UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Avaliação da bioequivalência entre comprimido
convencional e comprimido de desintegração oral contendo
8 mg de ondansetrona

Yara Popst Armando

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra

São Paulo
2008

Yara Popst Armando

Avaliação da bioequivalência entre comprimido convencional e comprimido de desintegração oral contendo 8 mg de ondansetrona

Comissão julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra
Orientadora / presidente

Profa. Dra. Valentina Porta
1º examinador

Profa. Dra. Maria Nella Gai
2º examinador

São Paulo, 22 de setembro de 2008

Dedico este trabalho

aos meus pais Jane e Donizetti pelo amor e incentivo e por me mostrarem que o trabalho, honestidade e dedicação são as melhores escolhas;

aos meus avós Zenaide e Hécio, e a minha irmã Mayra pelo imenso carinho e dedicação;

ao Rafael Menck pelo amor, carinho, compreensão e incalculável estímulo

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades que tem me proporcionado;

À Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra, pela amizade, confiança e orientação;

Aos colegas do BIOFAR: Eunice Kazue, Eunice Emiko, Eremita, Valdilene e Tatiane, meus sinceros agradecimentos pela ajuda nas etapas clínica e analítica, amizade e companheirismo;

À Simone, pela amizade e colaboração na realização deste trabalho;

Aos Pós-Graduandos Marina e José Eduardo, pelo incentivo, amizade e imenso carinho;

À Kaline Waisman por estar sempre presente e por me proporcionar muitos momentos divertidos;

Aos Professores Doutores Sílvia Santos e Marcos Moisés pelas importantes sugestões no exame de qualificação;

Aos voluntários que participaram deste estudo;

À Ting pelo auxílio na análise estatística;

A CAPES, pela bolsa auxílio;

Agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	b
ABSTRACT	d
1 INTRODUÇÃO	2
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo geral.....	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
3 REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1 Antieméticos	8
3.1.1 Antagonistas do receptor 5-HT ₃	9
3.1.2 Ondansetrona	10
3.1.2.1 Propriedades físico-químicas.....	10
3.1.2.2 Mecanismo de ação.....	12
3.1.2.3 Farmacocinética	12
3.1.2.4 Indicações, usos e posologia.....	13
3.2 Medicamentos no Brasil.....	14
3.2.1 Histórico	14
3.3 Intercambialidade de medicamentos	16
3.3.1 Introdução dos conceitos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos	16
3.3.2 Equivalência terapêutica.....	17
3.3.3 Definições	18
3.3.3.1 Biodisponibilidade.....	18
3.3.3.2 Biodisponibilidade absoluta	19

3.3.3.3. Biodisponibilidade relativa	20
3.3.3.4 Bioequivalência.....	20
3.3.3.5 Equivalentes farmacêuticos	21
3.3.3.6 Alternativas farmacêuticas.....	21
3.3.3.7 Medicamento inovador.....	22
3.3.3.8 Medicamento referência	23
3.3.3.9 Medicamento similar	23
3.3.3.10 Medicamento genérico.....	23
3.4 Formas farmacêuticas sólidas: comprimidos de liberação convencional <i>versus</i> comprimidos de desintegração oral	24
3.5 Estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de formas farmacêuticas contendo ondansetrone	29
3.5.1 Aspectos analíticos da ondansetrone nos líquidos biológicos	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1 CAPÍTULO I – Etapa Clínica: Ensaio de Bioequivalência.....	35
4.1.1 Materiais	35
4.1.1.1 Amostras.....	35
4.1.1.3 Equipamentos.....	36
4.1.2 Avaliação da bioequivalência entre os medicamentos teste e referência	36
4.1.2.1 Casuística	37
4.1.2.2 Procedimento do ensaio de bioequivalência.....	40
4.1.2.3 Coleta de amostras.....	44
4.1.3 Análise sensorial da formulação de comprimidos de desintegração oral	45
4.2 CAPÍTULO II – Etapa Analítica.....	47
4.2.1 Materiais	47

4.2.1.1 Substâncias químicas de referência	47
4.2.1.2 Solventes, reagentes e materiais.....	47
4.2.1.4 Equipamentos.....	48
4.2.2 Métodos	49
4.2.2.1 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma	49
4.2.2.1.1 Preparo dos padrões	50
4.2.2.1.2 Preparo das amostras de plasma padrão da curva de calibração	52
4.2.2.1.3 Preparo das amostras de plasma padrão de controle de qualidade	53
4.2.2.1.4 Procedimento de purificação das amostras	54
4.2.2.1.5 Condições para análise cromatográfica.....	57
4.2.2.2 Validação do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma	58
4.2.2.2.1 Especificidade.....	58
4.2.2.2.2 Recuperação	59
4.2.2.2.3 Limite de quantificação	60
4.2.2.2.4 Linearidade	60
4.2.2.2.5 Precisão	61
4.2.2.2.6 Exatidão	63
4.2.2.2.7 Estudo da estabilidade do fármaco em fluidos biológicos.....	63
4.2.2.2.7.1 Estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento.....	64
4.2.2.2.7.2 Estabilidade de curta duração	64
4.2.2.2.7.3 Estabilidade pós-processamento	65
4.2.2.2.7.4 Estabilidade de longa duração.....	65
4.2.2.2.7.5 Estabilidade das soluções-padrão	65

4.2.3	Quantificação de ondansetrona nas amostras de plasma	66
4.3	CAPÍTULO III – Etapa Estatística	66
4.3.1	Avaliação da bioequivalência entre os produtos	66
4.3.2	Análise estatística	68
5	RESULTADOS	70
5.1	CAPÍTULO I – Etapa Clínica: Ensaio de Bioequivalência.....	70
5.1.1	Ensaio clínico de bioequivalência	70
5.1.2	Análise sensorial da formulação de comprimidos de desintegração oral pelos voluntários	70
5.2	CAPÍTULO II – Etapa Analítica.....	72
5.2.1	Desenvolvimento e validação do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma humano	72
5.2.1.1	Especificidade.....	74
5.2.1.2	Recuperação	75
5.2.1.3	Limite de quantificação	76
5.2.1.4	Linearidade	76
5.2.1.5	Precisão	77
5.2.1.6	Exatidão	77
5.2.1.7	Estabilidade	78
5.2.1.7.1	Estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento.....	78
5.2.1.7.2	Estabilidade de curta duração	79
5.2.1.7.3	Estabilidade pós-processamento	79
5.2.1.7.4	Estabilidade de longa duração.....	80
5.2.1.7.5	Estabilidade das soluções-padrão	81
5.2.2	Quantificação das amostras de plasma de voluntários.....	81

5.3 CAPÍTULO III – Etapa Estatística	82
5.3.1 Avaliação da bioequivalência entre os medicamentos teste e referência	82
5.3.1 Análise Estatística	87
6 DISCUSSÃO	92
7 CONCLUSÃO	105
8 REFERÊNCIAS	107

RESUMO

RESUMO

A ondansetrona (1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-[(2-metil-1*H*-imidazol-1-il)metil]-4*H*-carbazol-ona) é o primeiro fármaco da classe dos antagonistas seletivos dos receptores de serotonina 5-HT₃. É utilizada na prevenção de náusea e vômito induzidos por agentes quimioterápicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a equivalência terapêutica através da análise da bioequivalência de dois produtos contendo 8 mg de ondansetrona, sendo um sob a forma de comprimidos de liberação convencional e outro sob a forma de comprimidos de desintegração oral, produzidos por laboratórios distintos. O ensaio de biodisponibilidade relativa entre o produto teste (Vonau[®] *flash*) e o produto referência (Zofran[®]) foi do tipo randomizado, cruzado e aberto. Os produtos foram administrados por via oral aos voluntários em dose única de 8 mg de ondansetrona. Amostras de sangue foram coletadas até 24 horas após a administração e analisadas através de método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de massas. As curvas médias de decaimento plasmático dos produtos teste (Vonau[®] *flash*) e referência (Zofran[®]) e as médias dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} (referência: 31,88 ng/mL; teste: 30,42 ng/mL); t_{max} (referência: 1,99 h; teste: 2,15 h), ASC_{0-t} (referência: 227,66 ng×h/mL; teste: 223,68 ng×h/mL) e ASC_{0-∞} (referência: 252,76 ng×h/mL; teste: 248,22 ng×h/mL) apresentaram-se semelhantes. O intervalo de confiança 90 % para a razão de C_{max} (87,5 % - 103,8 %), ASC_{0-t} (89,3 % - 107,2 %) e ASC_{0-∞} (89,7 – 106,0 %) encontram-se entre 80 – 125 %, dentro dos limites propostos pela ANVISA. Conclui-se que os produtos teste e referência são bioequivalentes, podendo ser administrados de forma intercambiável, sem prejuízo do efeito terapêutico.

ABSTRACT

ABSTRACT

Ondansetron (1,2,3,9-tetrahydro-9-methyl-3-[2-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)methyl]-4*H*-carbazol-one is the first drug of the class of antagonists selective receptor 5-HT₃. It is used in the prevention of nausea and vomiting caused by chemotherapy agents. The purpose of this study was to evaluate the therapeutic equivalence examining the bioequivalence of two products containing 8 mg ondansetron, one in the conventional release tablet, and other in oral disintegration tablet produced by different laboratories. The bioequivalence assay between the test product (Vonau[®] *flash*) and reference product (Zofran[®]) was randomized, crossover and open study. The medication was administered in a single dose of 8 mg of ondansetron. Blood samples were collected until 24 hours after administration and analyzed using a validated high-performance liquid chromatographic method with mass spectrometer detection. The average plasmatic decay curves obtained for the test product (Vonau[®] *flash*) and reference product (Zofran[®]) and the averages of pharmacokinetics parameters C_{max} (reference: 31.88 ng/mL; test: 30.42 ng/mL); t_{max} (reference: 1.99 h; test: 2.15 h), AUC_{0-t} (reference: 227.66 ng×h/mL; test: 223.68 ng×h/mL) and $AUC_{0-∞}$ (reference: 252.76 ng×h/mL; test: 248.22 ng×h/mL) has been similar. The 90 % confidence intervals for the ratio of C_{max} (87.5 % - 103.8 %), AUC_{0-t} (89.3 % - 107.2%) and $AUC_{0-∞}$ (89.7 % - 106.0 %) values for the test and reference products are within the 80 – 125 % interval proposed by ANVISA. It was concluded that the test and reference products are bioequivalent and can be considered interchangeable in medical practice, without prejudice to the therapeutic effect.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

No mercado de medicamentos há milhares de princípios ativos, associações e novas opções que são oferecidas aos profissionais prescritores diariamente (RUMEL; NISHIOKA; SANTOS, 2006).

A intercambialidade entre dois produtos farmacêuticos com o mesmo princípio ativo é garantida através da equivalência terapêutica (mesmo efeito terapêutico), a qual pode ser demonstrada por meio de comparação farmacocinética, após administração de ambos. Este procedimento é adotado em substituição aos ensaios clínicos, fundamentado no princípio que perfis semelhantes de concentração plasmática do fármaco *versus* o tempo fornecerão resultados similares em termos de eficácia e segurança, os quais podem ser considerados bioequivalentes (GLEITER et al., 1998; CHOW; SHAO, 1999; SERRA et al., 2008).

A eficácia clínica e segurança de um medicamento dependem diretamente da velocidade e extensão do processo de absorção do fármaco, o qual são determinantes de sua biodisponibilidade. Tal parâmetro é principalmente avaliado pelos ensaios de biodisponibilidade/bioequivalência, que são realizados tanto para aprovação de um novo princípio ativo (registro de um fármaco) como para aprovação e registro de uma nova formulação ou, ainda, dos medicamentos genéricos e similares. Estes estudos avaliam, em condições pré-estabelecidas, a concentração plasmática do fármaco em função do tempo para um medicamento teste e um medicamento de referência (BRASIL, 2006; PORTA et al., 2003; KANO et al., 2005; PORTA et al., 2005; ANDRADE et al., 2006).

No Brasil, após a introdução dos medicamentos genéricos, em 1999 com a publicação da Lei 9787, e sua consolidação, surgiu uma série de mudanças no

mercado brasileiro de medicamentos com a publicação de resoluções pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). As novas regras visam aumentar a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos, em acordo com padrões internacionais (ANVISA, 2003; RUMEL; NISHIOKA; SANTOS, 2006).

A partir da publicação da resolução RDC nº 133 de 29 de maio de 2003, os medicamentos similares, para ter o registro concedido pela ANVISA, devem ser submetidos aos testes de biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica, da mesma forma que os medicamentos genéricos (ANVISA, 2003).

Os estudos de equivalência farmacêutica têm a finalidade de garantir a identidade entre os produtos, teste e referência, em relação a: princípio ativo, teor, dose e forma farmacêutica. Por outro lado, os estudos de bioequivalência/biodisponibilidade relativa são realizados em seres humanos e devem assegurar a identidade dos produtos em relação a: velocidade da absorção e quantidade do fármaco absorvido (PRÓ-GENÉRICOS, 2007).

O termo biodisponibilidade relativa foi introduzido no Brasil para diferenciar a denominação do produto teste avaliado. Assim, quando o produto teste for um medicamento similar ou um novo medicamento, a denominação biodisponibilidade relativa é utilizada, ao invés de bioequivalência, já utilizada no caso dos medicamentos genéricos (KOONO, 2005).

A bioequivalência ainda pode ser avaliada entre alternativas farmacêuticas, ou seja, medicamentos que contém a mesma molécula terapeuticamente ativa, ou seu precursor, mas não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica, sal ou éster. Neste caso, a bioequivalência é comprovada através da comparação da alternativa farmacêutica, com a forma farmacêutica existente

(European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001; UNITED STATES, 2003).

A ondansetrona foi sintetizada em 1983 e é o primeiro fármaco da classe dos antagonistas seletivos do receptor de serotonina (5-HT₃). É utilizada na prevenção de náusea e vômito induzidos por agentes quimioterápicos em doses que variam de 8 a 32 mg ao dia (SIMPSON; HICKS, 1996; KOROLKOVAS, 2004).

No Brasil existem diversos produtos contendo ondansetrona, comercializados na forma de comprimidos revestidos, solução injetável e comprimidos de desintegração oral. Dentre estes, a maioria são produtos similares, o restante são medicamentos genéricos, além do medicamento de referência. Um produto é comercializado na forma de comprimido de desintegração oral, sendo este com apresentação farmacêutica inovadora no Brasil (CONSULTAREMÉDIOS, 2007).

Existem vários estudos relacionados à biodisponibilidade e farmacocinética descritos na literatura (HSYU et al., 1994a; HSYU et al., 1994b; BOZIGIAN et al., 1994; FIGG et al., 1996; VANDENBERG et al., 2000) e alguns estudos relacionados à bioequivalência da ondansetrona (MANUPAT et al., 2002; SHIN et al., 2003; LAM et al., 2004).

Entretanto, com relação aos produtos farmacêuticos contendo ondansetrona comercializados no Brasil, não existem, na literatura, estudos comparativos da biodisponibilidade entre os mesmos. Assim, para garantir a intercambialidade entre medicamentos, estudos que avaliem a bioequivalência ou biodisponibilidade relativa dos mesmos, são fundamentais para garantir a segurança e eficácia destes medicamentos.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a bioequivalência entre dois produtos, sendo um sob a forma de comprimidos de liberação convencional contendo 8 mg de ondansetrona e outro sob a forma de comprimidos de desintegração oral contendo 8 mg de ondansetrona produzidos por laboratórios distintos.

2.2 Objetivos específicos

Nesse contexto, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Desenvolver e validar método bioanalítico para quantificação de ondansetrona em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas;
- Avaliar a bioequivalência entre as formulações contendo ondansetrona produzidas por dois laboratórios distintos.

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Antieméticos

Os antieméticos são fármacos eficazes contra a náusea e o vômito. As causas determinantes da náusea e vômito são várias, incluindo, estado emotivo, nervosismo, depressão, início de gravidez, cinetose, presença de tumores encefálicos ou ainda efeito colateral de muitos medicamentos (DELUCIA; OLIVEIRA-FILHO, 2004).

O vômito é um ato reflexo que resulta na expulsão do conteúdo gástrico, precedido por uma sensação de náusea e intensa secreção de saliva. Simultaneamente ocorrem palidez, suor frio e alteração da respiração (DELUCIA; OLIVEIRA-FILHO, 2004).

Os impulsos do reflexo do vômito são transmitidos através das vias aferentes vagais e simpáticas, atingindo os centros nervosos localizados no bulbo que controlam o reflexo do vômito. O reflexo do vômito pode ser provocado por: estimulação mecânica do glossofaríngeo, irritação do estômago por alimentos e fármacos, inibição, distensão ou compressão das vísceras abdominais ou estimulação direta da zona de gatilho quimiorreceptora, localizada no bulbo. Os impulsos são transmitidos através das vias aferentes vagais e simpáticas e atingem os centros nervosos localizados no bulbo que controlam o reflexo do vômito. A zona de gatilho responde a estímulos químicos, como agentes quimioterápicos, aparentemente através da ativação dos receptores de dopamina ou de serotonina (DELUCIA; OLIVEIRA-FILHO, 2004; KATZUNG, 2003).

O vômito induzido por quimioterapia citotóxica é um dos efeitos adversos mais desconfortáveis e ocorre em cerca de 70-80% dos pacientes que recebem o tratamento quimioterápico. Podem ocorrer de modo muito regular, fazendo com que o paciente sofra vômitos antes mesmo da próxima administração do agente quimioterápico (KATZUNG, 2003; VERA et al., 2004). Tais efeitos adversos podem gerar complicações como desidratação, desequilíbrio eletrolítico, alcalose metabólica, desnutrição e deficiências vitamínicas (BRANDÃO, 2004).

Em função dos comprometimentos psicológicos, sociais, e do prejuízo físico associado às náuseas e vômitos, fica clara a necessidade de um tratamento efetivo e adequado (VERA et al., 2004).

Um dos mais significantes avanços para os pacientes com câncer que estão sob tratamento da quimioterapia foi o desenvolvimento dos antagonistas do receptor de serotonina (5-hidroxitriptamina) do subtipo 5-HT₃ (JORDAN; SCHMOLL; AAPRO, 2007).

3.1.1 Antagonistas do receptor 5-HT₃

A introdução dos antagonistas do receptor 5-HT₃ melhorou consideravelmente o vômito induzido pela administração da quimioterapia e radioterapia (JORDAN; SCHMOLL; AAPRO, 2007).

Os receptores 5-HT₃ estão amplamente distribuídos pelo corpo, localizados principalmente no trato gastrointestinal, na zona de gatilho quimiorreceptora (na área postrema) e no núcleo do trato solitário do centro do vômito (JORDAN; SCHMOLL; AAPRO, 2007).

Após exposição à radiação ou agentes citotóxicos, a serotonina (5-HT) é liberada e ativa os receptores 5-HT₃ resultando numa severa resposta emética (JORDAN; SCHMOLL; AAPRO, 2007).

3.1.2 Ondansetrona

A ondansetrona foi sintetizada em 1983 na forma de sal cloridrato diidratado. Desde 1986 a ondansetrona é estudada para a profilaxia de náusea e vômito induzido por fármacos antineoplásicos. Este fármaco é o primeiro da classe dos antagonistas seletivos dos receptores de serotonina (5-HT₃), e foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em janeiro de 1991 (CHAFFE; TANKANOW, 1991; SIMPSON; HICKS, 1996).

A ondansetrona é mais eficaz do que a metoclopramida na prevenção de náusea e vômito induzidos por agentes quimioterápicos durante a fase aguda, que dura 24 horas após o início da quimioterapia. Não causa efeitos adversos extrapiramidais, pois não apresenta atividade antagonista sobre o receptor da dopamina (KOROLKOVAS, 2004).

3.1.2.1 Propriedades físico-químicas

Do ponto de vista químico a ondansetrona é um derivado da carbazolona ligada a grupo imidazolimetílico. Possui estrutura similar a da serotonina (Figura 1 e 2), apresenta um centro assimétrico e mistura racêmica 1:1 de enantiômeros D e L (CHAFFE; TANKANOW, 1991; SIMPSON; HICKS, 1996).

A ondansetrona é denominada quimicamente por: 1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-[(2-metil-1*H*-imidazol-1-il)metil]-4*H*-carbazol-ona (CHAFFE; TANKANOW, 1991).

A ondansetrona base é um pó de branco e praticamente insolúvel em água. Sua fórmula é $C_{18}H_{19}N_3O$ (base) com peso molecular de 293,4 g/mol. (GLAXOSMITHKLINE, 2006).

Figura 1. Estrutura química da ondansetrona (base livre)

Figura 2. Estrutura química da serotonina

Sob a forma de sal, o cloridrato de ondansetrona diidratado é um pó branco, solúvel em água à temperatura ambiente (~32 mg/mL) ou solução salina (~8 mg/mL) formando uma solução límpida. O ponto de fusão é de 177°C (CHAFFE; TANKANOW, 1991; GLAXOSMITHKLINE, 2006).

