spectrometry/mass spectrometry: techniques and applications of tandem mass spectrometry*. New York: VCH Publishers; 1988.

Kuhnz, W, Kulmann, H, Fuhrmeister, A. Investigation into the age-dependence of the pharmacokinetics of cypoterone acetate in healthy male volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*.1997; 53: 75-80.

Lanças, FM. *Extração em Fase Sólida (SPE)*. São Carlos: Rima editora; 2004. 96p.

Leinonen, A, Kuranne T, Kostianen, R. Liquid chromatography/mass spectrometry in anabolic steroid analysis-optimization and comparison of three ionization techniques: eletrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization. *J Mass Spectrom*, 2002; 37: 693-8.

Leslie, J. Analytical Aspects of Bioequivalency testing. In: Jackson, AJ. *Generics and bioequivalence*. Salem: CRC Press; 1994. 69-86.

Lingeman, H, Hoekstra-Oussoren, SJF. Particle-loaded membranes for sample concentration and/or clean-up in bioanalysis. *Journal of Chromatography B. Biomedical Science Applied*. 1997; 689(1): 221-37.

Lousana, G, Acceturi, C. Termo de consentimento livre e esclarecido. In: Acceturi, C et al. *Pesquisa Clínica no Brasil*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p.2.

Martindale: *The complete drug reference*; 2006.

Marzo, A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharm. Res.*, New York 1999; 40(4): 357-368.

Marzo, A, Balan, LP. Bioequivalence: an updated reappraisal addressed to applications o interchangeable multi-sorce pharmaceutical products. **Arzneim: Forsch./Drug Res.**, Aulendorf 1995; 45(2): 109-115.

Matejicek, D, Kuban, V. High performance liquid chromatography/ion-trap mass spectrometry for separation and simultaneos determination of ethynylestradiol, gestodene, levonorgestrel, cyproterone acetate amd desogestrel. *Anal Chim Acta*. 2007; 588: 304-15.

Meredith, PA. Generic drugs: therapeutic equivalence. *Drug Saf.*, Auckland, 1996;15(4): 233-242.

Metzler, CM Bioavalability:a problem in equivalence. *Biometrics*. 1974; 30: 309-317.

Meyer, GF. History and regulatory issues of generic drugs. *Transplant Proc* 1999; 31: 105-125.

Moraes, MCB, Lago, CLD. Eletrospray ionização mass spectrometry applied to study inorganic and organo-metalic species. *Química Nova* 2003; 26(4): 556-563.

Neto & Nunes. *Cromatografia – Princípios básicos e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência; 2003.

Nieuweboer, B, Lubke, K. Radioimmunological determination of cyproterone acetate. *Horm Res* 1997; 8: 210-8, 1997.

Noppe, H, Wash, K, Poelmans, S, Van Hoof, N, Verslycke, T, Janssen, CR et al. Development and validation of na analytical method for detection of estrogens in water. *Anal Bioanal Chem* 2005; 382: 91-98.

Oliveira, MS Capitação e inclusão de voluntários. In: Lousana, G et al. *Pesquisa Clínica no Brasil*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p.61-3.

Oliveira, RA de. *Métodos Estatísticos Aplicados em Estudos de Bioequivalência Média*. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, 2003.

Orme, MD, Jb, AC, Ward, S, Green, S. The pharmacokinetics Etinilestradiol ind the presence and absence of Gestodene and Desogestrel. 1991; 43(4).

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

Pagano, M, Gauvreau, K. Princípios de bioestatística. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2004. p.232-253.

Pereira, AS, Mendes, GD, Oliveira, LS, Valle, HF, De Nucci, G. Atmospheric pressure photoionization applied to quantitation of cyproterone acetate in human plasma. Journal of Chromatography Science 2005; 43: 513-7.

Phrma. Pharmaceutical Researchers and Manufacturers Association. Pharmaceutical Industry Profile; [acesso em 18 de mai. 2008] Disponível em URL: <http://www.phrma.org>

Pitta, LR. Estudo dos métodos estatísticos na análise da biodisponibilidade relativa/bioequivalência para o registro de medicamentos no Brasil. [Tese – Mestrado]. Rio de Janeiro (RJ): Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Fundação Oswaldo Cruz, 2004.

PR Vade-Mécum. 6.ed. São Paulo: Soriak, 2000.

Queiroz, MEC, Lanças, FM. Analysis of drugs em biological samples: automated “Intube”: solid-phase microextraction and high performace liquid chromatography. Quimica Nova 2005; 28(5): 880-6.

Queiroz, SNC, Collins, CH, Jardim, ICSF. Methods of extraction and/or concetration of compounds found in biological fluids for subsequent chromatographic determination. Quimica Nova 2001; 24(1): 68-76.

Robb, DB, Covey, TR, Bruins, AP. Atmospheric pressure photoionization: an ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry. Anal Chem 2000; 72: 3653-9.

Rupprecht, F. Le marché du médicament: évolutions depuis 1980. In: Mougeot, M. Régulation du système de santé. La Documentation Française. Paris, 1999.

Savidou, I et al. Hepatotoxicity induced by cyproterone acetate: report of three cases. World J Gastroenterol 2006; 12 (46): 7551-5.

Shargel, L, Yu, ABC. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 4.ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999. 768p.

Speck, U, Wendt, H, Schulze, PE, Jentsch, D. Bioavailability and pharmacokinetics of cyproterone acetate – 14C and ethinylestradiol-3H after oral administration as a coated tablet (SH B 209 AB). Contraception 1976; 14: 151-63.

Stanczyk, FZ, Gale, JA, Goebelsmann, U, Nerenberg, C, Matin, S. Radiomunoassay of plasma ethinylestradiol in the presence of circulating norethindrone. Contraception 1980; 22(5):457-70.

Storpirtis, S. Biofarmacotécnica. Fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. Infarma 1999. 78p.

Storpirtis, S. Rigor da legislação para o registro dos genéricos. In: Menda, ME. Manual médico: medicamentos genéricos. São Paulo: Lemos Editorial, 2002. p.66-68.

Storpirtis, S. et al., A equivalencia farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. Infarma 2004 16: 9-10.

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, 1998.

Vandenbroucke, JP et al. Oral contraceptives and the risk of venous thrombosis. N Engl J Med 2001; 344:1527-35.

Wilson, Z. Shou, SJ, Weng, N. Development and validation of a high-sensitivity liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) method with chemical derivatization for the determination of ethinyl estradiol in human plasma. *Biomedical Chromatography* 2004; 18(7): 414-21.

World Health Organization. Expert committee on specification for pharmaceutical preparation. Geneva: WHO 1996; 46p.(WHO Offset Publication, 34).

Yodo, K, Saisho, S, Shimozawa, K, Yata, J. A reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of serum concentrations of cyproterone acetate and 15 beta-hydroxycyproterone acetate. *Endocrinol Jpn* 1988; 35: 143-8.

9- ANEXOS

Acetato de Ciproterona e Etinilestradiol

Tabela 3- Aleatorização dos medicamentos

Voluntário	Sexo	Período I	Período II
1	Feminino	Referência	Teste
2	Feminino	Teste	Referência
3	Feminino	Referência	Teste
4	Feminino	Teste	Referência
5	Feminino	Referência	Teste
6	Feminino	Teste	Referência
7	Feminino	Referência	Teste
8	Feminino	Referência	Teste
9	Feminino	Teste	Referência
10	Feminino	Teste	Referência
11	Feminino	Teste	Referência
12	Feminino	Referência	Teste
13	Feminino	Teste	Referência
14	Feminino	Referência	Teste
15	Feminino	Teste	Referência
16	Feminino	Teste	Referência
17	Feminino	Referência	Teste
18	Feminino	Teste	Referência
19	Feminino	Referência	Teste
20	Feminino	Teste	Referência
21	Feminino	Teste	Referência
22	Feminino	Teste	Referência
23	Feminino	Referência	Teste
24	Feminino	Referência	Teste
25	Feminino	Teste	Referência
26	Feminino	Referência	Teste
27	Feminino	Referência	Teste
28	Feminino	Referência	Teste
29	Feminino	Teste	Referência
30	Feminino	Referência	Teste
31	Feminino	Teste	Referência
32	Feminino	Referência	Teste
33	Feminino	Teste	Referência
34	Feminino	Referência	Teste
35	Feminino	Referência	Teste
36	Feminino	Teste	Referência
37	Feminino	Referência	Teste
38	Feminino	Teste	Referência
39	Feminino	Referência	Teste
40	Feminino	Teste	Referência
41	Feminino	Referência	Teste
42	Feminino	Teste	Referência
43	Feminino	Teste	Referência
44	Feminino	Referência	Teste
45	Feminino	Referência	Teste
46	Feminino	Teste	Referência
47	Feminino	Referência	Teste
48	Feminino	Teste	Referência

Tabela 4- Atividades do estudo e tempos de coleta de amostras para a análise farmacocinética

Fase do Estudo	TEMPOS DE COLETA			Avaliação de Segurança		Volume Coletado	Volume Desprezado Após Centrifugação
						mL	mL (±)
	Triagem					15	-
	Períodos 1 e 2						
Internação	Dia			d			
Pool	Após 8 h de jejum			h	PA, pulso, temperatura	40	20
	Etinil	Cirpo	Cipro+etinil				
Pré-dose	-00:30	-00:30	-00:30	h	PA, pulso, temperatura	12	6
	00:15		00:15	h		6	3
		00:20	00:20	h		6	3
	00:30		00:30	h		6	3
		00:40	00:40	h		6	3
	00:45		00:45	h		6	3
		01:00	01:00	h	PA, pulso, temperatura	6	3
	01:15		01:15	h		6	3
	01:30	01:30	01:30	h		12	6
	01:45		01:45	h		6	3
	02:00	02:00	02:00	h	PA, pulso, temperatura	12	6
	02:20		02:20	h		6	3
		02:30	02:30	h		6	3

Tabela 4- (Cont.): Atividades do estudo e tempos de coleta de amostras para a análise farmacocinética

Fase do Estudo	TEMPOS DE COLETA			Avaliação de Segurança	Volume Coletado	Volume Desprezado Após Centrifugação
					mL	mL (±)
	Triagem				15	-
	Períodos 1 e 2					
Internação	Dia		d			
Pool	Após 8 h de jejum			h PA, pulso, temperatura	40	20
	Etinil	Cirpo	Cipro+etinil			
	02:40		02:40	h	6	3
	03:00	03:00	03:00	h PA, pulso, temperatura	12	6
		03:30	03:30	h	6	3
	04:00	04:00	04:00	h PA, pulso, temperatura	12	6
		05:00	05:00	h PA, pulso, temperatura	6	3
	06:00	06:00	06:00	h PA, pulso, temperatura	12	6
	08:00	08:00	08:00	h PA, pulso, temperatura	12	6
		10:00	10:00	h PA, pulso, temperatura	6	3
	12:00		12:00	h PA, pulso, temperatura	6	3
		14:00	14:00	h PA, pulso, temperatura	6	3
	16:00		16:00	h PA, pulso, temperatura	6	3
	24:00	24:00	24:00	h PA, pulso, temperatura	12	6
	36:00		36:00	h PA, pulso, temperatura	6	3

Tabela 4- (Cont.): Atividades do estudo e tempos de coleta de amostras para a análise farmacocinética

Fase do Estudo	TEMPOS DE COLETA			Avaliação de Segurança		Volume Coletado	Volume Desprezado Após Centrifugação
						mL	mL (±)
	Triagem					15	-
	Períodos 1 e 2						
Interação	Dia			d			
Pool	Após 8 h de jejum			h	PA, pulso, temperatura	40	20
	Etinil	Cirpo	Cipro+etinil				
	48:00	48:00	48:00	h	PA, pulso, temperatura	12	6
	72:00		72:00	h	PA, pulso, temperatura	6	3
		96:00	96:00	h	PA, pulso, temperatura	6	3
	120:00	120:00	120:00	h	PA, pulso, temperatura	12	6
		168:00	168:00	h	PA, pulso, temperatura	6	3
		240:00	240:00	h	PA, pulso, temperatura	6	3
Pós Estudo						15	-
Totais do Estudo						544	272
Total Geral						574	272

Tabela 25- Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo Coleta (h)	Atraso em minutos
01	01	R	240:00	+1
01	02	T	03:30	+1
01	02	T	12:00	+1
01	02	T	14:00	+1
01	02	T	24:00	+2
01	02	T	48:00	+6
01	02	T	72:00	+2
02	01	T	01:45	+1
02	02	R	03:30	+1
02	02	R	240:00	+1
03	01	R	01:30	+2
03	01	R	02:00	+1
03	01	R	02:40	+1
03	01	R	03:30	+1
03	01	R	05:00	+1
03	01	R	06:00	+1
03	01	R	08:00	+2
03	01	R	24:00	+1
03	01	R	48:00	+23
03	02	T	00:20	+2
03	02	T	02:00	+1
03	02	T	240:00	+59
04	01	T	12:00	+3
04	01	T	14:00	+2
04	01	T	16:00	+1
04	01	T	24:00	+2
04	01	T	48:00	+26
04	01	T	72:00	+3
04	01	T	168:00	+10
04	01	T	240:00	+29
05	01	R	00:20	+1
05	01	R	01:30	+1
05	01	R	03:00	+1
05	01	R	168:00	+1
05	02	T	00:20	+3
05	02	T	168:00	+13
06	01	T	08:00	+3

Tabela 25 (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
06	01	T	14:00	+1
06	01	T	36:00	+1
06	01	T	48:00	+2
06	01	T	240:00	+4
06	02	R	24:00	+1
06	02	R	36:00	+1
06	02	R	48:00	+2
06	02	R	72:00	+1
06	02	R	96:00	+1
06	02	R	120:00	+19
08	01	R	24:00	+3
08	01	R	48:00	+5
08	01	R	120:00	+1
08	02	T	04:00	+2
08	02	T	06:00	+2
08	02	T	16:00	+2
08	02	T	24:00	+3
09	01	T	01:00	+2
09	01	T	24:00	+1
09	01	T	48:00	+1
09	02	R	12:00	+1
09	02	R	16:00	+1
09	02	R	24:00	+2
09	02	R	72:00	+1
10	01	T	12:00	+2
10	01	T	24:00	+2
10	01	T	48:00	+2
10	01	T	96:00	+1
10	01	T	240:00	+1
10	02	R	08:00	+1
10	02	R	24:00	+1
10	02	R	48:00	+1
11	01	T	12:00	+1
11	01	T	24:00	+1
11	01	T	48:00	+22
11	02	R	03:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
11	02	R	24:00	+1
11	02	R	48:00	+1
12	01	R	00:15	+2
12	01	R	03:00	+1
12	01	R	14:00	+1
12	01	R	24:00	+1
12	01	R	48:00	+23
12	01	R	96:00	+2
12	01	R	240:00	+1
12	02	T	01:00	+1
12	02	T	04:00	+1
12	02	T	06:00	+1
12	02	T	24:00	+4
12	02	T	48:00	+2
12	02	T	240:00	+14
13	01	T	02:00	+1
13	01	T	24:00	+1
13	01	T	48:00	+2
13	01	T	72:00	+15
13	01	T	96:00	+4
13	01	T	240:00	+1
13	02	R	01:00	+1
13	02	R	24:00	+3
13	02	R	96:00	+9
13	02	R	240:00	+31
14	01	R	00:20	+4
14	01	R	02:00	+1
14	01	R	10:00	+4
14	01	R	24:00	+3
14	01	R	48:00	+2
14	01	R	168:00	+3
14	01	R	240:00	+14
14	02	T	00:30	+1
14	02	T	01:00	+1
14	02	T	06:00	+1
14	02	T	08:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
14	02	T	12:00	+3
14	02	T	36:00	+1
14	02	T	48:00	+10
14	02	T	168:00	+13
14	02	T	240:00	+12
15	01	T	10:00	+1
15	01	T	24:00	+1
15	01	T	48:00	+2
15	01	T	168:00	+9
15	02	R	00:45	+10
15	02	R	24:00	+1
16	01	T	00:15	+1
16	01	T	05:00	+2
16	01	T	08:00	+1
16	01	T	12:00	+1
16	01	T	24:00	+5
16	01	T	48:00	+3
16	02	R	00:20	+2
16	02	R	02:00	+2
16	02	R	03:00	+1
16	02	R	14:00	+1
16	02	R	24:00	+2
16	02	R	48:00	+2
16	02	R	96:00	+1
16	02	R	240:00	+13
18	01	T	14:00	+2
18	01	T	24:00	+1
18	01	T	48:00	+2
18	01	T	96:00	+3
18	01	T	168:00	+2
18	02	R	00:20	+1
18	02	R	24:00	+2
19	01	R	48:00	+14
19	01	R	96:00	+3
19	02	T	48:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
20	01	T	06:00	+2
20	01	T	10:00	+2
20	01	T	16:00	+1
20	01	T	24:00	+2
20	01	T	48:00	+17
20	01	T	96:00	+9
20	01	T	168:00	+2
20	02	R	00:20	+1
20	02	R	00:45	+2
20	02	R	12:00	+1
20	02	R	14:00	+1
20	02	R	24:00	+3
20	02	R	48:00	+3
21	01	T	04:00	+3
21	01	T	48:00	+10
21	01	T	168:00	+25
21	01	T	240:00	+2
21	02	R	48:00	+1
22	01	T	0:30	+1
22	01	T	02:20	+1
22	01	T	24:00	+1
22	01	T	240:00	+1
22	02	R	00:45	+1
22	02	R	12:00	+2
22	02	R	14:00	+1
22	02	R	24:00	+1
23	01	R	04:00	+1
23	01	R	24:00	+1
23	01	R	48:00	+2
23	01	R	96:00	+3
23	01	R	120:00	+10
23	02	T	00:45	+1
23	02	T	01:00	+1
23	02	T	01:30	+1
23	02	T	14:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
23	02	T	16:00	+3
23	02	T	48:00	+2
23	02	T	96:00	+1
24	01	R	00:30	+1
24	01	R	02:20	+1
24	01	R	04:00	+2
24	01	R	08:00	+1
24	01	R	24:00	+1
24	01	R	48:00	+4
24	01	R	96:00	+3
24	01	R	168:00	+3
24	01	R	240:00	+6
24	02	T	00:20	+2
24	02	T	01:00	+1
24	02	T	01:30	+1
24	02	T	12:00	+1
24	02	T	14:00	+1
24	02	T	16:00	+2
23	02	T	16:00	+3
23	02	T	48:00	+2
23	02	T	96:00	+1
24	01	R	00:30	+1
24	01	R	02:20	+1
24	01	R	04:00	+2
24	01	R	08:00	+1
24	01	R	24:00	+1
24	01	R	48:00	+4
24	01	R	96:00	+3
24	01	R	168:00	+3
24	01	R	240:00	+6
24	02	T	00:20	+2
24	02	T	01:00	+1
24	02	T	01:30	+1
24	02	T	12:00	+1
24	02	T	14:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
24	02	T	16:00	+2
24	02	T	24:00	+2
24	02	T	96:00	+2
25	01	R	00:30	+1
26	01	R	00:20	+1
26	01	R	03:00	+2
26	01	R	24:00	+1
26	01	R	120:00	+1
26	01	R	168:00	+1
26	01	R	240:00	+1
26	02	T	72:00	+2
26	02	T	96:00	+4
26	02	T	240:00	+5
27	01	R	24:00	+1
27	02	T	10:00	+2
27	02	T	14:00	+2
28	01	R	48:00	+35
28	01	R	72:00	+20
28	01	R	96:00	+11
28	01	R	168:00	+38
28	02	T	24:00	+2
30	01	R	10:00	+2
30	01	R	12:00	+4
30	01	R	14:00	+1
30	01	R	96:00	+98
30	01	R	168:00	+25
30	02	T	48:00	+4
30	02	T	72:00	+24
30	02	T	96:00	+20
30	02	T	240:00	+16
31	01	T	24:00	+1
31	01	T	36:00	+1
31	02	R	36:00	+37
32	01	R	00:15	+6

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
32	01	R	00:20	+4
32	01	R	00:30	+4
32	01	R	00:40	+4
32	01	R	00:45	+5
32	01	R	01:00	+4
32	01	R	01:15	+4
32	01	R	01:30	+4
32	01	R	01:45	+5
32	01	R	02:00	+4
32	01	R	02:20	+4
32	01	R	02:30	+4
32	01	R	02:40	+4
32	01	R	03:00	+5
32	01	R	03:30	+4
32	01	R	04:00	+4
32	01	R	05:00	+4
32	01	R	06:00	+4
32	01	R	08:00	+5
32	01	R	10:00	+4
32	01	R	12:00	+5
32	01	R	14:00	+5
32	01	R	16:00	+4
32	01	R	24:00	+11
32	01	R	36:00	+5
32	01	R	48:00	+4
32	01	R	72:00	+4
32	01	R	96:00	+4
32	01	R	120:00	+4
32	01	R	168:00	+4
32	01	R	240:00	+4
32	02	T	24:00	+2
33	01	T	24:00	+2
33	01	T	36:00	+1
33	01	T	48:00	+3

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
34	01	R	06:00	+1
34	01	R	10:00	+2
34	01	R	12:00	+5
34	01	R	24:00	+2
34	01	R	36:00	+1
34	01	R	96:00	+3
34	02	T	16:00	+1
34	02	T	168:00	+25
34	02	T	240:00	+13
35	01	R	06:00	+1
35	01	R	14:00	+1
35	01	R	16:00	+1
35	01	R	24:00	+4
35	01	R	36:00	+1
35	01	R	72:00	+1
35	01	R	96:00	+2
35	01	R	120:00	+1
35	02	T	00:30	+1
35	02	T	02:00	+3
35	02	T	02:20	+1
35	02	T	03:00	+1
35	02	T	14:00	+1
35	02	T	24:00	+2
35	02	T	72:00	+3
35	02	T	120:00	+16
35	02	T	168:00	+25
35	02	T	240:00	+14
36	01	T	01:00	+1
36	01	T	24:00	+2
36	01	T	36:00	+4
36	01	T	48:00	+3
36	01	T	96:00	+2
36	01	T	120:00	+1
36	02	R	04:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
36	02	R	08:00	+1
36	02	R	10:00	+1
36	02	R	12:00	+1
36	02	R	14:00	+1
36	02	R	24:00	+2
36	02	R	72:00	+10
38	01	T	12:00	+1
38	01	T	14:00	+2
38	01	T	24:00	+3
38	01	T	36:00	+1
38	01	T	48:00	+1
38	01	T	96:00	+2
38	02	R	02:20	+1
38	02	R	02:30	+2
38	02	R	04:00	+1
38	02	R	12:00	+2
38	02	R	14:00	+1
38	02	R	16:00	+1
38	02	R	24:00	+5
38	02	R	36:00	+6
38	02	R	48:00	+7
38	02	R	96:00	+1
39	01	R	02:20	+2
39	01	R	24:00	+2
39	01	R	36:00	+1
39	01	R	48:00	+1
39	01	R	72:00	+2
39	01	R	96:00	+1
39	02	T	16:00	+1
39	02	T	24:00	+1
40	01	T	01:00	+1
40	01	T	24:00	+2
40	01	T	36:00	+2
40	01	T	48:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
40	01	T	96:00	+2
40	02	R	02:30	+1
41	01	R	06:00	+2
41	01	R	24:00	+1
41	01	R	36:00	+1
41	01	R	48:00	+1
41	01	R	96:00	+1
41	02	T	02:30	+1
41	02	T	14:00	+2
41	02	T	16:00	+1
41	02	T	24:00	+2
41	02	T	72:00	+1
42	01	T	03:00	+1
42	01	T	03:30	+2
42	01	T	12:00	+2
42	01	T	14:00	+2
42	01	T	24:00	+2
42	01	T	36:00	+1
42	01	T	48:00	+33
42	01	T	72:00	+20
42	01	T	96:00	+25
42	01	T	168:00	+54
42	01	T	240:00	+45
42	02	R	00:30	+1
42	02	R	00:45	+1
42	02	R	02:20	+1
42	02	R	24:00	+1
42	02	R	48:00	+54
42	02	R	72:00	+28
42	02	R	96:00	+33
42	02	R	168:00	+44
43	01	T	06:00	+1
43	01	T	24:00	+5
43	01	T	72:00	+14
43	01	T	96:00	+16

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
43	01	T	120:00	+34
43	01	T	168:00	+4
43	01	T	240:00	+41
43	02	R	00:45	+1
43	02	R	24:00	+1
43	02	R	168:00	+7
43	02	R	240:00	+10
44	01	R	14:00	+1
44	01	R	24:00	+1
44	01	R	36:00	+2
44	01	R	48:00	+34
44	01	R	72:00	+14
44	01	R	168:00	+2
44	01	R	240:00	+2
44	02	T	00:45	+1
44	02	T	06:00	+1
44	02	T	08:00	+2
44	02	T	12:00	+1
44	02	T	16:00	+1
44	02	T	24:00	+6
44	02	T	48:00	+10
44	02	T	168:00	+21
45	01	R	00:20	+1
45	01	R	00:40	+1
45	01	R	01:15	+3
45	01	R	02:00	+2
45	01	R	02:40	+1
45	01	R	03:30	+1
45	01	R	14:00	+2
45	01	R	16:00	+1
45	01	R	24:00	+3
46	01	T	10:00	+1
46	01	T	24:00	+1
46	01	T	120:00	+1
46	02	R	02:30	+1
46	02	R	04:00	+1

Tabela 25- (Cont.): Atraso na coleta do acetato de ciproterona e etinilestradiol

Voluntário	Fase	Medicação	Tempo de Coleta (h)	Atraso em minutos
46	02	R	14:00	+1
46	02	R	24:00	+2
47	01	R	00:20	+1
47	01	R	00:30	+1
47	01	R	02:40	+1
47	01	R	24:00	+2
47	01	R	168:00	+1
47	02	T	24:00	+3

Tabela 5- Inventário das medicações em estudo

Descrição	Teste	Referência
Nome comercial	Selene®	Diane® 35
Princípio ativo	Ciproterona+Etinilestradiol	Ciproterona+Etinilestradiol
Forma Farmacêutica	Drágea	Drágea
Concentração	2mg + 0,035mg	2mg + 0,035mg
Lote	195/06	1740 A
Data de Fabricação	12/2006	03/2006
Data de validade	12/2008	03/2011
Fabricante	Eurofarma Laboratórios Ltda.	Schering do Brasil
Quantidade recebida	210	231
Quantidade utilizada	43	44
Perdas	02	02
Amostra de retenção	165	185

Tabela 54- Reações adversas relatadas pelos voluntários durante a internação.

Vol	Período	Medic.	Evento	Intensidade
1	2	T	Cefaléia	Moderada
			Náusea	Leve
			Anemia	Leve
2	1	T	Cefaléia	Leve
	2	R	Cefaléia, náusea	Leve
3	1	R	Cefaléia	Moderada
4	1	T	Sangramento Apotting	Leve
	2	R	Alter. Paladar, boca amarga	Leve
6	1	T	Intox.alimentar c/diarréia – 6 êmese	Moderada
7	1	R	Flatulência, cefaléia e boca amarga	Leve
	2	T	Otite (dor de ouvido)	Leve
8	1	R	Pontadas região torácica e Cefaleia	Leve
9	2	R	Cefaléia	Moderada
			Tontura, visão turva	Leve
11	1	T	Tontura, cefaléia e mastalgia	Leve
	2	R	Cefaléia	Leve
	1	T	Náusea	Leve
			Cefaléia	Moderada
13	2	R	Cefaléia	Moderada
			Flatulência	Moderada
			Êmese	Leve
	1	R	Cefaléia	Leve
			Náusea	Moderada
14			Vômito (ausência bile)	
	2	T	Cefaléia, taquicardia (120 BPM), sudorese e tontura	Leve
	1	T	Cefaléia, náusea, tontura e sudorese	Leve
15			Cefaléia	Leve
	2	R	Cefaléia	Moderada
	1	T	Cefaléia (estado gripal)	Leve
16			Cefaléia	Leve
	2	R	Alteração Urina	Leve
	1	T	Cefaléia	Leve
18	2	R	Sudorese, mal estar e tontura	Leve
20	1	T	Cefaléia	Leve
21	1	T	Cefaléia	Leve
	2	R	Flatulência	Leve

Tabela 54- (Cont.): Reações adversas relatadas pelos voluntários durante a internação.

Vol	Período	Medic.	Evento	Intensidade
22	1	T	Cefaléia	Leve
23	1	R	Corte calcanhar	Leve
	2	T	Cólica menstrual	Moderada
			Cefaléia	Moderada
24	2	T	Raciocínio lento, movimento MMSS lento	Leve
	1	T	Cefaléia	Leve
			Cefaléia	Leve
25	2	R	Cefaléia	Moderada
			Alteração na urina I	Leve
	1	R	Queimação no estômago	Leve
			Paladar amargo	Leve
26	2	T	Tontura	Moderada
			Azia e queimação	Leve
			Cefaléia	Moderada
			Alteração na urina I	Leve
	1	R	Cefaléia	Leve
27	2	T	Cefaléia	Leve
			Náusea e Vômito	Moderada
			Alteração triglicérides	Leve
28	2	T	Alteração urina I	Leve
30	2	T	Sonolência	Moderado
32	1	R	Cefaléia	Leve
	2	T	Cefaléia	Leve
	1	T	Cefaléia	Leve
33	2	R	Cefaléia	Leve
			Vômito	Moderada
	1	R	Cefaléia	Leve
			Queimação no estômago	Moderada
			Flatulência	Leve
34			Tontura	Leve
	2	T	Tontura	Leve
			Azia	Moderada
35	2	T	Alteração Urina I	Leve
	1	T	Cefaléia	Leve
36			Cefaléia	Leve
	2	R	Lombalgia (Período menstrual)	Moderada
			Cefaléia	Moderada
	1	T	Paladar amargo	Leve
38	2	R	Náusea	Leve
			Cólica menstrual	Leve

Tabela 54- (Cont.): Reações adversas relatadas pelos voluntários durante a internação.

Vol	Período	Medic.	Evento	Intensidade
39	1	R	Paladar amargo	Leve
			Cefaléia	Leve
			Cefaléia	Leve
40	2	T	Azia e queimação	Leve
			Edema discreto na mão direita	Leve
			Azia e queimação	Moderada
			Êmese (refluxo 1 vez pequena quantidade)	Leve
			Epigastralgia	Leve
			Azia	Leve
			Alteração e TGP após epigstralgia e azia após administração da droga	Leve
41	1	R	Cefaléia	Leve
			Cefaléia	Leve
			Náusea	Leve
42	2	T	Sialoréia	Leve
			Cefaléia	Leve
			Náusea	Leve
44	1	R	Sudorese	Leve
			Queimação estômago	Leve
			Náusea	Leve
45	1	R	Cefaléia	Leve
46	1	T	Cefaléia	Leve
47	1	R	Alteração na urina I	Leve
			Lombalgia	Leve

Acetato de Ciproterona

Tabela 32- Concentrações plasmáticas (µg/mL) ao longo do tempo (horas) referentes ao acetato de ciproterona (R).

Vol	T _{0,0}	T _{0,20}	T _{0,40}	T _{1,0}	T _{1,30}	T _{2,0}	T _{2,30}	T _{3,0}	T _{3,30}	T _{4,0}	T _{5,0}	T _{6,0}	T _{8,0}	T _{10,0}	T _{14,0}	T _{24,0}	T _{48,0}	T _{96,0}	T _{120,0}	T _{168,0}	T _{240,0}
1	0,00	0,00	1,116	5,264	10,93	13,94	10,78	8,47	7,255	6,117	3,032	2,155	1,8604	1,54	1,0199	0,864	0,6	0,454	0,312	0,2509	0,167
2	0,00	0,00	0,187	1,198	4,034	8,037	10,84	9,451	9,106	7,264	6,027	5,23	3,8725	2,52	1,7781	1,641	1,028	0,793	0,739	0,5302	0,4376
3	0,00	0,00	0,00	0,37	1,136	1,564	1,75	8,048	6,389	9,029	6,678	4	3,0288	2,23	1,1458	0,936	0,593	0,377		0,2363	0,128
4	0,00	0,7513	7,949	12,06	8,413	8,75	7,479	6,669	6,006	5,305	3,41	2,378	1,6532	1,44	1,0068	0,943	0,722	0,471	0,451	0,321	0,2089
5	0,00	0,00	5,117	6,706	6,417	6,299	5,016	3,931	3,519	2,887	1,964	1,985	1,1812	1,02	0,7636	0,539	0,411	0,191	0,211	0	0
6	0,00	0,00	0,307	2,133	6,982	8,858	11,41	8,776	7,024	6,123	4,432	2,803	1,7945	1,52	1,152	0,946	0,99	0,702	0,603	0,29	0,1864
7	0,00	0,00	3,45	8,234	10,4	9,259	7,447	6,367	5,474	4,641	3,866	2,717	2,0622	1,52	1,101	0,81	0,707	0,385	0,3	0,1699	0,1138
8	0,00	0,00	4,981	10,85	13,86	11,8	10,88	8,006	6,799	5,758	4,726	3,327	2,7731	2,17	1,3813	0,961	0,788	0,494	0,41	0,3455	0,2824
9	0,00	0,00	0,00	0,69	2,597	4,456	8,265	8,718	7,392	7,21	5,53		2,8547	2,02	1,3977	0,821	0,652	0,415	0,376	0,3207	0,2043
10	0,00	0,00	5,316	8,656	11,54	9,586	8,226	6,64	5,523	4,615	3,696	2,349	1,7066	1,44	1,2993	0,852	0,671	0,355	0,332	0,2402	0,1626
11	0,00	0,00	1,445	8,787	12,21	14,58	11,58	8,9	7,735	6,89	5,191	3,73	2,8019	2,24	1,7055	1,255	0,885	0,581	0,491	0,3864	0,1992
12	0,00	0,1622	10,15	14,48	11,29	9,24	6,694	5,872	4,888	4,415	2,941	2,275	2,0199	1,56	1,1128	0,946	0,69	0,385	0,365	0,2033	0,1234
13	0,00	0,00	0,00	0,00	6,693	9,708	10,58	8,874	7,034	6,464	4,896	2,749	1,9204	1,66	1,3678	1,134	0,777	0,52	0,511	0,3605	0,2483
14	0,00	0,00	0,00	0,222	0,82	1,923	3,641	5,586	12,74	10,82	7,613	5,109	3,4112	3,11	1,9775	1,541	1,042	0,686	0,635	0,418	0,2722
15	0,00	0,00	1,675	4,416	10,03	10,69	9,978	8,54	7,029	6,232	4,524	3,471	2,2439	1,86	1,2815	0,93	0,616	0,404	0,316	0,2676	0,1701
16	0,00	0,00	5,729	11,02	8,696	7,602	5,772	5,156	4,274	3,279	2,346	1,242	1,2837	0,99	0,685	0,621	0,517	0,329	0,285	0,1892	0,1317
18	0,00	0,00	0,309	2,135	1,885	2,858	6,539	6,819	6,908	5,658	3,515	2,271	1,509	1,19	0,7424	0,719	0,485	0,347	0,248	0,1803	0,1164
19	0,00	0,00	0,00	0,123	0,497	5,508	10,18	9,035	7,2	5,705	3,72	2,561	1,6404	1,32	0,8489	0,75	0,616	0,332	0,301	0,2401	0,1301
20	0,00	0,00	0,952	2,176	5,317	11,97	11,93	9,898	8,615	5,8	3,955	2,365	1,6357	1,17	1,0563	0,887	0,565	0,441	0,397	0,3908	0,2131
21	0,00	0,5628	17,14	12,1	8,855	7,652	6,197	5,071	3,972	3,648	2,826	2,303	1,5397	1,35	0,9379	0,75	0,532	0,133	0,245	0,2015	0,119
22	0,00	0,00	1,63	19,56	12,89	8,789	7,092	5,484	4,498	4,162	2,661	1,897	1,5752	1,3	0,9764	0,89	0,705	0,556	0,523	0,359	0,2519
23	0,00	0,00	5,317	7,589	8,528	9,84	9,67	9,474	8,084	6,604	4,469	2,243	1,9365	1,53	0,9702	0,729	0,58	0,459	0,325	0,2488	0,1478
24	0,00	0,1414	8,681	9,491	8,68	8,931	8,85	9,545	9,097	6,72	5,346	3,768	2,5947	2,04	1,5503	1,348	0,866	0,432	0,401	0,2789	0,1411
25	0,00	0,00	0,17	1,69	7,107	7,21	6,39	6,151	5,639	4,913	4,145	2,791	1,9615	1,71	0,9788	0,773	0,502	0,323	0,267	0,1867	0,1
26	0,00	0,00	0,127	0,674	1,8	2,834	2,602	5,529	12,15	10,44	7,973	4,559	2,8806	2,37	1,5087	0,98	0,81	0,581	0,369	0,3423	0,1918
27	0,00	0,00	0,315	7,949	13,09	11	8,651	7,59	6,716	5,858	4,524	3,548	2,6103	2,14	1,3737	0,958	0,723	0,509	0,451	0,3983	0,28
28	0,00	0,20	4,952	11,84	11,61	10,37	9,595	7,468	5,888	5,072	3,484	2,724	2,0684	1,89	1,2857	1,013	0,896	0,69		0,4307	0,3594
30	0,00	0,00	0,00	0,525	7,902	7,782	6,027	4,527	3,971	2,966	2,495	1,787	1,2412	1,02	0,7619	0,663		0,46		0,3137	
31	0,00	0,00	0,00	0,741	1,5	3,992	7,556	6,3	5,727	5,253	3,848	2,354	1,3305	1,18	0,9232	0,887	0,664	0,369	0,352	0,3034	0,1548
32	0,00	0,00	0,00	0,396	0,754	4,041	11,05	8,072	6,713	5,915	3,654	2,379	1,5271	1,15	0,8213	0,647	0,509	0,346	0,311	0,2438	0,1842
33	0,00	0,00	2,344	7,151	10,28	9,749	8,843	6,526	5,047	5,609	3,38	1,955	1,3478	1,33	0,8943	0,734	0,515	0,32	0,374	0,218	0,1151
34	0,00	0,3885	9,235	10,36	8,777	9,602	7,162	5,477	4,228	4,181	2,654	2,002	1,4712	1,26	0,806	0,652	0,497	0,288	0,405	0,1584	0,1018
35	0,00	0,00	7,094	14,54	13,11	10,6	9,747	8,195	6,677	5,146	4,282	3,211	2,3034	2,01	1,2938	0,944	0,794	0,385	0,306	0,191	0,1366
36	0,00	0,00	0,00	0,227	0,692	2,963	6,594	6,402	5,861	3,995	3,343	2,219	1,4233	1,19	0,6678	0,439	0,367	0,264		0,1546	0,00
38	0,00	0,00	0,895	1,909	2,276	2,163	4,65	10,23	10,04	7,881	4,367	3,389	2,0594	1,44	1,0761	0,927	0,723	0,504	0,387	0,2537	0,1903
39	0,00	0,00	0,00	0,409	6,802	9,997	8,851	6,376	4,848	4,266	2,723	1,964	1,1882	0,97	0,7507	0,676	0,591	0,378	0,354	0,3014	0,2091
40	0,00	0,00	0,298	2,568	6,895	8,093	6,396	5,187	3,781	3,341	2,278	1,689	1,3419	1,16	0,9079	0,843	0,724	0,502	0,405	0,3174	0,1928
41	0,14	0,00	5,571	12,7	15,24	11,98	9,393	8,439	6,484	5,783	4,274	3,258	1,9732	1,55	1,1241	0,954	0,678	0,498	0,427	0,2482	0,2568
42	0,00	0,3341	7,606	7,49	12,14	10,16	8,549	7,612	6,255	5,735	4,075	2,836	1,9159	1,58	1,218	1,034	0,862	0,648		0,423	0,2678
43	0,00	0,7948	15,54	14,43	10,72	10,79	9,144	7,004	5,686	4,669	3,149	2,187	1,6769	1,32	0,9259	0,805	0,655			0,2716	0,17
44	0,00	0,00	2,285	8,241	10,49	9,747	9,507	8,537	8,267	6,848	5,523	3,927	2,6573	2,28	1,5781	1,142	0,666	0,462		0,2554	0,1205
46	0,00	0,00	0,133	5,938	9,356	8,854	6,108	6,014	5,615	3,206	2,838	2,375	1,9408	1,23	1,0531	1,053	0,757	0,642		0,4113	0,3014
47	0,00	0,00	0,665	4,104	11,43	11,08	9,301	7,157	5,774	4,695	4,002	3,021	1,9122	1,63	1,083	0,837	0,435	0,221	0,176	0,1049	0,00

Tabela 33- Concentrações plasmáticas (µg/mL) ao longo do tempo (horas) referentes ao acetato de ciproterona (T).

