

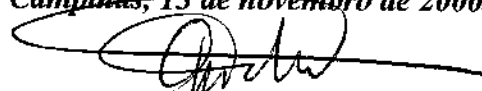
**FABIANA GATTI DE MENEZES**

**"BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE  
COMPRIMIDOS DE FINASTERIDA EM VOLUNTÁRIOS  
SADIOS"**

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

*Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia da Farmacêutica Fabiana Gatti Menezes.*

*Campinas, 13 de novembro de 2000.*



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

**FABIANA GATTI DE MENEZES**

**"BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE  
COMPRIMIDOS DE FINASTERIDA EM VOLUNTÁRIOS  
SADIOS"**

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

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

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

**Campinas**

**2000**

UNIDADE 30  
 N.º CHAMADA: 1/Unicamp  
529  
 V. 8  
 TÍTULO 43801  
 PROC. 16-392101  
 C ☐ D ☒  
 PREÇO R\$ 11,00  
 DATA 14/02/03  
 N.º CPD



CM-00153447-3

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

M524e

Menezes, Fabiana Gatti

"Estudo de bioequivalência de duas formulações de comprimidos de finasterida em voluntários sadios". / Fabiana Gatti de Menezes. Campinas, SP : [s.n.], 2000.

Orientador : Gilberto De Nucci

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

1. Farmacocinética. 2. Espectometria de massa. I. Gilberto De Nucci. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



## Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Gilberto De Nucci

Membros:

1. Prof. Dr. Gilberto De Nucci

2. Profa. Dra. Valentina Porta

3. Prof. Dr. Sigisfredo Luis Brenelli

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

Data: / /00

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SECÃO CIRCULANTE

## ***AGRADECIMENTOS***

---

À Unidade de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, em especial à Prof<sup>a</sup> Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes e demais integrantes da Unidade, pelos ensinamentos, atenção, hospitalidade e receptividade;

Ao Prof. Dr. Gilberto De Nucci, pela oportunidade, auxílio, treinamento e amadurecimento profissional;

Aos amigos Wellington Ribeiro e Demian Rocha Ifa, pela orientação, apoio, respeito, atenção e paciência a toda prova;

A meus pais e a meu irmão, pelo apoio incondicional;

Aos colegas da Unidade Analítica Cartesius do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela convivência amistosa e divertida.

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

*"Querer chegar significa já ter percorrido metade do caminho."*  
(Paderewski)

|                                                                                                                                | PÁG.       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                             | <i>xix</i> |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                      | 23         |
| 1.1 Indústria farmacêutica - características estruturais do setor.....                                                         | 25         |
| 1.1.1. Perspectivas regulatórias de medicamentos genéricos nos EUA.....                                                        | 27         |
| 1.1.2. Perspectivas regulatórias de medicamentos genéricos no Japão.....                                                       | 28         |
| 1.1.3. Requisitos comuns em testes de Bioequivalência / Biodisponibilidade<br>para produtos de liberação imediata nos EUA..... | 30         |
| 1.1.4. Requisitos para estudos de bioequivalência/biodisponibilidade na<br>União Européia.....                                 | 31         |
| 1.2. A lei dos genéricos - mercado farmacêutico brasileiro.....                                                                | 31         |
| 1.2.1. Alternativas farmacêuticas.....                                                                                         | 32         |
| 1.2.2. Equivalentes farmacêuticos.....                                                                                         | 32         |
| 1.2.3. Medicamento.....                                                                                                        | 32         |
| 1.2.4. Medicamento de referência.....                                                                                          | 32         |
| 1.2.5. Medicamentos bioequivalentes.....                                                                                       | 33         |
| 1.2.6. Medicamento similar.....                                                                                                | 33         |
| 1.2.7. Medicamento genérico.....                                                                                               | 33         |
| 1.3. Farmacocinética.....                                                                                                      | 33         |
| 1.3.1. Fatores que afetam a absorção de fármacos.....                                                                          | 35         |
| 1.3.1.1. Polaridade.....                                                                                                       | 35         |
| 1.3.1.2. Solubilidade.....                                                                                                     | 35         |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.3.1.3. Coeficiente de partição O/A.....                                     | 35 |
| 1.3.1.4. Grau de ionização.....                                               | 35 |
| 1.3.1.5. Constante de dissociação – pKa.....                                  | 35 |
| 1.3.1.6. Presença de alimentos.....                                           | 36 |
| 1.4. Farmacocinética aplicada aos testes de bioequivalência.....              | 36 |
| 1.4.1. Fases envolvidas na resposta terapêutica.....                          | 36 |
| 1.4.1.1. Fase farmacotécnica.....                                             | 36 |
| 1.4.1.2. Fase farmacocinética.....                                            | 37 |
| 1.4.1.3. Fase farmacodinâmica.....                                            | 37 |
| 1.5. Parâmetros para avaliação da biodisponibilidade.....                     | 37 |
| 1.5.1. Área sob a curva.....                                                  | 37 |
| 1.5.2. Concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ).....                      | 38 |
| 1.5.3. Tempo para atingir a concentração plasmática máxima ( $T_{max}$ )..... | 38 |
| 1.5.4. Tempo de meia-vida de eliminação ( $T_{1/2}$ ).....                    | 38 |
| 1.5.5. Volume aparente de distribuição ( $V_d$ ).....                         | 39 |
| 1.6. Etapa clínica dos estudos de bioequivalência.....                        | 39 |
| 1.6.1. Ensaios clínicos.....                                                  | 39 |
| 1.7. Aspectos éticos.....                                                     | 41 |
| 1.7.1. Princípios básicos da bioética.....                                    | 42 |
| 1.7.2. Experimentação com animais.....                                        | 42 |
| 1.7.3. Risco e benefício.....                                                 | 43 |
| 1.7.4. Consentimento esclarecido.....                                         | 43 |
| 1.8. Farmacologia da finasterida.....                                         | 44 |
| 1.8.1. Estrutura química.....                                                 | 44 |

|                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.8.2. Toxicologia.....                                                                          | 45        |
| 1.8.3. Farmacologia.....                                                                         | 46        |
| 1.8.4. Farmacocinética.....                                                                      | 48        |
| 1.8.5. Reações adversas.....                                                                     | 48        |
| 1.8.6. Indicações.....                                                                           | 49        |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>                                                                         | <b>51</b> |
| <b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>                                                              | <b>55</b> |
| 3.1. Materiais e reagentes.....                                                                  | 57        |
| 3.2. Protocolo clínico.....                                                                      | 58        |
| 3.2.1. Sequência de administração das duas formulações de finasterida em voluntários sadios..... | 60        |
| 3.3. Quantificação do fármaco nas amostras de plasma.....                                        | 60        |
| 3.3.1. Preparação das amostras.....                                                              | 61        |
| 3.3.1.1. Preparo de soluções padrão.....                                                         | 61        |
| 3.3.1.2. Solução de padrão interno (ciproterona).....                                            | 61        |
| 3.3.1.3. Preparo da solução de éter dietílico/hexano.....                                        | 61        |
| 3.3.1.4. Preparação da fase móvel.....                                                           | 61        |
| 3.3.1.5. Preparação da amostra para análise.....                                                 | 62        |
| 3.3.2. Equipamentos e condições cromatográficas.....                                             | 62        |
| 3.4. Análise estatística.....                                                                    | 62        |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                                                        | <b>65</b> |
| 4.1. Validação da metodologia do ensaio cromatográfico.....                                      | 67        |
| 4.1.1. Precisão e exatidão.....                                                                  | 67        |
| 4.1.2. Linearidade.....                                                                          | 68        |

|                                           |           |
|-------------------------------------------|-----------|
| <b>5. CONCLUSÃO.....</b>                  | <b>77</b> |
| <b>6. SUMMARY.....</b>                    | <b>83</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> | <b>87</b> |
| <b>8. ANEXOS.....</b>                     | <b>95</b> |

## **LISTA DE TABELAS**

---

|                                                                                                                                                                                                                                                                                | PÁG. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Tabela 1:</b> Razão das drogas genéricas/drogas prescritas no mercado (100 milhões de iens) Fonte de (A): "Ethical Manufacturers Association Survey of operation results in 1994" Fonte de (B): "Ministry of Health & Welfare Statistics on Trends in Drug Production"..... | 29   |
| <b>Tabela 2:</b> Parâmetros farmacocinéticos médios (média $\pm$ DP) da finasterida após administração oral de dose única (5 mg) de duas formulações..                                                                                                                         | 71   |
| <b>Tabela 3:</b> Precisão e exatidão do inter-ensaio, obtidos para os controles de qualidade (QCA, QCB E QCC).....                                                                                                                                                             | 71   |
| <b>Tabela 4:</b> Parâmetros farmacocinéticos médios de 23 voluntários após administração oral de comprimido de finasterida (5 mg), média geométrica e intervalo de confiança 90 %.....                                                                                         | 72   |
| <b>Tabela 5:</b> Análise estatística dos valores individuais de $ASC_{(0-48h)}$ , $ASC_{(0-\infty)}$ , $C_{max}$ , $C_{max} / ASC_{(0-48h)}$ , $k_e$ , $t_{1/2}$ , e razões das diferenças individuais de $t_{max}$ , para as duas formulações de finasterida.....             | 73   |
| <b>Tabela 6:</b> Curva Padrão do Inter –estudo.....                                                                                                                                                                                                                            | 75   |

## LISTA DE FIGURAS

---

|                                                                                                                                                                                                                                                           | PÁG. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Figura 1:</b> Estrutura da finasterida.....                                                                                                                                                                                                            | 45   |
| <b>Figura 2:</b> Cromatograma de íons (MRM): (a): Plasma humano branco de ciproterona (417.10>278.70). (b): Plasma humano branco de finasterida (373.10>305.10). (c): Ciproterona (MRM ES+ 417.10>278.70). (d): Finasterida (MRM, ES+ 373.10>305.10)..... | 69   |
| <b>Figura 3:</b> Curva de concentração plasmática média de finasterida vs tempo, 23 voluntários sadios, após administração de dose única (5 mg) de cada formulação de finasterida (Flaxin® e Proscar®). (DP): desvio padrão.....                          | 70   |
| <b>Figura 4:</b> Curva de calibração do inter-estudo.....                                                                                                                                                                                                 | 74   |

## RESUMO

Os medicamentos genéricos são produtos que tiveram sua patente expirada e que passaram a ser fabricados por outros produtores além daquele que detinha a patente original. No caso desses medicamentos, a propaganda e a capacidade inovativa têm importância secundária, sendo a competição por menores preços a base deste mercado. A qualidade da formulação de um medicamento não se restringe às suas propriedades físico-químicas e demais características obtidas por estudos “in vitro”, mas, também por estudos de bioequivalência em voluntários sadios.

O “Food and Drug Administration” (FDA) dos Estados Unidos estabelece que testes estatísticos para determinar bioequivalência utilizem valores log-transformados dos parâmetros farmacocinéticos ASC (área sob a curva de concentração plasmática em função do tempo) e  $C_{max}$  (concentração plasmática máxima obtida), com 90% do intervalo de confiança de 80 – 125% para obter comparação.

A regulamentação da Lei dos medicamentos genéricos no Brasil (BRASIL, 1999) através da Resolução 391/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, estabelece as bases legais para a intercambialidade e assim, as empresas interessadas em cumprir esta regulamentação devem ter conhecimento das exigências técnico-científicas requeridas para assegurar a qualidade, segurança e eficácia do medicamento genérico.

Neste trabalho, avaliamos a bioequivalência de duas formulações de comprimidos de finasterida: Flaxin® comprimidos de 5 mg (Merck S.A. Indústrias Químicas, formulação teste) e Proscar® comprimidos de 5 mg (Merck Sharp & Dhôme, formulação referência), em vinte e três voluntários sadios do sexo masculino.

O protocolo clínico apresentou delineamento aleatório aberto cruzado de dois períodos, com intervalo de 7 dias entre as doses, aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

As concentrações plasmáticas de finasterida foram determinadas por cromatografia líquida de alta pressão acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS-MS). O método analítico desenvolvido apresentou limite de quantificação de 0.50 ng/ml. Para o

controle de qualidade de 2.00 ng/mL (QCA), a concentração média  $\pm$  desvio padrão obtidos foram  $2.05 \pm 0.14$  ng/mL ( $n=30$ ), com precisão de 6.9% e exatidão de 2.55%. O controle de qualidade de 20.00 ng/mL (QCC) teve concentração média e desvio padrão de  $20 \pm 0.80$  ng/mL ( $n=30$ ) com precisão de 3.81% e exatidão de 0.09%.

Das curvas de concentração plasmática vs tempo, foram obtidos os parâmetros farmacocinéticos a seguir:  $ASC_{(0-48)}$  (área sob a curva de concentração plasmática em função do tempo até 48 horas),  $ASC_{(0-\infty)}$  (área sob a curva de concentração plasmática em função do tempo infinito),  $C_{max}$  (concentração plasmática máxima obtida),  $C_{max}/ASC_{(0-48)}$  (razão da concentração plasmática máxima pela área sob a curva de concentração plasmática em função do tempo),  $k_e$  (constante de eliminação), meia-vida de eliminação e  $t_{max}$  (tempo necessário para alcançar a concentração plasmática máxima). Todos os parâmetros farmacocinéticos foram analisados por métodos estatísticos paramétricos e não-paramétricos.

As médias geométricas das razões individuais Flaxin®/Proscar® foram: 107.3 para  $ASC_{(0-48h)}$  (IC 90% 95.7 – 120.2), e 97.9 para  $C_{max}$  (IC 90% 88.7 – 108). De acordo com os resultados obtidos e requisitos determinados pelo FDA, concluímos serem as duas formulações bioequivalentes, tanto na extensão quanto na velocidade de absorção.

# ***1. INTRODUÇÃO***

## 1.1. INDÚSTRIA FARMACÊUTICA - CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO SETOR

As características técnicas, econômicas e institucionais associadas aos programas de pesquisas científicas adotados pela indústria farmacêutica no pós-guerra promoveram um padrão de difusão das inovações tecnológicas para os países em desenvolvimento via processos de imitação e aprendizado (DOSI, 1984).

Este padrão de geração e difusão de inovações promoveu a consolidação de programas de pesquisa em síntese orgânica e biotecnologia. O progresso técnico gerado pelos programas de pesquisa criou vantagens tecnológicas que favoreceram a produção de diversos princípios ativos e formas farmacêuticas (TEMIN, 1992).

O desenvolvimento técnico-científico ocorreu dentro das empresas farmacêuticas e a difusão dessas inovações tecnológicas foi realizada de maneira seletiva: as empresas inovadoras cresceram e ampliaram sua participação no mercado em detrimento das empresas tecnologicamente defasadas.

Dois tipos de grandes empresas líderes inovadoras surgiram: empresas de química base - Hoechst, Bayer (RFA), Ciba-Geigy (Suíça) com subsidiárias farmacêuticas atuantes e grandes empresas farmacêuticas - SmithKline, Upjohn, Pfizer, Bristol, que em seu processo de diversificação, concentraram-se em setores com base técnica (JENSEN, 1987; SCHNEE, 1989; STOPFORD, 1992).

O mercado farmacêutico para uso humano costuma ser classificado em éticos e não-éticos. Os primeiros incluem o conjunto de medicamentos vendidos exclusivamente através de receita médica, embora inclua também alguns produtos de balcão, os chamados "Over the counter" (OTC). Os não-éticos compõem a maior parte dos produtos OTC que dispensam receita médica para comercialização e representam uma fração relativamente pequena do mercado mundial. Os medicamentos éticos, por sua vez, podem ser divididos em produtos genéricos e patenteados. Estes últimos representam a maior e mais dinâmica parcela do mercado, embora variando consideravelmente de país para país, são medicamentos mais recentemente introduzidos no mercado (TELLING-SMITH, 1983; TUCKER, 1984; KIRIM, 1985; SAPIENZA, 1989).

A palavra genérico é derivada do latim *genus* que significa classe geral, sugere a idéia de popular. Com esse objetivo em mente, formulações de medicamentos genéricos têm sido desenvolvidas e comercializadas, tendo a facilidade de acesso (preço e disponibilidade no mercado) como objetivo principal. Para o desenvolvimento de um medicamento genérico são aplicados conhecimentos de diversas áreas, tais como: farmacocinética; estatística; doseamento e controle de qualidade; química e análise do fármaco em fluidos biológicos (JACKSON, 1994).

Os medicamentos genéricos são produtos que têm, como princípio(s) ativo(s), fármacos cuja patente expirou e que passaram então a ser fabricados por outros produtores além daquele que detinha a patente original; compõem uma parcela menor, porém não desprezível do mercado (em torno de 30% nos EUA) (TELLING-SMITH, 1983).

No caso dos medicamentos genéricos, a propaganda e a capacidade inovadora têm importância secundária, sendo a competição por menores preços a base deste mercado (TELLING-SMITH, 1983; TUCKER, 1984; KIRIM, 1985; SAPIENZA, 1989).

Apesar de dominado por grandes empresas multinacionais, o mercado mundial de medicamentos é marcado pela forte intervenção governamental. Isto confere ao ambiente institucional da indústria uma série de características importantes, que repercutem sobre seu padrão de concorrência e sua dinâmica.

Muitos são os motivos para que os governos intervenham na produção e comercialização de medicamentos. Em primeiro lugar, é de sua responsabilidade prover a população de condições de saúde adequadas. Para tanto, os medicamentos são indispensáveis, mas, devem ter sua segurança e eficácia comprovadas, bem como seu acesso à população supervisionado. Em segundo lugar, considerando os elevados custos dos sistemas de saúde de muitos países, torna-se necessária a preocupação com a economicidade da oferta de medicamentos, evitando seu emprego supérfluo e preço excessivamente elevado. Em terceiro lugar, existe a necessidade de um sistema de proteção patentária em função da facilidade de imitação face aos custos e dificuldades da inovação. Nos Estados Unidos, um dos principais mecanismos utilizados com este propósito tem sido o estímulo à prescrição de genéricos (TELLING-SMITH, 1983; TUCKER, 1984; KIRIM, 1985; SAPIENZA, 1989).

As empresas inovadoras correm riscos que dependem da aceitação e disseminação do consumo. As patentes seriam o principal mecanismo de proteção legal das inovações (PARKER, 1978).

A patente exclui a imitação e fortalece a expectativa de existência de poder de monopólio sobre os agentes inovadores por um período estabelecido. A venda pode ser total ou parcial, concede licenças para que outros explorem a sua invenção e exige o pagamento de “royalties” pelo direito.

Na prática, as patentes impedem o desenvolvimento nos países hospedeiros de multinacionais se não induzirem a transferência de tecnologia e o desenvolvimento interno (BRAGA, 1990).

A garantia de que essas empresas vão apresentar características e qualidade comparáveis que permitam o intercâmbio com o medicamento inovador, cuja patente expirou, pode ser assegurada através dos seguintes requisitos: (a) produção de formulações de qualidade e reprodutibilidade, através do controle de qualidade e da produção; (b) testes quanto à segurança, que são obtidos via estudo de bioequivalência (JACKSON, 1994).

#### **1.1.1. Perspectivas regulatórias de medicamentos genéricos nos EUA**

No “Center for Drug Evaluation and Research” (CDER) do “Food and Drug Administration” (FDA), a regulamentação de qualidade e performance de medicamentos comercializados tem sido centralizada em uma única unidade administrativa denominada “Office of Pharmaceutical Science”. Essa unidade é responsável pela revisão das “New Drug Applications” (NDAs), “Abbreviated New Drug Applications” (ANDAs) e “Abbreviated Antibiotic Applications” (AAAs), quanto às seguintes áreas: (1) química, produção e controle; (2) biofarmacêutica (biodisponibilidade, bioequivalência e dissolução); (3) microbiologia (esterilidade) e impacto ambiental.

Além disso, o novo Departamento também fornece avaliação da farmacologia clínica da NDA e é formado por uma unidade de pesquisa conhecida como “Office of Testing and Research”, que tem como objetivo enfatizar os seguintes aspectos: pesquisa em

qualidade para as áreas citadas acima; pesquisa em farmacologia clínica e desenvolvimento analítico aplicado. O “Office of Generic Drugs”, que revisa ANDAs e NDAs, reporta-se ao “Office of Pharmaceutical Science”, e ambos também reportam-se ao CDER.

O escopo do “Office of Pharmaceutical Science” é fornecer assessoria às indústrias farmacêuticas quanto ao desenvolvimento e qualidade das informações necessárias no processo de submissão dos “Investigational New Drug” (IND), NDA, ANDA e AAA. Para atingir tal objetivo é esperada colaboração conjunta, tanto das indústrias quanto dos pesquisadores acadêmicos dos EUA, também espera-se colaboração de outros países no mundo e de suas respectivas agências regulatórias (WILLIAMS, 1996).

### **1.1.2. Perspectivas regulatórias de medicamentos genéricos no Japão**

De acordo com o “Pharmaceutical Affair Law” no Japão, o NDA deve ser submetido contendo as seguintes informações: qualidade, segurança e eficácia. Após 6 anos da data de aprovação, novos dados clínicos devem ser registrados como vigilância pós-mercado e submetidos à revisão.

Novos fármacos estão protegidos sob patente. Medicamentos genéricos são aprovados após expiração de patente ou revisão. Após aprovação, os genéricos são adicionados à “National Health Insurance Price List”, tornando-se disponíveis para a prática clínica.

Não existem estatísticas que enfatizem o mercado de medicamentos genéricos no Japão, porém sua situação é discutida com base em dados anuais da “Ethical Manufacturers Association”, organizada para orientar os fabricantes de genéricos (vide tabela 1).

**Tabela 1:** Razão dos medicamentos genéricos/ medicamentos prescritos no mercado (100 milhões de iens) Fonte de (A): “Ethical Manufacturers Association Survey of operation results in 1994” Fonte de (B): “Ministry of Health & Welfare Statistics on Trends in Drug Production”

|                                                                                 | 1990   | 1991   | 1992   | 1993   | 1994   |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Vendas de Genéricos de companhias da “Ethical Manufacturers Association”<br>(A) | 3.577  | 3.733  | 3.865  | 3.946  | 4.161  |
| Medicamentos prescritos (B)                                                     | 47.203 | 48.122 | 46.802 | 48.193 | 48.811 |
| A/B %                                                                           | 7.6    | 7.8    | 8.3    | 8.2    | 8.5    |

Essa tabela não inclui todos os fabricantes de genéricos, entretanto, ilustra a magnitude de seu mercado. Podemos notar um aumento progressivo das vendas de genéricos de 1990 à 1994.

Os requisitos atuais para pedido de aprovação de genéricos incluem os seguintes documentos gerais: métodos de teste e especificações, testes de estabilidade, teste de bioequivalência.

O pedido para aprovação é executado via formulário e documentação pelo Departamento de Regulamentação Farmacêutica Regional, do Ministério da Saúde e Bem-estar. O Ministério envia toda documentação ao “The Drug Organization” e submete à avaliação. A carta de aprovação é entregue à quem fez o pedido, sendo que o tempo padrão para revisão é de 18 meses ou menos. Após aprovação, é preciso obter licença de fabricação através de inspeção de autoridade local de acordo com as normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e validação de processos (HIRAYAMA, 1996).

### 1.1.3. Requisitos comuns em testes de Bioequivalência/Biodisponibilidade para produtos de liberação imediata nos EUA

Pedidos para aprovação de novos fármacos são recebidos pelo FDA na forma de NDAs e ANDAs.

NDA resume todos os dados pré-clínicos e clínicos para a fármaco que não foi avaliado previamente pelo FDA. Já o ANDA resume dados para um genérico equivalente à um medicamento inovador contendo um fármaco previamente aprovado.

O NDA é submetido ao “Office of Drug Evaluation”, que faz parte do CDER, pertencente ao FDA.

Um NDA abrange uma série de componentes, um dos quais pertence à área de biofarmácia. As informações referentes à biofarmácia incluem: biodisponibilidade, bioequivalência e dissolução; tais dados são revisados pelo “Office of Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics” que compõe o CDER. Um ANDA é submetido ao “Office of Generic Drugs”.

Estudos de biodisponibilidade são realizados para determinar a velocidade e extensão da absorção do princípio ativo presente na formulação.

Os testes estatísticos para determinar bioequivalência utilizam valores de área sob a curva de concentração vs tempo (ASC) e concentração máxima ( $C_{max}$ ) log-transformados e a análise bicaudal com 90% de intervalo de confiança (IC) de 80-125% para obter comparação. A validação do método analítico é importante para garantir a confiabilidade do método.

Para documentação de bioequivalência o FDA requer estudos que demonstrem que o fármaco proposto é bioequivalente ao fármaco previamente aprovado e presente na lista de fármacos de referência. Tais informações incluem: comparação de formulações; testes de dissolução comparativos e correlação entre testes *in vivo* e *in vitro*; bioequivalência *in vivo*, comparando velocidade e extensão de absorção das formulações teste e referência.

Para preparações orais de liberação imediata, um estudo cruzado, de 2 períodos, em indivíduos sadios é apropriado (WILLIAMS, 1996).

#### **1.1.4. Requisitos para estudos de bioequivalência/biodisponibilidade na União Européia**

A maioria dos manuais, conhecidos como guidelines, foi desenvolvida pela “European Comission” através do “Committee of Proprietary Medicinal Products” (CPMP).

Um desses “guidelines” é conhecido como “Note for Guidance: Investigation of Bioavailability and Bioequivalence”, e teve início em 1992.

O conteúdo do “guideline” pode ser descrito resumidamente a seguir: objetivos, conceitos (equivalentes e alternativas farmacêuticas, biodisponibilidade, bioequivalência), delineamento (seleção, amostra, “wash out”), estatística.

Na maioria dos casos, as variáveis farmacocinéticas principais são: ASC, C<sub>max</sub> e T<sub>max</sub> (tempo para atingir a concentração plasmática máxima). Sendo que o intervalo aceitável para ASC e C<sub>max</sub> é de 0.80 -1.25%. Um intervalo de 0.7 a 1.43 tem sido proposto para C<sub>max</sub>, baseado em estudos desenvolvidos por SALMONSON (1996) e pode ser justificado para fármacos que apresentam variabilidade inter-individual (SALMONSON, 1996).

#### **1.2. A LEI DOS GENÉRICOS - MERCADO FARMACÊUTICO BRASILEIRO**

Recentemente, com a regulamentação da lei dos genéricos (BRASIL, 1999), através da Resolução 391/99, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde (ANVS) foram estabelecidas as bases legais para a instituição do medicamento genérico no Brasil. Atualmente estão disponíveis no mercado os medicamentos similares e alguns medicamentos genéricos. Estes medicamentos além de usarem exclusivamente o nome genérico do fármaco, passaram por prova de intercambialidade.

A seguir, algumas definições apresentadas pela Resolução 391/99.