A ondansetrona é um fármaco pouco solúvel e altamente permeável, pode-se assim dizer que se enquadra no grupo II da Classificação Biofarmacêutica. Neste caso a dissolução pode ser um passo limitante da velocidade de absorção e uma correlação *in vitro-in vivo* pode ser esperada (UNITED STATES, 2000).

3.1.2.2 Mecanismo de ação

Atua como antagonista competitivo altamente seletivo dos receptores pós-sinápticos da serotonina (5-HT₃). Estes receptores estão presentes em zona de gatilho, centro do vômito, núcleo do trato solitário, vias vagais envolvidas na gênese da êmese, estômago e intestino (BRANDÃO, 2004).

Os fármacos emetogênicos e a radioterapia provocam a liberação de serotonina, que passa a estimular os receptores serotoninérgicos e o centro do vômito. Assim, bloqueando-se estes receptores, a ondansetrona impede a ação da serotonina e inibe o reflexo de vômito (KOROLKOVAS, 2004).

A ondansetrona pode ser administrada pela via oral ou intravenosa na prevenção de êmese induzida pela quimioterapia em pacientes que receberam cisplatina e outros agentes anti-neoplásicos como o doxorubicina, metotrexato e vincristina (DRUG INFORMATION, 2004; SIMPSON; HICKS, 1996).

3.1.2.3 Farmacocinética

Ondansetrona é total e rapidamente absorvida por transporte passivo no trato gastrointestinal. Atinge o pico de concentração de 26 ng/mL (BOZIGIAN et al., 1994) em aproximadamente uma hora e meia (JANN et al., 1998), com biodisponibilidade de cerca de 60-70% (ROJANASTHIEN et al., 1999). Possui metabolismo de primeira passagem, eliminando cerca de 30-40% do fármaco através desta via (SIMPSON; HICKS, 1996).

O volume de distribuição aparente no estado de equilíbrio (V_d^{ss}) em voluntários sadios jovens é aproximadamente 1,8 L/kg, o que mostra a alta

lipossolubilidade da ondansetrona. A ondansetrona encontra-se na forma ionizada (67%) no pH sanguíneo. Aproximadamente 70-76 % da ondansetrona liga-se às proteínas plasmáticas, o restante do fármaco circulante se distribui nos eritrócitos (SIMPSON; HICKS, 1996; KOROLKOVAS, 2004).

A ondansetrona é principalmente eliminada do organismo por meio de metabolismo hepático (95%) e neste processo estão envolvidas enzimas do citocromo P450, particularmente CYP2D6 e CYP3A4. Este fármaco sofre biotransformação hepática extensiva, primeiramente por hidroxilação em metabólito indólico 7- e, principalmente, 8-hidroxiondansetrona, seguida por conjugação como sulfato ou glicuronídico. Em adultos, sua meia-vida de eliminação é de aproximadamente 4 horas, e em pacientes com menos de 15 anos é cerca de 2,4 horas (BOZIGIAN et al., 1994; HSYU et al., 1994a; KOROLKOVAS, 2004; ROJANASTHIEN, et al., 1999). A meia-vida é significativamente prolongada em pacientes com insuficiência hepática moderada ou grave (KOROLKOVAS, 2004).

Aproximadamente 40% da ondansetrona é metabolizada no produto de biotransformação ativo 8-hidroxiondansetrona que não é detectado no plasma, pois é rapidamente conjugado no fígado.

Menos de 5% do fármaco absorvido é excretado inalterado na urina. A depuração plasmática é de 0,381 a 0,263 L/h/kg, com valores menores em pessoas idosas (KOROLKOVAS, 2004).

3.1.2.4 Indicações, usos e posologia

A ondansetrona é indicada para a profilaxia de náusea e vômito induzidos por quimioterápicos citotóxicos, incluindo doses altas de cisplatina, e radioterapia. Este

fármaco é também indicado para prevenção e tratamento de náusea e vômitos do pós-operatório (KOROLKOVAS, 2004; DRUG INFORMATION, 2004).

O potencial antiemético desse fármaco nos tratamentos do câncer varia de acordo com as doses e combinações dos regimes de quimioterapia e radioterapia usados. A dose comumente administrada em adultos, por via oral, é de 8 mg, 1 a 2 horas antes da quimioterapia, e 8 mg a cada 8 horas durante 5 dias após a quimioterapia. Em quimioterapias altamente emetogênicas, a dose inicial, por via intravenosa, deve ser de 8 mg administrados lentamente, começando 30 minutos antes da quimioterapia (KOROLKOVAS, 2004).

3.2 Medicamentos no Brasil

3.2.1 Histórico

Para a promoção do acesso aos medicamentos, foi adotada no Brasil a política de medicamentos genéricos, que são, em geral, mais baratos que os medicamentos inovadores (DIAS; ROMANO-LIEBER, 2006). Este programa criado em 1999 com a publicação da Lei 9.787, deu-se três anos após a promulgação da lei das patentes. Quatro anos depois da criação da Lei 9.787, os genéricos já se encontravam disponíveis em mais de 4 mil apresentações, abrangendo as principais classes terapêuticas e atendendo a mais de 60 % das necessidades de prescrições médicas (PRÓ-GENÉRICOS, 2007).

No Brasil, a legislação dos genéricos foi estabelecida com base nas legislações dos Estados Unidos e a do Canadá, onde os genéricos estão consolidados e detêm a confiança da população e classe médica, além de uma parcela significativa no mercado (PRÓ-GENÉRICOS, 2007). A introdução dos medicamentos genéricos no país teve a finalidade de disponibilizar medicamento

não apenas por menor preço e sim com qualidade assegurada (STORPIRTIS et al, 1999).

Conforme determina a Lei 9.787, esses medicamentos só podem chegar ao consumidor após a equivalência terapêutica, ou seja, depois de passarem por testes de bioequivalência realizados em seres humanos (os quais garantem que os genéricos serão absorvidos na mesma concentração e velocidade correspondentes aos medicamentos de referência) e de equivalência farmacêutica (que garante que a composição do produto é idêntica ao do medicamento de referência que lhe deu origem, ou seja, mesmo princípio ativo, na mesma dosagem e forma farmacêutica) (PRÓ-GENÉRICOS, 2007).

Após a introdução do medicamento genérico e das ações para sua consolidação, surgiu uma série de mudanças no mercado brasileiro de medicamentos com a publicação de resoluções pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). As novas regras visam aumentar a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos já na linha de produção, em acordo com padrões internacionais (ANVISA, 2003; RUMEL; NISHIOKA; SANTOS, 2006).

Assim, em 2003, foram publicadas resoluções que estabeleciam novos critérios para adequação dos medicamentos similares já registrados (BRASIL, 2003a). A partir da publicação da resolução RDC nº 133 de 29 de maio de 2003, os medicamentos similares, para ter o registro concedido pela ANVISA, devem ser submetidos a testes de biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica assim como os medicamentos genéricos (ANVISA, 2003).

A denominação “estudo de biodisponibilidade relativa” foi adotada apenas para diferenciar as provas realizadas para medicamentos similares daquelas realizadas para medicamentos genéricos, embora os estudos de biodisponibilidade

relativa e de bioequivalência sejam planejados e conduzidos de forma idêntica (KOONO, 2005).

3.3 Intercambialidade de medicamentos

3.3.1 Introdução dos conceitos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos

O termo biodisponibilidade surgiu, na década de 70, devido publicações na literatura relatando diferenças nas curvas de decaimento plasmático após administração a voluntários sadios de quatro formulações contendo digoxina, em um estudo cruzado. No entanto, antes desta constatação, já haviam trabalhos publicados anteriormente relacionados à absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas (MARZO; BALANT, 1995; PORTA, 1999). Assim, a ineficácia clínica, além de episódios de intoxicação observados com o uso de alguns medicamentos, fez com que os pesquisadores dessem importância as investigações relacionadas à biodisponibilidade de produtos farmacêuticos e motivaram estudos promovidos pela Food and Drug Administration (FDA-USA), que resultaram na regulamentação de critérios relacionados a estudos de biodisponibilidade e bioequivalência (STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995; SERRA, 1998).

No Brasil, a publicação do Decreto 793 de 1993, que trata da denominação genérica dos medicamentos, ocasionou a discussão sobre a bioequivalência de produtos considerados similares por conterem o mesmo princípio ativo, mesma dose e mesma forma farmacêutica (STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995). Na prática, esse Decreto visava permitir a substituição de medicamentos nas farmácias,

possibilitando ao consumidor escolher pelo medicamento de menor custo dentre os similares do mercado (STORPIRTIS et al., 1999). Entretanto, naquela época, ainda não se dispunha de mecanismos de vigilância adequados para exercer fiscalização dos medicamentos. Assim, medicamentos ineficazes eram comercializados livremente, trazendo riscos à saúde para quem os utilizava (FERRAZ, 1997).

Apenas em 1999, com a publicação da Lei nº 9.787, iniciou-se uma política de medicamentos genéricos, a qual já estava estabelecida em vários países. Esta Lei colaborou para a definição de conceitos importantes sobre o tema. Assim sendo, a partir disso, ressaltou-se a importância do conhecimento da influência dos fatores biofarmacotécnicos sobre a liberação e absorção de fármacos e, portanto, sobre sua eficácia e segurança no uso clínico (STORPIRTIS et al., 1999).

3.3.2 Equivalência terapêutica

A intercambialidade entre medicamentos pode ser realizada quando há comprovação de equivalência farmacêutica (ou seja, contém o mesmo fármaco, mesma base, sal ou éster da mesma molécula ativa) e bioequivalência (mesma biodisponibilidade), podendo assim, serem considerados equivalentes terapêuticos desde que seja comprovada segurança e eficácia.

A equivalência terapêutica entre um produto teste e o produto referência pode ser demonstrada por meio de comparação farmacocinética, após administração de ambos. Este procedimento é adotado em substituição aos ensaios clínicos, baseando-se no princípio que perfis semelhantes de concentração plasmática do fármaco *versus* o tempo fornecerão resultados similares em termos de eficácia e segurança (GLEITER et al., 1998).

Portanto, o objetivo de um estudo de bioequivalência ou biodisponibilidade relativa é identificar equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas que serão utilizados de forma intercambiável, para o mesmo efeito terapêutico (CHOW; LIU, 2000).

A EMEA (European Medicines Agency) (EUROPEAN AGENCY FOR EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, 2001) considera dois produtos farmacêuticos como equivalentes terapêuticos quando contêm o mesmo princípio ativo e, clinicamente, apresenta a mesma eficácia e segurança do produto cuja eficácia e segurança tenham sido estabelecidas.

Para a ANVISA (BRASIL, 2007a) dois medicamentos são considerados terapeuticamente equivalentes se eles forem equivalentes farmacêuticos e, após administração na mesma dose molar, seus efeitos em relação à eficácia e segurança forem essencialmente os mesmos, o qual se avalia através de estudos de bioequivalência apropriados, ensaios farmacodinâmicos, ensaios clínicos ou estudos *in vitro*.

3.3.3 Definições

3.3.3.1 Biodisponibilidade

A biodisponibilidade é definida pelo FDA (Food and Drug Administration) (UNITED STATES, 2003) como velocidade e extensão pela qual o princípio ativo é absorvido a partir de uma forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação.

Segundo a EMEA (EUROPEAN AGENCY FOR EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, 2001) a biodisponibilidade significa a velocidade e

extensão pela qual o princípio ativo é absorvido a partir de uma forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação. No entanto, a maioria dos fármacos exibe efeito terapêutico sistêmico, onde cabe uma definição mais prática, levando em consideração que a substância na circulação está em contínua troca com a substância no local de ação: a biodisponibilidade refere-se na velocidade e extensão pela qual o princípio ativo é liberado da forma farmacêutica e torna-se disponível na circulação sistêmica.

Para a ANVISA (BRASIL, 2007a) a biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma farmacêutica, a partir de sua curva “concentração *versus* tempo” na circulação sistêmica ou excreção urinária.

3.3.3.2 Biodisponibilidade absoluta

A biodisponibilidade absoluta consiste na fração da dose administrada que é efetivamente absorvida pelo organismo (STORPIRTIS et al., 1999), permitindo assim, avaliar o interesse de uma via de administração relativamente à via intravenosa (AIACHE, 1997).

Esta é determinada pela relação da área sob a curva de concentrações plasmáticas após administração do princípio ativo pela via escolhida na área sob a curva obtida após administração pela via intravenosa, pois neste caso, a biodisponibilidade é de 100% (AIACHE, 1997).

3.3.3.3. Biodisponibilidade relativa

A ANVISA (BRASIL, 2007b) define biodisponibilidade relativa como o quociente da quantidade e velocidade de princípio ativo que chega à circulação sistêmica a partir de uma administração extravascular de um determinado produto e a quantidade e velocidade de princípio ativo que chega à circulação sistêmica a partir da administração extravascular de um produto referência que contenha o mesmo princípio ativo.

Este termo foi introduzido no Brasil para diferenciar a denominação do produto teste, pois, a partir de 2003 os estudos de biodisponibilidade relativa passaram a ser requisitos obrigatórios aos produtos similares disponíveis no mercado brasileiro (BRASIL, 2003a).

3.3.3.4 Bioequivalência

O FDA (UNITED STATES, 2003) define bioequivalência como a ausência de diferença significativa na velocidade e extensão pela qual o princípio ativo presente em equivalentes ou alternativas farmacêuticas torna-se disponível no local de ação quando administrado na mesma dose molar e sob condições similares em um estudo apropriadamente desenhado.

Para a EMEA, dois produtos são considerados bioequivalentes se forem equivalentes ou alternativas farmacêuticas, cujas biodisponibilidades, após administração de uma mesma dose molar forem semelhantes de forma a garantir os mesmos efeitos em relação à eficácia e segurança (EUROPEAN AGENCY FOR EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, 2001).

Segundo ANVISA (BRASIL, 2007a) dois medicamentos são considerados bioequivalentes se forem equivalentes farmacêuticos, que ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade.

3.3.3.5 Equivalentes farmacêuticos

O FDA (UNITED STATES, 2004) e a ANVISA (BRASIL, 2007a) define equivalentes farmacêuticos como medicamentos que contêm o mesmo fármaco, na mesma quantidade e forma farmacêutica, não necessariamente contendo os mesmos excipientes. Devem ainda, cumprir com as especificações farmacopeicas ou outros padrões aplicáveis de qualidade, relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando for o caso.

Segundo a EMEA (EUROPEAN AGENCY FOR EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, 2001), produtos farmacêuticos são considerados equivalentes farmacêuticos quando estes contêm a mesma quantidade de princípio(s) ativo(s) na mesma forma farmacêutica e que tenham requisitos de qualidade iguais ou comparáveis.

3.3.3.6 Alternativas farmacêuticas

O FDA (UNITED STATES, 2004) define alternativas farmacêuticas como produtos que contêm o mesmo fármaco, ou seu precursor, não estando

necessariamente na mesma quantidade nem no mesmo sal ou éster ou forma farmacêutica.

De acordo com a EMEA (EUROPEAN AGENCY FOR EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, 2001), os produtos farmacêuticos são considerados alternativas farmacêuticas se apresentam o mesmo princípio ativo, mas com diferente forma química (sal ou éster) e diferente forma farmacêutica ou teor.

Para a ANVISA (BRASIL, 1999), 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. Deve cumprir, individualmente, com as especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira e, na ausência destas, com as de outros códigos autorizados pela legislação vigente ou, ainda, com outros padrões aplicáveis de qualidade, relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando for o caso.

3.3.3.7 Medicamento inovador

Define-se como medicamento inovador, aquele medicamento composto por pelo menos um fármaco que tenha sido objeto de patente, mesmo já extinta, por parte da empresa responsável por seu desenvolvimento e introdução no mercado do país de origem, ou aquele medicamento que foi o primeiro a descrever um novo mecanismo de ação, ou ainda, aquele definido pela ANVISA que tenha comprovado eficácia, segurança e qualidade (BRASIL, 2007a e b).

3.3.3.8 Medicamento referência

O medicamento referência é um medicamento inovador comercializado no país, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (BRASIL, 2007a e b).

3.3.3.9 Medicamento similar

Medicamento similar é aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, na mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e é equivalente ao medicamento 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, 2007a).

3.3.3.10 Medicamento genérico

Define-se como medicamento genérico, um medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB (Denominação Comum Brasileira) ou na sua ausência, pela DCI (Denominação Comum Internacional) (BRASIL, 2007a).

3.4 Formas farmacêuticas sólidas: comprimidos de liberação convencional versus comprimidos de desintegração oral

As alterações na biodisponibilidade ocorrem com as formas farmacêuticas sólidas (cápsulas, comprimidos, comprimidos revestidos e drágeas), devido aos excipientes e à tecnologia empregada (FERRAZ, 1997). As cápsulas de gelatina mole apresentam dissolução e liberação mais rápida, pois veiculam fármacos em solução ou em suspensão. A biodisponibilidade dos fármacos veiculados em cápsulas de gelatina dura é, geralmente, melhor ou igual àquela obtida pela administração em comprimidos, pois apresentam partículas de fármacos não submetidos aos processos de compressão. O fato das cápsulas de gelatina dissolverem-se rapidamente nos líquidos do TGI promove a dispersão do seu conteúdo o que favorece a dissolução do fármaco. Entretanto, a velocidade de dissolução é dependente de uma série de fatores, como, solubilização do invólucro de gelatina, velocidade dos processos de desintegração e dissolução do conteúdo da cápsula (SERRA, 1998).

Os comprimidos são as formas farmacêuticas sólidas que mais apresentam problemas de biodisponibilidade. Para haver liberação do fármaco são necessárias as etapas de desagregação, desintegração e dissolução, por isso, nesta a liberação a partir de sua forma farmacêutica constitui um processo relativamente complexo, sendo de fundamental importância o desenvolvimento farmacotécnico e controle de qualidade neste tipo de formulação. A utilização dos excipientes (diluente, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes, tensoativos etc.), à tecnologia de produção (compressão direta, granulação por via úmida ou seca) e força de

compressão podem interferir consideravelmente na biodisponibilidade dos fármacos (FERRAZ, 1997; SERRA, 1998; CONSIGLIERI et al., 2000).

Embora o comprimido seja a forma farmacêutica mais sujeita aos problemas de biodisponibilidade, estes são as formas de maior popularidade, pois resumem vantagens de facilidade de administração, além de segurança na dosagem (SERRA, 1998). Assim, fica clara a importância do controle de qualidade destas formas farmacêuticas.

Os comprimidos de liberação convencional são formas farmacêuticas sólidas contendo princípios ativos, normalmente preparadas com o auxílio de adjuvantes farmacêuticos (excipientes), e podem variar em tamanho, forma, peso, espessura, características de desintegração. Estes são administrados pela via oral, com auxílio de água, e muitos são preparados com corantes e revestimentos de vários tipos (ANSEL, 2000).

Os revestimentos podem ser de açúcar colorido ou incolor, sendo estes chamados de drágeas, ou por película, podendo ser hidrossolúvel ou não. Os principais motivos do revestimento dos comprimidos são: proteção do princípio ativo contra a exposição destrutiva ao ar e/ou umidade; mascarar o sabor do fármaco quando é deglutido; proporcionar características especiais de liberação do fármaco (por exemplo, revestimentos entéricos); melhorar a estética e proporcionar peculiaridades distintivas ao produto (ANSEL, 2000).

Comprimidos de desintegração oral são formas farmacêuticas sólidas que dissolvem ou desintegram na cavidade bucal sem a necessidade de água ou mastigação (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000).

Este tipo de formulação é utilizado como alternativa para pacientes que têm dificuldade na deglutição de comprimidos ou líquidos, como por exemplo, idosos,

crianças ou pacientes sob tratamento de quimioterápicos, que podem apresentar um quadro de náusea que dificulta a administração de comprimidos convencionais, feita normalmente com o emprego de um copo de água, e principalmente àqueles com tumores na região bucal e esôfago. Quando colocado na língua, este comprimido se desintegra instantaneamente, liberando o fármaco, que dissolve ou dispersa na saliva (BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

Esta forma farmacêutica tem vantagem em relação aos comprimidos de liberação convencional, pois o paciente pode fazer a administração do medicamento a qualquer hora, e em qualquer lugar, assim que o sintoma aparecer. E ainda, presume-se a melhora da adesão ao tratamento, devido à facilidade da administração do comprimido de desintegração oral e a conveniência de tomar a medicação a qualquer momento, sem a necessidade de água (BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

As classes terapêuticas onde os comprimidos de desintegração são mais empregados estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Aplicação dos comprimidos de desintegração oral (BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006)

<i>Grupo de pacientes</i>	<i>Classe Terapêutica</i>
Pediátricos	Antibióticos
	Anti-asmáticos
	Anti-alérgicos
	Analgésicos
	Antidepressivos
Adultos e Idosos	Anti-parkinsonianos
	Antienxaqueca
	Fármacos para Alzheimer
	Antieméticos
	Anticancerígenos
	Antidiabéticos
	Antiretrovirais
	Antiúlceras
	Antipsicóticos
	Cardiovasculares
	Antialérgicos
	Analgésicos

Para uma formulação de comprimido de desintegração oral há alguns desafios a serem ultrapassados, os quais serão descritos a seguir:

- Sabor do princípio ativo:

A maioria dos princípios ativos possui sabor amargo, sendo assim, a utilização de ingredientes para mascarar o sabor do princípio ativo torna-se uma etapa crítica para a aceitação do paciente. Estes ingredientes podem ser flavorizantes e edulcorantes. Para princípios ativos extremamente amargos, o mascaramento pode ser feito através da utilização de resinas de troca iônica para

torná-los insolúveis na saliva. Ou ainda, o mascaramento do sabor, pode ser realizado através de técnicas de microencapsulação, onde partículas são cobertas por polímeros através de revestimento por pulverização. O revestimento deve ser específico para impedir que as partículas do fármaco entrem em contato com a saliva, promovendo o sabor amargo, porém sem afetar a dissolução (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000).