Vol	T _{0,0}	T _{0,20}	T _{0,40}	T _{1,0}	T _{1,30}	T _{2,0}	T _{2,30}	T _{3,0}	T _{3,30}	T _{4,0}	T _{5,0}	T _{6,0}	T _{8,0}	T _{10,0}	T _{14,0}	T _{24,0}	T _{48,0}	T _{96,0}	T _{120,0}	T _{168,0}	T _{240,0}
1	0,00	0,00	3,058	5,944	11,17	10,07	9,419	8,202	6,609	5,908	4,379	2,814	2,1297	2,17	1,3824	1,022	0,677	0,454	0,328	0,1429	0,1444
2	0,00	0,00	0,607	4,016	6,998	7,254	9,724	10,22	9,185	8,289	6,993	4,608	3,8578	2,92	1,8451	1,471	0,957	0,701	0,605	0,5636	0,3974
3	0,00	0,00	0,561	4,257	6,45	8,51	9,769	7,77	6,236	5,69	4,221	3,514	2,41	1,78	1,137	0,922	0,599	0,348	0,253	0,1749	0,00
4	0	0,1328	2,893	9,46	8,021	11,1	7,777	7,858	7,282	2,072	5,681	2,803	1,7361	1,56	1,0481	0,958	0,731	0,636	0,456	0,3478	0,2592
5	0,00	0,00	0,189	0,631	1,675	3,06	2,854	6,499	6,582	6,097	4,521	2,537	1,5403	1,15	0,7771	0,572	0,508	0,301	0,184	0,1014	0,00
6	0,00	0,00	8,325	14,79	12,05	9,725	7,823	6,185	4,904	4,162	2,855	2,091	1,8587	1,29	0,9623	0,787	0,739				0,00
7	0,00	0,00	0,138	0,29	0,91	1,187	1,208	3,178	8,363	8,268	8,027	4,747	2,7401	2	1,0962	0,713	0,628	0,374	0,335	0,1864	0,1154
8	0,00	0,00	0,174	0,574	1,45	2,768	3,792	4,543	5,406	6,212	5,936	3,975	2,4778	1,78	1,6437	1,14	0,908	0,58	0,459	0,4162	0,2559
9	0,00	0,00	0,422	1,743	7,085	12,94	11,85	9,579	8,124	6,971	5,004	3,769	2,7197	1,94	1,1315	0,857	0,623	0,447	0,382	0,292	0,1985
10	0,00	0,00	0,00	2,034	9,067	9,513	7,447	5,944	5,453	4,637	3,526	2,534	1,8071	1,56	1,0369	0,838	0,482	0,332	0,256	0,1914	0,1333
11	0,00	0,00	2,154	9,811	11,3	12,52	10,66	8,266	6,781	5,645	4,02	3,221	2,4791	2,12	1,3176	1,013	0,658	0,432	0,354	0,2305	0,1667
12	0,00	0,00	3,737	5,56	7,772	8,391	7,235	6,325	5,944	5,173	3,817	3,03	2,3637	1,95	1,3464	1,018	0,718	0,403	0,347	0,2315	0,1234
13	0,00	0,00	0,00	0,197	1,898	5,342	9,16	10,36	9,046	8,152	5,586	3,867	2,4291	1,71	1,168	0,978	0,855	0,438		0,2819	0,2483
14	0,00	0,1135	6,295	17,31	14,44	12,82	11	8,885	7,907	6,486	4,948	3,858	3,2831	2,72	2,143	1,644	1,252	0,836	0,66	0,4912	0,2921
15	0,00	0,00	1,599	5,434	7,596	9,656	9,296	7,982	7,014	5,709	4,406	2,923	2,3218	2,1	1,2558	0,921	0,578	0,372	0,294	0,223	0,1714
16	0,00	0,00	0,965	2,276	4,623	6,319	7,535	6,467	5,113	4,031	2,623	1,915	1,419	1,16	0,6794	0,579	0,411	0,291	0,24	0,1804	0,138
18	0,00	0,00	4,052	6,025	8,317	7,727	6,151	4,865	4,122	3,528	2,176	1,636	1,1309	0,82	0,6072	0,509	0,421	0,269		0,1617	
19	0,00	0,00	0,00	0,356	0,931	1,816	6,613	9,955	8,656	7,59	5,56	3,507	1,7549	1,52	1,1205	0,865	0,606	0,453	0,385	0,2342	0,167
20	0,00	0,2097	10,67	10,74	12,27	9,606	8,077	6,81	6,005	4,578	2,813	1,938	1,3879	1,24	0,8097	0,737	0,531	0,386	0,335	0,2855	0,2224
21	0,00	0,00	0,211	5,495	10,95	10,54	7,594	5,889	5,162	4,535	2,698	1,951	1,4826	1,12	0,8039	0,762	0,642	0,36	0,415	0,3079	0,2218
22	0,00	0,00	5,43	6,471	7,797	7,611	6,835	4,743	4,622	3,89	3,024	2,647	1,8287	1,38	0,8205	0,611	0,395	0,271	0,239	0,184	0,1201
23	0,00	0,00	1,617	3,587	10,03	10,12	8,463	7,528	6,632	6,129	4,184	2,28	1,5119	1,26	0,9711	0,928	0,697	0,523	0,38	0,3053	0,1809
24	0,00	0,00	0,00	1,012	4,272	6,673	6,898	5,847	5,526	6,416	7,636	5,227	2,9285	2,51	1,8183	1,586	1,03	0,535	0,469	0,2942	0,1568
25	0,00	0,1108	3,776	6,257	7,038	7,787	7,407	6,833	5,709	4,96	4,06	2,837	1,9473	1,41	1,0325	0,799	0,651	0,31	0,255	0,1723	0,1171
26	0,00	0,1441	5,706	10,43	10,68	9,245	8,332	7,231	6,478	5,474	3,931	3,063	2,4568	1,84	1,1556	0,827	0,714	0,452	0,39	0,3215	0,185
27	0,12	0,00	5,093	12,64	14,92	13,89	11,54	9,633	8,097	7,121	5,513	4,216	2,9536	2,31	1,7501	1,249	0,998	0,659	0,636	0,4616	0,3378
28	0,00	0,1163	3,913	6,68	10,39	8,008	6,55	5,469	4,621	4,203	3,031	2,221	1,6005	1,28	0,9991	0,822					
30	0,00	0,00	0,154	4,002	10,55	8,749	7,231	5,779	3,966	3,128	3	1,919	1,4756	1,18	0,9614	0,721	0,601	0,516		0,3522	0,2681
31	0,00	0,00	1,679	5,132	8,159	6,648	5,498	4,815	4,392	3,709	2,402	1,547	1,0895	0,81	0,7399	0,705	0,551	0,293	0,279	0,1894	0,1214
32	0,00	0,00	1,176	3,187	6,137	5,628	4,559	5,229	7,399	6,992	4,783	2,901	1,5675	1,4	1,0283	0,755	0,535	0,433	0,349	0,2443	0,1572
33	0,00	0,00	0,861	4,939	11,19	10,5	7,884	6,468	5,357	4,351	3,564	2,456	1,5362	1,24	0,8453	0,678	0,439	0,286	0,248	0,2037	0,12
34	0,00	0,00	3,718	7,39	8,216	8,057	6,993	5,403	4,476	3,521	2,612	2,018	1,5091	1,24	0,8764	0,733	0,532		0,239	0,1749	0,1179
35	0,00	0,00	2,669	12,59	13,52	12,89	10,6	8,156	7,789	6,624	4,986	3,469	2,5663	2,03	1,4559	1,036	0,841	0,585	0,299	0,1802	0,1095
36	0,00	0,00	0,00	0,13	0,458	3,566	7,445	8,27	6,335	6,139	5,867	3,458	1,7189	1,42	0,849	0,676	0,474	0,319	0,256	0,1885	0,1209
38	0,00	0,00	2,117	7,312	10,3	7,473	6,498	6,101	4,82	3,937	2,907	2,106	1,3035	1,2	0,8618	0,844	0,607	0,457	0,325	0,225	0,1269
39	0,00	0,00	0,28	7,504	9,532	7,612	5,732	4,509	3,614	3,394	2,027	1,595	1,2321	0,98	0,7222	0,739	0,557	0,492	0,341	0,3225	0,2183
40	0,00	0,00	0,967	3,558	7,259	10,32	8,638	6,49	5,612	4,837	2,898	1,777	1,2786	1,11	0,8473	0,766	0,51	0,393	0,412	0,2299	0,1888
41	0,00	0,00	0,443	1,288	5,126	7,26	9,376	9,114	9,628	7,591	5,535	3,086	2,0335	1,62	1,2227	0,924	0,747	0,57	0,505	0,3759	
42	0,00	0,1266	1,765	5,668	5,318	6,193	6,554	7,417	7,547	8,051	5,916	3,363	2,1085	1,62	1,2113	0,925	0,791	0,551		0,3428	0,2379
43	0,00	0,00	4,995	10,05	12,78	11,44	8,993	7,945	6,525	5,593	3,577	2,543	1,8301	1,5	0,9603	0,839	0,73	0,457	0,392	0,2541	0,1346
44	0,00	0,00	1,444	8,875	8,481	7,947	8,232	7,961	7,808	6,964	6,3	4,377	3,2354	2,56	1,9212	1,287	0,787			0,2203	0,1008
46	0,00	0,00	0,121	5,528	9,316	12,9	10,58	9,344	7,39	5,787	4,691	2,915	2,0053	1,68	1,1773	1,156		0,54	0,627	0,4096	0,2945
47	0,00	0,00	1,817	7,522	9,1	7,091	5,889	5,625	5,203	4,874	3,684	2,708	2,047	1,52	0,9546	0,809	0,425		0,196	0,1413	0,00

Tabela 34- Medidas farmacocinéticas dos indivíduos no medicamento acetato de ciproterona (R).

Voluntários	K_{el}	$T_{1/2}$	C_{max}	T_{max}	$ASC_{(0-t)}$	$ASC_{(0-inf)}$
1	0,005237	132,36	13.939	2,00	140,35	172,24
2	0,004235	163,66	10.840	2,30	236,73	340,05
3	0,007503	92,38	9.028	4,00	132,34	149,4
4	0,006378	108,68	12.056	1,00	155,58	188,33
5	0,01101	62,96	6.705	1,00	74,21	93,39
6	0,009506	72,92	11.406	2,30	175,49	195,1
7	0,007878	87,98	10.403	1,30	131,01	145,45
8	0,003074	225,47	13.863	1,30	177,01	268,88
9	0,005171	134,04	8.718	3,00	148,68	188,19
10	0,005917	117,14	9.585	2,00	133,19	160,67
11	0,007655	90,55	14.581	2,00	189,63	215,66
12	0,00887	78,15	14.482	1,00	140,87	154,78
13	0,005939	116,72	10.575	2,30	169,35	211,16
14	0,006965	99,52	12.736	3,30	213,08	252,16
15	0,005239	132,29	10.694	2,00	145,91	178,38
16	0,00631	109,84	11.015	1,00	107,68	128,55
18	0,006287	110,26	6.907	3,30	103,21	121,72
19	0,007111	97,47	10.181	2,30	118,71	137
20	0,005432	127,61	11.967	2,00	148,52	187,75
21	0,006124	113,18	17.141	0,40	113,24	132,67
22	0,005997	115,59	19.564	1,00	161,72	203,73
23	0,006628	104,58	9.840	2,00	138,82	161,12
24	0,008756	79,17	9.545	3,00	175,16	191,28
25	0,008218	84,34	7.209	2,00	112,73	124,89
26	0,005656	122,54	12.145	3,30	167,27	201,18
27	0,004041	171,54	13.092	1,30	174,15	243,44
28	0,00454	152,68	11.835	1,00	195,45	274,61
30	0,005182	133,76	7.901	1,30	105,84	166,38
31	0,007053	98,27	7.556	2,30	126,07	148,02
32	0,004331	160,05	11.048	2,34	114,27	156,8
33	0,009741	71,16	10.278	1,30	121,61	133,42
34	0,01108	62,56	10.362	1,00	114,71	123,89
35	0,006565	105,58	14.538	1,00	152,61	173,41
36	0,007217	96,04	6.593	2,30	80,16	101,58
38	0,005772	120,08	10.228	3,00	143,94	176,91
39	0,004451	155,72	9.997	2,00	123,18	170,16
40	0,006239	111,1	8.092	2,00	135,64	166,54
41	0,005499	126,05	15.242	1,30	162,37	209,07
42	0,006148	112,74	12.136	1,30	186,95	230,51
43	0,007054	98,27	15.536	0,40	151,8	175,9
44	0,009339	74,22	10.494	1,30	162,28	175,19
46	0,005248	132,09	9.356	1,30	168,93	226,37
47	0,010378	66,79	11.427	1,30	103,75	113,85

Tabela 35- Medidas farmacocinéticas dos indivíduos do medicamento acetato ciproterona (T).

Voluntários	K _{el}	T _{1/2}	C _{max}	T _{max}	ASC _(0-t)	ASC _(0-inf)
1	0,008853	78,29	11.170	1,30	144,39	160,7
2	0,003613	191,82	10.220	3,00	228,66	338,64
3	0,009297	74,55	9.768	2,30	123,34	142,15
4	0,004653	148,98	11.096	2,00	165,85	221,56
5	0,01471	47,12	6.582	3,30	87,73	94,63
6	0,053517	12,95	12.046	1,30	141,37	155,17
7	0,008707	79,61	8.362	3,30	124,57	137,82
8	0,005024	137,98	6.211	4,01	171,96	222,9
9	0,005449	127,21	12.936	2,00	152,96	189,39
10	0,005391	128,58	9.512	2,00	115,49	140,22
11	0,006139	112,91	12.517	2,00	153,32	180,47
12	0,008625	80,36	8.391	2,00	143,13	157,44
13	0,003948	175,59	10.356	3,00	157,39	220,29
14	0,006821	101,62	17.314	1,01	250,75	293,58
15	0,004434	156,31	9.655	2,00	137,23	175,88
16	0,004545	152,5	7.535	2,30	96,01	126,37
18	0,007908	87,65	8.316	1,30	82,32	102,77
19	0,006773	102,34	9.954	3,00	134,02	158,68
20	0,003421	202,61	12.271	1,30	135,09	200,1
21	0,005163	134,24	10.949	1,30	134,5	177,45
22	0,005744	120,68	7.797	1,30	103,04	123,95
23	0,006268	110,59	10.120	2,00	148,2	177,06
24	0,009101	76,16	7.635	5,00	185,54	202,77
25	0,006386	108,54	7.787	2,00	121,54	139,88
26	0,006331	109,49	10.676	1,30	155,73	184,96
27	0,005204	133,21	14.924	1,30	223,42	288,34
28	0,029321	23,64	10.393	1,30	50,22	78,26
30	0,004547	152,44	10.548	1,30	141,69	200,65
31	0,006876	100,81	8.158	1,30	103,54	121,2
32	0,006602	104,99	7.399	3,30	126,58	150,39
33	0,006156	112,59	11.187	1,30	110,03	129,52
34	0,005837	118,76	8.215	1,30	109,94	130,14
35	0,008251	84,01	13.518	1,30	165,01	178,28
36	0,006256	110,8	8.270	3,00	107,96	127,28
38	0,007843	88,38	10.297	1,30	125,78	141,96
39	0,00385	180,05	9.531	1,30	126,51	183,22
40	0,00621	111,61	10.323	2,00	123,56	153,96
41	0,005841	118,67	9.627	3,30	145,43	209,78
42	0,005831	118,87	8.050	4,00	166,01	206,81
43	0,008892	77,95	12.777	1,30	148,76	163,89
44	0,010701	64,78	8.874	1,00	174,67	184,09
46	0,00616	112,53	12.904	2,00	189,56	237,37
47	0,009294	74,58	9.100	1,3	102,15	117,35

**Curvas de Concentração Plasmática vs Tempo
das Voluntárias, para o Acetato de Ciproterona
Referência e Teste**

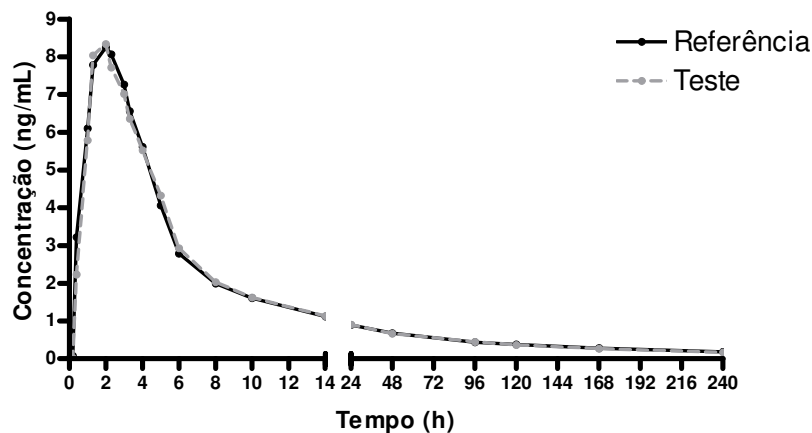


Figura 45- Curvas de concentração plasmática média do acetato de ciproterona referência e teste.

Tabela 55- Média dos parâmetros farmacocinéticos das voluntárias.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
$K_{el} \text{ (h r}^{-1}\text{)}$	0,007	0,008
$T_{1/2} \text{ (h)}$	112,281	110,403
$C_{max} \text{ (}\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\text{)}$	11,182	10,076
$T_{max} \text{ (h)}$	1,833	2,052
$ASC_{0-t} \text{ (}\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}\text{)}$	144,981	140,348
$ASC_{0-\infty} \text{ (}\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}\text{)}$	178,367	172,728

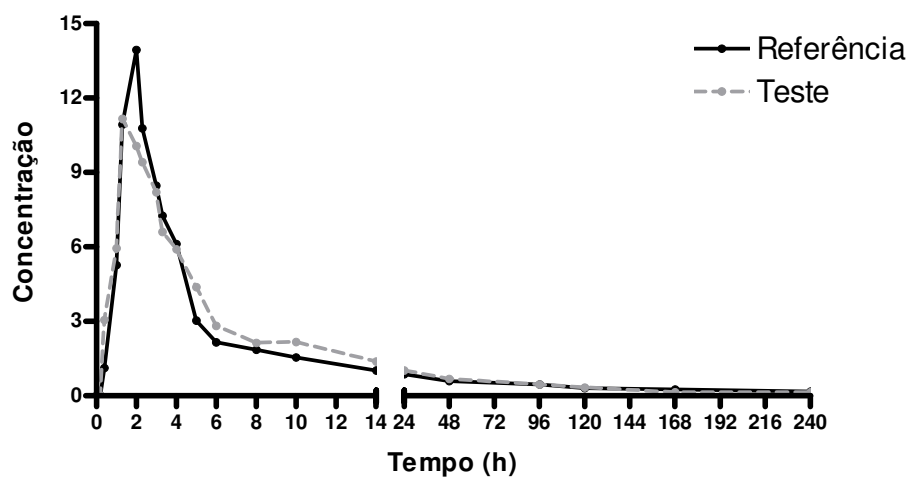
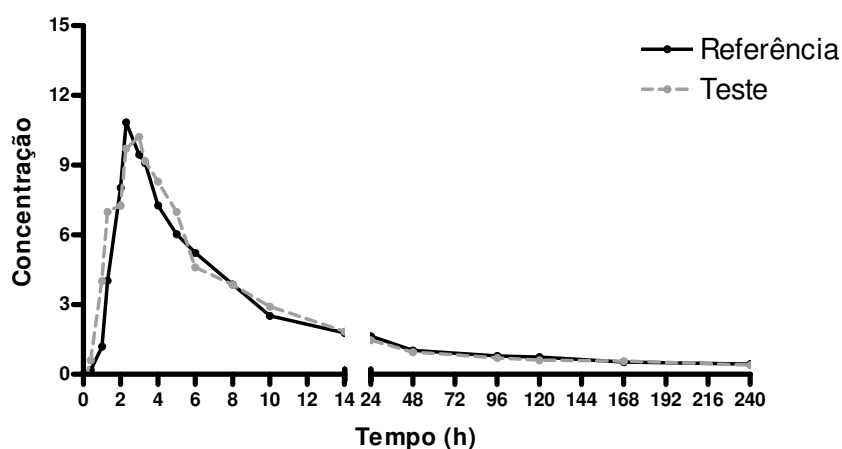


Figura 46- Curva de concentração do voluntária 1, sequência RT.

Tabela 56- Medidas farmacocinéticas do voluntária 1 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0052	0,0088
T1/2 (h)	132,36	78,29
Cmax (µg*mL-1)	13,939	11,170
Tmax (h)	2,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	140,35	144,39
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	172,24	160,70

**Figura 47-** Curva de concentração do voluntária 2, sequência TR.**Tabela 57-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 2 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0042	0,0036
T1/2 (h)	163,66	191,82
Cmax (µg*mL-1)	10,84	10,22
Tmax (h)	2,3	3,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	236,73	228,66
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	340,05	338,64

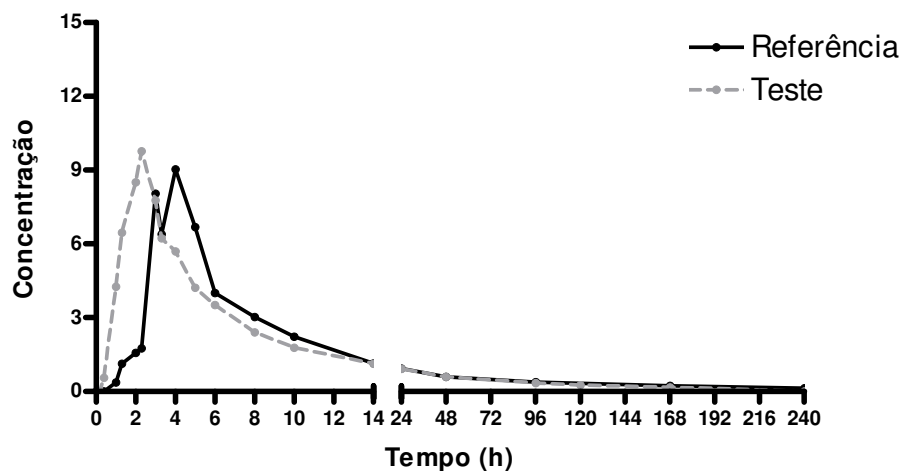


Figura 48- Curva de concentração do voluntária 3, sequência RT.

Tabela 58- Medidas farmacocinéticas do voluntária 3 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0075	0,0093
T1/2 (h)	92,38	74,55
Cmax (µg*mL-1)	9,03	9,76
Tmax (h)	4,0	2,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	132,34	123,34
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	149,40	142,15

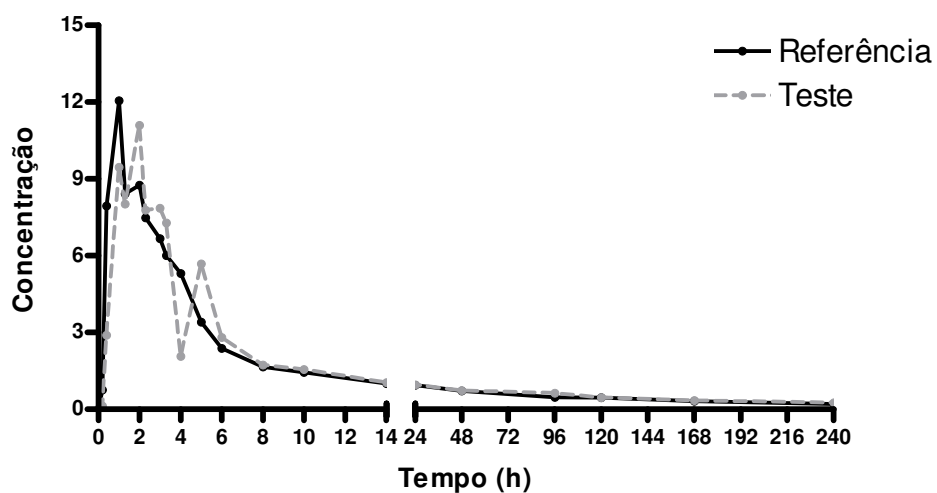
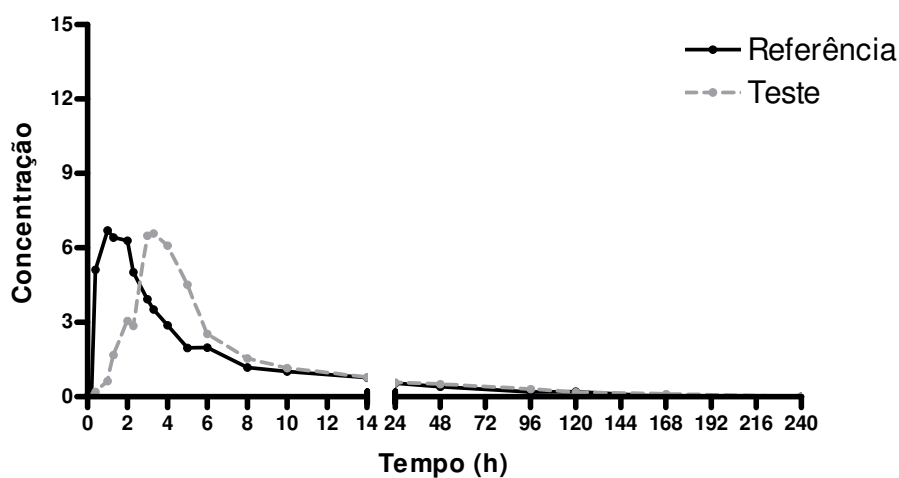


Figura 49- Curva de concentração do voluntária 4, sequência TR.

Tabela 59- Medidas farmacocinéticas do voluntária 4 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0063	0,0046
T1/2 (h)	108,68	148,98
Cmax (µg*mL-1)	12,05	11,09
Tmax (h)	1,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	155,58	165,85
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	188,33	221,56

**Figura 50-** Curva de concentração do voluntária 5, sequência RT.**Tabela 60-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 5 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0110	0,0147
T1/2 (h)	62,96	47,12
Cmax (µg*mL-1)	6,70	6,58
Tmax (h)	1,0	3,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	74,21	87,73
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	93,39	94,63

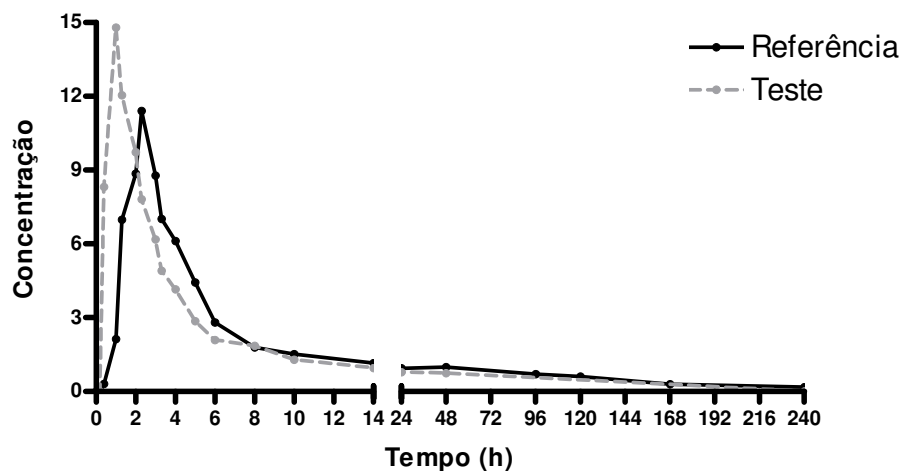


Figura 51- Curva de concentração do voluntária 6, sequência TR.

Tabela 61- Medidas farmacocinéticas do voluntária 6 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0095	0,0535
T1/2 (h)	72,92	12,95
Cmax (µg*mL-1)	11,41	12,04
Tmax (h)	2,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	175,49	141,37
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	195,10	155,17

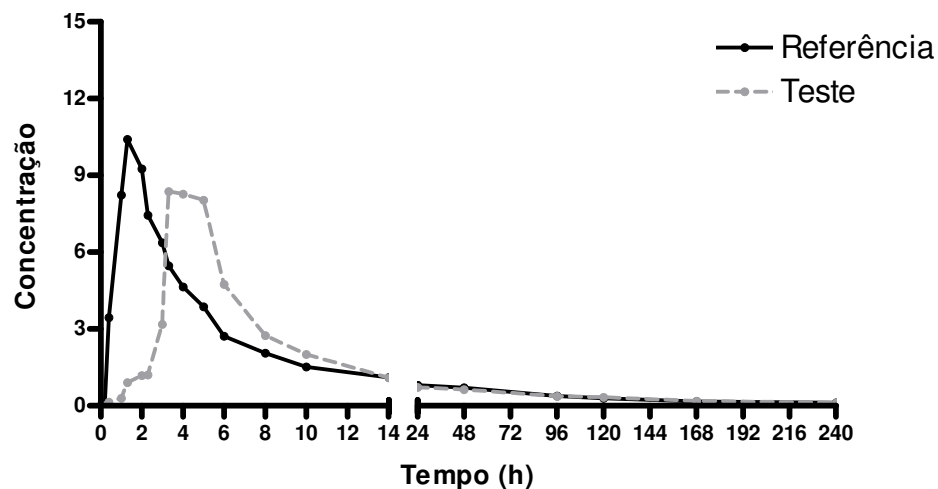
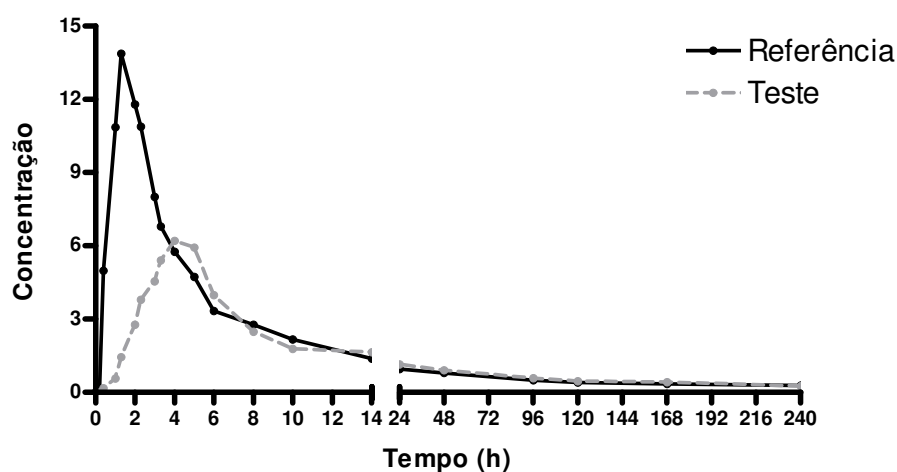


Figura 52- Curva de concentração do voluntária 7, sequência RT.

Tabela 62- Medidas farmacocinéticas do voluntária 7 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0078	0,0087
T1/2 (h)	87,98	79,61
Cmax (µg*mL-1)	10,40	8,36
Tmax (h)	1,3	3,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	131,01	124,57
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	145,45	137,82

**Figura 53-** Curva de concentração do voluntária 8, sequência RT.**Tabela 63-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 8 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0030	0,0050
T1/2 (h)	225,47	137,98
Cmax (µg*mL-1)	13,86	6,21
Tmax (h)	1,3	4,01
ASC0-t (µg*h*mL-1)	177,01	171,96
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	268,88	222,90

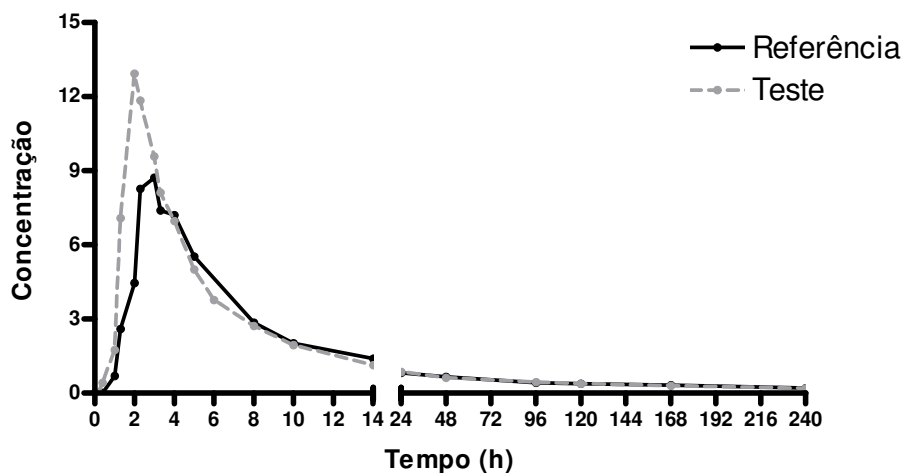


Figura 54- Curva de concentração do voluntária 9, sequência TR.

Tabela 64- Medidas farmacocinéticas do voluntária 9 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0051	0,0054
T1/2 (h)	134,04	127,21
Cmax (µg*mL-1)	8,71	12,93
Tmax (h)	3,0	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	148,68	152,96
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	188,19	189,39

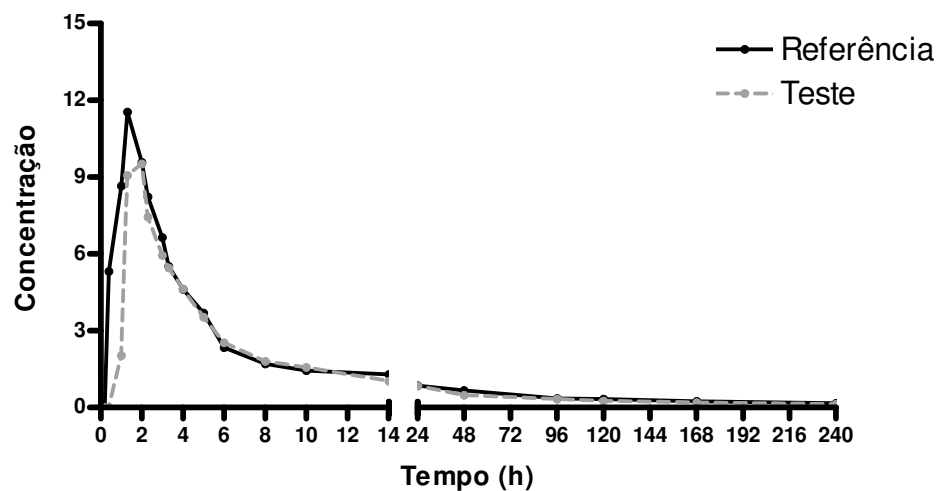
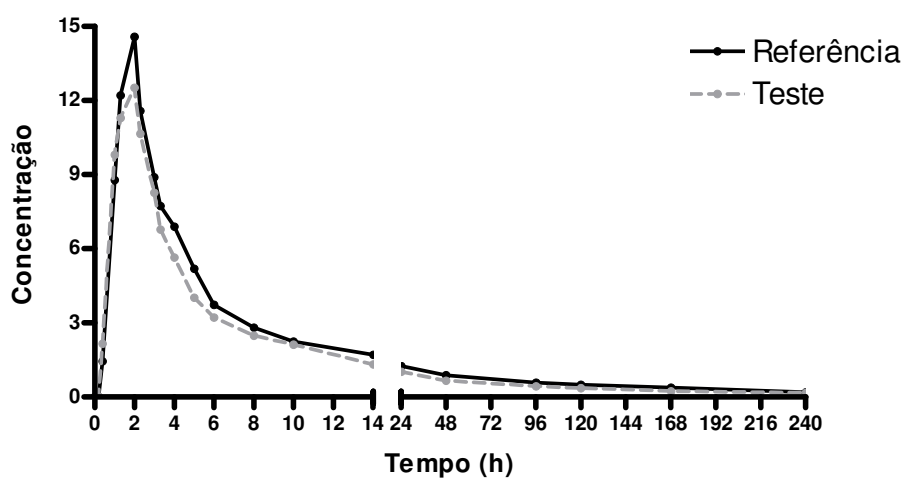


Figura 55- Curva de concentração do voluntária 10, sequência TR.

Tabela 65- Medidas farmacocinéticas do voluntária 10 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0059	0,0054
T1/2 (h)	117,14	128,58
Cmax (µg*mL-1)	9,58	9,512
Tmax (h)	2,0	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	133,19	115,49
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	160,67	140,22

**Figura 56-** Curva de concentração do voluntária 11, sequência TR.**Tabela 66-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 11 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0076	0,0061
T1/2 (h)	90,55	112,91
Cmax (µg*mL-1)	14,58	12,517
Tmax (h)	2,0	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	189,63	153,32
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	215,66	180,47

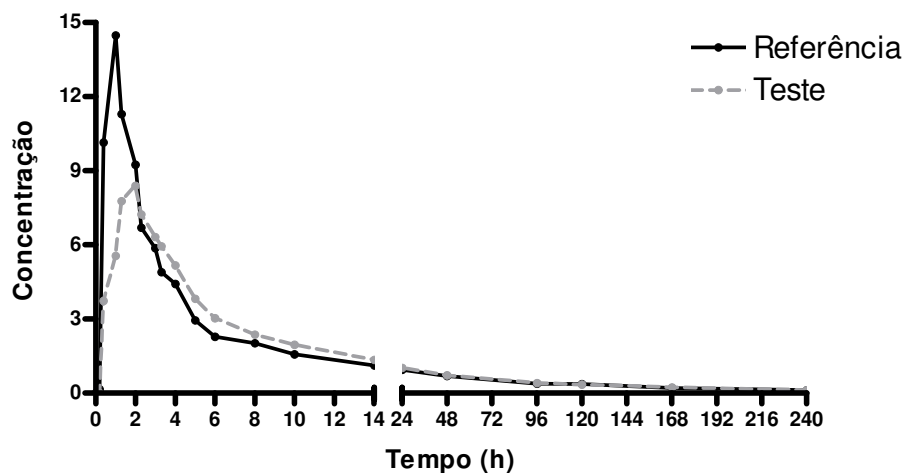


Figura 57: Curva de concentração do voluntária 12, sequência RT.

