

***LARA CRISTINA SILVA***

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS  
FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO EM  
VOLUNTÁRIOS SADIOS**

**CAMPINAS  
1999**

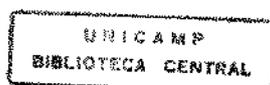
**LARA CRISTINA SILVA**

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS  
FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO EM  
VOLUNTÁRIOS SADIOS**

*Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Curso de Pós-Graduação em  
Farmacologia, da Faculdade de  
Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas, para obtenção  
do Título de Mestre em Ciências na  
área de Farmacologia.*

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

**CAMPINAS  
1999**



DE	BC
CHAMADA:	
Ex.	
02/38769	
229199	
<input type="checkbox"/> D <input checked="" type="checkbox"/>	
028 11,00	
29109/99	
CPD	

CM-00134354-6

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

Si38e

Silva, Lara Cristina

Estudo de bioequivalência de duas formulações de diclofenaco em voluntários sadios / Lara Cristina Silva. Campinas, SP : [s.n.], 1999.

Orientador : Gilberto de Nucci

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

1. Farmacocinética. 2. Cromatografia líquida de alta eficiência. 3. Medicamentos-Biodisponibilidade. I. Gilberto de Nucci. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



UNICAMP

**Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado**

**Orientador:**

**Prof. Dr. Gilberto De Nucci**

**Membros:**

1. Prof. Dr. Gilberto De Nucci

2. Prof. Dra. Neusa Julia Pansardi Pavani

3. Prof. Dr. Wilson Junitiro Yasaka

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

Data: 31/05/99

*Aos meus queridos pais,  
pelo exemplo de trabalho e amor.  
Aos colegas Maria Lúcia Martins e  
Wellington Ribeiro, pela inestimável colaboração para a realização deste trabalho.*

## *AGRADECIMENTOS*

---

Ao prof. Dr. Gilberto De Nucci, pela oportunidade e orientação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Maria Lúcia Martins, Wellington Ribeiro, Leonardo Augusto Moraes e Frederico Lerner, pela valiosa colaboração.

A todos os amigos do Departamento de Farmacologia e, de modo muito especial, à Simone Teixeira e Luciene Alves, pela amizade e apoio.

À equipe da Profa. Dra. Maria Elizabete Amaral de Moraes, da Unidade de Farmacologia Clínica do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, pela valiosa contribuição na internação dos voluntários e coleta das amostras.

Aos professores do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, bem como aos demais funcionários, de modo especial à Dora, Gislaine, Rita e Wanderlei pela ajuda e amizade.

Aos colegas e professores da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo imenso apoio e incentivo desde os primeiros passos da minha vida acadêmica.

Aos meus queridos pais, pelo apoio, estímulo e carinho.

À grande amiga Gisele, pelo incentivo e amizade.

Ao querido Bruno, pelo companheirismo e amor.

A Deus, que se fez presente em todos os instantes da minha caminhada.

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

---

**ANOVA** – Análise de variância

**ASC** – Área sob a curva da concentração sérica do fármaco em função do tempo

**ASC<sub>0-∞</sub>** – Área sob a curva da concentração sérica do fármaco do tempo 0 até o infinito

**ASC<sub>0-24</sub>** – Área sob a curva da concentração sérica do fármaco de 0 a 24 horas após administração do fármaco

**CLAE** – Cromatografia líquida de alta eficiência

**cm** – centímetro

**C<sub>máx</sub>** – Concentração máxima atingida

**DP** – desvio padrão

**FDA** – Food and Drug Administration

**h** - hora

**HCG** – Human Corionic Gonadotrophine

**IC** – intervalo de confiança

**K<sub>e</sub>** – Constante de eliminação

**l** – litro

**ln** – logaritmo natural

**M** – molar

**MΩ** - mega ohm

**mg** – miligrama

**ml** – mililitro

**n** – número de dados

**ng** – nanograma

**nm** – nanômetro

**pH** – potencial hidrogeniônico

**pKa** – constante de dissociação

**R** – referência

**T** – teste

**t<sub>1/2</sub>** – Tempo de meia-vida

**T<sub>máx</sub>** – Tempo em que ocorre a concentração sérica máxima

**UA** – Unidade de absorvância

**UE** – União Européia

**v/v** – volume por volume

**vol.** – voluntário

**vs** – versus

**γGT** – gama glutamil transpeptidase

**μL** – microlitro

<b>RESUMO</b> .....	<i>i</i>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Biodisponibilidade e Bioequivalência.....	2
1.1.1. Considerações gerais.....	2
1.1.2. Biodisponibilidade.....	3
1.1.3. Fatores que podem interferir com a biodisponibilidade.....	5
1.1.4. Bioequivalência.....	9
1.1.5. Critérios de avaliação de bioequivalência.....	10
1.2. Diclofenaco.....	13
1.2.1. Histórico.....	13
1.2.2. Usos terapêuticos.....	15
1.2.3. Toxicidade / reações adversas.....	15
1.2.4. Farmacodinâmica.....	16
1.2.5. Farmacocinética.....	18
1.2.5.1. Absorção.....	18
1.2.5.2. Distribuição.....	19
1.2.5.3. Metabolismo e excreção.....	20
1.3. Objetivo.....	21
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
2.1. Seleção dos voluntários.....	23
2.2. Protocolo Clínico.....	25
2.3. Reagentes e Fármacos.....	26

2.4. Coleta das amostras.....	26
2.5. Análise do fármaco.....	27
2.6. Condições cromatográficas.....	27
2.7. Análise estatística e farmacocinética.....	28
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
<b>4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>6. SUMMARY.....</b>	<b>42</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>49</b>

## **LISTA DE FIGURAS**

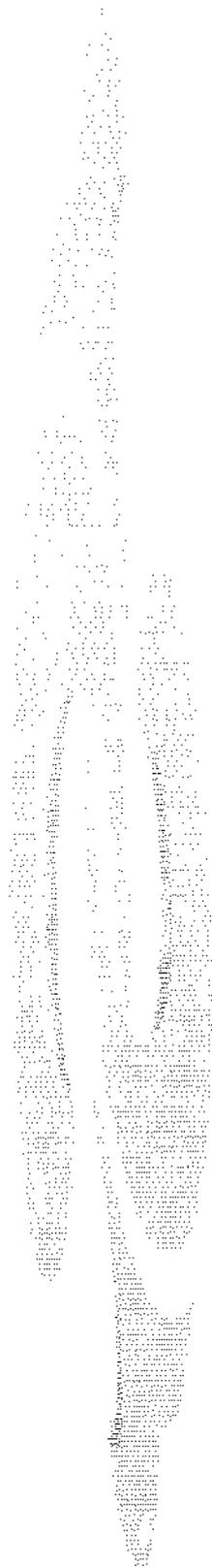
---

<b>Figura 1.</b> Estrutura química do diclofenaco.....	15
<b>Figura 2.</b> Cascata do ácido araquidônico simplificada.....	17
<b>Figura 3.</b> Exemplos de cromatogramas por CLAE.....	32
<b>Figura 4.</b> Curva das concentrações séricas de diclofenaco (Média $\pm$ DP), em função do tempo, para ambas as formulações. Os dados correspondem à média de 24 voluntários, os quais receberam dose oral única de 50 mg de diclofenaco.....	33

## LISTA DE TABELAS

---

- Tabela 1.** Média e desvio padrão das concentrações séricas (ng/mL) do diclofenaco (formulação teste e referência) *versus* tempo (n = 24)..... 34
- Tabela 2.** Principais parâmetros farmacocinéticos médios obtidos a partir de 24 voluntários sadios, que receberam 50 mg de diclofenaco de ambas as formulações..... 35
- Tabela 3.** Análise estatística das razões individuais da  $ASC_{(0-24h)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e das diferenças individuais de  $T_{máx}$  obtidas após a administração de dose única de 50 mg de diclofenaco (de ambas formulações) em 24 voluntários sadios..... 36



## ***RESUMO***

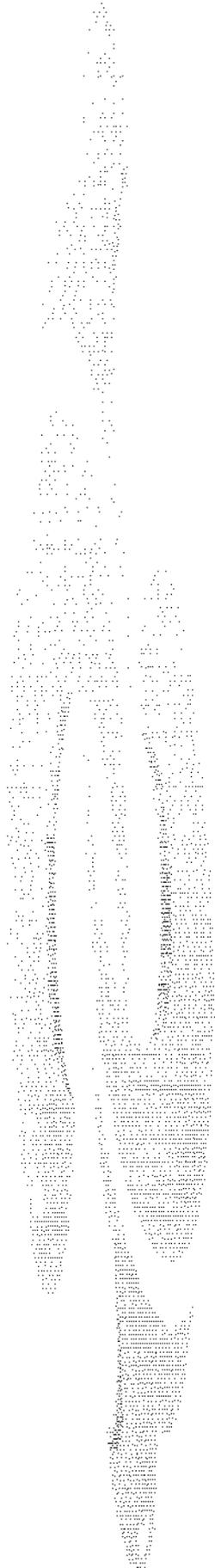
O objetivo deste estudo foi comparar a biodisponibilidade de duas formulações de diclofenaco e avaliar a bioequivalência. Como formulação referência, adotou-se a suspensão oral em gotas, que contém o diclofenaco ligado à resina, e, como teste, a suspensão oral, com o diclofenaco ácido livre. Ambas as formulações são comercializadas com o nome de Cataflam<sup>®</sup> pela Novartis Biociência, Brasil.

Realizou-se um estudo aberto, aleatório, cruzado com dois períodos de 36 horas, com um intervalo de 14 dias entre eles. Vinte e quatro voluntários sadios, 12 do sexo masculino e 12 do sexo feminino, receberam uma dose oral única de 50 mg de diclofenaco em cada período de internação, sendo uma formulação diferente para cada período. Amostras de sangue dos voluntários foram coletadas em tempos padronizados, desde imediatamente antes até 24 horas após a administração de cada formulação.

A partir das amostras de soro, o diclofenaco foi dosado pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em coluna de fase reversa e com detecção no ultra-violeta. Com isto, os seguintes parâmetros farmacocinéticos foram obtidos: área sob a curva da concentração sanguínea em função do tempo, de 0 a 24 horas ( $ASC_{(0-24h)}$ ) e de 0 a infinito ( $ASC_{(0-\infty)}$ ); máxima concentração alcançada ( $C_{máx}$ ) e o tempo em que esta ocorre ( $T_{máx}$ ); a constante de eliminação ( $K_e$ ) e o tempo de meia-vida de eliminação ( $T_{1/2}$ ).

Nenhum efeito adverso foi observado após administração de ambas formulações. As razões (teste/referência) percentuais das médias geométricas foram: 92,8% para  $ASC_{(0-24h)}$ ; 93,2% para  $ASC_{(0-\infty)}$ ; 117,2% para  $C_{máx}$ ; 131,0% para  $K_e$  e 76,2% para  $T_{1/2}$ . A variabilidade do parâmetro  $C_{máx}$ , expresso como coeficiente de variação, foi maior que 25%. O intervalo de confiança (IC) 90% da média aritmética das diferenças individuais de  $T_{máx}$  incluiu o valor zero e os IC das médias geométricas das  $ASC$  e  $C_{máx}$  foram incluídos no intervalo requerido para a bioequivalência.

Baseando-se nestas considerações, os resultados obtidos e as regras da Comunidade Européia para estabelecer bioequivalência em humanos, pode-se concluir que as formulações são bioequivalentes, tanto com relação à velocidade quanto à extensão da absorção, após a administração oral de uma única dose.



## ***1. INTRODUÇÃO***

## 1.1 – BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA

### 1.1.1 - Considerações gerais

O aumento na produção de medicamentos pela indústria farmacêutica começou na década de 30, com a descoberta de novos princípios ativos, e se estende até hoje. O processo de mudanças, entretanto, envolveu também, além do aumento do número dos medicamentos disponíveis, seu processo de desenvolvimento, apresentação e legislação (DUKES, 1993).

Atualmente, o processo desde a síntese de um fármaco até a venda comercial dura por volta de 10 anos e custa aproximadamente 100 milhões de dólares.

A maioria das indústrias farmacêuticas tem buscado novos medicamentos por meio de pesquisas sistemáticas, incluindo seleção de produtos naturais e/ou síntese química. Antes do novo fármaco ser administrado em seres humanos, é necessária a fase pré-clínica para determinar propriedades farmacológicas (farmacodinâmica e farmacocinética) e toxicológicas (aguda, subcrônica, crônica, mutagenicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade), tanto *in vitro* quanto em *in vivo* (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OMS, 1992).

Uma vez avaliada e comprovada a segurança e a efetividade do novo fármaco, seguem-se as etapas de investigação clínica, como mostradas resumidamente (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OMS, 1992):

Fase I: primeira administração em voluntários sadios (primeiro em doses únicas com aumento gradual e, depois, múltiplas doses), para determinar a farmacocinética e a segurança no ser humano.

Fase II: primeira administração em pacientes; determinação da eliminação do fármaco.

Primeira parte: determinação do potencial terapêutico, efeitos colaterais e faixa de doses efetivas;

Segunda parte: estabelecimento da eficácia e comparação com outros fármacos.

Fase III: ensaios duplo-cego, controlados, aleatórios, com número suficiente de pacientes para análise estatística da eficácia e segurança.

Se submetido e licenciado por um órgão regulador, como o FDA (Food and Drug Administration) nos EUA, o fármaco ingressa no mercado na condição de “novo”, seguindo-se, durante anos, a fase IV, até a aprovação, quando deixa a condição de “novo”.

Fase IV (mercado controlado): determinação de efeitos indesejáveis relativamente raros, toxicidade crônica, interações com medicamentos previamente desconhecidas, novos usos potenciais, novos esquemas de posologia.

O crescimento da indústria farmacêutica causou a produção de medicamentos em grande escala; conseqüentemente, surgiram numerosos problemas, desde a matéria-prima até a obtenção do produto final. Em conseqüência disto, surgiu um novo setor na indústria, o controle de qualidade, responsável pela avaliação da pureza e qualidade das matérias-primas, bem como da concentração do princípio ativo ou porção terapêutica nas formulações. Atualmente, este controle inclui os estudos de biodisponibilidade que procuram relacionar a concentração do princípio ativo presente no organismo com o tipo de formulação farmacêutica ao qual está incorporado (SHARGEL & YU, 1993).

### **1.1.2 - Biodisponibilidade**

Muitos medicamentos são produzidos e comercializados por mais de uma indústria farmacêutica. O método de fabricação e a formulação final podem afetar a concentração do fármaco que atinge o local de ação e conseqüentemente oferecer riscos das doses se tornarem subterapêuticas ou tóxicas (ZANINE & OGA, 1994). A fim de avaliar a segurança e eficácia destes medicamentos, são propostos os estudos de biodisponibilidade. Estes são indicados também para avaliação de medicamentos com novos princípios ativos e para aqueles com novas formulações, forma farmacêutica ou química que contenham substâncias ativas (ou porção terapêutica) já aprovados para comercialização.

O termo biodisponibilidade foi introduzido na literatura científica no início dos anos 70 e, desde então, contou com várias definições. As seguintes podem ser citadas:

\* Segundo a nota do guia da União Européia (UE) sobre investigação de biodisponibilidade e bioequivalência (COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS - CPMP, 1991):

Biodisponibilidade é a velocidade e a extensão na qual a substância ativa ou porção terapêutica é absorvida a partir de uma forma farmacêutica e se torna disponível no local de ação. Já que na maioria dos casos pretende-se que as substâncias exibam efeitos terapêuticos sistêmicos, uma definição mais prática pode ser dada, levando em consideração o intercâmbio da substância entre a circulação geral e o local de ação: biodisponibilidade é a extensão e a velocidade com que uma substância ou porção terapêutica é liberada a partir de uma forma farmacêutica para a circulação geral.

Deve-se distinguir biodisponibilidade “absoluta” de uma dada forma farmacêutica comparada com aquela após administração intravenosa (100%), e a biodisponibilidade “relativa” comparada com outra forma, com uma via de administração diferente da intravenosa (p.ex.: comprimido vs cápsulas).

\* Segundo o FDA (Food and Drug Administration, 1998):

Biodisponibilidade é a velocidade e a extensão com que o ingrediente ativo, ou porção terapêutica, é absorvido a partir de um produto farmacêutico e se torna disponível no local de ação.

O termo “porção ativa” gera certa discussão, já que iguala o ingrediente ativo inalterado aos metabólitos ativos presentes no plasma, ao menos com aqueles com importância terapêutica.

### **1.1.3 - Fatores que podem interferir com a biodisponibilidade**

A biodisponibilidade pode ser afetada por vários fatores, sendo os mais importantes as características da formulação e físico-químicas do fármaco. Outros fatores incluem: idade, ingestão de alimento, história genética, capacidade de metabolização do fígado, doenças, interações com outros fármacos, função renal, etc.

De modo esquematizado, SPILKER (1991) cita os fatores que podem influenciar a absorção:

\* Características do indivíduo:

A. Características inerentes e gerais:

1. condição geral (p. ex.: nutrição, acamado ou não);
2. presença de doenças (p.ex.: doença que pode reduzir ou aumentar o esvaziamento gástrico);
3. Idade;
4. Peso ou índice ponderal (p.ex.: grau de obesidade);

B. Funções fisiológicas

1. função renal;
2. função hepática;
3. função cardiovascular;
4. função e motilidade gastrointestinal ;

5. pH dos líquidos gástricos (p.ex.: afetado por jejum, doença, ingestão de alimentos, fármacos);

6. fluxo sanguíneo gastrintestinal na área de absorção;

7. fluxo sanguíneo nas áreas de absorção (via de administração com absorção em local diferente do trato gastrintestinal);

### C. Características adquiridas

1. anatomia do paciente (p.ex.: cirurgia prévia);

2. flora gastrintestinal;

3. tempo entre administração do fármaco e alimentação;

4. posição corporal (p.ex.: deitar do lado esquerdo retarda o esvaziamento gástrico, enquanto do lado direito, acelera);

5. estado emocional (p.ex.: estresse acelera o esvaziamento gástrico e a depressão, retarda);

6. exercício físico (pode retardar o esvaziamento gástrico);

### \* Características do fármaco:

#### A. administração e trânsito no organismo

1. características de dissolução (formas sólidas) que dependem dos excipientes, além das características do fármaco (p.ex.: excipientes podem diminuir a solubilidade do comprimido ou cápsula na água, e retardar a dissolução e difusão);

2. velocidade de dissolução nos líquidos gastrointestinais. Os fármacos que são inadequadamente dissolvidos podem ser inadequadamente absorvidos;

3. os fármacos absorvidos com alimentos podem ter uma absorção retardada;
4. fármacos transportados por carregadores, provavelmente, são absorvidos no intestino delgado;
5. via de administração;
6. fármacos que sofrem metabolismo no trato gastrointestinal;

#### B. Propriedades físico-químicas

1. capacidade de formar quelato (complexos insolúveis) com íons metálicos de alimentos o que leva a absorção insuficiente;
2. pH, p.ex.: os fármacos que são bases fracas são mais absorvidos no intestino delgado;
3. sais de fármacos utilizados;
4. hidratos ou solvatos;
5. forma cristalina (p.ex.: insulina);
6. forma farmacêutica (p.ex.: líquida, sólida, suspensão);
7. revestimento entérico;
8. absorção de compostos quaternários (p.ex.: hexametônio) é diminuída por presença de alimento;
9. peso molecular do fármaco (p.ex. quando é maior que 1000, a absorção é bastante diminuída);
10. pKa (constante de ionização);

11. solubilidade lipídica (p.ex.: propriedade hidrofóbica relaciona-se com a passagem através das membranas);

12. tamanho da partícula do fármaco na forma farmacêutica sólida. Partículas menores aumentam a velocidade ou grau de absorção, se a dissolução do fármaco for um fator limitante da velocidade. A forma micronizada aumenta a velocidade de dissolução de fármacos que apresentem baixa velocidade;

13. tamanho da partícula da fase dispersa na emulsão;

14. tipo de agente de desintegração na formulação;

15. dureza do comprimido (p. ex.: relaciona-se à compressão na manufatura) ou cápsula, o que leva à desintegração inadequada;

16. outras propriedades físico-químicas (p.ex.: pH, ponte de hidrogênio, coeficientes de partição, solubilidade);

17. fármacos sujeitos ao metabolismo de primeira passagem no fígado.