### **1.2.1. Alternativas farmacêuticas**

São medicamentos que contém a mesma molécula terapeuticamente ativa, ou seu precursor, mas, não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica, sal ou éster. Devem cumprir individualmente, com as especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1999).

### **1.2.2. Equivalentes farmacêuticos**

São medicamentos que contém 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. Devem cumprir com as mesmas especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1999).

### **1.2.3. Medicamento**

Produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É uma forma farmacêutica terminada que contém o fármaco, geralmente em associação com adjuvantes farmacotécnicos (BRASIL, 1999).

### **1.2.4. Medicamento de Referência**

Medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no país cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal (BRASIL, 1999).

### **1.2.5. Medicamentos Bioequivalentes**

São equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas que ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação a biodisponibilidade (BRASIL, 1999).

### **1.2.6. Medicamento Similar**

Aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva ou diagnóstica do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela Vigilância Sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca (BRASIL, 1999).

### **1.2.7. Medicamento Genérico**

Medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que pretende ser com esse intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária (BRASIL, 1999).

## **1.3. FARMACOCINÉTICA**

O uso dos princípios da farmacocinética para individualizar a terapêutica na prática clínica tem-se desenvolvido como resultado dos avanços na farmacologia clínica, química analítica e biofarmácia. Estudos farmacológicos e farmacocinéticos têm demonstrado diferenças inter-individuais quanto à absorção, distribuição e eliminação de várias fármacos com faixa terapêutica restrita. Estas incluem antibióticos aminoglicosídeos, quinidina, procainamida, teofilina, fenitofina, salicilatos, lidocaina e glicosídeos digitálicos. Cada um desses princípios apresenta correlação entre concentrações séricas, resposta terapêutica e toxicidade (MUNGALL, 1983).

Parâmetros farmacocinéticos são aplicáveis à clínica quanto à escolha de doses, vias de administração, intervalos entre doses, enfim, esquemas de administração que se fundamentam no comportamento farmacocinético dos princípios ativos. Assim, os conhecimentos farmacocinéticos permitem que sejam evitadas administrações de concentrações subterapêuticas ou potencialmente tóxicas. Além disso, permitem o ajuste de esquemas de administração em casos de anormalidades nos processos de absorção, distribuição e eliminação (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

A farmacocinética estuda quantitativamente a cronologia dos processos de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação de fármacos. Portanto, estuda a ação do organismo sobre a fármaco. Diferentemente da farmacodinâmica que estuda o local e os mecanismos de ação, bem como, os efeitos.

A variável básica analisada é a concentração dos fármacos e/ou seus metabólitos nos diferentes tecidos e fluidos do organismo. Quando uma fármaco se transfere de um compartimento (parte do corpo) para outro, essa transferência segue regras de cinética. Na cinética de primeira ordem, a velocidade de saída de um compartimento é proporcional à sua concentração. Na cinética de ordem zero, a velocidade de transferência não depende da concentração, pode haver um processo de saturação nas concentrações mais elevadas (enzimas ou mecanismos de transporte ativo). Exemplos de cinética zero: etanol, dicumarol, ácido salicílico, heparina, fenitoína. O uso destes fármacos se torna cauteloso, em decorrência da cinética tem-se elevações nas concentrações que podem levar a níveis plasmáticos tóxicos.

O perfil farmacocinético se estabelece através da análise dos seguintes parâmetros: concentração máxima ( $C_{max}$ ), área sob a curva (ASC), meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) e constante de eliminação ( $k_e$ ) (GIBALDI & LEVY, 1976; GLEENBLATT, 1975).

### **1.3.1. Fatores que afetam a absorção de fármacos**

#### **1.3.1.1. Polaridade**

Substâncias apolares dissolvem-se livremente em solventes apolares como lipídios e portanto penetram nas membranas celulares livremente pelo processo de difusão, consequentemente, apresentam maior absorção (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

#### **1.3.1.2. Solubilidade**

Substâncias lipossolúveis são as que possuem maior facilidade para atravessar as membranas celulares devido à sua constituição (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

#### **1.3.1.3. Coeficiente de partição O/A**

Determina a proporção lipídica numa molécula, ou seja, quanto maior o coeficiente de partição O/A, maior é a sua lipossolubilidade e mais rápida a sua difusão (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

#### **1.3.1.4. Grau de ionização**

O grau de ionização de uma substância depende do pKa do fármaco e do pH do meio. Somente moléculas não ionizadas são solúveis em lipídios e atravessam a membrana.

#### **1.3.1.5. Constante de dissociação – pKa**

É o valor de pH onde 50% da substância está sob a forma ionizada e 50% sob a forma não ionizada. O grau de ionização de uma substância é calculado com base na equação de Handerson-Hasselback, onde é expresso o pH no qual a concentração do fármaco ionizado e não-ionizado se igualam (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

#### **1.3.1.6. Presença de alimentos**

A presença de alimentos no trato gastrointestinal pode acelerar, retardar, reduzir ou inibir as mudanças de absorção de fármacos. Exercendo seu efeito através de: influência do fluxo sanguíneo no trato gastrointestinal; alteração do esvaziamento gástrico; modificação da motilidade intestinal; interação fármaco-alimento e alterações no pH gástrico.

### **1.4. FARMACOCINÉTICA APLICADA AOS TESTES DE BIOEQUIVALÊNCIA**

#### **1.4.1. Fases envolvidas na resposta terapêutica**

Importante princípio em farmacologia apregoa que a resposta terapêutica da grande maioria dos fármacos depende fundamentalmente da interação entre suas moléculas com receptores farmacológicos específicos. Contudo, é fato perfeitamente conhecido que a relação existente entre dose e efeito dos fármacos é muito variável entre os indivíduos. Tais variações dependem não só da dose, mas também, da gravidade da doença, das funções cardio-hepato-renal, da motilidade gastrointestinal, da atividade hormonal e da farmacocinética do princípio ativo. Assim, várias fases estão envolvidas na resposta terapêutica do fármaco: fase farmacotécnica; fase farmacocinética; fase farmacodinâmica (ROWLAND & TOZER, 1995).

##### **1.4.1.1. Fase farmacotécnica**

Compreende a desintegração e a dissolução das formas farmacêuticas de apresentação (comprimidos). É importante diferenciar a desintegração da dissolução. Desintegração é simplesmente a fragmentação das formas farmacêuticas em partículas de menor tamanho, já a dissolução é a liberação do princípio ativo de sua formulação. Embora a desintegração seja um pré-requisito para ocorrer absorção do princípio ativo presente nas formulações, esta ocorrerá após a dissolução de suas partículas (ROWLAND & TOZER, 1995).

#### **1.4.1.2. Fase farmacocinética**

Compreende a absorção, distribuição, biotransformação e excreção dos fármacos (ROWLAND & TOZER, 1995).

#### **1.4.1.3. Fase farmacodinâmica**

Compreende a interação do fármaco livre com os receptores farmacológicos específicos (ROWLAND & TOZER, 1995).

### **1.5. PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE**

A escolha de um método depende do estudo proposto, do método analítico de determinação do fármaco e da natureza dos excipientes que acompanham o fármaco. Os parâmetros que são úteis para determinar a biodisponibilidade de uma fármaco, a partir de uma determinada formulação farmacêutica são descritos a seguir.

#### **1.5.1. Área sob a curva**

Área sob a curva de concentração sanguínea vs tempo, calculada do tempo zero ao infinito ( $ASC_{(0-\infty)}$ )

$$ASC_{(0-\infty)} = ASC_{(0-\tau)} + C\tau / \lambda_z$$

Onde:  $C\tau$  = última concentração do fármaco determinada experimentalmente;

$\lambda_z$  = constante de eliminação da fase terminal

$ASC_{(0-\tau)}$  = calculado no intervalo de dose ( $\tau$ ) no estado de equilíbrio para estudos que empregam doses múltiplas.

$ASC_{(0-t)}$  - calculado no intervalo  $t = 0$  à  $t = t$ , área sob a curva de concentração sanguínea vs tempo.

O ASC reflete a quantidade total de medicamento que alcança a circulação sistêmica. Para muitos medicamentos o ASC (0-t) é diretamente proporcional a dose administrada, no entanto, há casos em que não é diretamente proporcional, é o caso de medicamentos que promovem a saturação de vias enzimáticas, tais como o salicilato e a fenitoína.

### **1.5.2. Concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ )**

Pico de concentração plasmática máxima do fármaco, representa a velocidade de absorção do mesmo após a administração oral. Para alguns medicamentos é possível correlacionar concentração plasmática e efeito terapêutico. O  $C_{max}$  fornece uma indicação de que o medicamento é suficientemente e sistematicamente absorvido para prover uma resposta terapêutica.

### **1.5.3. Tempo para atingir a concentração plasmática máxima ( $T_{max}$ )**

Está intimamente relacionado com a velocidade de absorção. Para que o fármaco seja terapeuticamente eficiente, é importante que atinja, em tempo suficiente, o nível plasmático efetivo. Este parâmetro é um importante dado para se avaliar possíveis riscos de reações tóxicas.

### **1.5.4. Tempo de meia-vida de eliminação ( $T_{1/2}$ )**

Indica o tempo necessário para que 50% do fármaco seja eliminado do organismo. Este depende do volume aparente de distribuição e do "clearance" (depuração). A meia vida tem várias aplicações práticas: (a) para calcular o intervalo entre as doses e determinar a fração que deve ser administrada em cada intervalo; (b) para prever o tempo necessário para alcançar o estado de equilíbrio em doses múltiplas; (c) para prever o tempo necessário para eliminar totalmente o fármaco do organismo, e (d) para calcular o fator de acúmulo de um fármaco depois da administração de doses múltiplas. Pode ser obtida através da seguinte fórmula:

$$t_{1/2} = 0.693 \times V_d / CL$$

O valor 0.693 procede da natureza exponencial da fase de eliminação; o  $V_d$  corresponde ao volume de distribuição e o  $Cl$  corresponde ao “clearance” (depuração). A meia vida de eliminação pode também ser obtida por:

$$t_{1/2} = 0.693/k$$

Onde  $k$  é a inclinação da reta na fase de eliminação do fármaco.

#### **1.5.5. Volume aparente de distribuição ( $V_d$ )**

O volume de distribuição correlaciona a quantidade do fármaco no organismo com a concentração desse no sangue ou no plasma.

O volume de distribuição no equilíbrio é calculado por:

$$V_d = D/C_o$$

Onde  $D$  é a dose administrada e  $C_o$  corresponde à concentração plasmática hipotética do fármaco, se a distribuição ocorresse instantaneamente (ROWLAND & TOZER, 1995; FUCHS & WANNMACHER, 1998).

### **1.6. ETAPA CLÍNICA DOS ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA**

Após os anos 20 estabeleceram uma melhor definição dos conceitos, das abordagens e dos processos científicos, com o objetivo de verificar a eficácia e segurança dos fármacos em termos clínicos, com base na Farmacologia Básica, Fisiologia, Metodologia Científica e Bioestatística (BULL, 1959, GOOD & CLARK, 1976).

#### **1.6.1. Ensaio clínicos**

Ensaio clínico é o delineamento com maior poder para delimitar eficácia de um fármaco ou outro tratamento. O ensaio clínico consiste no principal método utilizado pela Farmacologia Clínica. Nele o tratamento é administrado a um grupo de indivíduos (grupo intervenção), sendo seus resultados comparados com os verificados em outro grupo (grupo controle) que recebe substância desprovida de efeito próprio (placebo) ou tratamento convencional (FRIEDMAN, 1996).

A OMS define ensaio clínico controlado como: "um experimento planejado ética e cuidadosamente com o objetivo de responder a algumas perguntas precisas e bem delimitadas" (WHO,1968).

Os ensaios não-controlados são a antítese dos controlados. Essa técnica pode ser utilizada como abordagem inicial, para geração de hipóteses que posteriormente deverão ser testadas em ensaios controlados.

Os ensaios controlados são aqueles em que se compara o teste com o controle (placebo "ativo" ou "inativo"). Podem ser divididos em abertos (tratamento conhecido) e cegos (uma ou ambas as partes desconhecem o tratamento) (HILL, 1951).

O ensaio clínico cruzado, em que o mesmo grupo de indivíduos sofre diferentes intervenções em períodos diferentes, é utilizado em estudos de bioequivalência, assim os participantes são seus próprios controles. A sequência de administração é aleatória, de maneira que a metade da amostra recebe o teste e a outra o placebo ou referência. Após, inverte-se a sequência, o que confere à expressão "cruzado". Os ensaios cruzados apresentam maior poder estatístico para demonstrar diferenças atribuíveis a tratamento, no entanto, pode haver efeito residual da primeira intervenção sobre a segunda, efeito conhecido como "carry over". Esse efeito pode ser minimizado pelo intervalo entre as duas intervenções, período conhecido como "wash out". Nos ensaios clínicos fase I o objetivo é determinar a segurança do medicamento num número reduzido de voluntários sadios, por isso, são ensaios abertos.

Ensaio clínico para análise da bioequivalência de medicamentos são métodos que compreendem uma série de etapas, desde a anamnese clínica até os exames laboratoriais pré e pós-estudo, que culminam na etapa analítica e tratamento estatístico dos principais parâmetros farmacocinéticos que apregoam a bioequivalência (ASC e C<sub>max</sub>, extensão e velocidade de absorção, respectivamente). Por se tratar de uma área que estuda a cronologia dos processos de absorção, distribuição e eliminação de fármacos, é de fundamental importância a precisão da coleta das amostras nos tempos previamente estipulados, já que, cada coleta representa um ponto no gráfico das curvas de concentração X tempo.

Além de sua importância na terapêutica, os ensaios clínicos para a análise da bioequivalência vêm a acrescentar para a lei dos genéricos a importância da biodisponibilidade para a saúde do paciente. A partir do momento em que torna-se necessária a avaliação da biodisponibilidade, de acordo com métodos científicos e estatisticamente salientados, amplia-se a idéia de qualidade do produto, preservando ainda mais a integridade física do paciente ( FUCHS & WANNMACHER, 1998).

## 1.7. ASPECTOS ÉTICOS

A necessidade de criação de mecanismos de controle sobre a experimentação com seres humanos adquiriu uma maior relevância quando se tomou conhecimento dos abusos cometidos nos campos de concentração, durante a Segunda Guerra Mundial. Os responsáveis foram julgados por crimes de guerra e contra a humanidade em Nuremberg.

Somente em 1946, a comunidade decidiu elaborar um Código de Ética (Código de Nuremberg) contendo os princípios básicos sobre experimentação.

O aumento do número de situações abusivas levou a OMS a discutir a questão e rever o Código de Nuremberg. Em 1964, foi promulgada a nova regulamentação, conhecida como Declaração de Helsinque I.

Em 1975 o assunto foi discutido e analisado. Na 29ª Assembléia Médica Mundial (Tóquio-Japão) a declaração anterior foi revista e alterada, resultando na Declaração de Helsinque II.

A Resolução nº 1, de 13 de junho de 1988, do Conselho Nacional da Saúde, merece destaque por estabelecer detalhadamente e rigorosamente as normas para pesquisa em Saúde (COHEN & SEGRE, 1999).

### **1.7.1. Princípios básicos da Bioética**

Todos os documentos citados consideram os princípios básicos da Bioética: a não-maleficência, a beneficência, a autodeterminação e a justiça, além do sigilo. O princípio da beneficência, de fazer o bem, é simplista diante da moderna experimentação com seres humanos. Na pesquisa médica existem prejuízos e benefícios que precisam ser cuidadosamente avaliados. Certos benefícios podem vir a justificar alguns prejuízos.

A Comissão Nacional para a Proteção de Seres Humanos em Pesquisa Biomédica e Comportamental dos Estados Unidos, interpreta a beneficência, em linhas gerais, como a obrigação de garantir e obter informação para o bem-estar do indivíduo. Como consequência do conceito de autonomia, a autodeterminação é o direito de agir com os próprios julgamentos e as próprias convicções; as decisões devem ser respeitadas. Mas, nem todo ser humano é capaz de autodeterminação, essa capacidade pode ser perdida em algumas circunstâncias (velhice; doença; situação de restrição, por exemplo, prisão, exílio ou asilo).

É em obediência ao conceito de autodeterminação que se torna obrigatório o “consentimento esclarecido”.

Em nome do conceito de justiça, não se pode fazer experimentos apenas em determinados grupos (pacientes de enfermaria, asilados, prisioneiros) simplesmente porque eles estão à disposição e em situação de dependência (COHEN & SEGRE, 1999).

### **1.7.2. Experimentação com animais**

Toda a experimentação com seres humanos deve ser precedida da experimentação com animais. Experimentar tratamentos novos em animais serve não apenas para aperfeiçoar a técnica, mas, também para avaliar os riscos envolvidos na experimentação. Em tese, todo novo tratamento pode causar danos eventuais ou permanentes, ou até mesmo efeitos contrários aos desejados. É preciso estar atento ao fato de que reações adversas observadas ou não em animais, não constitui garantia de que o tratamento é seguro para o homem.

No Brasil, a experimentação com animais está prevista pela Lei Federal nº 6.638, de 8 de maio de 1979, que “estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências”. A lei estabelece a necessidade de registro de biotérios e centros de pesquisa em órgãos competentes e proíbe a vivissecção de animais em certas condições (sem anestesia, centros de pesquisa não registrados, etc) (COHEN & SEGRE, 1999).

### **1.7.3. Risco e benefício**

As palavras risco e benefício não são opostas quanto ao significado. A palavra risco envolve probabilidade associada à idéia de ocorrer dano. “Baixo risco” ou “pequeno risco” não são expressões claras, embora, seu significado seja “pouco provável de ocorrer dano” - sem estar contida qualquer informação sobre a gravidade do dano.

A idéia de risco está associada à experimentação. Ao menos potencialmente todo experimento pode causar danos físicos, psicológicos, sociais e econômicos. Os danos sociais se referem à publicação de dados confidenciais. Já os riscos econômicos envolvem desde a necessidade de o participante do experimento arcar com os custos de exames adicionais (incluem: transporte, perda de horas de trabalho, necessidade de assumir danos advindos da experimentação e outros) (COHEN & SEGRE, 1999).

### **1.7.4. Consentimento esclarecido**

A experimentação com seres humanos só pode ser feita mediante consentimento.

O consentimento do paciente ou voluntário não tem natureza legal, mas, sim ética. Para obter o consentimento do participante em potencial do experimento, é preciso que o pesquisador explique toda a situação para essa pessoa, de maneira simples e exata. Só assim, essa pessoa poderá decidir, com pleno conhecimento de causa, se participará ou não do experimento.

A palavra consentimento implica em atitude tomada por livre e espontânea vontade, e a palavra esclarecido coloca que o paciente deve estar plenamente consciente dos fatos, afinal, esclarecer é mais do que simplesmente informar.

A obtenção do consentimento esclarecido do paciente e/ou voluntário é um processo de negociação que exige respeito aos direitos e à dignidade do paciente/voluntário.

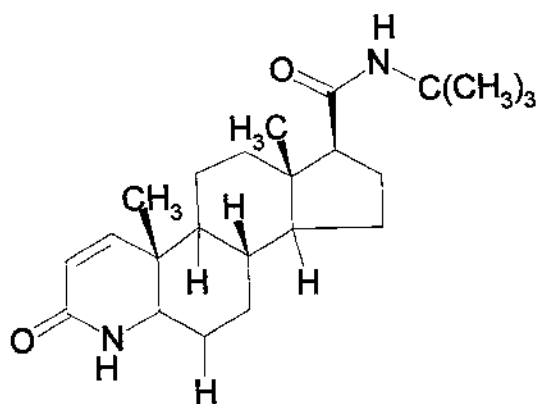
A questão do consentimento é especialmente grave quando o experimento é conduzido com pessoas vulneráveis, ou seja, que não têm condições para proteger seus próprios interesses. Incluem-se nessa categoria os deficientes mentais, os senis, os de baixa escolaridade, as crianças, institucionalizados (prisoneiros, velhos asilados, menores recolhidos em orfanatos e outros). Também são vulneráveis pessoas com doenças crônicas, refratárias à terapia convencional. Todas essas pessoas podem participar do experimento, desde que protegidas por legislação específica (COHEN & SEGRE, 1999).

## 1.8. FARMACOLOGIA DA FINASTERIDA

### 1.8.1. Estrutura Química

Finasterida, N-(1,1-dimetiletil)-3-oxo-4-aza-5 $\alpha$ -androst-1-eno-17 $\beta$ carboxamida, com fórmula molecular  $C_{23}H_{36}N_2O_2$  e peso molecular de 373,55 (BUDAVARI *et al.*, 1996), pertence à família dos 4-azasteróides. Sua estrutura química é análoga à da testosterona (vide figura 1) (CONSTANZER, MATUSZEWSKI, BAYNE, 1991; KELLOF *et al.* 1994; GORMLEY, 1995; STEINER, 1996).

A finasterida é um agente inibidor competitivo e seletivo para 5 $\alpha$ -redutase tipo 2, uma enzima responsável pela conversão de testosterona (T) em dihidrotestosterona (DHT) na glândula prostática (RITTMASER, 1994, 1997; STEINER, 1996; SCHWARTZ *et al.*, 1996; GUARNA *et al.*, 1998). Foi com base na predominância da enzima 5 $\alpha$ -redutase tipo 2 na próstata e no papel da DHT no desenvolvimento da hiperplasia prostática benigna (HPB), que os inibidores da 5 $\alpha$ -redutase foram desenvolvidos para tratamento de HPB (RITTMASER, 1997).



**Figura 1:** Estrutura da finasterida

### 1.8.2. Toxicologia

Uma correlação positiva entre mudanças proliferativas nas células de Leydig e um aumento nas concentrações de LH (hormônio luteinizante) no plasma (duas a três vezes mais do que em grupo controle) tem sido demonstrada em duas espécies de camundongos tratados com altas doses de finasterida. Não foram observadas mudanças relacionadas a fármaco nas células de Leydig em camundongos e cães tratados durante um ano com doses de 20mg/kg/dia e 45mg/kg/dia (30 e 350 vezes a dose recomendada para humanos) ou em camundongos tratados durante 19 meses com dose de 2,5mg/kg/dia (2 a 3 vezes a dose recomendada para humanos) .

Em estudo de 2 anos em ratos Sprague-Dawley, com a administração de doses de 160 mg/kg/dia em machos e 320mg/kg/dia em fêmeas (produzindo 111 e 274 vezes, respectivamente, a exposição sistêmica observada em humanos que recebem a dose de 5 mg por dia) não foi observado efeito carcinogênico.

Em ratos machos tratados com 80mg/kg/dia (61 vezes à exposição humana) durante 6 a 12 semanas, também não foram observados efeitos sobre a fertilidade. Entretanto, quando este tratamento foi continuado por 24 ou 30 semanas, observou-se aparente redução da fertilidade e fecundidade e uma redução significativa dos pesos das vesículas seminais e próstata – reversíveis em 6 semanas após a retirada da medicação.

Na gestação a finasterida é contra-indicada por ser um inibidor da 5 $\alpha$ -redutase pode causar anormalidades na genitália externa de fetos masculinos. Devido a esse risco potencial, uma mulher grávida ou em idade fértil não deve entrar em contato com comprimidos de finasterida. A administração de doses de 100  $\mu$ g/kg/dia (1 a 1000 vezes a dose recomendada para humanos) em ratas grávidas produziu hipospadia dose-dependente em 3,6 a 100% dos descendentes. Dosagens maiores ou iguais a 30  $\mu$ g/kg/dia causaram redução do peso da vesícula prostática e seminal, retardo da separação prepucial e desenvolvimento transitório dos mamilos dos descendentes. Todas essas alterações são efeitos farmacológicos esperados dos inibidores de 5 $\alpha$ -redutase e são semelhantes aos efeitos relatados em crianças do sexo masculino com deficiência genética de 5 $\alpha$ -redutase. Não foram observadas anormalidades em camundongos descendentes do sexo feminino expostas *in utero* a qualquer dose de finasterida .

Em estudos de reprodução utilizando machos tratados com doses de finasterida de 80mg/kg/dia (61 vezes a exposição humana) e fêmeas não tratadas, não foram observadas anormalidades em machos e fêmeas da primeira geração de descendentes. A administração de 3mg/kg/dia (30 vezes a dose recomendada para humanos) durante a última fase de gestação e o período de lactação também não apresentou efeito sobre as fêmeas descendentes, entretanto, resultou em ligeira redução da fertilidade em machos da primeira geração (DOLLERY, 1991).

### 1.8.3. Farmacologia

Testosterona (T) é o principal androgênio circulante no homem, é responsável pelo aumento da massa muscular, mudança de voz, espermatogênese e libido. Entretanto, numerosos estudos desenvolveram o conceito de que em tecidos como a pele e próstata, a testosterona agiria como um pré-hormônio que é convertido em um potente androgênio, a dihidrotestosterona (DHT). A redução de T à DHT é NADPH-dependente, catalisada por uma enzima ligada à membrana, chamada 5 $\alpha$ -redutase. Uma diminuição nos níveis de DHT através da inibição dessa enzima poderia ser abordagem terapêutica para a redução do tamanho da próstata e alívio de sintomas associados à hiperplasia prostática benigna (FALLER, FARLEY, NICK, 1993).

Embora a testosterona seja o androgênio predominante na circulação periférica, faz-se necessária sua conversão em DHT para desempenhar atividade biológica em alguns tecidos, tais como, a pele e próstata (GORMLEY, 1995).

As principais funções da DHT são diferenciação sexual masculina do feto, desenvolvimento e manutenção da próstata durante e após a puberdade. A título de ilustração, homens que herdaram deficiência da enzima  $5\alpha$ -redutase, nasceram com a genitália externa ambígua (pseudohermafroditismo) (KELLOFF *et al.*, 1994). Não ocorreu a descida do testículo e a próstata apresentou pouco desenvolvimento. Com a entrada na puberdade, há elevação dos níveis de testosterona, o que leva a uma masculinização parcial caracterizada por: desenvolvimento do pênis, hiperpigmentação, espermatogênese, enrugamento do escroto, mudança de voz, libido, crescimento de pelos púbicos e aumento da massa muscular. Mesmo com essas mudanças mediadas por androgênios, as glândulas prostáticas de 15 homens pós-puberdade permaneceram subdesenvolvidas e não foi notificado câncer de próstata. Essas observações indicam que T e DHT desempenham diferentes papéis, sendo que DHT modula o desenvolvimento da próstata (GORMLEY, 1992; RITTMASER, 1994).