- Dose:

Quando altas doses são requeridas, além da preocupação em mascarar o sabor do princípio ativo, ainda deve-se levar em consideração o tamanho do comprimido. A quantidade requerida de ingredientes para mascarar o sabor depende do quanto o princípio ativo é amargo. Como mencionado anteriormente, os fármacos são revestidos, o que resulta em um aumento do tamanho da partícula. Assim, o tamanho do comprimido dependerá da dose e da quantidade de revestimento necessária para mascarar o sabor (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000; BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

- Sensibilidade da forma farmacêutica:

Muitas destas formulações são instáveis à temperatura ambiente e às condições de umidade. Então, a maioria dessas formas farmacêuticas necessita de embalagens especiais para proteger o produto da umidade (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000).

- Friabilidade

Com a finalidade de diminuir o tempo de desintegração/dissolução do comprimido, estas formas farmacêuticas são muito porosas e compactadas em baixa força de compressão. Isto pode tornar o comprimido mais friável do que os comprimidos convencionais, e assim, necessitam de “blisters” especializados (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000; BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

3.5 Estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de formas farmacêuticas contendo ondansetrona

Existem descritos na literatura vários estudos relacionados à biodisponibilidade e alguns estudos relacionados à bioequivalência deste fármaco. Hsyu et al. (1994a) compararam a biodisponibilidade e farmacocinética da ondansetrona sob diferentes vias de administração (via intravenosa, oral, nasogástrica e retal). A biodisponibilidade absoluta observada pela via oral foi de 71 %, pela via nasogástrica, 74 % e pela via retal 58 %. Em outro trabalho Hsyu et al. (1994b) avaliaram a biodisponibilidade de comprimidos de 8 mg de ondansetrona em pacientes com câncer e sob tratamento de quimioterapia. Após dose oral, a biodisponibilidade absoluta obtida foi em torno de 85 a 87 %, concluindo assim, que a biodisponibilidade oral da ondansetrona aparenta ser maior em pacientes com câncer do que em sujeitos saudáveis.

O efeito da alimentação e uso concomitante com antiácidos foi descrito por Bozigian et al. (1994) em um estudo com 12 voluntários do sexo masculino entre 18 e 40 anos. Os autores observaram um ligeiro aumento no parâmetro $ASC_{0-\infty}$ após alimentação dos voluntários. O C_{max} também foi maior após alimentação. A

ondansetrona é uma base fraca ($pK_a = 7,4$), assim, teoricamente, sua solubilidade estaria reduzida em $pH \geq 6$. No entanto, observou-se neste estudo que a administração da ondansetrona juntamente com antiácidos (hidróxido de magnésio/hidróxido de alumínio) não afetou significativamente a biodisponibilidade da mesma. Os autores concluem então, que não há indicação de que a presença de alimentos ou de antiácidos altere a biodisponibilidade da ondansetrona.

Resultados relevantes foram obtidos por Figg et al. (1996) ao ser investigada a farmacocinética da ondansetrona em pacientes com insuficiência hepática. Neste trabalho foi observado que, após dose única de ondansetrona por via oral, a biodisponibilidade aumenta acentuadamente conforme maior o nível de insuficiência hepática, sugerindo-se uma redução do efeito de primeira passagem nestes pacientes. Assim, pacientes com insuficiência hepática devem ter dose limitada de ondansetrona de 8 mg ao dia.

A farmacocinética de três formulações de ondansetrona (comprimido 24 mg, supositório 24 mg e infusão intravenosa) foi avaliada por VanDenBerg et al. (2000) em 12 voluntários sadios, observando-se que a biodisponibilidade da formulação de supositório, foi ligeiramente mais baixa que a de comprimidos.

Manupat et al. (2002) conduziram um estudo de bioequivalência de duas formulações contendo 8 mg de ondansetrona em 14 voluntários tailandeses do sexo masculino. Os parâmetros farmacocinéticos foram determinados utilizando modelo monocompartimental. O t_{max} obtido foi de 2,6 h para o produto referência e 2,2 h para o produto teste. O C_{max} do produto referência foi de 49,5 ng/mL e do produto teste 48,5 ng/mL. A ASC obtida foi de 352,2 ng x h/mL para o produto referência e 323,8 ng x h/mL para o produto teste. Devido o intervalo de confiança encontrado estar entre 80 e 125 %, os produtos foram considerados bioequivalentes.

A bioequivalência de comprimidos contendo 8 mg de ondansetrona comercializados na Korea foi avaliada por Shin et al. (2003) em um estudo com 18 voluntários sadios do sexo masculino e obtiveram diferença de cerca de 5 % em ASC, C_{max} e t_{max} . O intervalo de confiança para t_{max} não ficou entre os ± 20 %, mas no teste ANOVA com transformação logarítmica a diferença para C_{max} e ASC ficou dentro do intervalo aceito, de 80 a 125 %. No entanto, como os parâmetros ASC e C_{max} satisfazem o critério da agência reguladora da Coreia (Korea Food and Drug Administration – KFDA), os autores concluem que os produtos analisados são considerados bioequivalentes.

Com o objetivo de comparar a biodisponibilidade relativa de cápsulas *versus* solução contendo 4 mg de ondansetrona, Lam et al. (2004) conduziram um estudo com 16 voluntários sadios. Os autores concluíram que não houve diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos entre as d formulações.

Para os produtos farmacêuticos contendo ondansetrona comercializados no Brasil, até o presente momento, não foram identificados estudos comparativos da biodisponibilidade entre os mesmos em literatura. Considerando-se que este fármaco tem uma importante utilização nos pacientes que recebem quimioterápicos, torna-se essencial um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência destes produtos.

3.5.1 Aspectos analíticos da ondansetrona nos líquidos biológicos

Vários trabalhos têm descrito a análise da ondansetrona em líquidos biológicos através de cromatografia líquida de alta eficiência (DOTSIKAS et al.,

2006; CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; XU et al., 2000; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997).

Os métodos descritos na literatura empregam colunas de fase reversa C18, como fase estacionária. A maioria utiliza como fase móvel acetonitrila, em diferentes proporções, com tampão (fosfato, acetato) (CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; XU et al., 2000; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997). O tempo de retenção descrito na literatura varia muito, sendo de 1,25 a 16,2 minutos. Dotsikas et al. (2006), obtiveram tempo de retenção de 1,25 minutos e tempo total de corrida de 2,0 minutos utilizando coluna de 5 cm de comprimento.

Com relação ao processo de extração, alguns autores utilizam extração em fase sólida (XU et al., 2000; LIU; STEWART, 1997). No entanto este processo é caro e necessita de vários passos para a extração de ondansetrona. Outros utilizam grandes volumes de solvente, sendo éter, diclorometano ou acetato de etila (CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; DÉPÔT et al., 1997). Apenas um artigo, onde utilizou-se processo de extração semi-automatizado, extrai a ondansetrona com pequeno volume (600 µL) de solvente (DOTSIKAS et al., 2006).

A maioria dos estudos utiliza cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção ultravioleta (UV) (CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997) em comprimento de onda de 305 nm e outros utilizam cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) (DOTSIKAS et al., 2006; XU et al., 2000).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CAPÍTULO I – Etapa Clínica: Ensaio de Bioequivalência

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 Amostras

Foram avaliadas amostras de comprimidos contendo 8 mg de ondansetrona, sendo que o produto referência encontrava-se sob a forma de comprimido de liberação convencional e o produto teste sob a forma de comprimido de desintegração oral, provenientes de dois laboratórios farmacêuticos distintos, conforme descrito abaixo:

→ Laboratório Biolab Sanus Farmacêutica

Vonau[®] *flash* comprimido de desintegração oral contendo 8 mg de ondansetrona (Produto TESTE).

Lote: 604718, com validade até abril de 2008.

→ Laboratório Glaxo Smithkline

Zofran[®] comprimidos de liberação convencional contendo 8 mg de ondansetrona (Produto REFERÊNCIA).

Lote: R207186V, com validade até setembro de 2008.

4.1.1.2 Materiais médico-hospitalares

Foram utilizados os seguintes materiais médico-hospitalares:

- Seringas descartáveis BD (Becton Dickinson – São Paulo, SP) 5 e 10 mL;
- Agulhas descartáveis BD (Becton Dickinson – São Paulo, SP) 25 x 7 e 40 x 12;
- Escalpe BD (Becton Dickinson – São Paulo, SP) 21G;
- Escalpe Safe-t-intima® BD (Becton Dickinson – São Paulo, SP) 20G;
- Heparina sódica frasco-ampola 5000 UI;
- Algodão hidrófilo não-estéril Cremer (Blumenau, SC);
- Soro fisiológico 0,9%;
- Luvas para procedimento não-estéreis;
- Tubos para coleta de sangue Vacutainer® (Becton Dickinson – São Paulo, SP) de 10 mL contendo heparina.

4.1.1.3 Equipamentos

- Centrífuga Heraeus (São Paulo, SP), Megafuge 2.0 D37520

4.1.2 Avaliação da bioequivalência entre os medicamentos teste e referência

O protocolo clínico do ensaio de bioequivalência foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (ANEXO A) e do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (ANEXO B).

4.1.2.1 Casuística

O estudo foi realizado em humanos, de acordo com as normas internacionais para ensaios dessa natureza, com o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência e com a Resolução RE 1170, “Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos” (BRASIL, 2006).

Todos os indivíduos foram devidamente informados sobre as características da pesquisa e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO C), em duas vias, das quais uma permaneceu em poder do indivíduo. Foram realizados esclarecimentos aos voluntários sobre o ensaio e a obtenção dos termos de consentimento.

Para tratamento dos dados, os voluntários foram identificados apenas por códigos, garantindo sua privacidade e a confidencialidade dos dados obtidos.

Foram selecionados para este estudo, 24 voluntários sadios, sendo 12 do sexo masculino e 12 do sexo feminino, dos quais 23 concluíram a etapa clínica. As características dos voluntários selecionados para a etapa clínica estão descritas na Tabela 2. Um voluntário do sexo feminino foi excluído do estudo, logo na primeira fase, por apresentar resultado positivo no teste rápido de gravidez, feito na manhã do ensaio.

A seleção dos voluntários foi realizada conforme os critérios de inclusão a seguir:

- não fumantes ou fumantes até 10 cigarros/dia;
- idade entre 21 e 45 anos;

- peso dentro da faixa de peso ideal $\pm 15\%$, calculado pela fórmula Peso Ideal = $0,9 (H-100)$ para voluntário do sexo feminino e Peso Ideal = $H-100$, para voluntários do sexo masculino (Peso Ideal em kg e H = altura do voluntário em cm);
- sem antecedentes de hipersensibilidade a medicamentos;
- ausência de tratamento medicamentoso;
- bom estado de saúde e ausência de patologias cardíacas, gastrointestinais, neurológicas ou metabólicas atestados por resultados dentro dos limites de normalidade em exames laboratoriais:
 - hemograma completo;
 - uréia;
 - creatinina;
 - fosfatase alcalina;
 - glicemia;
 - bilirrubina total;
 - proteínas totais e albumina;
 - transaminase oxalacética e pirúvica (TGO e TGP);
 - ácido úrico;
 - colesterol total;
 - triglicérides;
 - urina tipo I;
 - sorologia para HIV, hepatite B (HBs) e hepatite C (VHC);
 - eletrocardiograma com doze derivações.

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas e Pesquisas Clínicas Gastão Fleury S/A e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da USP, e o exame clínico e o eletrocardiograma foram realizados no Hospital Universitário da USP.

Todos os exames laboratoriais, exceto a sorologia para HIV, hepatite B e hepatite C, foram repetidos no período pós-estudo.

Na manhã seguinte da internação, dia do ensaio, foi realizado teste rápido de gravidez em urina para os voluntários do sexo feminino.

Os voluntários foram excluídos do estudo nos casos a seguir:

- não cumprimento dos critérios de inclusão;
- ocorrência de mal-estar em função da retirada de amostras de sangue, tal como tontura, queda de pressão ou desmaio;
- ocorrência de reações adversas graves ao medicamento administrado;
- estado de gravidez, atestado por exame laboratorial de β -HCG, ou por teste rápido realizado na internação, para voluntários do sexo feminino;
- lactantes, para voluntários do sexo feminino;
- expressão do desejo de ser excluído do estudo, independentemente de qualquer intercorrência.

Tabela 2 - Características dos 24 voluntários selecionados para o ensaio de bioequivalência. D.P.I = desvio do peso ideal; D.P. = desvio padrão

Voluntário	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (cm)	D.P.I (%)
1	M	23	70,0	172	-2,78
2	M	21	67,5	173	-7,53
3	M	24	63,0	173	-13,70
4	M	24	82,0	180	2,50
5	M	34	72,0	168	5,88
6	M	27	68,0	167	1,49
7	M	27	74,0	182	-9,76
8	M	41	68,0	173	-6,85
9	M	25	73,0	164	14,06
10	M	38	77,0	173	5,48
11	M	40	62,0	166	-6,06
12	M	22	77,0	177	0,00
13	F	32	59,5	161	8,38
14	F	25	59,5	165	1,71
15	F	34	61,0	163	7,58
16	F	29	61,0	163	7,58
17	F	29	50,0	152	6,84
18	F	43	55,5	155	12,12
19	F	39	50,0	152	6,84
20	F	21	57,0	158	9,20
21	F	28	58,0	159	9,23
22	F	32	51,5	157	0,39
23	F	32	68,5	167	13,60
24	F	35	57,0	160	5,56
Média	-	30	64,0	166	-
D.P.	-	6,67	8,91	8,34	-

4.1.2.2 Procedimento do ensaio de bioequivalência

O ensaio foi do tipo aleatório, cruzado, realizado em duas fases formando-se dois grupos, A e B, com igual número de voluntários conforme determinado pela Resolução RE 1170 de 19 de abril de 2006 (BRASIL, 2006).

Na Fase 1 os voluntários do grupo A receberam um comprimido de liberação convencional (correspondente a 8 mg de ondansetrona) de Zofran[®], empregado como produto referência, enquanto que os voluntários do grupo B receberam um comprimido de desintegração oral (correspondente a 8 mg de ondansetrona) de Vonau[®] *flash*, empregado como produto teste. Na Fase 2, realizada após 7 dias (período de *wash out*), o procedimento foi repetido, invertendo-se os grupos, conforme lista randômica, apresentado no Quadro 1. O voluntário 21 foi excluído do estudo por apresentar resultado positivo de gravidez no dia da internação.

Os produtos foram administrados aos voluntários pela manhã, após jejum de 8 horas, e foram ingeridos com auxílio de 250 mL de água (produto referência) ou sem auxílio de qualquer tipo de líquido (produto teste).

Quadro 1. Lista randômica do ensaio de bioequivalência

Voluntário	Sexo	Grupo	Fase 1	Fase 2
1	M	A	R	T
2	M	A	R	T
3	M	B	T	R
4	M	B	T	R
5	M	A	R	T
6	M	A	R	T
7	M	B	T	R
8	M	B	T	R
9	M	A	R	T
10	M	A	R	T
11	M	B	T	R
12	M	B	T	R
13	F	A	R	T
14	F	A	R	T
15	F	B	T	R
16	F	B	T	R
17	F	A	R	T
18	F	A	R	T
19	F	B	T	R
20	F	B	T	R
21	F	A	R	T
22	F	B	T	R
23	F	B	T	R
24	F	A	R	T

T = produto teste (Vonau[®] *flash*);

R = produto referência (Zofran[®]);

O voluntário 21 foi excluído do estudo.

Os voluntários foram internados no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, unidade clínica do BIOFAR – Laboratório de Biofarmacotécnica do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo nos dias 02/05/2007 e 09/05/2007 respectivamente para as Fases 1 e 2 do estudo, aproximadamente às 19:00 horas. Portanto, a internação

ocorreu na noite anterior à data de administração dos medicamentos (dia 03/05/2007 na Fase 1 e dia 10/05/2007 na Fase 2). Os voluntários receberam alta aproximadamente às 8:00 horas dos dias 04/05/2007 na Fase 1 e 11/05/2007 na Fase 2, permanecendo no local da internação por aproximadamente 37 horas em cada fase do estudo. Houve supervisão médica durante todo o período de internação.

Os voluntários foram orientados a não ingerir bebidas alcoólicas, café e outras bebidas ou alimentos contendo xantinas a partir de 48 horas antes da administração do medicamento em cada fase do ensaio. Além disso, foram também orientados a não ingerir qualquer medicamento a partir de uma semana antes do início do ensaio e durante sua realização.

Durante o período de internação foram oferecidas aos voluntários quatro refeições:

- jantar padronizado às 20:00 horas dos dias 02/05/2007 e 09/05/2007;
- almoço padronizado às 11:00 horas dos dias 03/05/2007 e 10/05/2007;
- lanche padronizado às 15:00 horas dos dias 03/05/2007 e 10/05/2007;
- jantar padronizado às 19:00 horas dos dias 03/05/2007 e 10/05/2007;

As refeições padronizadas estão descritas no Quadro 2.

Quadro 2. Dieta oferecida aos voluntários do ensaio clínico

Jantar (<i>internação</i>)	02 e 09/05/07	Almoço	03 e 10/05/07
Arroz Feijão Frango refogado Purê de abóbora Goiaba em calda Suco de abacaxi		Arroz com cogumelo Bife na chapa acebolado Chicória refogada Salada de cenoura ralada Maçã Suco de uva	
Lanche	03 e 10/05/07	Jantar	03 e 10/05/07
Pão francês Margarina Biscoito salgado Biscoito doce Suco de uva		Arroz Estrogonofe de carne Batata assada com ervas Salada de rúcula com tomate cereja Tangerina Suco de caju	

4.1.2.3 Coleta de amostras

Protocolos de estudos de bioequivalência, geralmente recomendam coleta de amostras por um período correspondente a 3 ou 4 meias-vidas de eliminação (PORTA et al., 2008).

Foram coletadas amostras de 10 mL de sangue em tubo contendo heparina nos seguintes intervalos de tempo: 0; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 14,0; 16,0 e 24,0 horas após a administração dos produtos. Assim, foram retirados, de cada voluntário, 180 mL de sangue por etapa e 360 mL no total, ao final do ensaio.

As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 min e o plasma obtido foi transferido a tubos de polipropileno em duplicata congelada a -20°C.

Ao final de cada dia de ensaio (04/05/2007 e 11/05/2007) as amostras foram acondicionadas em caixas com isolamento térmico contendo gelo seco e transportadas até a unidade analítica do BIOFAR.

Todas as amostras foram armazenadas em freezer a - 80°C, onde ficaram até a realização do ensaio de quantificação do fármaco.

4.1.3 Análise sensorial da formulação de comprimidos de desintegração oral

Logo após a administração do medicamento, foi dado aos voluntários um questionário simples (Figura 3), para análise sensorial dos comprimidos de desintegração oral.

BIOFAR LABORATÓRIO DE BIOFARMACOTÉCNICA		
PROJETO: BF 090906	DATA: 03/05/2007	FASE: 1
FÁRMACO: ONDANSETRONA	REFERÊNCIA : ZOFTRAN®	TESTE : VONAU®
QUESTIONÁRIO DA ADMINISTRAÇÃO DE MEDICAMENTO ORIGINAL CONTENDO ONDANSETRONA AOS VOLUNTÁRIOS EM ENSAIO CLÍNICO DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/ BIOEQUIVALÊNCIA		
Identificação do voluntário		
		Nº
Qual o tempo em que o produto sumiu da boca? ☐ menos que 15 segundos ☐ entre 15 e 30 segundos ☐ mais que 30 segundos		
Restou algum resíduo do produto na boca? ☐ sim ☐ não		
Após o uso do medicamento, restou algum sabor na boca? Qual? ☐ amargo ☐ doce ☐ nenhum ☐ outros _____		
Qual a intensidade do sabor que restou? ☐ leve ☐ moderado ☐ forte		
Foi difícil a ingestão do produto sem água? ☐ sim ☐ não		
Horário da administração:		Coordenação BIOFAR:
Administrado por:		

Figura 3. Questionário para avaliação do produto teste

4.2 CAPÍTULO II – Etapa Analítica

4.2.1 Materiais

4.2.1.1 Substâncias químicas de referência

Todas as análises foram realizadas utilizando-se padrão secundário de ondansetrona (cloridrato) lote ON013105, teor de pureza 98,4%, fornecido por Biolab Sanus Farmacêutica Ltda. (Taboão da Serra, SP), com validade até 05/12/2007 e padrão secundário de propranolol (cloridrato) (padrão interno) lote 025/06, teor de pureza 99,39%, fornecido por FUNED (Fundação Ezequiel Dias - Belo Horizonte, MG), com validade até 24/10/2010.