Tabela 67- Medidas farmacocinéticas do voluntária 12 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0088	0,0086
T1/2 (h)	78,15	80,36
Cmax (µg*mL-1)	14,48	8,39
Tmax (h)	1,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	140,87	143,13
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	154,78	157,44

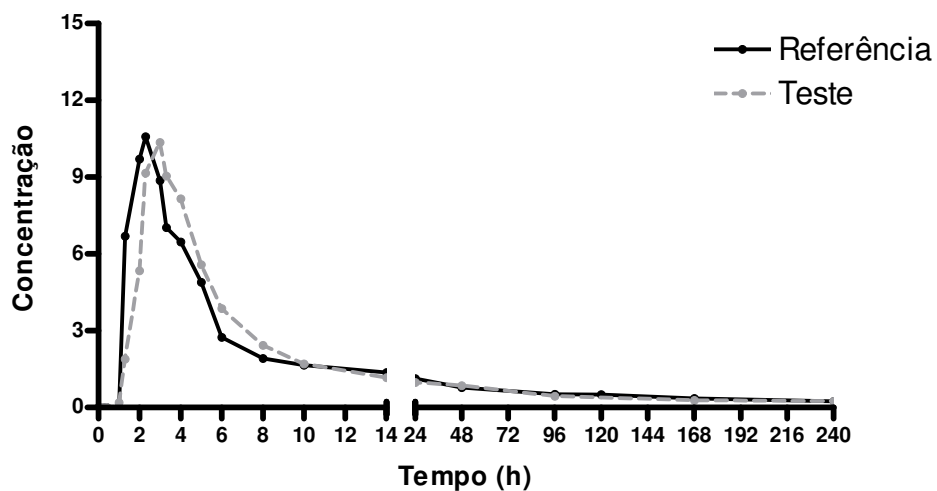
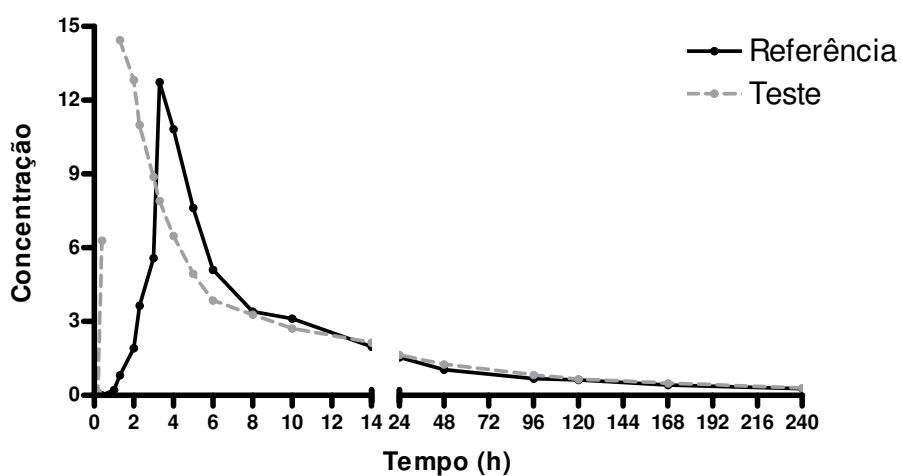


Figura 58- Curva de concentração do voluntária 13, sequência TR.

Tabela 68- Medidas farmacocinéticas do voluntária 13 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0059	0,0039
T1/2 (h)	116,72	175,59
Cmax (µg*mL-1)	10,58	10,35
Tmax (h)	2,3	3,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	169,35	157,39
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	211,16	220,29

**Figura 59-** Curva de concentração do voluntária 14, sequência RT.**Tabela 69-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 14 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0069	0,0068
T1/2 (h)	99,52	101,62
Cmax (µg*mL-1)	12,73	17,31
Tmax (h)	3,3	1,01
ASC0-t (µg*h*mL-1)	213,08	250,75
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	252,16	293,58

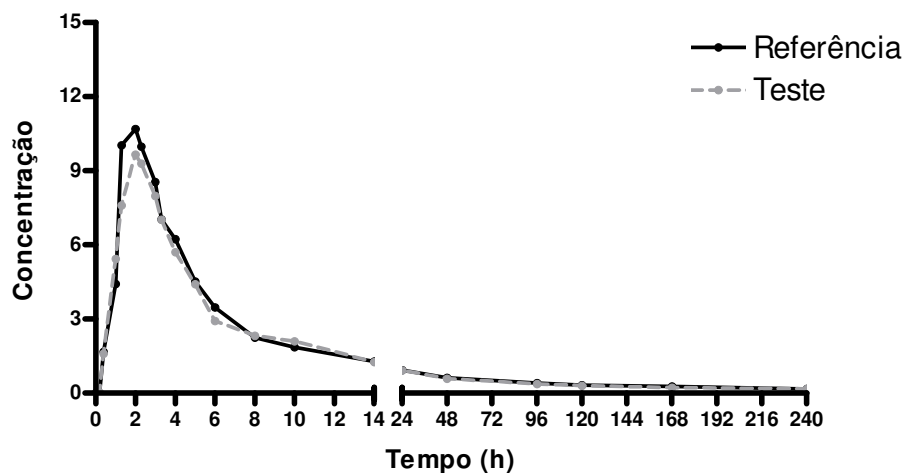


Figura 60- Curva de concentração do voluntária 15, sequência TR.

Tabela 70- Medidas farmacocinéticas do voluntária 15 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0052	0,0044
T1/2 (h)	132,29	156,31
Cmax (µg*mL-1)	10,69	9,65
Tmax (h)	2,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	145,91	137,23
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	178,38	175,88

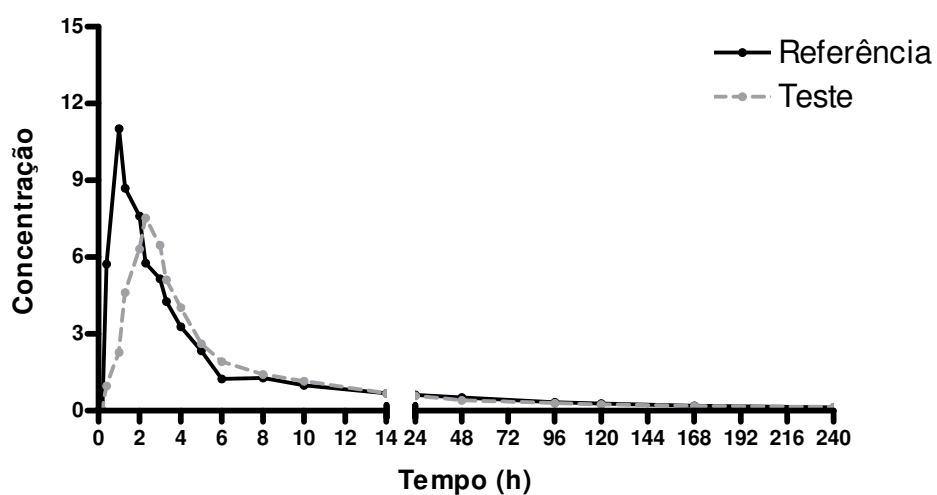
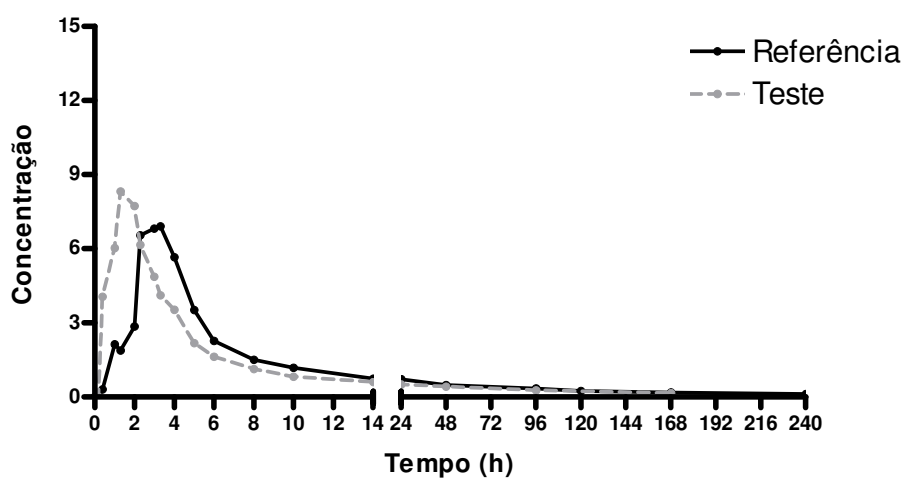


Figura 61- Curva de concentração do voluntária 16, sequência TR.

Tabela 71- Medidas farmacocinéticas do voluntária 16 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0063	0,0045
T1/2 (h)	109,84	152,50
Cmax (µg*mL-1)	11,01	7,53
Tmax (h)	1,0	2,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	107,68	96,01
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	128,55	126,37

**Figura 62-** Curva de concentração do voluntária 18, sequência TR.**Tabela 72-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 18 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0063	0,0079
T1/2 (h)	110,26	87,65
Cmax (µg*mL-1)	6,91	8,32
Tmax (h)	3,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	103,21	82,32
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	121,72	102,77

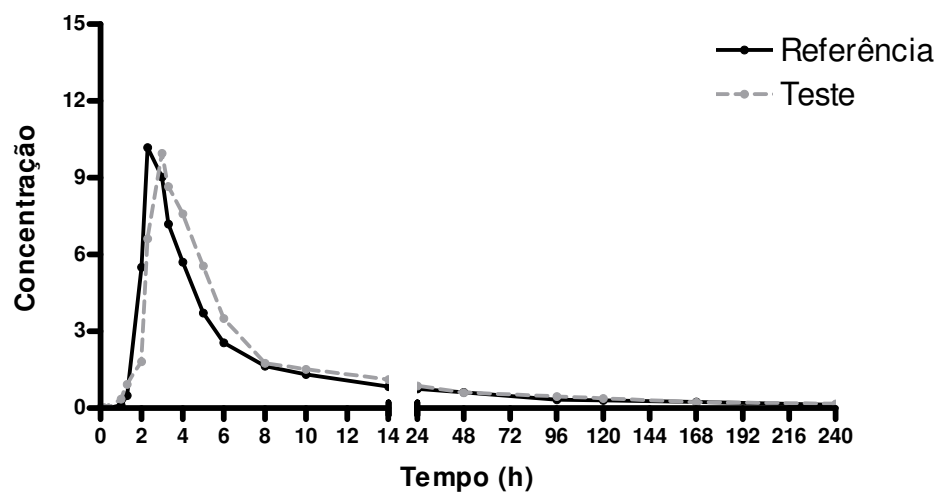


Figura 63- Curva de concentração do voluntária 19, sequência RT.

Tabela 73- Medidas farmacocinéticas do voluntária 19 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0071	0,0067
T1/2 (h)	97,47	102,34
Cmax (µg*mL-1)	10,18	9,95
Tmax (h)	2,3	3,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	118,71	134,02
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	137,00	158,68

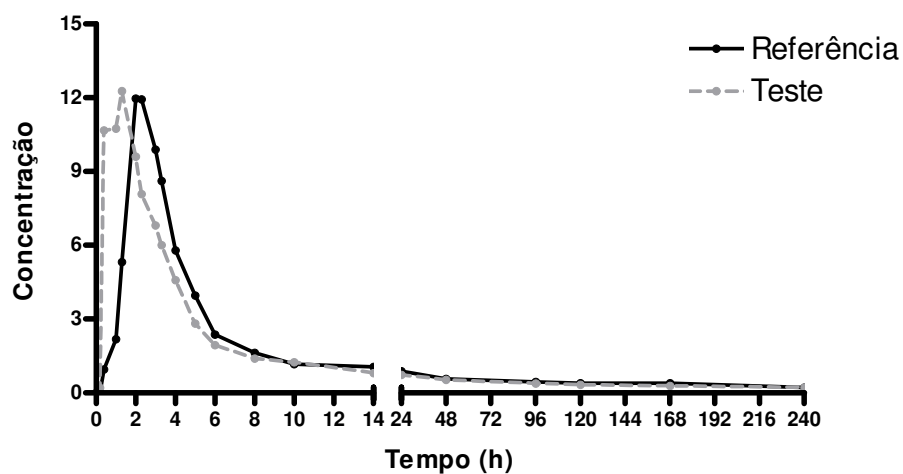
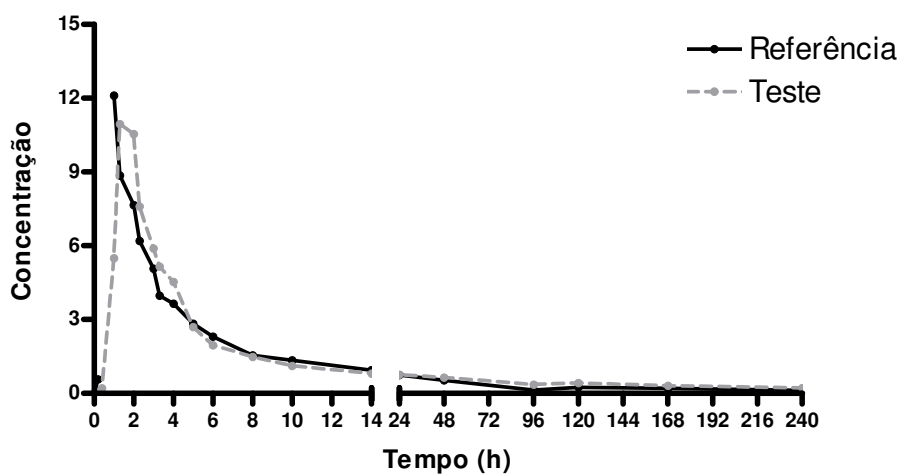


Figura 64- Curva de concentração do voluntária 20, sequência TR.

Tabela 74- Medidas farmacocinéticas do voluntária 20 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0054	0,0034
T1/2 (h)	127,61	202,61
Cmax (µg*mL-1)	11,97	12,27
Tmax (h)	2,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	148,52	135,09
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	187,52	200,10

**Figura 65-** Curva de concentração do voluntária 21, sequência TR.**Tabela 75-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 21 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0061	0,0052
T1/2 (h)	113,18	134,24
Cmax (µg*mL-1)	17,14	10,95
Tmax (h)	0,4	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	113,24	134,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	132,67	177,45

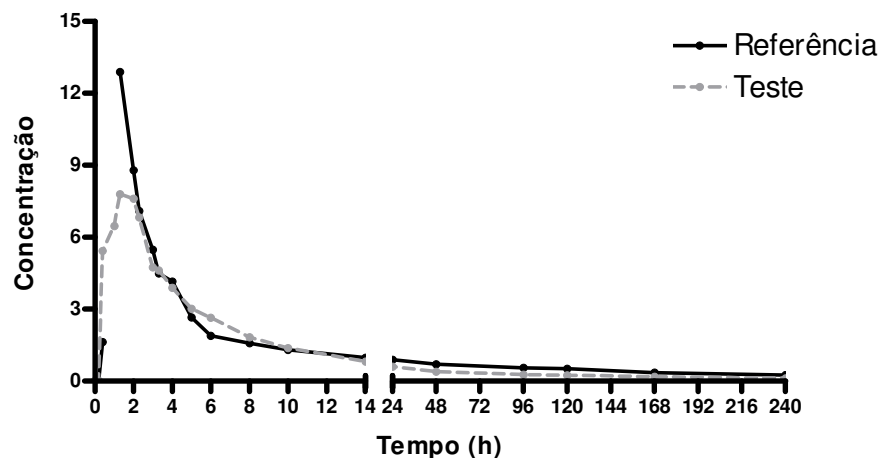


Figura 66- Curva de concentração do voluntária 22, sequência TR.

Tabela 76- Medidas farmacocinéticas do voluntária 22 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0059	0,0057
T1/2 (h)	115,59	120,68
Cmax (µg*mL-1)	19,56	7,79
Tmax (h)	1,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	161,72	103,04
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	203,73	123,95

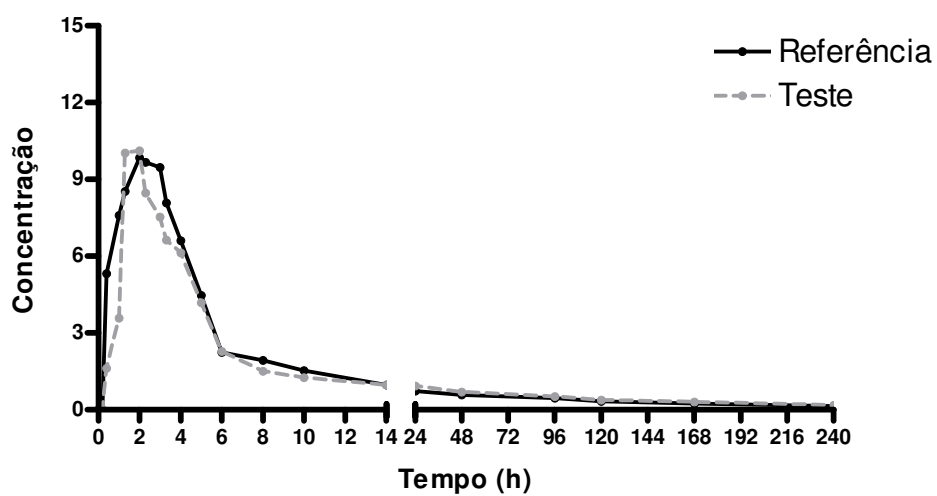
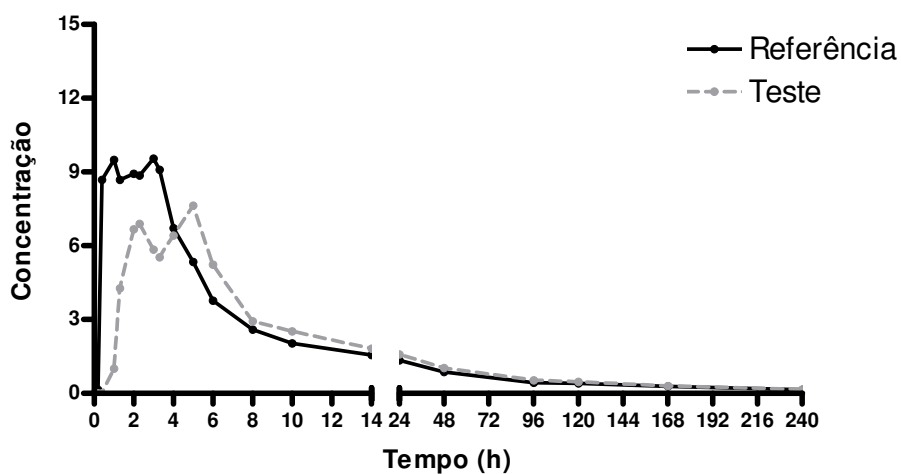


Figura 67- Curva de concentração do voluntária 23, sequência RT.

Tabela 77- Medidas farmacocinéticas do voluntária 23 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0066	0,0062
T1/2 (h)	104,58	110,59
Cmax (µg*mL-1)	9,84	10,12
Tmax (h)	2,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	138,82	148,20
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	161,12	177,06

**Figura 68-** Curva de concentração do voluntária 24, sequência RT.**Tabela 78-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 24 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0087	0,0091
T1/2 (h)	79,17	76,16
Cmax (µg*mL-1)	9,54	7,63
Tmax (h)	3,0	5,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	175,16	185,54
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	191,28	202,77

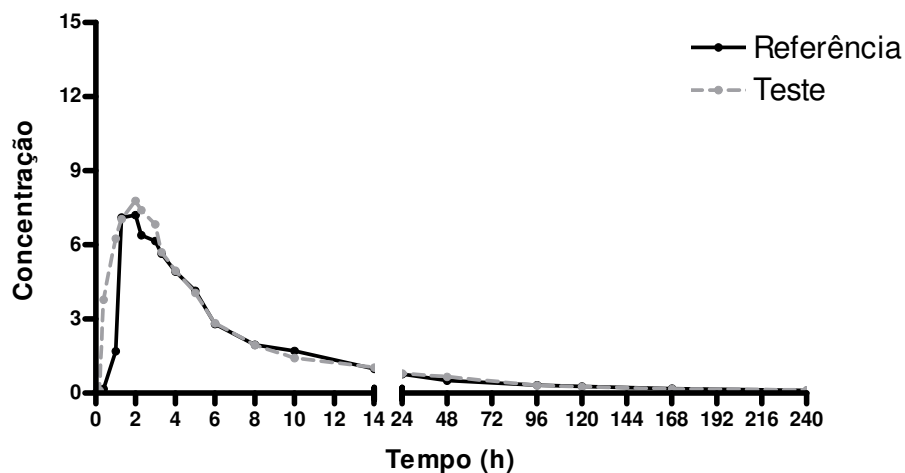


Figura 69- Curva de concentração do voluntária 25, sequência TR.

Tabela 79- Medidas farmacocinéticas do voluntária 25 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0082	0,0063
T1/2 (h)	84,34	108,54
Cmax (µg*mL-1)	7,21	7,78
Tmax (h)	2,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	112,73	121,54
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	124,89	139,88

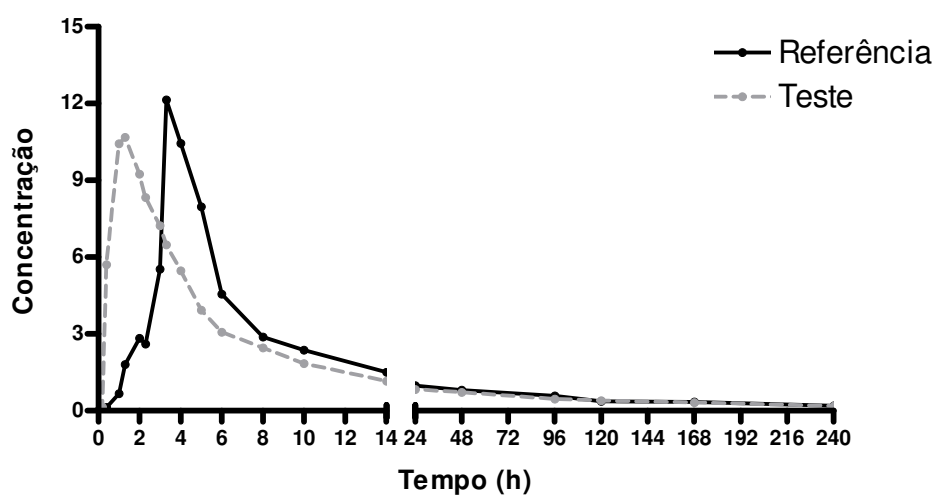
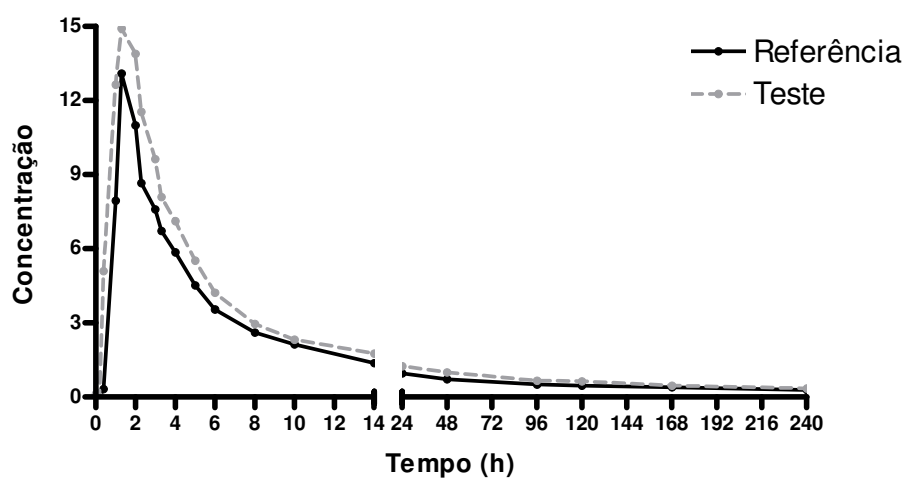


Figura 70- Curva de concentração do voluntária 26, sequência RT.

Tabela 80- Medidas farmacocinéticas do voluntária 26 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0056	0,0063
T1/2 (h)	122,54	109,49
Cmax (µg*mL-1)	12,14	10,67
Tmax (h)	3,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	167,27	155,73
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	201,18	184,96

**Figura 71-** Curva de concentração do voluntária 27, sequência RT.**Tabela 81-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 27 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0040	0,0052
T1/2 (h)	171,54	133,21
Cmax (µg*mL-1)	13,09	14,92
Tmax (h)	1,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	174,15	223,42
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	243,44	288,34

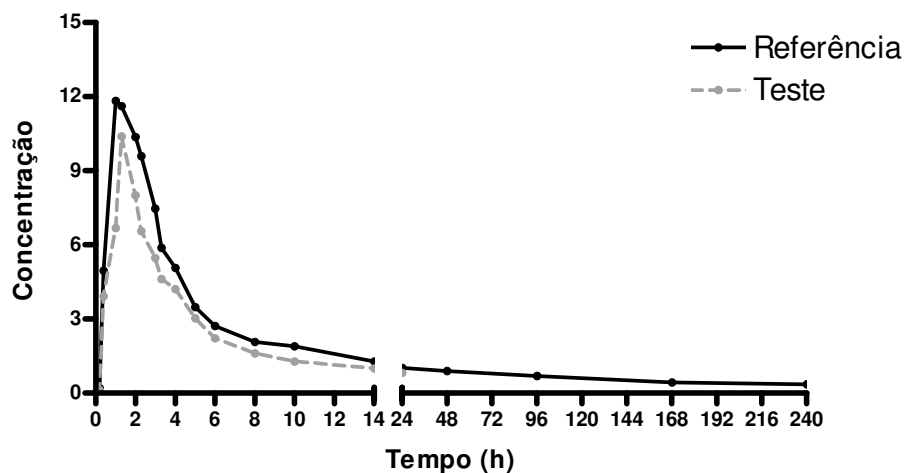


Figura 72- Curva de concentração do voluntária 28, sequência RT.

Tabela 82- Medidas farmacocinéticas do voluntária 28 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h ⁻¹)	0,0045	0,0293
T _{1/2} (h)	152,68	23,64
C _{max} (µg*mL ⁻¹)	11,83	10,39
T _{max} (h)	1,0	1,3
ASC _{0-t} (µg*h*mL ⁻¹)	195,45	50,22
ASC _{0-∞} (µg*h*mL ⁻¹)	274,61	78,26

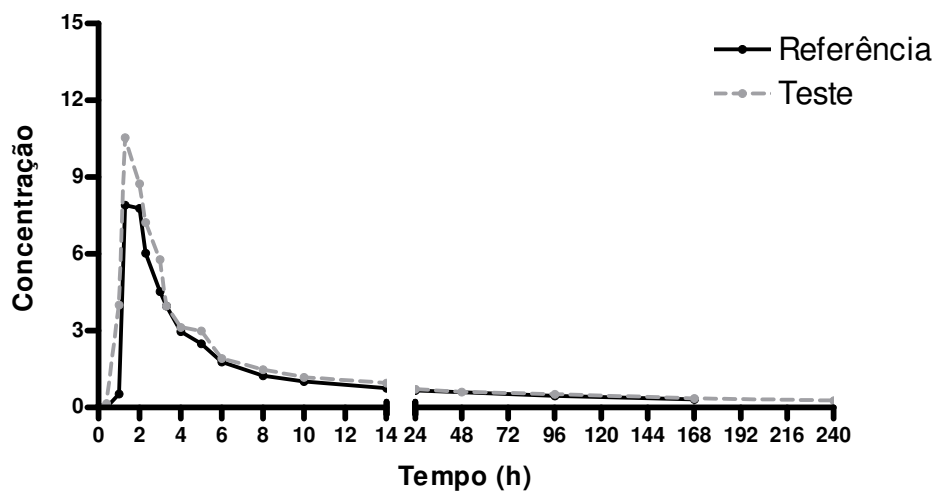


Figura 73- Curva de concentração do voluntária 30, sequência RT.

Tabela 83- Medidas farmacocinéticas do voluntária 30 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0052	0,0045
T1/2 (h)	133,76	152,44
Cmax (µg*mL-1)	7,90	10,55
Tmax (h)	1,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	105,84	141,69
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	166,38	200,65

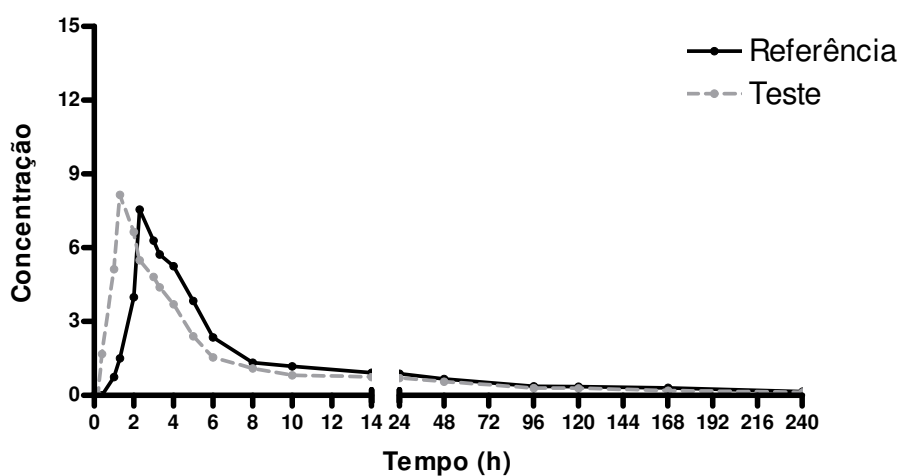


Figura 74- Curva de concentração do voluntária 31, sequência TR.

Tabela 84- Medidas farmacocinéticas do voluntária 31 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0070	0,0068
T1/2 (h)	98,27	100,81
Cmax (µg*mL-1)	7,55	8,16
Tmax (h)	2,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	126,07	103,54
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	148,07	121,20

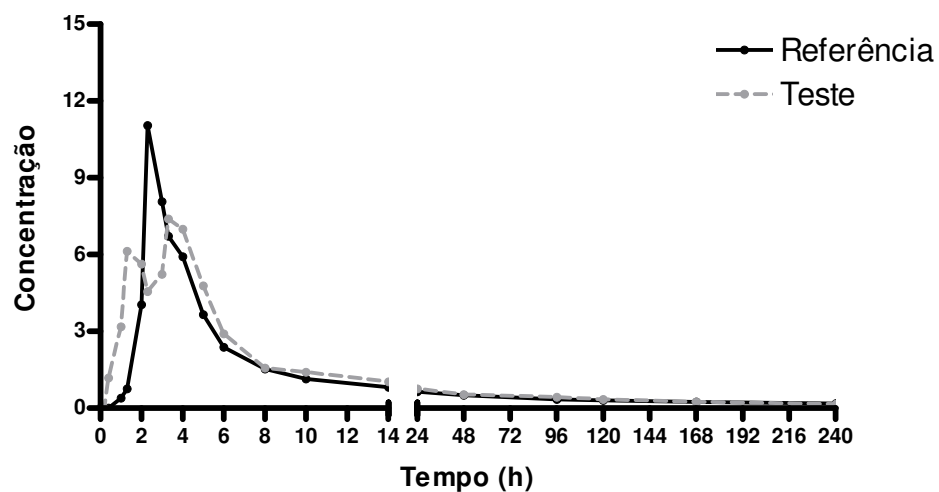


Figura 75- Curva de concentração do voluntária 32, sequência RT.

Tabela 85- Medidas farmacocinéticas do voluntária 32 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0043	0,0066
T1/2 (h)	160,05	104,99
Cmax (µg*mL-1)	11,05	7,39
Tmax (h)	2,3	3,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	114,27	126,58
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	156,80	150,39

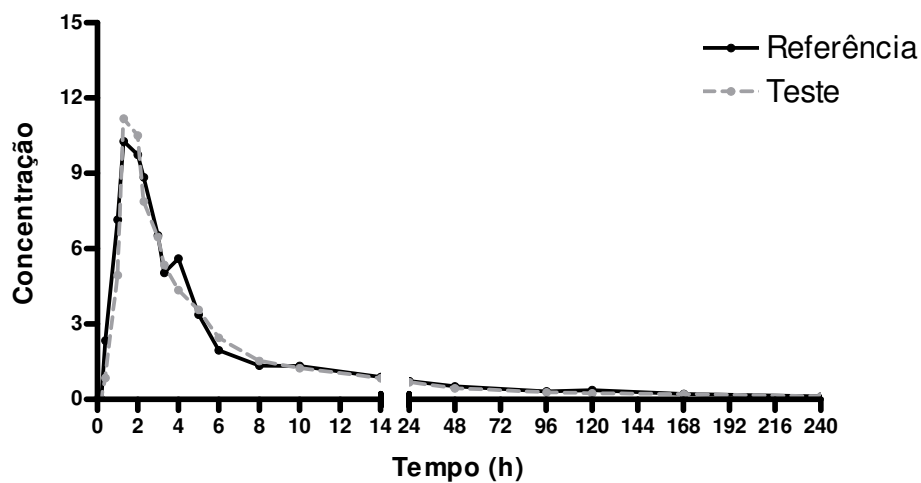
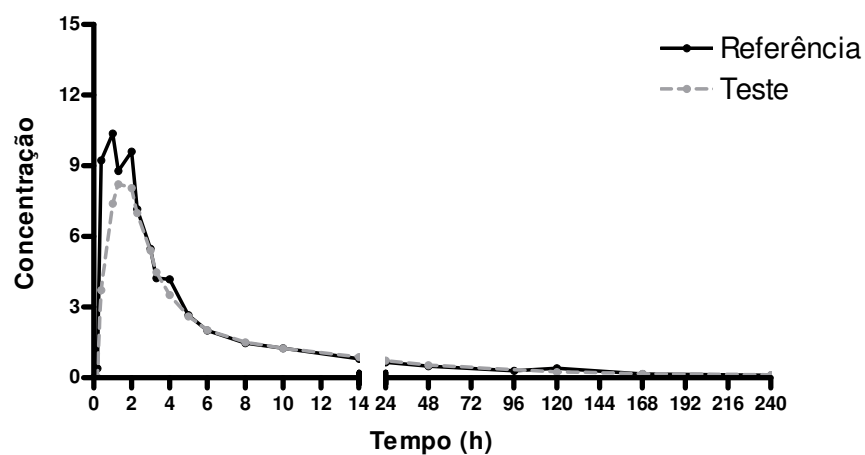


Figura 76- Curva de concentração do voluntária 33, sequência TR.

Tabela 86- Medidas farmacocinéticas do voluntária 33 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0097	0,0062
T1/2 (h)	71,16	112,59
Cmax (µg*mL-1)	10,28	11,18
Tmax (h)	1,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	121,61	110,03
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	133,42	129,52

**Figura 77-** Curva de concentração do voluntária 34, sequência RT.**Tabela 87-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 34 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0110	0,0058
T1/2 (h)	62,56	118,76
Cmax (µg*mL-1)	10,36	8,22
Tmax (h)	1,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	114,71	109,94
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	123,89	130,14

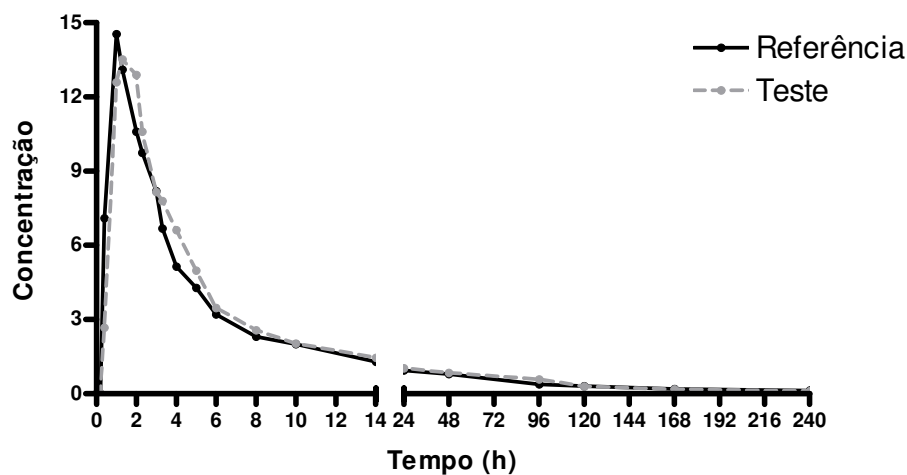


Figura 78- Curva de concentração do voluntária 35, sequência RT.

Tabela 71- Medidas farmacocinéticas do voluntária 35 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h ⁻¹)	0,0065	0,0082
T1/2 (h)	105,58	84,01
Cmax (µg*mL ⁻¹)	14,54	13,52
Tmax (h)	1,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL ⁻¹)	152,61	165,01
ASC0-∞ (µg*h*mL ⁻¹)	173,41	178,28

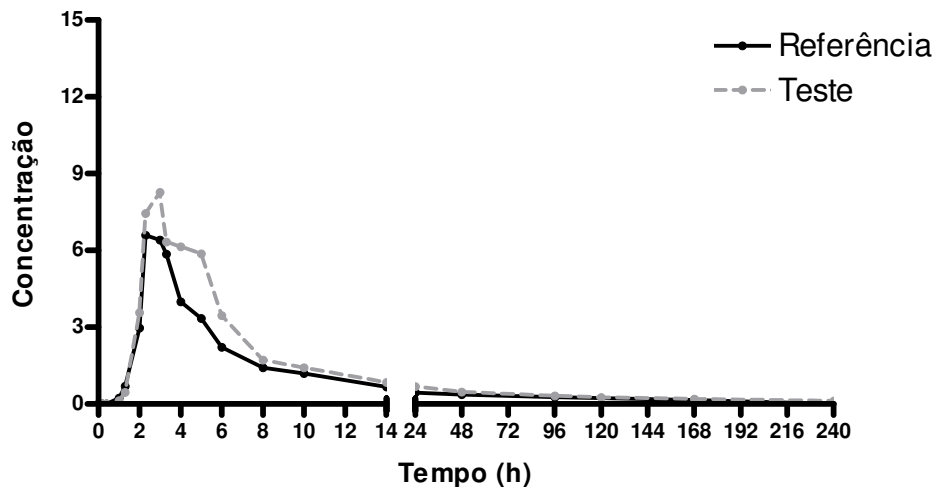
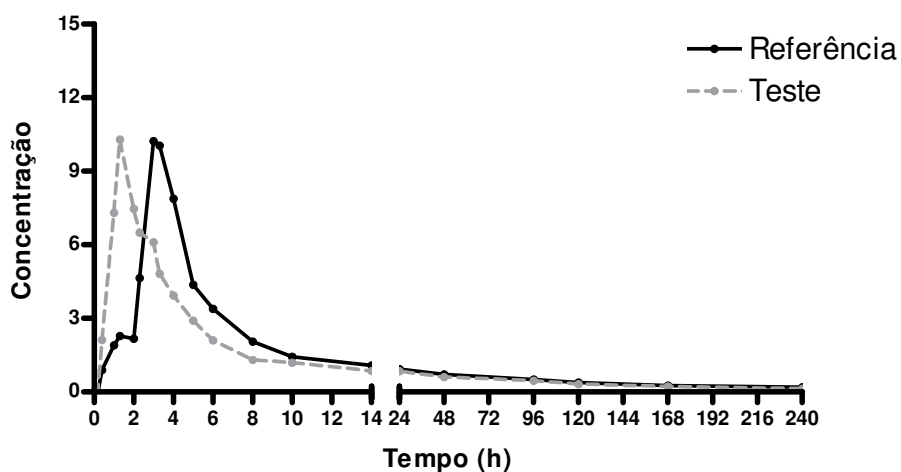


Figura 79- Curva de concentração do voluntária 36, sequência TR.

Tabela 88- Medidas farmacocinéticas do voluntária 36 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0072	0,0062
T1/2 (h)	96,04	110,80
Cmax (µg*mL-1)	6,59	8,27
Tmax (h)	2,3	3,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	80,16	107,96
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	101,58	127,28

**Figura 80-** Curva de concentração do voluntária 38, sequência TR.**Tabela 89-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 38 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0058	0,0078
T1/2 (h)	120,08	88,38
Cmax (µg*mL-1)	10,23	10,29
Tmax (h)	3,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	143,94	125,78
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	176,91	141,96

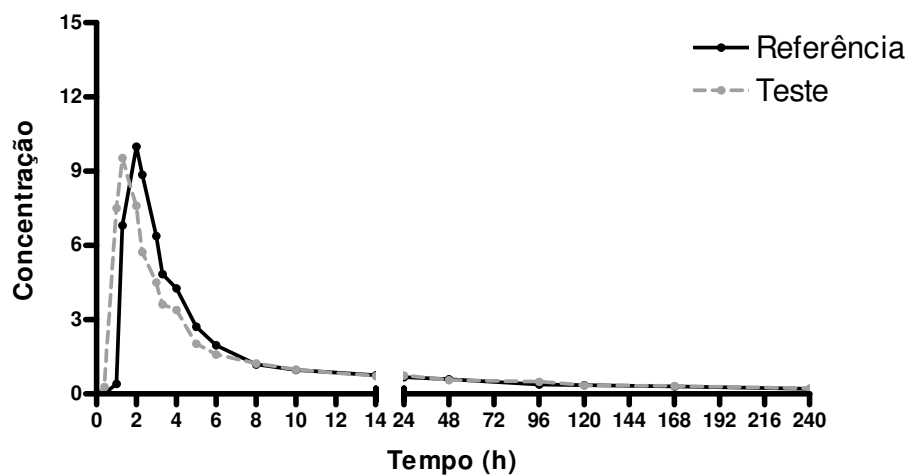


Figura 81- Curva de concentração do voluntária 39, sequência RT.