A enzima  $5\alpha$ -redutase, responsável pela redução da testosterona à dihidrotestosterona, foi clonada e caracterizada como duas isoenzimas :  $5\alpha$ -redutase tipo 1 e tipo 2. Ambas isoenzimas apresentam localização cromossômica, padrões de expressão e parâmetros cinéticos distintos. A isoenzima tipo 2 predomina na próstata, pele genital, vesículas seminais, epidídimo e fígado, seu mecanismo de ação foi descoberto através dos casos de indivíduos portadores de deficiência de  $5\alpha$ -redutase. A isoenzima tipo 1, por sua vez, é abundante no folículo capilar, glândulas sebáceas (incluindo couro cabeludo) e fígado (GUARNA *et al.*, 1998); como não foram relatados casos de deficiência de  $5\alpha$ -redutase tipo 1, seu papel na fisiologia humana ainda não foi esclarecido. (RITTMASER, 1997). No entanto, pela  $5\alpha$ -redutase tipo 1 ser predominante nas glândulas sebáceas, uma aplicação terapêutica potencial para um inibidor seletivo do tipo 1 poderia ser no tratamento de acne, além de poder ser utilizado com segurança em mulheres na fase fértil, já que o tipo 2 causa virilização no feto. (RITTMASER, 1997)

#### 1.8.4. Farmacocinética

Finasterida é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal com concentração máxima ( $C_{max}$ ) de 37-38 ng/mL, atingida após 1-2 horas da administração de 5 mg. Alimentos não parecem interferir na absorção (cerca de 95%) ou nas concentrações plasmáticas e portanto, a biodisponibilidade (80%) permanece inalterada. No entanto,  $T_{max}$  pode variar de  $1.9 \pm 0.2$  horas em jejum e  $4.2 \pm 1.0$  horas após a refeição. Tem alta afinidade por proteínas (90%) na circulação periférica. Sua meia-vida de eliminação varia de 4.7 à 7.1 horas após dose única de 5 mg, via oral (PETERS & SORKIN, 1993; KELLOFF *et al.*, 1994; RITTMASER, 1994; GORMLEY, 1995; STEINER, 1996). Com regime de dose múltipla, 5 mg/dia, durante 17 dias, os valores para a meia-vida de eliminação em pacientes idosos (idade  $\geq 70$  anos, 7.8 a 9.1 horas) foram maiores quando comparados a voluntários mais jovens (idade entre 45 e 60 anos, 6.0 a 7.7 horas). (PETERS & SORKIN, 1993).

A área sob a curva (ASC (0-24 h)) após dose única de 5 mg, foi de  $0.4 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ , e os principais parâmetros ( $C_{max}$ , ASC (0-24 h) e  $t_{max}$ ) apresentam uma correlação diretamente proporcional com a dose administrada (KELLOFF *et al.*, 1994).

Finasterida sofre extenso metabolismo hepático, originando compostos inativos eliminados primariamente pela bile. Sendo 39% da dose excretada pela urina e 57% pelas fezes. (CARLIN *et al.*, 1992). O metabólito predominante na urina é o monocarboxílico (ácido finasterida- $\omega$ -óico), já o encontrado no plasma é o monohidroxilado ( $\omega$ -hidroxi-finasterida) (PETER E SORKIN, 1993; STEINER, 1996).

#### 1.8.5. Reações adversas

É bem tolerada por indivíduos do sexo masculino e amplamente distribuída, incluindo o SNC. Entretanto, reações adversas são associadas à seu efeito farmacológico de redução da resposta à androgênios, por exemplo: redução da libido (3.0 a 5%), impotência (3.4 a 3.7%), distúrbios na ejaculação (3.0 a 4.4%) (STEINER, 1996; RITTMASER,

1997). No entanto, ocorrem em pequena proporção na população em estudo (2.2 a 3.4% vs 0.8 a 1.6% para placebo) Estes sintomas desaparecem em 60% dos pacientes com a continuidade do tratamento. Ginecomastia foi relatada em 0.4% dos pacientes (WILTON *et al.*, 1996; RITTMASER, 1997).

#### 1.8.6. Indicações

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é um dos mais comuns processos patológicos que acometem homens idosos. Mais de 70% dos homens acima de 70 anos de idade apresentam evidência microscópica de hiperplasia prostática, embora apenas 45% apresentem aumento da glândula palpável em exame de toque (MAGOHA, 1996; MCDERMOTT, 1997).

Dado seu efeito sobre os níveis plasmáticos e intraprostáticos de DHT (redução de aproximadamente 90%), a finasterida tem demonstrado reduzir o volume da próstata e os sintomas urinários em estudos clínicos envolvendo indivíduos com HPB (MAGOHA, 1996; RITTMASER, 1997). Embora as duas isoenzimas  $5\alpha$ -redutase estejam presentes nos folículos capilares, alopecia é mais comum em indivíduos com deficiência congênita de  $5\alpha$ -redutase tipo 2 e o tratamento com finasterida, 1 mg, durante o período de 1 ano, levou à melhora dos sintomas em 48% dos pacientes tratados. Pela sua segurança e baixa incidência de efeitos adversos, seu papel principal poderia ser na prevenção da progressão dos sintomas da próstata e alopecia (RITTMASER, 1997).

Em comparação com placebo, finasterida reduziu a necessidade de cirurgia na próstata e diminuiu o risco de retenção urinária aguda. As diferenças foram evidentes durante os primeiros quatro meses de estudo e acentuaram-se durante os quatro anos. Embora antagonistas  $\alpha$ -adrenérgicos também causem alívio dos sintomas, não houve demonstração que esse tratamento reduz a necessidade de cirurgia. É claro que a redução da necessidade de cirurgia tem implicações econômicas em termos de saúde pública, uma vez que a prostatectomia transuretral é a segunda operação mais comum em homens idosos (MCCONNELL *et al.*, 1998).

## ***2.OBJETIVOS***

- Avaliar a bioequivalência ou não de duas formulações de comprimidos de finasterida (Flaxin®, comprimidos, 5 mg, Merck S.A. Indústrias Químicas, como formulação teste vs Proscar®, comprimidos, 5 mg, Merck Sharp & Döhme, como formulação referência) em 23 voluntários sadios que receberam dose única de 5 mg de cada formulação.

### ***3. CASUÍSTICA E MÉTODOS***

### 3.1. MATERIAIS E REAGENTES

Acetonitrila - grau analítico , Nuclear, (lote 99030264) (Val.03/2000), Brasil.

Hexano, grau analítico, Mallinckrodt (lote 4159 KVNE), EUA.

Éter dietílico, grau analítico, Nuclear (lote 98010153), Brasil.

Álcool metílico, grau analítico, Mallinckrodt (lote 3041 KVAZ) , EUA.

Ácido fórmico, Merck S.A., (lote 523441), EUA.

Carbonato de sódio, grau analítico, Mallinckrodt (lote 7528) , EUA.

Bicarbonato de sódio, CRQ (lote 00295) , Brasil.

Água (purificada pelos sistemas Milli-Q ou Elga UHQ).

Finasterida , comprimidos de 5 mg: lote 982285, validade 04/2000, Merck Sharp & Döhme, Brasil e lote 802444, validade 10/2000, Merck Indústrias Químicas S.A., Brasil.

Ciproterona, padrão interno grau analítico, lote 11383, validade 04/2000, Merck Indústrias Químicas S.A., Brasil.

Plasma humano para as preparações das curvas de controle de qualidade e calibração foram cedidos pelo Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.

Pipetas ajustáveis (100 µL, 200 µL, 1000 µL ), (Gilson "Pipetman", França).

Vortex-mixer, modelo Fisher Vortex Genie 2, (Fisher Scientific Laboratory Equipment, EUA).

Ponteiras de plástico, LabTips: Labtip Yellow (5-200 µl) lote 94300120 e Labtip Blue (200-1000 µL) lote 94300220, ( Unilab, São Paulo).

Tubos de ensaio 120 x 11mm, (Unilab, São Paulo).

Pipetas Pasteur, (Costar, n. catálogo 5009).

Tubos Eppendorf, (Unilab, São Paulo).

Vials para Autosampler (1.1 CTVG) e tampas da Chromacol, EUA.

Potenciômetro Quims modelo Q400P part n. 610874, Singapura.

Centrífuga refrigerada Beckman modelo GPS, part n. 349702, EUA.

### 3.2. PROTOCOLO CLÍNICO

Vinte e três voluntários adultos saudáveis, do sexo masculino, com idade de 18 a 45 anos (média de  $24 \pm 3.39$  anos), peso corporal de 56 a 91.5 Kg (média de  $74.7 \pm 9.3$  Kg) foram selecionados. Todos os voluntários selecionados assinaram termo de consentimento após esclarecimento de dúvidas sobre o estudo, o protocolo clínico aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio - HUWC da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Os voluntários selecionados não apresentaram alterações clínicas ou sintomas de doenças cardíacas, hepáticas, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal e hematológica, após exame físico e psicológico, eletrocardiograma e exames laboratoriais tais como: glicemia de jejum, uréia, creatinina, transaminase glutâmico-oxalacético, transaminase glutâmico-pirúvica, fosfatase alcalina, gama-glutamyltranspeptidase, bilirrubina total, albumina, proteína total, triglicérides, colesterol total, hematócrito, hemograma completo, velocidade de sedimentação, urina tipo I e parasitológico. Além disso, todos apresentaram sorologia negativa para hepatite B, hepatite C e SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida).

O estudo clínico foi conduzido segundo delineamento aleatório cruzado, aberto, de dois períodos, com intervalo de sete dias entre as doses.

Durante cada período, os voluntários foram internados na noite anterior ao estudo, receberam dieta geral até as 23 horas, quando iniciaram o jejum de 8 horas que foi mantido até três horas após a administração de uma dose de 5 mg de finasterida, via oral.

Além das refeições convencionais, nenhum outro alimento foi permitido durante a internação. Bebidas contendo xantinas não foram permitidas, tais como : café, chá, bebidas de cola. Medicação concomitante foi evitada, havendo monitorização da pressão arterial a cada coleta de amostras de sangue e a temperatura medida no primeiro horário de coleta.

A coleta de amostras de sangue (8 mL) foi realizada através de escalpe heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário, imediatamente antes da administração (via oral) de uma das preparações da finasterida com 200ml de água, sendo as demais coletas realizadas nos seguintes intervalos após a administração da droga: 0.5 h, 1 h, 1.5 h, 2 h, 2.5 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 12 h, 18 h, 24 h, 36 h e 48h. As amostras foram centrifugadas (4000 rpm) por 10 minutos a temperatura ambiente, plasma decantado e armazenado a - 20°C até o momento da análise.

### 3.2.1. Sequência de administração das duas formulações de finasterida em voluntários sadios

| Voluntário n. | Período I   | Período II  |
|---------------|-------------|-------------|
| 01            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 02            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 03            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 04            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 05            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 06            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 07            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 08            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 09            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 10            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 11            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 12            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 13            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 14            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 15            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 16            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 17            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 18            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 19            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 20            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |
| 21            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 22            | desistência | Desistência |
| 23            | Flaxin®     | PROSCAR ®   |
| 24            | PROSCAR ®   | Flaxin®     |

### 3.3. QUANTIFICAÇÃO DO FÁRMACO NAS AMOSTRAS DE PLASMA

Todas as amostras foram analisadas em duplicata e as concentrações plasmáticas de finasterida foram determinadas por método validado em cromatografia líquida de alta pressão acoplada a espectrômetro de massa (LC-MS/MS) após extração líquido-líquido do fármaco.

### 3.3.1. Preparação das amostras

#### 3.3.1.1. Preparo de soluções padrão

Foram pesados 50 mg de finasterida para um volume total de 50 mL de solução de metanol/água (50/50), obtendo concentração de 1 mg/mL. Essa solução foi diluída em plasma branco humano para obter as seguintes concentrações:

| VOLUME              | VOLUME TOTAL | CONCENTRAÇÃO             |
|---------------------|--------------|--------------------------|
| 0.10 mL (1 mg/mL)   | 10 mL        | Solução A = 10.00 µg/mL  |
| 0.02 mL (Solução A) | 2.00 mL      | Solução B = 100.00 ng/mL |
| 0.50 mL (Solução B) | 2.00 mL      | Solução C = 50.00 ng/mL  |
| 0.80 mL (Solução C) | 2.00 mL      | Solução D = 20.00 ng/mL  |
| 1.00 mL (Solução D) | 2.00 mL      | Solução E = 10.00 ng/mL  |
| 1.00 mL (Solução E) | 2.00 mL      | Solução F = 5.00 ng/mL   |
| 0.80 mL (Solução F) | 2.00 mL      | Solução G = 2.00 ng/mL   |
| 1.00 mL (Solução G) | 2.00 mL      | Solução H = 1.00 ng/mL   |
| 1.00 mL (Solução H) | 2.00 mL      | Solução I = 0.50 ng/mL   |

#### 3.3.1.2. Solução de padrão de interno (ciproterona)

Foram pesados 50 mg de ciproterona para um volume total de 50 mL de solução de metanol/água (50/50), obtendo concentração de 1.00 mg/mL.

#### 3.3.1.3. Preparo da solução de éter dietílico/hexano (80:20)

Foram adicionados 20 mL de hexano em 80 mL de éter dietílico em proveta de 100 mL.

#### 3.3.1.4. Preparação da fase móvel (80% CH<sub>3</sub>CN, 20% água, 10mM ácido fórmico)

Uma solução de acetonitrila 80%, 20% de água e 10mM ácido fórmico foi preparada com 400mL de água e 460µL de ácido fórmico (10mM) em proveta de 1000 mL. Acetonitrila foi adicionada até completar 1000 mL. A solução foi agitada cuidadosamente em capela.

### 3.3.1.5. Preparação da amostra para a análise

Para 1 mL de plasma foram adicionados 100 µL de solução de padrão interno (100.00 µg/mL de ciproterona) e 0.1 mL de metanol. A mistura foi extraída com 4 mL de éter dietílico/hexano (80:20), misturados num vórtex por 5 minutos. Após centrifugação em 3000 rpm por 10 minutos, a fase orgânica foi evaporada em um fluxo contínuo de nitrogênio. O resíduo foi ressuspenso com 200 µL de fase móvel e 50 µL foram injetados no sistema cromatográfico.

### 3.3.2. Equipamentos e condições cromatográficas

O sistema cromatográfico foi composto por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) acoplado à espectrômetro de massa (MS), em coluna Genesis 4 µm C18 (150 X 4.6 mm) e pré-coluna do mesmo material. A temperatura do injetor automático foi mantida a 10° C e o volume de injeção foi 50 µL, com fluxo de 10 mL/min.

O tempo de corrida total foi de 3.5 min. Sendo os tempos de retenção de 2.6 min e 3.4 min para finasterida (Monitoramento de reação múltipla, MRM de 373.10 > 305.10) e ciproterona (Monitoramento de reação múltipla, MRM de 374.91 > 278.70), respectivamente.

O espectrômetro de massa utilizado foi o “Quatro II triple stage quadrupole” com “Electrospray ion source” empregando um “crossflow counter electrode”.

Sistema de dados : “MassLynx” (versão 2.3) , “Windows NT” (versão 4.0).

## 3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A constante de eliminação de primeira ordem ( $K_e$ ) foi estimada por regressão linear dos pontos da fase de eliminação em gráfico linear-log. A meia-vida foi obtida pela equação:  $t_{1/2} = \ln(2)/K_e$ . E a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e o respectivo tempo ( $t_{max}$ ) foram obtidos diretamente das curvas.

As áreas sob as curvas foram calculadas aplicando-se o método trapezoidal linear das curvas de concentração vs tempo, de 0 a 48 horas, ( $ASC_{(0-48h)}$ ), em modelo não compartimental.

A extrapolação das áreas sob a curva de 0 à 48 horas ao infinito ( $ASC_{(0-\infty)}$ ) foi feita pela adição do valor de  $C_{48}/K_e$  às  $ASC_{(0-48h)}$  calculadas (sendo  $C_{48}$  a concentração plasmática obtida 48 horas após a dose, calculada a partir da equação de regressão log-linear para estimar as  $K_e$ ).

A bioequivalência entre as formulações foi calculada através das razões individuais de  $ASC_{(0-48 h)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $K_e$  e  $t_{1/2}$  e as diferenças individuais teste/referência para  $t_{max}$ . A inclusão dos IC 90% para as razões dentro do intervalo de 80 - 125% e para inclusão do valor “zero” dentro do IC 90% para as diferenças foram avaliadas empregando testes paramétricos (ANOVA) e não paramétricos (teste de Wilcoxon). No teste paramétrico são realizados os cálculos das diferenças individuais. Segundo Hauschke et al (1990), resultados não-paramétricos são expressos como ponto estimado e 90% IC das razões individuais, exceto para  $T_{max}$  que é expresso como ponto estimado e 90% IC das razões das diferenças individuais.

Os programas de computador utilizados foram o “WinNonlin Professional Network Edition”, versão 1.5, “Bioequivalence Program for two Period Crossover Studies”, versão 3.4; “Microsoft Excel”, versão 7 e “Graph Pad Prism”, versão 3.00.

## 4. RESULTADOS

O ensaio clínico transcorreu normalmente, apenas um voluntário relatou cefaléia, no entanto, esta reação adversa não foi relacionada como evento adverso devido à medicação. Os exames laboratoriais pré e pós-estudo não apresentaram valores fora do intervalo de referência.

As figuras 2 (a) e 2 (b) mostram os cromatogramas do branco obtidos por Monitoramento de reação múltipla (MRM) de ciproterona (MRM de 417.10 > 278.70), e finasterida (MRM de 373.10 > 305.10). Já a figura 2 (c) mostra típico cromatograma de massas obtido de amostra contaminada com ciproterona (100.00 ng/mL, tempo de retenção 3.54 min). E figura 2 (d) representa amostra de plasma coletada após 3 horas da administração de finasterida 5.00 mg, via oral, com tempo de retenção de 2.75 min.

A figura 3 apresenta as médias das concentrações plasmáticas (média aritmética) em função do tempo para finasterida, após a administração de 5 mg de cada uma das formulações teste (Flaxin®) e referência (Proscar®).

Os parâmetros farmacocinéticos obtidos para as duas formulações farmacêuticas de finasterida (Flaxin® e Proscar®, comprimidos de 5 mg) são mostrados na tabela 4.

Análises paramétrica e não paramétrica das razões individuais e diferenças individuais dos parâmetros farmacocinéticos foram descritas na tabela 5.

## **4.1. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DO ENSAIO CROMATOGRÁFICO**

### **4.1.1. Precisão e exatidão**

Três amostras de controle de qualidade QCA, QCB e QCC foram preparadas por contaminação do plasma humano para obtenção de concentrações finais : 2.00, 5.00 e 20.00 ng/mL de finasterida. Exatidão e precisão foram calculadas à partir dos controles entre as corridas. Os controles de qualidade foram preparados em quantidade suficiente para a monitorização contínua da precisão e exatidão do método analítico. Após o preparo os controles foram aliquotados em tubos “eppendorf” e estocados a - 20°C até posterior análise. Durante a realização do estudo cada uma das três concentrações, estocadas em tubo “eppendorf”, é descongelada e analisada em duplicata conjuntamente com as demais amostras a intervalos adequados e dependendo do número total de amostras.

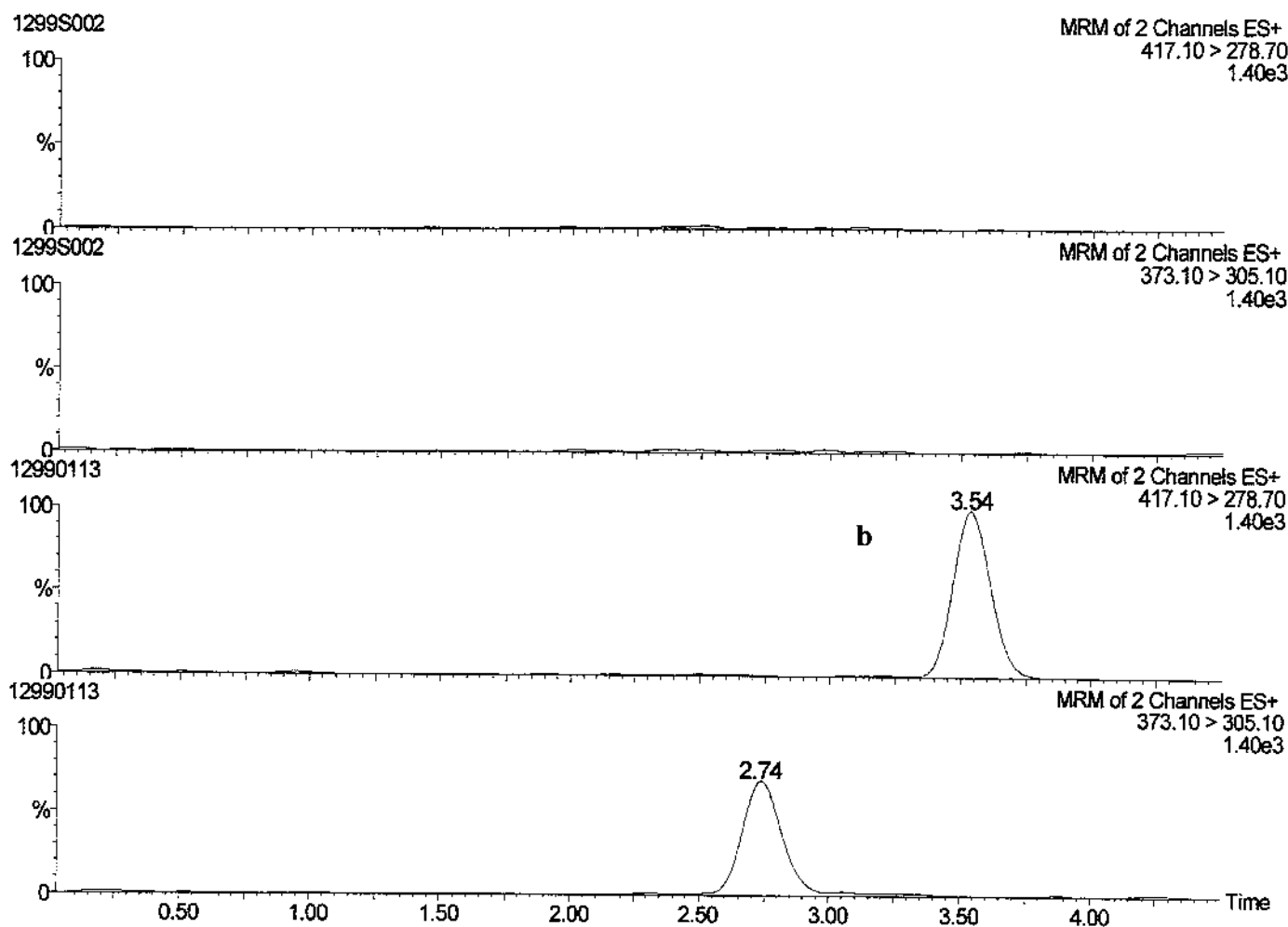
A precisão e exatidão do inter-ensaio, realizado em dias sucessivos, foram determinadas através da análise de seis amostras de controle de qualidade (Duas QCA, duas QCB e duas QCC) juntamente com as demais amostras em estudo, a intervalos de dez em dez amostras e dependendo do número total de amostras. (vide tabela 3 inter-ensaio).

A tabela 3 resume os resultados da precisão e exatidão para inter-ensaio dos controles de qualidade (2.00, 5.00 e 20.00 ng/mL).

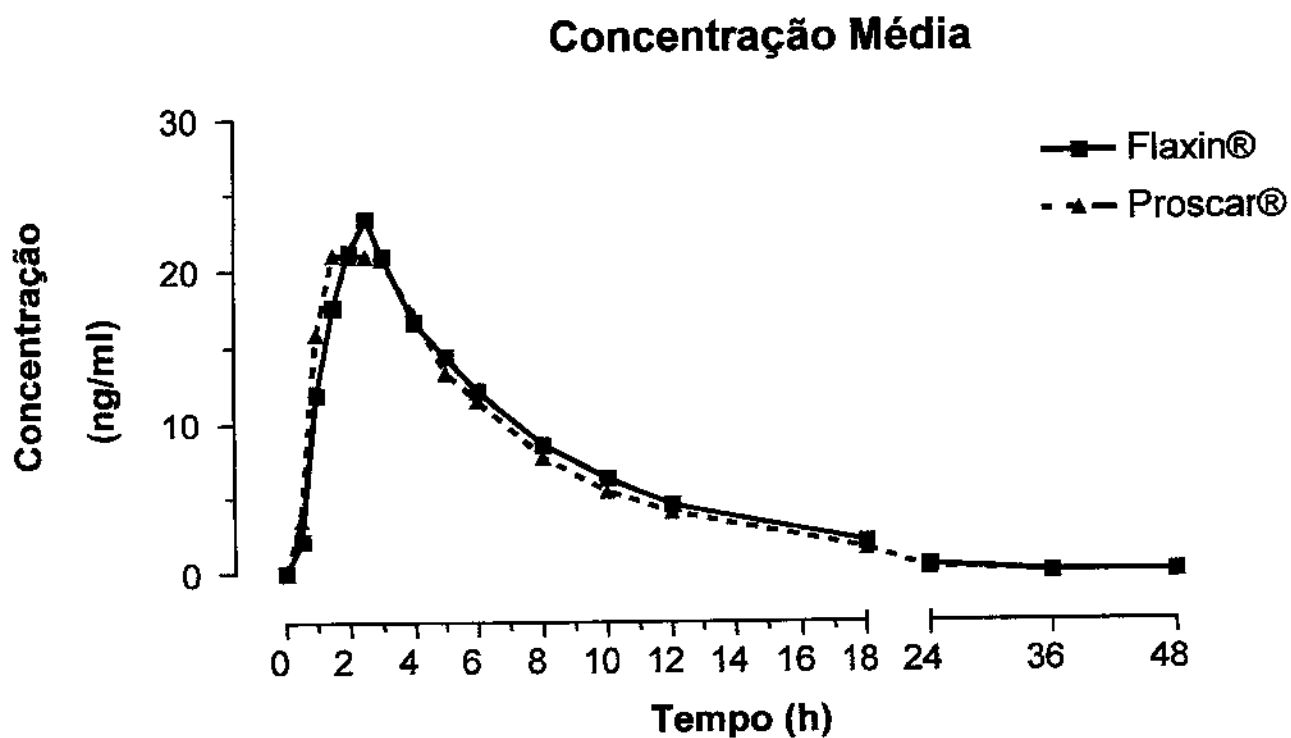
#### **4.1.2. Linearidade**

A curva de calibração foi linear no intervalo de 0.50 - 100.00 ng/mL, com coeficiente de regressão igual ou maior do que 0.995 (figura 4, tabela 6).

O limite de quantificação foi definido como o menor ponto da curva padrão para o qual a precisão e exatidão foram  $\leq 20\%$  (KARNES, SHIU, SHAH, 1991; BRAGGIO *et al.*, 1996). O limite de quantificação (LOQ) foi 0.50 ng/mL no plasma para finasterida, alíquotas de 0.2 mL.



**Figura 2:** Cromatograma de íons (MRM): (a): Plasma humano branco, ciproterona (417.10>278.70). (b): Plasma humano branco, finasterida (373.10>305.10). (c): Ciproterona (MRM ES+ 417.10>278.70). (d): Finasterida (MRM, ES+ 373.10>305.10).