4.2.1.2 Solventes, reagentes e materiais

Foram utilizados os seguintes solventes, reagentes e materiais:

- Água ultrapura obtida em equipamento Millipore (Belford, Nova Jersey, EUA);
- Acetonitrila grau cromatográfico J.T.Baker (São Paulo, SP);
- Acetato de etila grau cromatográfico J.T.Baker (São Paulo, SP);
- Ácido fórmico p.a. J.T.Baker (São Paulo, SP);
- Tampão acetato de amônia p.a. Sigma (São Paulo, SP);
- Plasma branco de voluntários;
- Gelo seco;
- Membranas filtrantes de acetato de celulose regenerado Sartorius (São Paulo, SP) de 47 mm de diâmetro e poro de 0,22 µm;

- Balões volumétricos;
- Provetas;
- Ponteiras descartáveis;
- Tubos de ensaio com rolha esmerilhada de 10 mL;
- Tubos cônicos de 10 mL;
- Coluna cromatográfica Phenomenex[®] (Torrance, CA, EUA), modelo Gemini 5 μ m C18 (150 mm x 4,6 mm);
- Pré-coluna cromatográfica Phenomenex[®] (Torrance, CA, EUA), modelo AJO-4287 5 μ m C18 (5 mm x 4,6 mm).

4.2.1.4 Equipamentos

- Balança analítica Toledo (São Bernardo do Campo, SP), AB 204-S;
- Banho ultrassônico Odontobrás (Ribeirão Preto, SP), 2840D;
- Banho termostático Fisaton (São Paulo, SP), 577;
- Centrífuga Heraeus (São Paulo, SP), Megafuge 2.0 D37520;
- Sistema de filtração a vácuo Sartorius (São Paulo, SP);
- Agitadores de tubos tipo vórtex Phoenix (Araraquara, SP), AP-56;
- Pipeta automática de volume fixo 50 μ L Brand Transferpette (Wertheim, Baden-Württemberg, Alemanha);
- Pipeta automática de volume variável 10-100 μ L Brand Transferpette (Wertheim, Baden-Württemberg, Alemanha);
- Pipeta automática de volume variável 100-1000 μ L Brand Transferpette (Wertheim, Baden-Württemberg, Alemanha);

- Pipeta automática de volume variável 0,5-5 mL Brand Transferpette (Wertheim, Baden-Württemberg, Alemanha);
- Pipetador automático de 0,5 a 5,0 mL Brand Dispensette (Wertheim, Baden-Württemberg, Alemanha);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu (São Paulo, SP), composto por uma bomba quaternária LC-10ADvp, desgaseificador DGU-14, injetor automático de amostras SIL-10ADvp, unidade de controle SCL-10ADvp; detector de massas triplo-quadrupolo de alta eficiência Micromass Quattro LC, Waters (Milford, MA, EUA); Software MassLynx 4.0.

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma

Estão descritos na literatura diversos métodos para quantificação de ondansetrona em plasma através de cromatografia líquida de alta eficiência (DOTSIKAS et al., 2006; CHANDRASEKAR et al., 2004; BAUER et al., 2002; XU et al., 2000; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997). Entretanto, os métodos da literatura apresentam algumas desvantagens em relação: ao tempo da corrida analítica, ao processo de extração que envolve inúmeras etapas, ou ao grande volume de solvente utilizado. Todos estes aspectos dificultam a utilização desses métodos em ensaios de bioequivalência, uma vez que estes exigem um grande número de análises.

No presente trabalho, desenvolveu-se e validou-se um método simples, exato, preciso e adequado para quantificação de ondansetrona em plasma através

de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas.

4.2.2.1.1 Preparo dos padrões

As soluções-padrão de trabalho foram preparadas a partir das soluções estoque de ondansetrona e de propranolol (padrão interno – PI). Todas as soluções foram preparadas em metanol.

Soluções padrão de ondansetrona

- Solução estoque:

Para preparar a solução estoque com concentração de 1000 µg/mL de ondansetrona, quantidade de padrão secundário (31,67 mg) foi pesada analiticamente, e transferida para balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com metanol.

- Solução intermediária 1:

A solução de 50,0 µg/mL (solução intermediária 1) foi preparada transferindo-se 1,25 mL da solução estoque para balão volumétrico de 25 mL e completando-se o volume com metanol.

- Solução intermediária 2:

A solução de 2,0 µg/mL (solução intermediária 2) foi preparada transferindo-se 1 mL da solução intermediária 1 para balão volumétrico de 25 mL e completando-se o volume com metanol.

A partir da solução intermediária 2 (2,0 µg/mL) de ondansetrona foram retiradas alíquotas de 1,25 mL, 3,125 mL e 6,25 mL e transferidas para balão volumétrico de 50 mL. As soluções foram preparadas utilizando como diluente metanol, sendo que as concentrações resultantes foram 50 ng/mL (solução de trabalho 2), 125 ng/mL (solução de trabalho 3) e 250 ng/mL (solução de trabalho 4).

A solução de trabalho 1 (10 ng/mL) foi preparada a partir da solução de 250 ng/mL, retirando-se uma alíquota de 2,0 mL e transferida para balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com metanol.

Soluções padrão de propranolol (PI)

- Solução estoque:

Para preparar a solução estoque, com concentração de 1000 µg/mL de propranolol, quantidade de padrão secundário (28,7 mg) foi pesada analiticamente, e transferida para balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com metanol.

- Solução intermediária:

A solução de 100 µg/mL (solução intermediária) foi preparada transferindo-se 2,5 mL da solução estoque 1 para balão volumétrico de 25 mL e completando-se o volume com metanol.

A partir da solução intermediária (100 µg/mL) de propranolol foi retirada uma alíquota de 250 µL e transferida para balão volumétrico de 50 mL. A solução foi preparada utilizando como diluente metanol, sendo que a concentração resultante foi 500 ng/mL (solução de trabalho).

As soluções-padrão de ondansetrona em metanol, utilizadas para o preparo diário das amostras de plasma padrão da curva de calibração, e propranolol (PI) em metanol, ficaram armazenadas à -20°C e sua estabilidade foi monitorada diariamente durante as corridas analíticas.

4.2.2.1.2 Preparo das amostras de plasma padrão da curva de calibração

As amostras de plasma padrão da curva de calibração foram preparadas diariamente, para garantir a estabilidade das mesmas. A curva de calibração foi preparada a partir das soluções de trabalho de 10 ng/mL, 50 ng/mL, 125 ng/mL e 250 ng/mL de ondansetrona, tomando-se alíquotas adequadas destas e 50 µL da solução de trabalho de propranolol (500 ng/mL) em tubos de ensaio de 10 mL. Em seguida, o solvente foi evaporado em corrente de nitrogênio a 40°C. Foram adicionados 250 µL de plasma branco e as amostras foram homogeneizadas em agitador tipo vórtex por 30 segundos.

O Quadro 3 apresenta as diluições realizadas para obtenção das amostras de plasma padrão da curva de calibração.

Quadro 3. Descrição das quantidades utilizadas de solução-padrão de ondansetrona e de plasma branco para obtenção das amostras de plasma padrão de ondansetrona da curva de calibração

Concentração da solução-padrão de ondansetrona	Alíquota	Volume de plasma branco	Concentração final
10 ng/mL	62,5 µL	250 µL	2,5 ng/mL
50 ng/mL	30 µL	250 µL	6,0 ng/mL
50 ng/mL	50 µL	250 µL	10 ng/mL
50 ng/mL	75 µL	250 µL	15 ng/mL
125 ng/mL	40 µL	250 µL	20 ng/mL
125 ng/mL	70 µL	250 µL	35 ng/mL
250 ng/mL	45 µL	250 µL	45 ng/mL
250 ng/mL	60 µL	250 µL	60 ng/mL

4.2.2.1.3 Preparo das amostras de plasma padrão de controle de qualidade

As amostras de plasma de controle de qualidade foram preparadas em três concentrações e foram designadas de: controle de qualidade baixo (CQB = 7,5 ng/mL); controle de qualidade médio (CQM = 30 ng/mL) e controle de qualidade alto (CQA = 50 ng/mL), a partir de soluções-padrão de trabalho de ondansetrona em metanol.

Transferiram-se alíquotas de solução-padrão de ondansetrona em metanol, conforme descrito no Quadro 4, para balões volumétricos de 50 mL, secando-se o solvente em corrente de nitrogênio a 40°C. Em seguida, adicionou-se lentamente o plasma e homogeneizou-se cuidadosamente para evitar a formação de espuma. Após completar o volume agitou-se vigorosamente para garantir a homogeneização.

Quadro 4. Descrição das quantidades utilizadas de solução-padrão de ondansetrona e de plasma branco para obtenção das amostras de plasma de controle de qualidade

Amostra	Concentração da solução-padrão de ondansetrona	Alíquota	Volume de plasma	Concentração final
CQB	250 ng/mL	1500 µL	50 mL	7,5 ng/mL
CQM	2,0 µg/mL	750 µL	50 mL	30 ng/mL
CQA	2,0 µg/mL	1250 µL	50 mL	50 ng/mL

CQB – controle de qualidade baixo; CQM – controle de qualidade médio; CQA – controle de qualidade alto

Após o preparo, estas amostras foram fracionadas em frascos de polipropileno de 3 mL (o mesmo frasco utilizado para armazenar as amostras obtidas no ensaio *in vivo*), devidamente identificados com a concentração e a data de preparo, e armazenadas em freezer a - 80 °C.

4.2.2.1.4 Procedimento de purificação das amostras

A purificação de padrões da curva de calibração, amostras de plasma branco, amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários que receberam ondansetrona, foi realizada pela técnica de extração líquido-líquido com utilização de solvente orgânico. Adicionaram-se 50 µL de padrão interno (propranolol) em metanol, na concentração de 500 ng/mL em tubos de ensaio, evaporou-se o solvente em corrente de nitrogênio. A seguir 250 µL de plasma foram adicionados aos tubos de ensaio, homogeneizando-se por 30 segundos em agitador de tubos. Extraíu-se o plasma com 2,0 mL de acetato de etila durante 60 segundos em agitador de tubos. Após centrifugação a 3500 rpm durante 10 minutos, colocaram-se os tubos em gelo seco para congelamento da fase aquosa. Transferiu-

se a fase orgânica para tubos cônicos e evaporou-se o solvente sob corrente de nitrogênio a 40 °C. Dissolveu-se o resíduo em 250 µL de fase móvel para injeção no sistema cromatográfico. A Figura 4 apresenta o procedimento de purificação de ondansetrona e do padrão interno (propranolol) presente em amostras de forma esquematizada.

Figura 4. Representação esquemática do procedimento de purificação de amostras de plasma contendo ondansetrona e padrão interno (propranolol)

4.2.2.1.5 Condições para análise cromatográfica

Empregou-se para separação coluna de marca Phenomenex[®], modelo Gemini 5 μ m C18, de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, contendo partículas de 5 μ m e pré-coluna de marca Phenomenex[®] (Torrance, CA, EUA), modelo AJO-4287 C18, de 5 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, contendo partícula de 5 μ m.

A fase móvel foi constituída por mistura de tampão acetato de amônio 0,01 M e acetonitrila, na proporção de 55:45 (v/v), contendo 0,1 % de ácido fórmico. Filtrou-se a solução em membrana filtrante de acetato de celulose regenerado, com diâmetro de 47 mm de diâmetro e poro de 0,22 μ m, desgaseificando-se em banho ultrassônico por 15 minutos.

O fluxo da fase móvel utilizado foi de 0,4 mL/min e a coluna foi mantida em temperatura ambiente.

O sistema cromatográfico foi acoplado a um espectrômetro de massa com *electrospray*-positivo. O equipamento utilizado foi um espectrômetro de massas seqüencial (MS/MS) que utiliza dois estágios de análise de massas. O primeiro serve para pré-selecionar o íon de interesse (íon precursor) e outro para analisar os fragmentos induzidos (íon produto), por colisão com um gás inerte, o argônio.

A sintonia do espectrômetro de massas foi realizada utilizando-se uma solução padrão de ondansetrona e propranolol na concentração de 500 ng/mL com a finalidade de gerar o sinal máximo para o íon precursor.

4.2.2.2 Validação do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma

A validação foi realizada pela determinação de especificidade, recuperação, limite de quantificação, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade pelos critérios estabelecidos pelas diretrizes para validação de métodos bioanalíticos da ANVISA (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.1 Especificidade

Especificidade é definida como a capacidade do método em avaliar inequivocamente o analito na presença de componentes que podem estar presentes nas amostras biológicas, tais como: impurezas, componentes endógenos, metabólitos, produtos de degradação, entre outros (CAUSON, 1997; BRITO et al., 2003).

A especificidade foi investigada através da análise de seis amostras de plasma com a finalidade de verificar a existência de interferência por parte de componentes endógenos, sendo quatro amostras de plasma branco, uma amostra de plasma lipêmico e uma amostra de plasma hemolisado. As seis amostras foram comparadas com uma solução contendo o padrão de ondansetrona em concentração próxima ao limite de quantificação e o padrão interno (propanolol) (BRASIL, 2003b).

As amostras de plasma branco foram obtidas de voluntários sadios após centrifugação do sangue coletado em tubos contendo heparina, como anticoagulante, e isento de padrão de ondansetrona e de padrão interno. O plasma

lipêmico foi obtido da mesma maneira, porém após o voluntário receber uma refeição rica em gordura. O plasma hemolisado foi obtido por meio do congelamento de sangue de voluntários e posterior centrifugação por 10 minutos a 3500 rpm.

4.2.2.2.2 Recuperação

Para toda amostra que recebe um tratamento (diluição, extração, concentração etc.) deve ser calculado experimentalmente o erro ou a perda da espécie em análise. Como o fator de recuperação, o resultado fica mais próximo da realidade analítica, pois a recuperação reflete a quantidade de determinado analito recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra (LEITE, 1998; BRITO et al., 2003).

Considera-se como recuperação absoluta àquela que avalia eficiência de extração e efeito da matriz na resposta do detector, na qual se compara a resposta obtida após a extração com aquela obtida pela análise da mesma quantidade de analito adicionada diretamente ao solvente utilizado para reconstituição de amostras extraídas. Considera-se como recuperação relativa a comparação da amostra extraída com a solução de mesma concentração da amostra extraída. Dessa maneira pode-se avaliar a influência que a matriz biológica exerce na recuperação dos analitos (ALMEIDA et al., 2007).

A recuperação relativa foi determinada comparando-se resultados de análises de amostras de plasma adicionado de padrão de ondansetrona e padrão interno, submetidas ao processo de extração, com resultados das análises de amostras de ondansetrona e padrão interno em metanol não submetidas a este processo, e que representam 100% de recuperação. Este parâmetro foi determinado a partir de seis

repetições em três diferentes concentrações (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL) (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.3 Limite de quantificação

O limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão, aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas (LEITE, 1998; BARROS, 2002; BRITO et al., 2003).

Este parâmetro foi determinado utilizando-se concentrações decrescentes do fármaco, em seis repetições, até o menor nível detectado com precisão e exatidão aceitáveis. A exatidão deve estar entre 80 – 120 % do valor nominal da concentração, com coeficiente de variação de no máximo, 20 % (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.4 Linearidade

Linearidade é a habilidade do método analítico de produzir resultados (neste estudo, representados pela relação entre as áreas do padrão/padrão interno) que são diretamente, ou por meio de transformação matemática bem definida, proporcionais à concentração do analito dentro de uma dada faixa (BARROS, 2002).

O método de regressão linear dos mínimos quadrados normalmente é utilizado para definir matematicamente a curva de calibração. No entanto, um coeficiente de ponderação ($1/x$ ou $1/x^2$) é utilizado, pois maiores desvios encontrados em altas concentrações tendem a apresentar maior influência na linha de regressão do que menores desvios associados a baixas concentrações. No

entanto o método de regressão linear ordinária poderia resultar em grandes erros nos cálculos, especialmente nas concentrações baixas (BRAGGIO, 1996; ALMEIDA; YONAMINE, 2007).

Para a construção da curva de calibração, utilizaram-se amostras de plasma adicionado de padrão de ondansetrona em nove concentrações diferentes (2,5; 3,0; 6,0; 10; 15; 20; 35; 45 e 60 ng/mL) e seis réplicas. A curva de calibração incluiu a análise da amostra de plasma branco e de plasma isento de padrão de ondansetrona e adicionado de padrão interno. O intervalo da curva de calibração incluiu o limite de quantificação e os valores de 80 % da concentração mais baixa e 120 % da concentração mais alta que se pretendiam analisar.

Estabeleceu-se correlação linear entre o inverso da concentração, considerada variável independente ($1/x$) e a relação entre as áreas do pico de ondansetrona (analito) e de propranolol (padrão interno) (P/PI), considerada variável dependente (y). Os parâmetros da correlação foram estimados através do método dos mínimos quadrados.

Na avaliação da curva de calibração deve-se considerar um desvio menor ou igual a 20 % em relação à concentração nominal para o limite de quantificação (LQ); desvio menor ou igual a 15 % em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração e coeficiente de correlação linear igual ou superior a 0,98 (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.5 Precisão

A precisão do método analítico é o grau de concordância entre resultados de medidas independentes em torno de um valor central, efetuadas várias vezes em

uma amostra homogênea, sob condições pré-estabelecidas, assim, a precisão avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Usualmente, a precisão é expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (C.V. %) de diversas medidas (BARROS, 2002; BRITO et al., 2003).

A precisão foi determinada pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações, em réplicas de seis, analisadas num mesmo dia (precisão intra-ensaio) e em dias diferentes (precisão interensaios). Os resultados foram expressos pelo coeficiente de variação dos resultados destas análises, calculado pela seguinte equação:

$$C.V.\% = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

onde:

C.V. = coeficiente de variação

DP = desvio-padrão

CMD = concentração média determinada

O coeficiente de variação não deve ser superior a 15 %, exceto para o limite de quantificação (LQ), onde se admitem valores menores ou iguais a 20 % (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.6 Exatidão

A exatidão é definida como a concordância entre o valor médio obtido de uma série de resultados e o valor real do analito. A exatidão pode ser demonstrada pela comparação dos resultados obtidos com material de referência certificado ou com outro método validado cujo erro sistemático é sabidamente não significativo (BARROS, 2002; BRITO et al., 2003).

Este parâmetro foi determinado pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações e seis repetições, analisadas no mesmo dia (exatidão intra-ensaio) e em dias diferentes (exatidão interensaios) e foi calculado segundo a equação:

$$Exatidão(\%) = \frac{CME}{CT} \times 100$$

onde:

CME = concentração média experimental

CT = concentração teórica

4.2.2.2.7 Estudo da estabilidade do fármaco em fluidos biológicos

A determinação da estabilidade é fundamental para garantir que a concentração da substância a ser analisada não sofreu alteração entre a coleta das amostras e momento da análise (CAUSON, 1997). A estabilidade do fármaco em

líquidos biológicos depende de suas propriedades químicas, da matriz biológica e do material de acondicionamento utilizado (BRASIL, 2003b).

A estabilidade foi avaliada conforme recomendado pela Resolução nº 899 (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.7.1 Estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento

Para determinar este parâmetro foram utilizadas triplicatas de amostras de plasma de controle de qualidade em três concentrações diferentes (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL), submetidas às seguintes condições: congelamento das amostras por 24 horas a – 80 °C, descongelamento à temperatura ambiente e recongelamento a – 80 °C por mais 24 horas e assim sucessivamente até completar três ciclos. A concentração do fármaco nas amostras de plasma de controle de qualidade foi determinada nos três ciclos e os resultados foram comparados com os resultados das amostras recém-preparadas (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.7.2 Estabilidade de curta duração

Foram utilizadas triplicatas de amostras de plasma de controle de qualidade em três concentrações (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL), mantidas à temperatura ambiente durante 4 horas. Após este período as amostras foram processadas e analisadas, comparando-se os resultados com os de amostras analisadas imediatamente após o preparo (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.7.3 Estabilidade pós-processamento

Para esta determinação avaliou-se a estabilidade das amostras processadas, contemplando o período de espera no auto-injetor do cromatógrafo. Triplicatas de amostras de controle de qualidade processadas, em três concentrações (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL) foram analisadas após 24 e 48 horas a temperatura ambiente. Os resultados obtidos foram comparados com os das amostras analisadas imediatamente após o processamento (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.7.4 Estabilidade de longa duração

Este parâmetro avaliou a estabilidade das amostras durante o período de tempo entre a data da coleta das amostras de plasma de voluntários que receberam ondansetrona e a data do término das análises. Para a análise da estabilidade de longa duração, amostras de plasma controle contendo três concentrações diferentes de ondansetrona (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL) foram armazenadas a – 80°C e analisadas em triplicata após 243 dias. Os resultados foram comparados com os das amostras recém-preparadas (BRASIL, 2003b).