#### \* Fatores fisiológicos e farmacológicos

1. a presença de alimento aumenta o fluxo sanguíneo gástrico, o que, teoricamente, aumentaria a velocidade de absorção;

2. a presença de alimento retarda a velocidade de esvaziamento gástrico, o que, teoricamente, retardaria a velocidade de passagem para o intestino, onde ocorre uma grande proporção de absorção, retardando-a. No entanto, se o fármaco é absorvido em maior proporção no estômago, haverá um tempo de absorção maior;

3. o fluxo biliar e a secreção são estimulados pelas gorduras e por certos alimentos. Os sais biliares podem aumentar ou retardar a absorção, dependendo se aumentam a solubilidade ou formam complexos insolúveis com o fármaco;

4. dependendo do alimento ingerido, podem ocorrer alterações no fluxo sanguíneo esplâncnico;

5. presença de transporte ativo (saturável), o que limita a quantidade de fármaco absorvido.

#### **1.1.4 - Bioequivalência**

A nota do guia da UE sobre estudos de biodisponibilidade e bioequivalência (CPMP, 1998), dá a seguinte definição de bioequivalência:

Dois produtos medicinais são bioequivalentes se são alternativas ou equivalentes farmacêuticos e se suas biodisponibilidades (velocidade e extensão de absorção), após administração na mesma dose molar, são semelhantes num grau em que seus efeitos com relação à eficácia e segurança sejam essencialmente os mesmos.

Alternativas farmacêuticas são produtos medicinais que contêm a mesma porção terapêutica, mas que diferem na forma química desta ou na forma farmacêutica. A “porção terapêutica” pode ser usada na forma de sais, ésteres, etc (CPMP, 1998). Já equivalentes farmacêuticos são produtos medicinais com o mesmo princípio ativo (mesmo sal, éster ou forma química), concentração, forma farmacêutica e via de administração. Devem apresentar padrões idênticos (potência, qualidade, pureza e identificação), mas podem diferenciar em características, tais como: cor, sabor, forma, empacotamento, conservantes, validade e rotulagem (dentro de certos limites) (SHARGEL & YU, 1993). A equivalência farmacêutica não implica, necessariamente, em bioequivalência já que diferenças nos excipientes e/ou processo de fabricação podem levar a uma dissolução e/ou absorção mais rápida ou mais lenta.

Equivalentes terapêuticos são produtos medicinais que contêm a mesma substância ativa ou “porção terapêutica” e que clinicamente exibam a mesma eficácia e segurança do produto referência, com eficácia e segurança já estabelecidas.

Na prática, a demonstração de bioequivalência é, geralmente, o método mais apropriado para constatação de equivalência terapêutica entre produtos medicinais que sejam alternativas ou equivalentes farmacêuticos, contanto que eles contenham excipientes reconhecidos como não influentes na segurança e eficácia. Em alguns casos, em que velocidades diferentes de absorção são observadas, os produtos – então considerados não bioequivalentes – podem ser julgados terapeuticamente equivalentes, desde que as diferenças na velocidade de absorção não sejam de relevância terapêutica (CPMP, 1998).

Entretanto, é importante salientar que a bioequivalência não pode, necessariamente, ditar a equivalência terapêutica, já que os excipientes podem levantar questões de segurança, portanto, os excipientes devem ser bem conhecidos e seguros (MARZO & BALANT, 1995).

### **1.1.5 - Critérios de avaliação de bioequivalência**

Quando um medicamento contendo um único fármaco é administrado intravenosamente, ele atinge de modo quase imediato o máximo de concentração, sendo progressivamente eliminado.

Todavia, após a administração oral de um fármaco, ocorre um aumento progressivo de sua concentração sanguínea, ao mesmo tempo em que se inicia a sua eliminação. Se após a administração oral forem coletadas amostras de sangue para determinação da concentração em tempos diferentes, obter-se-á uma curva de nível sanguíneo (sérico ou plasmático) do fármaco.

A concentração da droga no sangue, em determinado momento, é função das seguintes constantes farmacocinéticas: absorção, distribuição, biotransformação e excreção. O nível sanguíneo reflete, portanto, a dinâmica da droga nos diversos compartimentos orgânicos. Assim, numa primeira fase em que ocorre ascensão do nível sanguíneo, há predomínio da absorção do fármaco, enquanto que na fase de eliminação do teor sanguíneo estão predominando a distribuição, a biotransformação e a excreção.

Na curva de nível sanguíneo existem três parâmetros considerados de maior importância para o estudo comparativo de bioequivalência de duas formulações diferentes que contêm o mesmo princípio ativo:

- pico de concentração máxima ( $C_{máx}$ );
- tempo em que ocorre o pico de concentração máxima ( $T_{máx}$ );
- área sob a curva de nível sanguíneo em função do tempo (ASC).

O pico de concentração máxima ( $C_{máx}$ ) representa a concentração mais elevada alcançada dentro do compartimento intravascular após administração do fármaco. O tempo em que ocorre o pico de concentração máxima ( $t_{máx}$ ) está intimamente relacionado com a velocidade de absorção. Para que o fármaco seja terapêuticamente eficiente, é importante que atinja, por tempo suficiente, o nível plasmático efetivo, que é o nível mínimo para que atue eficientemente. E, para evitar riscos de reações tóxicas, não deve ultrapassar a concentração máxima tolerada (ZANINE & OGA, 1994).

A área sob a curva das concentrações sanguíneas em função do tempo (ASC) reflete a quantidade de medicamento que alcança a circulação sistêmica. Alterações no volume aparente de distribuição não influenciam o valor da ASC. A ASC é necessária para estimar outros parâmetros cinéticos, tais como a fração da dose do medicamento que alcança a circulação sistêmica, o volume aparente de distribuição, o “clearance” e o fluxo sanguíneo hepático. Emprega-se, também, para avaliar se a cinética do fármaco é de primeira ordem (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD – OMS, 1992).

O método estatístico para avaliar a bioequivalência é baseado no intervalo de confiança de 90% para a razão das médias (teste/referência) para os parâmetros considerados, que deve estar dentro do intervalo de variação de 80-125%. Este método é equivalente ao procedimento do teste t bicaudal com a hipótese nula da bioinequivalência no nível de significância de 5%. A análise de estatística (p.ex. ANOVA) deve levar em consideração as fontes de variação que podem ser responsáveis por algum efeito sobre a resposta.

A validade das hipóteses subjacentes à análise estatística (p.ex. aditividade, normalidade) pode, freqüentemente, ser melhorada pela transformação dos dados antes da análise, preferivelmente usando a transformação logarítmica. Isto é sugerido para os parâmetros farmacocinéticos que derivam de medidas de concentração, p.ex. ASC,  $C_{máx}$ , etc. Os métodos estatísticos para  $t_{máx}$  devem ser não paramétricos.

Em casos específicos, como para fármacos altamente variáveis, normalmente para  $C_{máx}$ , o critério acima pode ser ajustado para um intervalo maior que 80-125%, de 70-143% (MARZO & BALANT, 1995; CPMP, 1998).

Outros parâmetros farmacocinéticos que podem ser avaliados para fornecer informações adicionais (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD – OMS, 1992):

$T_{1/2}$  : O tempo de meia-vida de eliminação indica o tempo necessário para que 50% do fármaco seja eliminado do organismo. Este depende do volume aparente de distribuição e do “clearance”. A vida média tem várias aplicações práticas:

- para calcular o intervalo entre as doses e determinar a fração que deve ser administrada em cada intervalo;
- para prever o tempo necessário para alcançar o estado de equilíbrio;

- para prever o tempo necessário para eliminar totalmente o fármaco do organismo, e
- para calcular o fator de acumulação de um fármaco depois da administração de doses múltiplas.

$K_e$ : é a constante de eliminação, que indica a fração de fármaco eliminado por unidade de tempo e reflete a somatória das constantes de velocidade de excreção (renal, hepática, etc).

## 1.2 - DICLOFENACO

### 1.2.1 - Histórico

O primeiro agente antiinflamatório não esteroideal (AINE) introduzido após o ácido salicílico foi a fenilbutazona, em 1952. Mais ou menos uma década depois, foram introduzidos outros compostos como o ácido mefenâmico, o ibuprofeno e a indometacina, simultaneamente ao desenvolvimento do diclofenaco.

A proposta era sintetizar um fármaco antiinflamatório não esteroideal com alta atividade e tolerabilidade. Após a avaliação das características estruturais e físico-químicas dos antiinflamatórios disponíveis, concluiu-se que os seguintes fatores deveriam ser considerados:

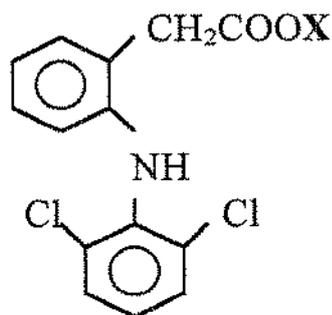
- transporte do fármaco através das membranas biológicas;
- estrutura atômica e espacial da molécula que determina o encaixe com o receptor, e
- estrutura eletrônica que determina a interação específica entre o fármaco e o receptor.

Baseando-se na análise da fenilbutazona, do ácido mefenâmico e da indometacina, foi postulado que um agente anti-reumático efetivo deveria possuir as seguintes características:

- pKa entre 4 e 5;
- coeficiente de partição (n-octanol/tampão aquoso, pH 7,4) de aproximadamente 10, e
- dois anéis aromáticos, com torção um em relação ao outro.

O coeficiente de partição de um ácido depende do grau de dissociação, que depende da constante de ionização da substância e do pH do meio (p. ex.: intestino ou sangue). Este coeficiente exerce grande influência sobre o comportamento farmacocinético de qualquer fármaco, incluindo absorção, ligação às proteínas plasmáticas e receptores e excreção (SALLMANN, 1986).

Os elementos estruturais do diclofenaco incluem um grupo ácido fenilacético, um amino secundário e um anel fenil com átomos de cloro nas posições orto (Fig. 1). Os átomos de cloro causam a torção máxima do anel fenil. O diclofenaco é um ácido fraco ( $pK_a = 4,0$ ), com coeficiente de partição de 13,0 (octanol/tampão fosfato, pH 7,4). A solubilidade do diclofenaco, sob condições fisiológicas, varia de 17,8 mg/l num pH neutro a menos que 1 mg/l em valores de pH mais baixos. A solubilidade pode ser aumentada para 1113 mg/l com a utilização do sal sódico (KUROWSKI, MENNINGER, PAULI, 1994).



onde X pode ser:

H, Na, K, resina

Figura 1: Estrutura química do diclofenaco

### 1.2.1 - Usos terapêuticos

Seus usos terapêuticos incluem o tratamento de artrite reumatóide (ZUCKNER, 1986; KUROWSKI *et al.*, 1994; KOVARIK *et al.*, 1996; KOVARIK *et al.*, 1997), osteoartrite (ALTMAN, 1986; BAKSHI, 1996), espondilite anquilosante (CALABRO, 1986; SMALL, 1989) e condições não reumáticas, como em dores aguda e crônica, e inflamação, tais como cirurgias orais, dismenorréia, dores nas costas, cólicas renal e biliar, bem como em condições pós-traumáticas e cirúrgicas (KANTOR, 1986; BAHAMONDE & SAAVEDRA, 1990; BAKSHI *et al.*, 1994; AHLSTROM *et al.*, 1993; MARCHINI *et al.*, 1995).

A dose de diclofenaco normalmente recomendada é 75 a 150 mg/dia para adultos e 0,5 a 2 mg/kg de peso corporal para crianças, divididas em duas ou três tomadas (DAVIES & ANDERSON, 1997).

### 1.2.3 - Toxicidade/ reações adversas

O principal problema associado com a terapia com os AINEs é a capacidade destes fármacos de induzir danos gastrointestinais, mais notadamente, ulceração gástrica, sangramento e perfuração, bem como o sangramento de úlceras pépticas pré-existent

(SOLL *et al.*, 1991). Os tipos de efeitos colaterais observados com o diclofenaco são semelhantes àqueles com outros AINEs, no entanto, a incidência de tais efeitos tem se mostrado mais baixa e, normalmente, são moderados e transitórios.(O'BRIEN, 1986; SMALL, 1989).

De um modo geral, já foram observados os seguintes efeitos colaterais com o uso do diclofenaco:

- Trato gastrointestinal: gastrite, desconforto gástrico, náuseas, vômito, diminuição do apetite, úlcera, hematemese;
- Sistema nervoso central: tontura, sonolência, dor de cabeça, insônia, excitação;
- Outros: reações alérgicas, irritações locais, edema, distúrbios auditivos e visuais, danos hepáticos e renais, e outros mais raros (SMALL, 1989).

#### 1.2.4 - Farmacodinâmica

O diclofenaco, como outros AINEs, atua sobre a via da cicloxigenase (Fig. 2). Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que o diclofenaco inibe a cicloxigenase, competindo com o ácido araquidônico, de modo dose-dependente, o que resulta na diminuição da formação de prostaglandinas E<sub>2</sub>, prostaciclina F<sub>2α</sub> e tromboxano A<sub>2</sub> (SCHOLER *et al.*, 1986; SKOUTAKIS *et al.*, 1988). Pela inibição da produção destas prostaglandinas, o diclofenaco reduz a inflamação, o inchaço e a dor que acompanham a artrite (SMALL, 1989).

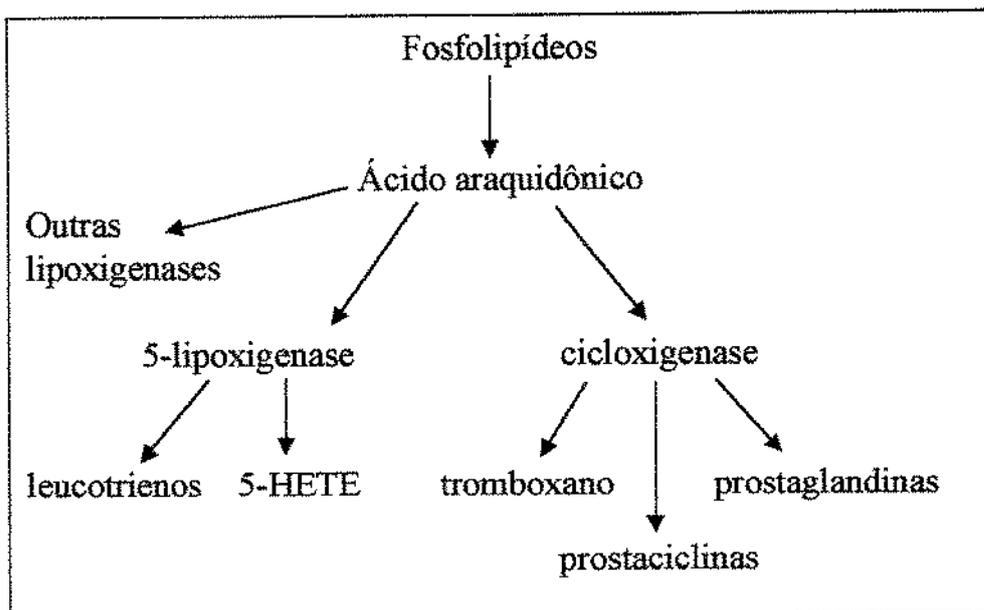


Figura 2: Cascata do ácido araquidônico simplificada (SCHOLER *et al.*, 1986)

O diclofenaco inibe reversivelmente a atividade da cicloxigenase plaquetária, como indicado por uma redução nos níveis séricos de tromboxano B<sub>2</sub>. A inibição do tromboxano depende das concentrações séricas do fármaco e é reversível em função de sua eliminação. *In vitro*, o diclofenaco é um potente inibidor reversível da fase secundária da agregação plaquetária induzida pela adenosina difosfato. No ser humano, entretanto, em doses terapêuticas, exerce pouco efeito sobre o tempo de sangramento e de tromboplastina parcial ativada, contagem, adesividade e agregação plaquetárias (SMALL, 1989). *In vitro*, atua também sobre os leucócitos polimorfonucleares, reduzindo a quimiotaxia, a produção do radical tóxico superóxido e da protease neutra (FRIMAN, *et al.* 1986).

Detalhados estudos *in vitro*, por KU *et al.* (1986), indicaram que o diclofenaco sódico não exerce efeito inibitório em nível de 5- e 15-lipoxigenases, mas reduz a formação do ácido 5-hidroxiicosatetraenóico e leucotrienos, que participam do processo inflamatório. O mecanismo pelo qual isto ocorre parece não estar relacionado à inibição direta da lipoxigenase. Sugere-se que o diclofenaco reduza a liberação e aumente a captação do ácido araquidônico (provavelmente dentro dos triglicerídeos), limitando, assim, a quantidade de ácido araquidônico disponível para as vias lipoxigenase e cicloxigenase. Este efeito é mínimo, mesmo em altas concentrações de diclofenaco, não sendo encontrado quando em doses terapêuticas (KU *et al.*, 1986).

Além da atividade antiinflamatória, o diclofenaco apresenta atividades antipirética e analgésica, já que as prostaglandinas atuam também sobre a dor e a febre. A experiência clínica tem demonstrado que o diclofenaco é um potente analgésico. É comparável ou até superior a outros fármacos antiinflamatórios não esteróides para o tratamento de dores agudas ou crônicas e inflamação. Além disso, apresenta um rápido início de ação, que, em alguns estudos, mantém-se por vários dias (KANTOR, 1986).

## 1.2.5 - Farmacocinética

### 1.2.5.1 - Absorção

O diclofenaco é freqüentemente administrado por via oral, mas também pode ser administrado pelas vias tópica, intravenosa, intramuscular, intracólica e retal. É comercialmente disponível nas seguintes formas farmacêuticas: comprimido, cápsula, comprimido com revestimento entérico, preparações de liberação sustentada, suspensão, gel, supositório, ampola e colírio (DAVIES & ANDERSON, 1997).

A absorção sistêmica do diclofenaco é diretamente proporcional à dose, ou seja, apresenta uma farmacocinética linear para as doses de 25 a 150 mg. As características de absorção da administração de múltiplas doses são semelhantes àquelas de doses únicas. Estudos de biodisponibilidade com doses únicas de diclofenaco marcado com  $C_{14}$ , por via oral e intramuscular, indicam que é quase totalmente absorvido. Entretanto, o diclofenaco sofre metabolismo de primeira passagem, com isto, somente cerca de 60% da forma inalterada atinge a circulação sistêmica (TODD & SORKIN, 1988).