**Figura 3:** Média das concentrações plasmáticas (média aritmética) de finasterida em função do tempo, após administração de dose única (5 mg) de cada formulação de finasterida (Flaxin® e Proscar®) a 23 voluntários sadios.

**Tabela 2:** Parâmetros farmacocinéticos médios (média aritmética  $\pm$  DP) da finasterida após administração oral de dose única (5 mg) de duas formulações, exceto para T<sub>max</sub> (média aritmética e intervalo de tempo). Onde DP é o desvio padrão.

| Parâmetros                   | Flaxin®         | Proscar®        |
|------------------------------|-----------------|-----------------|
|                              | Média (DP)      | Média (DP)      |
| ASC (0-48h)                  | 162.0 (57.0)    | 154.0 (60.0)    |
| ASC (0-∞)                    | 173.0 (61.0)    | 167.0 (75.0)    |
| ASC (0-48h)/ ASC (0-∞)       | 93.7            | 92.5            |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)     | 27.0 (7)        | 28.0 (7.0)      |
| T <sub>max</sub> (intervalo) | 2.5 (1.0 - 6.0) | 2.0 (1.0 - 4.0) |
| T <sub>1/2</sub> (h)         | 5.0 (1.0)       | 4.0 (3.0)       |

**Tabela 3:** Precisão e exatidão do inter-ensaio, obtidos para os controles de qualidade (QCA, QCB E QCC).

<sup>a</sup>Calculado como porcentagem do desvio padrão,  $DP\% = 100(DP/M)$ , onde DP é o desvio padrão e M a média.

<sup>b</sup>Calculado como porcentagem do erro relativo ,  $ER\% = (E-T) \cdot (100/T)$ , onde E é a concentração determinada experimentalmente e T a concentração teórica.

| Controle de Qualidade | N  | Média | D.P. | Precisão <sup>a</sup> | Exatidão <sup>b</sup> |
|-----------------------|----|-------|------|-----------------------|-----------------------|
| QCA (2.0 ng/mL)       | 30 | 2.05  | 0.14 | 6.92                  | 2.55                  |
| QCB (5.0 ng/mL)       | 30 | 5.10  | 0.30 | 4.90                  | 2.84                  |
| QCC (20.0 ng/mL)      | 30 | 20.0  | 0.80 | 3.81                  | 0.09                  |

**Tabela 4:** Parâmetros farmacocinéticos médios de 23 voluntários após administração oral de comprimido de finasterida (5 mg), média geométrica e intervalo de confiança 90 %.

| Parâmetros                                         | Flaxin ®    | Proscar ®   |
|----------------------------------------------------|-------------|-------------|
| <b>ASC<sub>(0-48h)</sub> (ng/ h mL)</b>            |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 158.4       | 147.9       |
| <b>90% IC</b>                                      | 139.8-179.4 | 128.1-170.6 |
| <b>ASC<sub>(0-∞)</sub> (ng/mL)</b>                 |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 163.2       | 152.7       |
| <b>90% IC</b>                                      | 144.1-184.8 | 131-178     |
| <b>Cmax (ng/mL)</b>                                |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 26.3        | 26.8        |
| <b>90% IC</b>                                      | 23.6-29.2   | 24.6-29.1   |
| <b>Cmin (ng/mL)</b>                                |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 1.2         | 1.0         |
| <b>90% IC</b>                                      | 1.0-1.5     | 0.8-1.2     |
| <b>Cmax/ASC<sub>(0-48h)</sub> (h<sup>-1</sup>)</b> |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 0.17        | 0.18        |
| <b>90% IC</b>                                      | 0.15-0.19   | 0.16-0.20   |
| <b>Ke (h<sup>-1</sup>)</b>                         |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 0.16        | 0.18        |
| <b>90% IC</b>                                      | 0.14-0.18   | 0.15-0.21   |
| <b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>                         |             |             |
| <b>Média Geom.</b>                                 | 4.4         | 3.8         |
| <b>90% IC</b>                                      | 3.9-4.9     | 3.2-4.5     |
| <b>T<sub>max</sub></b>                             |             |             |
| <b>Média</b>                                       | 2.5         | 2           |
| <b>Intervalo</b>                                   | 1-6         | 1-4         |

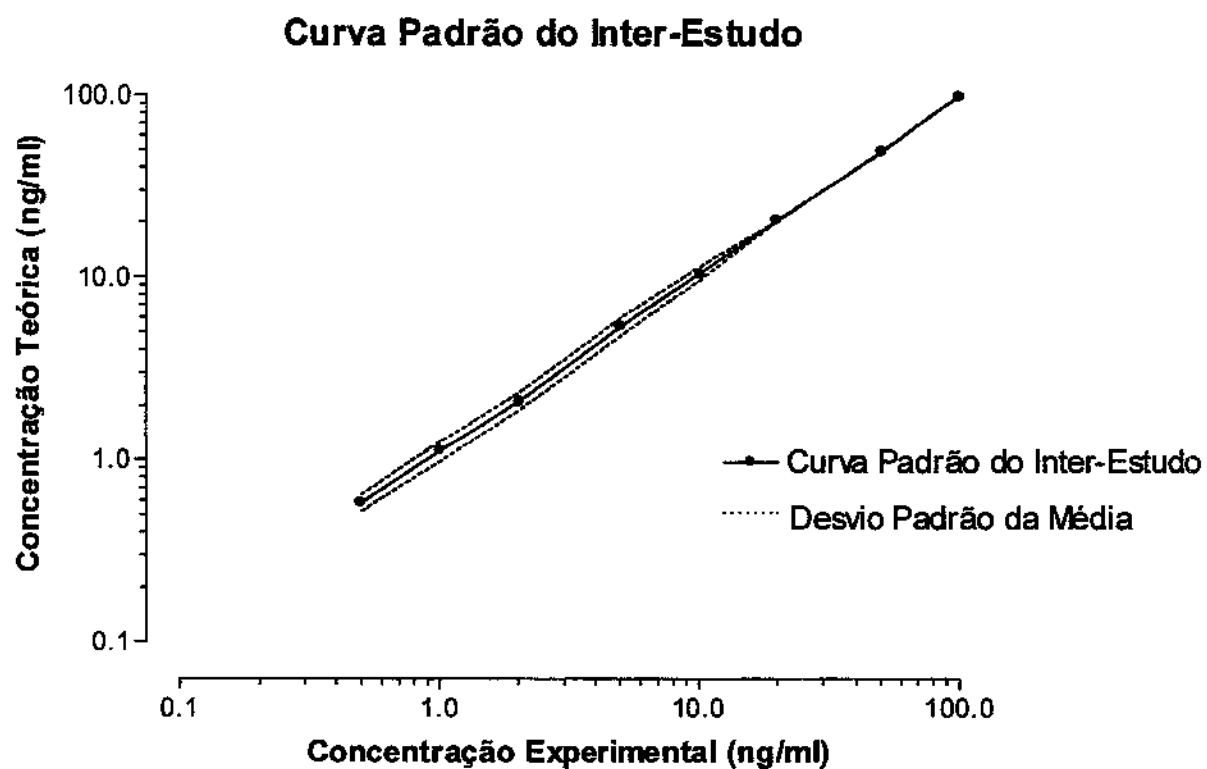
**Tabela 5:** Análise estatística dos valores individuais de  $ASC_{(0-48h)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max}/ASC_{(0-48h)}$ ,  $k_e$ ,  $t_{1/2}$ , e razões das diferenças individuais de  $t_{max}$ , para as duas formulações de finasterida.

<sup>a</sup> De acordo com HAUSCHKE *et al.* (1990) e FDA (1993), resultados não-paramétricos são expressos como ponto estimado e IC 90% das razões individuais, exceto para  $t_{max}$  (como ponto estimado e IC 90% das diferenças individuais)

<sup>b</sup> Média aritmética das diferenças individuais

<sup>c</sup> 90% IC das diferenças individuais

| Flaxin ®/ Proscar ®             | Análise Estatística |                          |                                      |              |
|---------------------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------|
|                                 | Análise Paramétrica |                          | Análise Não-Paramétrica <sup>a</sup> |              |
|                                 | (P> 0.30)           |                          |                                      |              |
|                                 | Média               | 90%                      | Ponto                                | 90%          |
|                                 | Geométrica          | IC                       | Estimado                             | IC           |
| $ASC_{(0-48h)}$ % razão         | 107.3               | 95.7 - 120.2             | 109.2                                | 93.6 - 124.1 |
| $ASC_{(0-\infty)}$ % razão      | 107.1               | 94.6 - 121.3             | 110.1                                | 93.4 - 124.9 |
| $C_{max}/ASC_{(0-48h)}$ % razão | 91.3                | 82.2 - 101.3             | 92                                   | 83.7 - 101.8 |
| $C_{max}$ % razão               | 97.9                | 88.7 - 108               | 96.3                                 | 87.6 - 109.1 |
| $K_e$ % razão                   | 87                  | 73.1-103.5               | 81.8                                 | 70.9 - 100   |
| $T_{1/2}$ % razão               | 114                 | 95.9 - 136               | 119.9                                | 99.3 - 138.3 |
| $t_{max}$ % diferença           | 0.22 <sup>b</sup>   | 0.07 - 0.25 <sup>c</sup> | 0.00                                 | -0.25 - 0.50 |



**Figura 4:** Curva de calibração do inter-estudo.

**Tabela 6:** Curva Padrão do Inter e Intra-estudo. Onde:

**M** Média

**DP** Desvio Padrão da Média

**CV%** Coeficiente de Variação

**ER%** Erro relativo

**a** Coeficiente angular da reta  $y=ax+b$

**b** Intercepto da reta  $y=ax+b$

**r** Coeficiente de correlação linear

| Concentração | 0.50  | 1.00  | 2.00  | 5.00  | 10.0  | 20.0  | 50.0  | 100    | a     | b      | r      |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| Curva 01     | 0.55  | 1.18  | 2.56  | 5.50  | 9.51  | 21.43 | 48.69 | 99.10  | 1.014 | -0.328 | 0.9994 |
| Curva 02     | 0.60  | 0.85  | 2.02  | 5.72  | 9.74  | 18.54 | 48.42 | 102.73 | 0.980 | 0.475  | 0.9992 |
| Curva 03     | 0.55  | 1.06  | 1.99  | 6.10  | 11.84 | 20.65 | 48.44 | 96.58  | 1.041 | -0.812 | 0.9991 |
| Curva 04     | 0.70  | 1.22  | 1.95  | 5.02  | 9.83  | 21.41 | 51.14 | 97.37  | 1.021 | -0.509 | 0.9994 |
| Curva 05     | 0.53  | 1.12  | 1.98  | 5.08  | 10.16 | 19.39 | 50.81 | 99.45  | 1.003 | -0.079 | 0.9998 |
| Curva 06     | 0.57  | 1.24  | 2.10  | 4.47  | 10.90 | 20.15 | 44.67 | 101.71 | 0.998 | 0.384  | 0.9977 |
| M            | 0.58  | 1.11  | 2.10  | 5.31  | 10.33 | 20.26 | 48.69 | 99.49  | 1.009 | -0.145 | 0.9991 |
| DP           | 0.06  | 0.14  | 0.23  | 0.58  | 0.88  | 1.15  | 2.31  | 2.39   |       |        |        |
| CV%          | 10.77 | 12.98 | 10.97 | 10.85 | 8.54  | 5.66  | 4.75  | 2.40   |       |        |        |
| ER%          | 16.33 | 11.17 | 4.87  | 6.23  | 3.27  | 1.30  | -2.61 | -0.51  |       |        |        |

## ***5.CONCLUSÃO***

A implantação dos medicamentos genéricos no Brasil é fato recente e a importância desse mercado para a população começa a se revelar frente à promoção do uso racional de medicamentos. Assim, estudos de bioequivalência vêm acrescentar novo conceito de qualidade para o medicamento, contribuindo para um maior controle de preços e qualidade do ponto de vista governamental e favorecendo a população nos âmbitos econômico e da terapêutica.

Os métodos publicados para quantificação de finasterida empregaram tanto detecção U.V. quanto espectrometria de massa. Todos esses métodos requisitaram extração em fase sólida e são altamente sensíveis, porém, o tempo utilizado na etapa de extração é relativamente “longo” (CARLIN, CHRISTOFALO, VANDENHEUVEL, 1988; CONSTANZER, MATUSZEWSKI, BAYNE, 1991; CONSTANZER, CHAVEZ, MATUSZEWSKI, 1994).

Já o método proposto por MATUSZEWSKI, CONSTANZER, CHAVEZ (1998), que não utiliza extração em fase sólida, emprega extração com tampão seletivo apresentando baixa interferência da matriz biológica sobre os analitos, porém, esse método requer um maior tempo de análise (6 minutos) ao comparar-se com nosso método (4 minutos). Além disso, a extração utilizada no presente estudo foi líquido-líquido (éter dietílico/hexano).

Os resultados da validação indicaram que o método é preciso e exato para análise rotineira da finasterida em plasma humano, desta forma, possibilitando a análise de maior número de amostras em menor intervalo de tempo.

O método descrito neste estudo provou-se simples e confirmou que LC-MS/MS apresenta adequada sensibilidade e especificidade para determinação de finasterida em plasma humano (HUANG *et al.*, 1990).

Com base neste método, avaliamos a bioequivalência de duas formulações empregando a medida das concentrações plasmáticas de finasterida de acordo com as normas requeridas pelo FDA e Comunidade Européia.

Sendo assim, a conduta de um estudo de bioequivalência precisa considerar os vários fatores que interferem e contribuem para a obtenção dos resultados, como por exemplo: delineamento aberto e cruzado, dieta adotada, aspectos éticos, farmacocinética e tempo de coleta, método analítico empregado, análise estatística, variabilidade inter-individual, entre outros. (FRIEDMAN, 1996)

A análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos é realizada mediante o emprego de testes quase exclusivos para este tipo de estudo. Assim, os estudos farmacocinéticos têm demonstrado diferentes inter-individuais quanto à absorção, distribuição, metabolismo e eliminação de vários fármacos (MUNGAL, 1983). Por esse motivo, os parâmetros farmacocinéticos têm sido aplicáveis à clínica como base na escolha de doses, vias de administração, intervalos entre doses, evitando dessa forma concentrações tóxicas ou subterapêuticas, bem como, ajuste da dose em casos de distúrbios hepáticos e renais. (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

Segundo DILETTI (1991) há grande variabilidade inter-individual no “clearance”, e por essa razão, o delineamento cruzado é recomendado para estudos de bioequivalência. Assumindo que o delineamento cruzado de 2 períodos, que compare formulação teste com referência, postula-se ausência de interação entre formulação e período. Além disso, assume-se que as observações são obtidas da distribuição log-normal e que as variâncias de teste e referência são as mesmas na escala logarítmica .

Basicamente, os testes estatísticos aplicados dividem-se em dois grupos: os paramétricos, que levam em consideração uma distribuição populacional log-normal (HAUSCHKE, 1994); não-paramétricos, que independem do tipo de distribuição. Ambos os métodos estatísticos apresentam o mesmo objetivo: obtidas as razões individuais entre a formulação teste/referência para ASC, C<sub>max</sub> (ou outra variável farmacocinética diferente de T<sub>max</sub>), calcula-se um valor médio (aritmético ou geométrico) contido no intervalo de confiança de 90% e analisa-se a inclusão destas razões individuais no intervalo de confiança requerido para bioequivalência (80 – 125%).

Um dos parâmetros importantes para se avaliar a velocidade de absorção é a concentração máxima atingida ( $C_{max}$ ). De acordo com o FDA, a razão teste/referência do valor de  $C_{max}$  deve estar dentro do intervalo de 80 – 125%. Entretanto, a Comunidade Européia propôs um intervalo de 70 – 143% (diferença de 30%), em decorrência da grande variabilidade inter-individual da velocidade de absorção. Deste modo, o parâmetro  $C_{max}$  apresenta pelo menos duas possíveis razões para ser utilizado: assegura que as concentrações máximas do produto teste não são maiores (tóxicas) e nem menores (perda de eficácia) do que as concentrações do produto referência; a segunda é óbvia, as autoridades regulatórias requerem bioequivalência com relação à velocidade de absorção.

Recentemente, SCHALL *et al* (1994) postula que há uma tendência para a razão  $C_{max}/ASC$  substituir  $C_{max}$  como característica da velocidade da absorção. Trabalhos confirmaram que  $C_{max}/ASC$  é superior ao  $C_{max}$  enquanto indicativo da velocidade de absorção. Há um dilema na escolha da característica mais adequada para representar a velocidade da absorção:  $t_{max}$  é mais fácil para interpretar do que a razão  $C_{max}/ASC$ , mas,  $C_{max}/ASC$  pode ser observada com alta precisão, sendo mais simples para analisar do ponto de vista estatístico do que  $t_{max}$ . Entretanto, há uma relação próxima entre os dois parâmetros, que de maneira geral são equivalentes quanto à representatividade da velocidade da absorção.

Em estudos de bioequivalência de formas farmacêuticas e uso oral, ASC é convencionalmente empregada para caracterizar a extensão da absorção de um fármaco, ela é uma característica composta por extensão da absorção e depuração do fármaco. (SCHALL *et al*, 1994)

Quando a curva da concentração plasmática versus tempo (figura 3) foi empregada para mensurar bioequivalência, não houve diferença significativa quanto a extensão da absorção observada entre as duas formulações. As razões individuais de  $ASC_{(0-48h)}$  para ambas as formulações estão inclusas no intervalo de confiança de 90% requerido para bioequivalência (80 – 125%).

Quanto à velocidade de absorção a bioequivalência pôde ser concluída, uma vez que as razões individuais de  $C_{max}$  estão inclusas no intervalo de 80 – 125% requerido para bioequivalência.

Em relação ao  $T_{max}$ , as diferenças individuais não foram significativamente diferentes de zero.

A finasterida é extensivamente hidrolisada pelo metabolismo hepático via reação de oxidação (STEINER, 1996). Como consequência, o metabolismo hepático e a excreção biliar desempenham importante papel na distribuição da droga. O que pode explicar a variabilidade inter-individual que acarreta a não inclusão das razões de  $t_{1/2}$  e  $K_e$  no IC 90% (80 - 125%), vide tabela 5.

Os valores de  $t_{1/2}$  (4.4 h para Flaxin ® e 3.8 h para Proscar®) e  $t_{max}$  (2.5 h para Flaxin ® e 2.0 h para Proscar®) estão de acordo com estudos realizados em diferentes faixas etárias (PETER & SORKIN, 1993). Nesse estudo a média de idade dos voluntários foi de  $24 \pm 3.39$  anos, o que explica um  $C_{min}$  (1.2 ng/mL para Flaxin ® e 1.0 ng/mL para Proscar®) mais baixo do que o obtido em grupos de idosos, uma vez que o  $t_{1/2}$  apresenta valores menores em indivíduos jovens. Conforme demonstrado por PETER & SORKIN (1993), o  $C_{min}$  obtido para a faixa etária de 45 a 60 anos foi de 3 ng/mL, após a administração via oral de 5 mg, enquanto que indivíduos acima de 70 anos apresentaram um  $C_{min}$  de 4 ng/mL.

Concluindo, a tabela 4 demonstra que os valores de  $ASC_{(0-48h)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}/ASC_{(0-48h)}$  e  $C_{max}$ , incluem-se no intervalo de confiança de 80 - 125%. Sendo assim, as formulações podem ser consideradas bioequivalentes quanto à velocidade e extensão de absorção segundo norma preconizada pelo FDA (1985, 1993).

2020年12月

2020年12月

2020年12月

2020年12月

2020年12月

2020年12月

## 6.SUMMARY

Two different finasteride tablet formulations were evaluated for their relative bioavailability (Flaxin<sup>®</sup> tablets 5 mg, Merck S.A. Indústrias Químicas - Brazil as the test formulation vs Proscar<sup>®</sup> tablets 5 mg, Merck Sharp & Dhöme, as the reference formulation) in 23 healthy male volunteers who received a single 5 mg oral dose of each preparation. The study was open, randomized with two-period crossover design and a 7-day washout period. Plasma samples were obtained over a 48-hour interval. The finasteride concentrations were determined by HPLC coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). The analytical method developed has a Limit of Quantitation (LOQ) of 0.50 ng/ml in plasma. The mean  $\pm$  SD measured concentration was  $2.05 \pm 0.14$  ng/ml ( $n=30$ ) for the Quality Control of 2.00 ng/mL (QCA), with precision of 6.9% and accuracy of 2.55%, while Quality Control of 20.00 ng/mL, (QCC) the mean  $\pm$  S.D. measured concentration was  $20 \pm 0.80$  ng/mL ( $n=30$ ) with precision of 3.81% and accuracy of 0.09%. From the plasma finasteride concentration vs time curves the following pharmacokinetics parameters were obtained:  $AUC_{(0-48)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max} / AUC_{(0-48)}$ ,  $k_e$ , elimination half-life and  $t_{max}$ . Geometric mean Flaxin<sup>®</sup>/Proscar<sup>®</sup> individual percent ratio was 95.71 for  $AUC_{(0-48h)}$  and 88.70% for  $C_{max}$ . The 90% confidence interval for the geometric mean of the individual ratio test formulation/reference formulation was 95.70 - 120.20% for  $AUC_{(0-48h)}$ , 94.60 - 121.30 for  $AUC_{(0-\infty)}$  and 88.70 - 108 % for  $C_{max}$ . Since, for both  $C_{max}$  or AUC the 90% CI are within the interval proposed by the Food and Drug Administration test formulation is bioequivalent to reference formulation for both, the rate and extent of absorption after single dose administration.

**Key words:** finasteride - pharmacokinetics - bioequivalence- mass spectrometry

## ***7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- BRAGA, C.A.P. - Guidance from Economic Theory. In: SIEBECK, W., ed. - **Strengthening Protection of Intellectual Property in Developing Countries.** Washington, World Bank Discussion Papers, 1990, p.17-32, n. 112.
- BRAGGIO, S.; BARNABY, R.J.; GOSSI, P.; CUGOLA, M. - A strategy for validation of bioanalytical methods. **J Pharma and Biomed Anal**, **14**: 375-388, 1996.
- BRASIL - Lei 9.787, 10 fev. 1999. Altera a Lei 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências, regulamentada pela Resolução 391, 9 ag. 1999. Diário Oficial, Brasília, n. 152, 10 ag., 1999.
- BUDAVARI, S.; J.O'NEIL, M.; SMITH, A.; HECKELMAN, P.E.; KINNEARY, J. F. - **THE MERCK INDEX, An Encyclopedia of chemical, drugs and biologicals.** New Jersey, Published by Merck Research Laboratories, Division of Merck & CO., 1996, p.4125, 12 ed.,.
- BULL, J.P. - The historical development of clinical therapeutic trials. **J Chronic Dis**, **10**: 218, 1959.
- CARLIN, J.R.; CHRISTOFALO, P.; VANDENHEUVEL, W.J. - High performance liquid chromatography determination of N-(2-methyl-2-propyl)-3-oxo-4-aza-5-alpha-androst-1-ene-17-beta-carboxamide, a 4-azasteroid, in human plasma from a Phase I study. **J Chromatogr** **427**: 79-91, 1988.
- CARLIN, J.R.; HÖGLUND, P.; ERICKSSON, L.O.; CHRISTOFALO, P.; GREGOIRE, S.L.; TAYLOR, A.M.; ANDERSSON, K.E.. - Disposition and pharmacokinetics of [<sup>14</sup>C] finasteride after oral administration in humans. **Drug Metab Dispos**, **20**: 148-155, 1992.
- COHEN, C. & SEGRE, M. - **Bioética.** 2ª ed. São Paulo, Edusp, 1999, p 127-143.
- CONSTANZER, M.L.; CHAVEZ, C.M.; MATUSZEWSKI, B.K. - Picogram determination of finasteride in human plasma and semen by high-performance liquid chromatography with atmospheric-pressure chemical-ionization tandem mass spectrometry. **J Chromatogr B Biom Appl**, **658(2)**: 281-287, 1994.

- CONSTANZER, M.L.; MATUSZEWSKI, B.K.; BAYNE, W.F. - High-performance liquid-chromatographic method for the determination of finasteride [N-t-butyl-3-oxo-4-aza-5-alpha-androst-1-ene-17-beta-carboxamide] in human plasma at therapeutic doses. **J Chromatogr B Biom Appl**, 104(1): 127-134, 1991.
- DILETTI, E., HAUSCHKE, D., STEINIJANS, V.W. - Sample size determination for bioequivalence assessment by means of confidence intervals. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol**, 29 (1): 1-8, 1991.
- DOLLERY, C.S. - **Therapeutic Drugs**. Madrid, Churchill Livingstone, 1991, v. 1, p. 14335-7.
- DOSI G., Technology and Conditions of Macroeconomic Development. In: FREEMAN, C. ed. - **Design, Innovation and Long Cycles in Economic Development**. NY, St. Martin's Press, 1984, p. 60-78.
- FALLER, B.; FARLEY, D.; NICK, H. - Finasteride: a slow-binding 5 $\alpha$ -reductase inhibitor. **Biochemistry**, 32: 5705-10, 1993.
- FRIEDMAN, L. M., FURBERG, C.D., DEMETS, D.L. - **Fundamentals of clinical trials**. 3 ed., St. Louis, Ed. Mosby, 1996, p. 361.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Federal Register part 320: **Bioavailability and Bioequivalence Requirements**, 1985, pp 154-173.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - **In vivo bioequivalence guidances**. **Pharmacopeial Forum**, 19: 6501-6508, 1993.
- FUCHS D.F. & WANNMACHER L. - **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. 2ª edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A. . 1998, p 29-42.
- GIBALDI, M & LEVY, G. - Pharmacokinetics in clinical practice. **JAMA**, 235 (17): 1864-67, 1976.

- GLEENBLATT, D.J. & KOCH-WESER - Clinical Pharmacokinetics. **N Engl J Med**, **293** (19): 964-70, 1975.
- GORMLEY G.J. - Chemoprevention strategies for prostate cancer: the role of 5 $\alpha$ -reductase inhibitors. **J Cell Biochem Suppl**, **16H**: 113-117, 1992.
- GORMLEY G.J. - Finasteride: a clinical review. **Biomed Pharmacother**, **49**(7-8): 319-24, 1995.
- GOOD, C.S. & CLARK, C. - **The Principles and Practice of Clinical Trials**. Edimburgh, Churchill Livingstone, 1976, p 1-50.
- GUARNA, A.; OCCHIATO, E.G.; DANZA, G.; CONTI, A.; SERIO M. - 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, chemical and clinical models. **Steroids**, **63**: 355-361, 1998.
- HAUSCHKE, D.; STEINIJANS, 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.
- HILL, A. B. - The clinical trial. **Br Med Bull**, **7**: 278, 1951.
- HILL, A. B. - The clinical trial. **N Engl J Med**, **247**: 113, 1952.
- HIRAYAMA Y. - The Regulatory Perspective on Generic Drugs in Japan. In: MIDHA, K. K. & NAGAI, T., ed. - **Bio International: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies**, Tóquio, Japão, Business Center for Academic Societies Japan, 1996. p. 15-22.[International Conference of International Pharmaceutical Federation, "Bio-International 96", abril 22-24, Tóquio/Japão, 1996]
- HUANG, E.C.; WACHS, T.; CONBOY, J.J.; HENION, J.D. - The quantification of drugs in biological matrices by LC/MS/MS is becoming more usual, improving sensitivity and selectivity of methods. **Anal Chem**, **62**(13): 713, 1990.