4.2.2.2.7.5 Estabilidade das soluções-padrão

Para avaliar a estabilidade das soluções-padrão em metanol, as soluções foram avaliadas por meio da análise destas soluções após 6 horas do preparo,

mantidas à temperatura ambiente e análise diária de padrões secos de ondansetrona (analito) e propranolol (PI) provenientes destas soluções, durante as corridas analíticas para quantificação de ondansetrona nas amostras de plasma de voluntários. Admitiram-se desvios de até 15% (BRASIL, 2003b).

4.2.3 Quantificação de ondansetrona nas amostras de plasma

Realizou-se a quantificação de ondansetrona nas amostras de plasma conforme metodologia descrita no item 4.2.2.1.4.

As amostras de plasma de voluntários que receberam ondansetrona foram analisadas paralelamente à curva de calibração, com oito pontos, e às amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações (baixa, CQB = 7,5 ng/mL; média, CQM = 30 ng/mL e alta, CQA = 50 ng/mL) em triplicata, quadruplicata ou quintuplicata. As amostras de plasma de controle de qualidade foram distribuídas regularmente ao longo da corrida analítica. Este procedimento teve por objetivo garantir a qualidade do procedimento analítico empregado.

4.3 CAPÍTULO III – Etapa Estatística

4.3.1 Avaliação da biodisponibilidade relativa entre os produtos

A bioequivalência entre os produtos foi determinada após quantificação de ondansetrona nas amostras de plasma provenientes do estudo clínico, através da comparação farmacocinética de acordo com os parâmetros determinantes da bioequivalência/biodisponibilidade relativa (RITSCHEL, 1992; SHARGEL; YU, 1999; DIPIRO et al., 2002; BRASIL, 2006).

Esses parâmetros relacionam-se à:

✓ Quantidade de fármaco absorvida:

ASC_{0-t}: área sob a curva “concentração plasmática vs tempo”, calculada pelo método dos trapezóides, do tempo zero ao tempo t, no qual t é o tempo relativo à última concentração determinada experimentalmente;

ASC_{0-∞}: área sob a curva “concentração plasmática vs tempo”, calculada do tempo zero ao tempo infinito, ou seja, $ASC_{0-t} + C_t/k_{el}$, no qual C_t corresponde a última concentração determinada experimentalmente e k_{el} é a constante de eliminação da fase terminal. A ASC_{0-t} deve ser igual ou superior a 80% da $ASC_{0-∞}$.

✓ Velocidade de absorção do fármaco:

C_{max}: concentração plasmática máxima que o fármaco atinge após administração, determinada diretamente a partir das curvas de concentração plasmática *versus* tempo;

t_{max}: tempo necessário para C_{max}, determinado diretamente a partir das curvas de concentração plasmática *versus* tempo.

Também foram calculados os seguintes parâmetros farmacocinéticos relativos à eliminação do fármaco:

t_(1/2): meia-vida de eliminação plasmática rápida do fármaco, determinada a partir do valor da constante de velocidade de eliminação rápida, por meio da fórmula: $t_{(1/2)} = 0,693/k_{el}$;

k_{el} : constante de velocidade de eliminação do fármaco, determinada a partir da equação que define a parte terminal de decaimento plasmático em função do tempo.

4.3.2 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada conforme recomendado pela ANVISA (BRASIL, 2003b). Inicialmente, os valores médios obtidos foram avaliados através da análise da variância (ANOVA) e da construção do intervalo de confiança 90 % (I.C. 90 %). Foi realizada a análise multivariada, utilizando-se análise de variância (ANOVA), para os parâmetros C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, na escala original e logarítmica. Em seguida, foi determinado o I.C. 90 % para as relações entre os valores de C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ dos produtos teste e referência, utilizando-se a escala logarítmica. Foi considerado nível de significância (α) menor que 0,05. Dois produtos são considerados bioequivalentes se os intervalos de confiança 90 % para as relações entre os valores de C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ de ambos, calculados com base nas transformações logarítmicas, estiverem entre 80 e 125 %, ou seja:

$$80 \% \leq \frac{ASC (teste)}{ASC (referência)} \leq 125 \%$$

$$80 \% \leq \frac{C_{max} (teste)}{C_{max} (referência)} \leq 125 \%$$

onde:

ASC = área sob a curva;

C_{max} = concentração plasmática máxima.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CAPÍTULO I – Etapa Clínica: Ensaio de Bioequivalência

5.1.1 Ensaio clínico de bioequivalência

Durante a internação na primeira fase do ensaio clínico (Fase 1), verificou-se, através de teste rápido de gravidez, que a voluntária 21 encontrava-se grávida, sendo a mesma excluída do estudo. Assim, o ensaio foi realizado com 23 voluntários sadios, sendo 12 do sexo masculino e 11 do sexo feminino.

5.1.2 Análise sensorial da formulação de comprimidos de desintegração oral pelos voluntários

Após a administração do medicamento, os voluntários responderam um questionário simples com o objetivo avaliar a formulação dos comprimidos de desintegração oral.

Com relação ao tempo da desintegração oral, mais da metade dos voluntários afirmaram que este ocorreu no intervalo entre 15 e 30 segundos, e apenas alguns voluntários observaram um tempo superior a 30 segundos, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Resultados da análise sensorial do tempo de desintegração oral dos comprimidos do produto teste pelos voluntários (n = 23)

A maioria (91,3 %) dos voluntários respondeu que nenhum resíduo sólido ficou na cavidade bucal. O sabor e a intensidade do mesmo também foram avaliados. Este resultado mostrou-se interessante, 34,8 % acharam que restou um sabor amargo de intensidade moderada e 30,4 % acharam que restou um sabor doce de intensidade moderada (Figura 6).

Figura 6. Resultados da análise sensorial do sabor e intensidade do mesmo nos comprimidos do produto teste pelos voluntários (n = 23)

Quanto à ingestão dos comprimidos sem a utilização de água, 91,3 % não sentiram falta da água, o que demonstra a comodidade da administração deste produto.

5.2 CAPÍTULO II – Etapa Analítica

5.2.1 Desenvolvimento e validação do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma humano

O método desenvolvido mostrou-se adequado à quantificação de ondansetrona em amostras provenientes de ensaio de bioequivalência, apresentando especificidade, recuperação, limite de quantificação, linearidade,

precisão, exatidão e estabilidade adequados tanto da ondansetrona como do padrão interno (PI).

Antes do início do desenvolvimento do método, a sintonia do espectrômetro de massas foi feita com a finalidade de gerar o sinal máximo para o íon precursor e íon produto de maior abundância. Os principais parâmetros estabelecidos para o espectrômetro de massas estão descritos no Quadro 5.

Quadro 5. Parâmetros relacionados à detecção por espectrometria de massas

<i>Parâmetro</i>	<i>Valor</i>
Temperatura da fonte (°C)	100
Temperatura de dessolvatação (°C)	300
Fluxo de gás de dessolvatação (L/h)	611
Voltagem capilar (kV)	3,00
Voltagem de cone (kV)	35
Energia de colisão (eV)	28

A partir das condições estabelecidas para a análise de ondansetrona no MS/MS obteve-se, após fragmentação, espectro dos íons produtos da ondansetrona (Figura 7) e do padrão interno, propranolol (Figura 8).

Figura 7. Espectro dos íons produtos de ondansetrona

Figura 8. Espectro dos íons produtos de propranolol (PI)

A aquisição foi realizada no modo de ionização múltipla (MRM), monitorando-se as transições de m/z 294,21 > 170,02 para ondansetrona e 260,20 > 116,05 para propranolol (padrão interno). Para análise foram injetados 25 μ L no sistema cromatográfico.

5.2.1.1 Especificidade

O método desenvolvido demonstrou-se específico para a ondansetrona e propranolol (padrão interno), com tempos de retenção de 4,38 minutos para ondansetrona e 5,07 minutos para propranolol. Nenhum interferente foi observado para os plasmas analisados (Figura 9). O tempo total de análise foi de 6,0 minutos.

Figura 9. Cromatogramas referentes a: (A) plasma branco obtido de voluntário sadio; (B) plasma branco adicionado de padrão de ondansetrona (45 ng/mL) e de padrão interno (propanolol) e (C) plasma de voluntário no tempo 1,0 h proveniente do ensaio clínico

5.2.1.2 Recuperação

A recuperação relativa média do procedimento de purificação de amostras foi de 96,60 % para ondansetrona, com precisão e exatidão dentro dos limites especificados, demonstrando que o procedimento de extração descrito para o método bioanalítico apresentou eficiência adequada (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados referentes à recuperação relativa média da extração do método analítico para quantificação de ondansetrona e propranolol (padrão interno) em plasma. Cada valor representa a média de seis determinações. D.P. = desvio padrão. C.V. (%) = coeficiente de variação (n = 6)

Concentração (ng/mL)	Recuperação Relativa (%)	
	Padrão	Padrão interno
7,5	95,87	102,69
30	87,46	92,15
50	106,46	107,17
Média	96,60	100,67
D.P.	9,52	7,71
C.V. (%)	9,86	7,66

5.2.1.3 Limite de quantificação

O limite de quantificação do método foi de 2,5 ng/mL, com precisão de 9,60 % e exatidão de 104,08 %.

5.2.1.4 Linearidade

Obteve-se relação linear entre as concentrações 2,5 e 60 ng/mL. Os parâmetros relativos à curva de calibração estão apresentados na Tabela 4.

Figura 10. Curva de calibração da linearidade da ondansetrona

Tabela 4 - Parâmetros relativos à curva de calibração do método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma na faixa de concentração 2,5 a 60 ng/mL (n = 6)

Parâmetro	Valor
Coeficiente angular (a)	0,03468
Coeficiente linear (b)	0,05617
Coeficiente de determinação (r^2)	0,9983

5.2.1.5 Precisão

A precisão intra-ensaio variou entre 1,50 % e 10,89 % e a precisão interensaios entre 6,91 % e 7,90 %. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

5.2.1.6 Exatidão

A exatidão intra-ensaio variou entre 90,04 % e 96,57 % e a exatidão interensaios entre 92,57 % e 100,16 %, como descrito na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados referentes à precisão e exatidão intra-ensaio e interensaios referentes ao método analítico para quantificação de ondansetrona em plasma. Cada valor representa a média de seis determinações

Concentração ng/mL	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intra-ensaio	Interensaios	Intra-ensaio	Interensaios
7,5	10,89	7,68	94,78	96,61
30	3,83	6,91	90,04	92,57
50	1,50	7,90	96,57	100,16

5.2.1.7 Estabilidade

5.2.1.7.1 Estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento

As amostras mantiveram-se estáveis quando mantidas a -80°C e analisadas após três ciclos de congelamento e descongelamento (Tabela 6). Os resultados obtidos foram comparados com os das amostras recém-preparadas, sendo aceito desvios entre $\pm 15\%$.

Tabela 6 - Resultados referentes à estabilidade de ondansetrona em amostras de plasma, analisadas após o preparo, mantidas à temperatura de -80°C e submetidas a um, dois e três ciclos de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Concentração nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			1º Ciclo				2º Ciclo				3º Ciclo			
	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
7,5	6,59	1,66	87,92	7,10	6,15	94,70	7,7	7,39	7,28	98,56	12,1	6,81	4,56	90,81	3,3
30	29,40	0,86	98,01	29,33	2,09	97,77	-0,2	30,17	2,18	100,58	2,6	28,73	4,79	95,78	-2,3
50	49,60	3,92	99,20	49,46	1,49	98,93	-0,3	57,05	1,38	114,09	15,0	49,37	5,13	98,74	-0,5

Conc. Det. = Concentração determinada

5.2.1.7.2 Estabilidade de curta duração

A estabilidade de curta duração foi avaliada mantendo-se amostras de plasma de controle de qualidade, em três concentrações diferentes, a temperatura ambiente durante 4 horas. Após este período, estas amostras foram processadas e analisadas. Os resultados foram comparados com os de amostras analisadas imediatamente após o preparo, sendo aceitos desvios entre $\pm 15\%$ (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados referentes à estabilidade de ondansetrona em amostras de plasma, analisadas após permanência à temperatura ambiente por 4 horas. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação às amostras recém-preparadas

Concentração nominal (ng/mL)	Amostras analisadas imediatamente após o preparo			Amostras processadas após 4 horas			
	Conc. det.	Precisão	Exatidão	Conc.det.	Precisão	Exatidão	Desvio
	(ng/mL)	(%)	(%)	(ng/mL)	(%)	(%)	(%)
7,5	6,59	1,66	87,92	7,05	2,42	93,98	6,89
30	29,40	0,86	98,01	29,34	1,40	97,79	-0,23
50	49,60	3,92	99,20	48,21	2,02	96,42	-2,80

Conc.det. = Concentração determinada

5.2.1.7.3 Estabilidade pós-processamento

A estabilidade pós-processamento representada pela estabilidade no tempo e condições de análise, foi determinada utilizando-se amostras de plasma de controle de qualidade submetidas ao mesmo tratamento que as amostras de plasma de voluntários a serem analisadas, ou seja, descongelamento natural à temperatura ambiente e submetidas ao processo de extração. Estas amostras foram utilizadas para avaliar a estabilidade durante o período de espera no injetor automático até a

introdução da amostra no sistema cromatográfico, período correspondente a 24 horas e 48 horas (Tabela 8) à temperatura ambiente.

Tabela 8 - Resultados referentes à estabilidade de ondansetrona em amostras de plasma, analisadas 24 e 48 horas após o processo de extração. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação às amostras analisadas imediatamente após o processamento

Concentração nominal (ng/mL)	Amostras analisadas imediatamente após o processamento			Amostras após 24 horas				Amostras após 48 horas			
	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)	Conc.Det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
7,5	6,59	1,66	87,92	6,81	4,02	90,83	3,3	6,55	3,88	87,37	-0,6
30	29,40	0,86	98,01	28,40	2,72	94,66	-3,42	27,71	1,96	92,38	-5,75
50	49,60	3,92	99,20	46,29	0,91	92,58	-6,67	44,81	5,62	89,63	-9,65

Conc. Det. = Concentração determinada

5.2.1.7.4 Estabilidade de longa duração

As amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários que receberam ondansetrona mantiveram-se estáveis por pelo menos 243 dias (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados referentes à estabilidade de longa duração de ondansetrona em amostras de plasma, analisadas após permanência à -80°C por 243 dias. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação às amostras recém-preparadas

Concentração nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Amostras após 243 dias de armazenamento			
	Conc. det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
7,5	6,59	1,66	87,92	7,05	6,80	94,03	6,95
30	29,40	0,86	98,01	28,65	6,23	95,50	-2,56
50	49,60	3,92	99,20	54,75	5,36	109,51	-10,39

Conc.det. = Concentração determinada

5.2.1.7.5 Estabilidade das soluções-padrão

As soluções de trabalho de ondansetrona e propranolol (PI) mantiveram-se estáveis após 6 horas de seu preparo, quando mantidas a temperatura ambiente e durante toda a etapa analítica, incluindo o período de validação do método analítico e análise das amostras de voluntários, quando mantidas a -20°C. Os resultados obtidos apresentaram-se dentro dos limites especificados, com desvio médio de -5,66 % para o padrão e de -1,98 % para o padrão interno após 6 horas de seu preparo e desvio médio de 5,82 % para o padrão e 7,94 % para o padrão interno durante a validação do método e análise das amostras de plasma de voluntários.

5.2.2 Quantificação das amostras de plasma de voluntários

As amostras de plasma contendo ondansetrona foram analisadas nas condições estabelecidas durante a validação do método. Um resumo das parâmetros de validação encontra-se na Tabela 10.

Os sinais cromatográficos foram integrados automaticamente pelo programa MassLynx 4.0 do sistema Micromass Quattro LC (Milford, MA, EUA), Quantify, utilizando-se o valor de 10000 para “ruído”.

Tabela 10 – Resumo dos parâmetros de validação avaliados

Parâmetro Avaliado	Resultado
Especificidade	<ul style="list-style-type: none"> • Plasma branco • Plasma lipêmico • Plasma hemolisado
Linearidade	2,5 – 60 ng/mL
Limite de quantificação inferior	2,5 ng/mL
Limite de quantificação superior	60 ng/mL
Recuperação (analito)	96,60 %
Recuperação (padrão interno)	100,67 %
Precisão intra-ensaio	1,50 a 10,89 %
Precisão interensaios	6,91 a 7,90 %
Exatidão intra-ensaio	90,04 a 96,57 %
Exatidão interensaios	92,57 a 100,16 %
Estabilidade ciclos de congelamento	3 ciclos
Estabilidade curta duração	4 horas
Estabilidade pós-processamento	Até 48 horas a temperatura ambiente
Estabilidade de longa duração	6 meses

5.3 CAPÍTULO III – Etapa Estatística

5.3.1 Avaliação da bioequivalência entre os medicamentos teste e referência

As concentrações plasmáticas médias de ondansetrona, após a administração dos produtos teste (Vonau[®] *flash*) e referência (Zofran[®]) a 23 voluntários sadios, estão apresentadas na Tabela 11. Os valores individuais estão apresentados no ANEXO D.

Tabela 11 - Concentrações plasmáticas médias de ondansetrona após administração dos produtos teste e referência. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação; NQ = não quantificável (n = 23)

Tempo (h)	Concentração plasmática (ng/mL)					
	Produto referência (Zofran [®])			Produto teste (Vonau [®] flash)		
	Média	D.P.	C.V. (%)	Média	D.P.	C.V. (%)
0,00	NQ	...	...	NQ	...	...
0,50	3,53	4,82	136,57	6,65	11,86	178,44
0,75	14,76	12,66	85,81	14,59	13,35	91,55
1,00	22,62	14,34	63,39	21,04	14,46	68,72
1,25	26,21	13,38	51,06	23,60	11,95	50,63
1,50	27,38	11,46	41,84	25,54	10,08	39,47
2,00	28,11	9,69	34,47	26,05	9,01	34,58
2,50	29,22	10,07	34,47	27,42	10,27	37,44
3,00	27,85	9,80	35,18	27,49	10,60	38,54
3,50	25,56	8,98	35,11	25,96	9,38	36,12
4,00	23,98	8,33	34,73	24,45	10,10	41,31
6,00	17,26	6,40	37,12	17,56	7,79	44,39
8,00	12,55	5,11	40,70	13,00	6,42	49,40
10,0	9,37	4,31	45,99	9,38	4,78	50,92
12,0	6,96	3,85	55,27	6,68	3,98	59,50
14,0	4,79	3,69	76,91	4,55	3,87	85,14
16,0	3,40	3,10	91,12	3,46	3,30	95,47
24,0	1,18	1,88	160,10	0,89	2,09	233,46

As curvas médias de decaimento plasmático referentes aos produtos teste e referência estão representadas na Figura 11. As curvas individuais estão no ANEXO D.

Figura 11. Curvas médias de decaimento plasmático após a administração oral dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios. As barras verticais representam o erro padrão da média

A Tabela 12 apresenta os valores dos parâmetros farmacocinéticos referentes à fase de absorção, obtidos após a administração dos produtos referência e teste a 23 voluntários sadios.