Tabela 90- Medidas farmacocinéticas do voluntária 39 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,0044	0,0038
T1/2 (h)	155,72	180,05
Cmax (µg*mL-1)	9,99	9,53
Tmax (h)	2,0	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	123,18	126,51
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	170,16	183,22

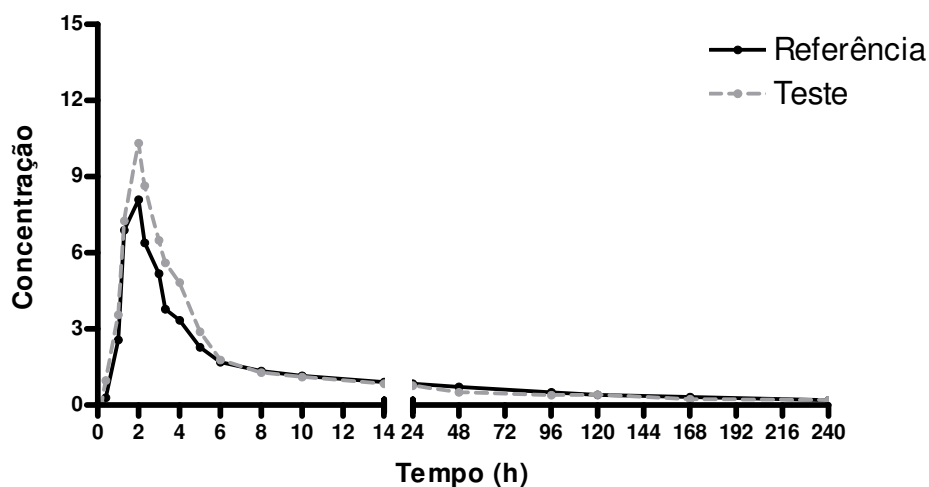
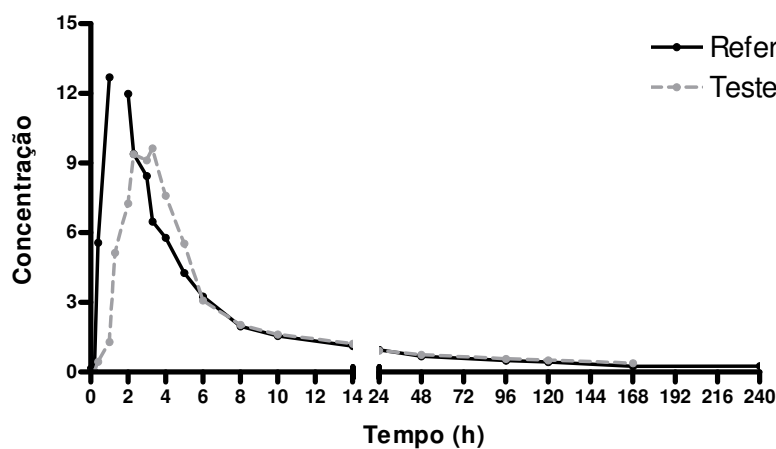


Figura 82- Curva de concentração do voluntária 40, sequência TR.

Tabela 91- Medidas farmacocinéticas do voluntária 40 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0062	0,0062
T1/2 (h)	111,10	111,61
Cmax (µg*mL-1)	8,09	10,32
Tmax (h)	2,0	2,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	135,64	123,56
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	166,54	153,96

**Figura 83-** Curva de concentração do voluntária 41, sequência RT.**Tabela 92-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 41 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0055	0,0058
T1/2 (h)	126,05	118,67
Cmax (µg*mL-1)	15,24	9,63
Tmax (h)	1,3	3,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	162,37	145,43
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	209,07	209,78

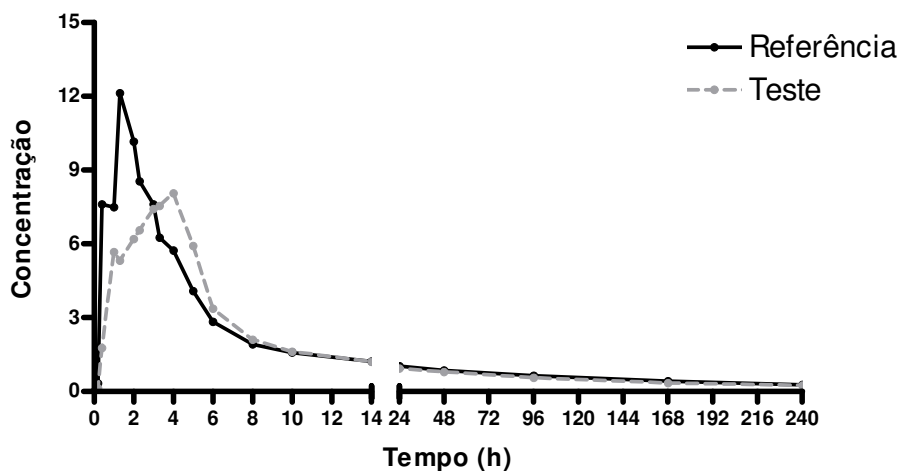


Figura 84- Curva de concentração do voluntária 42, sequência TR.

Tabela 93- Medidas farmacocinéticas do voluntária 42 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0061	0,0058
T1/2 (h)	112,74	118,87
Cmax (µg*mL-1)	12,13	8,05
Tmax (h)	1,3	4,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	186,95	166,01
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	230,51	206,81

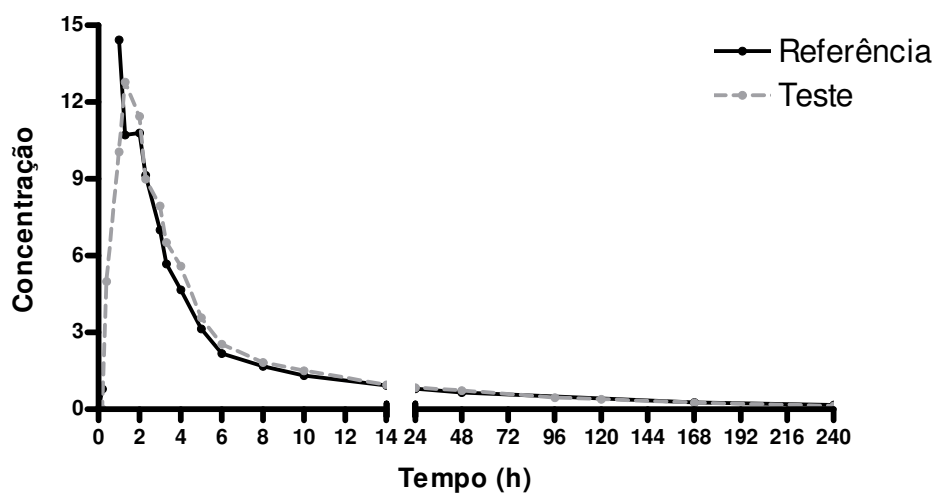
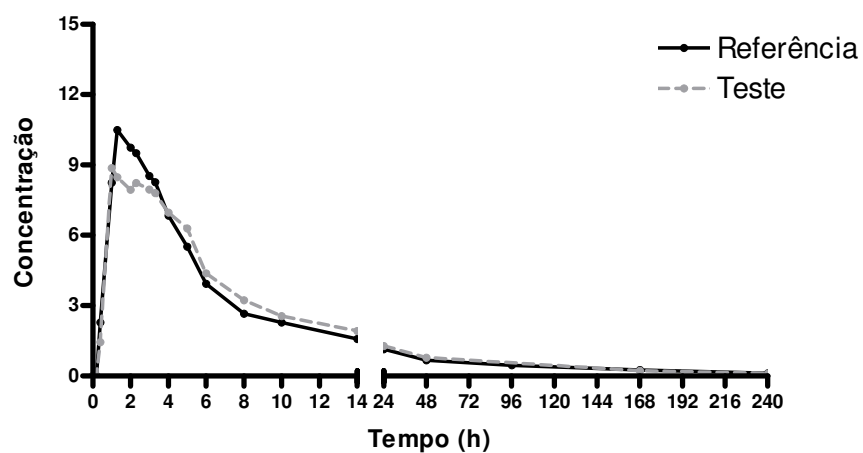


Figura 85- Curva de concentração do voluntária 43, sequência TR.

Tabela 94- Medidas farmacocinéticas do voluntário 43 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0071	0,0089
T1/2 (h)	98,27	77,95
Cmax (µg*mL-1)	15,54	12,77
Tmax (h)	0,4	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	151,80	148,76
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	175,90	163,89

**Figura 86-** Curva de concentração do voluntária 44, sequência RT.**Tabela 95-** Medidas farmacocinéticas do voluntária 44 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0093	0,0107
T1/2 (h)	74,22	64,78
Cmax (µg*mL-1)	10,49	8,87
Tmax (h)	1,3	1,0
ASC0-t (µg*h*mL-1)	162,28	174,67
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	175,19	184,09

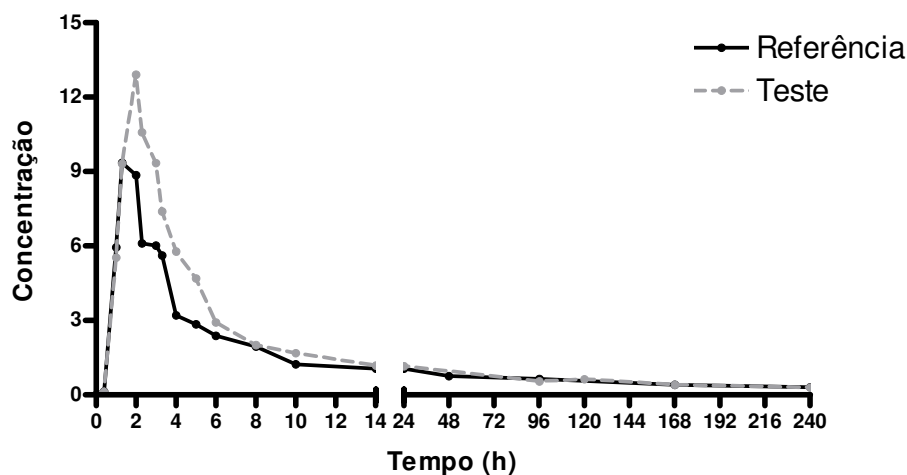


Figura 87- Curva de concentração do voluntária 46, sequência TR.

Tabela 96- Medidas farmacocinéticas do voluntária 46 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h ⁻¹)	0,0052	0,0062
T1/2 (h)	132,09	112,53
Cmax (µg*mL ⁻¹)	9,35	12,90
Tmax (h)	1,3	2,0
ASC0-t (µg*h*mL ⁻¹)	168,93	189,56
ASC0-∞ (µg*h*mL ⁻¹)	226,37	237,37

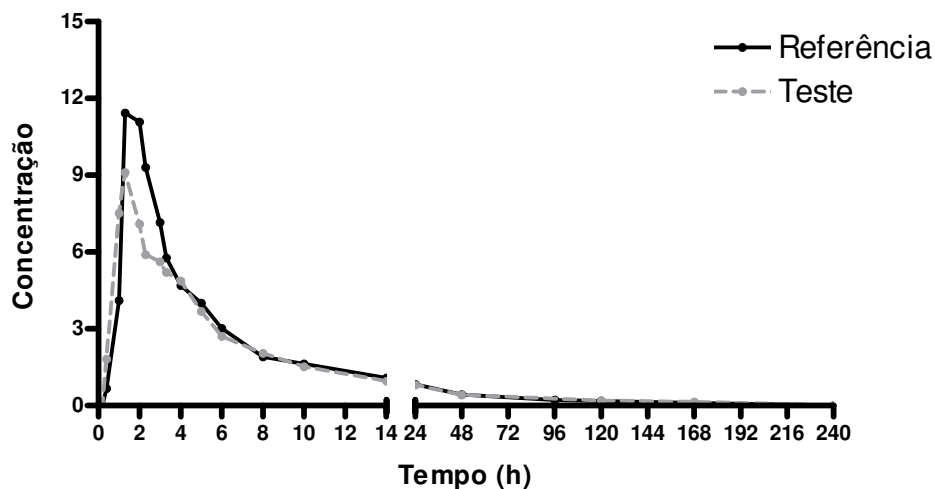


Figura 88- Curva de concentração do voluntária 47, sequência RT.

Tabela 97- Medidas farmacocinéticas do voluntária 47 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,0103	0,0093
T1/2 (h)	66,79	74,58
Cmax (µg*mL-1)	11,42	9,10
Tmax (h)	1,3	1,3
ASC0-t (µg*h*mL-1)	103,75	102,15
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	113,85	117,35

Etinilestradiol

Tabela 36- Concentrações plasmáticas (µg/mL) ao longo do tempo (horas) referentes ao etinilestradiol (R).

Vol	T _{0,0}	T _{0,15}	T _{0,3}	T _{0,45}	T _{1,0}	T _{1,15}	T _{1,3}	T _{1,45}	T _{2,0}	T _{2,2}	T _{2,4}	T _{3,0}	T _{4,0}	T _{6,0}	T _{8,0}	T _{12,0}	T _{16,0}	T _{24,0}	T _{36,0}	T _{48,0}	T _{72,0}	T _{120,0}
1	0,00	0,00	7	36,63	36,83	42,01	45,23	55,65	60,04	51,52	50,38	47,69	46,88	29,7	24,42	15,55	16,56	13,45	7,58	0	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0	8,51	32,71	23,59	34,47	44,43	44,71	51,83	55,49	57,53	56,25	62,5	51,54	37,02	28,53	21,05	15,52	11,03	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0	5,33	9,13	14,67	13,92	17,5	17,98	20,87	25,79	35,15	41,92	34,5	31,47	22,22	20,27	14,24	12,46	0	0,00	0,00
4	0,00	34,14	36,93	47,99	50,66	39,94	43,92	41,8	43,16	41,01	38,12	41,33	33,56	24,2	20,73	18,75	15,52	9,82	8,41	0	0,00	0,00
5	0,00	0,00	56,36	64,97	77,61	84,28	79,44	81,36	79,24	72,58	69,76	69,54	56,05	57,2	37,77	26,54	20,65	16,27		9,23	8,39	0,00
6	0,00	0,00	0	13,41	15,53	18,82	25,62	28,8	29,75	29,39	37,35	33,69	32,13	23,9	21,71	15,64	11,81	10,95	6,17	0	0,00	0,00
7	0,00	0,00	59,75	85,44	105,8	96,19	94,36	104,2	91,24	82,31	78,26	84,54	55,98	35,3	32,03	22,11	13,83	11,76	7,2	0	0,00	0,00
8	0,00	0,00	31,22	77,47	76,28	89,06	100	102,6	81,75	97,76	99,3	80,38	91,04	55,8	42,71	28	25,43	17,46	15,58	0	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0	0	14,72	17,1	27,51	29,06	33,92	38,21	61,79	54,76	45,45		25,4	21,13	12,71	11,02	8,2	0	0,00	0,00
10	0,00	0,00	39,42	54,2	59,24	57,62	61,83	68,33	72,37	70,22	57,77	52,08	48,14	38,8	34,08	29,2	25,63	15,3	10,04	12,85	0,00	0,00
11	0,00	0,00	12,22	81,81	112,7	122,4	101,9	105,9	129,5	112	104,4	84,89	90,3	62,5	46,39	26,24	20,48	18,08	10,06	9,29	0,00	0,00
12	0,00	15,95	78,92	98,05	77,1	73,35	66,58	60,63	70,84	53,32	48,46	47,01	34,64	28,7	17,11	13,8	14,73	16,08	7,87	6,63	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0	0	5,49	26,9	48,81	55,56	53,36	53,95	66,61	61,47	59,4	44,2	33,82	27,39	26,23	13,92	12,65	7,57	0,00	0,00
14	0,00	0,00	0	0	9,39	11,66	13,84	26,49	21,51	36,77	33,77	43,38	49,33	46,7	31,96	29,98	23,8	15,61	5,97	5,2	0,00	0,00
15	0,00	0,00	32,3	88,91	114,3	163,4	143,6	155,9	145,8	137,7	123,9	119,7	97,96	63,1	42,76	28,99	24,78	16,62	11,3	14,08	6,30	0,00
16	0,00	0,00	34,88	72,63	73,06	70,92	63,03	73,98	70,51	63,02	62,21	59,31	43,74	30,1	27,45	22,03	20,22	16,86	9,31	0	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0	24,28	35,23	37,42	40,16	47,61	45,1	49,3	51,65	62,51	61,23	45,6	35,08	25,53	18,65	17,32	10,96	7,84	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0	0	0	75,35	10,14	13,91	22,86	34,97	30,02	32,82	35,4	30,2	22,3	15,08	10,61	9,75	7,27	0	0,00	0,00
20	0,00	0,00	18,18	34,64	42,32	41,74	57,02	74,02	61,91	70,96	71,05	76,88	49,59	48,5	29,18	24,4	18,91	14,25	9,29	7,55	0,00	0,00
21	0,00	0,00	11,63	53,38	87,07	71,26	73,9	88,8	66,8	76,81	51,94	60,5	44,75	38,6	30,41	18,04	20,46	19,05	13,79	12,54	0,00	0,00
22	0,00	0,00	75,07	84,23	71,53	80,53	65,26	75,44	69,38	68,17	72,88	68,87	69,13	46,4	33,26	28,49	22,35	15,78	7,99	0	0,00	0,00
23	0,00	0,00	50,57	66,74	60,92	79,79	67,82	69,19	68,87	69,56	64,29	53,67	41,8	26,5	20,06	20,06	16,63	11,09	7,76	0	0,00	0,00
24	0,00	0,00	50,3	65,29	79,31	87,03	76,12	86,75	78,99	85,91	81,26	69,48	49,98	45,3	31,47	26,76	19,21	14,21	0	0	0,00	0,00
25	0,00	0,00	0	19,21	36,27	53,72	51,51	61,89	51,26	66,04	59,74	67,25	52,43	34	11,61	18,28	16,13	8,38	54,97	12,93	9,62	43,67
26	0,00	0,00	0	65,34	17,25	22,07	22,86	29,28	29,08	25,65	34,17	39,7	44,55	39,1	25,56	16,83	11,8	6,05	6,02	0	0,00	0,00
27	0,00	0,00	0	32,51	65,34	77,2	71,03	73,08	78,9	59,36	74,21	68,68	63,86	39,2	29,03	17,05	11,79	7,38	0	0	0,00	0,00
28	0,00	12,14	30,05	62,31	63,49	84,43	78,89	72,42	75,96	64,63	62,7	60,94	57,68	47,9	39,76	29,49	29,13	20,72	19,68	17,88	0,00	0,00
30	0,00	0,00	0	12,7	19,44	26,4	46,4	44,25	56,12	47,14	49,85	44,94	43,14	35,2	25,34	15,46	15,44	12,12	10,22		0,00	0,00
31	0,00	0,00	0	12,56	15,95	18,8	24,14	31,84	39,21	46,82	56,74	57,07	40,66	35,7	22,76	21,29	21,04	14,57	11,14	0	0,00	0,00
32	0,00	0,00	0	12,1	16,44	22,44	27	25,74	47,73	62,96	68,03	62,31	48,44	28,1	22,09	22,45	17,12	9,95	9,46	5,5	0,00	0,00
33	0,00	0,00	8,76	58,16	63,84	81,09	83,19	81,7	76,12	77,36	74,04	70,46	61,17	31,7	22,81	18,13	15,35	11,06	6,84	6,62	0,00	0,00
34	0,00	9,70	40,62	68,02	71,94	53,69	70,93	67,67	64,37	65,01	64,96	65,98	49,58	36,4	29,41	24,2	18,45	14,03	13,34	6,08	0,00	0,00
35	0,00	0,00	45,02	59,44	70,47	62,93	71,8	59,2	76,56	68,03	65,01	70,79	46,5	49,6	32,64	20,23	18,34	11,75	5,59	8,4	0,00	0,00
36	0,00	0,00	9	15,08	15,89	18,84	23,48	26,72	31,88	44,06	39,81	45,15	28,99	22,8	18,99	12,74	9,12	6,73	6,67	0	0,00	0,00
38	0,00	0,00	16,91	43,37	49,34	56,17	52,99	51,3	61,15	63,15	80,19	83,93	93,34	76,1	53,06	44,74	32,06	25,54	20,14	12,76	8,90	0,00
39	0,00	0,00	0	16,36	26,9	48,07	54,94	70,88	77,68	75,44	71,04	70,49	64,27	43,6	33,18	28,94	24,59	18,25	17,44	9,21	6,12	0,00
40	0,00	0,00	0	16,45	30,94	48,98	51,94	50,48	58,68	59,11	46,91	46,86	42,92	41,5	31,96	21,98	14,69	12,35	23,13	7,01	0,00	0,00
41	0,00	0,00	26,61	49,76	63,71	69,69	82,69	72,55	70,82	76,55	81,54	69,58	67,96	33,4	29,41	23,81	17,93	15,2	12,57	0	0,00	0,00
42	0,00	6,26	41,41	40,35	45,49	73,84	73,86	73,02	67,62	64,49	70,84	65,41	56,63	39	27,07	25,02	19,79	16,12	10,18	0	0,00	0,00
43	0,00	6,55	69,88	83,81	96,96	76,62	84,88	88,9	83,98	77,73	79,28	70,51	61,76	32	24,44	20,52	18,88	13,27	11,79	7,14		0,00
44	0,00	0,00	17,97	55,84	60,32	72,07	82,31	88,04	73,12	74,11	69,74	63,14	81,8	47,8	26,91	22,65	17,26	10,65	0	0	0,00	0,00
46	0,00	0,00	0	28,14	60,3	75,42	60,65	75,24	80,36	74,33	60,9	64,12	42,69	37	26,61	25,12	18,84	14,44	9,57	8,18	0,00	0,00
47	0,00	0,00	6,37	21,9	46,09	61,27	66,52	77,13	70,51	66,05	68,62	67,77	67,1	48,2	33,24	25,09	22,66	15,75	6,76	0	0,00	0,00

Tabela 37- Concentrações plasmáticas (µg/mL) ao longo do tempo (horas) referentes ao etinilestradiol (T).

Vol	T _{0,0}	T _{0,15}	T _{0,3}	T _{0,45}	T _{1,0}	T _{1,15}	T _{1,3}	T _{1,45}	T _{2,0}	T _{2,2}	T _{2,4}	T _{3,0}	T _{4,0}	T _{6,0}	T _{8,0}	T _{12,0}	T _{16,0}	T _{24,0}	T _{36,0}	T _{48,0}	T _{72,0}	T _{120,0}
1	0,00	0,00	16,39	30,89	42,88	42,72	54,63	52,53	49,1	48,27	45,18	48,56	43,56	29,6	22,11	18,27	16,28	11,9	13,66	5,99	0,00	0,00
2	0,00	0,00	11,71	55,53	64,16	73,36	68,69	64,16	66,36	64,06	69,75	63,06	60,21	49,4	38,92	29,23	23,35	19,92	14,49	8,28	0,00	0,00
3	0,00	0,00	13,34	57,66	56,65	52	51,52	51,56	47,7	40,49	40,37	38,06	33,17	33	21,61	14,85	13,59	9,48	5,59	0,00	0,00	0,00
4	0,00	6,86	23,28	48,21	34,71	48,53	42,74	47,15	46,94	43,93	45,24	44,19	37,34	25,7	20,29	21,54	14,04	13,22	7,08	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0	8,09	21,05	28,24	50,19	53	57,97	61,38	67,63	69,08	71,56	59,1	44,03	32,38	20,83	13,32	9,82	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	24,32	30,39	27,52	32,54	25,92	30,46	26,59	23,55	26,48	28,56	29,25	22	18,95	13,28	10,61	6,49	5,4	0,00		
7	0,00	0,00	8,26	24,23	35,32	56,83	61,36	76,38	67,57	73,95	72,98	67,51	60,77	32,7	18,62	15,26	13,72	5,84	7,48	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0	5,24	10,84	18,6	26,18	54,57	73,38	78,79	92,16	97,83	70,36	48,9	33,78	29,41	22,72	19,67	15,86	13,01	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0	22,45	22,34	49,93	71,67	76,51	86,68	72,56	66,65	64,29	45,27	30,6	21,49	18,02	9,26	8,78	6,3	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0	14,43	38,17	68,76	98,73	101,2	105,4	93,85	79,18	72,2	62,76	42,6	33,51	25,57	18,78	15,9	9,1	6,93	0,00	0,00
11	0,00	0,00	45,31	129,9	159,7	161,3	136	139,7	142	110,2	93,48	82,6	75,69	70,7	42	33,12	23,2	18,93	10,94	0,00	0,00	0,00
12	0,00	6,58	50,07	59,89	63,4	68,09	54,15	60,41	54,93	48,99	48,68	39,66	46,42	37,3	25,32	16,76	12,3	10,27	10,18	0,00	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0	0	0	7,72	28,44	51,24	60,43	85,49	93,32	92,38	89,59	51,4	40,91	27,57	16,76	15,28	12,78	9,66	0,00	0,00
14	0,00	0,00	48,63	74,4	84,22	70,13	66,82	77,65	73	55,17	64,47	60,09	40,97	37,2	25,51	20,07	16,95	11,83	6,43	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	44,08	95,67	135,7	136,2	132,1	131,7	120,5	98,58	99,63	85,22	64,18	46,3	35,45	28,16	20,81	15,37	11,47	8,40	0,00	0,00
16	0,00	0,00	48,26	63,8	47,67	62,68	68,43	68,18	53,72	65,49	58,84	56,14	42,05	41	29,74	19,69	15,78	15,04	11,39	6,22	0,00	0,00
18	0,00	0,00	35,07	63,73	52,31	74,78	70,81	60,42	72,27	63,29	67,72	62,13	50,69	36,7	28,89	25,35	17,89	12,85	10,15	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0	5,13	7,47	16,31	17,33	25,41	30,33	40,25	39,69	40,07	32,43	22,8	19,26	14,49	13,27	7,14	0	0,00	0,00	0,00
20	0,00	8,43	63,49	91,7	66,68	79,34	67,87	73,14	67,2	64,31	56,37	78,31	55,65	32,2	27,56	18,67	16,68	16	8,11	0,00	0,00	0,00
21	0,00	0,00	0	45,76	55,97	71,07	65,32	67,25	69,42	57,41	56,91	51,88	38,1	29,3	24,16	19,89	16,02	12,11	8,64	5,13	0,00	0,00
22	0,00	0,00	10,67	59,71	60,19	79,83	70,18	59,79	65,17	72,44	54,44	48,09	51,46	37	24,48	13,61	20,03	11,45	0	0,00	0,00	0,00
23	0,00	0,00	9,08	25,84	39,87	57,7	60,44	65,02	56,95	58,29	56,44	53,86	59,03	29,8	21,16	16,19	15,77	14,9	12,41	0,00	0,00	0,00
24	0,00	0,00	0	0	22,84	41,86	62	73,93	84	85,66	76,26	87,31	79,57	44,9	34,15	26,22	19,34	11,51	7,43	5,13	0,00	0,00
25	0,00	0,00	63,37	0	97,43	115,4	95,48	96,68	85,4	84,59	75,77	68,82	48,05	33,8	24	17,71	14,04	7,89	6,8	0,00	0,00	0,00
26	0,00	0,00	34,71	42,55	51,74	50,42	56,61	49,78	54,41	53,55	47,72	49,11	46,48	28,3	20,02	17,92	15,27	6,25	6,84	0,00	0,00	0,00
27	0,00	0,00	42,5	97,02	116,9	118,3	107	102,8	84,52	72,3	82,84	71,72	65,26	41	29,8	25,9	18,01	16,7	10,53	0,00	0,00	0,00
28	0,00	0,00	27,71	31,23	41,32	64,35	50,69	52,5	54,23	59,59	54,54	52,97	54	35,1	26,7	20,76	19,12	14,15				
30	0,00	0,00	0	16,93	30,79	46,43	51,24	59,9	57,05	63,79	54,88	40,94	40,66	29,9	24,76	22,85	19,11	12,77	17,94	8,93	6,18	
31	0,00	0,00	11,54	52,66	52,15	61,37	60,26	66,17	55,76	46	50,03	43,61	35,89	23,9	17,47	15,97	12,72	11,04	7,16	0,00	0,00	0,00
32	0,00	0,00	14,6	42,25	74,64	89,97	80,35	83,41	71,77	64,41	67,53	59,97	41,64	25,2	17,68	14,33	11,29	8,97	6,43	0,00	0,00	0,00
33	0,00	0,00	20,12	58,39	94,29	105,9	97,61	90,73	88,9	68,65	66,02	54,49	40,99	28,4	21,53	14,02	12,49	6,52	6	0,00	0,00	0,00
34	0,00	0,00	36,02	60,85	60,99	58,55	59,48	54,52	55,4	51,56	51,5	53,46	44,73	33,9	28,14	25,47	18,5	17,28	12,52	9,48	5,46	0,00
35	0,00	0,00	31,64	62,02	75,52	63,17	75,16	74,85	78,21	57,57	61,55	46,91	52,92	36,1	27,16	23,12	19,5	13,16	10,35	5,80	0,00	0,00
36	0,00	0,00	0	8,69	9,69	16,97	20,5	45,89	66,85	73,02	73,63	67,71	41,9	30,2	19,76	13,88	12,54	9,11	6,2	0,00	0,00	0,00
38	0,00	0,00	59,9	65,03	92,73	93,22	117,7	98,11	99,39	89,1	101,6	89	63,31	50,4	37,09	36,52	32,16	19,98	17,23	8,43	0,00	0,00
39	0,00	0,00	0	56,46	94,28	86,66	91,78	82,18	85,16	67,5	62,74	72,45	48,89	35,5	34,24	23,93	19,7	18,71	12,14	11,46	0,00	0,00
40	0,00	0,00	19,38	94,1	75,38	60,48	73,95	76,42	74,62	67,52	66,49	59,48	49,48	26,4	26,51	18,46	13,34	10,75	8,97	5,15	0,00	0,00
41	0,00	0,00	9,23	21,98	51,49	96,58	98,28	98,73	100,9	77,16	78,92	65,5	53,74	28,8	22	15,79	12,33	7,08	5,32	8,18	0,00	0,00
42	0,00	0,00	31,11	47,9	83,58	76,06	74,13	78,23	77,68	77,52	72,23	67,09	51,02	30,7	25,33	19,22	14,22	10,79	5,67	5,46	0,00	0,00
43	0,00	0,00	39,8	112,1	87,26	111,6	97,29	88,5	85,51	90,13	74,99	70,15	46,02	35,2	25,02	22,9	19,14	12,13	9,37	6,11	0,00	0,00
44	13,68	11,17	15,58	62,42	144,9	128,7	124,1	136,2	108,9	101,8	109,5	80,53	64,11	47,9	38,44	24,58	16,87	17,8	0	37,68		
46	0,00	0,00	14,37	68,88	104,9	98,32	91,47	96,33	95,29	86,64	80,82	74,55	67,53	37,7	29,28	20,45	19,59	16,11		0,00	0,00	0,00
47	0,00	0,00	15,41	50,63	73,76	82,45	70,06	73,63	67,1	65,22	73,87	66,07	53,68	42,1	30,69	25,22	16,99	19,12	5,15	0,00	0,00	0,00

Tabela 38- Medidas farmacocinéticas dos indivíduos do etinilestradiol (R).

Voluntários	K_{el}	$T_{1/2}$	C_{max}	T_{max}	$ASC_{(0-t)}$	$ASC_{(0-inf)}$
1	0,039769	17,43	60,04	2,00	740,40	931,00
2	0,026933	25,74	62,48	6,00	1413,80	1823,30
3	0,025118	27,6	41,92	4,00	795,10	1291,20
4	0,033895	20,45	50,66	1,00	673,30	921,40
5	0,016383	42,31	84,28	1,15	1564,90	2077,00
6	0,03366	20,59	37,35	2,40	564,00	747,30
7	0,033295	20,82	105,77	1,00	916,70	1132,90
8	0,02553	27,15	102,56	1,45	1279,90	1890,20
9	0,022143	31,3	61,79	2,40	695,70	1066,00
10	0,03063	22,63	72,37	2,00	1220,90	1640,50
11	0,027413	25,29	129,47	2,00	1417,60	1756,50
12	0,036511	18,98	98,05	0,45	890,90	1072,50
13	0,034617	20,02	66,61	2,40	1112,50	1331,20
14	0,050703	13,67	49,33	4,00	927,60	1030,20
15	0,021379	32,42	163,43	1,15	1848,20	2142,80
16	0,039629	17,49	73,98	1,45	912,00	1146,90
18	0,033058	20,97	62,51	3,00	1094,70	1331,90
19	0,019344	35,83	75,35	1,15	561,10	936,90
20	0,026464	26,19	76,88	3,00	1057,60	1342,90
21	0,017417	39,8	88,8	1,45	1227,80	1947,80
22	0,051859	13,37	84,23	0,46	1036,20	1190,30
23	0,037464	18,5	79,79	1,15	767,20	974,30
24	0,050556	13,71	87,03	1,15	872,30	1153,40
25	0,006398	108,33	67,25	3,00	2889,00	9714,20
26	0,052217	13,27	65,34	0,45	599,80	715,10
27	0,068127	10,17	78,9	2,00	682,20	790,50
28	0,006063	114,31	84,43	1,15	1580,10	4528,90
30	0,020127	34,44	56,12	2,00	856,30	1364,00
31	0,030408	22,79	57,07	3,00	814,20	1180,50
32	0,031463	22,03	68,03	2,44	834,00	1008,80
33	0,027292	25,4	83,19	1,30	927,40	1169,90
34	0,031599	21,94	71,94	1,00	1067,70	1260,10
35	0,045752	15,15	76,56	2,00	1012,00	1195,60
36	0,050951	13,6	45,15	3,00	460,40	592,50
38	0,023389	29,629	93,34	4,00	2073,87	2454,38
39	0,027362	25,33	77,68	2,00	1509,20	1732,80
40	0,040157	17,26	59,11	2,20	1086,00	1260,60
41	0,017602	39,38	82,69	1,30	985,10	1699,20
42	0,033644	20,6	73,86	1,30	952,70	1255,30
43	0,025842	26,82	96,96	1,00	1007,50	1283,70
44	0,062477	11,09	88,04	1,45	817,80	988,20
46	0,023701	29,25	80,36	2,00	1036,30	1381,50
47	0,06128	11,31	77,13	1,45	964,00	1074,40

Tabela 39- Medidas farmacocinéticas dos indivíduos do etinilestradiol (T).

Voluntários	K_{el}	$T_{1/2}$	C_{max}	T_{max}	$ASC_{(0-t)}$	$ASC_{(0-inf)}$
1	0,02734	25,356	54,63	1,30	899,2	1118,3
2	0,03658	18,946	73,36	1,15	1288,4	1514,7
3	0,04439	15,613	57,66	0,45	631,7	757,6
4	0,03566	19,44	48,53	1,15	700,5	899
5	0,03664	18,916	71,56	4,00	1020	1288
6	0,03774	18,368	32,54	1,15	482,8	625,9
7	0,07702	8,999	76,38	1,45	694,3	791,4
8	0,10733	6,458	97,83	3,00	1436,5	1710,5
9	0,01992	34,792	86,68	2,00	670,3	986,5
10	0,0346	20,032	105,44	2,00	1114,7	1315
11	0,03823	18,13	161,32	1,15	1355	1641,2
12	0,05152	13,454	68,09	1,15	758,9	956,5
13	0,0191	36,284	93,32	2,40	1225,9	1731,6
14	0,04863	14,253	84,22	1,01	813	945,2
15	0,02517	27,54	136,15	1,15	1322,3	1656
16	0,03684	18,814	68,43	1,30	998,4	1167,3
18	0,02766	25,057	72,27	2,00	898,7	1265,6
19	0,06163	11,247	40,25	2,20	446,7	562,6
20	0,0377	18,387	91,7	0,45	900,9	1116,1
21	0,03566	19,439	71,07	1,15	863,2	1007,1
22	0,07056	9,824	79,83	1,15	699,8	862,1
23	0,01226	56,542	65,02	1,45	832,2	1844,5
24	0,0337	20,565	87,31	3,00	1027,5	1179,7
25	0,04056	17,091	115,4	1,15	770,5	938,2
26	0,04942	14,025	56,61	1,30	655,4	793,8
27	0,03783	18,325	118,26	1,15	1035,9	1477,4
28	0,0327	21,194	64,35	1,15	647,6	1080,2
30	0,02038	34,017	63,79	2,20	1122,3	1425,5
31	0,02888	24,004	66,17	1,45	635,8	1018,2
32	0,02812	24,646	89,97	1,15	670,5	899,1
33	0,03786	18,31	105,9	1,15	687	845,5
34	0,02305	30,075	60,99	1,00	1301,8	1538,7
35	0,03418	20,281	78,21	2,03	1005,9	1175,6
36	0,03491	19,856	73,63	2,40	630,5	808,1
38	0,01918	36,148	94,28	1,00	1237	1834,6
39	0,03068	22,594	94,1	0,45	893,4	1061,3
40	0,0558	12,422	100,87	2,00	851,4	998
41	0,03184	21,768	83,58	1,00	879,9	1051,3
42	0,02864	24,2	112,07	0,45	1039,7	1253
43	0,02646	26,195	144,87	1,00	1245,8	2669,8
44	0,02052	33,783	104,94	1,00	1185,2	1970,4
46	0,06075	11,41	82,45	1,15	927,8	1012,6
47	0,009294	74,58	91,00	1,30	102,15	117,35

Curvas de Concentração Plasmática vs Tempo das Voluntárias, para o Etinilestradiol Referência e Teste

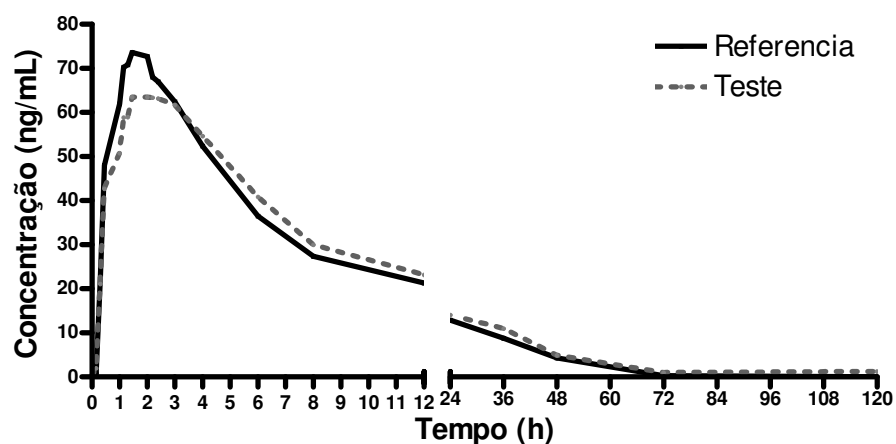


Figura 89- Curvas de concentração plasmática média do etinilestradiol referência e teste.