- JACKSON, A. J. ed. - **Generics and Bioequivalence**. Office of Generic Drugs, Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, CRC Press, 1994, p 1-33.
- JENSEN, E. - Research Expenditure and the Discovery of New Drugs. **The Journal of Industrial Economics**, **36 (1)**: 83-95, 1987.
- KARNES, H.T.; SHIU, G.; SHAH, V.P. - Review: Validation of Bioanalytical Methods. **Pharmaceutical Research**, **8(4)**: 421-26, 1991.
- KELLOFF, G.J.; CROWELL, J.A.; BOONE, C.W.; STEELE, V.E.; LUBET, R.A.; GREENWALD, P.; ALBERTS, D.S.; COVEY, I.M.; DOODY, L.A.; KNAPP, G.G., Clinical Development Plan: Proscar. **J Cell Biochem Suppl**, **20**: 231-39, 1994.
- KIRIM, A.S. - Reconsidering Patents and Economic Development: A Case Study of the Turkish Pharmaceutical Industry", **World Development**, **13(2)**: 219-236, 1985.
- MAGOHA, G.A.O. - Medical Management of benign prostatic hyperplasia: a review. **East Afr Med J Jul, March** **51(2)**: 453-6, 1996.
- MATUSZEWISKI, B.K.; CONSTANZER, M.L.; CHAVEZ, C.M. - Matriz effect in quantitative LC-MS-MS analyses of biological fluids: a method for determination of finasteride in human plasma at picogram per millilitre concentrations. **Anal Chem**, **70(5)**: 882-889, 1998.
- MCCONNELL, J.D.; BRUSKEWITZ, R.; WALSH, P.; ANDRIOLE, G.; LIEBER, M.; HOLTGREWE, H. L.; ALBERTSEN, P.; ROEHRBORN, C. G.; NICKEL, J. C.; WANG, D. Z.; TAYLOR, A. M.; WALDSTREICHER, J. - The effect of finasteride on the risk of acute urinary retention and the need for surgical treatment among men with benign prostatic hyperplasia. **The New Eng J Med**, **26, 338(9)**: 557-563, 1998.
- MCDERMOTT T. - Optimising the Medical management of benign prostatic hyperplasia. **BJCP**, **51(2)**: 116-18, 1997.

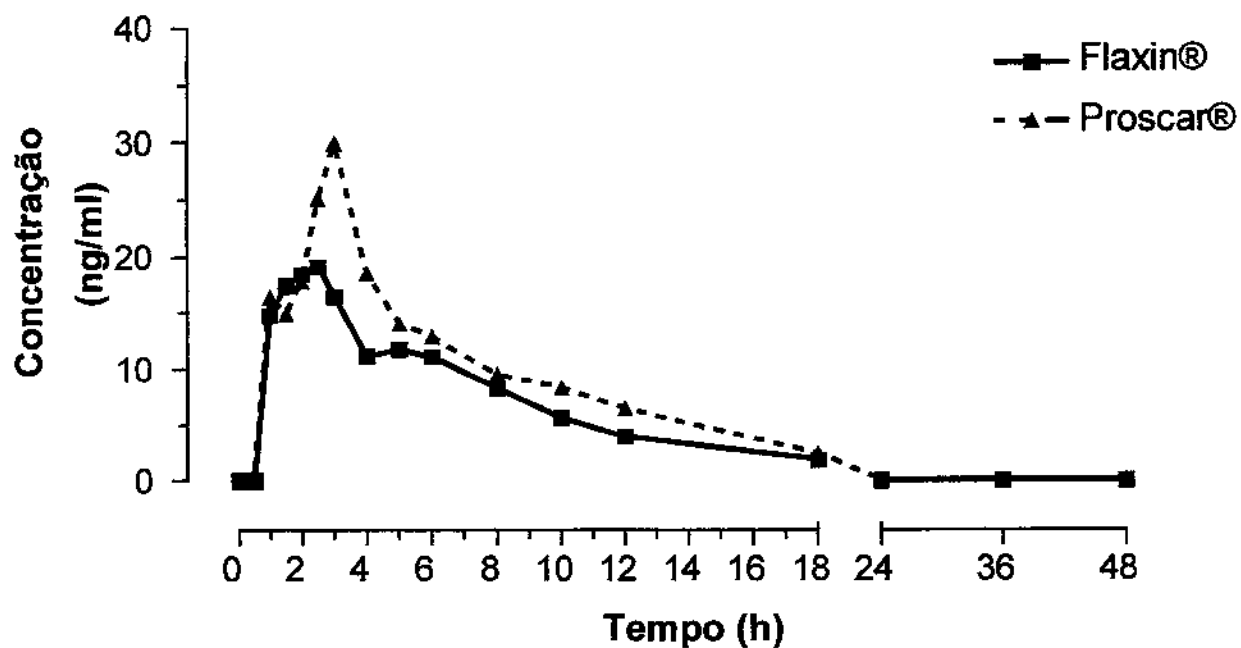
- MUNGALL, D. R. - **Applied Clinical Pharmacokinetics**. NY, Raven Press, 1983, p 10-46.
- PARKER, J.E.S. - **The Economics of Innovation**. 2 ed., New York, Longman, 1978, p 15-39.
- PETERS D.H. & SORKIN E.M. - Finasteride. A review of its potential in the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Drugs**, **46(1)**: 177-208, 1993.
- RITTMASER R.S. - Finasteride. **N Engl J Med**, **330**: 120-5, 1994.
- RITTMASER R.S. - 5 $\alpha$ -reductase Inhibitors. **Journal of Andrology**, **18(6)**: 582-7, 1997.
- ROWLAND M. & TOZER T.N. - **Clinical Pharmacokinetics – Concepts and Applications** 3 ed. , Baltimore, USA, Williams & Wilkins, 1995.
- SALMONSON, T. - Current Practice of Bioavailability/Bioequivalence Requirements for Immediate Release Products in European Union. In: MIDHA, K. K. & NAGAI, T., ed. - **Bio International: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies**, Tóquio, Japão, Business Center for Academic Societies Japan, 1996. p. 51-55.[International Conference of International Pharmaceutical Federation, “Bio-International 96”, abril 22-24, Tóquio/Japão, 1996]
- SAPIENZA, A.M. - **R&D collaboration as a global competitive tactic - Biotechnology and the ethical pharmaceutical industry**, NY, R&D Management, 1989, p 35-50.
- SCHALL, R., LUUS, H.G., STEINJANS, V.W., HAUSCHKE, D. - Choice of characteristics and their bioequivalence ranges for the comparison of absorption rates of immediate-release drug formulations. **Int J Clin Pharmacol Ther**, **32 (7)**: 323-328, 1994.
- SCHENEE, J.E. - R & D Strategy in the US Pharmaceutical Industry. **Research Policy**, **8**: 364-382, 1989.

- SCHWARTZ, J.I.; VAN HECKEN, A.; DE SCHEPPER, P.J.; DE LEPELEIRE, I.; LASSETER, K.C.; SHAMBLIN, E.C.; WINCHELL, G.A.; CONSTANZER, M.L.; CHAVEZ, C.M.; WANG, D.Z.; EBEL, D.L.; JUSTICE, S.J.; GERTZ, B.J.- Effect of MK-386, a novel inhibitor of type 1 5 $\alpha$ -reductase, alone and in combination with finasteride, on serum dihydrotestosterone concentrations in men. **J Clin Endocrinol Metab**, **81(8)**: 2942-7, 1996.
- STEINER, J.F. - Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of finasteride. **Clin Pharmacokinet**, **30(1)**:16-27, 1996.
- STOPFORD, J. - Offensive and Defensive Responses by European Multinationals to a World of Blocks. **O.E.C.D. Technical Papers**, n. 64, 1992.
- TELLING-SMITH, G. - **The future for Pharmaceuticals** , Londres, OHE, 1983, p 4-16.
- TEMIN, P. - Realized Benefits from Switching Drugs. **Journal of Law and Economics**, **35(2)**: 351-369, 1992.
- TUCKER, D. - **The World Health Market - The Future of the Pharmaceutical Industry**, Londres, Euromonitor, 1984, p 25-47.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION TECHNICAL REPORT - **Principles for the Clinical Evaluation of Drugs**, n. 493 ,Genève, 1968.
- WILLIAMS, R.L. - The Regulatory Perspective in USA. In: MIDHA, K. K. & NAGAI, T., ed. - **Bio International: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies**, Tóquio, Japão, Business Center for Academic Societies Japan, 1996. p. 23-27.[International Conference of International Pharmaceutical Federation, "Bio-International 96", abril 22-24, Tóquio/Japão, 1996]
- WILTON, L.; PEARCE, G.; EDET, E.; FREEMANTLE, S.; STEPHENS, M.D.B.; MANN, R.D. - The safety of finasteride used in benign prostatic hypertrophy: a non-interventional observational cohort study in 14772 patients. **Brit J Urol**, **78**: 379-384, 1996.

## **8. *ANEXOS***

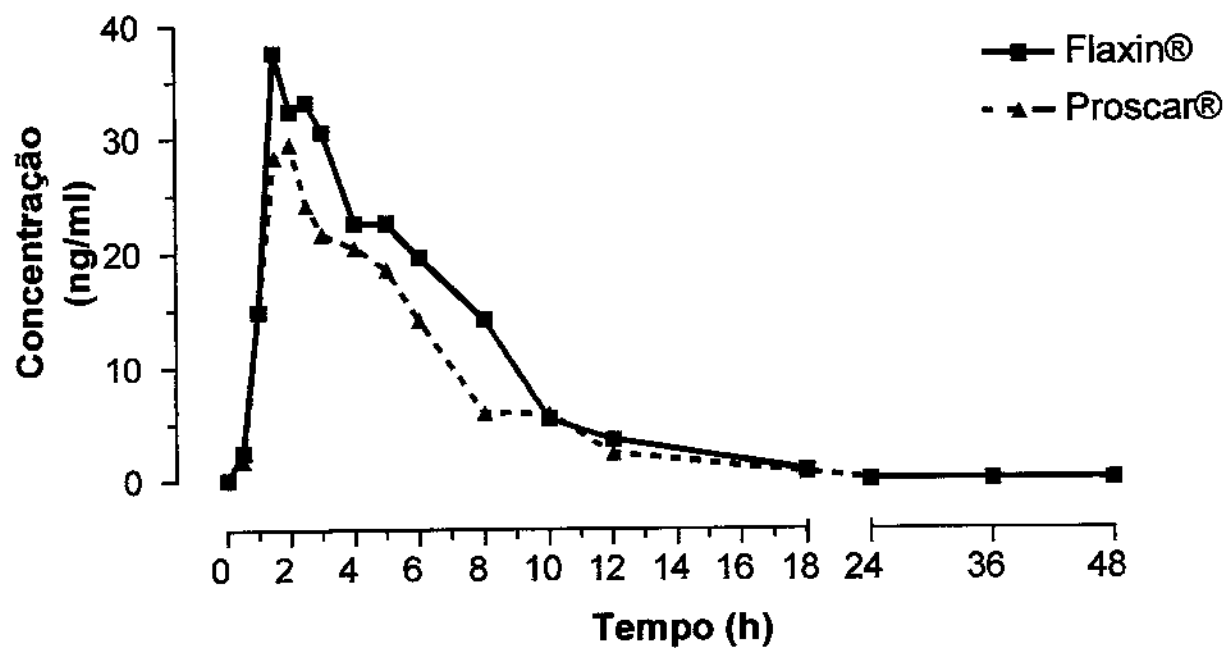
**Concentrações Individuais vs. Tempo (Figuras) e Parâmetros Farmacocinéticos  
(Tabelas)**

## Vol. I - LAT



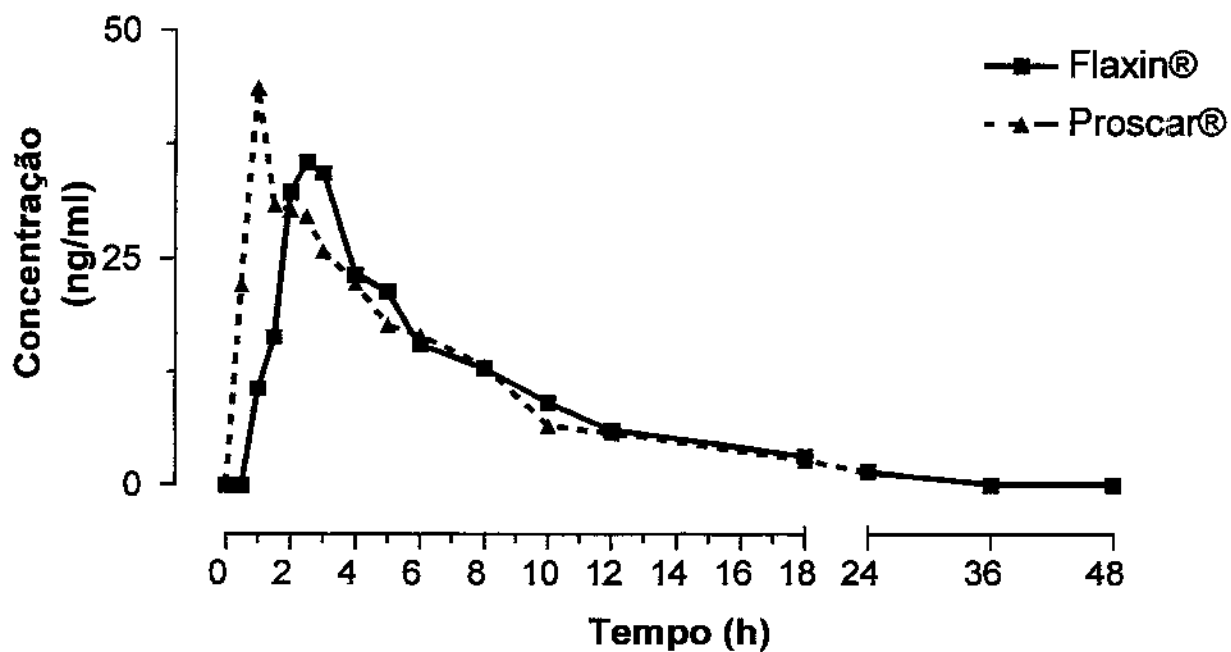
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 141     | 188      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 148     | 196      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 95.4    | 95.8     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 19.2    | 29.9     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 4.7     | 4.4      |

## Vol. II - SFA



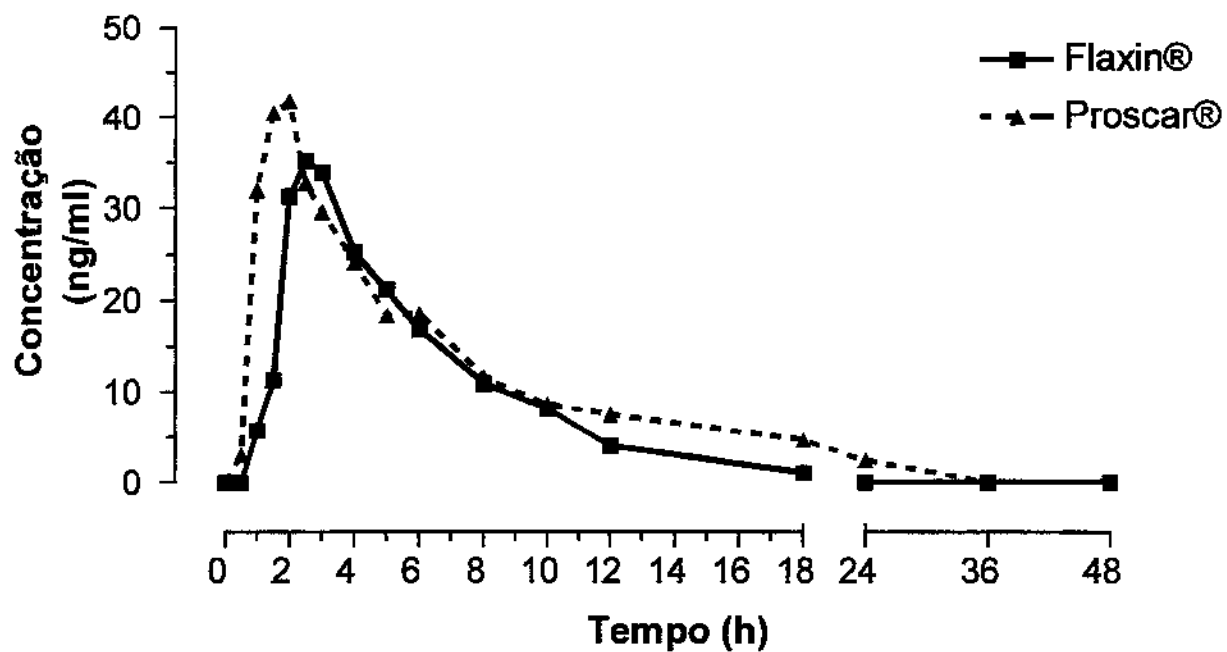
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 216     | 161      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 216     | 162      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 100.0   | 99.6     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 37.6    | 29.4     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.5     | 2.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 2.9     | 2.8      |

### Vol. III - CEAU



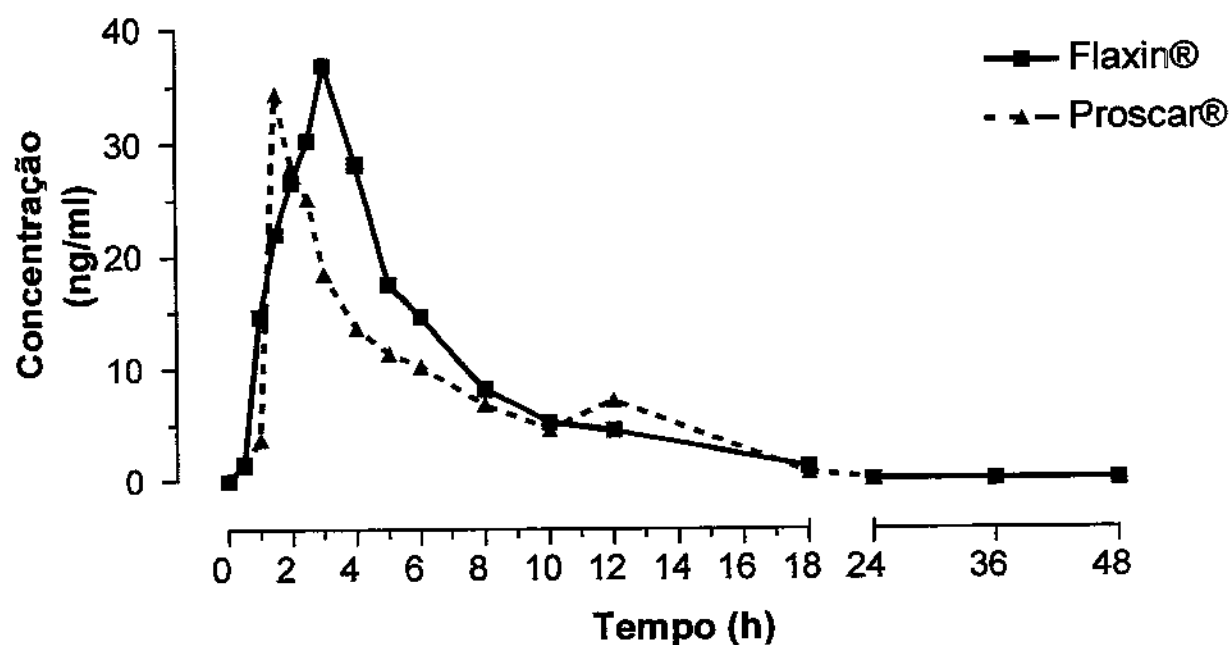
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 242     | 253      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 245     | 256      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.7    | 98.9     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 35.5    | 43.7     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 1.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 5.7     | 5.6      |

## Vol. IV - PSS



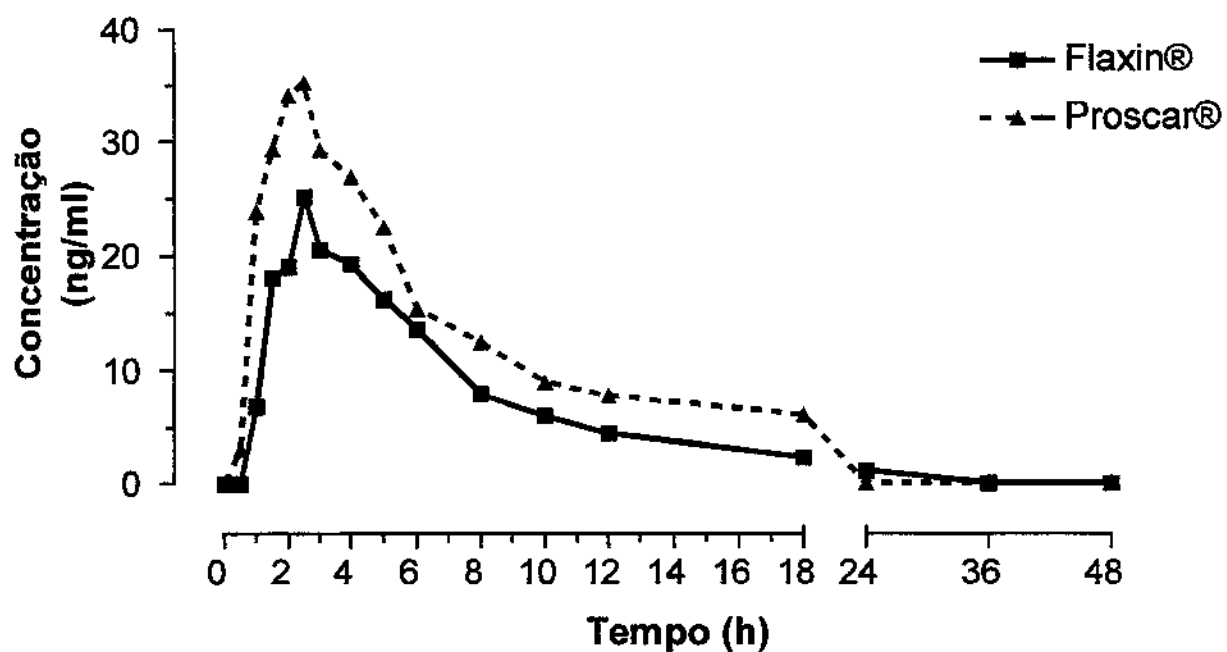
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 199     | 286      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 200     | 298      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 99.3    | 96.2     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 35.1    | 41.7     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 2.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.1     | 7.4      |

## Vol. V - JDMN



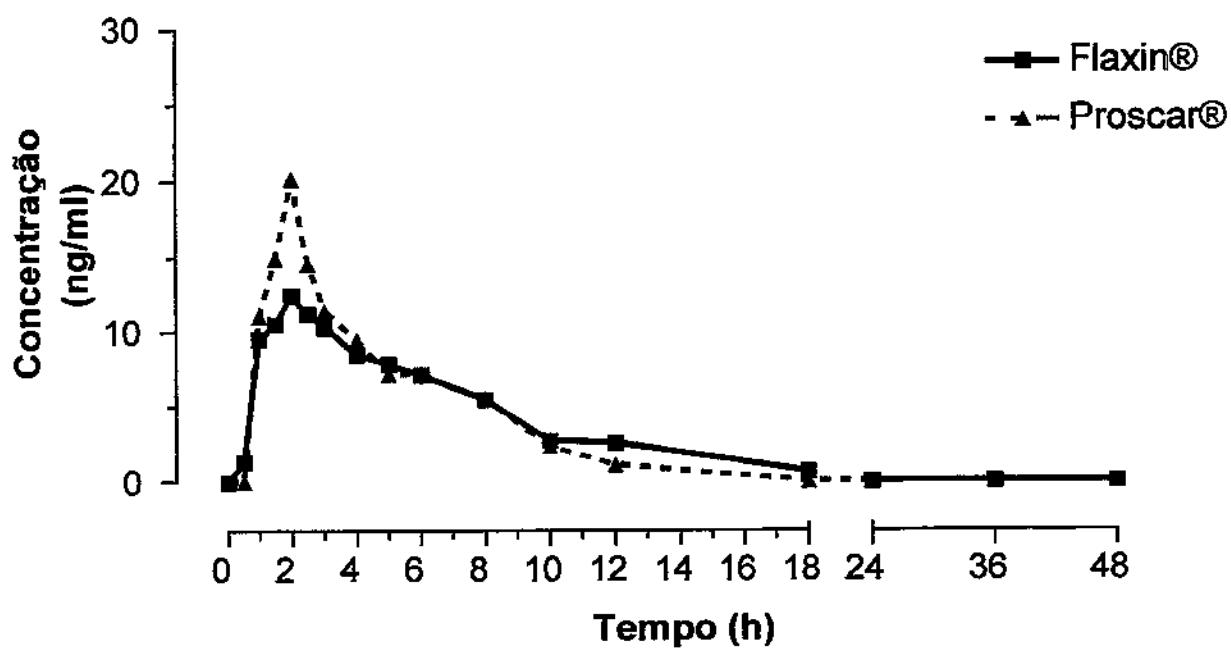
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 194     | 155      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 196     | 156      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 99.0    | 99.3     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 36.9    | 34.3     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 3.0     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.3     | 3.3      |