Parece que o diclofenaco é completamente absorvido quando em suspensão, cápsula ou comprimido. Doses únicas de diclofenaco nas formas de comprimido com revestimento entérico, supositório e solução são rapidamente absorvidas, com  $C_{máx}$  observado entre 1,5 e 2,5 horas após administração (TODD & SORKIN, 1988). MENDES *et al.* (1994) observaram valores médios de  $T_{máx}$  mais baixos para suspensões de diclofenaco potássico (0,5h, variando de 0,5 a 2h). Comparado a comprimidos com revestimento entérico, as preparações com liberação sustentada e controlada apresentam

uma  $C_{m\acute{a}x}$  menor e um  $T_{m\acute{a}x}$  retardado. A maioria das preparações de liberação sustentada apresenta biodisponibilidade relativa semelhante aquelas com revestimento entérico. O diclofenaco é rapidamente e bem absorvido a partir de supositórios, podendo ocorrer um aumento da biodisponibilidade devido a uma possível redução no metabolismo de primeira passagem (DAVIES & ANDERSON, 1997). Em comparação  uma formulação com revestimento entérico, o diclofenaco ligado à resina foi absorvido significativamente mais rápido, apresentando uma  $C_{m\acute{a}x}$  mais baixa e nenhuma diferença nas ASC ( $t_{m\acute{a}x} = 1,41$  h vs. 2,56 h) (KUROWSKI *et al.*, 1994).

A absorção não é significativamente alterada pela idade ou doenças. (DAVIES & ANDERSON, 1997). Segundo POLI *et al.* (1996) a ingestão de alimentos pode retardar a velocidade de absorção do diclofenaco e, portanto, ser de particular importância quando a analgesia rápida  desejada.

#### 1.2.5.2 - Distribuão

Estudos em ratos com diclofenaco radiomarcado indicaram que,  parte fígado, bile e rins, as concentrações mais altas estavam no sangue, seguido pelo coração e pulmão.

O volume aparente de distribução, após administração oral, está entre 5 e 10 l em humanos (0,1 a 0,2 l/kg) o que indica que o fármaco se liga mais às proteínas plasmáticas que aos tecidos. Cerca de 99,5% do fármaco está ligado às proteínas séricas, principalmente à albumina, portanto, o diclofenaco  confinado primariamente no compartimento central como refletido pelo, relativamente pequeno, volume aparente de distribução. Se observados os intervalos de dosagem recomendados não ocorre o acúmulo do diclofenaco no organismo (TODD & SORKIN, 1988 e DAVIES & ANDERSON, 1997).

O diclofenaco penetra no líquido sinovial, local primário de ação dos AINE para uso em artrite reumatóide, e atinge o pico de concentração entre 2 a 4 horas após o  $C_{m\acute{a}x}$  do plasma. Comparado ao plasma, o líquido sinovial apresenta valores de  $C_{m\acute{a}x}$  mais baixos, meia-vida cerca de 3 vezes mais longa, o que possibilita que as concentrações no

líquido sinovial persistam mesmo após decaírem no plasma (são maiores que no plasma após 12 a 24 horas de administração). Este fato poderia explicar a duração estendida da ação deste fármaco apesar da sua curta meia-vida aparente no plasma (SKOUTAKIS *et al.*, 1988; DAVIES & ANDERSON, 1997).

O diclofenaco e seus metabólitos atravessam a placenta de animais (TODD & SORKIN, 1988). Com relação ao leite materno, parece ser mínima a possibilidade de exposição do bebê ao diclofenaco por esta via (DAVIES & ANDERSON, 1997).

### 1.2.5.3 - Metabolismo e excreção

O diclofenaco sofre significativo metabolismo de primeira passagem e, por isto, somente cerca de 60% do fármaco atinge a circulação sistêmica após a administração oral. É eliminado principalmente por metabolismo hepático e subsequente excreção urinária e biliar de conjugados sulfatos e glicuronídeos dos metabólitos. O principal metabólito em humanos é 4'-hidroxi-diclofenaco, que possui atividade antiinflamatória negligenciável, comparada à forma inalterada, e representa 20 a 30% da dose excretada pela urina e 10 a 20% da dose excretada pela bile. Três outros metabólitos hidroxilados podem ser encontrados, o 3'-hidroxi-diclofenaco, o 5'-hidroxi-diclofenaco e o 4'-5'-dihidroxi-diclofenaco, que não apresentam nenhuma atividade biológica, cada um sendo eliminado na proporção de 10 a 20% pela urina e pequenas quantidades pela bile. Em voluntários sadios, a depuração plasmática média é de 16 l/h, e a meia-vida de eliminação média na fase terminal é de 1,1 a 1,8h. No total, cerca de 65% de uma dose oral é excretada na urina e 35% nas fezes (TODD & SORKIN, 1988; SKOUTAKIS *et al.*, 1988; SMALL, 1989; DAVIES & ANDERSON, 1997).

Parece que a idade e as doenças renais ou hepáticas não alteram de modo significativo as concentrações plasmáticas do diclofenaco inalterado, apesar das concentrações de metabólitos serem aumentadas por um problema mais grave nos rins (TODD & SORKIN, 1988).

### **1.3 - OBJETIVO**

O objetivo deste estudo é comparar a biodisponibilidade de duas formulações de diclofenaco e avaliar a bioequivalência em voluntários sadios de ambos os sexos, após administração oral de dose única de 50 mg. A nova alternativa farmacêutica do diclofenaco, desenvolvida pela Novartis Biociência/Brasil na forma de suspensão oral, com o diclofenaco ácido livre, foi comparada com a suspensão oral em gotas, que contém o diclofenaco ligado à resina, comercializada pela mesma empresa com o nome de Cataflam®.

## ***2. MATERIAIS E MÉTODOS***

## 2.1 - SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Selecionaram-se 24 voluntários sadios adultos (12 do sexo feminino e 12 do sexo masculino), com idade entre 18 e 39 anos (média  $\pm$  erro padrão da média:  $26 \pm 1$  anos), altura de 146 cm a 180 cm ( $164,94 \pm 2,01$  cm) e peso entre 42,5 Kg e 93,60 Kg ( $65,55 \pm 2,7$ ), dentro da variação de 10% do ideal.

A seleção dos voluntários foi realizada por meio de consulta médica, incluindo-se anamnese e exame físico, além de eletrocardiograma, que colaboraram para a confirmação do estado de higidez. Foi avaliado se os voluntários não apresentavam doenças cardíacas, hepáticas, renais, pulmonares, gastrointestinais, neurológicas, hematológicas e psiquiátricas. Para tanto, realizaram-se os seguintes exames laboratoriais: glicose em jejum, uréia, creatinina, bilirrubina total, proteína total, albumina, fosfatase alcalina, transaminases, colesterol total, triglicérides, ácido úrico,  $\gamma$ GT, hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos total e diferencial, contagem de plaquetas, velocidade de sedimentação de eritrócitos, sorologia - AIDS, hepatite B e C, teste de gravidez nas mulheres (HCG), urina de rotina e parasitológico de fezes.

A exclusão dos voluntários teve como base os seguintes critérios:

- resultados laboratoriais fora dos padrões normais ( $\pm 10\%$ ), exceto quando considerados não significativos pelo clínico;
- participação de estudo experimental ou ingestão de fármaco experimental num período de até três meses antes do início do estudo;
- utilização regular de qualquer medicamento num período de até quatro semanas antes do início do estudo ou qualquer fármaco dentro de uma semana antes do estudo;
- hospitalização por qualquer razão num período de até oito semanas antes do início do estudo;

- história de abuso de drogas ou álcool, ou ingestão de álcool dentro de 48 horas antes da internação;
- história de doença hepática, renal, epilética ou hemopoiética;
- hipo ou hipertensão de qualquer etiologia, necessitando de tratamento farmacológico;
- infarto do miocárdio, angina *pectoris* e/ou insuficiência cardíaca congestiva;
- doação ou perda de 450 ml ou mais de sangue dentro de 3 meses antes do estudo;
- qualquer condição que o investigador julgasse suficiente para excluí-lo.

Usaram-se os seguintes critérios para o desligamento dos voluntários:

- desejo de não continuar no estudo, por razões como não disponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo;
- existência de efeitos indesejáveis a partir do fármaco em estudo;
- testes laboratoriais fora dos valores normais, julgados com relevância clínica;
- doença intercorrente com necessidade do uso de medicamentos.

Após a avaliação criteriosa, os voluntários, então selecionados, assinaram, após terem suas dúvidas esclarecidas, um termo de consentimento, como consta em anexo (anexo III).

## 2.2 - PROTOCOLO CLÍNICO

Os voluntários selecionados, como mencionado acima, foram submetidos a um estudo aberto, aleatório, cruzado com dois períodos de internação de 36 horas, com um intervalo de 14 dias entre eles. Durante cada período, os voluntários foram hospitalizados às 23:00 h, quando iniciaram o jejum, que se estendeu até às 7:00 h do dia seguinte. Então, receberam uma dose única de 50 mg de diclofenaco de determinada formulação (gotas: 3,35 ml ou suspensão: 25 ml), de acordo com a tabela de randomização (anexo I), juntamente com 200 ml de água. As amostras de sangue foram obtidas imediatamente antes e após a administração do fármaco, em intervalos padronizados até 24 h depois.

Durante as 3 primeiras horas após a ingestão dos medicamentos, foi permitida a ingestão de apenas 200 ml de água comum. Com relação às refeições, os voluntários receberam o almoço cinco horas após a administração e o jantar, 11 horas após. Durante o período de internação, não foi permitido consumo de outros alimentos além da dieta padronizada, nem o consumo de álcool e cigarro. Líquidos foram permitidos *ad libitum* após o almoço, exceto aqueles contendo xantina, tais como chá, café e cola. O uso de qualquer medicação foi evitada durante o estudo, no entanto, quando não possível, esta foi relatada.

Os voluntários foram acompanhados por uma equipe de saúde, a fim de assegurar que possíveis reações adversas fossem detectadas e tratadas devidamente. Sinais vitais (pressão arterial, frequência do pulso e temperatura) foram aferidos durante a internação. Após as internações, os voluntários foram reavaliados clinicamente e repetindo-se a bateria de exames.

O protocolo clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica do Centro de Ciências da Saúde e Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará (anexo IV).

### 2.3 - REAGENTES E FÁRMACOS

O diclofenaco (sal sódico) e a indometacina (padrão interno) para análise em CLAE foram fornecidos pela Sigma Chemical Co (EUA). Os reagentes com grau analítico, tais como ácido acético, acetato de amônio, diclorometano, hidróxido de sódio, ácido fosfórico e aquele com grau para CLAE, acetonitrila, foram adquiridos da Merck (Brasil).

As formulações teste e referência foram fornecidas pela Novartis Biociência S.A. (Brasil) e recebem o nome comercial de Cataflam<sup>®</sup>. A formulação teste foi uma suspensão oral de diclofenaco na forma de ácido livre (1,8 mg/ml diclofenaco, equivalente a 2,0 mg/ml diclofenaco potássico, lot n.º 32661) e a formulação referência foi uma suspensão oral em gotas de diclofenaco na forma de resinato (equivalente a 15 mg/ml diclofenaco potássico, lot n.º 31663).

As soluções aquosas foram preparadas com água deionizada (Milli-Q plus, Millipore, USA), sendo a sua resistividade maior que 18.2 MΩ. cm .

### 2.4 - COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue para análise do fármaco no soro foram coletadas de uma veia no antebraço, imediatamente antes e após a administração nos seguintes tempos: 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 8; 12 e 24 horas. Em cada ocasião, uma amostra de 10 ml foi coletada por meio de um "butterfly" heparinizado. As amostras foram centrifugadas a 2000 rpm, durante 10 minutos, o soro foi removido e estocado a -20°C até ser analisado. Todas as amostras de um único voluntário foram analisadas no mesmo dia a fim de se evitarem variações interensaios. As concentrações séricas de diclofenaco foram quantificadas pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase reversa com detecção de ultravioleta como previamente descrito por SANTOS *et al.* (1992) e modificado por MENDES *et al.* (1994), com pequenas alterações nos materiais cromatográficos.

## 2.5 - ANÁLISE DO FÁRMACO

Para 500 µl de cada ponto de calibração (soro contaminado com quantidades conhecidas de diclofenaco sódico) e da amostra de soro, foram acrescentados 580 ng de indometacina (padrão interno) e 200 µl de solução de ácido fosfórico 5%. Após uma breve agitação, a extração da amostra foi realizada pela adição de 4 ml de diclorometano e novamente agitado durante 1 minuto. Os tubos foram centrifugados (2000 rpm por 10 min), e a fase orgânica, lavada com 200 µl de solução de acetato de amônio (uma solução saturada foi diluída a 1:10, com água bi-destilada). Após a centrifugação (2000 rpm por 2 min), a fase orgânica foi colocada em banho-maria a 45°C, sob um leve fluxo de N<sub>2</sub>. O resíduo foi reconstituído com 100 µl de acetonitrila e 20 µl foram injetados no cromatógrafo. (MENDES *et al.*, 1994)

## 2.6 - CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A fase móvel consistiu de uma mistura de acetonitrila e solução de ácido acético 0,1M (40/60, v/v); o pH foi ajustado em 5,6 com solução de hidróxido de sódio 3M e foi bombeada a um fluxo de 2,3 ml.min<sup>-1</sup> através de uma coluna C18 (Spherisorb ODS-25mm, 4,6 x 250 mm; Sigma Aldrich, cat. N° Z226068, SN: 95110843) em temperatura ambiente. Os picos foram monitorados pela absorvância UV a 276 nm numa sensibilidade de 0,005 UA. A quantificação do diclofenaco foi obtida pela plotagem das razões das alturas do picos do diclofenaco e da indometacina, em função das concentrações (MENDES *et al.*, 1994).

O sistema cromatográfico consistiu numa bomba LKB – Bromma 2150 HPLC acoplada a um detector UV, de comprimento de onda duplo, VWM 2141 (Pharmacia – LKB, Uppsala, Suécia). O sinal de saída foi captado pelo registrador Bryans 28000 (Bryan Southern Instruments, Great Britain).

## 2.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA E FARMACOCINÉTICA

A concentração sérica máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) e o tempo em que a mesma ocorreu ( $T_{\text{máx}}$ ) foram obtidos pela curva da concentração da droga *versus* tempo. A área sob a curva da concentração *versus* tempo de 0 a 24 horas ( $ASC_{0-24}$ ) foi calculada usando-se o método trapezoidal de cálculo de áreas. A extrapolação destas áreas ao infinito ( $ASC_{0-\infty}$ ) foi feita adicionando-se ao cálculo da  $ASC_{(0-24)}$ , o valor da razão entre a última concentração detectada e a constante de eliminação ( $C_{\text{última}}/K_e$ ). A constante de eliminação de primeira ordem ( $K_e$ ) foi estimada pela equação de regressão linear dos pontos que descrevem a fase de eliminação numa plotagem log-linear. A meia-vida ( $T_{1/2}$ ) foi derivada a partir desta constante de eliminação ( $\ln 2/K_e$ ).

A bioequivalência entre ambas formulações foi avaliada pelo cálculo das razões individuais (teste/referência) dos parâmetros  $ASC_{0-\infty}$ ,  $ASC_{0-24}$ ,  $C_{\text{máx}}$ ,  $T_{1/2}$  e  $K_e$  e pelas diferenças individuais (teste – referência), com suas respectivas médias e intervalo de confiança de 90% (IC 90%). Neste intervalo de confiança, avaliou-se se as razões estavam dentro da variação de bioequivalência, e, para as diferenças, se o valor zero estava incluído neste intervalo, usando-se testes paramétricos (ANOVA, com transformação logarítmica dos dados) e não paramétricos.

O programas usados foram o WinNonlin Professional Network Edition, versão 1.5; Programa de Bioequivalência para estudos cruzados com dois períodos, versão 3.4; Microsoft Excel, 7.0 e Graph Pad Prism, versão 2.01.

### ***3. RESULTADOS***

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

O ensaio clínico transcorreu normalmente, não sendo relatados quaisquer efeitos colaterais ou reações adversas, nem quaisquer alterações nos exames laboratoriais dos 24 voluntários que participaram do estudo; portanto, as formulações foram consideradas bem toleradas na dose administrada.

A figura 3 mostra cromatogramas típicos obtidos pelo método descrito. Os tempos de retenção foram, aproximadamente, de 7,5 e 10,2 minutos para o diclofenaco e a indometacina, respectivamente. Como se observa na figura 3, nenhum pico interferente apareceu nos tempos de retenção dos compostos de interesse.

O limite de quantificação para o diclofenaco foi de  $10 \text{ ng.ml}^{-1}$ , considerando-se alturas de picos superiores ou iguais a 3 vezes o ruído da linha de base (sinal/ruído = 3). A curva de calibração foi linear na faixa de 10 a  $1000 \text{ ng.ml}^{-1}$ , com coeficiente de Pearson entre 0,955 e 0,999,

Os valores de variação intra-ensaio (como coeficiente de variação % - CV%) foram 24,08; 4,81 e 1,49% para concentrações de diclofenaco de 50, 250 e  $1000 \text{ ng/ml}$ , respectivamente ( $n=6$  para cada concentração). Já os valores dos CV inter-ensaio obtidos foram 27,49; 9,31; 9,22; 4,08; 0,82 % para as respectivas concentrações de 50, 100, 250, 500 e  $1000 \text{ ng/ml}$  de diclofenaco, com o número de replicatas variando entre 19 e 24.

O procedimento de extração assegurou uma recuperação média de 84% para concentrações de diclofenaco, variando de 50 a  $1000 \text{ ng/ml}$ .

A partir da determinação da concentração do diclofenaco no soro, obteve-se uma curva de nível sérico do diclofenaco em função do tempo para cada voluntário e, a partir desta, os parâmetros farmacocinéticos foram calculados (anexo II). A figura 4 representa os valores médios e seus desvios padrão (DP) para os 24 voluntários e a tabela 1 mostra a média e o DP das concentrações séricas do diclofenaco em função do tempo, para ambas formulações.

A tabela 2 exhibe as médias aritméticas (e DP) e geométricas (e IC 90%) dos seguintes parâmetros farmacocinéticos:  $ASC_{0-24h}$ ,  $ASC_{0-\infty}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e a mediana e o intervalo de variação do  $T_{máx}$ .

A tabela 3 resume a análise estatística das razões individuais (teste/referência) de  $ASC_{0-24h}$ ,  $ASC_{0-\infty}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$ , bem como a inclusão do IC 90% para as médias geométricas. As diferenças individuais (teste – referência) do  $T_{máx}$  não foram estatisticamente diferentes de zero, como mostrado pela inclusão do valor zero no IC 90%.

Não se observou nenhum efeito relacionado ao período para quaisquer dos parâmetros farmacocinéticos (dados não mostrados).