Tabela 98- Média dos parâmetros farmacocinéticos das voluntárias.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,033	0,037
T1/2 (h)	27,017	22,822
Cmax (µg*mL-1)	76,297	84,303
Tmax (h)	1,910	1,457
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1039,811	897,824
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1549,385	1183,978

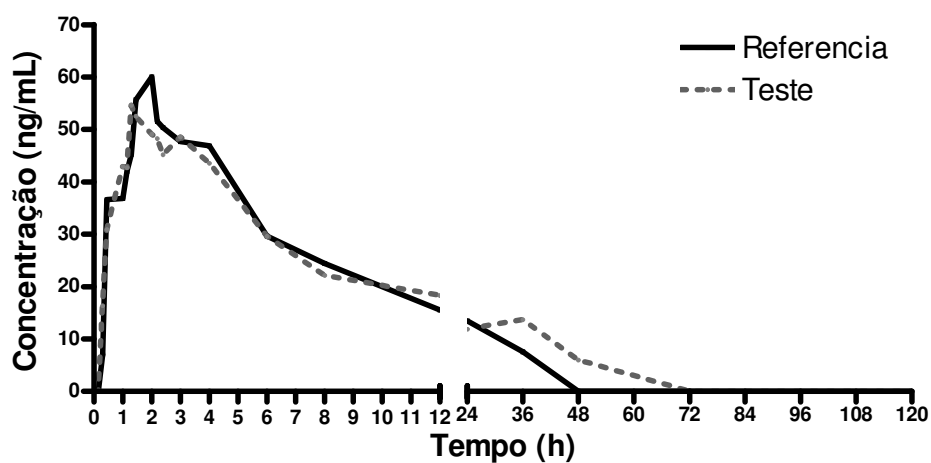
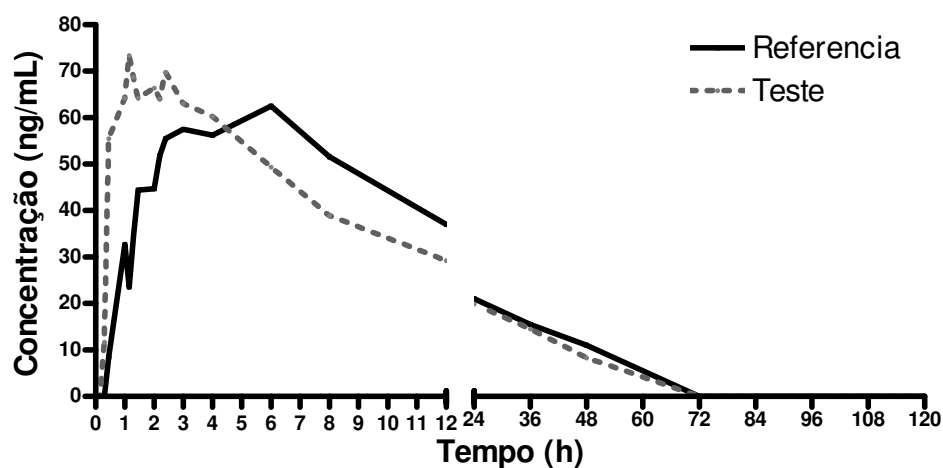


Figura 90- Curva de concentração da voluntária 1, sequência TR.

Tabela 99- Medidas farmacocinéticas da voluntária 1 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,039	0,027
T1/2 (h)	17,43	25,35
Cmax (µg*mL-1)	60,04	54,63
Tmax (h)	2,00	1,30
ASC0-t (µg*h*mL-1)	740,40	899,20
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	931,00	1118,30

**Figura 91-** Curva de concentração da voluntária 2, sequência RT.**Tabela 100-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 2 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,026	0,036
T1/2 (h)	25,74	18,94
Cmax (µg*mL-1)	62,48	73,36
Tmax (h)	6,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1413,80	1288,40
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1823,30	1514,70

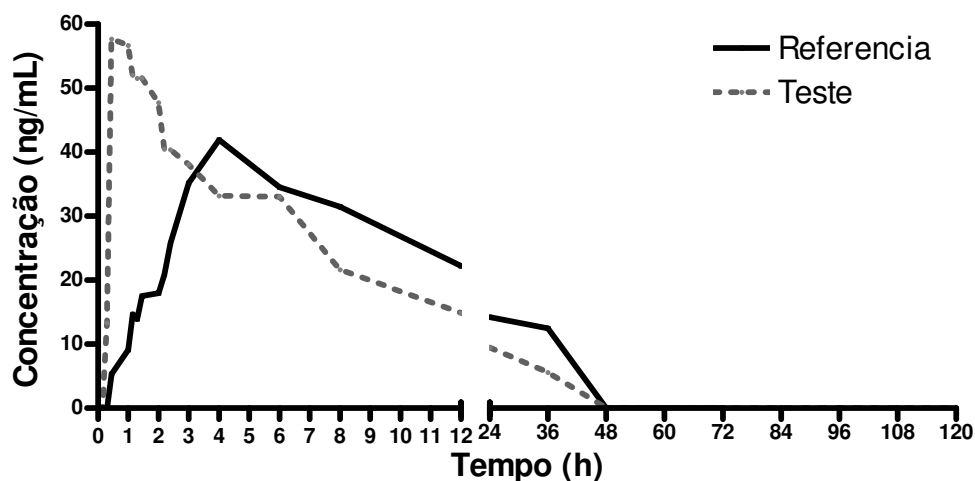


Figura 92- Curva de concentração da voluntária 3, sequência RT.

Tabela 101- Medidas farmacocinéticas da voluntária 3 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,025	0,044
T1/2 (h)	27,60	15,61
Cmax (µg*mL-l)	41,92	57,66
Tmax (h)	4,00	0,45
ASC0-t (µg*h*mL-l)	795,10	631,70
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	1291,20	757,60

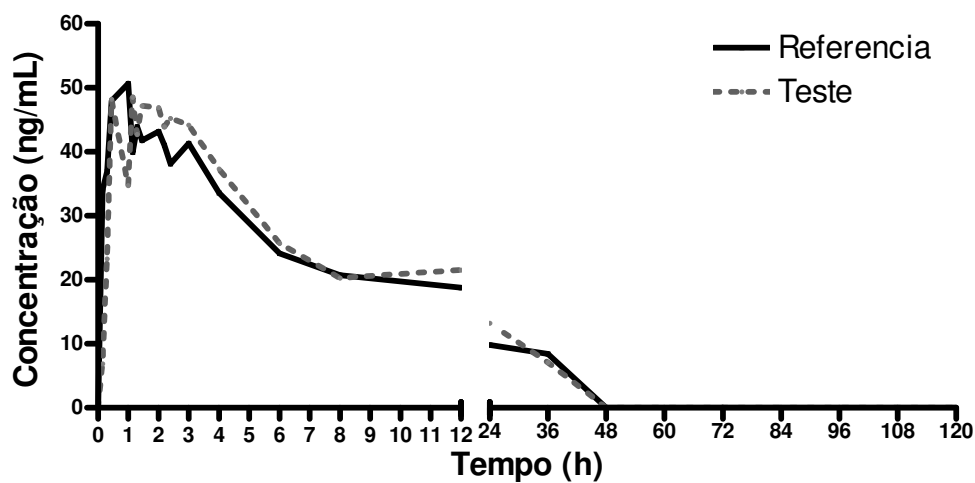
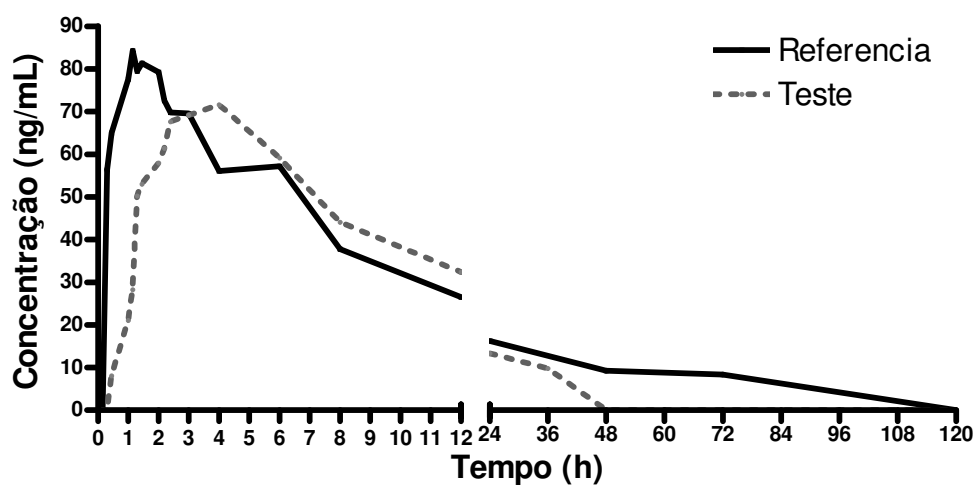


Figura 93- Curva de concentração da voluntária 4, sequência TR.

Tabela 102- Medidas farmacocinéticas da voluntária 4 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,033	0,035
T1/2 (h)	20,45	19,44
Cmax (µg*mL-1)	50,66	48,53
Tmax (h)	1,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	673,30	700,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	921,40	899,00

**Figura 94-** Curva de concentração da voluntária 5, sequência RT.**Tabela 103-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 5 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,016	0,036
T1/2 (h)	42,31	18,91
Cmax (µg*mL-1)	84,28	71,56
Tmax (h)	1,15	4,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1564,90	1020,00
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	2077,00	1288,00

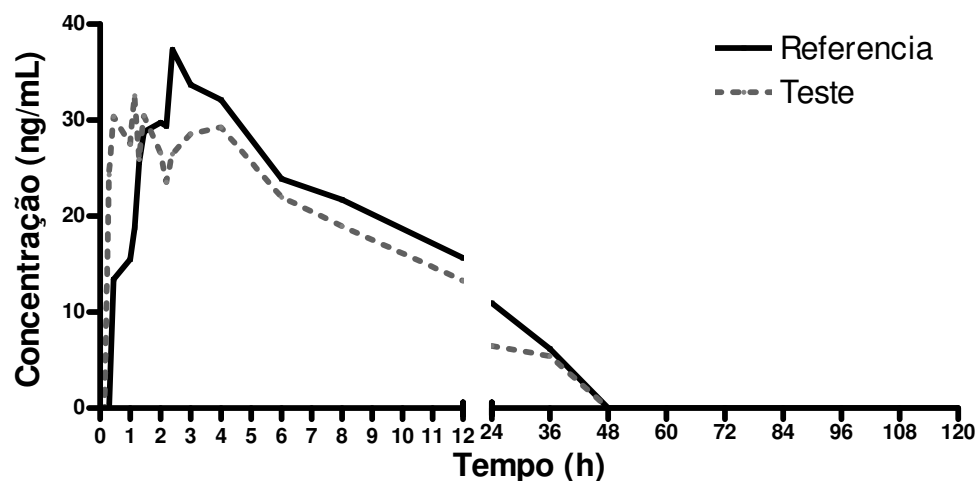


Figura 95- Curva de concentração da voluntária 6, sequência TR.

Tabela 104- Medidas farmacocinéticas da voluntária 6 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,033	0,037
T1/2 (h)	20,59	18,36
Cmax (µg*mL-l)	37,35	32,54
Tmax (h)	2,40	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-l)	564,00	482,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	747,30	625,90

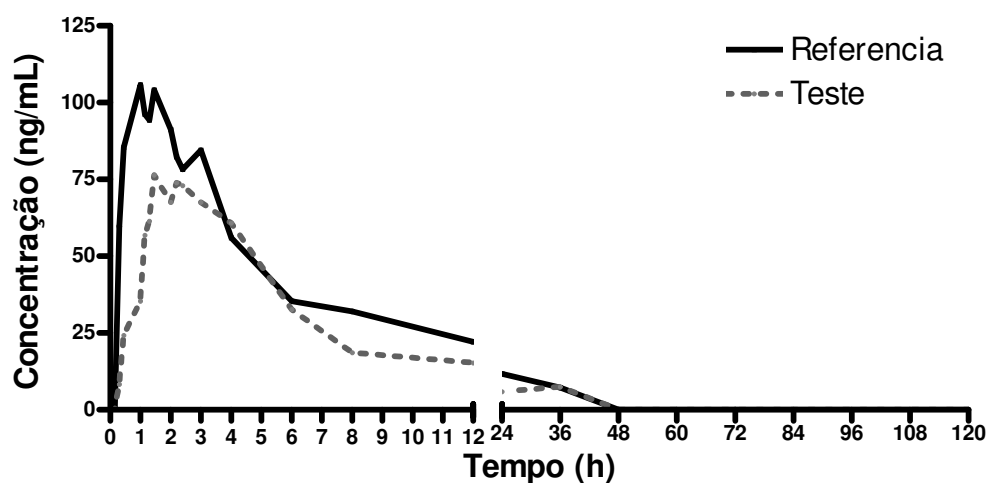
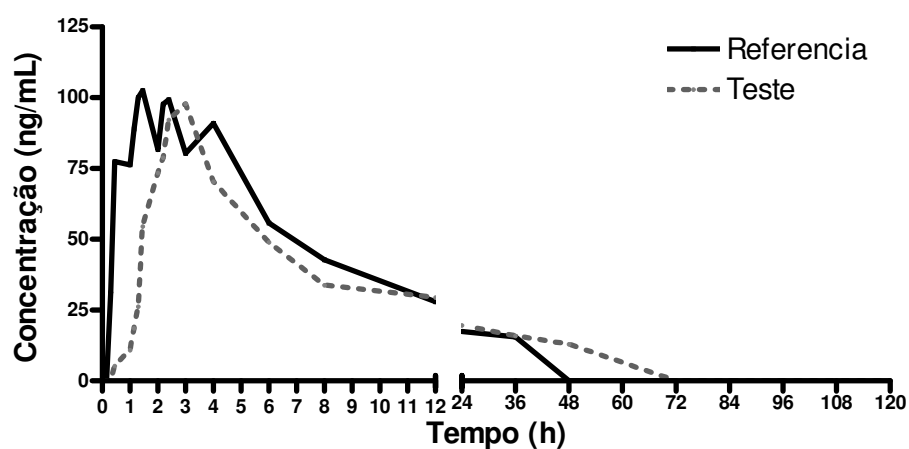


Figura 96- Curva de concentração da voluntária 7, sequência RT.

Tabela 105- Medidas farmacocinéticas da voluntária 7 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,033	0,077
T1/2 (h)	20,82	8,99
Cmax (µg*mL-1)	105,77	76,38
Tmax (h)	1,00	1,45
ASC0-t (µg*h*mL-1)	916,70	694,30
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1132,90	791,40

**Figura 97-** Curva de concentração da voluntária 8, sequência RT.**Tabela 106-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 8 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,025	0,107
T1/2 (h)	27,15	6,45
Cmax (µg*mL-1)	102,15	97,83
Tmax (h)	1,45	3,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1279,90	1436,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1890,20	1710,50

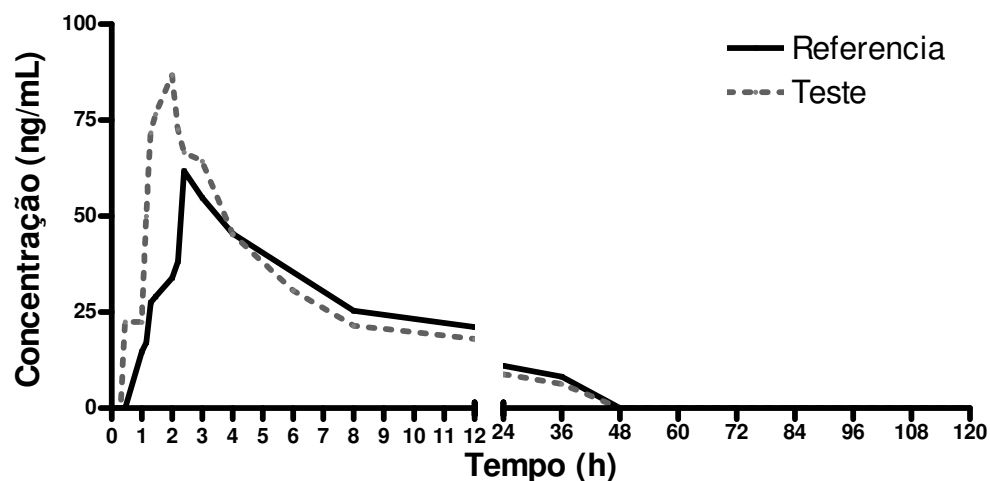


Figura 98- Curva de concentração da voluntária 9, sequência TR.

Tabela 107- Medidas farmacocinéticas da voluntária 9 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,022	0,019
T1/2 (h)	31,30	34,79
Cmax (µg*mL-1)	61,79	86,68
Tmax (h)	2,40	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	695,70	670,30
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1066,00	986,50

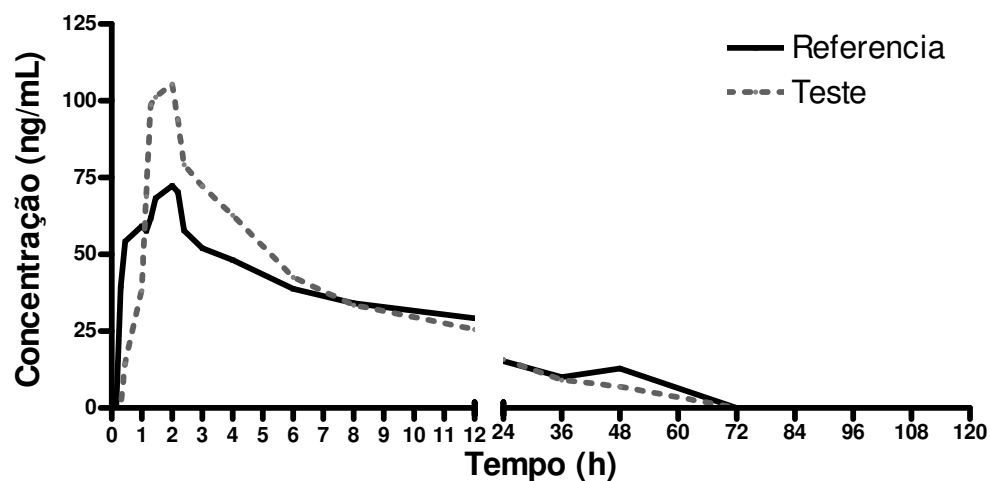
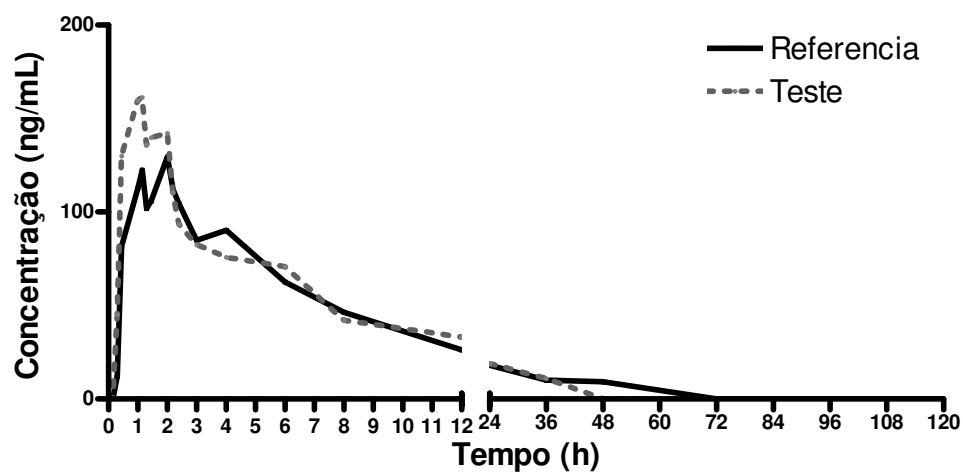


Figura 99- Curva de concentração da voluntária 10, sequência TR.

Tabela 108- Medidas farmacocinéticas da voluntária 10 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,030	0,034
T1/2 (h)	22,63	20,03
Cmax (µg*mL-1)	72,37	105,44
Tmax (h)	2,00	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1220,90	1114,70
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1640,50	1315,00

**Figura 100-** Curva de concentração da voluntária 11, sequência TR.**Tabela 109-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 11 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,027	0,038
T1/2 (h)	25,29	18,13
Cmax (µg*mL-1)	129,47	161,32
Tmax (h)	2,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1417,60	1355,00
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1756,50	1641,20

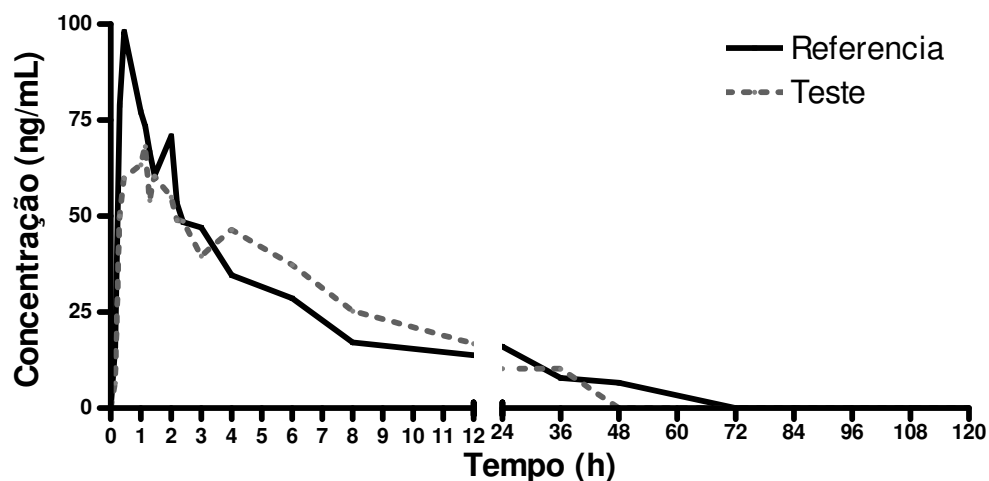


Figura 101- Curva de concentração da voluntário 12, sequência RT.

Tabela 110- Medidas farmacocinéticas da voluntária 12 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,036	0,051
T1/2 (h)	18,98	13,45
Cmax (µg*mL-1)	98,05	68,09
Tmax (h)	0,45	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	890,90	758,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1072,50	956,50

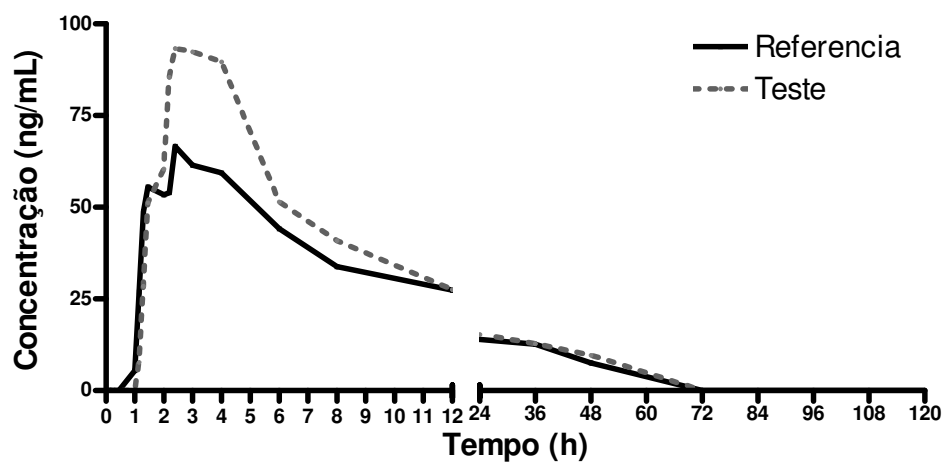
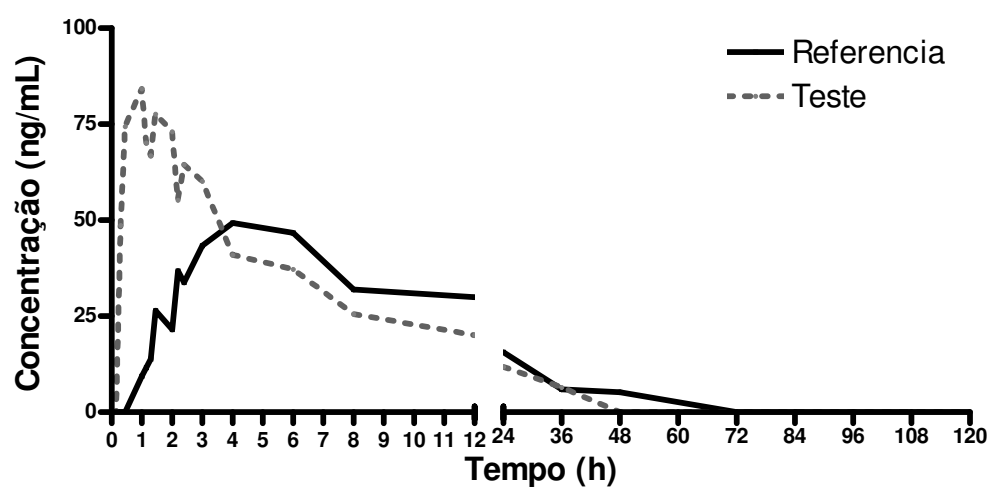


Figura 102- Curva de concentração da voluntária 13, sequência TR.

Tabela 111- Medidas farmacocinéticas da voluntária 13 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,034	0,019
T1/2 (h)	20,02	36,28
Cmax (µg*mL-1)	66,61	93,32
Tmax (h)	2,40	2,40
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1112,50	1225,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1331,20	1731,60

**Figura 103-** Curva de concentração da voluntária 14, sequência RT.**Tabela 112-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 14 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,050	0,048
T1/2 (h)	13,67	14,25
Cmax (µg*mL-1)	49,33	84,22
Tmax (h)	4,00	1,01
ASC0-t (µg*h*mL-1)	927,60	813,00
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1030,20	945,20

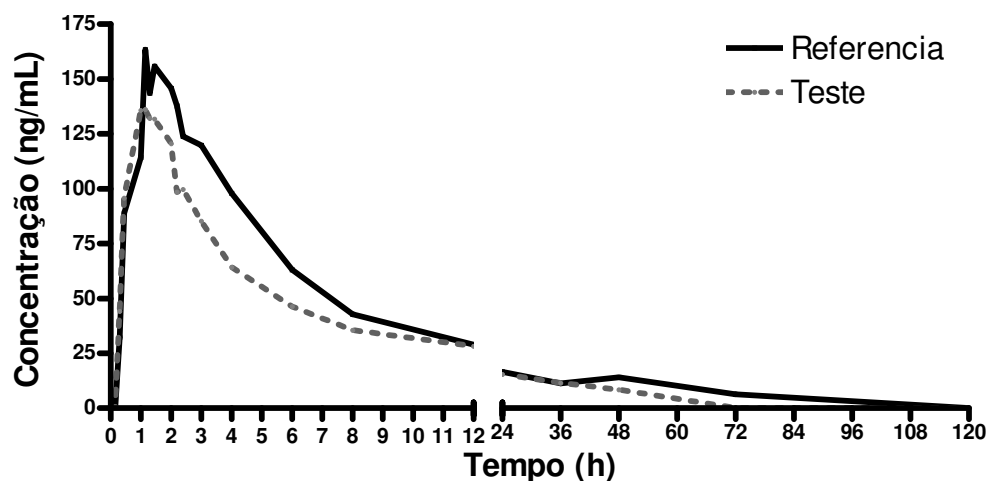


Figura 104- Curva de concentração da voluntária 15, sequência TR.

Tabela 113- Medidas farmacocinéticas da voluntária 15 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,021	0,025
T1/2 (h)	32,42	27,54
Cmax (µg*mL-l)	163,43	136,15
Tmax (h)	1,15	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-l)	1848,43	1322,30
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	2142,80	1656,00

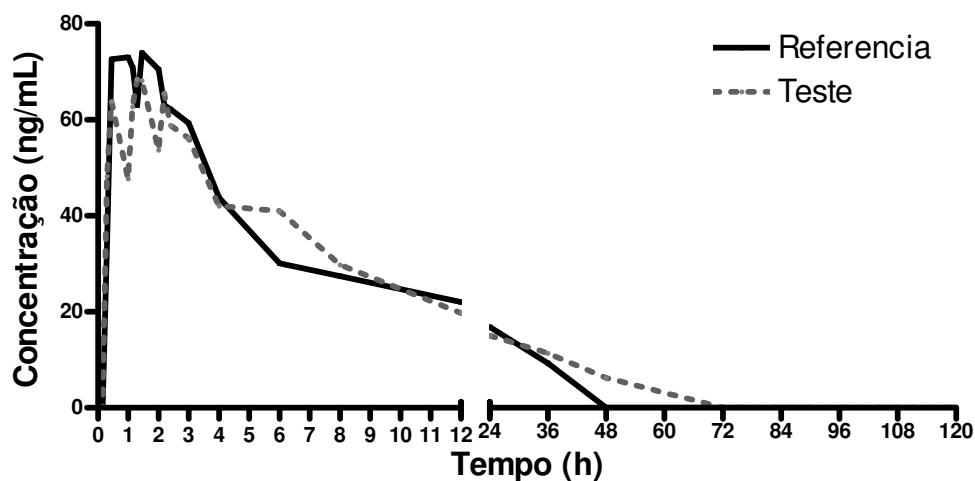
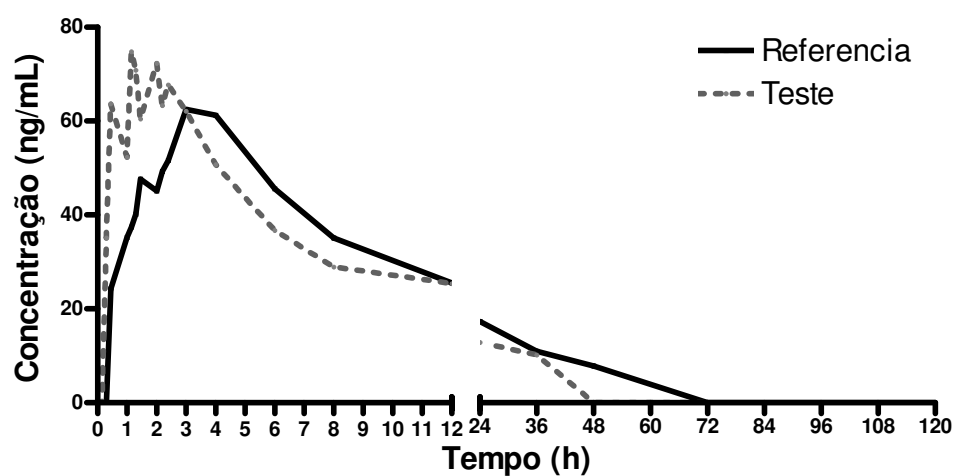


Figura 105- Curva de concentração da voluntária 16, sequência TR.

Tabela 114- Medidas farmacocinéticas da voluntária 16 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,039	0,036
T1/2 (h)	17,49	18,81
Cmax (µg*mL-1)	73,98	68,43
Tmax (h)	1,45	1,30
ASC0-t (µg*h*mL-1)	912,00	998,40
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1146,90	1167,30

**Figura 106-** Curva de concentração da voluntária 18, seqüência TR.**Tabela 115-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 18 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,033	0,027
T1/2 (h)	20,97	25,05
Cmax (µg*mL-1)	62,51	72,27
Tmax (h)	3,00	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1094,70	898,70
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1331,90	1265,60

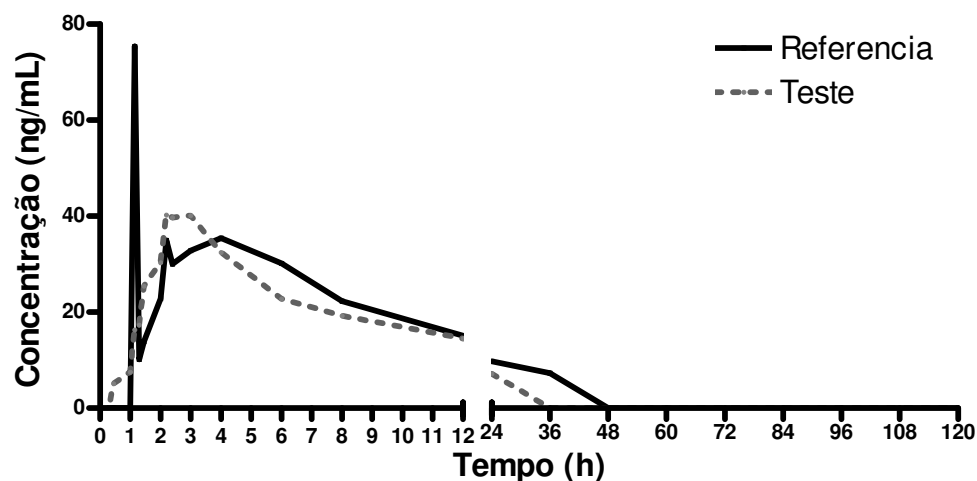


Figura 107- Curva de concentração da voluntária 19, sequência RT.

Tabela 116- Medidas farmacocinéticas da voluntária 19 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,019	0,061
T1/2 (h)	35,83	11,24
Cmax (µg*mL-l)	75,35	40,25
Tmax (h)	1,15	2,20
ASC0-t (µg*h*mL-l)	561,10	446,70
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	936,90	562,60

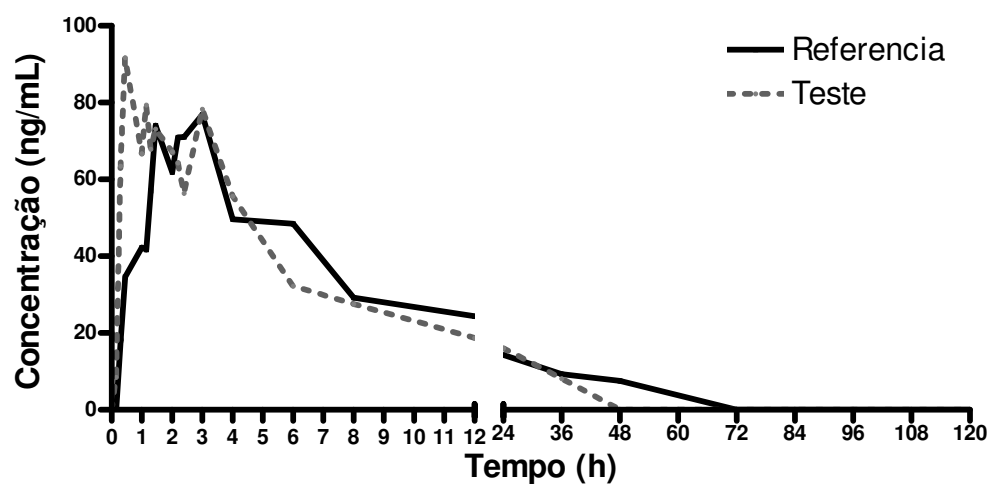
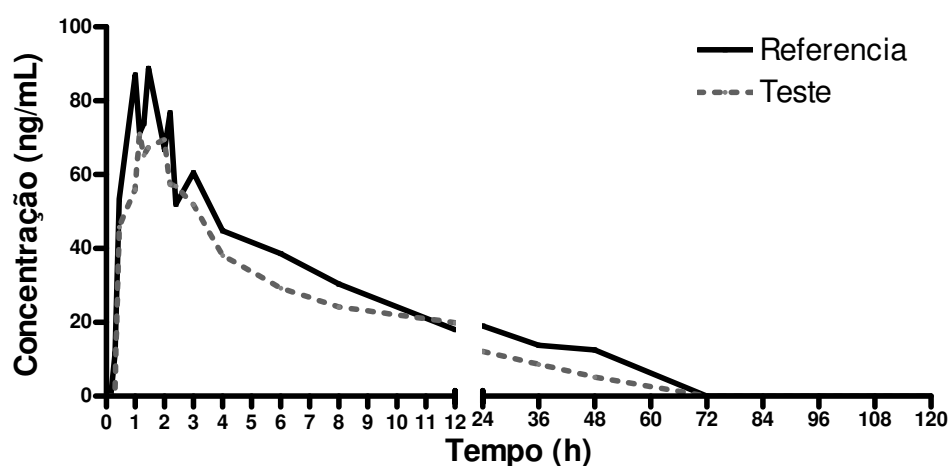


Figura 108- Curva de concentração da voluntária 20, sequência TR.

Tabela 117- Medidas farmacocinéticas da voluntária 20 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,026	0,037
T1/2 (h)	26,19	18,38
Cmax (µg*mL-1)	76,88	91,70
Tmax (h)	3,00	0,45
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1057,60	900,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1342,90	1116,10

**Figura 109-** Curva de concentração da voluntária 21, sequência TR.**Tabela 118-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 21 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,017	0,035
T1/2 (h)	39,80	19,43
Cmax (µg*mL-1)	88,80	71,07
Tmax (h)	1,45	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1227,80	863,20
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1947,80	1007,10

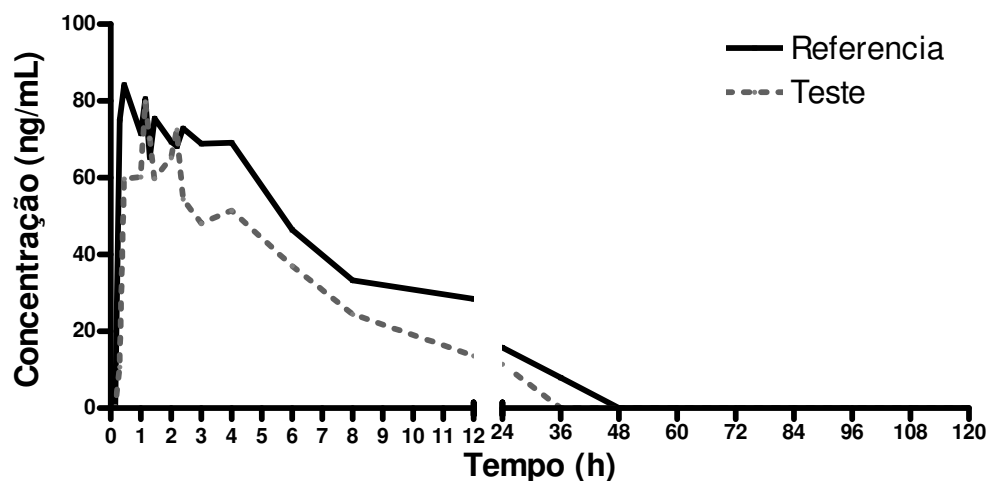


Figura 110- Curva de concentração da voluntária 22, sequência TR.

Tabela 119- Medidas farmacocinéticas da voluntária 22 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,051	0,070
T1/2 (h)	13,37	9,82
Cmax (µg*mL-l)	84,23	79,83
Tmax (h)	0,46	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-l)	1036,20	699,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	1190,30	862,10

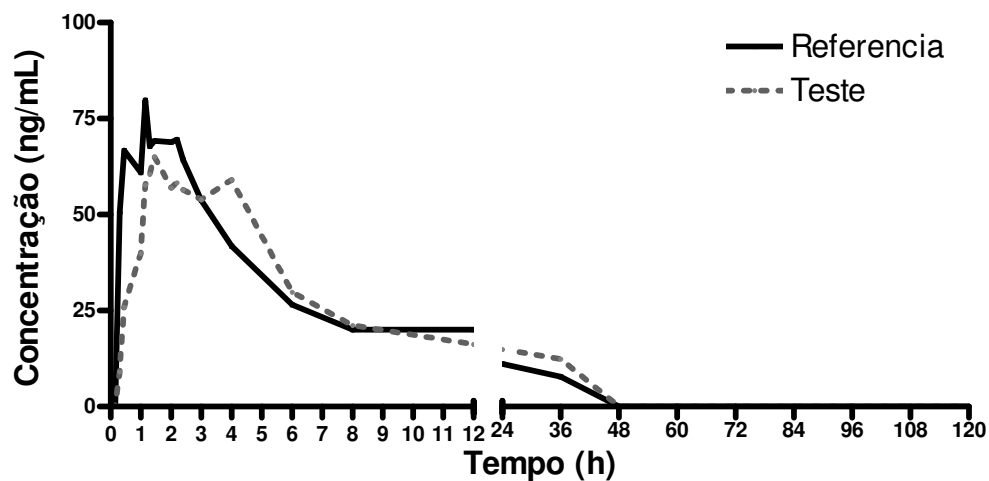
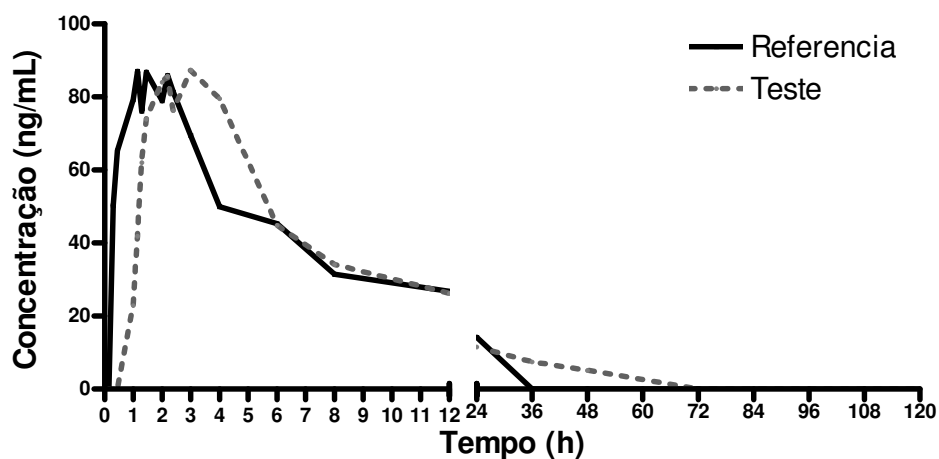


Figura 111- Curva de concentração da voluntária 23, sequência RT.