## Vol. VI - LQJ



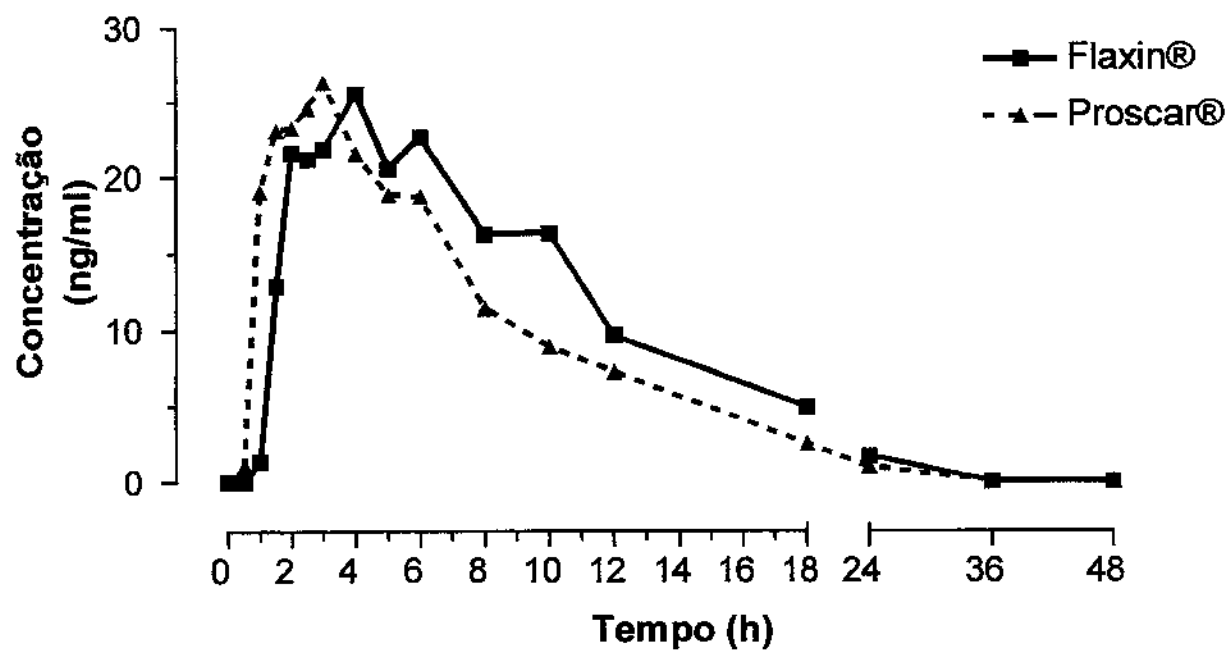
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 175     | 267      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 177     | 374      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.6    | 71.2     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 25.1    | 35.2     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 2.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 5.8     | 14.5     |

## Vol. VII - MQA



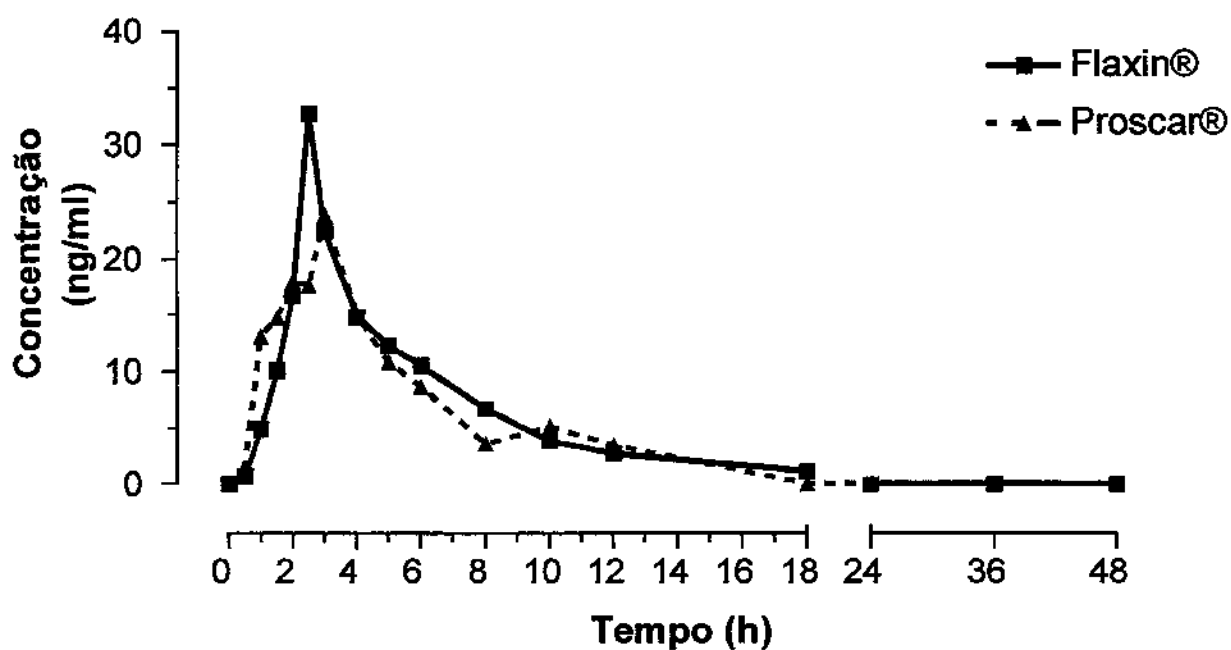
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 88      | 86       |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 90      | 86       |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.1    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 12.4    | 20.2     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.0     | 2.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.9     | 1.7      |

## Vol. VIII - CEAM



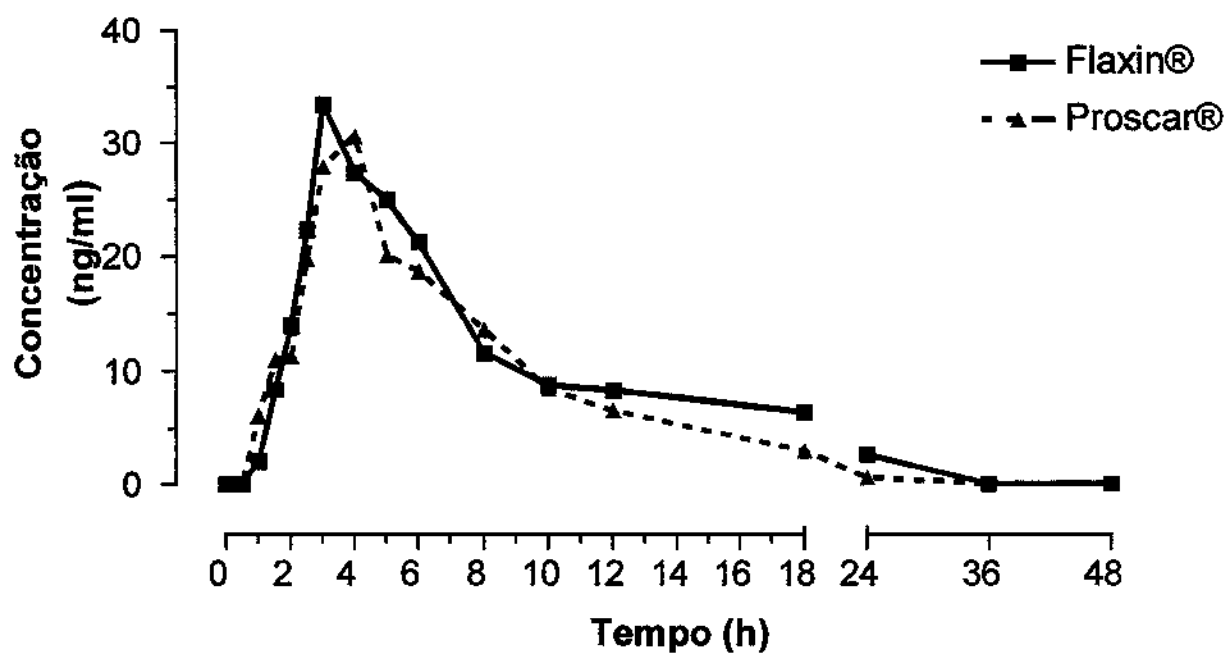
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 273     | 226      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 275     | 226      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 99.4    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 25.5    | 26.3     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 4.0     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 4.9     | 4.1      |

## Vol. IX - RERF



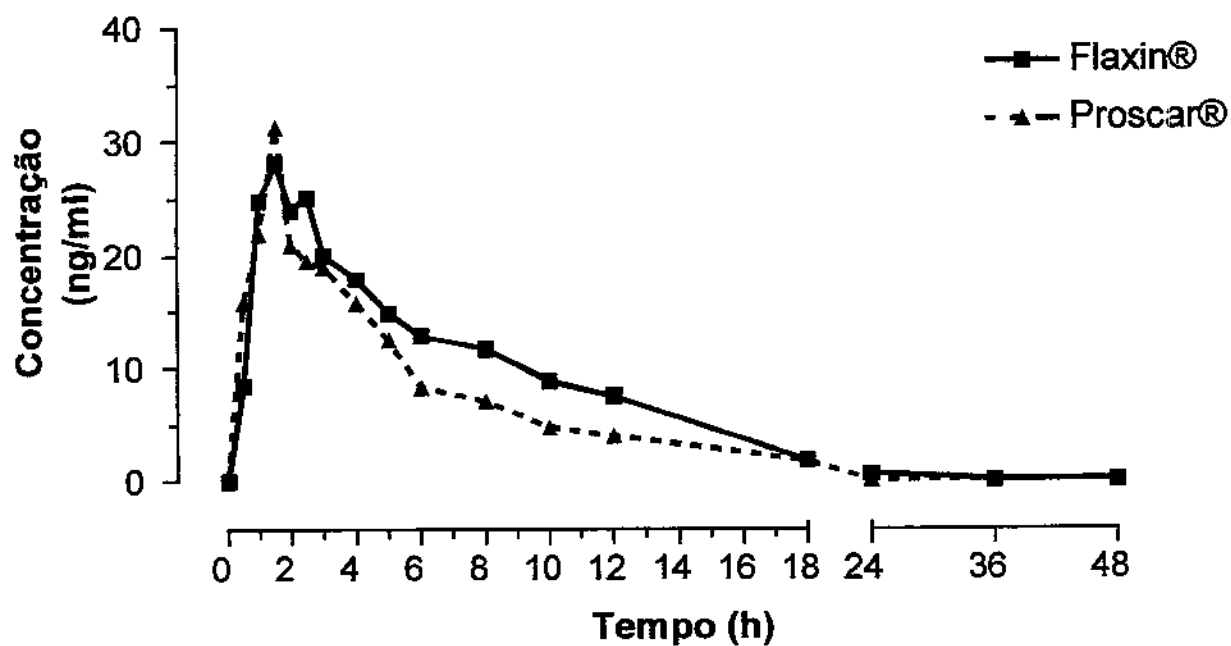
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 131     | 120      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 135     | 128      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 97.0    | 94.1     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 32.8    | 23.9     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 4.6     | 3.6      |

## Vol. X - VLPS



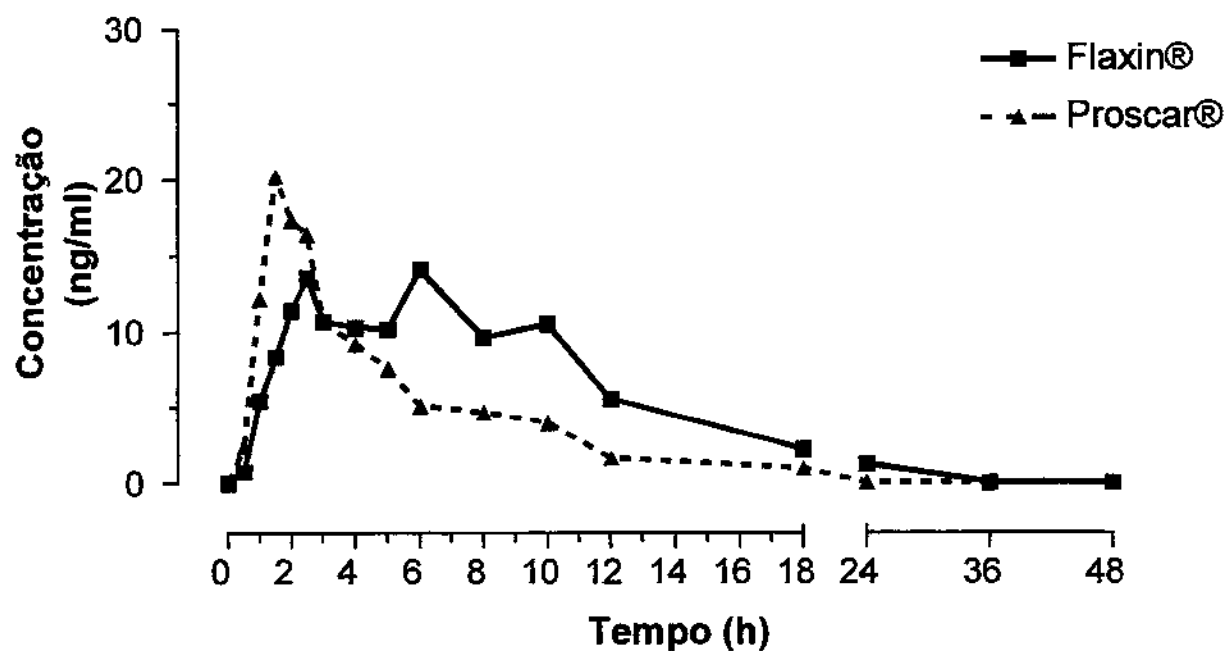
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 267     | 215      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 274     | 215      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 97.4    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 33.4    | 30.5     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 3.0     | 4.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 6.0     | 3.8      |

## Vol. XI - HOP



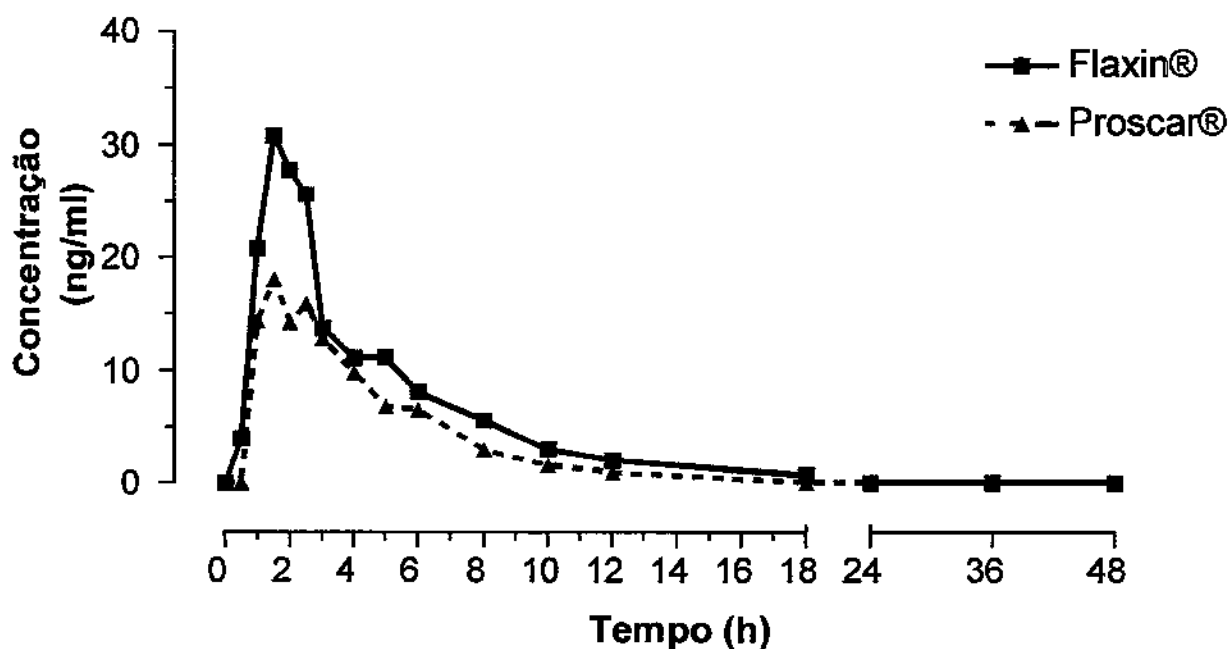
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 209     | 159      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 209     | 166      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 100.0   | 95.6     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 28.2    | 31.2     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.5     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.2     | 5.1      |

## Vol. XII - JNBF



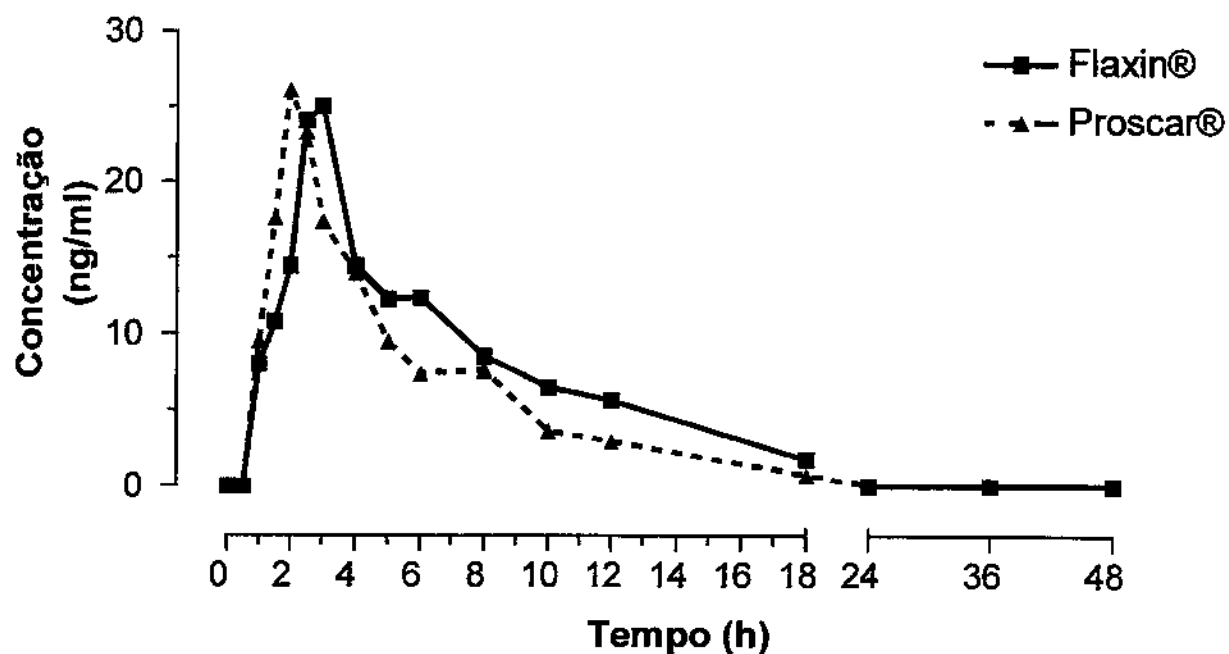
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 157     | 96       |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 159     | 99       |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.5    | 97.2     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 14.1    | 20.2     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 6.0     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 5.5     | 4.1      |

# Vol. XIII - ALMP



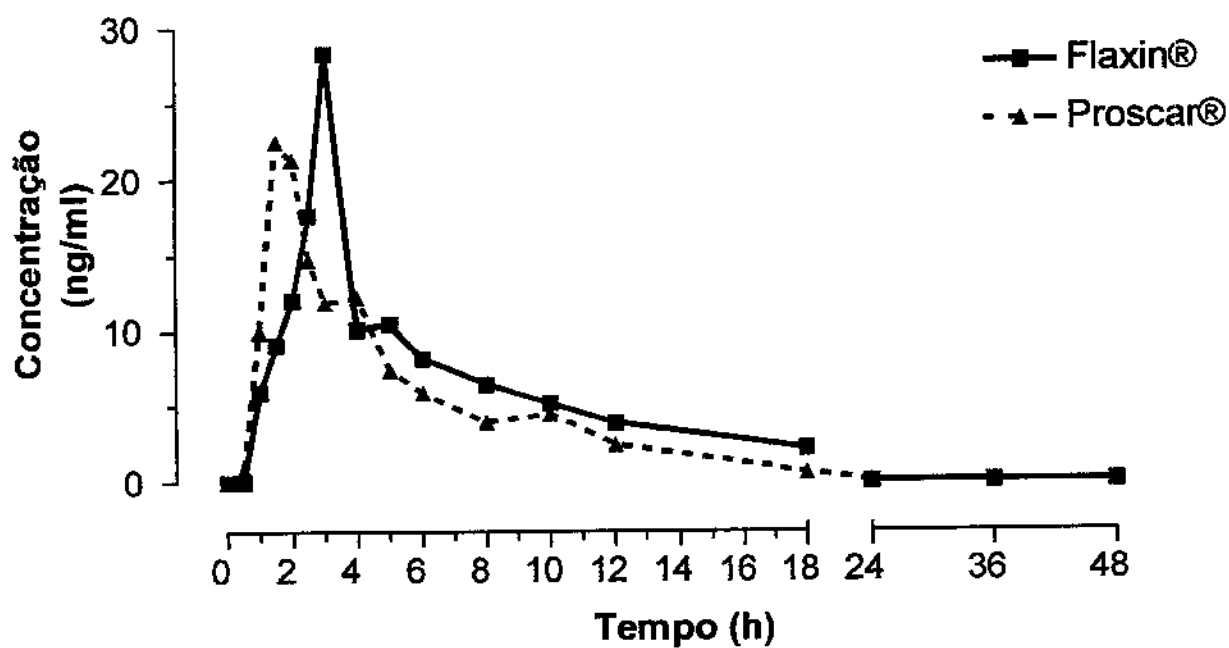
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 129     | 80       |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 130     | 80       |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.7    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 30.8    | 18.0     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.5     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.8     | 2.3      |

# Vol. XIV - JCM



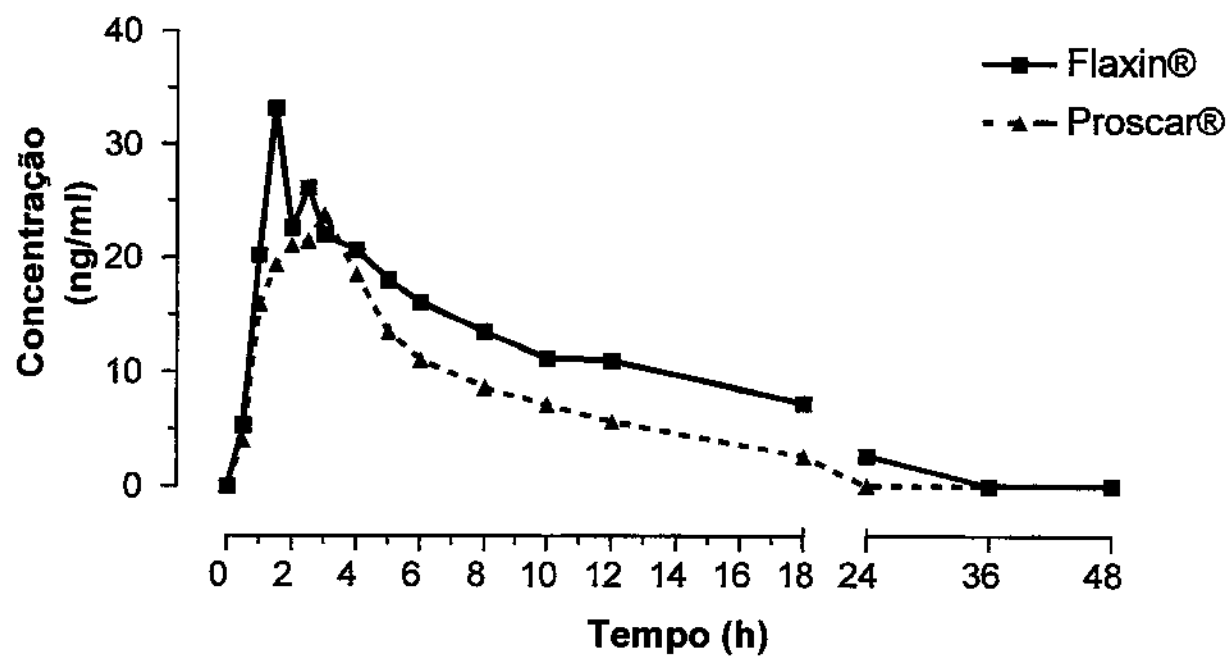
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 156     | 124      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 162     | 125      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 96.2    | 99.0     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 25.0    | 26.1     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 3.0     | 2.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 4.4     | 3.2      |

## Vol. XV - ABLJ



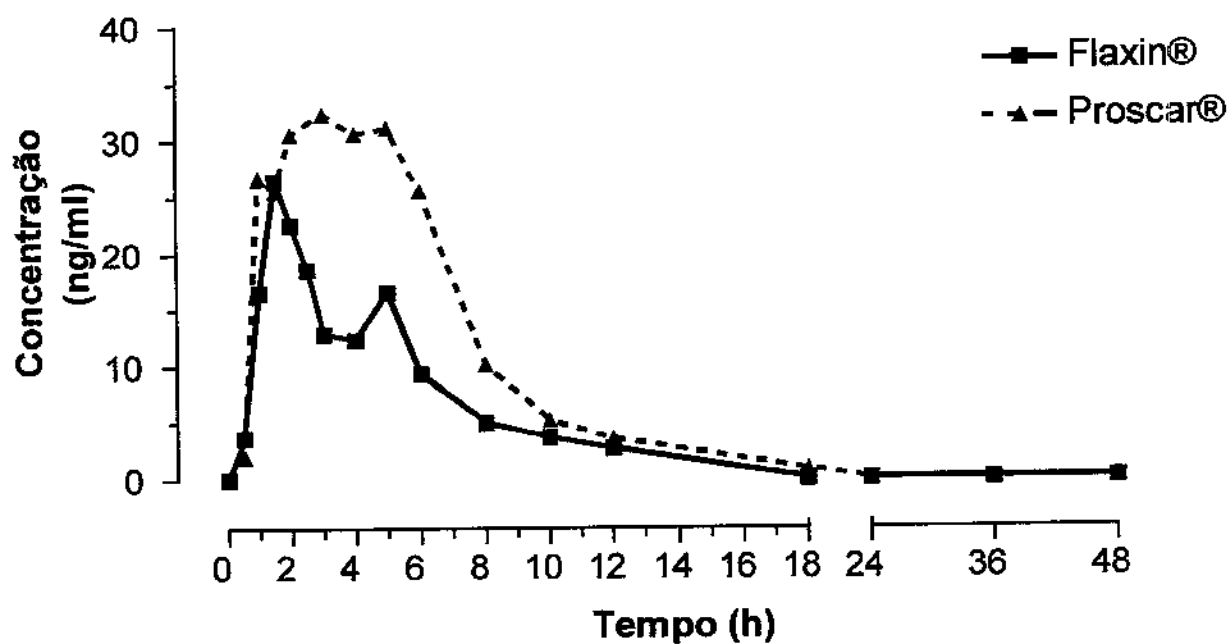
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 129     | 102      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 142     | 102      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 90.7    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 28.4    | 22.5     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 3.0     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 6.3     | 2.6      |