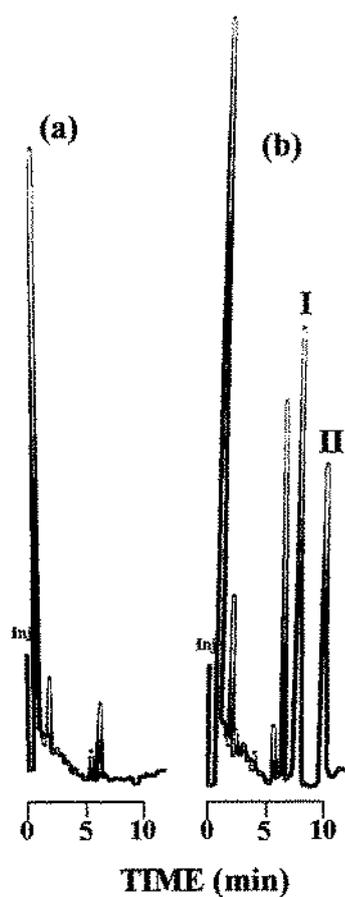
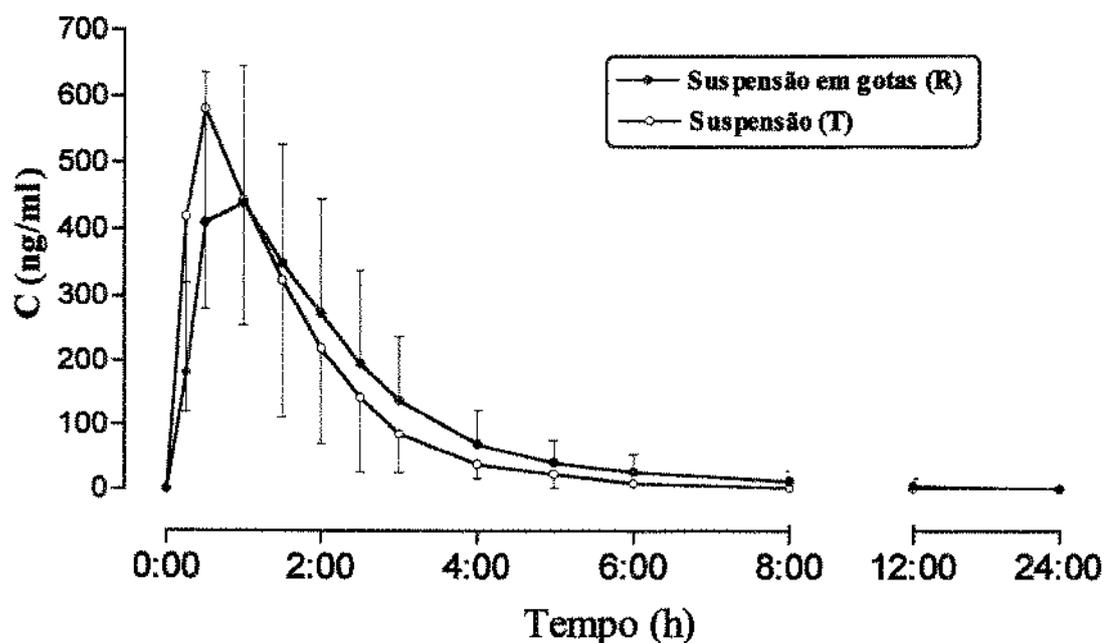


Figura 3: Exemplos de cromatogramas por CLAE.

a: Soro branco mostrando ausência de interferentes nos tempos de retenção dos compostos de interesse.

b: Amostra de soro após 0,25 h da administração de 50 mg de diclofenaco. Pico I: diclofenaco(629,7 ng/ml); pico II: padrão interno (indometacina).

## Concentração Média



Parâmetro	Suspensão (T)	Suspensão em gotas (R)
$ASC_{(0-24h)}$ ( $ng \cdot h \cdot ml^{-1}$ )		
média aritmética (DP)	1040 (418)	1156 (546)
$C_{máx}$ ( $ng \cdot ml^{-1}$ )		
média aritmética (DP)	695 (236)	585 (186)
$T_{máx}$ (h)		
mediana (intervalo)	0.5 (0.25 - 1.50)	1.0 (0.5 - 2.0)

Figura 4: Curva das concentrações séricas de diclofenaco (Média  $\pm$  DP) em função do tempo para ambas as formulações. Os dados correspondem à média de 24 voluntários, os quais receberam uma dose única de 50 mg de diclofenaco.

Tabela 1. Média e desvio padrão das concentrações séricas (ng/mL) do diclofenaco (formulação teste e referência) em função do tempo (n = 24).

Tempo (h)	Teste (suspensão)		Referência (suspensão em gotas)	
	Média	DP	Média	DP
0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,25	419,4	299,5	181,9	138,2
0,5	581,1	301,3	410,7	225,1
1	443,7	189,7	440,0	204,9
1,5	323,8	212,6	349,3	177,7
2	219,5	149,9	272,5	172,3
2,5	142,5	116,9	195,8	142,1
3	85,8	60,5	138,0	100,0
4	39,5	23,3	70,5	51,1
5	23,0	21,3	41,2	34,0
6	8,6	10,3	26,2	27,4
8	1,6	4,4	12,0	15,7
12	1,0	3,4	4,2	10,9
24	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 2. Principais parâmetros farmacocinéticos médios obtidos a partir dos 24 voluntários sadios (12 homens e 12 mulheres), que receberam 50 mg de diclofenaco de ambas as formulações

Parâmetro	Suspensão (T)	Suspensão em gotas (R)
<b><math>ASC_{(0-24h)}</math> (ng h ml<sup>-1</sup>)</b>		
Média geométrica (IC 90%)	975 (861 – 1104)	1051 (901 – 1226)
Média aritmética (DP)	1040 (418)	1156 (546)
<b><math>ASC_{(0-\infty)}</math> (ng ml<sup>-1</sup>)</b>		
Média geométrica (IC 90%)	988 (875 – 1115)	1059 (911 – 1231)
Média aritmética (DP)	1050 (408)	1161 (541)
<b><math>C_{max}</math> (ng ml<sup>-1</sup>)</b>		
Média geométrica (IC 90%)	653 (572 – 745)	557 (498 – 623)
Média aritmética (DP)	695 (236)	585 (186)
<b><math>K_e</math> (h<sup>-1</sup>)</b>		
Média geométrica (IC 90%)	0,65 (0,56 – 0,74)	0,49 (0,41 – 0,59)
Média aritmética (DP)	0,69 (0,28)	0,56 (0,28)
<b><math>T_{1/2}</math> (h)</b>		
Média geométrica (IC 90%)	1,07 (0,94 – 1,23)	1,41 (1,17 – 1,70)
Média aritmética (DP)	1,15 (0,43)	1,63 (1,05)
<b><math>T_{max}</math></b>		
Mediana	0,5	1,0
Intervalo	0,25 - 1,50	0,5 - 2,0

Tabela 3. Análise estatística das razões individuais da  $ASC_{0-24h}$ ,  $ASC_{0-\infty}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e das diferenças individuais de  $T_{máx}$  obtidas após a administração de dose única de 50 mg de diclofenaco (de ambas formulações) em 24 voluntários sadios.

<u>Análise Estatística</u>				
Teste/Referência	Paramétrica		Não-paramétrica*	
	Média Geométrica	IC 90%	Ponto estimado	IC 90%
$ASC_{(0-24h)}$ razão %	92,8	83,9-102,7	90,7	82,0-100,8
$ASC_{(0-\infty)}$ razão %	93,2	84,4-103,0	91,6	82,5-101,5
$C_{máx}$ razão %	117,2	101,7-135,0	114,2	100,1-133,1
$K_e$ razão %	131,0	107,6-159,4	125,6	105,5-154,8
$T_{1/2}$ razão %	76,2	62,7-92,6	79,1	64,2-94,7
$T_{máx}$ diferença%	-0,24 <sup>#</sup>	-0,48 - 0,00 <sup>✱</sup>	-0,25	-0,5 - 0,0

\*De acordo com Hauschke, Steinijans, Diletti, 1990.

<sup>#</sup> Média aritmética para diferenças individuais.

<sup>✱</sup> IC 90% para diferenças individuais

## ***4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS***

O método de análise por CLAE, como em MENDES et al. (1994), se mostrou bastante específico, produzindo cromatogramas sem a presença de interferentes; com boa sensibilidade (10 ng/ml) e amplitude (até 1000 ng/ml), com curva de calibração linear e coeficiente de regressão maior ou igual a 0,9; com boa reprodutibilidade e rapidez.

Devido ao seu potente efeito analgésico e antiinflamatório, o diclofenaco vem se tornando um dos AINEs mais frequentemente usados, o que estimula novas pesquisas e o desenvolvimento de novas formulações galênicas (KUROWSKI *et al.* 1994). A fim de oferecer uma nova alternativa farmacêutica, o diclofenaco foi formulado como uma suspensão oral na forma de ácido livre, que foi comparada com a formulação referência (suspensão oral em gotas), que está ligada a uma resina.

O valor médio da  $ASC_{(0-24h)}$  foi aproximadamente 99% do valor médio da  $ASC_{(0-\infty)}$  para ambas as formulações, e nenhum voluntário mostrou qualquer valor abaixo de 93% da  $ASC_{(0-\infty)}$ . Isto permite o cálculo da extensão da absorção da formulação teste com relação à referência a partir dos valores de  $ASC_{(0-24h)}$ , de acordo com o Food and Drug Administration (FDA – Estados Unidos) e com a Comunidade Européia (mínimo de 80% da  $ASC$  total). O presente estudo demonstrou que o intervalo de confiança de 90% da média de  $ASC_{(0-24)}$  (após transformação logarítmica das razões individuais) está incluso na faixa de variação de bioequivalência (80-125%), quando submetido a análises paramétricas e não paramétricas. Conseqüentemente, as duas formulações de diclofenaco foram equivalentes para a extensão da absorção.

Comparando-se as duas formulações, o  $C_{máx}$  para a suspensão foi maior que para gotas. Parece que as diferentes formas químicas do diclofenaco foram responsáveis por esta diferença, já que a forma livre facilita a absorção. O coeficiente de variação (%) foi maior que 25% para o  $C_{máx}$  de ambas as formulações, indicando que o diclofenaco é um fármaco altamente variável. Para o  $C_{máx}$  de fármacos altamente variáveis, a Agência Reguladora da Comunidade Européia aceita um intervalo de 70-143% para a constatação de bioequivalência da velocidade de absorção (MARZO & BALANT, 1995; SALMONSON, 1996). Portanto, pode ser concluído que a suspensão é bioequivalente com relação a velocidade de absorção à formulação em gotas, de acordo com a Comunidade Européia.

Observou-se um tempo mais rápido para atingir a concentração máxima para a formulação teste. Apesar disso, as diferenças individuais de  $T_{m\acute{a}x}$  não foram estatisticamente diferentes de zero, como mostrado pelo intervalo de confiança 90%, nos testes paramétrico e não paramétrico.

Os valores das medianas de  $T_{m\acute{a}x}$ , de 0,5 h para a suspensão oral e 1,0 h para a suspensão oral em gotas, tendem a ser menores que aqueles relatados a partir de outras formas (comprimidos com revestimento entérico, supositórios e soluções) de 1,5 a 2,5 h após administração do fármaco (TODD & SORKIN, 1988; DAVIES & ANDERSON, 1997). Este fato sugere que estas formulações de diclofenaco expõem a porção terapêutica aos sítios de absorção mais rapidamente, e isto poderia ser vantajoso quando um rápido início do efeito analgésico é desejável. Entretanto, isto deve ser visto como uma tendência, já que a variação inter-indivíduo é importante, como refletido pelas variações do  $T_{m\acute{a}x}$  para ambas as formulações e CV maior que 30%.

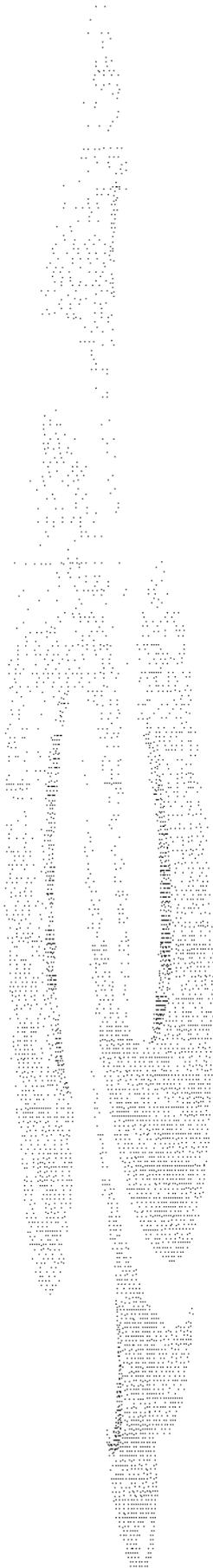
Ambas formulações demonstraram uma eliminação relativamente rápida, como se observou pelos valores de  $T_{1/2}$  and  $K_e$ , comparáveis a outros relatos (WILLIS *et al.*, 1979; TODD & SORKIN 1988; DAVIES & ANDERSON, 1997). A respeito dos IC 90% para as médias do  $T_{1/2}$  e  $K_e$ , estes não foram incluídos no intervalo de bioequivalência; no entanto, estes parâmetros não são decisivos para o estabelecimento da bioequivalência.

Cabe ressaltar a considerável variabilidade individual após a administração do diclofenaco, como se pode observar nos gráficos da concentração em função do tempo (anexo II e figura 4) e pela tabela 1. Dentre os fatores descritos anteriormente como interferentes da biodisponibilidade, destaca-se o metabolismo de primeira passagem do diclofenaco, que impede que cerca de 40 % da dose administrada atinja a circulação sistêmica (DAVIES & ANDERSON, 1997).

Os estudos de bioequivalência vêm contribuir decisivamente para garantir a qualidade e segurança dos medicamentos. Para tanto, é necessária a formação de técnicos qualificados para a realização destes estudos e a criação de centros que possam atender a esta demanda com segurança e isenção, melhorando, conseqüentemente, as condições sanitárias do país.

## ***5. CONCLUSÃO***

Baseando-se nas regras da Comunidade Européia para avaliação de bioequivalência de fármacos em seres humanos e na análise estatística dos resultados obtida neste estudo, em que se utilizou a metodologia de CLAE com detecção no espectro do ultra-violeta, pode-se concluir que a formulação farmacêutica teste (suspensão) é bioequivalente em relação à formulação referência (suspensão em gotas), após administração de dose única de 50 mg de diclofenaco, em voluntários sadios.



## **6. SUMMARY**

*Objective:* To compare the relative bioavailability and to assess the bioequivalence of two different diclofenac formulations (diclofenac suspension as test formulation and diclofenac drop suspension, reference formulation, both by Novartis Biociência, Brazil) in twenty-four healthy volunteers (12 male and 12 female).

*Methods:* After an overnight fast, the volunteers received a single oral dose of each formulation (50 mg), following an open, randomized, two-period crossover design, with a fourteen-day washout interval between doses. Serum samples were obtained over a 24 h interval post-dosing, and were analyzed for their diclofenac content by reverse-phase High Pressure Liquid Chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV). The following pharmacokinetic parameters were obtained after each dose administration:  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $AUC_{(0-24h)}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  and  $K_e$ .

*Results:* No adverse effect was reported for any of the formulations administered. Geometric mean test/reference individual percent ratios were: 92.8% for  $AUC_{(0-24h)}$ , 93.2% for  $AUC_{(0-\infty)}$ , 117.2% for  $C_{max}$ , 131.0% for  $K_e$ , and 76.2% for  $T_{1/2}$ . The variability of  $C_{max}$  parameter expressed as variation coefficient was greater than 25%. The 90% confidence interval (CI) for the geometric mean of AUC and  $C_{max}$  were included into the bioequivalence range. Arithmetic mean for individual  $T_{max}$  differences was -0.24 and the 90% CI includes the zero value.

*Conclusion:* Based on these considerations, the obtained results and the European Community rules for human bioequivalence trial, can be concluded bioequivalence for both, rate and extent of absorption between both formulations after single oral dose administration.

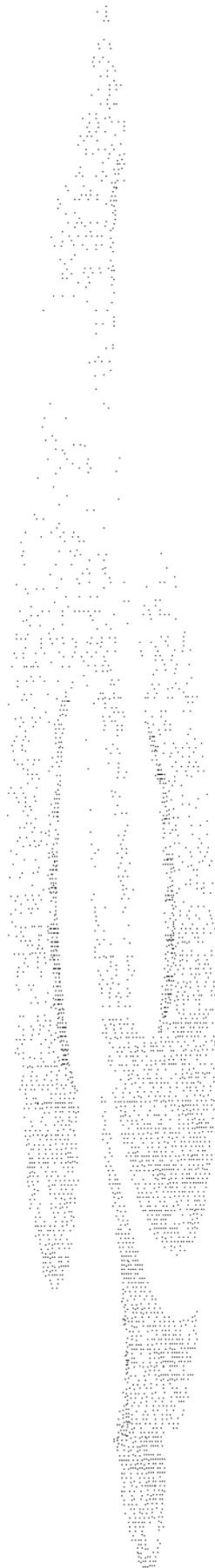
## ***7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- AHLSTROM, U.; BAKSHI, R.; NILSSON, P.; WAHLANDER, L. - The analgesic efficacy of diclofenac dispersible and ibuprofen in postoperative pain after dental extraction. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, 44(suppl. 6): 587-588, 1993.
- ALTMAN, R. - International experiences with diclofenac in osteoarthritis. **Am. J. Med.**, 80(suppl 4B): 48-52, 1986.
- BAHAMONDE, L.A. & SAAVEDRA, H. - Comparison of the analgesic and anti-inflammatory effects of diclofenac potassium *versus* piroxicam *versus* placebo in ankle sprain patients. **J. Int. Med. Res.**, 18(suppl 2): 104-111, 1990.
- BAKSHI, R. - Comparative efficacy and tolerability of two diclofenac formulations in the treatment of painful osteoarthritis. **Br. J. Clin. Pract.**, 50(suppl 6): 294-297, 1996.
- BAKSHI, R.; FRENKEL, G.; DIETLEIN, G.; MEURER, WITT. B.; SCHNEIDER, B.; SINTERHAUF, U. - A placebo-controlled comparative evaluation of diclofenac dispersible *versus* ibuprofen in postoperative pain after third molar surgery. **J. Clin. Pharmacol.**, 34(suppl 3): 225-230, 1994.
- CALABRO, J.J. - Efficacy of diclofenac in ankylosing spondylitis. **Am. J. Med.**, 80(suppl 4B): 58-63, 1986.
- COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS (CPMP). **Note for Guidance: Investigation of bioavailability and bioequivalence**. London: EMEA, 1998. 17p.
- DAVIES, N.M. & ANDERSON, K.E. - Clinical Pharmacokinetics of Diclofenac. Therapeutic Insights and Pitfalls. **Clin. Pharmacokinet.**, 33(suppl 3): 184-213, 1997.
- DUKES, M.N.G., ed. - **Drug Utilization Studies**. Filand, WHO Regional Publications, 1993. p.5-22 (European Series, 45).
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bioavailability and bioequivalence requirements**. Fed. Reg. 21, part 320, vol. 5, 1998.

- FRIMAN, C.; JOHNSTON, C.; CHEW, C.; DAVIES, P. - Effect of diclofenac sodium, tolfenamic acid and indomethacin on the production of superoxide induced by N-formyl-methionyl-leucyl-phenyl-alanine in normal human polymorphonuclear leukocytes. **Scand. J. Rheumatol.**, 15: 41-6, 1986.
- HAUSCHKE, D.; STEINJANS, V.W.; DILETTI, E. - A distribution-free procedure for the statistical analysis of bioequivalence studies. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, 28: 72-78, 1990.
- KANTOR, T.G. - Use of diclofenac in analgesia. **Am. J. Med.**, 80(suppl 4B): 64-69, 1986.
- KOVARIK, J.M.; KURKI, P.; MUELLER, E.; GUERRET, M.; MARKERT, E.; ALTEN, R.; ZEIDLER, H.; STOLZENBURG S.G. - Diclofenac combined with cyclosporine in treatment of refractory rheumatoid arthritis: longitudinal safety assessment and evidence of a pharmacokinetic/dynamic interaction. **J. Rheumatol.**, 23(suppl 12): 2033-2038, 1996.
- KOVARIK, J.M.; MUELLER, E.A.; GERBEAU, C.; TARRAL, A.; FRANCHETEAU, P.; GUERRET, M. - Cyclosporine and nonsteroidal antiinflammatory drugs: exploring potential drug interactions and their implications for the treatment of rheumatoid arthritis. **J. Clin. Pharmacol.**, 37(suppl 4): 336-343, 1997.
- KU, E.C.; LEE, W.; KOTHARI, H.V.; SCHOLER, D.W. - Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. **Am. J. Med.**, 80(suppl 4B): 18-23, 1986.
- KUROWSKI, M.; MENNINGER, H.; PAULI, E. - The efficacy and relative bioavailability of diclofenac resinate in rheumatoid arthritis patients. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, 32(suppl 8): 433-440, 1994.
- MARCHINI, M.; TOZZI, L.; BAKSHI, R.; PISTAI, R.; FEDELE, L. - Comparative efficacy of diclofenac dispersible 50 mg and ibuprofen 400 mg in patients with primary dysmenorrhea. A randomized, double-blind, within-patient, placebo-controlled study. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, 33(suppl 9): 491-7, 1995.