Tabela 120- Medidas farmacocinéticas da voluntária 23 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,037	0,012
T1/2 (h)	18,50	56,54
Cmax (µg*mL-1)	79,79	65,02
Tmax (h)	1,15	1,45
ASC0-t (µg*h*mL-1)	767,20	832,20
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	974,30	1844,50

**Figura 112-** Curva de concentração da voluntária 24, sequência RT.**Tabela 121-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 24 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,050	0,033
T1/2 (h)	13,71	20,56
Cmax (µg*mL-1)	87,03	87,31
Tmax (h)	1,15	3,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	872,30	1027,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1153,40	1179,70

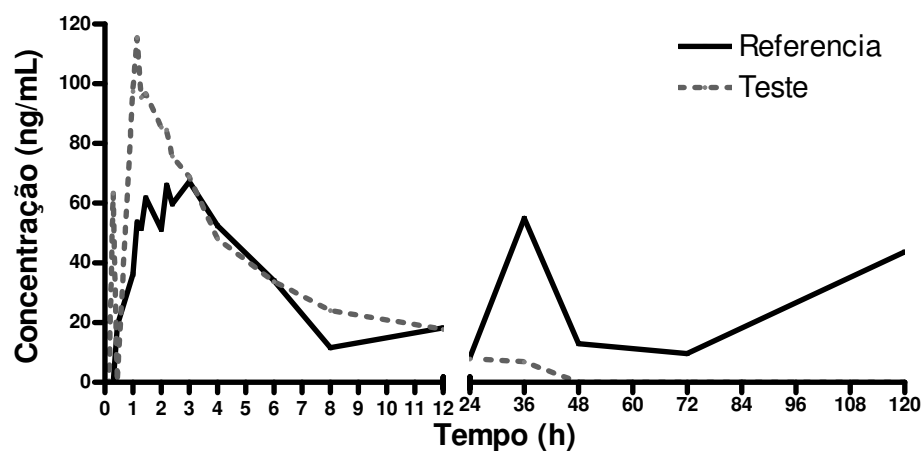


Figura 113- Curva de concentração da voluntária 25, sequência TR.

Tabela 122- Medidas farmacocinéticas da voluntária 25 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,006	0,040
T1/2 (h)	108,33	17,09
Cmax (µg*mL-1)	67,25	115,40
Tmax (h)	3,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	2889,00	770,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	9714,20	938,20

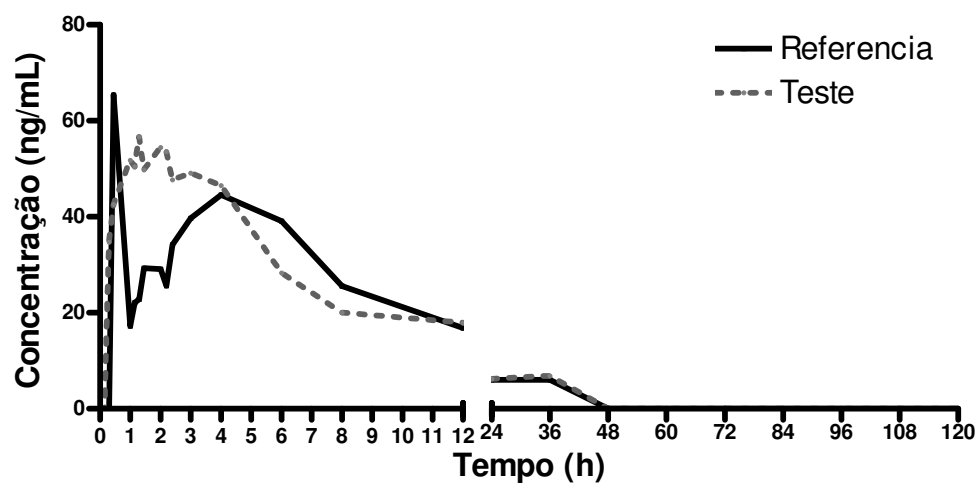
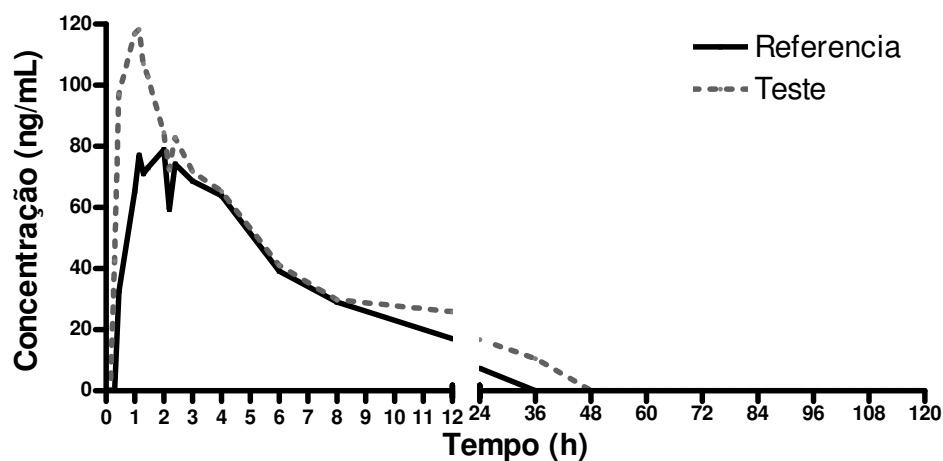


Figura 114- Curva de concentração da voluntária 26, sequência RT.

Tabela 123- Medidas farmacocinéticas da voluntária 26 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Acetato de Ciproterona 2mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,052	0,049
T1/2 (h)	13,27	14,02
Cmax (µg*mL-1)	65,34	56,61
Tmax (h)	0,45	1,30
ASC0-t (µg*h*mL-1)	599,80	655,40
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	715,10	793,80

**Figura 115-** Curva de concentração da voluntária 27, sequência RT.**Tabela 124-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 27 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,068	0,037
T1/2 (h)	10,17	18,32
Cmax (µg*mL-1)	78,90	118,26
Tmax (h)	2,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	682,20	1035,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	790,50	1477,40

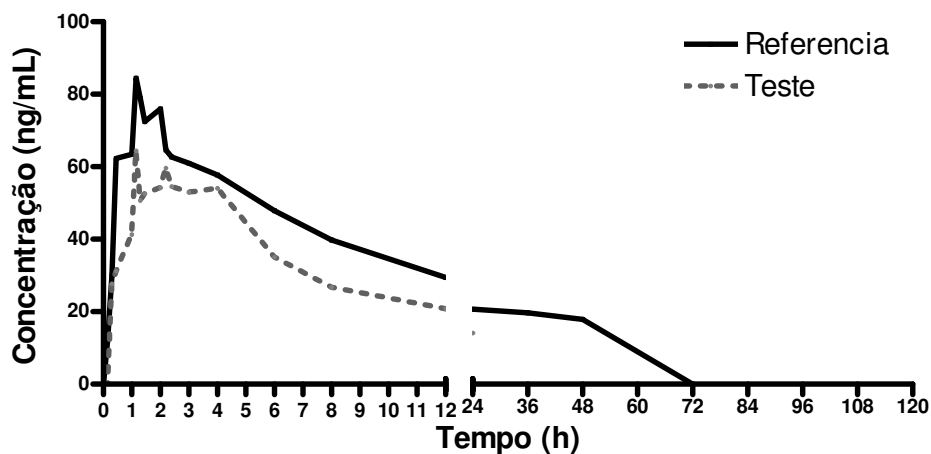


Figura 116- Curva de concentração da voluntária 28, sequência RT.

Tabela 125- Medidas farmacocinéticas da voluntária 28 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,006	0,032
T1/2 (h)	114,31	21,19
Cmax (µg*mL-1)	84,43	64,35
Tmax (h)	1,15	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1580,10	647,60
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	4528,90	1080,20

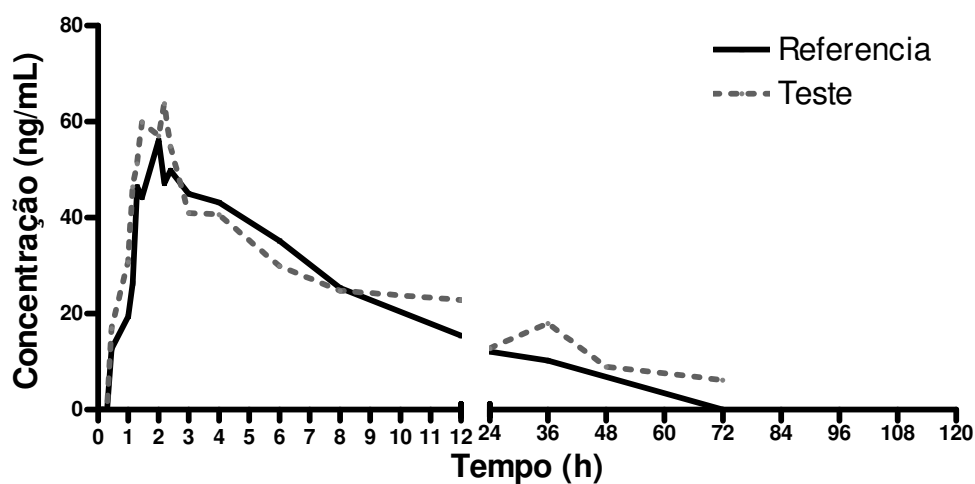
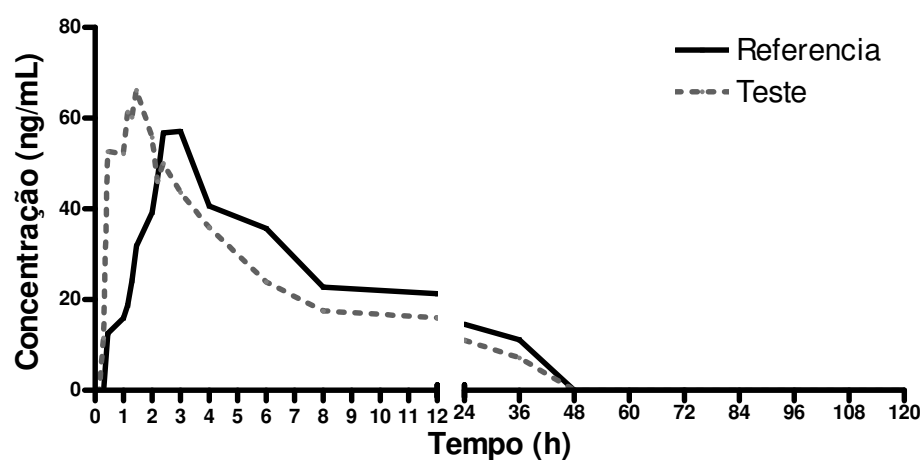


Figura 117- Curva de concentração da voluntária 30, sequência RT.

Tabela 126- Medidas farmacocinéticas da voluntária 30 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,020	0,020
T1/2 (h)	34,44	34,01
Cmax (µg*mL-1)	56,12	63,79
Tmax (h)	2,00	2,20
ASC0-t (µg*h*mL-1)	856,30	1122,30
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1364,00	1425,50

**Figura 118-** Curva de concentração da voluntária 31, sequência TR.**Tabela 127-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 31 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,030	0,028
T1/2 (h)	22,79	24,00
Cmax (µg*mL-1)	57,07	66,17
Tmax (h)	3,00	1,45
ASC0-t (µg*h*mL-1)	814,20	635,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1180,50	1018,20

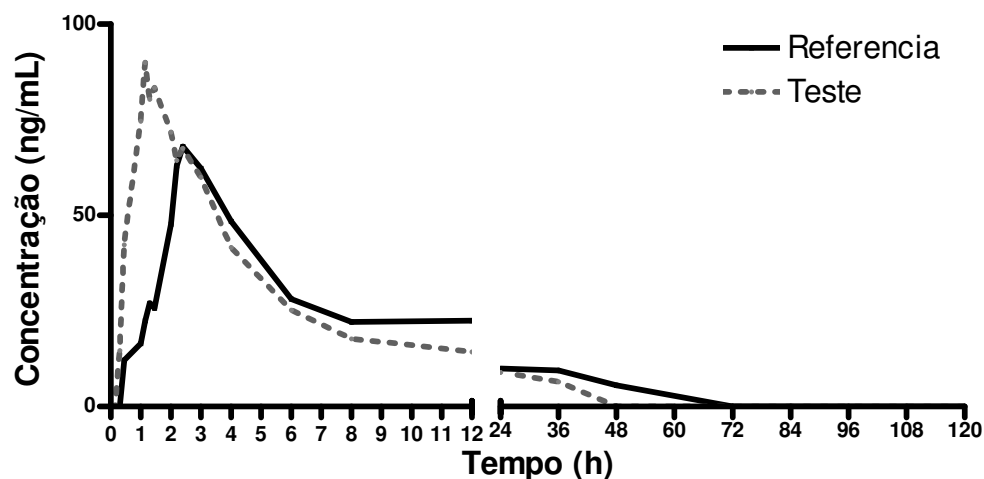


Figura 119- Curva de concentração da voluntária 32, sequência RT.

Tabela 128- Medidas farmacocinéticas da voluntária 32 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,031	0,028
T1/2 (h)	22,03	24,64
Cmax (µg*mL-1)	68,03	89,97
Tmax (h)	2,44	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	834,00	670,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1008,80	899,10

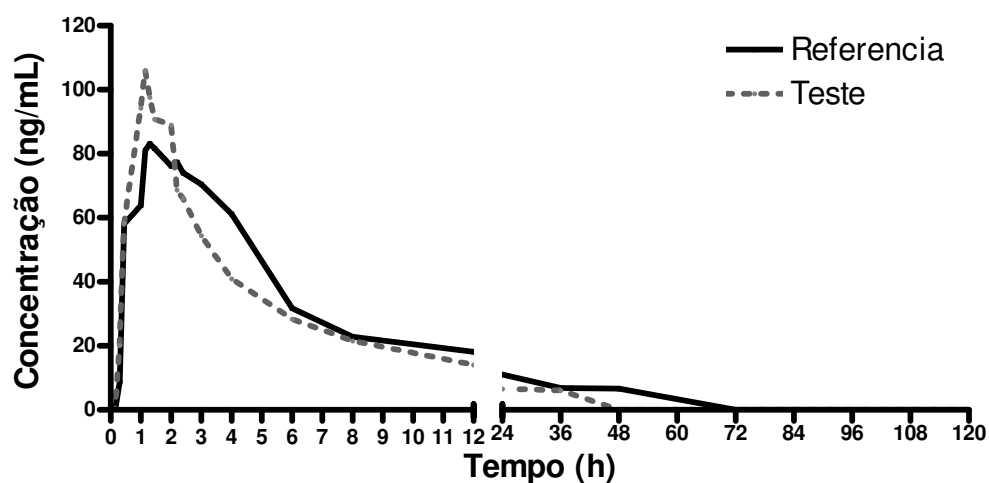
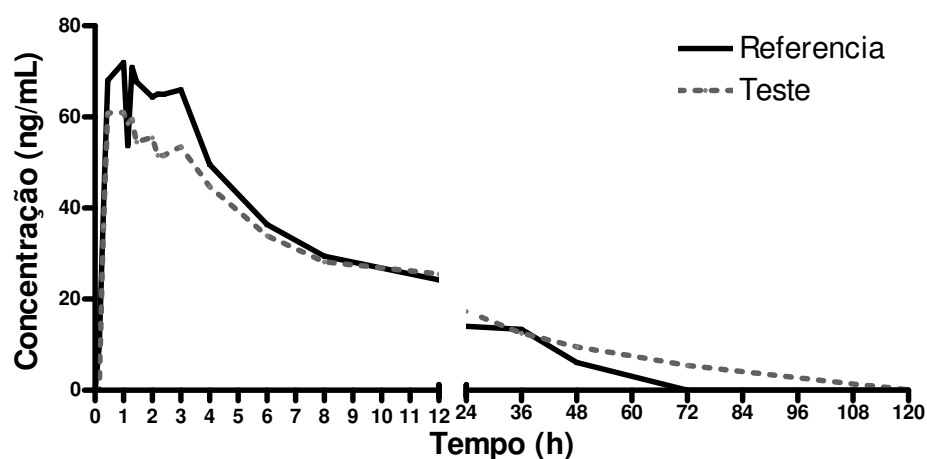


Figura 120- Curva de concentração da voluntária 33, sequência TR.

Tabela 129- Medidas farmacocinéticas da voluntária 33 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,027	0,037
T1/2 (h)	25,40	18,31
Cmax (µg*mL-1)	83,19	105,90
Tmax (h)	1,30	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	927,40	687,00
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1169,90	845,50

**Figura 121-** Curva de concentração da voluntária 34, seqüência RT.**Tabela 130-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 34 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,031	0,023
T1/2 (h)	21,94	30,07
Cmax (µg*mL-1)	71,94	60,99
Tmax (h)	1,00	1,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1067,70	1301,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1260,10	1538,70

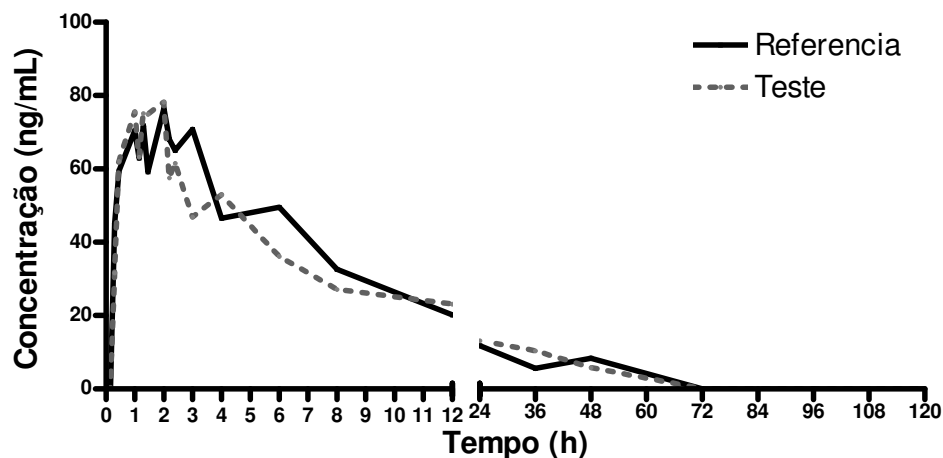


Figura 122- Curva de concentração da voluntária 35, sequência RT.

Tabela 131- Medidas farmacocinéticas da voluntária 35 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,045	0,034
T1/2 (h)	15,15	20,28
Cmax (µg*mL-1)	76,56	78,21
Tmax (h)	2,00	2,03
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1012,00	1005,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1195,60	1175,60

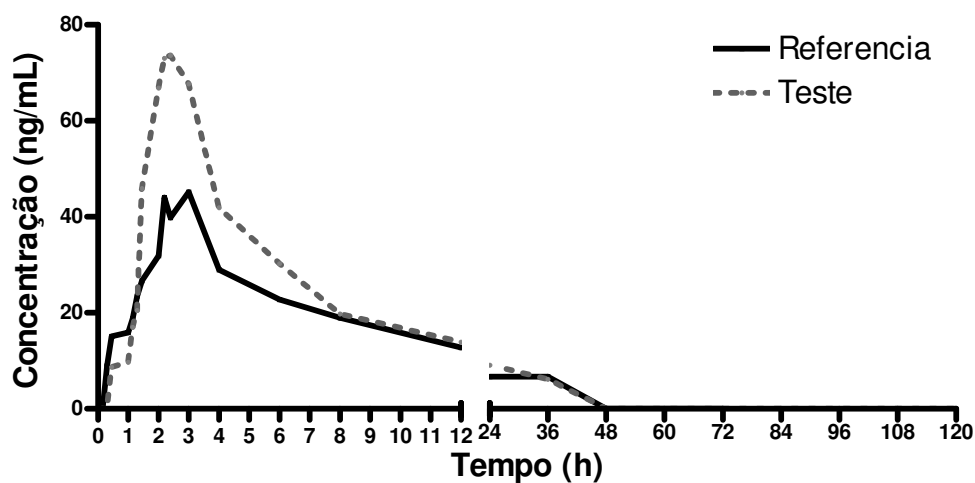
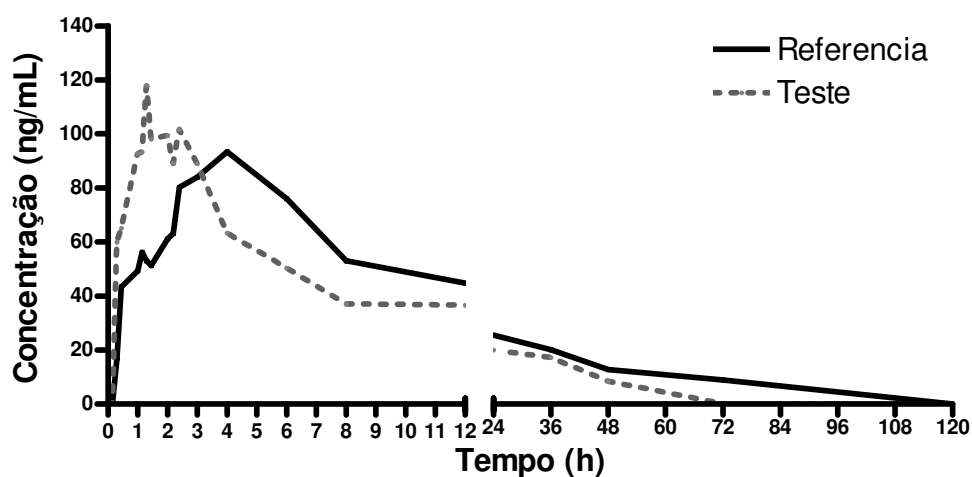


Figura 123- Curva de concentração da voluntária 36, sequência TR.

Tabela 132- Medidas farmacocinéticas da voluntária 36 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,050	0,034
T1/2 (h)	13,60	19,85
Cmax (µg*mL-1)	45,15	73,63
Tmax (h)	3,00	2,40
ASC0-t (µg*h*mL-1)	460,40	630,50
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	592,50	808,10

**Figura 124-** Curva de concentração da voluntária 38, sequência TR.**Tabela 133-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 38 dos medicamentos R e T.

Parâmetros Farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,023	0,019
T1/2 (h)	29,62	36,14
Cmax (µg*mL-1)	93,34	94,28
Tmax (h)	4,00	1,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	2073,87	1237,00
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	2454,38	1834,60

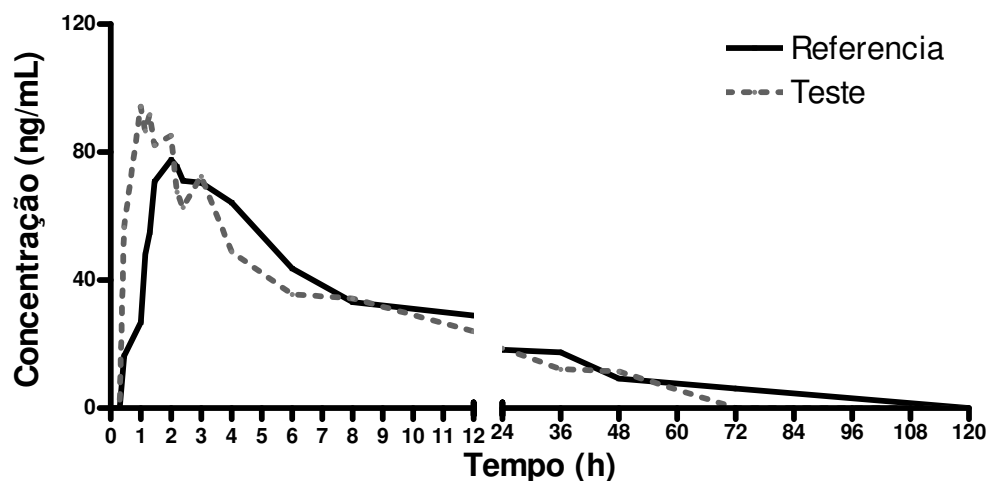


Figura 125- Curva de concentração da voluntária 39, sequência RT.

Tabela 134- Medidas farmacocinéticas da voluntária 39 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,027	0,030
T1/2 (h)	25,33	22,59
Cmax (µg*mL-1)	77,68	94,10
Tmax (h)	2,00	0,45
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1509,20	893,40
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1732,80	1061,30

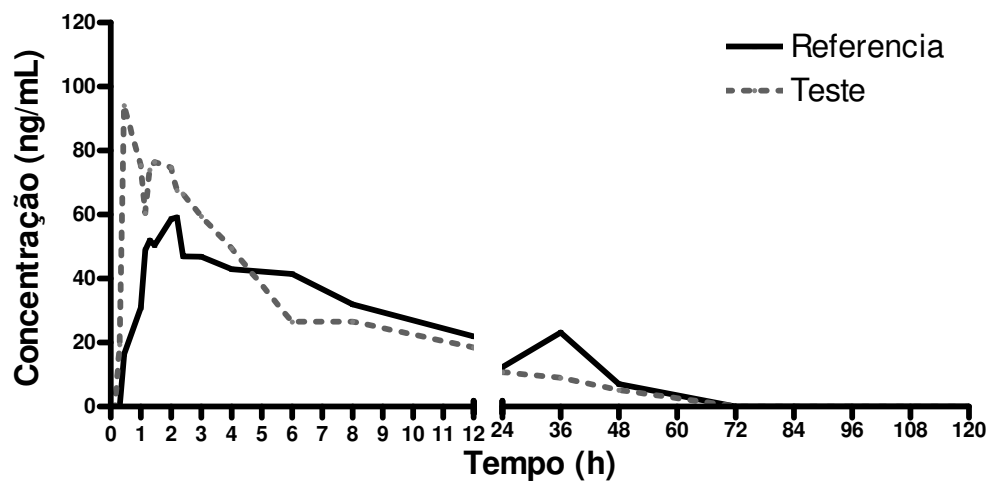
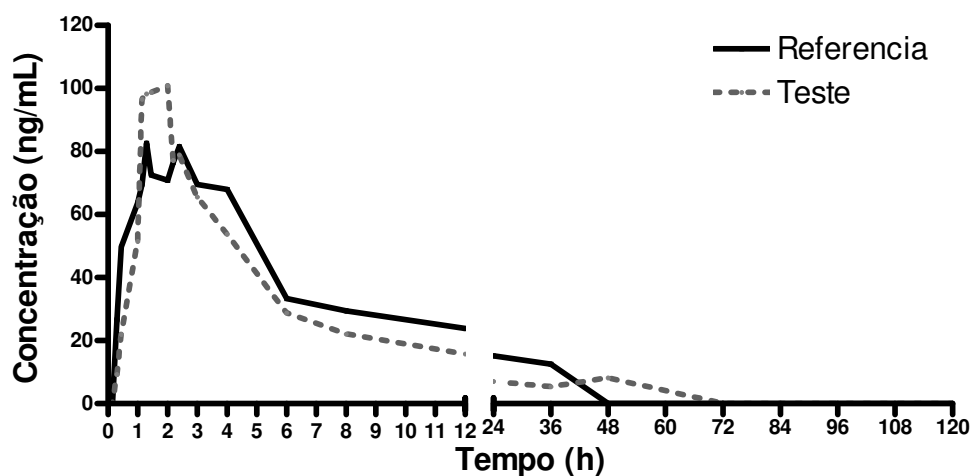


Figura 126- Curva de concentração da voluntária 40, sequência TR.

Tabela 135- Medidas farmacocinéticas da voluntária 40 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,040	0,055
T1/2 (h)	17,26	12,42
Cmax (µg*mL-1)	59,11	100,87
Tmax (h)	2,20	2,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1086,00	851,40
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1260,60	998,00

**Figura 127-** Curva de concentração da voluntária 41, sequência RT.**Tabela 136-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 41 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,017	0,031
T1/2 (h)	39,38	21,76
Cmax (µg*mL-1)	82,69	83,58
Tmax (h)	1,30	1,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	985,10	879,90
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1699,20	1051,30

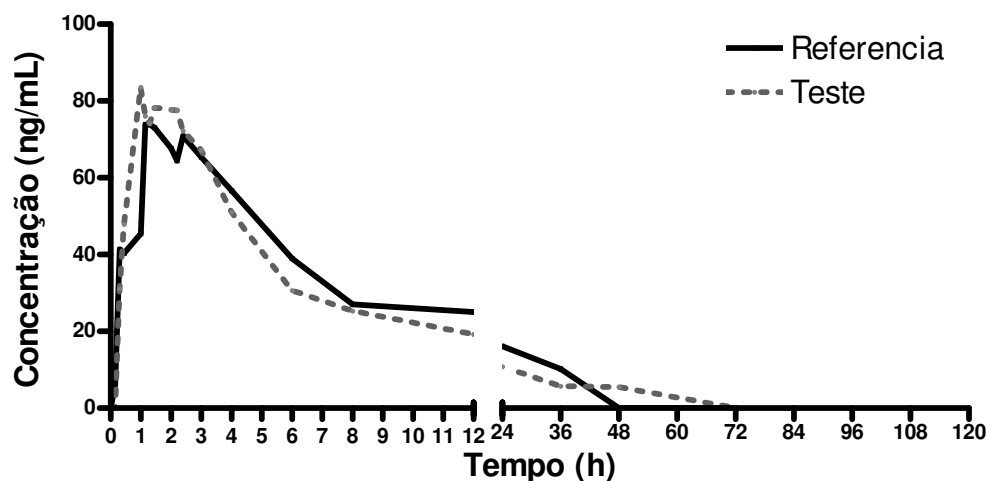


Figura 128- Curva de concentração da voluntária 42, sequência TR.

Tabela 137- Medidas farmacocinéticas da voluntária 42 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Ethinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-l)	0,033	0,028
T1/2 (h)	20,60	24,20
Cmax (µg*mL-l)	73,86	112,07
Tmax (h)	1,30	0,45
ASC0-t (µg*h*mL-l)	952,70	1039,70
ASC0-∞ (µg*h*mL-l)	1255,30	1253,00

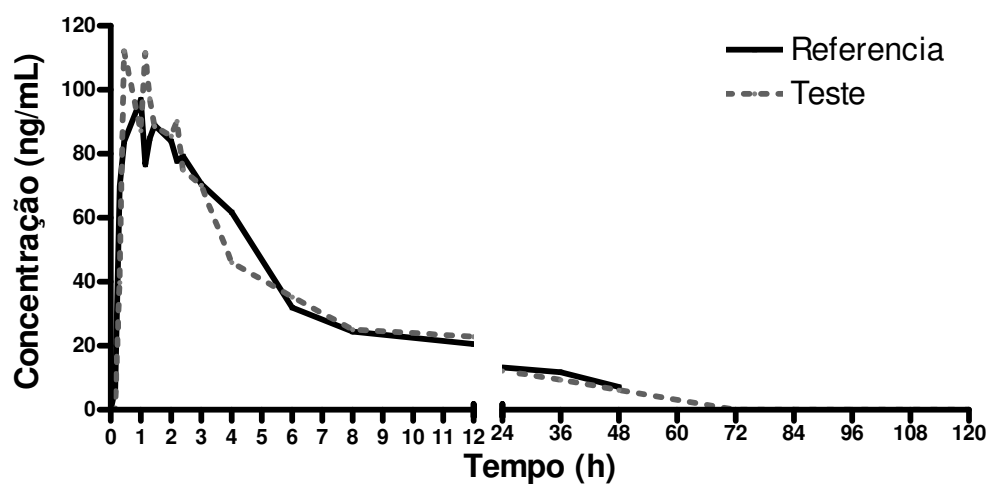
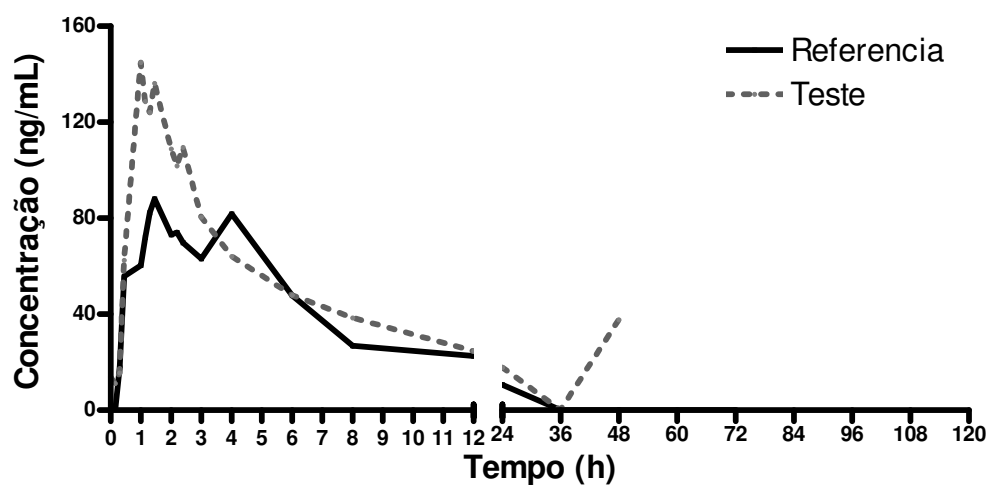


Figura 129- Curva de concentração da voluntária 43, sequência TR.

Tabela 138- Medidas farmacocinéticas da voluntária 43 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,025	0,026
T1/2 (h)	26,82	26,19
Cmax (µg*mL-1)	96,96	144,87
Tmax (h)	1,00	1,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1007,50	1245,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1283,70	2669,80

**Figura 130-** Curva de concentração da voluntária 44, seqüência RT.**Tabela 139-** Medidas farmacocinéticas da voluntária 44 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,062	0,020
T1/2 (h)	11,09	33,78
Cmax (µg*mL-1)	88,04	104,94
Tmax (h)	1,45	1,00
ASC0-t (µg*h*mL-1)	817,80	1185,20
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	988,20	1970,40

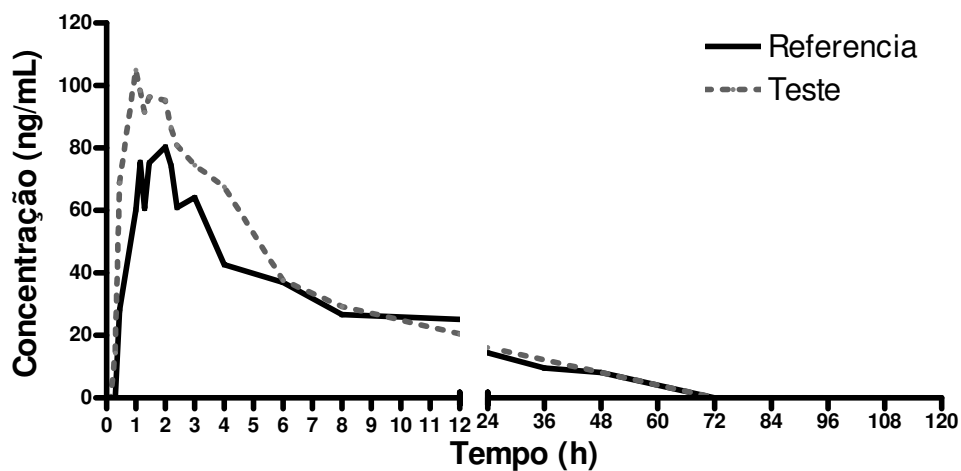


Figura 131- Curva de concentração da voluntária 46, seqüência TR.

Tabela 140- Medidas farmacocinéticas da voluntária 46 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,023	0,060
T1/2 (h)	29,25	11,41
Cmax (µg*mL-1)	80,36	82,45
Tmax (h)	2,00	1,15
ASC0-t (µg*h*mL-1)	1036,30	927,80
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1381,50	1012,60

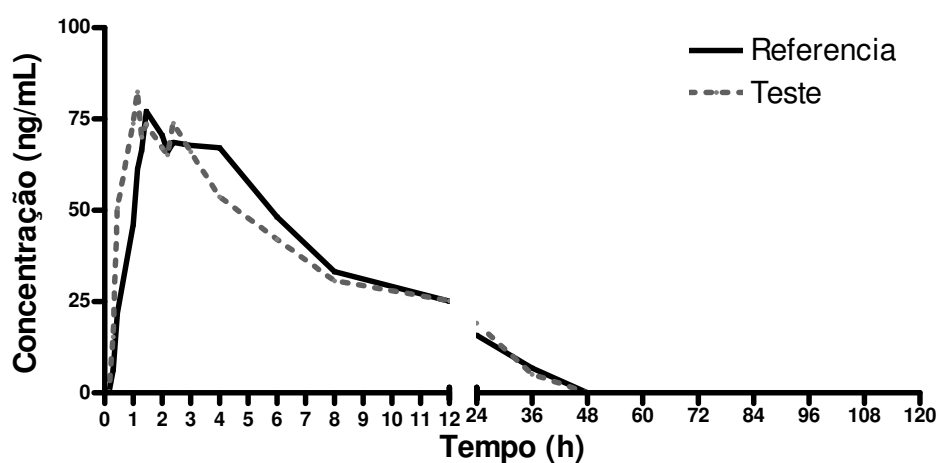


Figura 132- Curva de concentração da voluntária 47, seqüência RT.

Tabela 141- Medidas farmacocinéticas da voluntária 47 dos medicamentos R e T.

Parâmetros farmacocinéticos	Etinilestradiol 0,035mg	
	Referência	Teste
Kel (h r-1)	0,061	0,009294
T1/2 (h)	11,31	74,58
Cmax (µg*mL-1)	77,13	91,00
Tmax (h)	1,45	1,30
ASC0-t (µg*h*mL-1)	964,00	102,15
ASC0-∞ (µg*h*mL-1)	1074,40	117,35

Modelo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“TÍTULO DO ESTUDO”

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade.

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Responsáveis: Dr. Ney Carter do Carmo Borges e Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

INFORMAÇÕES BÁSICAS SOBRE A MEDICAÇÃO

NOME DO PRINCÍPIO ATIVO. É um medicamento utilizado no tratamento de INDICAÇÃO.

PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é verificar se FÁRMACOS E EMPRESA QUE PRODUZIU atingem níveis no sangue do medicamento FÁRMACOS E EMPRESA QUE PRODUZIU. Você receberá FÁRMACO, cada uma em um período de internação diferente. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá a um sorteio realizado por computador (randomização).

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir a Synchrophar para avaliar a sua condição de saúde.