Tabela 12 - Parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção de ondansetrona obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação

Vol.	Produto Referência (Zofran®)				Produto Teste (Vonau® <i>flash</i>)			
	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)
1	22,65	1,50	121,50	138,74	16,60	2,00	102,87	117,41
2	20,03	2,00	132,15	154,32	32,89	1,25	206,50	226,54
3	24,44	3,50	223,41	266,26	22,91	3,50	197,76	216,74
4	10,58	1,00	53,51	68,23	13,79	1,25	99,04	118,67
5	34,07	1,00	205,58	220,71	36,52	1,00	202,08	225,80
6	38,42	1,25	253,12	268,66	32,92	1,00	208,85	238,30
7	20,08	3,00	159,18	178,80	20,22	2,50	145,13	170,37
8	23,32	3,00	222,04	250,69	28,06	3,50	195,11	221,67
9	28,84	3,00	176,98	205,39	30,26	3,00	206,42	220,18
10	27,01	1,00	153,38	170,09	15,41	2,00	84,74	100,93
11	20,83	3,00	125,34	142,69	21,77	2,50	147,70	163,98
12	31,67	2,50	340,60	401,73	30,54	3,00	306,75	346,08
13	45,76	2,50	420,69	460,57	60,04	1,25	571,70	632,76
14	39,71	1,25	373,42	418,40	42,30	1,50	374,29	416,75
15	30,05	2,50	156,49	172,08	22,00	3,00	168,60	183,17
16	20,41	2,00	117,81	131,75	19,13	2,00	115,61	132,12
17	58,66	1,00	438,28	465,49	55,08	4,00	474,26	514,06
18	32,06	2,00	192,20	214,10	33,92	1,00	166,66	182,27
19	30,58	1,50	266,29	302,90	26,13	1,50	205,85	228,32
20	49,04	1,50	293,10	315,76	42,22	2,50	265,07	283,65
22	36,70	2,00	188,20	205,15	27,58	2,00	171,42	185,62
23	39,96	2,50	326,32	346,72	34,68	1,25	259,03	288,95
24	48,25	1,25	296,65	314,17	34,73	3,00	269,25	294,68
Média	31,88	1,99	227,66	252,76	30,42	2,15	223,68	248,22
D.P.	11,50	0,79	102,47	110,15	11,72	0,92	117,49	127,97
C.V. (%)	36,07	39,65	45,01	43,58	38,53	42,57	52,53	51,55

Vol. = voluntário

Os valores dos parâmetros farmacocinéticos $t_{(1/2)}$ e k_{el} relativos à eliminação, obtidos após a administração dos produtos referência e teste a 23 voluntários sadios estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Parâmetros farmacocinéticos relativos à eliminação, obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação

Voluntário	Produto Referência (Zofran®)		Produto Teste (Vonau® <i>flash</i>)	
	$t_{(1/2)}$ (h)	K_{el} (h ⁻¹)	$t_{(1/2)}$ (h)	K_{el} (h ⁻¹)
1	3,67	0,1890	3,27	0,2118
2	3,70	0,1872	4,69	0,1478
3	5,13	0,1351	3,48	0,1990
4	4,09	0,1696	4,24	0,1636
5	3,68	0,1882	4,57	0,1518
6	3,55	0,1952	4,90	0,1414
7	4,65	0,1489	5,77	0,1201
8	7,40	0,0936	4,93	0,1406
9	4,03	0,1718	3,68	0,1885
10	4,16	0,1665	3,09	0,2242
11	4,03	0,1718	4,00	0,1731
12	8,59	0,0807	7,97	0,0870
13	5,53	0,1253	6,18	0,1122
14	7,62	0,0909	4,67	0,1485
15	3,13	0,2211	4,02	0,1722
16	3,29	0,2106	3,58	0,1934
17	4,48	0,1546	6,90	0,1005
18	5,05	0,1373	3,74	0,1854
19	8,72	0,0795	3,73	0,1856
20	3,84	0,1804	3,87	0,1791
22	4,57	0,1515	3,67	0,1887
23	4,36	0,1590	4,54	0,1525
24	3,31	0,2095	3,82	0,1815
Média	4,81	0,1573	4,49	0,1630
D.P.	1,67	0,04	1,20	0,04
C.V. (%)	34,66	26,26	26,81	21,58

5.3.1 Análise Estatística

A Tabela 14 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo e período em relação aos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, em escala logarítmica, obtidos após a administração dos produtos referência (Zofran[®]) e teste (Vonau[®] *flash*) a 23 voluntários sadios.

Tabela 14 – Resultados de análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo e período em relação aos parâmetros $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos referência (Zofran[®]) e teste (Vonau[®] *flash*) a 23 voluntários sadios

Fonte de Variação	Nível Descritivo (p)		
	$\ln C_{\max}$	$\ln ASC_{0-t}$	$\ln ASC_{0-\infty}$
Produto	0,3394	0,6787	0,6129
Grupo	0,0682	0,2821	0,2997
Período	0,8289	0,9664	0,8105

p > 0,05: não há efeito

As Tabelas 15, 16 e 17 apresentam, respectivamente, os resultados de ANOVA para $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, incluindo fonte, grau de liberdade, soma dos quadrados, quadrado médio, valor de F e resíduo.

Tabela 15 – Resultados de análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo, período e voluntário dentro do grupo em relação ao parâmetro $C_{\max}$, transformado em escala logarítmica, obtido após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0269	0,0269	0,9557	0,3394
Grupo	1	0,8776	0,8776	3,6970	0,0682
Período	1	0,0014	0,0014	0,0479	0,8289
Voluntário(grupo)	21	4,9853	0,2374		
Resíduo	21	0,5927	0,0282		

Tabela 16 – Resultados de análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo, período e voluntário dentro do grupo em relação ao parâmetro ASC_{0-t} , transformado em escala logarítmica, obtido após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0057	0,0057	0,1764	0,6787
Grupo	1	0,5282	0,5282	1,2185	0,2821
Período	1	0,0001	0,0001	0,0018	0,9664
Voluntário(grupo)	21	9,1034	0,4335		
Resíduo	21	0,6799	0,0324		

Tabela 17 – Resultados de análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo, período e voluntário dentro do grupo em relação ao parâmetro $ASC_{0-\infty}$, transformado em escala logarítmica, obtido após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0071	0,0071	0,2638	0,6129
Grupo	1	0,4519	0,4519	1,1307	0,2997
Período	1	0,0016	0,0016	0,0589	0,8105
Voluntário(grupo)	21	8,3928	0,3997		
Resíduo	21	0,5681	0,0271		

Os intervalos de confiança 90 % (IC 90 %) para as relações entre os parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios, estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Intervalo de confiança 90 % (I.C. 90 %) para as relações entre os parâmetros, $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios

	I.C. 90 %	
$\ln C_{\max}$	$\ln ASC_{0-t}$	$\ln ASC_{0-\infty}$
87,5 % - 103,8 %	89,3 % - 107,2 %	89,7 % - 106,0 %

As razões entre os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios, estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Razões entre os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, obtidos após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) a 23 voluntários sadios

Parâmetro	Razão entre as médias	Limite inferior (%)	Limite superior (%)
$\ln(C_{\max})$	0,9527	87,5	103,8
$\ln(ASC_{0-t})$	0,9779	89,3	107,2
$\ln(ASC_{0-\infty})$	0,9754	89,7	106,0

O poder estatístico dos testes utilizados para determinação dos intervalos de confiança 90 % das relações entre os parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ dos produtos teste e referência, transformados logaritmicamente, está apresentado na Tabela 20.

Tabela 20 – Poder estatístico do teste utilizados para determinação do intervalo de confiança 90 % (I.C. 90 %) das relações entre os parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ dos produtos referência (Zofran[®]) e teste (Vonau[®] *flash*) transformados logaritmicamente

Parâmetro	Poder estatístico (%)
$\ln C_{\max}$	98,78
$\ln ASC_{0-t}$	97,72
$\ln ASC_{0-\infty}$	99,01

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A ondansetrona é um antiemético da classe dos antagonistas seletivos dos receptores 5-HT₃, administrada intravenosa e oralmente. É comercializada no Brasil sob forma de comprimidos revestidos, solução injetável ou comprimidos de desintegração oral. A revisão mais recente indica que estes produtos são comercializados por 12 diferentes laboratórios, sendo que apenas um o faz sob a forma de comprimidos de desintegração oral (CONSULTAREMÉDIOS, 2007). No presente estudo foram avaliadas 2 formulações, uma sob a forma de comprimidos revestidos de liberação convencional e outra sob a forma de comprimidos de desintegração oral.

Os comprimidos de desintegração oral são adequados à pacientes com problemas na deglutição (como idosos e crianças) ou pacientes que estão sob tratamento quimioterápico, cujo podem estar com tanta náusea, sendo incapazes de engolir comprimidos convencionais e, principalmente àqueles com tumores na região bucal e esôfago, por se tratar de uma formulação que dissolve ou desintegra na cavidade oral sem a necessidade de água ou mastigação (HABIB; KHANKARI; HONTZ, 2000; BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

Estes comprimidos têm como principal característica desintegrarem-se instantaneamente, logo que entram em contato com a cavidade oral, promovendo a dispersão e dissolução do fármaco na saliva (BIRADAR; BHAGAVATI; KUPPASAD, 2006).

Na análise sensorial realizada com 23 voluntários, a grande maioria (91,3 %) afirmou que o comprimido desintegrou em até 30 segundos e que nenhum resíduo do mesmo foi percebido na boca. Apenas um voluntário (8,7 %) afirmou que o tempo

de desintegração foi superior a 30 segundos. Pode-se dizer, com este resultado, que a formulação está adequada com relação ao tempo de desintegração oral e não resta nenhum resíduo da formulação na boca.

O principal desafio desse tipo de formulação é o de mascarar o sabor dos princípios ativos, na maioria das vezes amargo. Na análise sensorial do sabor e sua intensidade obteve-se um resultado interessante, enquanto 34,8 % identificaram um sabor amargo residual de intensidade moderada, 30,4 % acharam que restou um sabor doce de intensidade moderada. Sendo assim, pode-se dizer que este parâmetro é uma característica muito pessoal e subjetiva, podendo variar.

Quanto à ingestão dos comprimidos sem a utilização de água, 91,3 % não sentiram falta da água, o que demonstra a comodidade na administração deste produto, podendo o mesmo ser utilizado em qualquer lugar e a qualquer momento.

O ensaio de bioequivalência ou biodisponibilidade relativa compreende três etapas: clínica, analítica e estatística. A etapa clínica foi realizada por meio de um estudo com delineamento randomizado, cruzado e aberto, onde todos os voluntários receberam ambos os produtos avaliados.

O desenho cruzado é randomizado em bloco, no qual cada bloco recebe mais que uma formulação em diferentes períodos. Neste desenho, as diferenças entre as formulações, sujeitos e seqüência de administração pode ser facilmente estimada. Essencialmente, cada sujeito serve como seu próprio controle, reduzindo assim, a variabilidade inter-individual (CHOW; LIU, 2000).

Entre as duas fases houve um período de *washout* de uma semana, superior a 7 meias-vidas da ondansetrona, garantindo a total eliminação do fármaco e evitando a presença de possíveis efeitos residuais (BRASIL, 2006). O período de

washout é definido como o intervalo de tempo entre dois tratamentos para o qual o efeito da formulação administrada num tratamento não interfere no próximo.

Alguns desvios de protocolos foram observados, como a exclusão do voluntário 21 e alguns atrasos ou adiantamento na coleta de 8 amostras, no entanto estes desvios não comprometeram os resultados do estudo, já que o poder estatístico do teste foi maior que 97%.

A etapa analítica do ensaio de bioequivalência dos produtos foi realizada quantificando-se o fármaco em plasma, através cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a espectrômetro de massas, com metodologia analítica desenvolvida e validada, a fim de garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados deste estudo.

O desenvolvimento de um método analítico envolve a evolução e otimização de vários estágios da preparação da amostra, separação cromatográfica, detecção e quantificação.

O equipamento utilizado foi um espectrômetro de massas sequencial (MS/MS), composto de quatro condutores mantidos paralelamente numa configuração dois a dois. Cada par de condutores opostos são eletricamente conectados, estabelecendo assim um campo quadrupolar bidimensional (BUSTILLOS; SASSINE; MARCH, 2003). O triplo quadrupolo utiliza dois estágios de análise de massas, o primeiro para pré-selecionar o íon de interesse (íon precursor) e outro para selecionar os fragmentos (íons produto), por colisão com um gás inerte, como no caso, o argônio.

Embora exista uma série de opções cromatográficas disponíveis para o analista, nem sempre é possível proceder a separação total de todos os

componentes de uma mistura, o que pode impedir uma determinação quantitativa precisa e exata do analito de interesse (ARDREY, 2003).

O poder da espectrometria de massas reside no fato de que o espectro de massas de muitos compostos são suficientemente específicos, para permitir sua identificação com um elevado grau de confiança. A combinação da capacidade de separação da cromatografia (que permite a introdução de compostos mais limpos no espectrômetro de massas) com a capacidade de identificação do espectrômetro de massas é claramente vantajoso, visto que compostos com características semelhantes ou idênticas de retenção, têm espectro de massas diferentes, podendo assim serem diferenciadas (ARDREY, 2003).

A validação do método analítico é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos. O objetivo da validação consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito. A validação deve ser considerada quando desenvolve ou efetua adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos (BARROS, 2002; BRITO et al., 2003).

A quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência, assim como em outras técnicas, envolve a comparação da intensidade da resposta de um analito (como a área do pico) na amostra em estudo, com a intensidade de resposta obtida a partir de amostras que contenham concentrações conhecidas de padrões (ARDREY, 2003).

Assim, uma importante consideração é a utilização e seleção do padrão externo ou interno. Na utilização de padrão externo, a resposta do analito é relacionada à concentração (resposta do analito *versus* concentração) para gerar

uma reta de calibração, enquanto que na utilização de padrão interno, adiciona-se um padrão isotópico ou estruturalmente semelhante ao analito, determinando-se a concentração através da razão entre as respostas do analito e do padrão interno. O padrão interno é utilizado para melhorar a precisão do método, o que possibilita minimizar os erros decorrentes de possíveis perdas durante o preparo das amostras (CAUSON, 1997; ARDREY, 2003).

Neste trabalho utilizou-se propranolol como padrão interno, que possui semelhante lipofilicidade à ondansetrona, apresentando adequada seletividade no método desenvolvido.

Vários trabalhos têm descrito a análise da ondansetrona em amostras biológicas através de cromatografia líquida de alta eficiência (DOTSIKAS et al., 2006; CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; XU et al., 2000; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997).

A maioria dos estudos utiliza HPLC com detecção no ultravioleta (UV) (CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; LIU; STEWART, 1997; DÉPÔT et al., 1997) em comprimento de onda de 305 nm e outros utilizam cromatografia líquida acoplada à espectrômetro de massas (LC-MS) (DOTSIKAS et al., 2006; XU et al., 2000).

Dépôt et al. (1997) desenvolveram um método utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV em 305 nm. Para a purificação, os autores utilizaram extração líquido-líquido com 6,0 mL de acetato de etila para 2,0 mL de plasma. A linearidade descrita pelos autores foi de 0,5 a 15 ng/mL. O método foi aplicado para determinação de concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração de comprimido de 2 mg em dose múltipla.

Bauer et al. (2002) determinaram concentrações de ondansetrona e tropisetron em plasma humano sem a utilização de padrão interno, por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no UV, 305 nm para ondansetrona e 284 nm para tropisetron. Utilizou-se para a purificação das amostras, solução de carbonato de sódio e 5 mL de diclorometano para 1 mL de plasma, com agitação em vórtex por 15 minutos. O tempo de corrida foi de 15 minutos.

Em 2004, Chandrasekar et al. desenvolveram um método simples, com extração líquido-líquido e utilização de 5 mL de éter terc-butilmetílico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV em 305 nm. Este método apresentou linearidade de 10 a 380 ng/mL e foi aplicado em estudos farmacocinéticos.

Em 2006, Dotsikas et al. desenvolveram um método rápido e semi-automatizado para determinação de concentrações plasmáticas de ondansetrona através de LC-MS/MS. O tempo de corrida (2 minutos) foi muito inferior aos demais relatados. No entanto, os autores utilizaram uma coluna de 5,0 cm, o que permite uma análise bem mais rápida do que colunas comuns de 15,0 cm. Os resultados apresentados foram satisfatórios quanto ao limite de quantificação embora baixa recuperação (cerca de 50 %). Este método foi aplicado em estudos de bioequivalência após administração de comprimidos de 4 e 8 mg.

A análise cromatográfica de substâncias presentes em fluido biológico requer um pré-tratamento da amostra. Isto devido principalmente a complexidade das matrizes biológicas, a existência de proteínas que são incompatíveis com as colunas cromatográficas e a baixa concentração das substâncias a serem analisadas. Objetiva-se assim, uma separação cromatográfica livre de interferentes, com

detecção adequada e um tempo razoável de análise (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

A purificação das amostras contendo ondansetrona através de extração líquido-líquido é uma técnica muito utilizada (DOTSIKAS et al., 2006; CHANDRASEKAR, et al., 2004; BAUER et al., 2002; DÉPÔT et al., 1997) e apresenta vantagens devido a simplicidade da mesma.

Neste trabalho, as amostras foram purificadas por extração líquido-líquido, utilizando-se acetato de etila como solvente extrator, o qual possibilitou maior recuperação dos analitos em relação aos outros solventes testados (éter terc-butilmetílico, diclorometano). Segundo ANVISA, na recuperação, porcentagens próximas a 100 % são desejáveis, porém admitem-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata (BRASIL, 2003b). A recuperação média da extração foi de 96,60 % para a ondansetrona e 100,67 % para o propranolol (padrão interno), com precisão e exatidão dentro dos limites especificados.

A fase móvel utilizada neste método consistiu de uma mistura de tampão acetato 10 mM e acetonitrila na proporção 55:45 (v/v), acrescida de 0,1 % de ácido fórmico, e foi eluída a um fluxo de 0,4 mL/min.

O tempo de corrida de cada análise foi de 6 minutos, sendo adequado para ensaios de bioequivalência, onde um menor tempo de corrida da análise possibilita análise de várias amostras por dia, reduzindo o tempo do período analítico em ensaios deste tipo, onde há um grande número de amostras, além da redução de quantidade de fase móvel utilizada e aumento de vida útil da coluna cromatográfica.

O limite de quantificação (2,5 ng/mL) foi inferior ao obtido por Chandrasekar et al. (2004) e Liu & Stewart (1997) e próximo ao obtido por Xu et al., (2000). A precisão e exatidão na determinação deste parâmetro foram de 9,60 % e 104,08 %, respectivamente.

respectivamente e apresentaram-se dentro dos critérios de aceitabilidade que estabelecem um desvio máximo de $\pm 20\%$ em relação à concentração nominal, com coeficiente de variação (C.V.) de no máximo 20 % (Brasil, 2003b). Embora os outros trabalhos apresentem limite de quantificação (LQ) inferior, 2,5 ng/mL foi suficiente para a quantificação de ondansetrona em plasma proveniente de ensaio de bioequivalência após administração de comprimido contendo 8 mg, possibilitando a quantificação na faixa de decaimento plasmático, sendo que os valores de concentração inferiores ao LQ não são utilizados no cálculo de ASC.

O método mostrou-se linear na faixa de concentração de 2,5 – 60 ng/mL, com índice de correlação (r^2) de 0,9983, sendo assim adequado à aplicação em estudos de bioequivalência e farmacocinética.

Os resultados obtidos na análise da precisão e exatidão analisadas no mesmo dia (intra-ensaio) variaram entre 1,50 % e 10,89 % para a precisão e entre 90,04 % e 96,57 % para exatidão. As amostras analisadas em dias diferentes (interensaios) apresentaram precisão entre 6,91 % e 7,90 %, estando de acordo com os critérios estabelecidos para avaliação destes parâmetros (BRASIL, 2003b).

Os resultados obtidos da estabilidade de ondansetrona em amostras de plasma mantidas a -80°C demonstraram que as mesmas mantiveram-se estáveis por até três ciclos de congelamento e descongelamento. A análise de amostras de plasma descongeladas e mantidas à temperatura ambiente por 4 horas e de amostras processadas e mantidas por 24 e 48 horas à temperatura ambiente demonstra que as mesmas permaneceram estáveis, pois não houve alteração significativa em relação à concentração das amostras recém-preparadas, indicando adequabilidade do método ao tempo e condições de análise.

As soluções-padrão utilizadas para a preparação diária da curva de calibração, armazenadas a -20°C apresentaram-se estáveis, o que permitiu sua utilização durante toda a etapa analítica.

De acordo com os resultados apresentados anteriormente, o método apresentou-se específico, linear, preciso e exato, assegurando sua aplicação em estudos farmacocinéticos e de bioequivalência.

O produto teste Vonau[®] *flash*, lote 604718 – Biolab Sanus Farmacêutica e o produto referência Zofran[®], lote R207186V – Glaxo Smithkline, são classificados como alternativas farmacêuticas, pois ambos contêm o mesmo fármaco, na mesma quantidade, porém um produto está na forma de comprimido revestido e cuja liberação do fármaco se dará no trato gastrointestinal e o outro está sob a forma de comprimido de desintegração oral e a liberação do fármaco ocorrerá na mucosa oral. Esta classificação não atesta a intercambialidade entre os produtos, sendo necessária a realização do estudo *in vivo* para que se obtenham conclusões definitivas sobre a bioequivalência dos produtos em estudo.

As curvas médias de decaimento plasmático dos produtos teste (Vonau[®] *flash*) e referência (Zofran[®]) e as médias dos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$ (referência: 31,88 ng/mL; teste: 30,42 ng/mL); $t_{\max}$ (referência: 1,99 h; teste: 2,15 h), ASC_{0-t} (referência: 227,66 ng×h/mL; teste: 223,68 ng×h/mL) e $ASC_{0-\infty}$ (referência: 252,76 ng×h/mL; teste: 248,22 ng×h/mL) apresentaram-se semelhantes.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com o estudo previamente reportado por Bozigian et al. (1994) e GlaxoSmithkline (2005) que demonstraram valores de 26,3 ng/mL e 34 ng/mL respectivamente para $C_{\max}$ e 1,8 h para $t_{\max}$, utilizando a mesma dose de ondansetrona do presente estudo.