- MARZO, A. & BALANT, L.P. Bioequivalence. An update reappraisal adressed to applications of interchangeable multi-source pharmaceutical products. **Arzneim.-Forsch./Drug Res.** **45(1)**: 109-115, 1995.
- MENDES, G.B.B.; FRANCO, L.M.; MORENO, R.A.; FERNANDES, A.G.; MUSCARA, M.N.; DE NUCCI, G. - Comparative bioavailability of two suspension formulations of potassim diclofenac in healthy male volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, **32(suppl 3)**: 131-135, 1994.
- O'BRIEN, W.M. - Adverse reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Diclofenac compared with other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am. J. Med.**, **80(suppl 4B)**: 70-80, 1986 .
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Metodos en Farmacologia Clinica**. Washington, OPA, 1992. 432p.
- POLI, A.; MORENO, R.A.; RIBEIRO, W.; DIAS, H.B.; MORENO, H JR.; MUSCARA, M.N.; DE-NUCCI, G. - Influence of gastric acid secretion blockade and food intake on the bioavailability of a potassium diclofenac suspension in healthy male volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, **34(suppl 2)**: 76-9, 1996.
- SALLMANN, A.R. - The history of diclofenac. **Am. J. Med.**, **80 (suppl 4B)**: 29-33, 1986.
- SALMONSON, T. - Current practice of BA/BE requeriments for immediate release products in EU. Abstract from Bio International: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetics, International Conference of F.I.P. **Bio-International 96**, Tokio, p.16-19, 1996.
- SANTOS, S.R.C.J.; DONZELLA, H.; BERTOLINE, M.A.; PEREIRA, M.D.; OMOSAKO, C.E.; PORTA, V. - Simplified micromethod for the HPLC measurement of diclofenac in plasma. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **25**: 125-128, 1992.
- SCHOLER, D.W.; KU, E.C.; BOETTCHER, I; SCHWEIZER, A. - Pharmacology of sodium diclofenac. **Am. J. Med.**, **80(suppl 4B)**: 34-38, 1986.

- SHARGEL, L. & YU, A.B.C. - **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**, 3. ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1993. p. 193-223.
- SKOUTAKIS, V.A.; CARTER, C.A.; MICKLE, T.R.; SMITH, V.H.; ARKIN, C.R.; ALISSANDRATOS, J.; PETTY, D. - Review of diclofenac and evaluation of its place in therapy as a non-steroidal antiinflammatory agent. **Drug Intell. Clin. Pharm.**, 22(suppl 11): 850-859, 1988.
- SMALL, R.E. - Diclofenac sodium. **Clin. Pharm.**, 8 (suppl 8): 545-558, 1989.
- SOLL, A.H.; WEISTEIN, W.M.; KURATA, J.; MCCARTHY, D. - Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcer disease. **Ann. Intern. Med.**, 114: 307-319, 1991.
- SPIPKER, B. (coord.) **Guide to Clinical Trials**. New York: Raven Press, 1991. p.639-647.
- TODD, P.A. & SORKIN, E.M. - Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties; and therapeutic efficacy. **Drugs**, 35 (suppl 3): 244-285, 1988.
- WILLIS, J.V.; KENDALL, M.J.; FLINN, R.M.; THORNHILL, D.P.; WELLING, P.G. - The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, 16 (suppl 6): 405-410, 1979.
- ZANINE, A.C. & OGA, S. - **Farmacologia Aplicada**. 5. ed. São Paulo: Atheneu Editora. 1994. p.11-21; 45-63.
- ZUCKNER, J. - International experience with diclofenac in rheumatoid arthritis. **Am. J. Med.**, 80 (suppl 4B): 39-42, 1986.



## **8. ANEXOS**

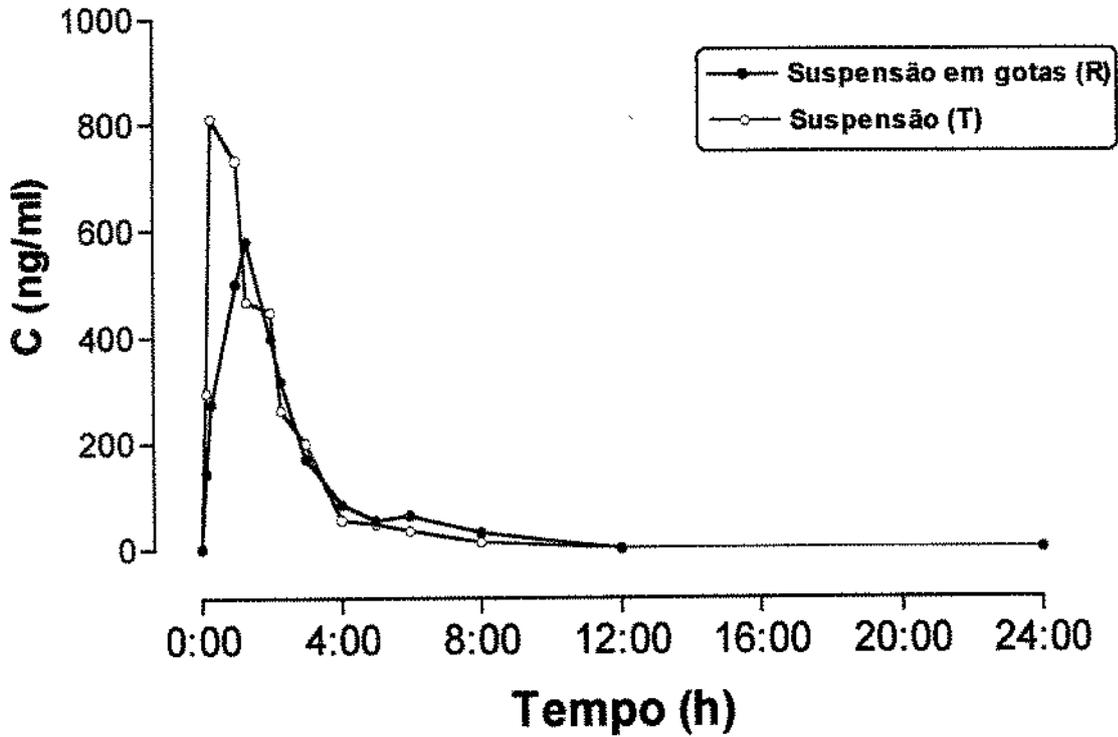
**Seqüência de administração das duas formulações  
de diclofenaco em 24 voluntários sadios**

### Seqüência de administração

Vol. n.º	Período I	Período II
1	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
2	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
3	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
4	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
5	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
6	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
7	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
8	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
9	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
10	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
11	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
12	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
13	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
14	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
15	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
16	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
17	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
18	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
19	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
20	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas
21	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
22	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
23	Suspensão em gotas	<b>Suspensão</b>
24	<b>Suspensão</b>	Suspensão em gotas

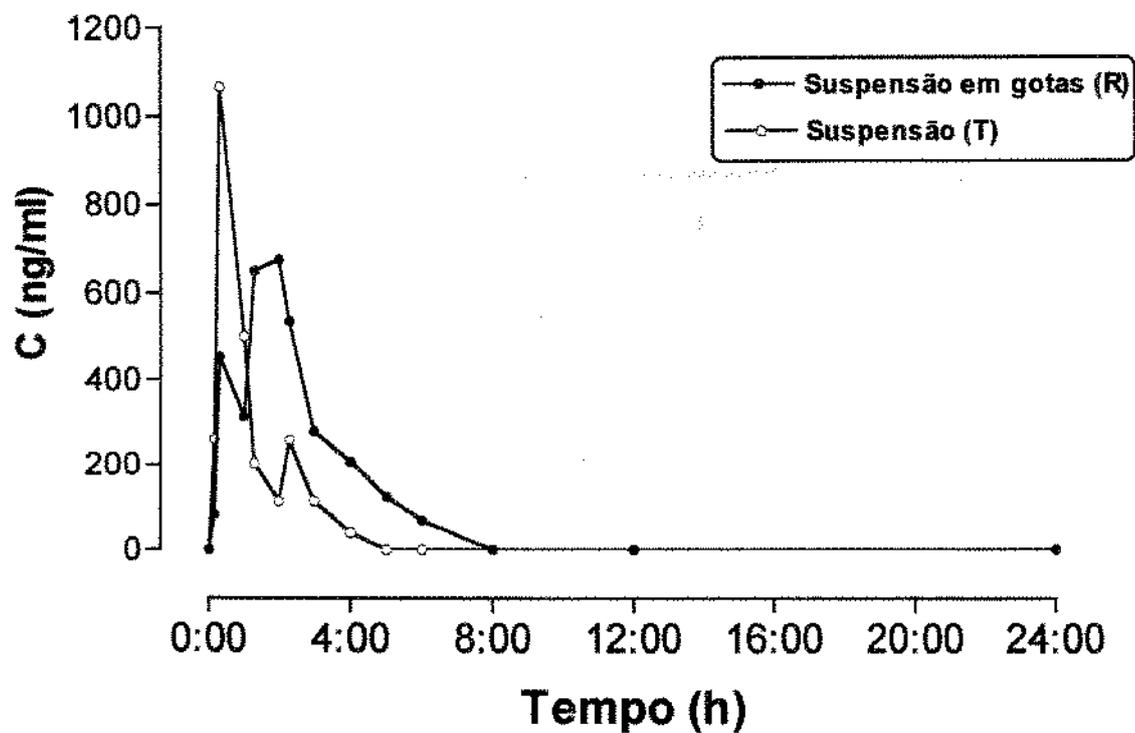
**Concentrações individuais em função do tempo  
(figuras) e parâmetros farmacocinéticos (tabelas)**

# VOL. I



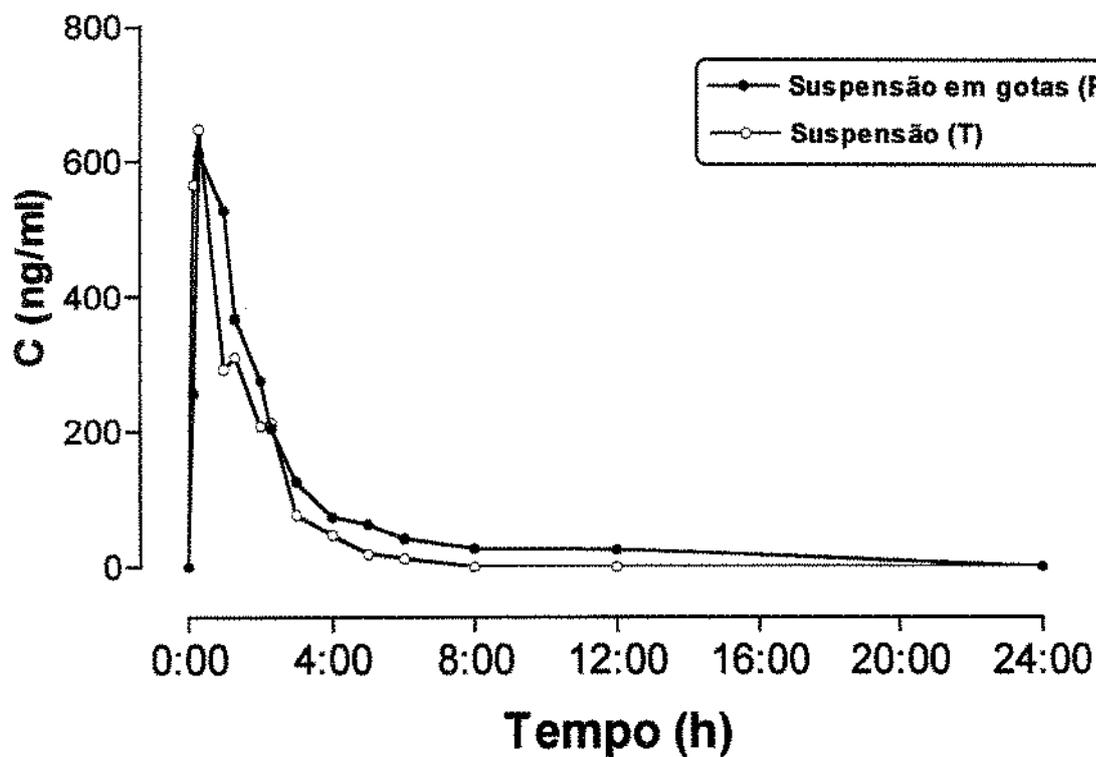
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1590	1671
C <sub>max</sub> (ng/mL)	579	810
t <sub>max</sub> (h)	1.50	0.50

## VOL. II



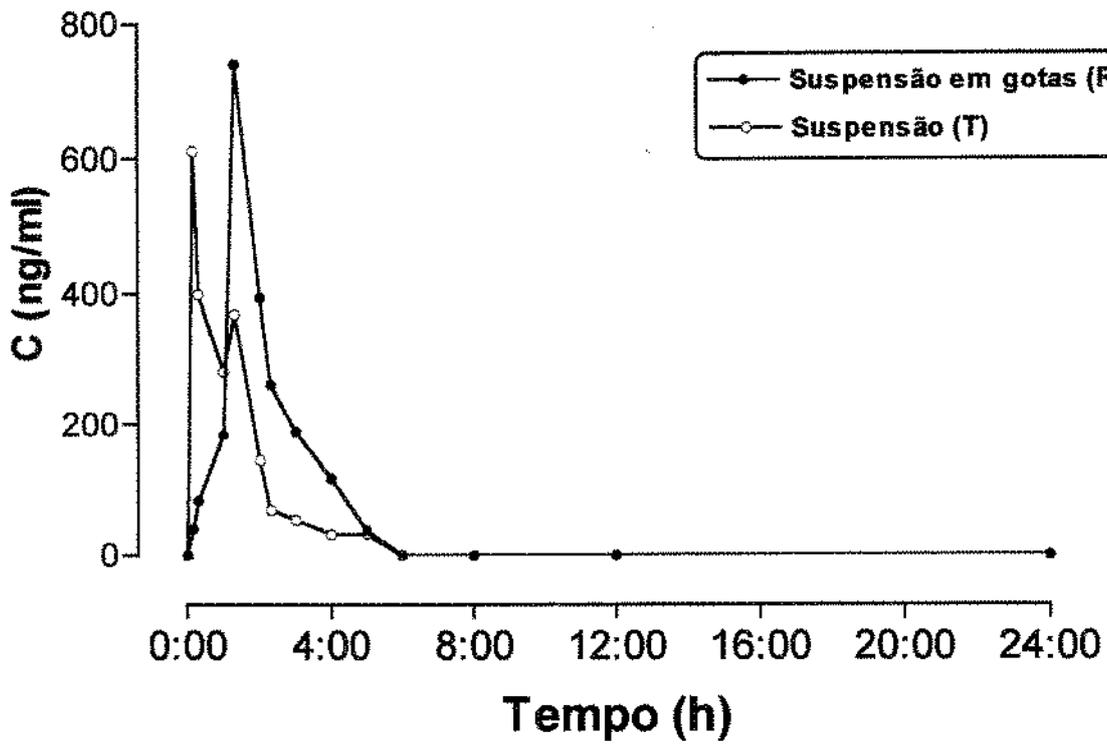
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1928	1133
C <sub>max</sub> (ng/mL)	678	1067
t <sub>max</sub> (h)	2	0.5

# VOL. III



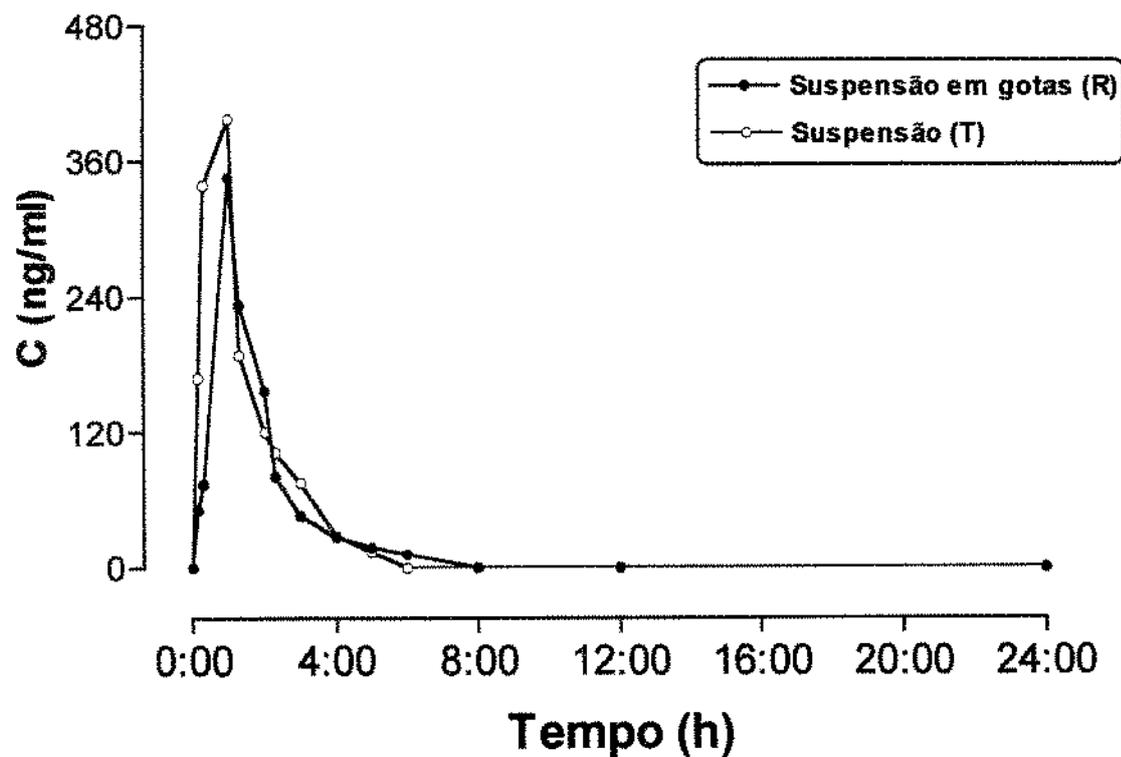
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1559	1040
C <sub>max</sub> (ng/mL)	613	648
t <sub>max</sub> (h)	0.5	0.5