## Vol. XVI - FWF



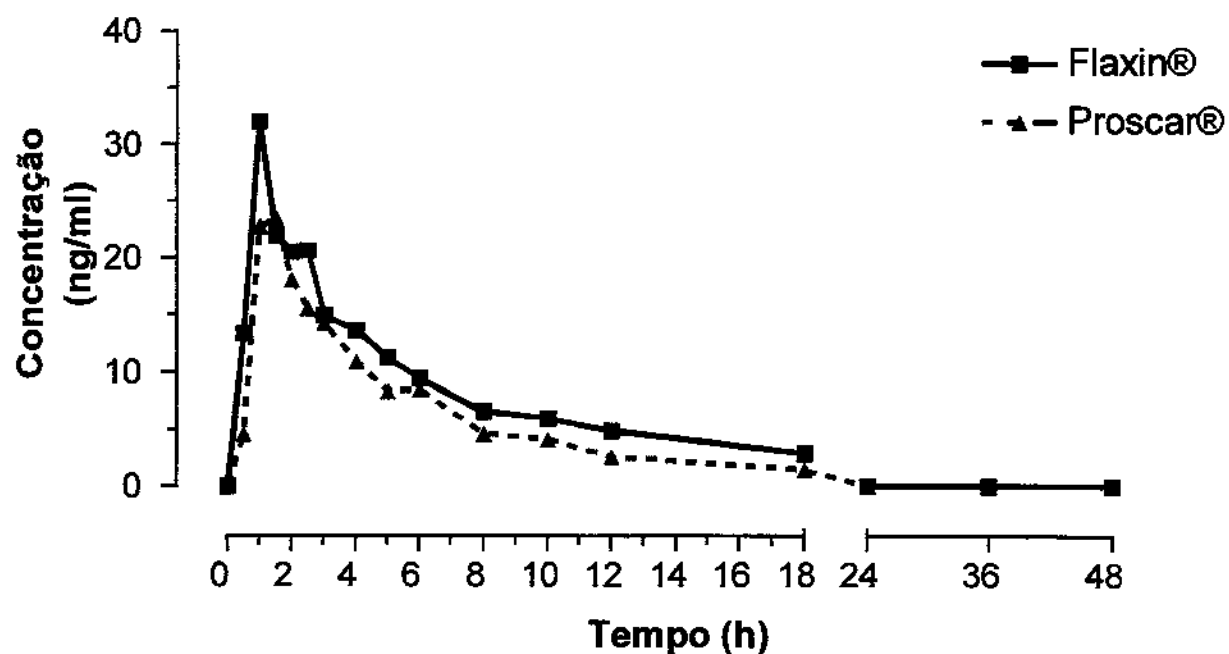
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 293     | 176      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 306     | 189      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 95.8    | 93.2     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 33.2    | 23.7     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.5     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 7.5     | 5.5      |

## Vol. XVII - RDOA



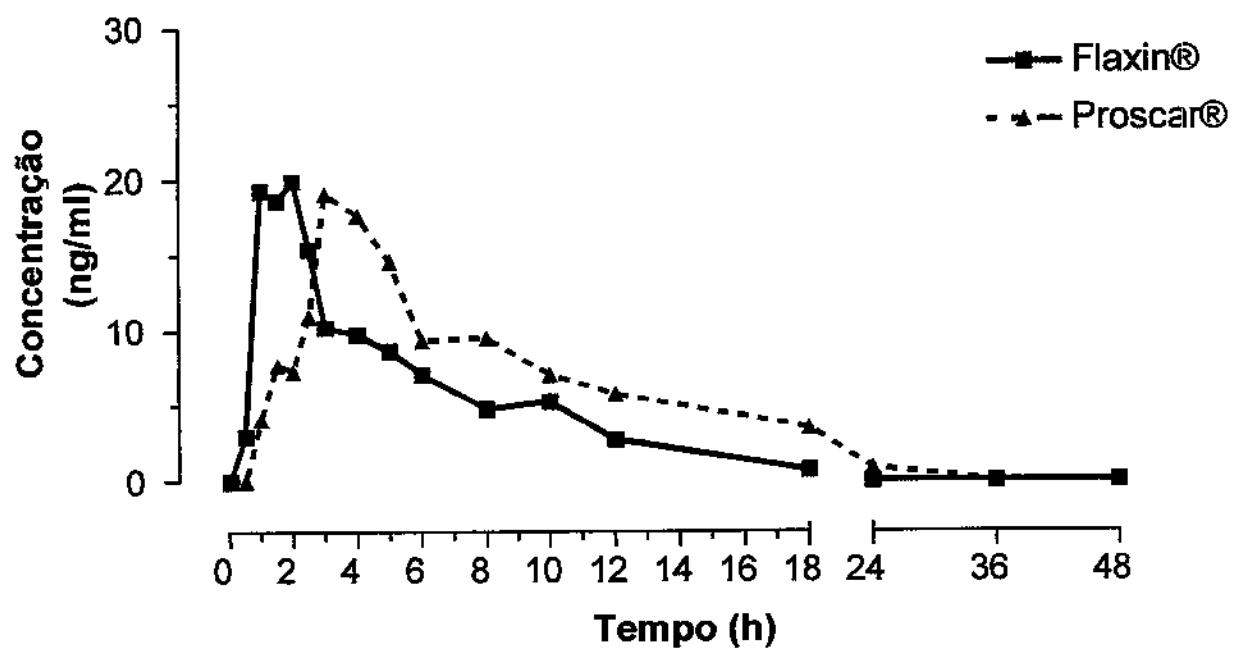
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 125     | 232      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 134     | 233      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 92.8    | 99.5     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 26.5    | 32.3     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.5     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 4.5     | 3.0      |

# Vol. XVIII - JMSM



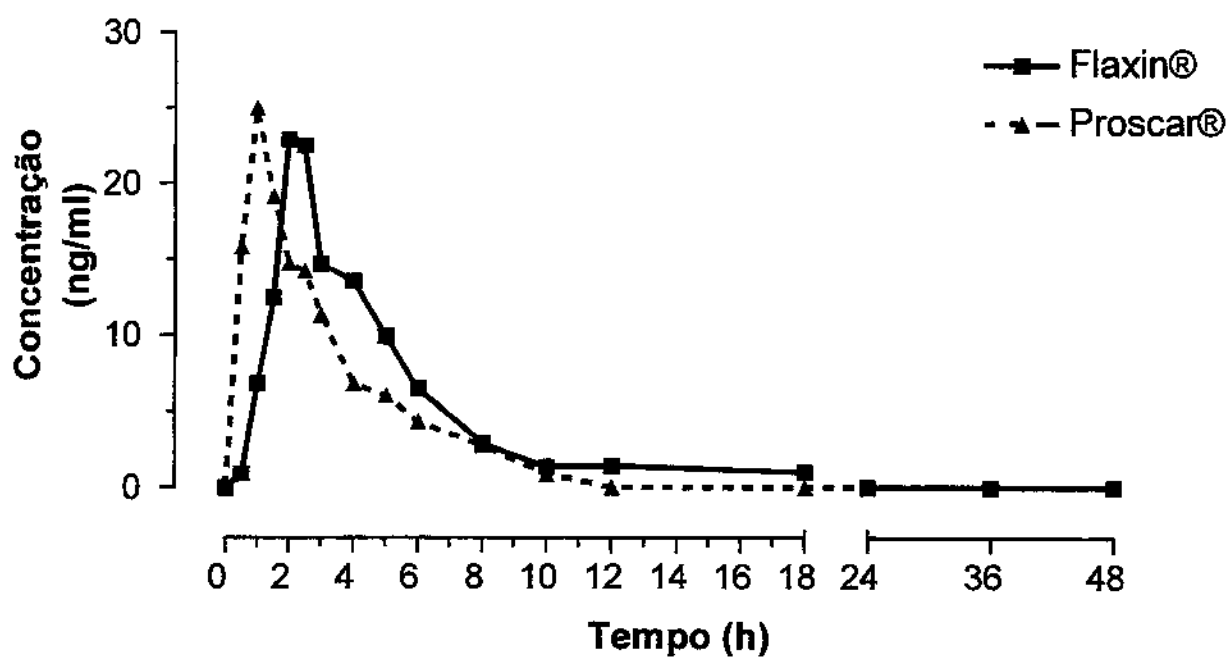
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 166     | 120      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 189     | 125      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 87.7    | 96.5     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 32.0    | 23.4     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 1.0     | 1.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 7.7     | 4.3      |

# Vol. XIX - FJCC



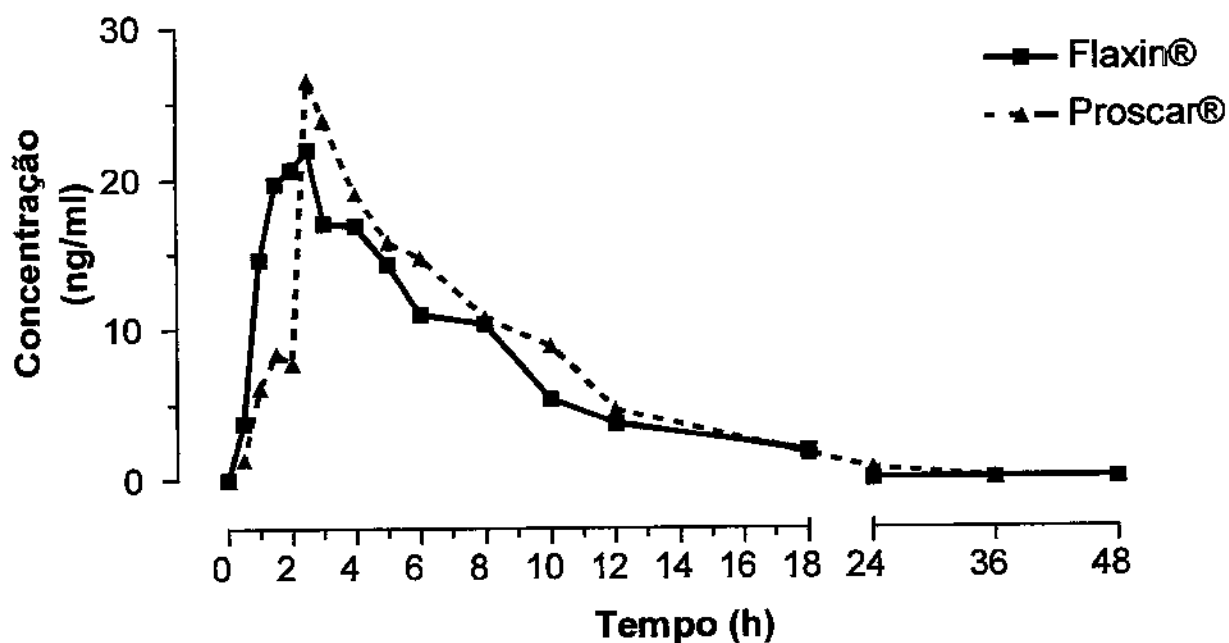
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 110     | 161      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 111     | 162      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 99.3    | 99.3     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 20.0    | 19.1     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.0     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 2.8     | 5.1      |

## Vol. XX - JGTB



| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 97      | 79       |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 99      | 81       |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 98.5    | 98.0     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 22.9    | 25.0     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.0     | 1.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.1     | 2.0      |

# Vol. XXI - FEFF

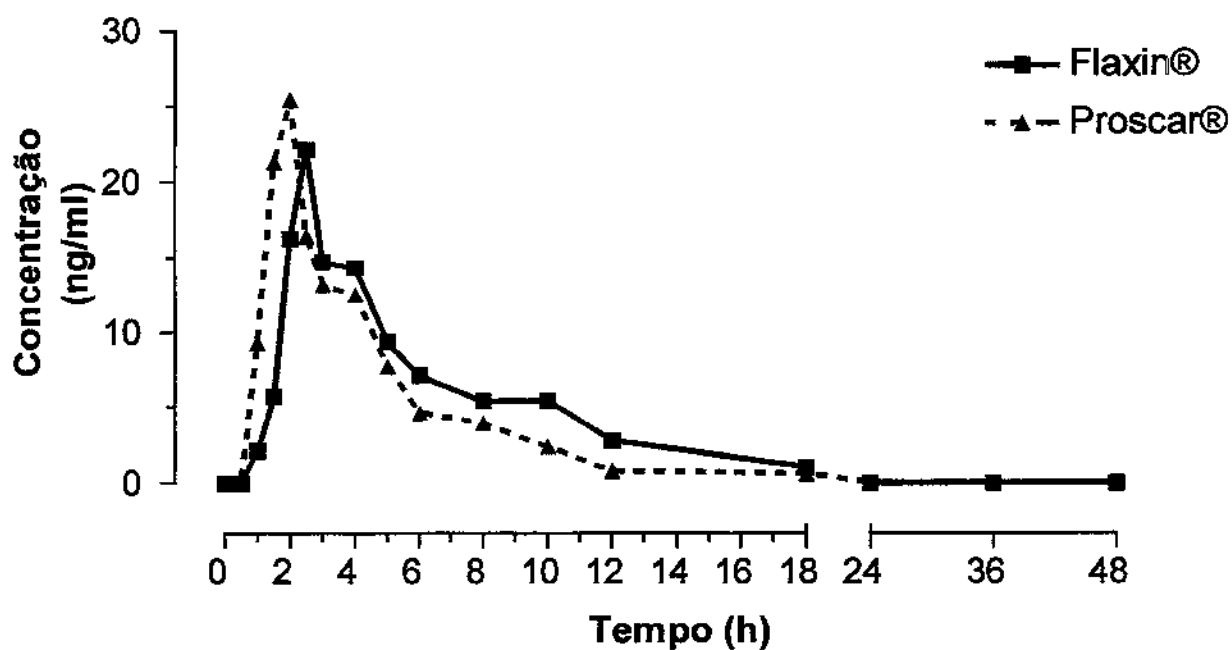


| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 158     | 173      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 166     | 173      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 95.0    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 22.0    | 26.5     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 2.5      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 5.2     | 4.2      |



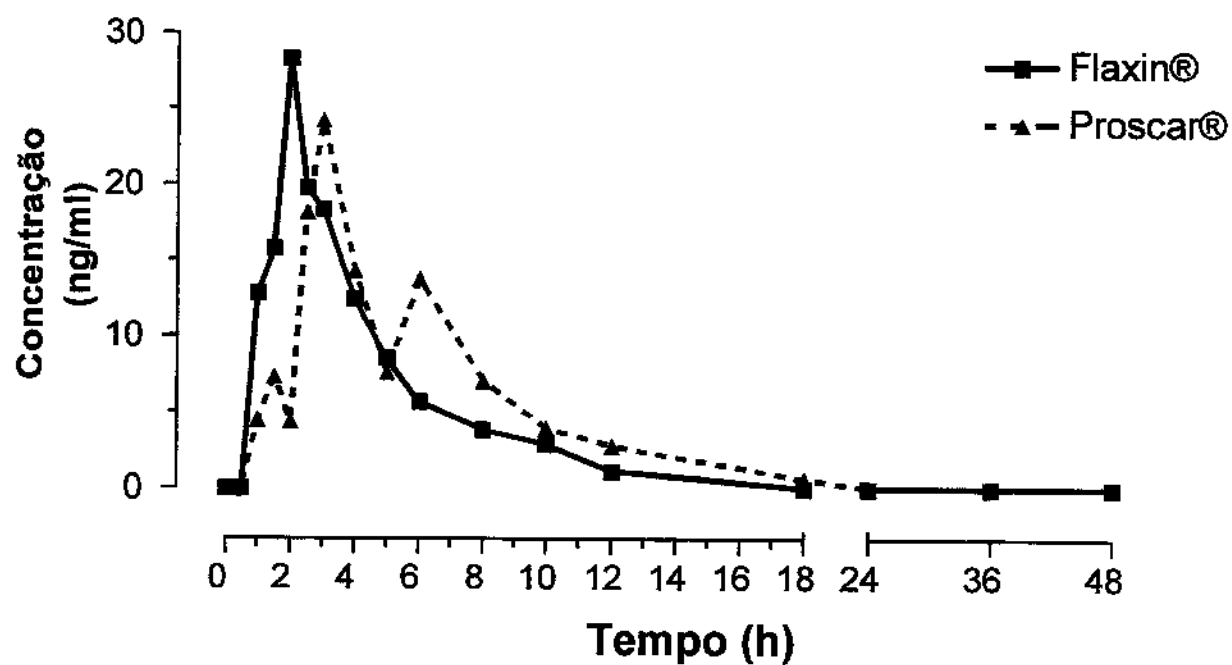
| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | -       | -        |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | -       | -        |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | -       | -        |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | -       | -        |
| T <sub>max</sub> (h)        | -       | -        |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | -       | -        |

# Vol. XXIII - MARM



| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 108     | 93       |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 111     | 93       |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 97.5    | 100.0    |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 22.2    | 25.5     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.5     | 2.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 3.9     | 2.8      |

# Vol. XXIV - SAR



| Parâmetros                  | Flaxin® | Proscar® |
|-----------------------------|---------|----------|
| ASC (0-48h) (ng/h·ml)       | 99      | 114      |
| ASC (0-∞) (ng/h·ml)         | 100     | 115      |
| ASC (0-48h) / ASC (0-∞) (%) | 99.4    | 99.4     |
| C <sub>max</sub> (ng/ml)    | 28.3    | 24.2     |
| T <sub>max</sub> (h)        | 2.0     | 3.0      |
| T <sub>1/2</sub> (h)        | 2.4     | 2.9      |

## TERMO DE COMPROMISSO

Maria Elisabete Amaral de Moraes, Professor Adjunto do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), médica, pesquisadora, coordenadora da Unidade de Farmacologia Clínica da UFC, RG 432.910 SSP-CE, CPF 090.413.893-34, residente e domiciliada à Rua Pascoal de Castro Alves, 412 nesta capital, responsável pelo projeto de pesquisa intitulado: "Estudo de biodisponibilidade de duas preparações farmacêuticas de finasterida em voluntários sadios" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos da Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde e de acordo com a Declaração de Helsinque (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e (1996).

Fortaleza, 12 de novembro de 1998

Maria Elisabete Amaral de Moraes

Coordenadora da Unidade de Farmacologia Clínica da UFC

## **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

### **Estudo de biodisponibilidade de duas preparações farmacêuticas de finasterida 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, Manoel Odorico de Moraes, Fernando A. Frota Bezerra e Gilberto De Nucci

---

O abaixo-assinado (Nome, idade e nº prontuário 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 Amaral de Moraes, Manoel Odorico de Moraes, Fernando A. Frota Bezerra da Unidade de Farmacologia Clínica do 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 comprimidos de finasterida (Flaxin®, 5 mg) fabricados pela Merck Indústrias Químicas S.A. do Brasil atingem níveis plasmáticos equivalentes a comprimidos de finasterida (Proscar®, 5 mg) elaborados pela Merck Sharp & Dohme do Brasil.
- ii - Durante o estudo, será internado duas vezes por 48 horas cada período, com intervalo de 14 dias. Nas duas ocasiões do internamento, será administrado 5 mg de Flaxin® ou Proscar® na forma de comprimidos, por via oral e coletadas 18 amostras de sangue (8 ml cada amostra) através de "butterfly" heparinizado.
- iii - A participação neste estudo não tem objetivo de se submeter a um tratamento terapêutico.

iv - A administração oral de finasterida de maneira continuada pode causar efeitos colaterais como náuseas, diarreia, epigastralgia, ginecomastia. Além dos efeitos citados, a administração deste medicamento pode causar reações imprevisíveis.

v - Será submetido antes da primeira e após a segunda internação aos seguintes exames laboratoriais: de sangue (hemograma, transaminases, fosfatase alcalina, bilirrubina total, proteínas, colesterol, triglicérides, uréia, creatinina e ácido úrico), de urina (urina tipo I), 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 desta 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 haja alguma intercorrência, deverá procurar o serviço de ambulatório médico do Hospital de Clínicas da UFC e solicitar que o mesmo contacte os médicos responsáveis pelo ensaio clínico, nos telefones abaixo.

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

xiii - Poderá contactar a Secretaria da Comissão de Ética (fone 085-243 9330) para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

xiv - O voluntário receberá a quantia de R\$ 260,00 (duzentos e sessenta reais) referente a ressarcimento das despesas e tempo dispendidos na realização do supra-citado estudo clínico.

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

Fortaleza,

---

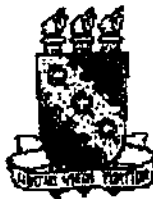
Assinatura do voluntário

Manoel Odorico de Moraes - Fone 085 - 234 3631

Maria Elisabete Amaral de Moraes - Fone 085 - 243 9346 e 981 4751

Fernando A. Frota Bezerra - Fone 085 - 243 9105 e 981 7961

Gilberto De Nucci – Fone 011 – 818 7493



Universidade Federal do Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. nº 085/98

Fortaleza, 26 de novembro de 1998

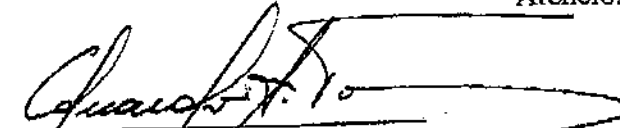
Protocolo nº 058/98

Deptº./Serviço: Unidade de Farmacologia Clínica/UFC

Título do Projeto: "Estudo de Biodisponibilidade de 2 Formulações de Finasterida em Voluntários Sadios do Sexo Masculino"

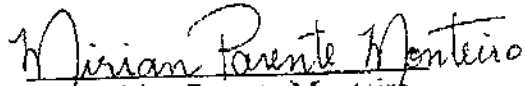
Levamos ao conhecimento de V.Sª. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina e Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº196, de 10 de outubro de 1996, publicada no Diário Oficial da União em 16 de outubro de 1996, aprovou o projeto supracitado, na reunião do dia 26 de novembro de 1998.

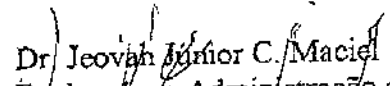
Atenciosamente,

  
Dr. Eduardo A. Torres da Silva  
Prof. Adjunto IV/Engenheiro  
Biofísico

  
Dr. Fábio Gomes de Matos e Sousa  
Prof. Adjunto I/Psiquiatra

  
Dr. Evandro Carneiro Martins  
Advogado do Conselho Regional de  
Medicina

  
Dra. Mirian Parente Monteiro  
Profa. Assistente III Farmacêutica

  
Dr. Jeovân Junior C. Maciel  
Bacharel em Administração de  
Empresa

  
Dra. Yacy Mendonça de Almeida  
Profa. Adjunto IV/Médica

To: Mrs Fabiana Gatti de Menezes  
Fax no.: 0055/11 8187493  
São Paulo, Brazil  
e-mail address: fagatti74@hotmail.com  
From: ECV. Editio Cantor Verlag  
Department : Editorial Office  
Please Contact: Viktor Schramm  
Phone: 07525/940.120  
Fax: 07525/940.127  
e-mail: [redaktion@ecv.de](mailto:redaktion@ecv.de)  
pages (incl. coversheet): 1

Arzneimittel Forschung  
Drug Research

---

**Publication of the paper by Menezes et al. "Bioequivalence Study of Finasteride"**

Dear Mrs Menezes,

Referring to your e-mail inquiry of 1 August, we want to inform you that publication of the above mentioned study has been definitely agreed to and that we have already fixed a publication date.

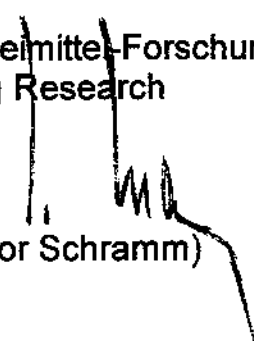
The paper will be published in the February issue no. 2/2001.

The proofs for checking and imprimatur will be made available to you by the end of this year.

We hope that this information is helpful to you, and we remain

with kind regards,

Arzneimittel-Forschung  
Drug Research

  
(Viktor Schramm)

## **Bioequivalence study of finasteride: determination in human plasma by HPLC coupled to Tandem Mass Spectrometry**

Fabiana Gatti de Menezes<sup>3</sup>, Wellington Ribeiro<sup>1</sup>, Demian Rocha Ifa<sup>1</sup>, Maria Elizabete Amaral de Moraes<sup>2</sup>, Manoel Odorico Amaral de Moraes<sup>2</sup> and Gilberto De Nucci<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Cartesius Analytical Unit, Department of Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, (Brazil)

<sup>2</sup> Clinical Pharmacology Unit, Department of Pharmacology, Federal University of Ceará, Ceará, (Brazil)

<sup>3</sup>Miguel Servet Clinical Pharmacology Unit, Department of Pharmacology, Campinas University, São Paulo, (Brazil)

\*Corresponding author:

Prof. Gilberto De Nucci, MD, PhD,

Biomedical Science Institute, São Paulo University,

Jesuino Marcondes Machado, 415, Campinas,

São Paulo, SP 13092-320.(Brazil)

E-mail: [denucci@dglnet.com.br](mailto:denucci@dglnet.com.br)

## Summary

Two different finasteride (CAS 98319 - 26 -7) tablet formulations were evaluated for their relative bioavailability (Flaxin<sup>®</sup> tablets 5 mg, as the test formulation vs reference formulation, tablets 5 mg) in 23 healthy male volunteers who received a single 5 mg oral dose of each preparation. The study was open, randomized with two-period crossover design and a 7-day washout period. Plasma samples were obtained over a 48-hour interval. The finasteride concentrations were determined by HPLC coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). The analytical method developed has a Limit of Quantitation (LOQ) of 0.50 ng/ml in plasma. The mean  $\pm$  SD measured concentration was  $2.05 \pm 0.14$  ng/ml (n=30) for the Quality Control of 2.00 ng/mL (QCA), with precision of 6.9% and accuracy of 2.55%, while Quality Control of 20.00 ng/mL , (QCC) the mean  $\pm$  S.D. measured concentration was  $20 \pm 0.80$  ng/mL (n=30) with precision of 3.81% and accuracy of 0.09%. From the plasma finasteride concentration vs time curves the following pharmacokinetics parameters were obtained:  $AUC_{(0-48)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max} / AUC_{(0-48)}$ ,  $k_e$ , elimination half-life and  $t_{max}$ . Geometric mean test/reference formulations individual percent ratio was 95.71 for  $AUC_{(0-48h)}$  and 88.70% for  $C_{max}$ . The 90% confidence interval for the geometric mean of the individual ratio test/reference formulations was 95.70 - 120.20% for  $AUC_{(0-48h)}$ , 94.60 – 121.30 for  $AUC_{(0-\infty)}$  and 88.70 - 108 % for  $C_{max}$ . Since, for both  $C_{max}$  or AUC the 90% CI are within the interval proposed by the Food and Drug Administration test formulation is bioequivalent to reference formulation for both, the rate and extent of absorption after single dose administration.

**Key words:** finasteride - pharmacokinetics - bioequivalence- mass spectrometry

## 1. Introduction

Finasteride (5 $\alpha$ , 17 $\beta$ ) -N- (1,1- Dimethylethyl) -3-oxo-4-azaandrost-1-ene-17 carboxamide (CAS 98319-26-7) is a potent 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, that has been used to treat men with benign prostatic hyperplasia [1,2]. This inhibition allows selective androgen deprivation affecting dihydrosterone (DHT) level in target organs without affecting circulating levels of testosterone, thus preserving the sexual function [3,4].