Após participar da palestra informativa e realizar o cadastro de dados pessoais, você será encaminhado para consulta de enfermagem e realização de consulta de enfermagem (história clínica, dados antropométricos, sinais vitais e teste de hemoglobímetria). Em posse do resultado do teste de hemoglobímetria, dados antropométricos e sinais vitais, segundo o critério de inclusão do estudo, será definido pelo prosseguimento do voluntário no processo

de recrutamento, considerando apto ou inapto, se for considerado inapto, este recebe as orientações pertinentes e se necessário, será encaminhado para o serviço de saúde. Os voluntários aptos, serão encaminhados para consulta médica, para realização de exame físico e anamnese. Caso o voluntário seja considerado apto será encaminhado para fazer exames, segundo Resolução RE 894, de 29 de maio de 2003 (Hemograma, bioquímica, teste de gravidez (HCG) para as mulheres e sorologia para HIV, Hepatite B e C) e exames complementares, caso contrário o voluntário receberá as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Após o recebimento e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais e complementares, o médico avaliará a aptidão do voluntário para participação no estudo ou, em caso contrário, receberá orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde.

No dia de sua internação no Hospital NOME DO HOSPITAL você passará por um outro exame clínico e de enfermagem no qual serão verificados: seu pulso, sua temperatura e sua pressão. Caso você seja mulher, deverá fazer um exame de detecção de gravidez HCG (na urina).

Você não poderá levar consigo alimentos e bebidas e nem outros objetos que não sejam de uso pessoal (roupas íntimas, xampu, condicionador, sabonete). Você terá seus pertences revistados para checar que você está cumprindo o que foi estabelecido neste parágrafo.

Ao chegar no Hospital, você será encaminhado para um quarto, onde será realizado o jantar e depois dormirá. Você deverá ficar no quarto não podendo circular pelo Hospital. Durante o estudo, você será internado X vezes por aproximadamente XX horas cada período, com intervalo mínimo de XX dias. Todas as internações serão realizadas da mesma maneira, inclusive com o mesmo cardápio.

Em cada período de internação a) Você deverá permanecer em jejum por pelo menos XX horas antes da medicação, b) será puncionada uma veia em seu braço que deverá ficar até o final da internação, c) será retirada uma amostra de XX mL de sangue antes da administração da medicação, d) será administrado FÁRMACO acompanhado de XX mL de água sem gás, e) serão coletadas XX amostras (XX em cada período) de sangue de XX mL cada, através de agulha que foi colocada na veia do seu braço, f) em intervalos regulares

será verificada sua pressão, pulso e temperatura, g) serão servidas refeições padronizadas (DIETAS PREVISTAS EM PROTOCOLO) e bebidas em horários preestabelecidos.

Um total de XXX mL de sangue serão colhidos durante todo o estudo. A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em XX dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

RESPONSABILIDADES DO VOLUNTÁRIO

É condição indispensável, para participação no estudo, que você esteja em boas condições de saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações e não poderá ter doado sangue nos últimos XX meses. Você também não poderá ter participado de qualquer estudo clínico que envolva medicamento pelo menos nos últimos XX meses.

Você não poderá:

a) XX horas que antecedem a administração pretendida da droga até a última coleta de sangue: ingerir bebidas alcoólicas, b) XX horas antes da primeira coleta de sangue até o exame de acompanhamento: praticar exercícios físicos muito intensos; c) XX horas que antecedem a administração da medicação até a última coleta de sangue: tomar bebidas contendo cafeína e xantinas, como por exemplo, café, chá, coca-cola, chocolate. Em caso de necessidade, perguntar para os responsáveis pelos telefones que se encontram no final deste termo.

É ainda de sua responsabilidade em relação à sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às internações na data e horários informados, b) tomar toda a medicação prevista, c) ingerir toda a alimentação e líquidos previstos, d) retornar à unidade na data e horário combinados para a realização da consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

Caso você seja mulher, é condição indispensável para participação no ensaio clínico que você não esteja grávida. Isso será comprovado por exame de gravidez no sangue (HCG) e por exames feitos através da urina (urofita) antes de cada uma das internações. Sua participação não será permitida caso você engravide após a realização dos exames clínico-laboratoriais, se você estiver amamentando ou se estiver pretendendo engravidar durante o

prazo de duração do estudo. Caso, mesmo tendo considerado estas precauções, vier a suspeitar que engravidou durante a participação no estudo, deverá comunicar imediatamente o fato à equipe e deverá interromper sua participação sem prejuízo dos seus direitos.

RESPONSABILIDADES DA SYNCHROPHAR

É de responsabilidade do nosso Investigador, garantir que você receba um tratamento definitivo para qualquer evento adverso (eventos não programados que afetam a saúde), se necessário. Os eventos adversos deverão ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais (quando indicados) até que os resultados dos exames voltem ao normal.

Estas atividades podem permanecer mesmo após o estudo ter sido completado.

A equipe da Synchrophar irá monitorar a sua segurança clínica desde a ocorrência de um evento adverso até a recuperação satisfatória.

Em casos de emergência o Hospital de internação estará dando todo o suporte que você precisar.

POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

A VIA DE ADMINISTRAÇÃO de FÁRMACO pode causar efeitos colaterais como:
DESCRIÇÃO DE POSSÍVEIS EFEITOS ADVERSOS DO FÁRMACO

Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

A retirada de sangue é um procedimento seguro. Pode causar um leve desconforto devido à picada da agulha e ocasionalmente, uma mancha roxa pequena no local da picada.

BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES

A participação neste estudo, não tem o objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo traga qualquer benefício em função do tratamento.

INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento, sem qualquer custo. Não haverá, no entanto qualquer compensação de ordem financeira em função do ocorrido, a não ser que a condição faça jus à indenização prevista no Seguro de Vida em Grupo mencionado abaixo. Contudo, ao assinar este termo, você não está renunciando qualquer direito legal que você possui.

Durante o período de XXX dias a partir da data da assinatura deste termo, você estará assegurado pelo Seguro de Vida em Grupo da NOME DA SEGURADORA.

RESSARCIMENTO

Você será ressarcido no valor de R\$ XXX (VALOR POR EXTENSO) para as despesas e tempo despendido para a realização deste estudo. No entanto, este ressarcimento só será efetuado após a consulta de alta. Caso desista ou seja dispensado antes do estudo ser finalizado você receberá no final do estudo, o valor proporcional ao tempo despendido. A sua desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento.

Estima-se que durante o período de sua participação no estudo você terá como despesa apenas os gastos de deslocamento da sua residência ou trabalho até a Synchronphar para a realização dos exames e consultas. O transporte da Synchronphar até o Hospital NOME DO HOSPITAL será providenciado pela Synchronphar. Ainda devem ser previstas eventuais visitas posteriores para acompanhamento dos eventos adversos. O ressarcimento destas despesas já está incluído no valor estabelecido no item acima.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

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

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

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

A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da Synchrophar.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo mesmo por ocasião da publicação dos resultados obtidos desta pesquisa.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética e Pesquisa Clínica, ou autoridades do(s) órgão(s) governamentais envolvido(s) na fiscalização e acompanhamento do estudo terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, com o propósito de verificar os procedimentos e dados do ensaio, sem, no entanto violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizando tal acesso, mesmo se você se retirar do estudo.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja alguma intercorrência você deverá procurar a Synchronphar (Fone 3233-7300) e pedir que façam contato com os médicos responsáveis pelo ensaio clínico ou então entrar em contato diretamente com os responsáveis nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento.

Você pode contatar o Dr. Ney Carter do Carmo Borges para receber informações adicionais, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário, e também a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp (Fone 3521-8936) para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

Após a reunião e leitura deste documento junto com a enfermeira responsável, e o médico disponível, no momento da assinatura do TCLE, caso ocorram dúvidas, você obteve todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

Se você concorda com as condições do estudo, leia e assine o documento abaixo.

Eu, _____, _____ anos, RG _____, declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que tive oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo e também sobre o Estudo. Recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo, sob responsabilidade do Dr. Ney Carter do Carmo Borges, do Dr. Ronilson A. Moreno e das Enfermeiras Responsáveis da Synchronphar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda.

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

Ao assinar este Termo de Consentimento estou autorizando o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe e a monitores, auditores, membros do Comitê de Ética em Pesquisa e membros de órgãos regulamentares envolvidos, nas condições descritas acima.

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

X	X	
Nome do Voluntário	Data	Assinatura

Responsável pela obtenção do termo de consentimento	Data	Assinatura
---	------	------------

Testemunha	Data	Assinatura
(Necessário somente se o voluntário não souber ler)		

CONTATOS:

Dr. Ney Carter do Carmo Borges (19) 9304 7658	Dr. Ronilson Agnaldo Moreno (19) 9304 7654
--	---

10- APÊNDICES

Manuscript Submission

----- Original Message ----- From: "Journal of Chromatography B"
<chromb@elsevier.com>
To: <carsver@synchronphar.com>
Sent: Friday, March 14, 2008 9:43 AM
Subject: Journal of Chromatography B Submission: Manuscript Number Assigned

Ms. No.: JCB-08-298

Title: Cyproterone quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to Atmospheric pressure photoionization (APPI) tandem mass spectrometry. Application to a comparative pharmacokinetics study.
Corresponding Author: Mr. Ney Carter Borges

Dear Mr. Borges,

Your submission, referenced above, has been assigned the following manuscript number:
JCB-08-298

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author:

<http://ees.elsevier.com/chromb/>

Your username is: neycarter

Your password is: borges76356

Thank you for submitting your work to Journal of Chromatography B.

Kind regards,

Dennis Smit
Journal Manager
Journal of Chromatography B

Cyproterone quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to Atmospheric pressure photoionization (APPI) tandem mass spectrometry. Application to a comparative pharmacokinetics study.

Ney Carter do Carmo Borges^{1,2*}, Ana Mazuqueli^{1,3}, Ronilson Agnaldo Moreno^{1,3}, Rafael Barrientos Astigarraga⁴, Carlos Eduardo Sverdloff^{1,3}, Paulo Alexandre Rebelo Galvinas⁴, Maurício Rocha de Magalhães Sampaio⁴, Washington Moreira da Silva⁴.

¹Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda: 38, Dr. Cândido Gomide st., Campinas, SP – Brazil. 13070-200. Fax: (19) 3236-8014. e-mail: synchrophar@synchrophar.com

²Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, SP, Brazil. Phone (0055-19) 3521-8869, Fax: (0055-19) 3521-8867

³Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas (UNICAMP), PB 6111, 13083-970, Campinas, SP, Brazil. Phone (0055-19) 3251-9535, Fax: (0055-19) 3289-2968

⁴Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas, 22215, Nações Unidas Av., Jurubatuba, SP – Brazil. 04795-100. Phone (0055-19) 5521-0232.

Key words: CYP, bioequivalence, liquid chromatography tandem mass spectrometry, pharmacokinetics

Running title: CYP bioequivalence study

*** Author for correspondence:**

Ney Carter do Carmo Borges, MD, Ph.D., FACC, FACP.
38, Dr. Candido Gomide st.
Campinas, SP
Post code: 13070-200
Fax: (0055-19) 3236-8014
E-mail: medney@synchrophar.com

Abstract

A specific, fast and sensitive high performance liquid chromatography coupled to atmospheric pressure photoionization (APPI) tandem mass spectrometric (LC–MS/MS) assay was developed for the determination of cyproterone acetate (CYP) in human plasma. The retention times were 3.8 min and 3.7 min for CYP acetate and its internal standard finasteride (FIN), respectively. The overall mean recovery, using liquid/liquid extraction, was found to be 109.0, 107.7 and 100.3 %, for low, medium and high concentrations, respectively. Calibration curves were linear in the concentration range of 0.1 – 50.0 ng/mL, and the lower limit of quantification (LLIQ) was 0.1 ng/mL. The LLIQ, 0.1 ng/mL, was sensitive enough for detecting terminal phase concentrations of the drug. Inter-batch precision of the method ranged from 2.2 to 5.5%, while Inter-batch accuracy ranged from 95.5 to 100.0%. Intra-batch precision ranged from 1.8 to 5.6%, while Intra-batch accuracy ranged from 92.0 to 99.4% at concentrations of 0.3, 20.0 and 40.0 ng/mL. The developed method was applied to a bioequivalenc study of CYP in a group of 44 female volunteers at a single oral dose of a 2 mg tablet, in a combination of ethinylestradiol/CYP acetate (0.25mg/2 mg). The plasma concentration of CYP acetate did not differ significantly after administration of both formulations (test formulation and the reference Diane[®]). The geometric mean and respective 90% CI of CYP acetate test/reference percent ratios were 90.66% (84.39 – 97.40%) for $C_{\max}$ and 96.20% (90.45 – 102.33%) for AUC_{0-t} .

1. Introduction

CYP [6-chloro-1 β , 2 β - dihydro- 17 α - hydroxy-3'H-cyclopropa[1,2]-pregna-1,4,6-triene-3,20-dione acetate] is a steroid hormone with antiandrogenic and progestogenic properties, which has been used in the therapy of prostate carcinoma in men, and for the treatment of severe acne and hirsutism in women (Baumann *et al.*, 1996). It can be used alone or in combination with, for example, ethinylestradiol, in the treatment of women suffering from disorders associated with androgenization such as hirsutism and acne (Baumann *et al.*, 1996),(Speck *et al.*, 1976).

CYP has been measured by several methods such as radioimmunoassays (Nieuweboer *et al.*, 1977), (Kuhnz *et al.*, 1997),(Dusterberg, 1984), (Fiet *et al.*, 2000), high-performance liquid chromatography (HPLC) (Bebawy *et al.*, 2001), (Dikkeschei *et al.*, 1990), (Yodo *et al.*, 1988), (Cannell *et al.*, 1981; Frith *et al.*, 1985) and even mass spectrometry (Matejicek *et al.*, 2007) were used. These methods are sensitive, but are time consuming and prone to cross reactivity by endogenous steroids, co-administrated steroids and their metabolites.

With the introduction of low dose combination of oral contraceptive compounds, there has been a growing concern about the possible interaction with co-administered drugs, and potential failure of contraception in women using these low doses formulations. When a new oral contraceptive formulation is developed, it is crucial to ensure the optimum hormone exposure during the concomitant therapy.

The main objective of this study was to develop a fast, sensitive and robust method to quantify CYP in human plasma using finasteride (FIN) as the internal standard (IS). Samples were extracted using LLE and analyzed by high performance liquid chromatography coupled to atmospheric pressure photoionization (APPI) tandem mass spectrometry (HPLC/MS/MS). This method was applied to assess the bioequivalence in healthy volunteers of two low dose ethinylestradiol tablet formulations. The bioequivalence study was conducted as a single-dose, two-way, open, randomized crossover design with a 28 days washout period between the doses and 44 healthy women volunteers were included.

2. Experimental methods

2.1. Chemicals and materials

CYP and FIN were purchased from Sigma-Aldrich (USA) as Chemical Reference Standards (batches 034K1068 and 075K4712, respectively). Methanol HPLC grade and toluene analytical grade used during the assay were purchased from Carlo Erba do Brasil (Brasil). Hexane and diethyl ether were purchased from Mallinckrodt (USA). Human Plasma samples (normal, hyperlipemic and hemolyzed) came from distinct drug free subjects (six different lots) and were obtained from MAGABI Pesquisas Clínicas Farmacêuticas Ltd. (São Paulo, Brazil).

2.2. Chromatographic conditions

The liquid chromatography experiments were performed on an Alltech Altima HP C18, 5 μ m analytical column (150 x 4.6mm i.d.) coupled to a Alltech Altima HP C18, 5 μ m (7.5 x 4.6mm i.d.) guard-column operating at room temperature. The chromatographic system was set up taking the following components: two pumps and a Reliance autosampler (kept at 6°C (Symbiosis Pharma, Spark Holland, The Netherlands. Cyproterone and finasteride were eluted isocratically with methanol and water (80:20, v/v) using formic acid or ammonium acetate to adjust to pH 3.1. The total run time was 5 min and the retention times were 3.8 $\pm$ 0.3 and 3.7 $\pm$ 0.3 min for CYP and FIN, respectively. Other analytical conditions were tested, using different chromatographic and mass conditions as nebulizer gas source and desolvation probe temperature for analyte and internal standard. Nevertheless, we had a better combination of chromatographic performance, selectivity, run time, peak size and shape when using the high performance column, a controlled elution at 90 bar and a flow rate of 1.8 ml/min.

2.3. Mass spectrometric conditions

The LC equipment was connected to a mass spectrometer API5000 system (MDS Sciex/Applied Biosystems, Canada) equipped with an atmospheric pressure photoionization source using toluene as dopant at flow rate of 0.18 mL/min.

Interface parameters and the dopant flow rate were optimized during infusion of the CYP and IS through the interface connected with the LC system and were as follows: declustering potential 120 V, heater temperature 380°C, ion transfer voltage 850 V, curtain gas 16.0, collision gas 12.0 and dwell time of 0.2 s for each transition. Tandem mass spectrometric analysis was performed using nitrogen as collision gas as collision energy at 23.0 eV for CYP and 32.0 eV for FIN. The collision exit potential was set to 20.0 V for CYP and 33.6 V for FIN.

The multiple reaction monitoring (MRM) detection mode was employed for the detection of both CYP and IS, monitoring the following mass transitions: m/z 417.40/357.20 and m/z 373.40/317.40 (precursor and product ion fragments) (Fig. 1A and B), respectively.

2.4. Drug standards solutions

Standard stock solutions (25 ml) of CYP and FIN were prepared, from separate weighting, in pure methanol at concentration of 1.0 mg/ml, transferred to polypropylene screw cap FalconTM tubes from Becton Dickinson (Mountainview, CA) and kept at -20 °C. Intermediary solutions of CYP and FIN were prepared in 50% methanol/water (50:50, v/v), by appropriate dilution of stock solutions.

All calibration curve samples (non-zero samples), except blank plasma, were prepared by spiking four different blank plasma batches of the intermediary CYP solutions, to yield final plasma concentrations of 0.1; 0.2; 1.0; 2.0; 5.0; 10.0; 30.0, and 50.0 ng/mL.

2.5. Quality control(QC) samples

The QCs samples were prepared by spiking different blank plasma aliquots with the corresponding CYP intermediary standard solution to produce a final concentration equivalent to 0.3 (LQC), 20 (MQC), and 40 ng/mL (HQC) of CYP.

2.6. Sample extraction

The analyte was extracted from plasma samples, using a single liquid/liquid extraction technique. For sample preparation, 300 µl aliquot of unknown plasma samples (extracted along with the calibration standards and QCs) were transferred to polypropylene tubes (Eppendorff), then 50 µl of IS (1 ng/mL) was added each sample. After vortex mixing for

10 s, ether–hexane (80:20, v/v) was added (3 ml) to all the tubes and extraction was performed by vortex mixing for 40 s. Samples were centrifuged at 2000 r.p.m for 2 min at 4°C and frozen at -30°C for 2 min. The organic phase was transferred to another set of clean glass tubes and evaporated to dryness under N₂ at 40°C for 10 min. The dry residues were reconstituted in 300 µl of methanol–water (50:50, v/v), vortex mixed for 10 s and transferred to 96-well plates using an automatic pipette with a disposable plastic tip. The 96-well plates were transferred to the auto-injector maintained at 6°C.

2.7. Method validation

2.7.1. Specificity

Presence of non-specific peaks and interference from plasma components were evaluated in six different matrices: 4 different sources of normal plasma as well as lipemic and hemolized. All samples were processed by the liquid–liquid extraction procedure and chromatographed to determine the extent to which endogenous plasma components may contribute to the interference at retention time of analyte and internal standard. On the day of the study, all volunteers had a blank plasma sample collected before drug administration. Any interference at the analyte and IS retention time should not account for more than 20% of LLIQ and 5% of the peak response area in the concentration used in the method, respectively.

2.7.2. Linearity

Calibration curves were constructed using eight non-zero standard points covering the range of 0.1 to 50.0 ng/ml. In addition, a blank (non-spiked sample) and a zero plasma sample (only spiked with IS) were run to discard the presence of interferences. Plasma samples were spiked in single, except for the LLIQ and ULIQ which have added as duplicate, at concentrations of 0.1, 0.2, 1, 2, 5, 10, 30 and 50 ng/mL. The samples were extracted as described in item 2.6. The standard calibration curves for CYP were constructed using the analyte/IS peak–area ratios versus nominal concentrations of the analytes. Linear least-square regression analysis, with weighting factor of 1/x, was

performed to assess the linearity, as well as to generate the standard calibration equation: $y = ax + b$, where y is the peak–area ratio, x the concentration, a the slope and b is the intercept of the regression line.

2.7.3. Recovery

Spiked plasma samples were assayed using five replicates at three concentration levels (LQC, MQC and HQC) and extracted as already described (item 2.6). The recovery (extraction efficacy) was calculated by comparing the peak-area of the extracted sample to that of the unextracted pure authentic standard solutions.

2.7.4. Precision and accuracy

Precision and accuracy of this method were evaluated using three different batches of quality control samples HQC, MQC and LQC also including the lowest limit of quantification, LLIQ, 0.1 ng/mL. For intra-batch assay precision and accuracy, six replicates of quality control samples at the three concentration levels were assayed all at once within a day to obtain CV(%) and accuracy values. The inter-batch assay precision and accuracy were determined by analyzing mean values of quality control samples from three plasma batches, yielding the corresponding inter-batches CV(%) and accuracy values (Table 1).

2.7.5. Sensitivity

The lower limit of quantification (LLIQ) was determined for CYP, based on two criteria: (a) the analyte response at LLIQ had to be at least five times baseline noise; (b) the analyte response at LLIQ c being determined with sufficient precision and accuracy, i.e., precision of 20% and accuracy of 80–120%. Calculations were based on six replicates of three blank plasma batches.

2.7.6. Stability of analytes

2.7.6.1. Freeze–thaw stability.

Stability of CYP was assessed in plasma samples subjected to three freeze–thaw cycles of $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 24 h. Five replicates of plasma spiked with CYP at 0.3 and 40 ng/mL, underwent three freeze–thaw cycles: frozen samples were allowed to thaw at controlled room temperature and were subsequently refrozen for at least 12 h. Aliquots of all samples were quantified at the end of the third freeze–thaw cycle. Analysis of CYP concentrations were compared to fresh samples not subjected to the freeze–thaw cycles and expressed in percentage of degradation.

2.7.6.2. Short term storage stability.

Five replicates of LQC and HQC were subjected to a natural thaw process, at room temperature. All samples remained on the benchtop for a time exceeding the maximum period of time expected for routine sample preparation (11 h). Samples were extracted and further compared to fresh prepared ones at equivalent concentration.

2.7.6.3. Post -processing stability.

Five replicates of LQC and HQC were extracted and exposed to the auto sampler rack temperature (6°C) for 55 h. Samples were further compared to fresh prepared ones at the same concentration.

2.7.6.4. Long term storage stability. The storage time of long term stability was assessed by five replicates of LQC and HQC. Samples were subjected to freeze storage ($-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) during the entire period covered by the bioequivalence study, i.e., from the first day of volunteer sample collection up to the last day of sample analysis. Storage stability was defined, comparing sample concentration to the mean values obtained at first-day analysis.

2.7.6.5. *Stock solution stability.* Internal standard and stock solutions in methanol were prepared and stored at $4\pm6^{\circ}\text{C}$. Sample aliquots of five replicates of low and high QCs (0.3 and 40 ng/mL) levels were evaluated after sitting for 14 days at $4\pm6^{\circ}\text{C}$.

2.8. *Application of the method*

The analytical method developed here was applied to evaluate comparatively the ethinylestradiol plasma concentration from two tablet formulations of etinilestradiol / CYP (0,035mg + 2mg) in healthy volunteers: Diane35[®] (reference formulation from Shering do Brasil), lot no. 1740A and Selene[®] (test formulation from Eurofarma Laboratorios Ltda.), lot no. 195/06.

Forty four healthy female volunteers aged between 21 and 45 years and index of corporal mass within 19 and 27 were selected for the study after assessment of their health status by clinical evaluation (physical examination, ECG) and the following laboratory tests: blood glucose, urea, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase, γ -GT, total bilirubin, albumin and total protein, triglyceride, total cholesterol, uric acid, hemoglobin, hematocrit, total and differential white cell counts, routine urinalysis and pregnancy test β HCG. All subjects were negative for HIV, HCV and HBV. All subjects gave written informed consent and the study was conducted in accordance with the revised Declaration of Helsinki, the rules of Good Clinical Practice (ICH-GCP) and the Resolutions No.196/96 and 251/97 of National Health Council – Health Ministry, Brazil. The clinical protocol was approved by the Research Ethics Committee of University of Campinas - UNICAMP, São Paulo, Brazil.

The volunteers had the following clinical characteristics expressed as mean $\pm$ SD (range): age 37.9 ± 5.6 years old (21–45), height 161.0 ± 0.06 cm (148.0–177.0), body weight 60.8 ± 7.4 kg (45.1–76.0). The study was a single-dose, two-way randomized crossover design with a 4 weeks washout period between the doses. The volunteers entered the Clinical Pharmacology Unit 10 h before drug administration and left the Unit 14 h after sampling. After time 0 sampling, each volunteer received a single dose of ethinylestradiol (0,035 mg of either tablet formulation) with 200 mL of water. The volunteers were then fasted for 4 h, after which period a standard lunch was served. No other food was permitted during the ‘in-house’ period and liquid consumption was allowed *ad libitum* after lunch (with the

exception of xanthine-containing drinks, including tea, coffee, and cola). The subjects were monitored throughout the study and the formulations were considered to be well tolerated.

Blood samples were collected by indwelling catheter into EDTA containing tubes before dosing and 20, 40, min and also 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 24, 48, 96, 120, 168 and 240 h post-dosing for CYP. Different times of collects were considered for ethinylestradiol. The blood samples were centrifuged at $2000\times g$ for 10 min at room temperature and the plasma stored at -20°C until analysed for CYP content.

Bioequivalence between the two formulations was assessed by calculating individual test/reference ratios for the peak of concentration (C_{max}), area under the curve (AUC) of plasma concentration until the last concentration observed (AUC_{last}) and the area under the curve between the first sample (pre-dosage) and infinite ($\text{AUC}_{0-\text{inf}}$). C_{max} and the time taken to achieve this concentration (T_{max}) were obtained directly from the curves. The areas under the CYP plasma concentration vs time curves from 0 to the last detectable concentration (AUC_{last}) were calculated by applying the linear trapezoid rule. Statistical calculations were defined at the level of $P \leq 0.10$ and bioequivalence for Diane35[®] and Selenia[®] formulations was concluded as the 90.0% confidence interval for C_{max} , AUC_{0-t} and $\text{AUC}_{0-\infty}$ fell within the range of 80.0–125.0% defined by both the Food and Drug Administration (FDA) and the National Sanitary Surveillance Agency (ANVISA). The software used included Equivtest 2.0, MS Excel 97, Tinn-R1.1, Win-Edit 2.0 and Scientific Work Place 5.0.

3. Results

3.1. Validation results

All sample analysis were carried out in a GLP-compliant manner and therefore the LC–MS/MS methods need to be carried out according to the current Brazilian Regulatory Agency (ANVISA), yet in accordance to US Food and Drug Administration Bioanalytical method validation guidance.

3.2. Assessment of linearity and specificity

Linearity was tested for the range of concentrations 0.1 – 50 ng/ml, showing good linear response to the method. Correlation coefficient ranged from 0.99950 to 0.99990. The chromatograms obtained from LLIQ and extracted blank plasma samples are depicted in Fig. 2. The CYP and I.S. retention times were 1.45 and 1.37 min, respectively.

Specificity of the response for the interfering peaks at the same retention time of the drug were less than 20% of the LLIQ response, when analyzing the blank normal plasma, and the two other batches of hemolysed and hyperlipidemic plasma (Fig. 3). The response for the interfering peaks at the retention time of the internal standard was also less than 20%, considering the response in the concentration used. Furthermore, blank plasma samples from all volunteers were run before unknown sample quantification, showing a clear chromatogram. The main reason was the clean liquid–liquid extraction besides the high selectivity of the MRM mode on LC–MS–MS spectrometer. Therefore, the high selectivity of the method was confirmed by both drug and IS, as no endogenous peaks were seen at analytical conditions previously described.

3.3. Recovery of CYP

Absolute recoveries for both CYP and IS were evaluated, according to Section 2.7.3. Results of sample extraction procedure showed an overall mean value of 105.7%. At different QCs levels (Low, Medium and High) it was as follows: 109.0, 107.7, and 100.3 %, respectively. The IS recovery was 106.2%, showing a very efficient and selective extraction procedure.

3.4. Accuracy and precision measurement

Intra-batch precision and accuracy of the assay was measured for CYP and IS (enalapril) at each QC level (0.3, 30.0 and 40.0 ng/ml). Method intra-batch precision and accuracy (% CV) ranged from 1.8 to 5.6%, and 92 to 99.4%, respectively. Method inter-batch precision (% CV) and accuracy ranged from 2.2 to 5.5%, and 95.5 to 100%, respectively, as presented in Table 1.

These results were within the acceptance criteria for precision and accuracy, i.e., deviation values were within $\pm 15\%$ of the authentic values, except for LLIQ, which could show a $\pm 20\%$ deviation.

For sensitivity determination, the lower limit of quantification (LLIQ) for CYP was found to be 0.1 ng/ml. The intra-batch precision and accuracy (% CV) ranged from 4.2 to 8.9 and 91.5 and 103.5%, respectively, while the inter-batch precision and accuracy (% CV) were 7.7 and 100%, respectively. In this work, the LLIQ signal-to-noise ratio was 13.03 units, which means that it could be brought to a lower level of detection, although the purpose of this study had already been reached.

3.5. Assessment of stability

3.5.1. Stock solution stability

Following fourteen days of CYP storage in methanol, differences in analysis of stored and fresh stock solutions were 8.2% (%CV of 2.0% for extracted and 0.9% for unextracted) for low QC, and 5.0% (%CV of 2.5% for extracted and 2.1% for unextracted) for high QC samples. IS samples showed a variation of -8.0% (%CV of 1.2% for extracted and 2.7% for unextracted). All of them were within analytical method acceptance criteria, i.e., not higher than 15% of fresh solutions.

3.5.2. Short term stability (STS)

Eleven hour ciproterone stability in plasma was assessed according to Section 2.7.6.2. After extraction procedure and kept for 11 h at room temperature, differences in analysis of stored and fresh stock solutions were -0.4% (%CV of 5.4% for extracted and 2.9% for unextracted) for low QC, and -8.3% (%CV of 1.6% for extracted and 2.3% for unextracted) for high QC samples. Therefore, the difference between fresh and stored samples was within allowed variability range.

3.5.3. Post-processing stability

After thaw and 55 h sitting in the autosampler, stability assessment of samples showed a reliable stability behavior under such conditions. After analysis of both fresh and stored samples, differences in analysis -3.1% (%CV of 7.3% for extracted and 1.6% for unextracted) for low QC, and -9.2% (%CV of 3.6% for extracted and 7.8% for unextracted) for high QC samples.

3.5.4. Freeze/thaw conditions

Data representing CYP concentration at the end of the third thaw cycle are summarized in Table 2. It shows that both analyte and IS analysis are stable at such experimental conditions.

3.5.5. Long term storage stability.

Data representing CYP concentration at the end of the long term storage stability are summarized in Table 3. It shows that analyte analysis is stable after 121 days at -70 oC.

3.6. Application of the method

CYP was well tolerated at the administered doses and no significant adverse reactions were observed or reported. No clinically relevant change was observed in any measured biochemical parameter. A total of 44 volunteers finished the study. The mean CYP plasma concentration vs time curves obtained after a single oral dose of each formulation are shown in Fig. 4. The plasma concentration of CYP did not differ significantly after administration of both formulations (test formulation and the reference one).

Table 4 shows the values of the pharmacokinetic parameters and Table 5 summarizes the bioequivalence analysis for CYP formulations. Briefly, the geometric mean and respective 90% CI of CYP test/reference percent ratios were 90.66% (84.39 – 97.40%) for C_{max} and 96.20% (90.45 – 102.33%) for AUC_{0-t} .

4. Discussion

CYP acetate has been measured by several methods such as radioimmunoassays (Nieuweboer *et al.*, 1977), (Kuhnz *et al.*, 1997), (Dusterberg, 1984), (Fiet *et al.*, 2000). These methods are sensitive, but are time consuming and prone to cross reactivity by endogenous steroids, co-administrated steroids and their metabolites. High-performance liquid chromatography (HPLC) (Bebawy *et al.*, 2001), (Dikkeschei *et al.*, 1990), (Yodo *et al.*, 1988), (Cannell *et al.*, 1981; Frith *et al.*, 1985) and even mass spectrometry (Matejicek *et al.*, 2007) were also used; however, for a bioequivalence study of 2 mg dosing of CYP and high throughput, a combination of faster runs and extremely low limit of quantification was required.

Our method is very sensitive and reproducible method for the quantification of cyproterone in human plasma using LC–MS–MS with the photoionization source. The LLIQ described in this work is ten times lower than the previously described by Pereira *et al.* (2005) (LLIQ 0.1 versus 10 ng/mL), also using AAPI as the ionization method (Pereira *et al.*, 2005). The chromatography run times were very close to each other (5 versus 4.5 min), even though the retention times in our method were 1.8 and 2 min longer for CYP and FIN, respectively. However, this longer retention time does not compromise the results or the applicability of this method. Indeed, our chromatographic conditions and MS-MS settings provided superior recovery, accuracy, precision and a much higher sensitivity.

The APPI was introduced as an innovative ionization mode to LC–MS system in 2000 (Robb *et al.*, 2000). In atmospheric pressure photoionization, toluene is a dopant typically used due to its ionization potential of 8.83 eV, as well as its potential high purity grade and low toxicity (Leinonen *et al.*, 2002). It is observed in the literature data that APPI is a highly promising technique in high-throughput pharmaceutical analysis and provides superior performance in ionization neutral compounds over electrospray ionization (ESI) or atmospheric pressure chemical ionization (APCI), while providing comparable ionization for polar compounds (Cai *et al.*, 2005). As described in this work, the APPI ionization process is dopant (toluene) assisted. The ionization is initiated by the photoionization of the toluene and formation of the toluene cation in the positive mode. If the proton affinity (PA) of the solvent molecule is higher than that the deprotonated radical cation, the solvent

molecules can be ionized by proton transfer. Subsequently, in case the PA of the analyte is higher than the solvent molecule, the protonated solvent molecules can donate a proton to the analyte molecule. Alternatively, the dopant radical cation can ionize the analyte directly by charge exchange if the ionization energy of the analyte is lower than that of the radical cation (Robb *et al.*, 2000).

The sample preparation method described here is a simple and fast liquid–liquid extraction, providing a clean and reproducible extracted sample in accordance with both the Food and Drug Administration (FDA) and the National Sanitary Surveillance Agency (ANVISA) requirements for pharmacokinetic studies. Therefore, our method is suitable for supporting environmental responsiveness and, altogether, very appropriate for quantitative high-throughput analysis, such as pharmacokinetic studies at CYP therapeutic concentrations in human plasma.

5. Conclusion

An LC–MS–MS method for the quantification of the cyproterone acetate in human plasma was developed and validated using photospray ionization mode. This method offers a simple sample extraction and only LLE is needed without clean-up procedures for a fast run time and performance advantages over those previously reported, in terms of sensitivity, accuracy and precision.. This method was ten times more sensitive than the previously reported methods using the same ionization mode. The LIQ of 0.1 ng/mL is sufficient for the pharmacokinetics studies (the estimate LIQ/C_{max} < 3%). The assay performance results indicate that the method is precise and accurate enough for the routine determination of the cyproterone acetate in human plasma and agrees with the requirements for pharmacokinetic assays such as bioequivalence studies. Since the 90% CI for C_{max} and AUC ratios were all inside the 80–125% interval proposed by the US Food and Drug Administration, it was concluded that the CYP acetate test formulation Selene[®] is bioequivalent to the reference Diane35[®] formulation with respect to both the rate and the extent of absorption.

Figures:

Figure 1. Proposed fragmentation pathway for (A) cyproterone acetate and (B) finasteride.

Figure 2 MRM chromatograms of human plasma samples spiked with cyproterone or IS (finasteride). Left panels show the monitoring channel for cyproterone and right panels shows the monitoring channel for IS. (A) blank plasma samples; (B) plasma samples spiked with cyproterone at LLIQ concentration (5 pg ml^{-1}) and IS.