## VOL. IV



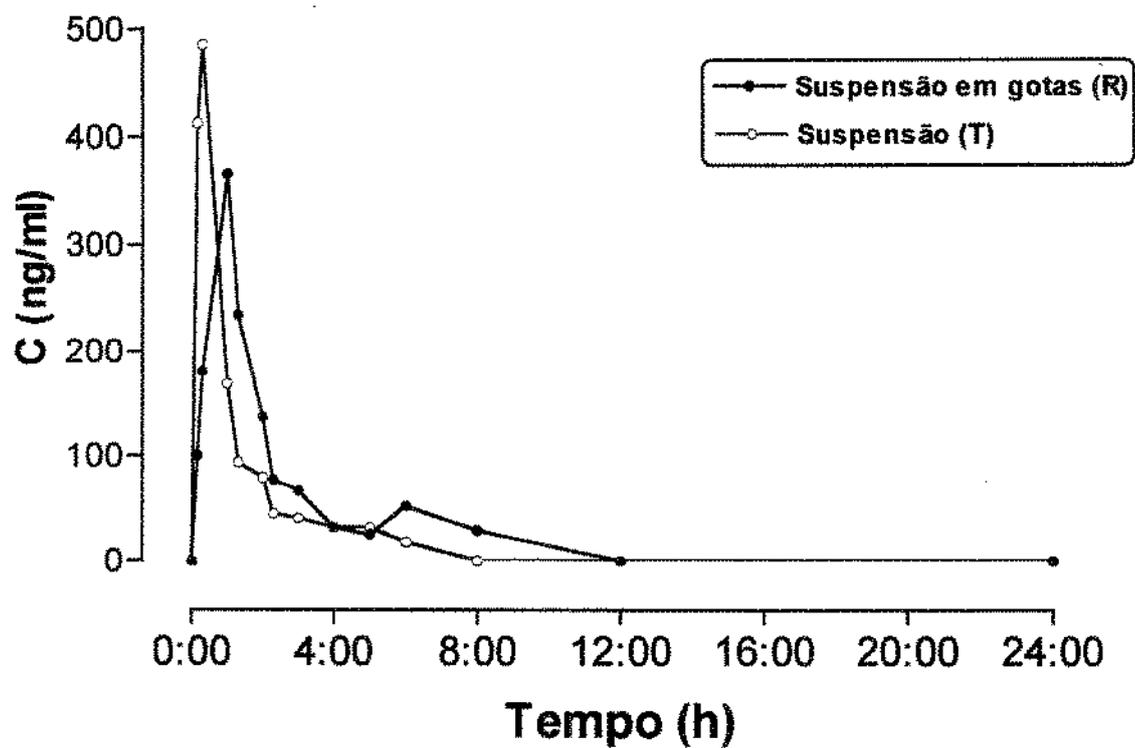
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1131	843
$C_{max}$ (ng/mL)	742	613
$t_{max}$ (h)	1.5	0.25

# VOL. V



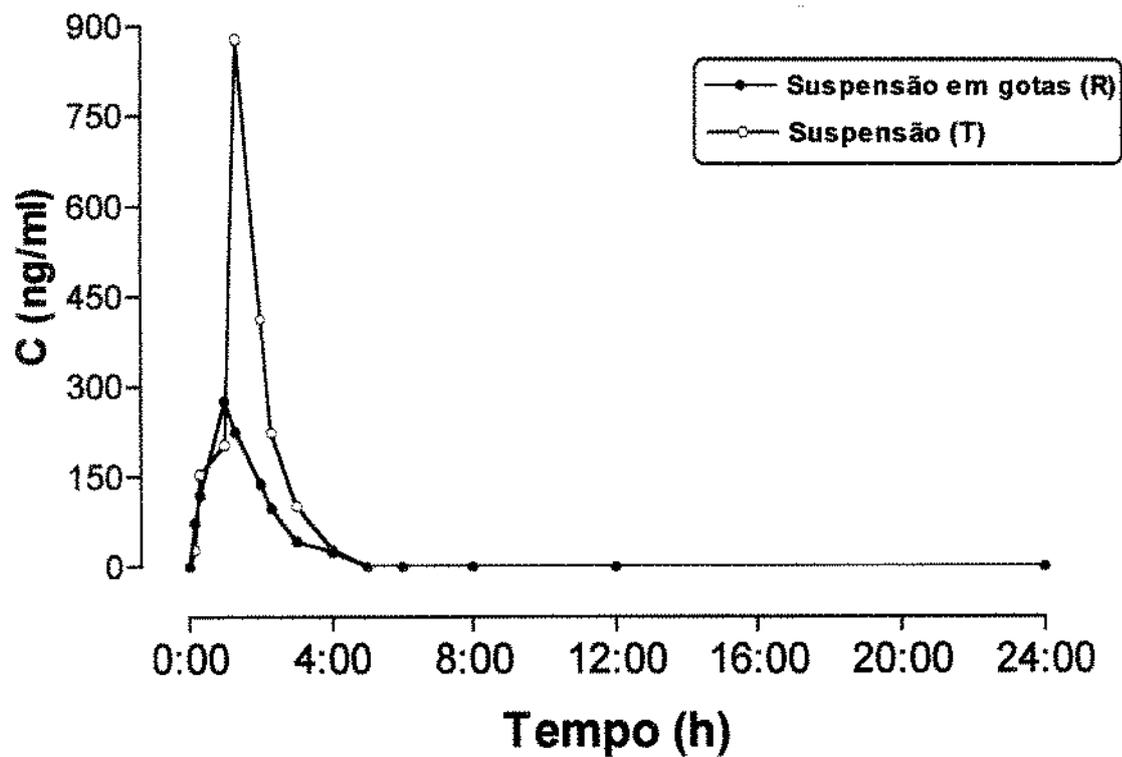
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	551	674
C <sub>max</sub> (ng/mL)	346	399
t <sub>max</sub> (h)	1	1

## VOL. VI



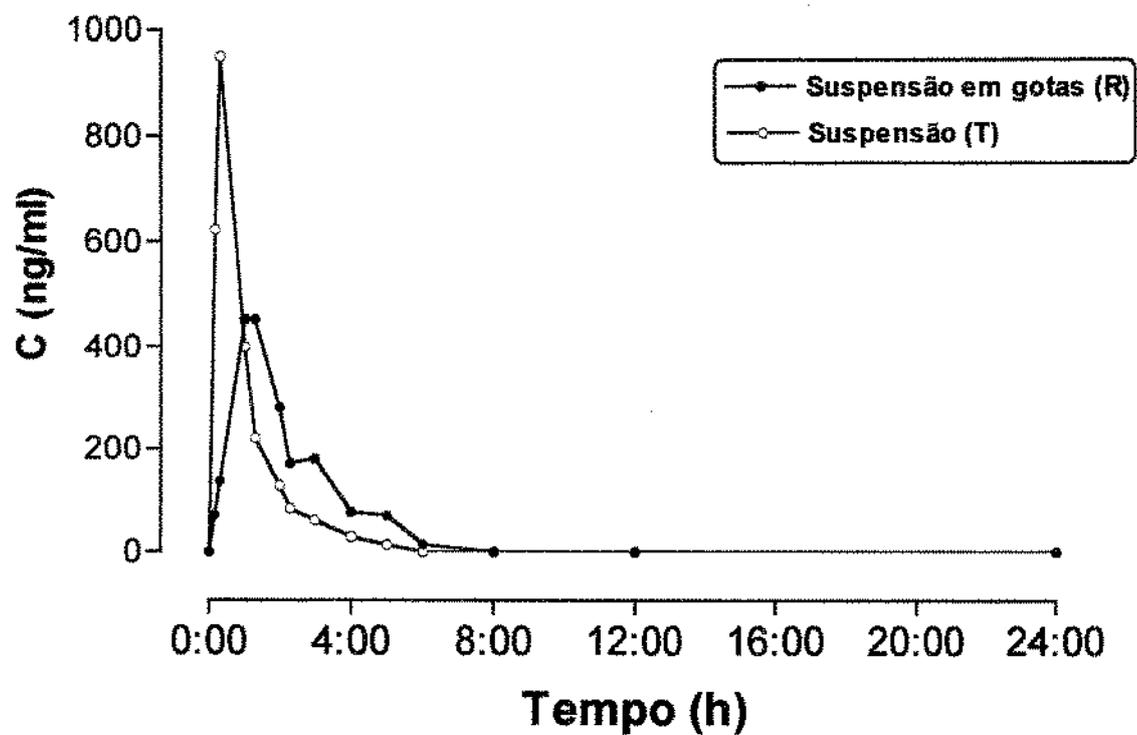
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	775	604
$C_{\max}$ (ng/mL)	366	487
$t_{\max}$ (h)	1	0.5

## VOL. VII



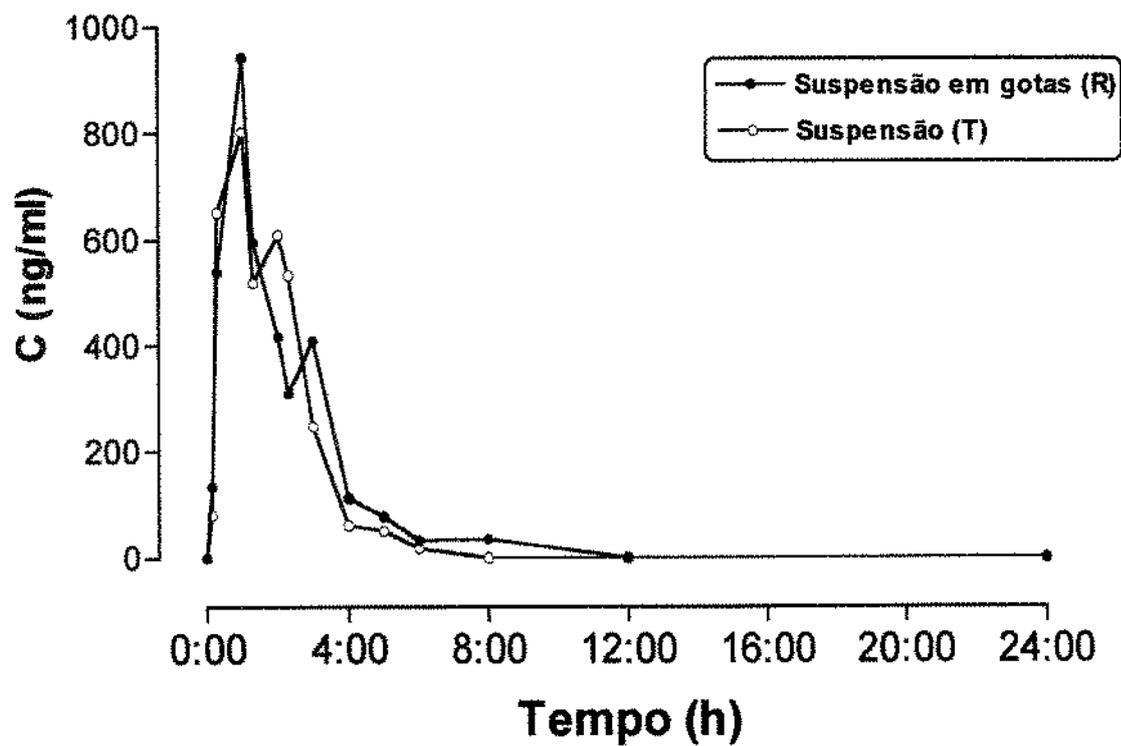
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] ( $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ )	487	1027
$C_{\text{max}}$ ( $\text{ng/mL}$ )	276	879
$t_{\text{max}}$ (h)	1	1.5

## VOL. VIII



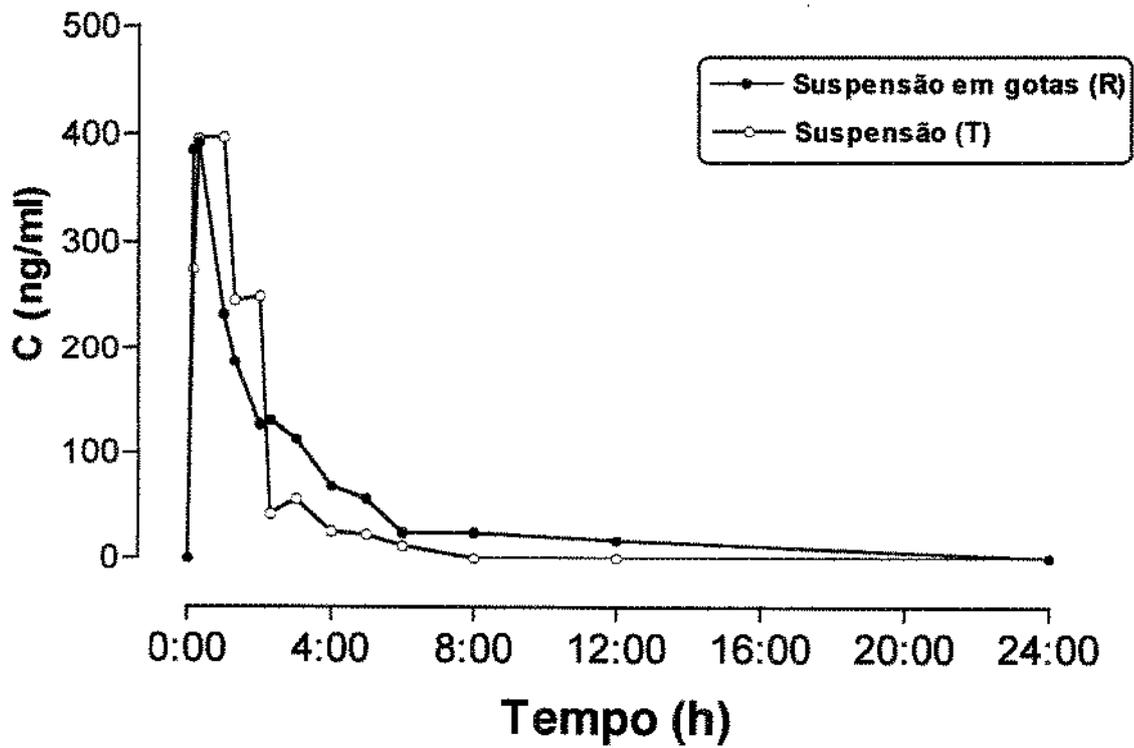
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1056	1020
$C_{max}$ (ng/mL)	454	950
$t_{max}$ (h)	1.5	0.5

## VOL. IX



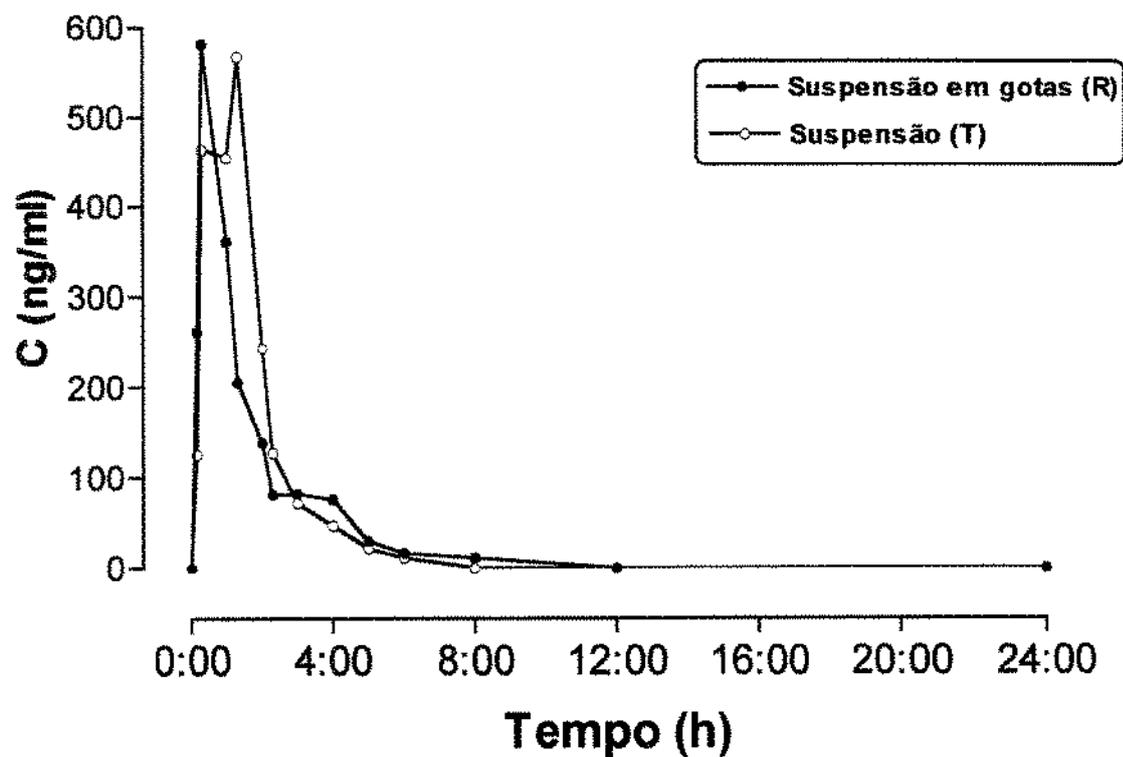
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	2023	1821
$C_{max}$ (ng/mL)	944	803
$t_{max}$ (h)	1	1

# VOL. X



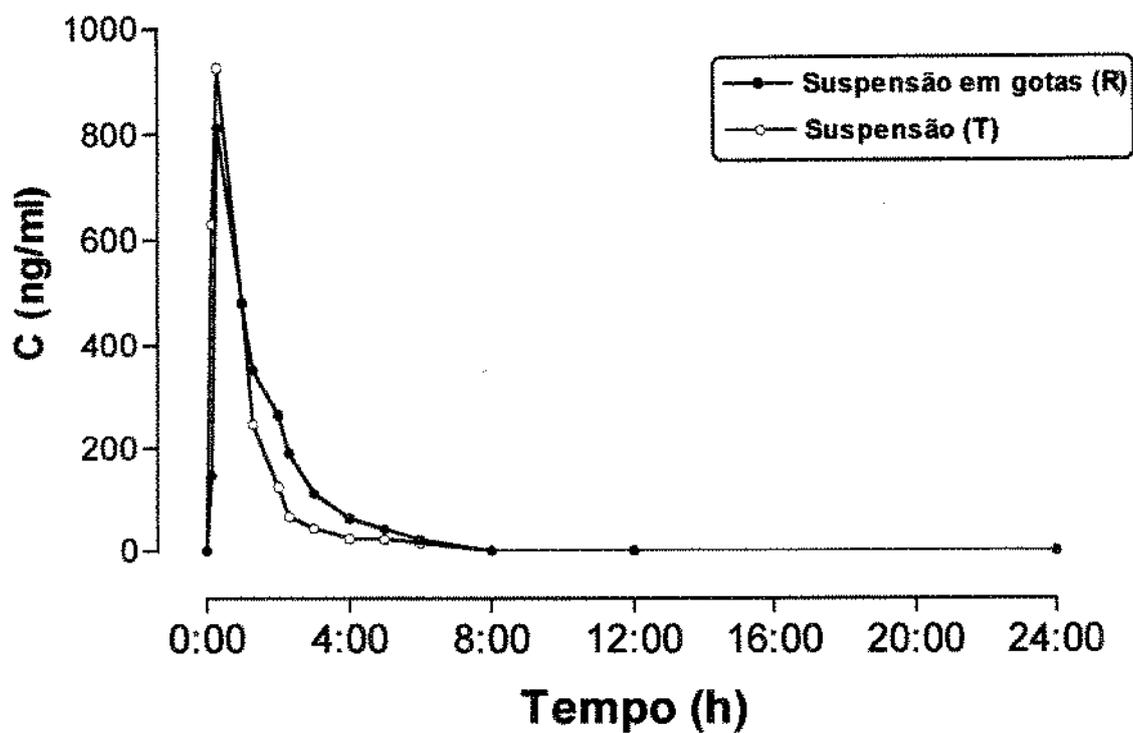
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1040	791
$C_{max}$ (ng/mL)	393	397
$t_{max}$ (h)	0.5	1