A meia-vida de eliminação entre os produtos teste (Vonau[®] *flash*; $t_{1/2}$: 4,5 h) e referência (Zofran[®]; $t_{1/2}$: 4,8 h) também se apresentaram semelhantes com os valores descritos em trabalhos publicados por Hsyu et al. (1994a), Lam et al. (2004) e GlaxoSmithkline (2005), que relataram valores para a meia-vida de eliminação entre 4 e 5 horas.

Há somente um trabalho de Lam et al. (2004) que relata a constante de eliminação da ondansetrona de $0,14 \text{ h}^{-1}$, sendo este valor muito semelhante aos encontrados neste trabalho, onde se obteve constante de eliminação (k_{el}) média para o produto teste (Vonau[®] *flash*) e para o produto referência (Zofran[®]) de $0,16 \text{ h}^{-1}$.

Os parâmetros farmacocinéticos relativos à biodisponibilidade (C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$) obtidos das curvas de concentração plasmática do fármaco *versus* tempo foram submetidos à análise estatística para verificar que a comparação entre as biodisponibilidades dos produtos sejam suficientemente semelhantes e assim o produto teste e referência podem ser considerados terapeuticamente equivalentes (Porta, 1999).

A análise de variância (ANOVA) realizada para avaliação do efeito grupo, produto e período em relação aos parâmetros farmacocinéticos avaliados demonstrou ausência destes efeitos para ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$.

Em relação ao parâmetro C_{max} , verificou-se a existência de efeito de grupo. No entanto, para o presente estudo empregou-se:

- desenho cruzado 2x2 (duas seqüências e dois períodos);
- administração de dose única;
- somente voluntários sadios;
- o fármaco em questão não é uma substância endógena;
- o período de *wash out* foi adequado;

- as amostras de plasma dos voluntários não apresentaram qualquer concentração quantificável de fármaco no tempo zero hora;
- e não houve nenhum desvio crítico de protocolo.

Sendo assim, a presença de efeito de grupo é aceitável para este estudo. O efeito de grupo relaciona-se com a ordem em que os produtos são administrados aos voluntários. A observação deste efeito tem pouca influência na análise dos dados e ocorre em cerca de 10 % dos estudos de bioequivalência (ORMSBY, 1994; KOONO, 2005).

A ANVISA considera, atualmente, duas formulações bioequivalentes se o intervalo de confiança 90 % (I.C. 90 %) da razão entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos de teste e referência, determinada a partir das transformações logarítmicas dos valores dos parâmetros $C_{\max}$ e ASC_{0-t} estiver compreendido entre 80 e 125 % (BRASIL, 2006). O intervalo de confiança 90 % é utilizado para demonstrar se a biodisponibilidade do fármaco no produto teste é muito baixa ou muito alta em comparação ao produto referência, ou seja, determina se existem grandes diferenças entre os parâmetros médios (SHARGEL; YU, 1993).

Os intervalos de confiança 90 % obtidos para as razões dos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$ (87,5 % - 103,8 %), ASC_{0-t} (89,3 % - 107,2 %) e $ASC_{0-\infty}$ (89,7 % - 106,0 %) dos produtos teste e referência apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA, demonstrando que os produtos avaliados são bioequivalentes.

O poder do teste estatístico é determinado para calcular a probabilidade da conclusão da análise a ser dada. Este parâmetro dependerá do tamanho da amostra, variabilidade dos resultados e nível desejado de significância. Quanto

maior o poder do teste, maior a probabilidade dos resultados serem válidos (KOONO, 2005).

Neste estudo, o poder estatístico dos testes utilizados para determinação do I.C. 90 % das relações entre os parâmetros farmacocinéticos foi de 98,78 % para C_{max} , 97,72 % para ASC_{0-t} e 99,01 % para $ASC_{0-\infty}$, indicando que o número de voluntários utilizado no estudo foi adequado.

O objetivo de um estudo de bioequivalência é identificar equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas que poderão ser utilizados de maneira intercambiável, para o mesmo efeito terapêutico. Da maneira que, quando dois produtos são considerados bioequivalentes, podem ser administrados intercambiavelmente (CHOW; LIU, 2000).

No presente estudo, os dois produtos, considerados como alternativas farmacêuticas, foram bioequivalentes, podendo ser administrados de maneira intercambiável, sem prejuízo do efeito terapêutico.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que:

- ✓ O método desenvolvido e validado para quantificação de ondansetrona em plasma humano demonstrou adequado limite de quantificação, reprodutibilidade, recuperação e estabilidade, justificando sua utilização em ensaios de bioequivalência/biodisponibilidade relativa;
- ✓ O produto teste, Vonau[®] *flash*, produzido por Biolab Sanus pode ser considerado bioequivalente ao produto referência, Zofran[®], produzido por Glaxo Smithkline, podendo assim, estes produtos, serem administrados de forma intercambiável, sem prejuízo do efeito terapêutico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS

ABDOU, H.M. *Dissolution, bioavailability and bioequivalence*. Easton: Meck Publishing, 1989. 554p.

AHFS DRUG INFORMATION: 2004. Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists, 2004.

AIACHE, J.M. Biodisponibilidade. In: LE-BLANC, P.P., AIACHE, J.M., BESNER, J.G., BURI, P., LESNE, M. *Tratado de biofarmácia e farmacocinética*. Lisboa: Instituto Piaget, 1997. 419p.

ALMEIDA, A.P.; PEREIRA, A.; BRANDÃO, A.C.A.; MAFRA, C.R.; DUARTE, L.F.; AMARAL, R.S. Estudo de bioequivalência farmacêutica de uma formulação de amoxicilina cápsula 500mg para registro de medicamento genérico. *Fármacos & Medicamentos*, v.8, n.49, p.57-60, 2007.

ALMEIDA, R.M.; YONAMINE, M. Gas chromatography-mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v.853, n.1/2, p.260-264, 2007.

ANDRADE, S.S.; KANO, E.; BRIOSCHI, T.M.L.S.; KOONO, E.M; SERRA, C.H.R. PORTA, V. . Bioavailability study of two oral formulations of didanosine in healthy volunteers. *Arzneimittel Forschung*, v.56, n.5, p.359-364, 2006.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JÚNIOR, L.V. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000. 568p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnicos Institucionais. Medidas para ampliar qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos. *Revista Saúde Pública*, v.37, n.6, p.821-824, 2003.

ARDREY, R.E. *Liquid chromatography – mass spectrometry: an introduction*. West Sussex: John Wiley & Sons, 2003. 288p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS – PRÓ-GENÉRICOS. Genéricos. História. *História dos medicamentos genéricos no Brasil*. São Paulo: Pró-genéricos, 2007. Disponível em: <http://www.progenericos.org.br/historia.htm>. Acesso em: 8 dez. 2007.

BARROS, C.B. Validação de métodos analíticos. *Biológico, São Paulo*, v.64, n.2, p.175-177, 2002.

BAUER, S.; STORMER, E.; KAISER, R.; TREMBLAY, P.B.; BROCKMOLLER, J.; ROOTS, I. Simultaneous determination of ondansetron and tropisetron in human plasma using HPLC with UV detection. *Biomedical Chromatography*, v.16, n.3, p.187-190, 2002.

BIRADAR, S.S.; BHAGAVATI, S.T.; KUPPASAD, I.J. Fast dissolving drug delivery systems: a brief overview. *The Internet Journal of Pharmacology*, v.4, n.2, 2006. Disponível em: <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijpharm/vol4n2/drug.xml>. Acesso em: 27 out. 2007.

BOZIGIAN, H.P.; PRITCHARD, J.F.; GOODING, A. E.; PAKES, G.E. Ondansetron absorption in adults: effect of dosage form, food, and antacids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.83, n.7, p.1011-1013, 1994.

BRAGGIO, S.; BARNABY, R.J.; GROSSI, P.; CUGOLA, M. A strategy for validation of bioanalytical methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.14, p.375-388, 1996.

BRANDÃO, A.B.M. Antieméticos. In: FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. (eds.). *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*, 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 1074p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução n.391, de 9 de agosto de 1999*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos e dá outras providências. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=251&word=>. Acesso em: 14 dez. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.133, de 29 de maio de 2003a*. Dispõe sobre o registro de medicamento similar e dá outras providências. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=7901&word=>. Acesso em: 14 de dez. de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.899, de 29 de maio de 2003b*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”; fica revogada a Resolução RE n.475, de 19 de março de 2002. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word=>. Acesso em: 14 de dez. de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.1170, de 19 de abril de 2006*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=21746&word=>. Acesso em: 14 de dez. de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.16, de 02 de março de 2007a*. Aprova regulamento

técnico para medicamentos genéricos. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25960&word=>. Acesso em: 14 de dez. de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.17, de 02 de março de 2007b*. Dispõe sobre o registro de medicamento similar e dá outras providências. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=26132&word=>. Acesso em: 14 de dez. de 2007.

BRITO, N.M.; AMARANTE-JUNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos bioanalíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba*, v.13, p. 129-146, 2003.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: viewpoint and discussion. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*, v.689, n.1, p.175-180, 1997.

CHAFFEE, B.J.; TANKANOW, R.M. Ondansetron - the first of a new class of antiemetic agents. *Clinical Pharmacy*, v.10, p.430-446, 1991.

CHANDRASEKAR, D.; RAMAKRISHNA, S.; DIWAN, P.V. A rapid, sensitive and validated method for the determination of ondansetron in human plasma by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. *Arzneimittel Forschung*, v.54, n.10, p.655-659, 2004.

CHOW, S.C.; LIU, J.P. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*, Marcel Dekker, New York, 2000.

CHOW, S.C.; SHAO, J. Bioequivalence review for drug interchangeability. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, v.9, n.3, p.485-497, 1999.

CONSIGLIERI, V.O.; STORPIRTIS, S. Bioequivalência de medicamentos: objetivos, parâmetros farmacocinéticos, delineamento experimental e critérios de avaliação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.36, n.1, p.13-21, 2000.

CONSULTAREMÉDIOS. 2007. Disponível em: <http://www.consultaremedios.com.br/cr.php?uf=SP&nome=&substancia=ondansetron>. Acesso em: 10 dez. 2007.

DELUCIA, R.; OLIVEIRA-FILHO, R.M. Farmacologia do aparelho digestivo. In: PAGE, C.P; CURTIS, M.J.; SUTTER, M.C.; WALKER, M.; HOFFMAN, B. *Farmacologia Integrada*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2004. 670p.

DÉPÔT, M.; LEROUX, S.; CAILLÉ, G. High-resolution liquid chromatographic method using ultraviolet detection for determination of ondansetron in human plasma. *Journal of Chromatography B*, v.693, p.399-406, 1997.

DIPIRO, J.T.; SPRUILL, W.J.; BLOUIN, R.A.; PRUEMER, J.M. *Concepts in clinical pharmacokinetics*. 3.ed. S.I.: American Society of Health-System Pharmacists, 2002. 200p.

DOTSIKAS, Y.; KOUSOULOS, C.; TSATSOU, G.; LOUKAS, Y.L. Development and validation a rapid 96-well format based liquid-liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis method for ondansetron in human plasma. *Journal of Chromatography B*, v.836, p.79-82, 2006.

EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICAL PRODUCTS. Evaluation of Medicines for Human Use. Committee for Proprietary Medicinal Products. *Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*. London: EMEA, 2001. 19p. (CPMP/EWP/QWP/1410/98). Disponível em: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ewp/140198en.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2007.

- FIGG, W.D.; DUKES, G.E.; PRITCHARD, J.F.; HERMANN, D.J.; LESESNE, H.R.; CARSON, S.W.; SONGER, H. Pharmacokinetics of ondansetrona in patients with hepatic insufficiency. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.36, n.3, p.206-215, 1996.
- GLAXOSMITHKLINE, Zofran, Product monograph, GlaxoSmithKline Inc., Mississauga, Ontario, 2006.
- GLEITER, C.H.; KLOTZ, U.; KUHLMANN, J.; BLUME, H.; STANISLAUS, F.; HARDER, S.; PAULUS, H.; POETHKO-MULLER, C.; HOLZ-SLOMCZYK, M. When are bioavailability studies required?: a German proposal. *Journal of Clinical Pharmacy*, v.38, p.904-911, 1998.
- HABIB, W.; KHANKARI, R.; HONTZ, J. Fast-dissolve drug delivery systems. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, v.17, n.1, p.61-72, 2000.
- HSYU, P.H.; PRITCHARD, J.F.; BOZIGIAN, H.P.; GOODING, A.E.; GRIFFIN, R.H.; MITCHELL, R.; BJURSTROM, T.; PANELLA, T.L.; HUANG, A.T.; HANSEN, L.A. Oral ondansetrona pharmacokinetics: the effect of chemotherapy. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.34, n.7, p.767-773, 1994b.
- HSYU, P.H.; PRITCHARD, J.F.; BOZIGIAN, H.P.; LLOYD, T.L.; GRIFFIN, R.H.; SHAMBUREK, R.; KRISHNA, G.; BARR, W.H. Comparison of the pharmacokinetics of an ondansetrona solution (8 mg) when administered intravenously, orally, to the colon, and to the rectum. *Pharmaceutical Research*, v.11, n.1, p.156-159, 1994a.
- JANN, M.W.; ZUMBRUNNEN, T.L.; TENJARLA, S.N.; WARD, E.S.; WEIDLER, D.J. Relative bioavailability of ondansetron 8 mg oral tablets versus two extemporaneous 16 mg suppositories: formulation and gender differences. *Pharmacotherapy*, v.18, n.2, p.288-294, 1998.
- JORDAN, K.; SCHMOLL, H.J.; AAPRO, M.S. Comparative activity of antiemetic drugs. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v.61, p.162-175, 2007.

- KANO, E.K.; SERRA, C.H.R.; KOONO, E.M.; ANDRADE, S.S.; PORTA, V. Determination of lamivudine in human plasma by HPLC and its use in bioequivalence studies. *International Journal of Pharmaceutics*, v.297, p.73-79, 2005.
- KATZUNG, B.G. *Farmacologia básica e clínica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, 854p.
- KOONO, E.E.M. *Avaliação da bioequivalência de comprimidos contendo 500 mg de tinidazol*. São Paulo, 2005. 157p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- KOROLKOVAS, A. *Dicionário Terapêutico Guanabara*: 2004/2005. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LAM, Y.W.F.; JAVORS, M.A.; AIT-DAOUD, N.; ROACHE, J.D.; JOHNSON, B.A. Relative bioavailability of an extemporaneous ondansetrona 4-mg capsule formulation versus solution. *Pharmacotherapy*, v.24, n.4, p.477-481, 2004.
- LEITE, F. *Validação em análise química*. 3.ed. Campinas: Editora Átomo, 1998. 224p.
- LIU, J.; STEWART, J.T. High-performance liquid chromatographic analysis of ondansetron enantiomers in human serum using a reversed-phase cellulose-based chiral stationary phase and solid-phase extraction. *Journal Chromatography B*, v.694, n.1, p.399-406, 1997.
- MANUPAT, L.; KASINEE, C.; SANGLAR, P.; ORNRAT, L.; PRAWIT, T. Bioequivalence study of ondansetrona tablet in healthy Thai male volunteers. *Journal of the Medical Association of Thailand*, v.85, n.7, p.808-813, 2002.
- NATION, R.L.; SANSOM, L.N. Bioequivalence requirements for generic products. *Pharmacology & Therapeutics*, v.62, n.1/2, p.41-55, 1994.

- ORMSBY, E. Statistical Methods in Bioequivalence. In: JACKSON, A.J. *Generic and bioequivalence*. Londres: CRC Press, 1994. 203p.
- PORTA, V. *Avaliação da bioequivalência de formulações do mercado nacional contendo fluconazol*. São Paulo, 1999. 129p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- PORTA, V.; SERRA, C. H. R.; FERRAZ, H. G.; KANO, E. K.; CARAMICO, H. J. Avaliação da bioequivalência de comprimidos contendo levofloxacino 500 mg produzidos por Apsen Farmacêutica S/A e Aventis Pharma. Etapa Clínica, analítica e estatística. *Rev. bras. med. (Rio J.)*, v. 60, n. 7, p. 537-540, 2003.
- PORTA, V.; FERRAZ, H.G.; SOUZA, T.M. L.; KANO, E.K.; SERRA, C.H.R. Método analítico para a determinação de meloxicam em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). *Revista brasileira de ciências farmacêuticas*, v.41, n.2, p.215-222, 2005.
- PORTA, V.; SCHRAMM, S.G.; KANO, E.K.; KOONO, E.E.; ARMANDO, Y.P.; FUKUDA, K.; SERRA, C.H.R. HPLC-UVdetermination of metformin in human plasma for application in pharmacokinetic and bioequivalence studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.46, p.143-147, 2008.
- QUEIROZ, S.C.N.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Química Nova*, v.24, n.1, p.68-76, 2001.
- RITSCHER, W.A. *Handbook of basic pharmacokinetics*. 4.ed. Hamilton: Drug Intelligence, 1992. 588p.
- ROJANASTHIEN, N.; MANOROT, M.; KUMSORN, B. Pharmacokinetics and bioequivalence testing of generic ondansetron preparations in healthy Thai male volunteers. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, v.37, n.11, p.548-554, 1999.

- RUMEL, D.; NISHIOKA, S.A.; SANTOS, A.A.M. Intercambialidade de medicamentos: abordagem clínica e o ponto de vista do consumidor. *Revista Saúde Pública*, v.40, n.5, p.921-927, 2006.
- SERRA, C.H.R. *Avaliação biofarmacotécnica de comprimidos contendo cefalexina: cinética de dissolução e bioequivalência*. São Paulo, 1998. 206p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- SERRA, C.H.R.; KOONO, E.E.M.; KANO, E.K.; SCHRAMM, S.G.; ARMANDO, Y.P.; PORTA, V. Bioequivalence and pharmacokinetics of two zidovudine formulations in healthy Brazilian volunteers: an open-label, randomized, single-dose, two-way crossover study. *Clinical Therapeutics*, v.30, n.5, p.902-908, 2008.
- SHARGEL, L.; YU, A.B.C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 3.ed. London: Prentice-Hall International, 1993. 625p.
- SHIN, I.C.; HONG, J.W.; PARK, Y.Y.; KOH, H.C. Bioequivalence of Onfran tablets to Zofran tablets (ondansetrona 8 mg). *Journal of Applied Pharmacology*, v.11, n.1, p.58-64, 2003.
- SIMPSON, K.H.; HICKS, F.M. Clinical pharmacokinetics of ondansetron. A review. *Journal of Pharm. and Pharmacol.* v.48, n.8, p.774-781, 1996.
- SOUZA, J.; FREITAS, Z.M.F.; STORPIRTIS, S. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v.43, n.4, p.515-527, 2007.
- STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V.O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v.31, n.2, p.63-70, 1995.

- STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.35, n.1, p.1-16, 1999.
- UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. *Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification Systems*. 2000. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/3618fnl.htm>. Acesso em: 10 jun. 2008.
- UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. *Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations*. 2003. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/4964dft.htm>. Acesso em: 14 dez. 2007.
- UNITED STATES. National Archives and Records Service. Office of the Federal register. Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drug. Subchapter D: Drug for human use. Part 320. *Bioavailability and Bioequivalence Requirements*. 2004. Disponível em: http://a257.g.akamaitech.net/7/257/2422/12feb20041500/edocket.access.gpo.gov/cfr_2004/aprqr/pdf/21cfr320.1.pdf. Acesso em: 14 dez. 2007.
- VANDENBERG, C.M.; KAZMI, Y.; STEWART, J.; WEIDLER, D.J.; TENJARLA, S.N.; WARD, E.S.; JANN, M.W. Pharmacokinetics of three formulations of ondansetron hydrochloride in healthy volunteers: 24 mg oral tablet, rectal suppository, and i.v. infusion. *American Journal of Health-System Pharmacy*, v.57, n.11, p.1046-1050, 2000.
- VERA, R.; MARTÍNEZ, M.; SALGADO, E.; LÁINEZ, N.; ILLARRAMENDI, J.J.; ALBÍSTUR, J.J. Tratamiento de la emesis inducida por quimioterapia. *An. Sis.Sanit.Navar.*, v.27. s.3, p.117-123, 2004.

XU, X.; BARTLETT, M.G.; STEWART, J.T. Determination of ondansetron and its hydroxymetabolites in human serum using solid-phase extraction and liquid chromatography/positive ion electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, v.35, p.1329-1334, 2000.

ANEXOS

ANEXO A – Comitê de Ética FCF-USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 113/2006

São Paulo, 29 de agosto de 2006.

Ilmo(a). Sr(a).
Profa. Dra. Valentina Porta
FBF

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 28 de agosto de 2006, **APROVOU** as alterações do projeto "Avaliação de bioequilavência de comprimidos contendo ondansetrone 8 mg produzidos por Biolab Sanus Farmacêutica Ltda e Glaxo Wellcome S.A." (Protocolo CEP nº 137) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
FCF/USP

ANEXO B – Comitê de Ética HU-USP

São Paulo, 27 de novembro de 2006.