Finasteride is rapidly absorbed from the gastrointestinal tract (95%) and the peak plasma concentration observed is generally about  $1.8 \pm 0.8$  hours after a 5 mg oral dose, whereas the C<sub>max</sub> is  $38.1 \pm 7.0$   $\mu\text{g/L}$  [5].

Finasteride undergoes extensive hepatic metabolism through oxidative pathways, leading to metabolites that are inactive and eliminated mainly through the bile (60-80%). Excretion occurs by urinary (39% of dose) and fecal (57% of dose) routes at the doses of 5-38 mg. The major compound recovered from the urine was the monocarboxylic acid and from the plasma was the monohydroxylated metabolite [6, 7].

The mean terminal phase elimination half-life ( $t_{1/2}$ ), independent of dose, ranged from 4.8 to 6.0 h. However, with a multiple dose regimen of 5 mg/day during 17 days,  $t_{1/2}$  values were greater among elderly volunteers (aged  $\geq 70$  years; 7.8 to 9.1 h) than in younger volunteers (aged 45 to 60 years; 6.0 to 7.7 h) when assessed on days 1, 5 and 17.

In healthy male volunteers a single oral dose lower than 10 mg produced a reduction of 50 to 65% in DHT levels, however, doses between 10 and 100 mg produced a 75-82% reduction in circulating androgen [8, 9, 10, 11]. The present study compares the bioavailability of two finasteride formulations (5 mg tablets) in healthy male volunteers.

## 2. Subjects, materials and methods

### 2.1 Clinical protocol

Twenty-three healthy male volunteers between 18 and 45 years old ( $24 \pm 3.39$  years old) with a height between 161 and 188 cm ( $174 \pm 6.7$  cm), weighing between 56 and 91.5 kg ( $74.7 \pm 9.3$  kg), and within 15% of their ideal body weight, were enrolled in the study. All subjects gave their written informed consent prior to participating in the study, and the clinical protocol was approved by the Ethics Committee for Clinical Investigation of the University Hospital (Federal University of Ceará - Brazil).

The volunteers were free from significant cardiac, hepatic, renal, pulmonary, neurological, gastrointestinal and hematological disease, as assessed by physical and psychiatric examination, ECG, and the following laboratory tests: blood glucose, urea, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase,  $\gamma$ -GT, total bilirubin, albumin, total protein, triglycerides, total cholesterol, hemoglobin, hematocrit, total and differential white cell counts, erythrocyte sedimentation rate and routine urinalysis. All subjects were negative for HIV, HBV and HCV.

The study was conducted in an open, randomized, two-period crossover design with seven days of washout interval. During each period, the volunteers were hospitalized at 11:00 p.m. having already had a normal evening meal. All volunteers were required to remain fasten until three hours after dose administration in the following morning at 7:00 a.m. a single 5 mg dose of either finasteride formulation, Flaxin® (lot No. 80244, expiration date: 10/2000) as the test formulation (Merck S.A., Brazil) and reference formulation (lot No. 982285, expiration date: 04/2000) along with 200 ml of tap water. After three hours following drug administration a light breakfast was provided; a standard lunch and evening meal were consumed 5 and 12 hours after dosing, respectively. No other food was permitted during the "in-house" period. Liquid refreshment was permitted "ad libitum" after lunch but xanthine-containing drinks including tea, coffee, and cola were avoided. In addition, smoking was not allowed during the "in-house" period. Concomitant medication was to be avoided as possible during the study. At each blood sampling time, systolic and diastolic arterial pressure (measured non-invasively with a sphygmomanometer) and heart rate were recorded.

## 2.2. Drug analysis

Blood samples (7 ml) from a suitable forearm vein were collected into clean tubes containing anti coagulant (heparin) before and 0.5, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36 and 48 hours post-dosing. The blood samples were spun at 4,000 rpm for 10 min at room temperature and the plasma decanted and stored at -20°C until used for drug assay. All samples from a single volunteer were analyzed in duplicate and finasteride plasma concentrations were determined by validated method using high-pressure liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (LC-MS-MS), as described below.

Two hundred microliters of plasma was dispensed into appropriate tubes containing internal standard (cyproterone, 100 ng/mL). The tubes were vortex-mixed and allowed to stand at room temperature for 5 minutes. Diethyl ether/hexane (80:20; 4 mL) was then added and the samples were vortex-mixed for 30 seconds. The tubes were centrifuged at 2,000 rpm for 10 minutes at 4 °C. The upper organic layer was carefully removed and transferred using Pasteur pipettes to test tubes. The solvent was removed by a gentle stream of nitrogen in a dry bath, at 37 °C. Two hundred microliters of mobile phase (80% CH<sub>3</sub>CN, 20% water, 10 mM formic acid, pH=3.5) was added to the tubes, which were then vortex-mixed for 15 seconds to reconstitute the residues. The solutions were transferred to microvials, capped, and placed in an HP 1100 autosampler rack.

A reversed-phase C18 column (Genesis 4µm C18; 150X4.6 mm, USA) was used and operated at a temperature of 40 °C. The temperature of the autosampler was maintained at 10 °C and the injection volume was 40 µL. The mobile phase was delivered at a flow rate of 1mL/min. A split of the column eluent of approximately 1:20 was included so that only approximately 50 µL/min entered the mass spectrometer.

### 2.3. Mass-spectrometric conditions

Mass spectrometry was performed using a Quatro II triple stage quadrupole mass spectrometer with an electrospray ionisation (ESI) source. The ESI source was operated in the positive ionization mode (ES+), and MRM,  $m/z$  373.10 > 305.10 and  $m/z$  417.10 > 278.70, were used for monitorization of finasteride and cyproterone, respectively. The dwell time, the cone voltage, the collision energy and gas pressure (Argon) were 0.10 sec, 30 V, 25 eV and  $8.9 \times 10^{-4}$  bar for finasteride and 0.10 sec, 50 V, 30 eV and  $8.9 \times 10^{-4}$  for cyproterone.

### 2.4. Precision and accuracy

Three Quality control samples QCA, QCB and QCC were prepared by spiking pooled human plasma to final concentrations of 2.0, 5.0 and 20 ng/mL of finasteride respectively. Between-run accuracy and precision were calculated both on quality control samples. Calibration curve experiments were performed in duplicate. Each quality control sample was analyzed three or four times in every assay.

### 2.5. Pharmacokinetics and statistical analysis

The first-order terminal elimination rate constant ( $K_e$ ) was estimated by linear regression from the points describing the elimination phase on a log-linear plot. Half-life ( $t_{1/2}$ ) was derived from this rate constant ( $t_{1/2} = \ln(2)/K_e$ ). The maximum observed plasma concentration ( $C_{max}$ ) and the time taken to achieve this maximum level ( $t_{max}$ ) were obtained directly from the curves. The areas under the finasteride plasma concentration vs time curves from 0–48 h ( $AUC_{(0-48h)}$ ) were calculated by applying the linear trapezoidal method in a non-compartmental pharmacokinetic model. Extrapolation of these areas to infinity ( $AUC_{(0-\infty)}$ ) was done by adding the value  $C_{48}/K_e$  to the calculated  $AUC_{(0-48h)}$  ( $C_{48}$  = plasma concentration calculated from the log-linear regression equation obtained for the estimation of  $K_e$  48 h after dosing).

Bioequivalence between both formulations was assessed by calculating individual  $AUC_{(0-48h)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $k_e$  and  $t_{1/2}$ , ratios and  $t_{max}$  individual differences with their mean and 90% confidence interval (90% CI) after log-transformation data. The inclusion of the 90% CI for the ratio in the 80-125% bioequivalence interval, and that of the zero value in the 90% CI for the differences were analyzed using a parametric test (ANOVA) for all pharmacokinetic parameters except  $t_{max}$ , for which a non-parametric test (Wilcoxon test) was used.

Software used were WinNonlin Professional Network Edition, version 1.5 (Pharsight Corporation, Mountain View, California, USA), Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies version 3.4 (author: Herman P Wijnand, Bs Oss, The Netherlands), Microsoft Excel version 7 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) and GraphPad Prism version 3.00 (GraphPad Software, Inc. San Diego, California, USA).

### 3. Results

A volunteer reported headache, but this adverse effect was not related to drug adverse event. Laboratory tests results were within the reference values at the end of the clinical protocol. The figures 1(a) and 1(b) show the human blank plasma mass chromatograms obtained by a multiple reaction monitoring (MRM) mode of cyproterone (MRM of 417.10 > 278.70) and finasteride (MRM of 373.10 > 305.10), respectively. Figure 1 (c) shows the typical mass chromatogram obtained after spiked human plasma with cyproterone (100 ng/mL; retention time was 3.4 min). Figure 1 (d) shows the human plasma sample drawn 3 hour after oral administration of 5 mg of finasteride, in which the retention was 2.6 min.

The calibration curve was linear over the range 0.5-100 ng/ml, with a regression coefficient equal to or higher than 0.995 and intercepts not significant different from zero.

The LOQ was defined here as the lowest point on the standard curve for which the precision and accuracy were  $\leq 20\%$  [12, 13]. The current assay had a LOQ of 0.5 ng/ml in plasma for finasteride based on 0.2 ml aliquots of plasma.

The mean finasteride concentration vs time profiles for both formulations are shown in figure 2.

Table 1 shows mean  $AUC_{(0-48)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}/AUC_{(0-48)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$ ,  $k_e$ ,  $t_{1/2}$  and  $t_{max}$  values obtained for each formulation.

Bioequivalence analysis by parametric and nonparametric treatment of individual ratios and differences is described in Table 2. No period effect was observed for any of the analyzed pharmacokinetic parameters (data not shown).

The results from between-day accuracy and precision for the quality controls (2.0, 5.0 and 20 ng/mL) samples are summarized in Table 3.

#### 4. Discussion

The methods published for quantification of finasteride employed either ultraviolet detection or mass spectrometry detection. All these methods require solid phase extraction and are highly sensitive, but a time consuming solid-phase extraction step is necessary [14, 15, 16]. The method proposed by Matuszewski et al [17] that not use solid-phase extraction, employees a buffered selective extraction providing low interference from the plasma matrix in the analytes, but this method requires a longer time of analyses (run time of 6 min), as compared to our (run time of 4 min). In addition, the drug and internal standard used in our method were extracted from biological matrices by a single liquid-liquid extraction (diethyl ether/hexane). The validation results indicated that the method is rugged, precise and accurate and is suitable for routine analysis of the finasteride in human plasma.

The method described in this study proved to be simple and confirms that LC/MS/MS shows appropriate sensitivity, specificity for the determination of finasteride in human plasma [18].

As shown in Table 1, no significant differences were observed in the mean  $AUC_{(0-48)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$ ,  $C_{max}/AUC_{(0-48)}$ ,  $k_e$ ,  $t_{1/2}$ ,  $t_{max}$  and values obtained for each formulation as assessed by the overlapping observed in the 90% confidence interval (CI) of the geometric means.

When finasteride concentration-time curves (fig. 2) were applied to assess bioequivalence, no significant difference in the extent and rate of absorption was observed among the two formulations (assessed by inclusion of the 90% confidence interval for individual  $AUC_{(0-48)}$  and  $C_{max}$  ratios in the bioequivalence range of 80-125%).

Finasteride is extensively hydrolyzed by hepatic metabolism through oxidative pathway [5]. As a consequence the hepatic metabolism and biliary excretion play an important role in the disposition of the drug. This could explain the inter-subject variability that led to non-inclusion of the 90% confidence interval for individual finasteride  $t_{1/2}$  and  $K_e$  ratios in the 80-125%.

The elimination  $t_{1/2}$  and  $t_{max}$  values are in accordance with studies done in different group of age. The present study was performed in a group of young volunteers ( $24 \pm 3.39$  years). Thus, when we compared our data with the literature we confirmed the presence of a low  $C_{min}$  observed in younger volunteers. These results suggest that the lower  $C_{min}$  values observed were due to faster  $t_{1/2}$  when we compared with studies in elderly volunteers. These data shown a  $C_{min}$  of 3 ng/mL (aged 45 to 60) and 4 ng/mL (above 70 years old) after oral administration of 5.0 mg/day on first day [19].

In conclusion, the application of either parametric statistics reveals the presence of bioequivalence between both finasteride formulation for the rate and extent of absorption as required by the Food and Drug Administration regulations [20, 21].

**Table 1.** Mean pharmacokinetic parameters obtained from 23 volunteers after the administration of each finasteride tablet formulation (5 mg).

| <b>Parameter</b>                                              | <b>Test</b> | <b>Reference</b> |
|---------------------------------------------------------------|-------------|------------------|
| <b>AUC<sub>(0-48h)</sub> (ng/ h mL)</b>                       |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 158.4       | 147.9            |
| <b>90% CI</b>                                                 | 139.8-179.4 | 128.1-170.6      |
| <b>AUC<sub>(0-∞)</sub> (ng/mL)</b>                            |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 163.2       | 152.7            |
| <b>90% CI</b>                                                 | 144.1-184.8 | 131-178          |
| <b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>                                |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 26.3        | 26.8             |
| <b>90% CI</b>                                                 | 23.6-29.2   | 24.6-29.1        |
| <b>C<sub>min</sub> (ng/mL)</b>                                |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 1.2         | 1.0              |
| <b>90% CI</b>                                                 | 1.0-1.5     | 0.8-1.2          |
| <b>C<sub>max</sub>/AUC<sub>(0-48h)</sub> (h<sup>-1</sup>)</b> |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 0.17        | 0.18             |
| <b>90% CI</b>                                                 | 0.15-0.19   | 0.16-0.20        |
| <b>K<sub>e</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>                         |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 0.16        | 0.18             |
| <b>90% CI</b>                                                 | 0.14-0.18   | 0.15-0.21        |
| <b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>                                    |             |                  |
| <b>Geom. Mean</b>                                             | 4.4         | 3.8              |
| <b>90% CI</b>                                                 | 3.9-4.9     | 3.2-4.5          |
| <b>T<sub>max</sub></b>                                        |             |                  |
| <b>Median</b>                                                 | 2.5         | 2                |
| <b>Range</b>                                                  | 1-6         | 1-4              |

**Table 2.** Statistical analysis of individual  $AUC_{(0-48h)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max}/AUC_{(0-48h)}$ ,  $k_e$ ,  $t_{1/2}$ , and ratios and  $t_{max}$  individual differences, for the two finasteride formulations.

<sup>a</sup> According to Hauschke et al [22] and the FDA, non-parametric results are expressed as point estimate and 90% CI of individual ratios, except for  $t_{max}$  (expressed as point estimate and 90% CI of individual differences)

<sup>b</sup> Arithmetic mean of individual differences

<sup>c</sup> 90% CI of individual differences

| Test/ Reference                 | Statistical analysis |                          |                                      |              |
|---------------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------|
|                                 | Parametric analysis  |                          | Non-Parametric analysis <sup>a</sup> |              |
|                                 | Geometric<br>mean    | 90%<br>CI                | Point<br>Estimate                    | 90%<br>CI    |
| $AUC_{(0-48h)}$ % ratio         | 107.3                | 95.7 - 120.2             | 109.2                                | 93.6 - 124.1 |
| $AUC_{(0-\infty)}$ % ratio      | 107.1                | 94.6 - 121.3             | 110.1                                | 93.4 - 124.9 |
| $C_{max}/AUC_{(0-48h)}$ % ratio | 91.3                 | 82.2 - 101.3             | 92                                   | 83.7 - 101.8 |
| $C_{max}$ % ratio               | 97.9                 | 88.7 - 108               | 96.3                                 | 87.6 - 109.1 |
| $k_e$ % ratio                   | 87                   | 73.1-103.5               | 81.8                                 | 70.9 - 100   |
| $t_{1/2}$ % ratio               | 114                  | 95.9 - 136               | 119.9                                | 99.3 - 138.3 |
| $t_{max}$ % difference          | 0.22 <sup>b</sup>    | 0.07 - 0.25 <sup>c</sup> | 0.00                                 | -0.25 - 0.50 |

**Table 3.** Between-day precision and accuracy from QC samples of finasteride plasma extracts.

<sup>a</sup>Calculated as percent standard deviation,  $RSD\% = 100(SD/M)$

<sup>b</sup>Calculated as percent relative error,  $RE\% = (E-T) \cdot (100/T)$

| Quality Control  | n  | Mean | S.D. | Precision <sup>a</sup> | Accuracy <sup>b</sup> |
|------------------|----|------|------|------------------------|-----------------------|
| QCA (2.0 ng/mL)  | 30 | 2.05 | 0.14 | 6.92                   | 2.55                  |
| QCB (5.0 ng/mL)  | 30 | 5.10 | 0.30 | 4.90                   | 2.84                  |
| QCC (20.0 ng/mL) | 30 | 20.0 | 0.80 | 3.81                   | 0.09                  |

Fig 1

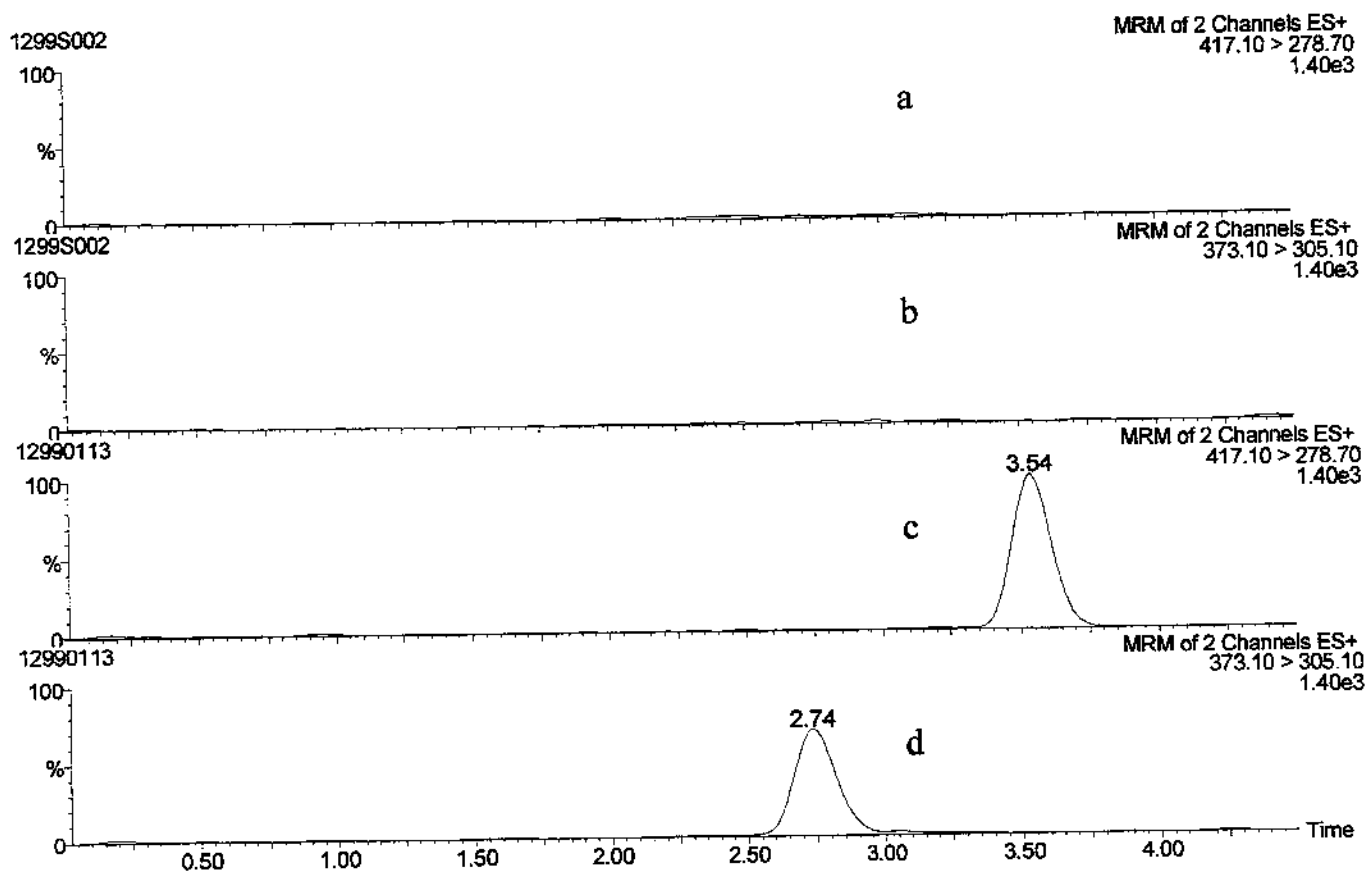
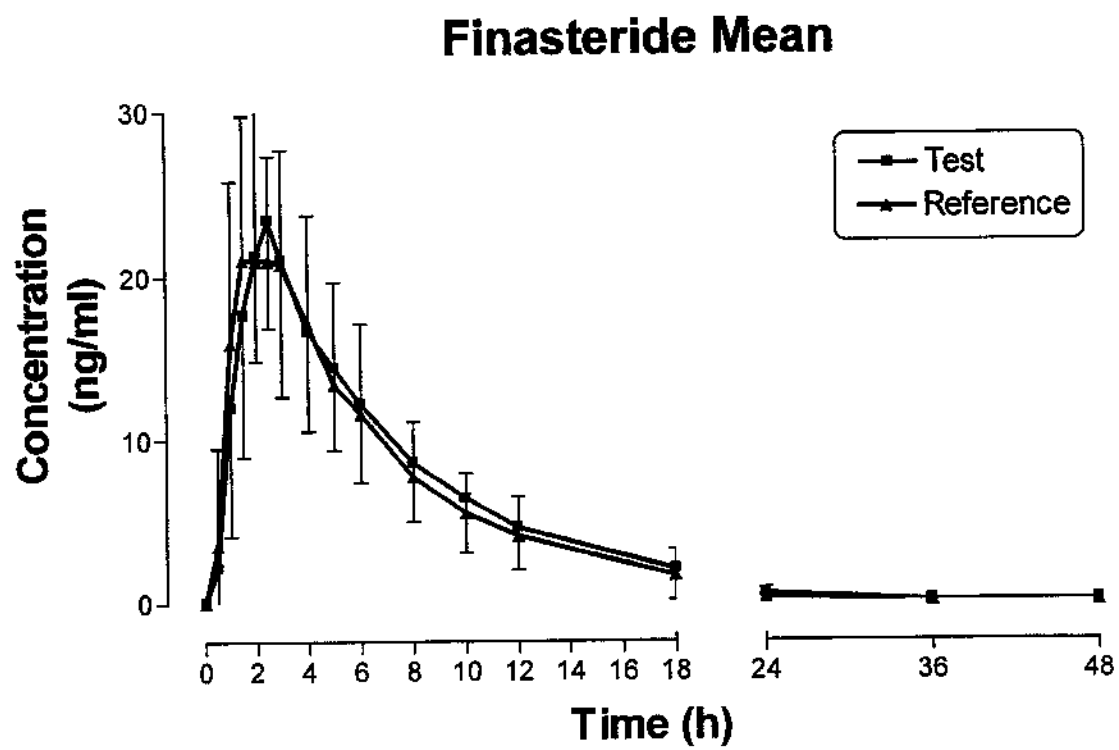


Fig 2



## References

- [1] Steiner J. F., Clin. Pharmacol. **12**, 15-23 (1993)
- [2] Gormley G. J., Stoner E., Bruskewitz R. C. et al. N. Engl. J. Med. **327**, 1185-91 (1992)
- [3] Gormley G. J. Urol. Clin. North Am. **18**, 93-8 (1991)
- [4] Presti J. C., Jr Fair W. C., Andriole G. et al. J. Urol. **148**, 1201-4 (1992)
- [5] Steiner J. F. Clin. Pharmacokinet. **30**, 1, 16-27 (1996)
- [6] Carlin J. R., Höglund P., Ericksson L. O., Christofalo P., Gregoire S. L., Taylor, A. M., and Andersson K. E. Drug Metab. Dispos. **20**, 148-155 (1992)
- [7] Gormley G. J. Biom. & Pharmacother. **49**, 319-324 (1995)
- [8] Gormley G. J., Stoner E., Rittmaster R. et al J. Clin. Endocrinol. Metab. **70**, 1136-41 (1990)
- [9] Sudduth S. L., Koronkowski M. J. Pharmacother. **13**, 309-329 (1993)
- [10] Vermeulen A., Giagulli V. A., De Schepper P., Buntinx A., and Stoner E. Prostate **14**, 45-53 (1989)
- [11] Rittmaster, R. S., Stoner, E., Thompson, D. L., Nance, D., and Lasseter, K. C. J. Androl. **10**, 259-262 (1989)
- [12] Karnes H. T., Shiu G., Shah V. P. Pharmaceutical Research **8**, 4, 421-26 (1991)
- [13] Braggio S., Barnaby R. J., Gossi P., Cugola M. J. Pharma. and Biom. Anal. **14**, 375-388 (1996)
- [14] Carlin J. R., Christofalo P., Vandenheuvel W.J. J. Chromatogr. **427**, May **13**, 79-91 (1988)
- [15] Constanzer M. L., Matuszewiski B. K., Bayne W. F. J. Chromatogr. B. Biom. Appl. **104**, 1, 127-134 (1991)

- [16] Constanzer M. L., Chavez C. M., Matuszewski B. K. J. *Chromatogr. B. Biom. Appl.* **658**, **2**, 281-287 (1994)
- [17] Matuszewski B. K., Constanzer M. L., Chavez C. M. *Anal. Chem.* **70**, **5**, 882-889 (1998)
- [18] Huang E. C., Wachs T., Conboy J. J., Henion J. D. *Anal. Chem.* **62**, **13**, 713 (1990)
- [19] Peters D. H. and Sorkin E. M. *Drugs* **46**, **1**, 177-208 (1993)
- [20] Food and Drug Administration Federal Register part 320: Bioavailability and Bioequivalence Requirements, pp 154-173 (1985)
- [21] Food and Drug Administration In vivo bioequivalence guidances. *Pharmacopeial Forum* **19**, 6501-6508 (1993)
- [22] Hauschke D., Steinijans V. W., Diletti E. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **28**, 72-78 (1990)

### **Acknowledgement**

This study was supported by a grant from Merck Indústrias Químicas, S.A., Brazil.

## LEGENDS

## FIGURES

**Fig. 1** Selected ion chromatograms (MRM) showing retention times: Panel (a): Blank human plasma sample of cyproterone (417.10>278.70). Panel (b): Blank human plasma sample of finasteride (373.10>305.10). Panel (c): Cyproterone (MRM of two channels; ES+ 417.10>278.70). Panel (d): Finasteride (MRM of two channels, ES+ 373.10>305.10).

**Fig. 2** Plasma finasteride concentrations (mean with SEM) versus time curves in 23 healthy male volunteers after a single dose (5 mg) of each finasteride tablet formulation.

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SECÃO CIRCULANTE