# VOL. XI



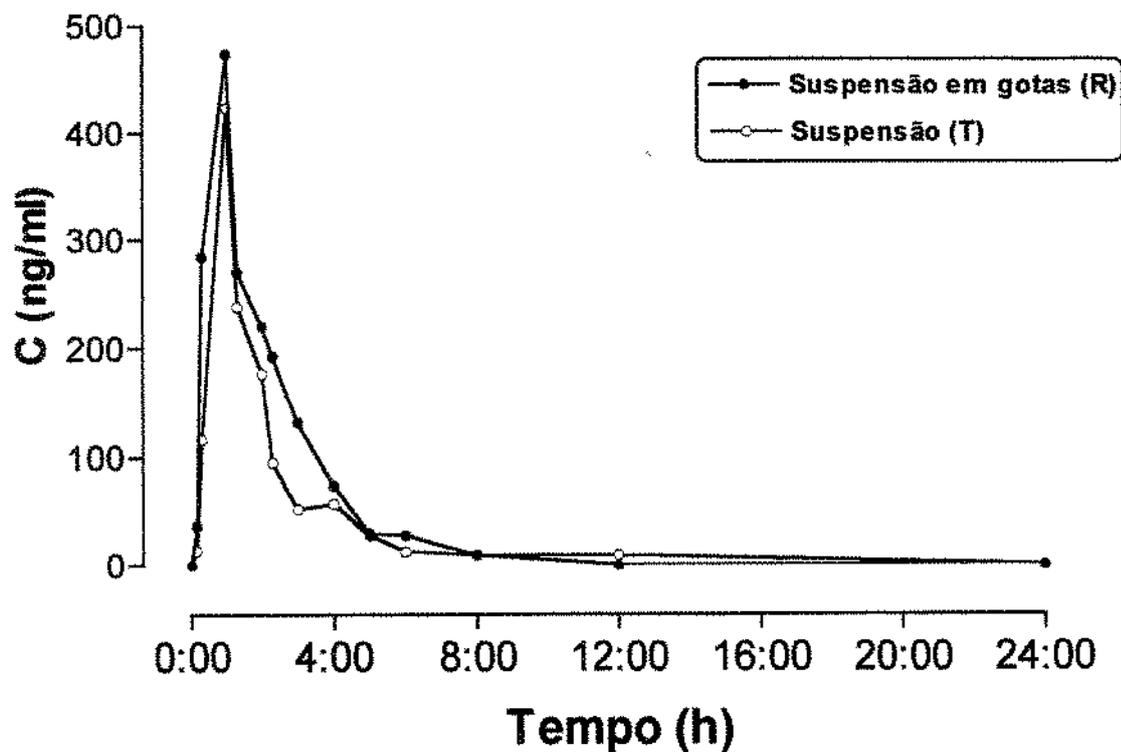
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	910	1045
$C_{max}$ (ng/mL)	582	569
$t_{max}$ (h)	0.5	1.5

## VOL. XII



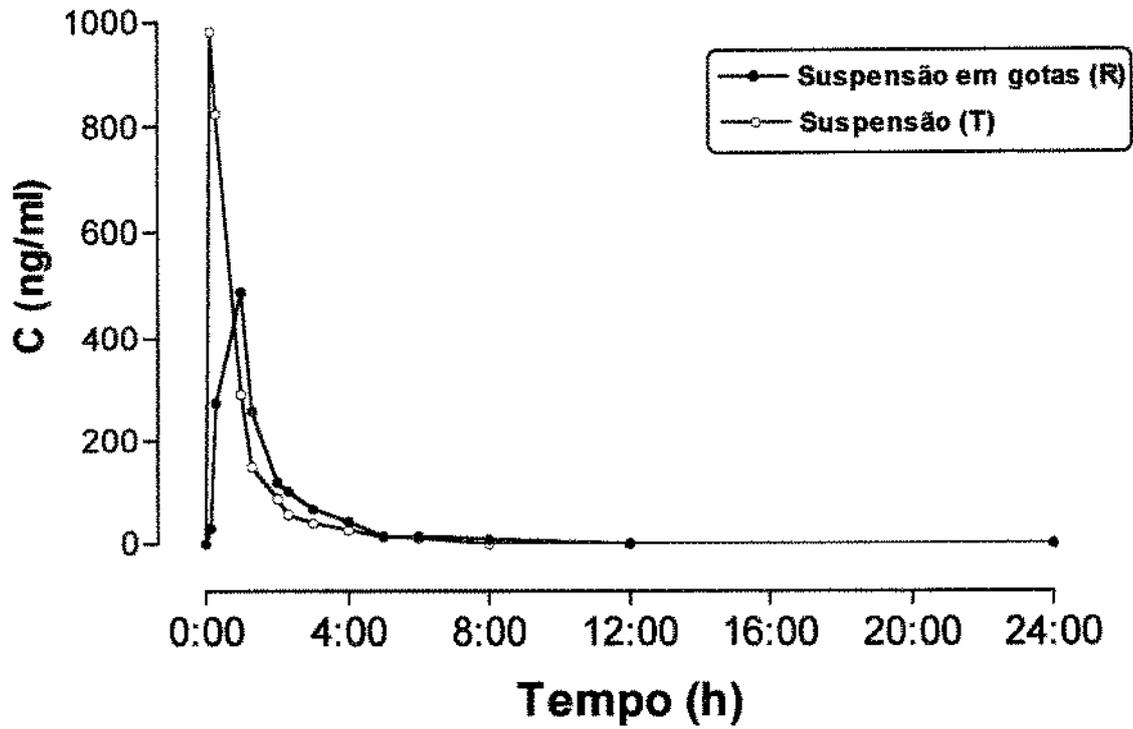
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1207	1068
$C_{\max}$ (ng/mL)	812	927
$t_{\max}$ (h)	0.5	0.5

# VOL. XIII



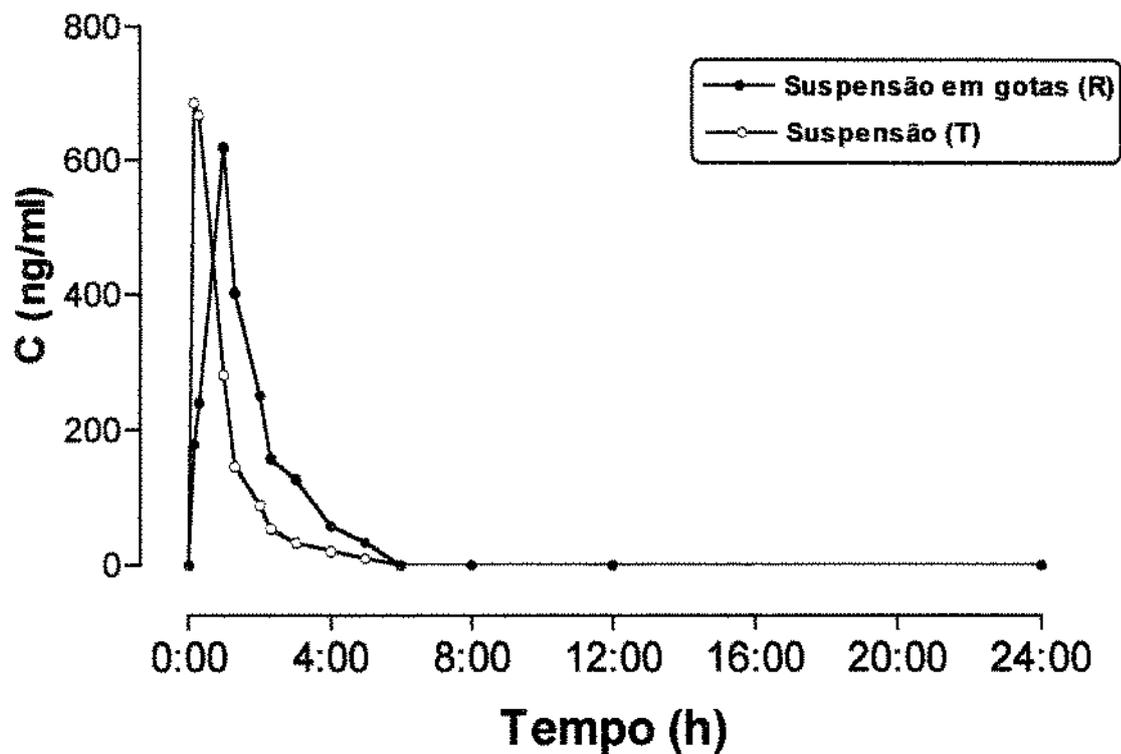
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	973	775
C <sub>max</sub> (ng/mL)	474	424
t <sub>max</sub> (h)	1	1

## VOL. XIV



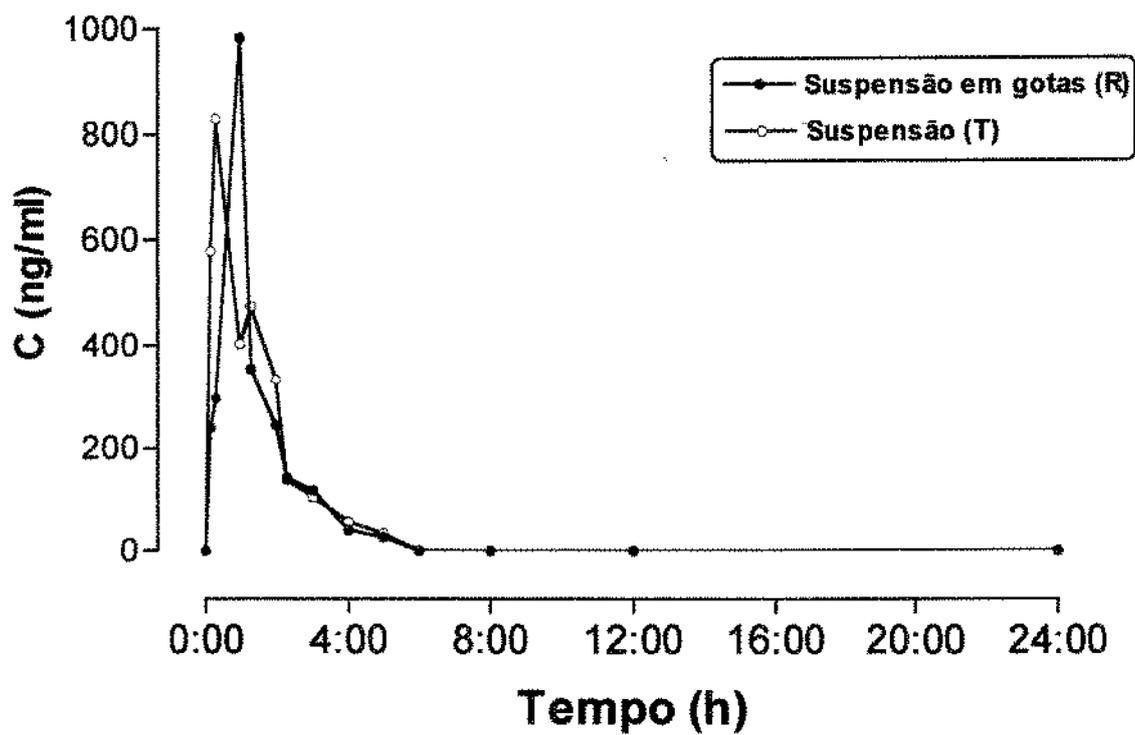
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	756	937
C <sub>max</sub> (ng/mL)	487	982
t <sub>max</sub> (h)	1	0.25

## VOL. XV



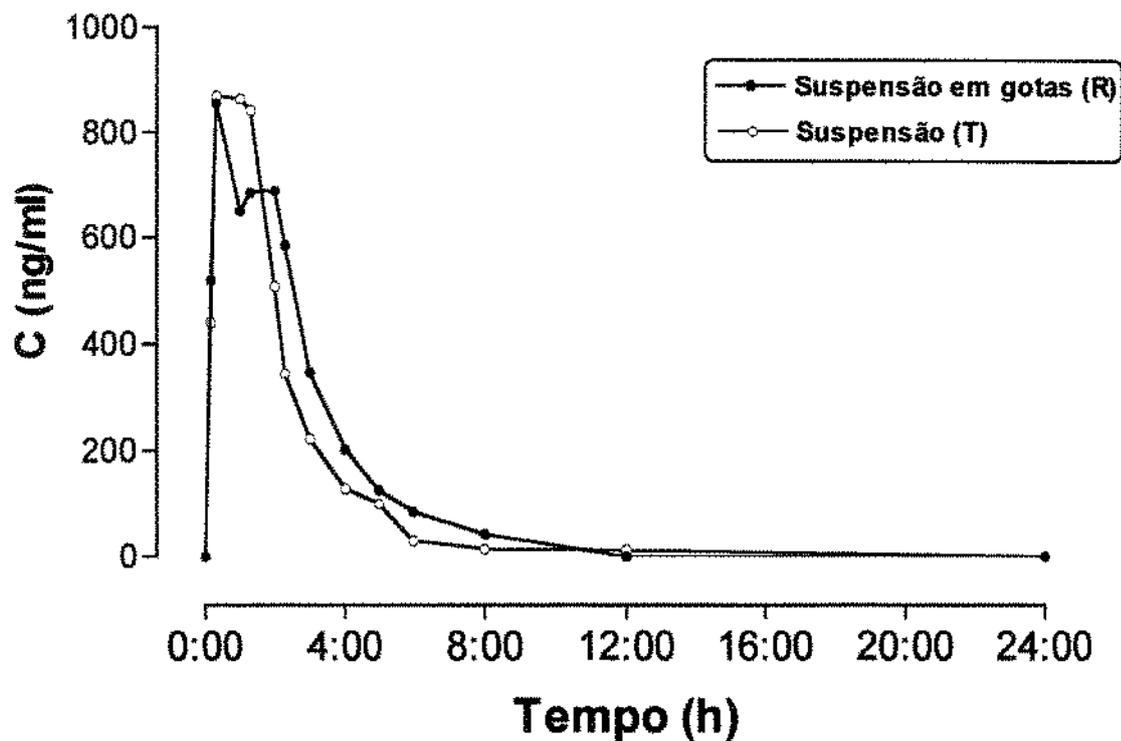
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1039	765
$C_{max}$ (ng/mL)	619	688
$t_{max}$ (h)	1	0.25

## VOL. XVI



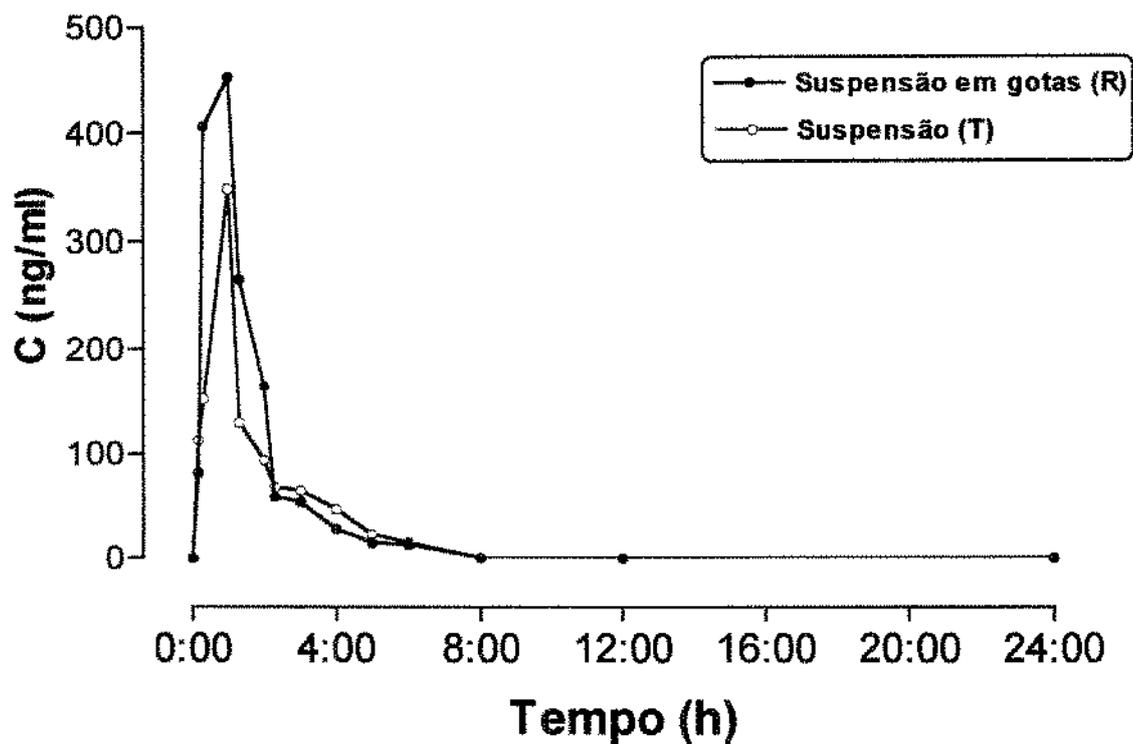
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1194	1302
$C_{max}$ (ng/mL)	984	829
$t_{max}$ (h)	1	0.5

## VOL. XVII



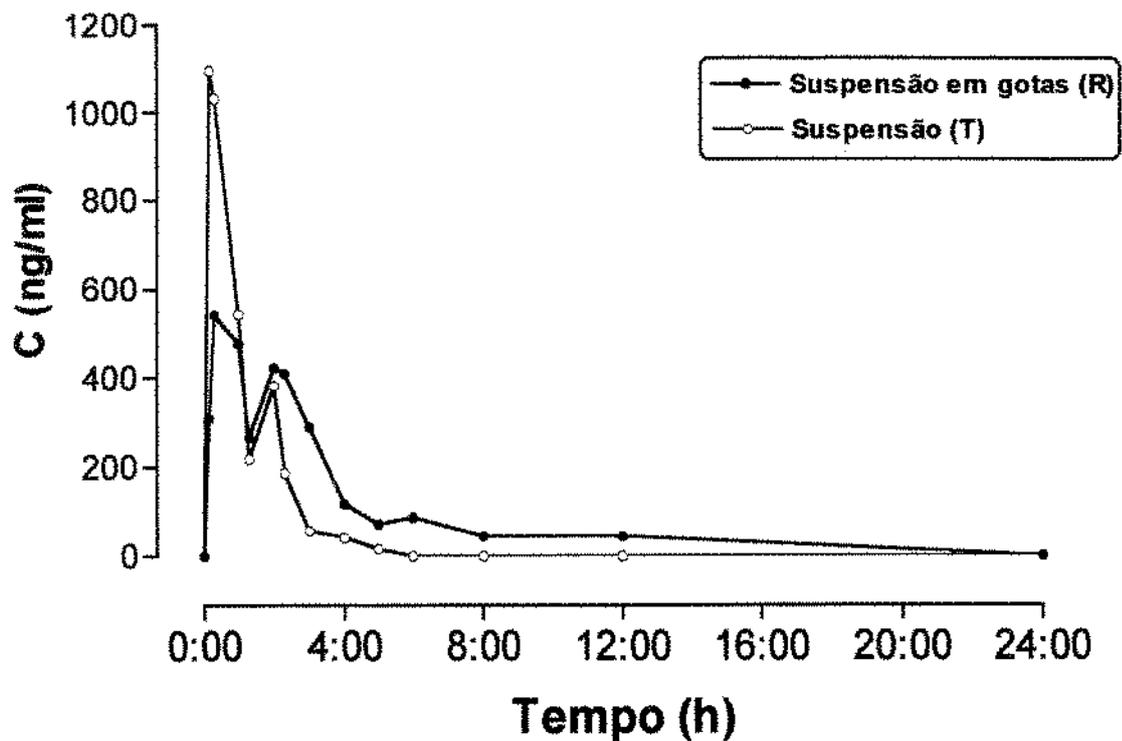
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	2604	2315
$C_{max}$ (ng/mL)	857	872
$t_{max}$ (h)	0.5	0.5