Figure 3: Specificity of the response for the interfering peaks at the retention time for CYP and FIN. MRM Chromatograms of blank plasma samples at both cyproterone and finasteride channels: (A) hyperlipemic and (B) hemolyzed plasma sample

Figure 4: The mean CYP plasma concentration vs time curves obtained after a single oral dose of each formulation

Figure1

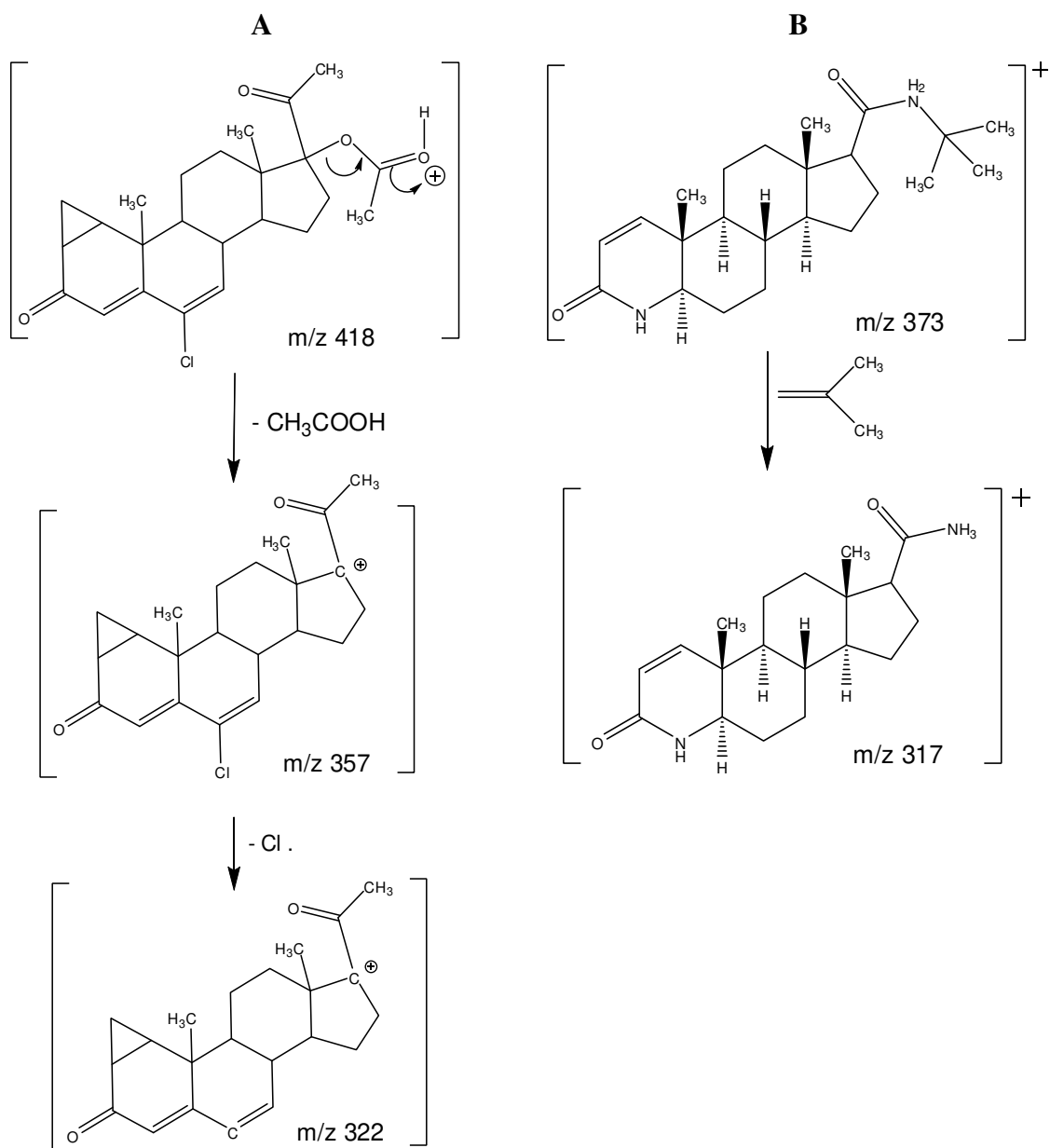
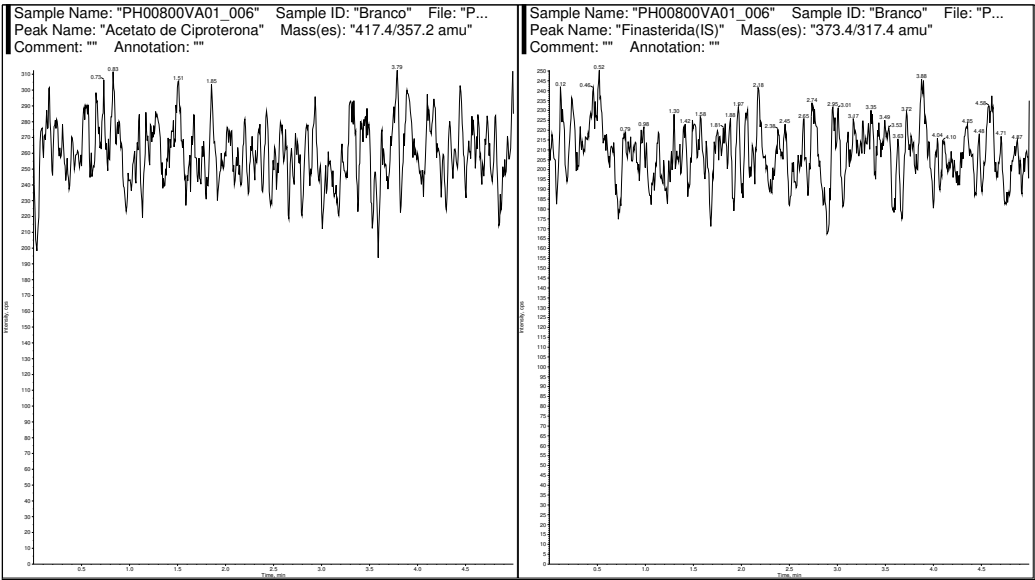
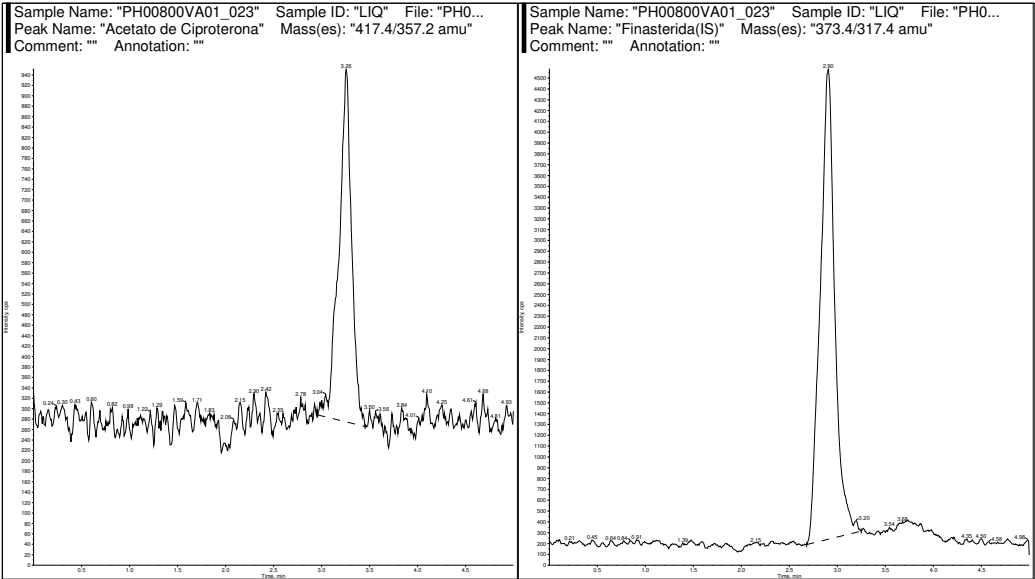


Figure 2:



A



B

Figure 3:

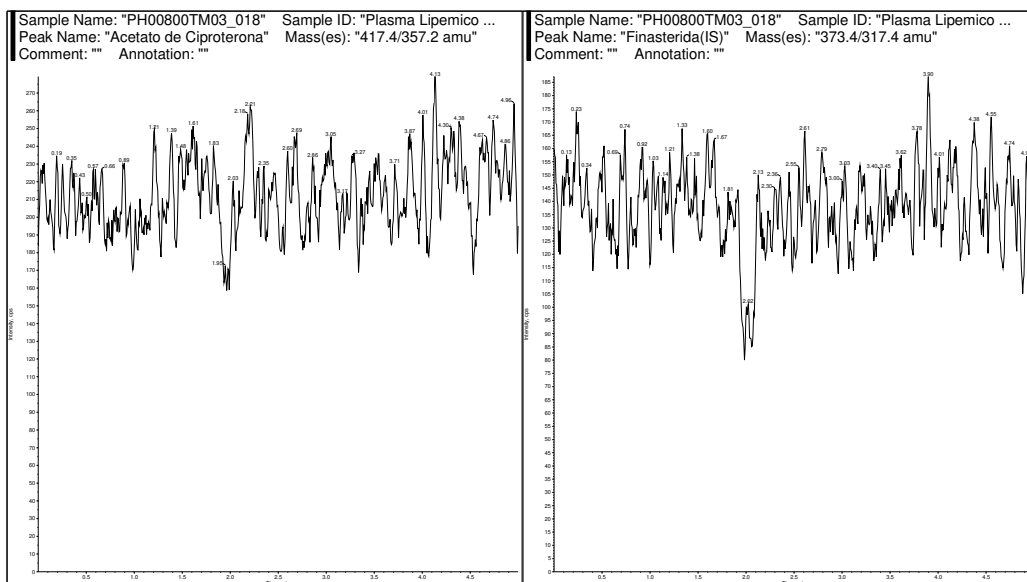
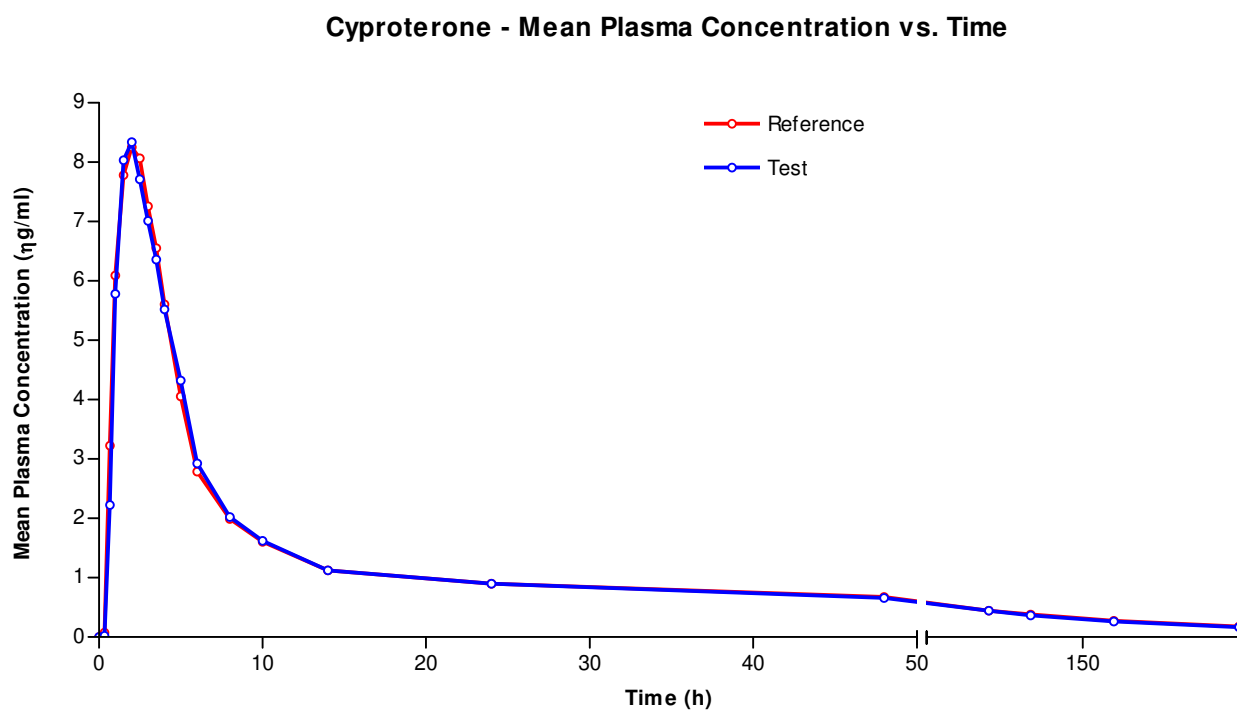


Figure 4:



	Intra-run accuracy ^a	Inter-run accuracy ^b	Intra-run precision ^c (%CV)	Inter-run precision ^b (%CV)
QC samples				
LLIQ	97.5	100.0	5.3	7.7
LQC	99.4	100.0	5.2	5.5
MQC	95.3	95.5	1.8	2.7
HQC	96.0	96.5	3.0	2.2

Table 1. Accuracy and precision data for cyproterone quantification in human plasma.

Results were obtained during the validation of QC samples, including the LLIQ, in human plasma.

^a (n=6), expressed as (found concentration / nominal concentration) x 100

^b Values obtained from all replicates (n=18)

^c n=6

	Initial mean conc. (ng.ml ⁻¹)	% CV	Final mean conc. (ng.ml ⁻¹)	% CV	Variation (%)
QCL (0.3 ng.ml ⁻¹)	0.29	5.4	0.30	3.9	3.1
QCH (40 ng.ml ⁻¹)	42.27	1.6	38.43	6.6	-9.1

Table 2. Freeze and thaw stability test.

	Initial mean conc. (ng.ml ⁻¹)	% CV	Final mean conc. (ng.ml ⁻¹)	% CV	Variation (%)
LQC (0.3 ng.mL ⁻¹)	0.2904	7.3	0.2843	3.4	-2.1
HQC (40 ng.mL ⁻¹)	41.6473	3.6	44.1777	1.6	6.1

Table 3. Long-term storage stability of cyproterone acetate in human plasma at low and high QC samples.

	Cyproterone 2.0 mg		Diane [®]	
	Mean	SD	Mean	SD
C _{max} (ng/mL)	10.08	2.26	11.18	2.83
T _{max} (h)	2.05	0.96	1.83	0.84
T _{1/2} (h)	110.40	39.92	112.28	32.69
AUC _{last} ([ng x h]/mL)	140.35	38.52	144.98	33.84
AUC _{inf} ([ng x h]/mL)	172.73	52.46	178.37	49.55

Table 4. Arithmetic mean (or median) pharmacokinetic parameters of cyproterone for test and reference preparations in 44 human volunteers after administration of each 2.0 mg cyproterone tablet formulation.

Cyproterone/Diane [®]	Parametric (n=44)			
	Geometric mean (%)	90% CI	Power (%)	CV (%)
AUC _{last} % ratio	96.20	90.45 – 102.33	99	17.12
AUC _{inf} % ratio	95.86	89.81 – 102.31	98	18.09
C _{max} % ratio	90.66	84.39 – 97.40	99	19.95

Table 5. Geometric means of individual pharmacokinetics parameters AUC_{last}, AUC_{0–inf} and C_{max} ratios (test/reference formulation) and the respective 90% confidence intervals (CIs).

References

- BAUMANN, A., KULMANN, H., GORKOV, V., MAHLER, M. & KUHNZ, W. (1996). Radioimmunological analysis of cyproterone acetate in human serum. Comparison with a gas chromatographic/mass spectrometric method and influence of each method on the outcome of a bioequivalence trial. *Arzneimittelforschung*, **46**, 412-8.
- BEBAWY, L.I., MOSTAFA, A.A. & REFAAT, H.H. (2001). Different methods for the determination of gestodene, and cyproterone acetate in raw material and dosage forms. *J Pharm Biomed Anal*, **25**, 425-36.
- CAI, Y., KINGERY, D., MCCONNELL, O. & BACH, A.C., 2ND (2005). Advantages of atmospheric pressure photoionization mass spectrometry in support of drug discovery. *Rapid Commun Mass Spectrom*, **19**, 1717-24.
- CANNELL, G.R., MORTIMER, R.H. & THOMAS, M.J. (1981). High-performance liquid chromatographic estimation of cyproterone acetate in human plasma. *J Chromatogr*, **226**, 492-7.
- DIKKESCHEI, L.D., WOLTERS, B.G., DE RUYTER-BUITENHUIS, A.W., NAGEL, G.T., SLEIJFER, D.T., WILLEMSE, P.H. & VAN DER SLIK, W. (1990). Determination of megestrol acetate and cyproterone acetate in serum of patients with advanced breast cancer by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, **529**, 145-54.
- DUSTERBERG, B. (1984). Plasma levels of levonorgestrel, gestodene, norethisterone and cyproterone acetate on single-dose subcutaneous administration in oily solution in the rat, beagle and rhesus monkey. *Steroids*, **43**, 43-56.
- FIET, J., GITON, F., BOUDI, A., BOUDOU, P., VEXIAU, P., GALONS, H. & RAYNAUD, J.P. (2000). Highly sensitive and specific time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) of cyproterone acetate and free cyproterone. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **75**, 315-22.
- FRITH, R.G. & PHILLIPOU, G. (1985). 15-Hydroxycyproterone acetate and cyproterone acetate levels in plasma and urine. *J Chromatogr*, **338**, 179-86.
- KUHNZ, W., KULMANN, H. & FUHRMEISTER, A. (1997). Investigation into the age-dependence of the pharmacokinetics of cyproterone acetate in healthy male volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, **53**, 75-80.
- LEINONEN, A., KUURANNE, T. & KOSTIAINEN, R. (2002). Liquid chromatography/mass spectrometry in anabolic steroid analysis--optimization and comparison of three ionization techniques: electrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization. *J Mass Spectrom*, **37**, 693-8.
- MATEJICEK, D. & KUBAN, V. (2007). High performance liquid chromatography/ion-trap mass spectrometry for separation and simultaneous determination of ethynylestradiol, gestodene, levonorgestrel, cyproterone acetate and desogestrel. *Anal Chim Acta*, **588**, 304-15.
- NIEUWEBOER, B. & LUBKE, K. (1977). Radioimmunological determination of cyproterone acetate. *Horm Res*, **8**, 210-8.
- PEREIRA, A.S., MENDES, G.D., OLIVEIRA, L.S., VALLE, H.F. & DE NUCCI, G. (2005). Atmospheric pressure photoionization applied to quantitation of cyproterone acetate in human plasma. *J Chromatogr Sci*, **43**, 513-7.
- ROBB, D.B., COVEY, T.R. & BRUINS, A.P. (2000). Atmospheric pressure photoionization: an ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Chem*, **72**, 3653-9.

- SPECK, U., WENDT, H., SCHULZE, P.E. & JENTSCH, D. (1976). Bio-availability and pharmacokinetics of cyproterone acetate-14C and ethinyloestradiol-3H after oral administration as a coated tablet (SH B 209 AB). *Contraception*, **14**, 151-63.
- YODO, K., SAISHO, S., SHIMOZAWA, K. & YATA, J. (1988). A reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of serum concentrations of cyproterone acetate and 15 beta-hydroxycyproterone acetate. *Endocrinol Jpn*, **35**, 143-8.



DETERMINAÇÃO DE PAROXETINA EM PLASMA HUMANO UTILIZANDO CROMATOGRRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PRESSÃO ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSAS



Ana C. Mazuqueli^{1,3}, Eduardo Zambon Orpinelli^{1,3}, Carlos E. Sverdlhoff^{1,3}, Claudia Domingues¹, Ney Carter Do Carmo Borges^{1,2}, Ronilson Agnaldo Moreno^{1,3}

¹ Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda: 38, Dr. Cândido Gomes st., Campinas, SP, Brazil. e-mail: synchrophar@synchrophar.com ² Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, SP, Brazil. ³ Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar em voluntários sadios de ambos os sexos, a biodisponibilidade de duas formulações de paroxetina comprimido de 20 mg, baseado nos respectivos perfis

INTRODUÇÃO

A paroxetina é um inibidor específico de recaptação de serotonina (5-HT) sendo utilizada como droga antidepressiva de forma segura e efetiva no tratamento da depressão e no transtorno obsessivo-compulsivo.

DESENHO DO ESTUDO

O estudo foi aberto, randomizado, cruzado, sendo 2 tratamentos, 2 períodos (2 seqüências), nos quais os voluntários receberam, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência, houve, por conseguinte, dois braços de tratamento. Trinta e dois sujeitos de pesquisa sadios do sexo masculino, com no máximo 50 anos, assinaram o TCLE aprovado pelo Comitê de Ética da Unicamp. O estudo teve o desenho aberto, randomizado, cruzado e com dois períodos. Duas doses de 20 mg foram administradas separadamente por via oral em jejum, respeitando um intervalo de 14 dias. Vinte e três amostras de sangue foram obtidas em intervalos de até 192 horas após a administração.

MÉTODO ANALÍTICO

Técnica bioanalítica: Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado à espectrômetro de massas (HPLC-MS/MS)
Detecção: Espectrometria de massas
Padrão interno: Fluoxetina
Matriz biológica: Plasma humano
Anticoagulante: CDMA e Heparina
Tipo de extração: Sólido-líquido "on line" através do aparelho Prospekt2 Spark®
Faixa de linearidade: 0,2 a 40 ng/mL
Parâmetro de quantificação: Relação de áreas do pico cromatográfico do analítico e do padrão interno (PD/PI)
Parâmetro de detecção: Abundância

RESULTADOS

Parâmetro	Razão das Médias Geométricas Aropax®/ Paroxetina (%)	IC (90%)	CV (%)	Bioequivalência
C _{max}	90.99	(82.14 a 100.79)	0.23	Sim
ASCC ₀₋₁	95.83	(87.79 a 104.61)	0.20	Sim
ASCC ₀₋₂	95.00	(87.77 a 102.84)	0.18	Sim

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi empregada análise de variância apropriada para o modelo de 2 períodos cruzados, sob os dados de ASC e C_{max} transformados logaritmicamente, a qual levou em conta em seu modelo os efeitos de seqüência, paciente dentro da seqüência, tratamento e período. A flutuação do fármaco teste foi avaliada por comparação com a flutuação do fármaco referência.

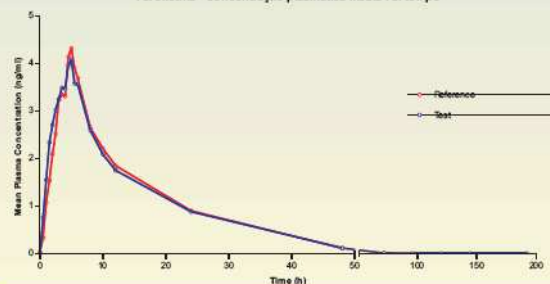
A verificação de existência de efeito residual foi realizada com base nos testes de seqüência da ANOVA, utilizando-se como parâmetro o P valor obtido com base na F_{stat} do efeito de seqüência (Sequence Hypothesis of model effects).

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

CONCLUSÃO

A comparação da biodisponibilidade de formulações distintas em relação a um mesmo princípio ativo e na mesma concentração garante a sua intercambiabilidade. Considerando que a taxa e a extensão de absorção requerido pelos órgãos reguladores FDA e Anvisa e estando as razões das médias dos mínimos quadrados e intervalos de confiança de 90% derivados das análises das medidas farmacocinéticas log-transformadas de ASC₀₋₁, ASC_{0-Inf} e C_{max} para a paroxetina dentro dos limites de 80-125% para as medidas com transformação, conforme critérios definidos pela Anvisa. Diante disso, conclui-se que as formulações de Paroxetina são bioequivalentes e portanto, equivalentes terapêuticos na prática médica.

Paroxetina - Concentração plasmática média vs. tempo



BIBLIOGRAFIA

Tulloch, I. F.; Johnson, A. M., The pharmacologic profile of paroxetine, a new selective serotonin reuptake inhibitor. J Clin Psychiatry 1992, 53, Suppl, 7-12.
Nemeroff, C. B., Paroxetine: an overview of the efficacy and safety of a new selective serotonin reuptake inhibitor in the treatment of depression. J Clin Psychopharmacol 1993, 13, (6 Suppl 2), 10S-17S.
Baumann, P., Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of the selective serotonin reuptake inhibitors. Clin Pharmacokinet 1996, 31, (6), 444-69.

103

DETERMINAÇÃO DE PAROXETINA EM PLASMA HUMANO UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PRESSÃO ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

EDUARDO ZAMBON ORPINELLI, ANA CRISTINA MAZUQUELI, NEY CARTER DO CARMO BORGES, RONILSON AGNALDO MORENO

Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda - SP.

Introdução e objetivo: A paroxetina é um inibidor específico de recaptação de serotonina (5-HT) sendo utilizada como droga antidepressiva de forma segura e efetiva no tratamento da depressão e no transtorno obsessivo-compulsivo. O objetivo do estudo foi avaliar a bioequivalência entre as formulações contendo paroxetina como princípio ativo.

Material e métodos: Trinta e dois sujeitos de pesquisa saudáveis do sexo masculino, com no máximo 50 anos, assinaram o TCLE aprovado pelo Comitê de Ética da Unicamp. O estudo teve o desenho aberto, randomizado, cruzado e com dois períodos. Duas doses de 20 mg foram administradas separadamente por via oral em jejum, respeitando um intervalo de 14 dias. Vinte e três amostras de sangue foram obtidas em intervalos de até 192 horas após a administração. Para quantificação dos níveis plasmáticos de paroxetina, foi utilizada cromatografia líquida de alta pressão acoplada à espectrometria de massas.

Resultados e conclusão: A comparação da biodisponibilidade de formulações distintas em relação a um mesmo princípio ativo e na mesma concentração garante a sua intercambialidade. Considerando que a taxa e a extensão de absorção requerido pelos órgãos reguladores FDA e Anvisa e estando as razões das médias dos mínimos quadrados e intervalos de confiança de 90% derivados das análises das medidas farmacocinéticas log-transformadas de ASC_{0-t}, ASC_{0-inf} e C_{max} para a paroxetina dentro dos limites de 80 – 125% para as medidas com transformação, conforme critérios definidos pela Anvisa. Diante disso, conclui-se que as formulações de Paroxetina são bioequivalentes e portanto, equivalentes terapêuticos na prática médica.

104

DETERMINAÇÃO DE VALERATO DE BETAMETASONA, TOLNAFTATO E CLIOQUINOL EM CREME E POMADA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FASE REVERSA

PAULO CÉSAR PIRES ROSA, ISABEL CRISTINA SALES FONTES JARDIM

USF / UNICAMP-Campinas – SP.

Introdução e objetivo: os compostos valerato de betametasona, tolnaftato e clioquinol são determinados em análises individuais segundo as monografias disponíveis na farmacopéia americana, USP 29. Tendo em vista a necessidade da redução do tempo de análise, custos e resíduos gerados, o desenvolvimento de uma metodologia que quantifique os três compostos em uma mesma análise é de extrema importância. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico cromatográfico para a determinação simultânea desses três compostos em creme e pomada.

Material e métodos: amostras de creme, pomada, padrões e placebos foram analisadas em um cromatógrafo líquido Merck utilizando uma coluna C8 com grupo polar de dimensões de 125 x 3,9 mm e 5 µm. A fase móvel consistiu de uma mistura de tampão pH 2,5 com concentração de 20 mM do sal PIC B8 e acetonitrila na proporção de 40:60 v/v. A vazão utilizada foi de 1,0 mL min⁻¹, temperatura de 25 °C e detecção a 240 nm. O método foi validado pela avaliação dos parâmetros descritos na resolução RE 899 de 2003 da ANVISA e guias Q2A e Q2B do ICH. Foi usado o placebo no estudo da seletividade.

Resultados e conclusão: O método desenvolvido e validado mostrou-se rápido, de fácil execução, com poucos resíduos gerados e muito seletivo. Os valores encontrados nas amostras de creme e pomada analisadas apresentaram variação entre 98,9 % a 100,3 % para valerato de betametasona, de 99,0 % a 100,5% para tolnaftato e de 99,1 a 100,2% para clioquinol.

Auxílio e/ou bolsa: Instituto de Química - Unicamp.

Programa



38º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental

**Em comemoração aos 40 anos da Sociedade Brasileira de Farmacologia e
Terapêutica Experimental**

Sociedade Convidada: Sociedade Brasileira de Inflamação (SBIIn)

**Centro de Convenções
Ribeirão Preto
18 a 21 de outubro 2006**



²Departamento de Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

Obiectiv: Caracteriza pe profil de voluntariat elevii apăsă participarea în activități de biochimie în cadrul școlii, în cadrul proiectelor de cercetare voluntară, în cadrul unor probleme de cercetare științifică.

Результаты исследования являются собственностью компании и не должны использоваться для публичных выступлений, комментариев или цитирования без предварительного разрешения.

Resumo: O uso de caracimadas bioplásticas, de varizelos e de *Synchrophor basmati* e *Dioscorea* em Projeto Clonagem, possibilita grande produtividade, composição cascalheira 162/34, pargos 127 pargos. Há de 50% os varizelos e participam os mesmos *Alfombras*, cujo nome há abito e mais 120 pargos. Cerca de 75% os varizelos e os outros com 14C abito de 21 pargos, reaparece os outros de *Monash* e *Merici* os outros e os varizelos e os outros 19 e 27 pargos para o 14C.

На даном веб-адресу www.sciencedirect.com се налазе спискови ове године, у складу са захтевима ЕО за заштиту података, база података, правна, психологија, историја и остали подаци. Форма регистрације и пријаве може се наћи на веб-адресу www.sciencedirect.com под називом www.sciencedirect.com RDC (на 1. и 2. и 3. и 4. и 5. и 6. и 7. и 8. и 9. и 10. и 11. и 12. и 13. и 14. и 15. и 16. и 17. и 18. и 19. и 20. и 21. и 22. и 23. и 24. и 25. и 26. и 27. и 28. и 29. и 30. и 31. и 32. и 33. и 34. и 35. и 36. и 37. и 38. и 39. и 40. и 41. и 42. и 43. и 44. и 45. и 46. и 47. и 48. и 49. и 50. и 51. и 52. и 53. и 54. и 55. и 56. и 57. и 58. и 59. и 60. и 61. и 62. и 63. и 64. и 65. и 66. и 67. и 68. и 69. и 70. и 71. и 72. и 73. и 74. и 75. и 76. и 77. и 78. и 79. и 80. и 81. и 82. и 83. и 84. и 85. и 86. и 87. и 88. и 89. и 90. и 91. и 92. и 93. и 94. и 95. и 96. и 97. и 98. и 99. и 100. и 101. и 102. и 103. и 104. и 105. и 106. и 107. и 108. и 109. и 110. и 111. и 112. и 113. и 114. и 115. и 116. и 117. и 118. и 119. и 120. и 121. и 122. и 123. и 124. и 125. и 126. и 127. и 128. и 129. и 130. и 131. и 132. и 133. и 134. и 135. и 136. и 137. и 138. и 139. и 140. и 141. и 142. и 143. и 144. и 145. и 146. и 147. и 148. и 149. и 150. и 151. и 152. и 153. и 154. и 155. и 156. и 157. и 158. и 159. и 160. и 161. и 162. и 163. и 164. и 165. и 166. и 167. и 168. и 169. и 170. и 171. и 172. и 173. и 174. и 175. и 176. и 177. и 178. и 179. и 180. и 181. и 182. и 183. и 184. и 185. и 186. и 187. и 188. и 189. и 190. и 191. и 192. и 193. и 194. и 195. и 196. и 197. и 198. и 199. и 200. и 201. и 202. и 203. и 204. и 205. и 206. и 207. и 208. и 209. и 210. и 211. и 212. и 213. и 214. и 215. и 216. и 217. и 218. и 219. и 220. и 221. и 222. и 223. и 224. и 225. и 226. и 227. и 228. и 229. и 230. и 231. и 232. и 233. и 234. и 235. и 236. и 237. и 238. и 239. и 240. и 241. и 242. и 243. и 244. и 245. и 246. и 247. и 248. и 249. и 250. и 251. и 252. и 253. и 254. и 255. и 256. и 257. и 258. и 259. и 260. и 261. и 262. и 263. и 264. и 265. и 266. и 267. и 268. и 269. и 270. и 271. и 272. и 273. и 274. и 275. и 276. и 277. и 278. и 279. и 280. и 281. и 282. и 283. и 284. и 285. и 286. и 287. и 288. и 289. и 290. и 291. и 292. и 293. и 294. и 295. и 296. и 297. и 298. и 299. и 300. и 301. и 302. и 303. и 304. и 305. и 306. и 307. и 308. и 309. и 310. и 311. и 312. и 313. и 314. и 315. и 316. и 317. и 318. и 319. и 320. и 321. и 322. и 323. и 324. и 325. и 326. и 327. и 328. и 329. и 330. и 331. и 332. и 333. и 334. и 335. и 336. и 337. и 338. и 339. и 340. и 341. и 342. и 343. и 344. и 345. и 346. и 347. и 348. и 349. и 350. и 351. и 352. и 353. и 354. и 355. и 356. и 357. и 358. и 359. и 360. и 361. и 362. и 363. и 364. и 365. и 366. и 367. и 368. и 369. и 370. и 371. и 372. и 373. и 374. и 375. и 376. и 377. и 378. и 379. и 380. и 381. и 382. и 383. и 384. и 385. и 386. и 387. и 388. и 389. и 390. и 391. и 392. и 393. и 394. и 395. и 396. и 397. и 398. и 399. и 400. и 401. и 402. и 403. и 404. и 405. и 406. и 407. и 408. и 409. и 410. и 411. и 412. и 413. и 414. и 415. и 416. и 417. и 418. и 419. и 420. и 421. и 422. и 423. и 424. и 425. и 426. и 427. и 428. и 429. и 430. и 431. и 432. и 433. и 434. и 435. и 436. и 437. и 438. и 439. и 440. и 441. и 442. и 443. и 444. и 445. и 446. и 447. и 448. и 449. и 450. и 451. и 452. и 453. и 454. и 455. и 456. и 457. и 458. и 459. и 460. и 461. и 462. и 463. и 464. и 465. и 466. и 467. и 468. и 469. и 470. и 471. и 472. и 473. и 474. и 475. и 476. и 477. и 478. и 479. и 480. и 481. и 482. и 483. и 484. и 485. и 486. и 487. и 488. и 489. и 490. и 491. и 492. и 493. и 494. и 495. и 496. и 497. и 498. и 499. и 500. и 501. и 502. и 503. и 504. и 505. и 506. и 507. и 508. и 509. и 510. и 511. и 512. и 513. и 514. и 515. и 516. и 517. и 518. и 519. и 520. и 521. и 522. и 523. и 524. и 525. и 526. и 527. и 528. и 529. и 530. и 531. и 532. и 533. и 534. и 535. и 536. и 537. и 538. и 539. и 540. и 541. и 542. и 543. и 544. и 545. и 546. и 547. и 548. и 549. и 550. и 551. и 552. и 553. и 554. и 555. и 556. и 557. и 558. и 559. и 560. и 561. и 562. и 563. и 564. и 565. и 566. и 567. и 568. и 569. и 570. и 571. и 572. и 573. и 574. и 575. и 576. и 577. и 578. и 579. и 580. и 581. и 582. и 583. и 584. и 585. и 586. и 587. и 588. и 589. и 590. и 591. и 592. и 593. и 594. и 595. и 596. и 597. и 598. и 599. и 600. и 601. и 602. и 603. и 604. и 605. и 606. и 607. и 608. и 609. и 610. и 611. и 612. и 613. и 614. и 615. и 616. и 617. и 618. и 619. и 620. и 621. и 622. и 623. и 624. и 625. и 626. и 627. и 628. и 629. и 630. и 631. и 632. и 633. и 634. и 635. и 636. и 637. и 638. и 639. и 640. и 641. и 642. и 643. и 644. и 645. и 646. и 647. и 648. и 649. и 650. и 651. и 652. и 653. и 654. и 655. и 656. и 657. и 658. и 659. и 660. и 661. и 662. и 663. и 664. и 665. и 666. и 667. и 668. и 669. и 670. и 671. и 672. и 673. и 674. и 675. и 67

Несомненно, наличие в крови человека гемоглобина является одним из признаков принадлежности к животному миру. Однако, как и у человека, у животных гемоглобин имеет свои особенности. Так, например, у некоторых животных гемоглобин имеет способность к агрегации, что способствует его осаждению в капиллярах.

Conclui-se do acima com o resultado, conclui-se que o presente estudo contribui de forma essencial com laboratório de investigação, que necessitam de um grupo homogêneo de voluntários assim como características físicas e biológicas de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão fiscalizador (ANVISA, Portaria 168/MS). E também, a importância do Centro responsável pelo estudo, em manter a integridade dos dados coletados, e assim, a integridade dos resultados finais do estudo, para isso, o presente estudo se dá em uma laboratório de forma simples.

[illegible]

MEDIDAS BIOMÉTRICAS DOS VOLUNTÁRIOS QUE PARTICIPARAM DE ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA

		Stochastic Descriptors				p-value
		Form (log)	Area (m ²)	BC (log m ²)	Mode Frequency	
Fungal biomass (mg m ⁻²)	Micro-GP	11.216 ± 1	1.624 ± 0.6	12.2 ± 1.58	21.3 ± 1.55	p < 0.007
	Macro-Micro	8.8 ± 1.43	1.0 ± 1.29	10.8 ± 2.53	13.2 ± 1.55	
Microbial mass (g m ⁻²)	Micro-GP	10.26 ± 0.8	—	—	—	
	Macro-Micro	12.8 ± 1.27	12.6 ± 2.53	13.2 ± 1.55	—	

Resultados Individuais das Dor (mmHg)

Antes Depois

Resultados Individuais das Frequência do Coração (b/min)

Antes Depois

Resultados Individuais das Frequência da Respiração (b/min)

Antes Depois

Figure 1 consists of four line graphs arranged horizontally, each showing the evolution of a different variable for 15 participants across three time points: Initial, Middle, and Final. The y-axis for all graphs ranges from 0 to 100. Each graph has a legend on its right side listing the participant IDs.

- Graph 1: Vulnerability to Disasters (mVuln)**
 - Y-axis: Vulnerability to Disasters (mVuln)
 - Legend: 150000, 150001, 150002, 150003, 150004, 150005, 150006, 150007, 150008, 150009, 150010, 150011, 150012, 150013, 150014, 150015
- Graph 2: Values attributed to Cultural Heritage (mVCH)**
 - Y-axis: Values attributed to Cultural Heritage (mVCH)
 - Legend: 150000, 150001, 150002, 150003, 150004, 150005, 150006, 150007, 150008, 150009, 150010, 150011, 150012, 150013, 150014, 150015
- Graph 3: Values attributed to Physical Heritage (mVPH)**
 - Y-axis: Values attributed to Physical Heritage (mVPH)
 - Legend: 150000, 150001, 150002, 150003, 150004, 150005, 150006, 150007, 150008, 150009, 150010, 150011, 150012, 150013, 150014, 150015
- Graph 4: Values attributed to Psychological Heritage (mVPSH)**
 - Y-axis: Values attributed to Psychological Heritage (mVPSH)
 - Legend: 150000, 150001, 150002, 150003, 150004, 150005, 150006, 150007, 150008, 150009, 150010, 150011, 150012, 150013, 150014, 150015

Resultados Individuais da Hemoglobina - Período Dólar

Resultados Individuais dos Hemóglóbulos - Período Dólar

Resultados Individuais das Plaquetas - Período Dólar

[illegible]

Таблица 2006], тем как именно этот акт порассеивает «аморфное сознание», он содержит нечто такое всеобщее и придает какому-либо своему значению. Би и ригибуголам рыба, рождаясь сопровождается и отбрасывает из этого, затем ее сопровождают аморфизмы и извращенные рыбки.

[illegible]

Tratando-se de uma ocorrência isolada, a ocorrência de contaminação durante o transporte de resíduos sólidos urbanos não constitui motivo para a suspensão da licença ambiental, a qual poderá ser retomada após a realização de uma investigação de causa e efeito, a fim de se estabelecer as medidas necessárias para a prevenção de uma ocorrência semelhante. A ocorrência de contaminação durante o transporte de resíduos sólidos urbanos não constitui motivo para a suspensão da licença ambiental, a qual poderá ser retomada após a realização de uma investigação de causa e efeito, a fim de se estabelecer as medidas necessárias para a prevenção de uma ocorrência semelhante.

Результаты исследования представлены на рисунке 1, где по результатам анализа данных, полученных в ходе исследования, выявлено, что в большинстве случаев (около 80%) участники исследования считают, что в настоящее время в России отсутствует необходимость в проведении исследований по развитию инновационной экономики. При этом, в то же время, участники исследования считают, что в настоящее время в России отсутствует необходимость в проведении исследований по развитию инновационной экономики.

Служба за оштећене саобраћајне средства и пута је обављала своје послове, а послове за спровођење одредаба ове заштите обавља, осим тога, и служба за одржавање путева и путева за оштећене саобраћајна средства. У складу са овом одредбом, служба за одржавање путева и путева за оштећене саобраћајна средства је обављала своје послове, а послове за спровођење одредаба ове заштите обавља, осим тога, и служба за одржавање путева и путева за оштећене саобраћајна средства.

De acordo com os resultados, concluiu-se que os dados apresentados são de grande interesse para a farmacologia clínica, e os valores de EC_{50} e EC_{90} são muito próximos dos valores encontrados em estudos laboratoriais, sendo pouco variáveis, podendo ser atribuída alguma das seguintes razões:

[illegible]

O trabalho feito nos últimos labores seria o êxito sagrado das paróquias e a união de bloco eleitoral, pelo I. Nucleo e o Centro se propôs em promover a união dos voluntários, de onde provinha as causas e a prática, bem como a interpretação correta dos mandamentos de Deus e do homem.

[illegible]

PERFIL DO VOLUNTÁRIO DE BIOEQUIVALÊNCIA

Mazuqueli, A. C.¹; Borges, N. C. C.²; Moreno, R. A.² - ¹Synchrophar - Estatística; ²Synchrophar - Científico

Objetivo: Caracterizar o perfil de voluntários sadios aptos a participar de Pesquisa Clínica, a fim de oferecer opções de acordo com a droga a ser avaliada de maneira que não ofereça risco ao voluntário, evitando com isso problemas de ordem ética e prática. Métodos: Extraiu-se uma amostra aleatória de 1000 voluntários de um banco de dados composto 6785 voluntários que participaram de estudos realizados ao longo de 3 anos na Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos. Esse banco de dados permite consultar informações sobre a duração do estudo, participação de voluntários em outro estudo simultaneamente, se o voluntário está respeitando o período mínimo de 3 meses entre os estudos, entre outras informações fundamentais para um recrutamento seguro. Foram analisadas variáveis como: peso, altura, Índice de Massa Corpórea (IMC), raça, entre outros, tendo o cuidado de garantir o anonimato dos voluntários durante todo o período de realização do estudo. Resultados: Foi verificado que o centro em questão possui um grupo étnico heterogêneo, composto de caucasianos (62,3%), negros (27,4%) e outros (10,3%). Mais de 50% dos voluntários que participaram dos estudos são jovens, cuja idade está abaixo da média (29 anos). Cerca de 75% dos voluntários estão com IMC abaixo de 23,46 Kg/m², respeitando os critérios de Bioequivalência que estabelecem variação entre 19 e 27 Kg/m² para o IMC. Conclusão: De acordo com os resultados, o presente estudo contribui de forma essencial com os patrocinadores de Pesquisas Clínicas e pesquisadores que necessitam de um grupo heterogêneo de voluntários sadios cujas características étnicas e biométricas estão de acordo com os critérios estabelecidos pelo Órgão Regulador (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Referências (1) Jaillon, P. *Fundam Clin Pharmacol*, 4, 177, 1990. (2) Zanini, G.M, Marone, CA. *Swiss Med Wkly*; 135, 315, 2002.