## VOL. XVIII



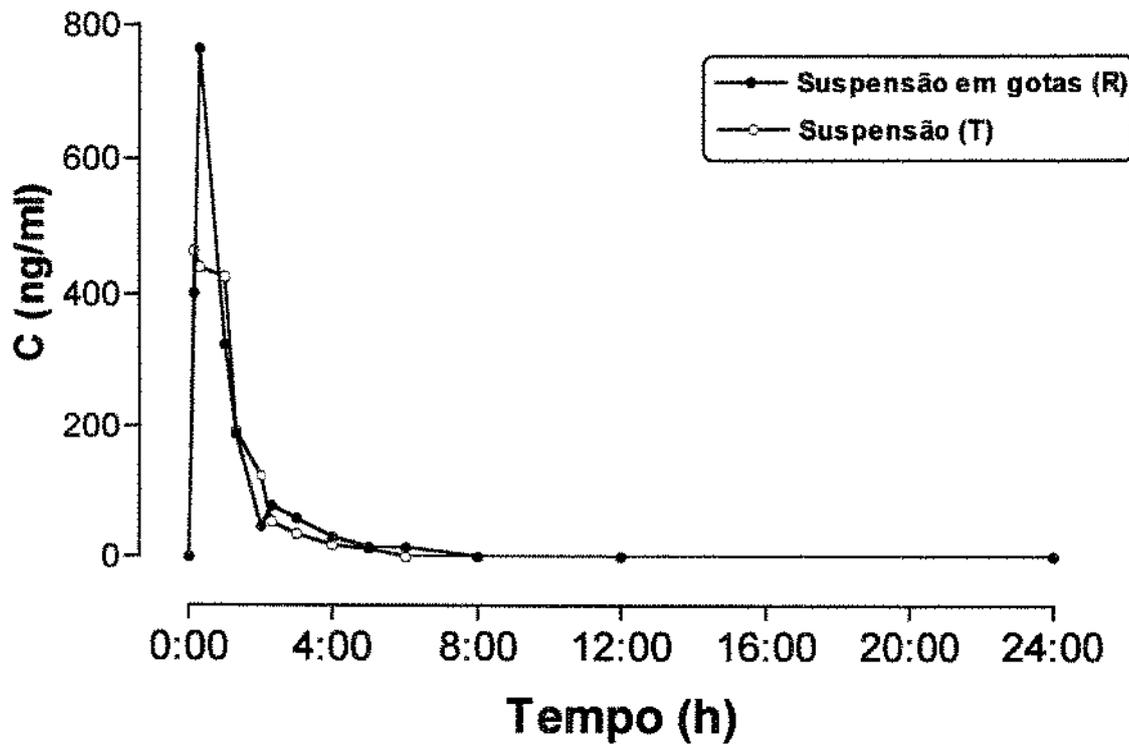
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	750	550
$C_{max}$ (ng/mL)	453	349
$t_{max}$ (h)	1	1

# VOL. XIX



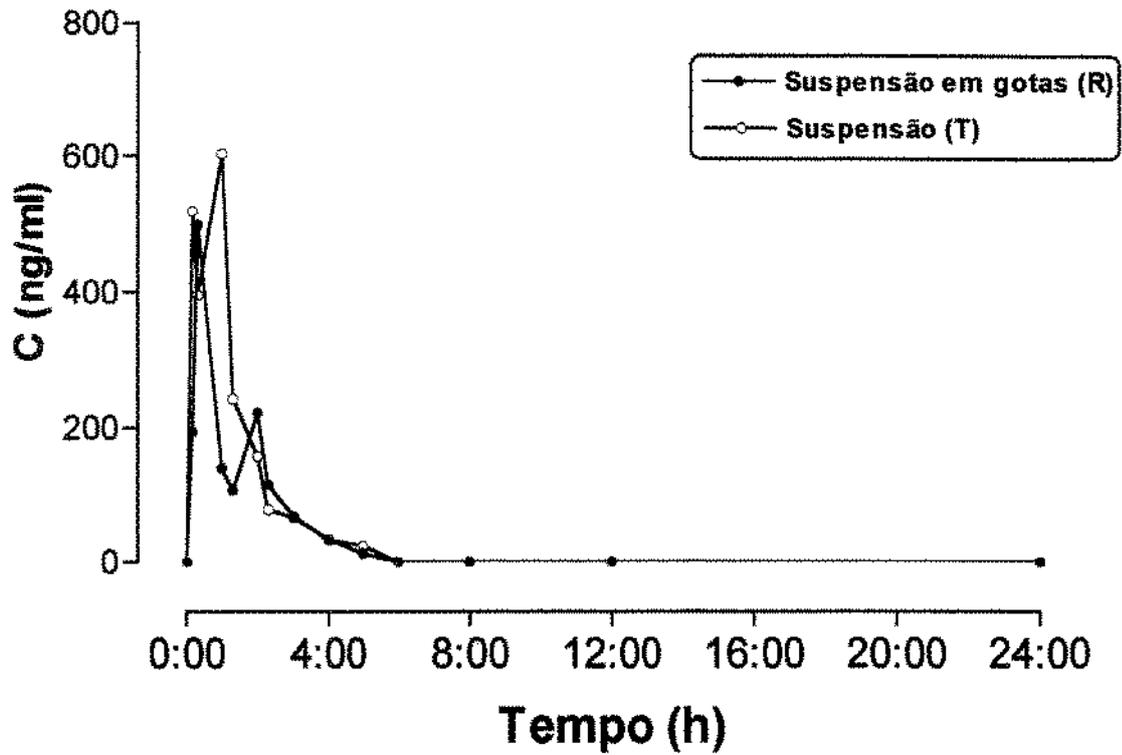
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	2110	1431
C <sub>max</sub> (ng/mL)	542	1099
t <sub>max</sub> (h)	0.5	0.25

# VOL. XX



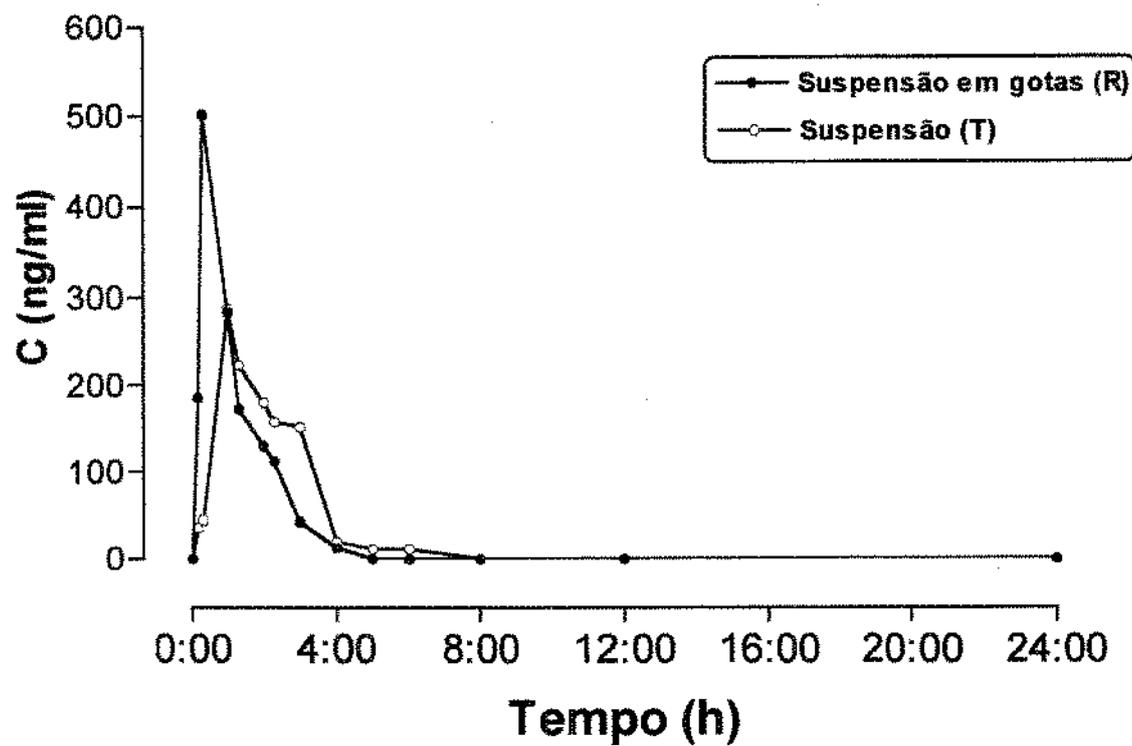
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	824	738
$C_{\max}$ (ng/mL)	765	465
$t_{\max}$ (h)	0.5	0.25

# VOL. XXI



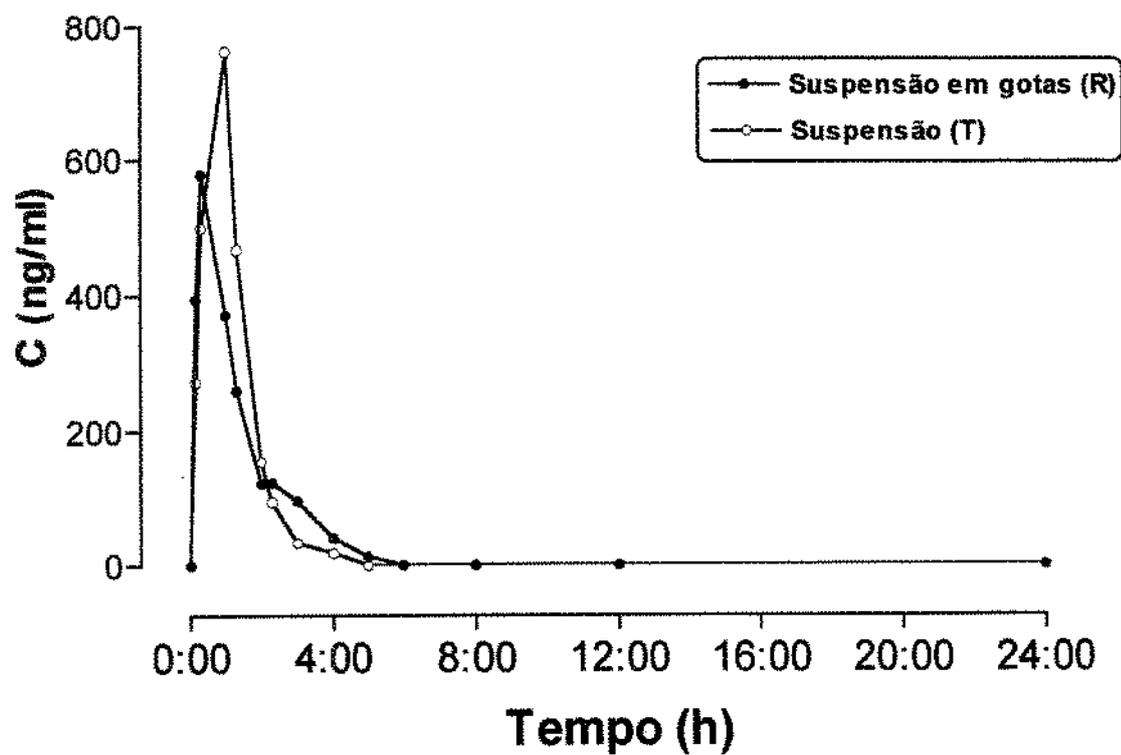
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	625	926
$C_{max}$ (ng/mL)	498	604
$t_{max}$ (h)	0.5	1

## VOL. XXII



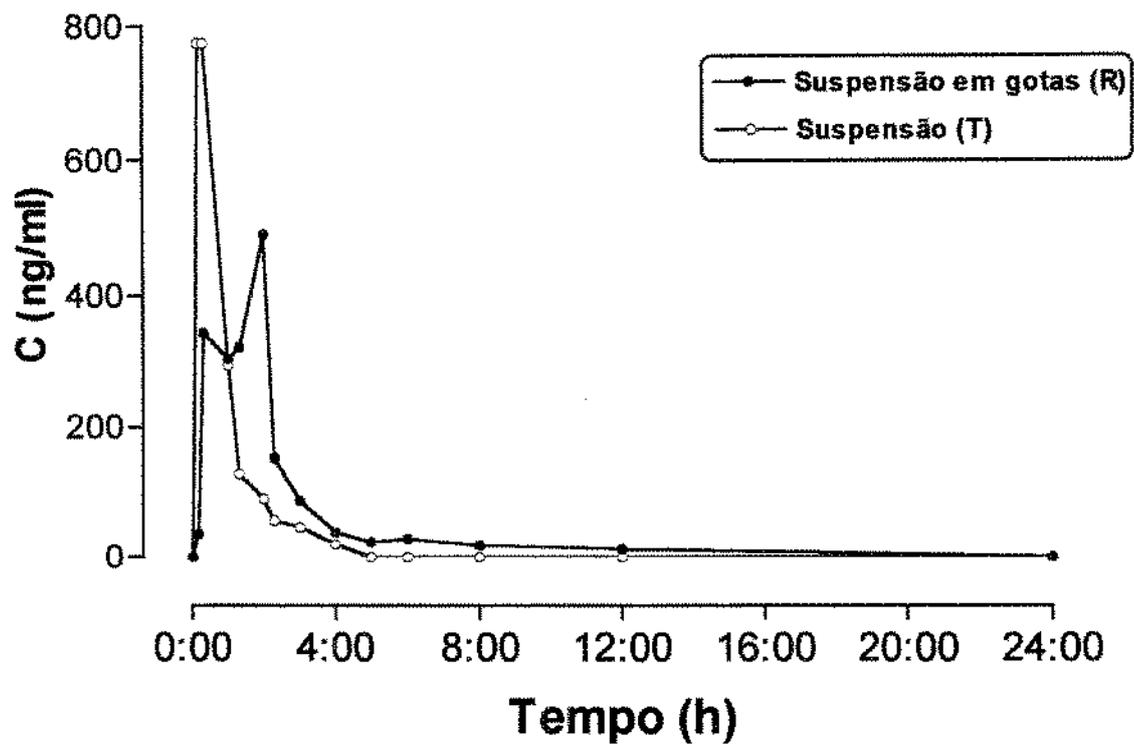
	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	632	618
C <sub>max</sub> (ng/mL)	502	289
t <sub>max</sub> (h)	0.5	1

## VOL. XXIII



	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	885	1043
$C_{max}$ (ng/mL)	578	763
$t_{max}$ (h)	0.5	1

## VOL. XXIV



	Suspensão em gotas	Suspensão
AUC [0-24] (ng/mL*h)	1106	826
$C_{\max}$ (ng/mL)	491	775
$t_{\max}$ (h)	2	0.5

## **Termo de Consentimento**

## ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE 2 PREPARAÇÕES COMERCIAIS

### DE DICLOFENACO EM VOLUNTÁRIOS SADIOS

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

**Responsáveis:** Drs. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Odorico de Moraes, Fernando A. Frota Bezerra e Gilberto de Nucci.

O abaixo-assinado (nome, idade, número do prontuário do HUWC), declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos médicos Maria Elisabete A. de Moraes, Odorico de Moraes, Fernando A. Frota Bezerra da Unidade de Farmacologia Clínica - HUWC-UFC e Gilberto de Nucci, da Unidade de Farmacologia Clínica - HC UNICAMP. O abaixo-assinado está ciente que:

i - O objetivo da pesquisa é verificar se as duas suspensões de diclofenaco (um antiinflamatório), elaboradas pelo Laboratório NOVARTIS, são bioequivalentes.

ii - Durante o estudo, será **internado duas vezes por 36 horas, com intervalo de 14 dias**. Em ambas as ocasiões, serão administrados 50 mg de diclofenaco suspensão, por via oral, e coletadas **14 amostras** de sangue, de 10 ml cada, por meio de uma agulha especial ("butterfly") heparinizada que será colocada em uma veia do braço.

iii - A participação neste estudo não tem como objetivo submeter o voluntário a um tratamento terapêutico.

iv - É pouco provável o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de diclofenaco. Mesmo assim, a administração oral de diclofenaco pode causar efeitos colaterais como náuseas, vômitos, dor no estômago, diarreia, dor de cabeça, tonturas. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

v - Será submetido antes da primeira internação e após a segunda internação aos seguintes exames laboratoriais: de sangue (glicose em jejum, uréia, creatinina, bilirrubina total, proteína total, albumina, fosfatase alcalina, transaminases, colesterol total, triglicérides, ácido úrico,  $\gamma$ GT, hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos total e diferencial, contagem de plaquetas, velocidade de sedimentação de eritrócitos), de urina (sumário de urina) e do coração (eletrocardiograma). Sorologias para HIV, hepatites B e C e parasitológico de fezes serão realizados apenas antes da primeira internação.

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

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

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

ix - Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, e a Unidade de Farmacologia Clínica não identificará o voluntário por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos.

x - Durante o período de 180 dias, a partir da data da assinatura do mesmo, o voluntário estará assegurado (Seguro de Vida em Grupo) pela empresa Vera Cruz Seguradora.

xi - Caso houver gastos adicionais para tratamento médico, e se o motivo do tratamento for decorrente do uso da medicação durante o ensaio clínico, estes gastos serão absorvidos pela Unidade de Farmacologia Clínica da UNICAMP.

xii - Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar o serviço médico do Hospital Universitário Walter Cantídio, da UFC, e solicitar que o mesmo contacte os médicos responsáveis pelo ensaio clínico (vide telefones abaixo).

xiii - Poderá contactar a Secretaria da Comissão de Ética (fone 243 9330) para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

xiv - O voluntário receberá a quantia de R\$ 240 (duzentos e quarenta reais) referente a ressarcimento das despesas e tempo dispendidos na realização do supra-citado estudo clínico.

xv - A Unidade de Farmacologia Clínica o manterá informado e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme solicitação do voluntário.

xvi - É condição indispensável para participação no ensaio clínico que esteja em boa saúde e, portanto, não esteja, no momento, sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações.

Fortaleza,

Nome e assinatura do voluntário

Dra. Elisabete Moraes: fone - (085) 981 4751, 243 9346

Dr. Odorico de Moraes: fone - (085) 243 9201

Dr. Fernando A. Frota Bezerra: fone- (085) 243 9105, 981 7961

## **Aprovação do Comitê de Ética**



Universidade Federal Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa Clínica do Centro  
de Ciências da Saúde e do Complexo Hospitalar

Fortaleza, 22 de setembro de 1997.

Of. n° 070/97

Processo n° 037/97

Dept°/Serviço: Departamento de Farmacologia do CCS/UFC

Projeto: "ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE 2 PREPARAÇÕES COMERCIAIS DE DICLOFENACO EM VOLUNTÁRIOS SADIOS"

Levamos ao conhecimento de V.Sa. que, o **COMEPE** - Comitê de Ética em Pesquisa Clínica do Centro de Ciências da Saúde e Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, Resolução 196/96, de 10 de outubro de 1996, publicada no Diário Oficial da União em 16 de outubro de 1996, aprovou o projeto em apreço, na reunião do dia 18 de setembro de 1997.

Atenciosamente,

Dra. Raimunda M. da Silva  
Profa. Adjunto IV/Enfermeira

Dr. Pedro Felipe C. de Bruin  
Prof. Adjunto I/Médico

Dra. Yacy Mendonça Almeida, Ph.D  
Profa. Adjunto IV/Médica

Dra. Aline Alice C. Albuquerque  
Profa. Adjunto IV/Farmacêutica

Dr. Jeovah Júnior C. Maciel  
Bacharel em Adm. de Empresa

Dra. Tanara Távora Sobreira  
Profa. Adjunto IV/Enfermeira