Il^{mo}(a). S^{ra}(a).

Dra. Valentina Porta

Departamento de Farmácia – Laboratório de Biofarmacotécnica
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** “*Avaliação da bioequivalência de comprimidos contendo ondansetrona 8mg produzidos por Biolab Sanus Farmacêutica Ltda e Glaxo Wellcome S.A.*” – **Co-autor(es)**: Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo, Dra. Cristina Helena dos Reis Serra, Dra. Eunice Kazue Kano - **Registro CEP-HU/USP**: 693/06 – **SISNEP CAAE**: 0038.0.198.000-06

Prezado(a) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada no dia 24 de novembro de 2006, analisou o projeto de pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**, bem como, seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final, em função da duração da pesquisa), de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, item IX.2 letra c.

O primeiro relatório está previsto para 24 de novembro de 2007.

Atenciosamente,

Dr. Maurício Seckler
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

ANEXO C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(obrigatório para Pesquisa Científica em Seres Humanos - Resoluções CNS 196/96 e 251/97)

1. Identificação do voluntário

Nome:.....Sexo:.....

Identidade:.....

Nascimento:.....

Endereço:.....

Telefone:.....

2. Informações sobre a pesquisa

Título: Avaliação da bioequivalência de comprimidos contendo ondansetrona 8mg produzidas por Biolab Sanus Farmacêutica Ltda e Glaxo Wellcome S.A.

Pesquisadores envolvidos: Profa. Dra. Valentina Porta, Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra, Farmacêutica Yara Popst Armando, Dr. Paulo de Andrade Lotufo.

Avaliação de risco: risco mínimo

3. Informações ao voluntário

Justificativa e objetivos da pesquisa: (esclarecer o voluntário sobre a finalidade da pesquisa): Este estudo pretende comparar dois tipos de comprimidos contendo ondansetrona, produzidas por duas indústrias diferentes. A ondansetrona é um remédio usado para controlar a náusea e o vômito induzidos por quimioterapia e radioterapia, comuns no tratamento contra câncer. A comparação vai verificar se os dois tipos de comprimidos são absorvidos da mesma forma na pessoa que toma o remédio, e se podem ser utilizadas de forma intercambiável, ou seja, um no lugar do outro.

Procedimentos: (esclarecer o voluntário sobre os procedimentos a que será submetido): Para ser incluído no estudo, você será submetido a exames clínicos e laboratoriais, com quatro coletas de amostras de sangue e uma de urina. Será feito também um eletrocardiograma. Ao final do estudo estes mesmos exames laboratoriais e clínico serão repetidos, juntamente com o eletrocardiograma. Você será internado no Setor de Ensaios de Bioequivalência do Hospital Universitário, localizado à Av. Prof. Lineu Prestes, 2565, Cidade Universitária, Butantã, São Paulo, SP na noite anterior ao estudo. Você não poderá levar nenhum tipo de alimento pra o hospital, pois, a partir do momento da internação, você receberá dieta padronizada. No dia do estudo você tomará um dos produtos com água. Para avaliar a absorção do fármaco pelo organismo serão realizadas coletas de sangue nos seguintes tempos: 0; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16

e 24 horas. Além disso, o jejum deverá ser mantido até quatro horas depois de tomar o comprimido. Este procedimento será repetido com a outra formulação de comprimido, com intervalo de uma semana. Para evitar que sua veia seja punccionada muitas vezes, será colocado um sistema apropriado para a retirada de sangue.

Ocorrência de efeitos indesejáveis: (esclarecer os voluntários sobre possíveis efeitos indesejáveis associados ao ensaio): A ondansetrona, geralmente, é bem tolerada e causa poucos efeitos desagradáveis. Nas condições em que será realizado o presente estudo (administração de dose única de 8 mg de ondansetrona) o aparecimento de algum efeito desagradável ou perigosos é pouco provável. Alguns efeitos desagradáveis que podem acontecer são: prisão de ventre, diarreia, febre ou calafrios, dor de cabeça, dor abdominal ou cólicas estomacais, tontura, sonolência, secura da boca e fraqueza. A ondansetrona raramente causa reações de alergia. Durante a coleta de sangue, algumas pessoas podem sentir fraqueza e até mesmo desmaiar por causa da picada. Também podem surgir hematomas e dor no local da picada. Entretanto, esses efeitos são passageiros e não são graves. A coleta de amostras será acompanhada por um médico que poderá atendê-lo no caso de alguma eventualidade, além de esclarecer qualquer dúvida.

Benefícios esperados: (esclarecer os voluntários sobre benefícios esperados a partir do ensaio): Alguns tipos de remédio não necessitam de ensaios em seres humanos para verificar se agem da mesma forma no organismo e se podem ser substituídos entre si. Entretanto, conforme critérios estabelecidos na Resolução 135/2003, este não é o caso de comprimidos de ondansetrona. Para esses produtos, o ensaio em seres humanos é indispensável. Assim, embora não exista nenhum benefício direto aos voluntários por sua participação no estudo aqui descrito, o mesmo trará muitos benefícios indiscutíveis à população, na medida em que permitirá a comercialização de comprimidos de ondansetrona com qualidade comprovada.

Métodos alternativos existentes: (esclarecer os voluntários sobre a existência ou não de outros métodos que possam substituir o método utilizado no presente ensaio): Atualmente, não existem outros métodos que possam ser aplicados em estudos desse tipo.

Forma de acompanhamento e assistência: (esclarecer os voluntários sobre o acompanhamento e assistência que receberão durante o ensaio): O ensaio será acompanhado por profissional médico capacitado a prestar assistência em caso de necessidade. Os pesquisadores estarão à disposição dos voluntários para quaisquer esclarecimentos nos telefones (011)3091-3623 (Profa. Dra. Valentina Porta, Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra) e (011) 3039-9485 (Dr. Paulo de Andrade Lotufo).

Garantia de sigilo: (esclarecer os voluntários sobre a forma que será utilizada para garantir o sigilo dos dados referentes a eles): Na divulgação dos resultados da pesquisa, os voluntários serão identificados apenas por códigos, garantindo sua privacidade e a confidencialidade dos dados obtidos.

Ressarcimento de despesas: (esclarecer os voluntários sobre a forma de reposição das despesas e gastos associados ao ensaio): Cada voluntário receberá R\$ 340,00 como forma de ressarcimento das despesas decorrentes de sua participação na pesquisa.

Indenização (Seguro): (esclarecer os voluntários sobre o seguro individual para indenização por eventuais danos associados ao ensaio): A ocorrência de eventuais danos associados à pesquisa será devidamente indenizada por meio de seguro contratado para os voluntários, que prevê indenização de R\$50.000,00 por morte natural, invalidez total ou parcial.

Outros esclarecimentos: Você terá a garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou dúvida que possa surgir, em qualquer etapa do estudo e também terá a liberdade de retirar seu consentimento e sair do estudo no momento em que desejar.

4. Consentimento pós-informação

Após ter sido devidamente informado sobre a justificativa e objetivos da pesquisa e os procedimentos a que serei submetido, e receber a garantia de ser esclarecido sobre qualquer dúvida e de ter a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, consinto, de livre e espontânea vontade, em participar da pesquisa **“Avaliação da bioequivalência de comprimidos contendo ondansetrona 8mg produzidas por Biolab Sanus Farmacêutica Ltda e Glaxo Wellcome S.A.**

Data: ____/____/____

Voluntário

Pesquisador

Testemunha 1

Testemunha 2

ANEXO D

Curvas de decaimento plasmático e parâmetros farmacocinéticos individuais

Voluntário 1

Tabela AD.1 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 1

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	9,46	21,83	22,53	22,65	22,11	19,82	17,24	14,33	13,95	9,39	6,94	4,73	3,26	NQ	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	NQ	NQ	7,05	10,42	16,60	15,99	16,04	15,43	15,16	9,74	7,18	4,65	3,08	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.2 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 1

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	22,65	1,50	3,67	121,50	138,74	0,1890
Vonau®	16,60	2,00	3,27	102,87	117,41	0,2118

Figura AD.1. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 1

Voluntário 2

Tabela AD.3 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 2

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	4,6	8,41	13,14	15,36	17,54	20,03	18,39	17,32	16,74	15,94	11,83	8,78	6,65	4,15	NQ	NQ	NQ
Vonau®	NQ	9,81	14,60	25,47	32,89	32,17	29,73	28,32	27,02	25,73	22,83	14,53	11,88	7,31	5,35	3,71	2,96	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.4 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 2

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	20,03	2,00	3,70	132,15	154,32	0,1872
Vonau®	32,89	1,25	4,69	206,50	226,54	0,1478

Figura AD.2. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 2

Voluntário 3

Tabela AD.5 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 3

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	14,16	16,04	22,14	24,40	22,58	23,72	24,41	24,44	22,81	19,26	14,22	10,98	8,78	6,40	5,79	NQ
Vonau®	NQ	NQ	3,82	8,83	15,27	17,48	20,00	21,02	22,36	22,91	21,77	17,77	12,93	10,74	8,38	5,22	3,78	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.6 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 3

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	24,44	3,50	5,13	223,41	266,26	0,1351
Vonau®	22,91	3,50	3,48	197,76	216,74	0,1990

Figura AD.3. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 3

Voluntário 4

Tabela AD.7 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 4

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	6,24	6,92	10,58	8,08	8,66	8,06	8,78	8,30	6,44	5,74	4,92	3,11	2,50	NQ	NQ	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	8,18	12,43	13,79	12,67	12,76	12,78	13,17	12,45	12,17	9,36	6,18	5,30	3,21	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.8 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 4

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	10,58	1,00	4,09	53,51	68,23	0,1696
Vonau®	13,79	1,25	4,24	99,04	118,67	0,1636

Figura AD.4. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 4

Voluntário 5

Tabela AD.9 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 5

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	11,62	27,17	34,07	30,04	28,62	27,54	28,19	26,71	24,86	23,82	13,84	9,82	7,22	6,04	3,77	2,85	NQ
Vonau®	NQ	5,54	27,51	36,52	30,88	34,09	32,44	28,41	30,70	27,44	23,70	15,03	9,67	6,61	4,07	3,60	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.10 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 5

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	34,07	1,00	3,68	205,58	220,71	0,1882
Vonau®	36,52	1,00	4,57	202,08	225,80	0,1518

Figura AD.5. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 5

Voluntário 6

Tabela AD.11 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 6

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	22,06	34,57	38,42	35,65	29,21	35,75	36,04	35,52	33,44	19,21	10,78	10,15	6,62	4,68	3,03	NQ
Vonau®	NQ	18,39	23,76	32,92	27,32	26,52	24,40	29,98	29,08	25,56	18,96	13,68	11,43	6,78	7,33	5,10	4,16	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.12 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 6

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	38,42	1,25	3,55	253,12	268,66	0,1952
Vonau®	32,92	1,00	4,90	208,85	238,30	0,1414

Figura AD.6. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 6

Voluntário 7

Tabela AD.13 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 7

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	3,48	8,97	17,61	17,93	18,43	19,59	20,08	18,91	17,60	13,46	10,85	7,04	5,30	4,09	2,92	NQ
Vonau®	NQ	NQ	2,88	9,25	12,91	15,59	16,93	20,22	18,06	19,77	17,62	12,43	8,26	6,27	4,90	3,37	3,03	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.14 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 7

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	20,08	3,00	4,65	159,18	178,80	0,1489
Vonau®	20,22	2,50	5,77	145,13	170,37	0,1201

Figura AD.7. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 7

Voluntário 8

Tabela AD.15 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 8

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	NQ	NQ	6,41	12,38	21,02	22,60	23,32	23,26	19,83	16,16	12,25	10,19	8,27	6,94	5,52	2,68
Vonau®	NQ	NQ	7,55	11,11	17,61	22,77	24,21	23,55	25,70	28,06	23,02	14,89	11,72	9,29	6,55	4,67	3,73	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.16 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 8

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	23,32	3,00	7,40	222,04	250,69	0,0936
Vonau®	28,06	3,50	4,93	195,11	221,67	0,1406

Figura AD.8. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 8

Voluntário 9

Tabela AD.17 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 9

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	6,23	14,26	19,06	27,53	27,55	27,27	28,46	28,84	26,93	23,63	13,59	9,70	6,17	4,88	NQ	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	5,37	10,63	20,96	24,69	28,29	27,40	30,26	27,72	27,56	18,79	11,16	7,59	5,51	3,98	2,59	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.18 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 9

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	28,84	3,00	4,03	176,98	205,39	0,1718
Vonau®	30,26	3,00	3,68	206,42	220,18	0,1885

Figura AD.9. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 9

Voluntário 10

Tabela AD.19 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 10

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	13,83	25,62	27,01	26,21	23,86	22,60	21,91	19,84	19,32	17,36	13,04	5,69	4,95	2,92	2,78	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	2,53	5,10	9,50	14,17	15,41	15,05	14,88	13,52	12,71	7,91	5,18	3,63	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.20 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 10

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	27,01	1,00	4,16	153,38	170,09	0,1665
Vonau®	15,41	2,00	3,09	84,74	100,93	0,2242

Figura AD.10. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 10

Voluntário 11

Tabela AD.21 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 11

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	NQ	9,24	17,04	19,59	20,18	20,82	20,83	17,30	16,98	12,01	9,77	5,93	3,97	2,98	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	NQ	3,20	7,30	15,76	17,53	21,77	21,73	20,98	19,40	13,37	9,57	7,90	5,63	3,76	2,82	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.22 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 11

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	20,83	3,00	4,03	125,34	142,69	0,1718
Vonau®	21,77	2,50	4,00	147,70	163,98	0,1731

Figura AD.11. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 11

Voluntário 12

Tabela AD.23 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 12

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	4,15	7,54	13,61	20,18	29,36	31,67	27,82	28,77	29,35	25,58	19,98	15,40	12,49	11,87	8,17	4,93
Vonau®	NQ	4,40	14,09	19,63	22,72	25,64	26,35	29,86	30,54	25,16	29,59	22,50	16,86	12,79	10,30	8,30	6,64	3,42

NQ = não quantificável

Tabela AD.24 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 12

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	31,67	2,50	8,59	340,60	401,73	0,0807
Vonau®	30,54	3,00	7,97	306,75	346,08	0,0870

Figura AD.12. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 12

Voluntário 13

Tabela AD.25 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 13

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	26,86	41,39	38,96	35,28	39,06	45,76	43,05	38,03	32,98	30,89	20,26	18,46	14,81	11,39	8,97	5,00
Vonau®	NQ	55,85	57,30	58,92	60,04	53,82	48,35	55,31	51,34	47,30	47,46	37,59	28,30	22,66	17,86	14,42	11,40	6,85

NQ = não quantificável

Tabela AD.26 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 13

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	45,76	2,50	5,53	420,69	460,57	0,1253
Vonau®	60,04	1,25	6,18	571,70	632,76	0,1122

Figura AD.13. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 13

Voluntário 14

Tabela AD.27 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 14

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	6,26	24,69	35,40	39,71	33,15	33,79	36,51	34,49	32,49	31,93	24,32	19,16	16,09	12,75	9,92	8,86	4,09
Vonau®	NQ	10,48	33,39	42,04	39,39	42,30	38,49	34,92	34,72	31,77	29,97	22,67	21,38	16,89	11,80	12,41	10,31	6,30

NQ = não quantificável

Tabela AD.28 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 14

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	39,71	1,25	7,62	373,42	418,40	0,0909
Vonau®	42,30	1,50	4,67	374,29	416,75	0,1485

Figura AD.14. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 14

Voluntário 15

Tabela AD.29 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 15

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	NQ	NQ	4,75	10,93	19,95	30,05	28,40	25,72	25,59	16,13	12,20	9,02	6,51	3,73	3,45	NQ
Vonau®	NQ	2,79	8,46	9,40	20,04	20,23	21,72	21,22	22,00	21,41	21,85	15,38	11,40	7,79	5,00	3,37	2,51	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.30 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 15

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	30,05	2,50	3,13	156,49	172,08	0,2211
Vonau®	22,00	3,00	4,02	168,60	183,17	0,1722

Figura AD.15. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 15

Voluntário 16

Tabela AD.31 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 16

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	5,09	12,77	16,66	19,96	20,41	17,97	17,29	15,68	16,10	10,20	6,82	4,46	2,94	NQ	NQ	NQ
Vonau®	NQ	NQ	5,14	11,26	15,40	17,69	19,13	18,15	16,19	17,91	15,67	9,51	6,92	4,85	3,19	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.32 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 16

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	20,41	2,00	3,29	117,81	131,75	0,2106
Vonau®	19,13	2,00	3,58	115,61	132,12	0,1934

Figura AD.16. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 16

Voluntário 17

Tabela AD.33 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 17

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	8,37	42,26	58,66	53,33	51,48	48,71	48,16	48,34	43,92	41,59	27,65	20,62	15,69	14,08	9,95	7,58	4,21
Vonau®	NQ	4,26	10,06	13,95	20,88	24,60	36,30	48,42	53,62	52,20	55,08	38,92	29,93	19,66	14,35	10,96	8,89	4,00

NQ = não quantificável

Tabela AD.34 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 17

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	58,66	1,00	4,48	438,28	465,49	0,1546
Vonau®	55,08	4,00	6,90	474,26	514,06	0,1005

Figura AD.17. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 17

Voluntário 18

Tabela AD.35 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 18

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	6,58	18,86	21,11	25,25	32,06	27,85	24,81	20,61	19,00	16,36	12,27	8,17	5,21	3,83	3,01	NQ
Vonau®	NQ	NQ	7,02	33,92	23,26	26,61	17,31	23,65	22,33	21,69	21,01	15,41	10,01	9,08	2,89	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.36 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 18

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	32,06	2,00	5,05	192,20	214,10	0,1373
Vonau®	33,92	1,00	3,74	166,66	182,27	0,1854

Figura AD.18. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 18

Voluntário 19

Tabela AD.37 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 19

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	12,76	26,96	24,93	30,58	27,29	28,90	26,92	26,44	24,16	18,01	16,45	11,55	8,06	6,70	5,09	2,91
Vonau®	NQ	11,18	20,16	23,94	21,06	26,13	24,37	24,55	23,71	22,33	18,71	18,00	12,93	8,07	7,43	3,84	4,17	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.38 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 19

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	30,58	1,50	8,72	266,29	302,90	0,0795
Vonau®	26,13	1,50	3,73	205,85	228,32	0,1856

Figura AD.19. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 19

Voluntário 20

Tabela AD.39 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 20

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	NQ	3,88	24,01	44,77	49,04	46,81	42,64	39,50	31,00	30,27	23,71	17,25	11,71	8,41	6,23	4,09	NQ
Vonau®	NQ	9,39	20,21	29,33	30,90	35,47	40,23	42,22	41,87	33,88	28,53	20,83	13,53	10,79	6,81	4,23	3,33	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.40 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 20

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	49,04	1,50	3,84	293,10	315,76	0,1804
Vonau®	42,22	2,50	3,87	265,07	283,65	0,1791

Figura AD.20. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 20

Voluntário 22

Tabela AD.41 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 22

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	4,28	20,95	29,08	35,40	36,04	36,70	33,50	27,70	24,33	23,00	13,48	7,57	4,71	3,89	2,57	NQ	NQ
Vonau®	NQ	4,95	12,93	26,66	27,27	27,32	27,58	26,35	22,39	23,82	20,15	13,83	8,35	5,70	4,45	2,68	NQ	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.42 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 22

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	36,70	2,00	4,57	188,20	205,15	0,1515
Vonau®	27,58	2,00	3,67	171,42	185,62	0,1887

Figura AD.21. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 22

Voluntário 23

Tabela AD.43 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 23

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	5,44	16,70	35,88	30,04	34,89	35,72	39,96	39,95	37,20	33,75	21,94	17,61	13,04	9,92	7,81	5,25	3,24
Vonau®	NQ	9,78	25,87	33,56	34,68	30,92	31,54	29,76	29,88	27,96	28,89	19,55	16,32	10,30	8,21	5,60	4,56	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.44 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 23

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	39,96	2,50	4,36	326,32	346,72	0,1590
Vonau®	34,68	1,25	4,54	259,03	288,95	0,1525

Figura AD.22. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 23

Voluntário 24

Tabela AD.45 – Concentrações plasmáticas de ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 24

Produto	Concentração plasmática (ng/mL)																	
	0h	0,5h	0,75h	1h	1,25h	1,5h	2h	2,5h	3h	3,5h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	24h
Zofran®	NQ	14,79	43,96	35,29	48,25	44,18	37,59	40,96	39,37	35,70	32,78	21,91	16,46	10,72	6,87	4,64	3,67	NQ
Vonau®	NQ	6,01	24,56	25,82	31,77	30,42	29,54	31,71	34,73	32,06	30,55	22,16	18,00	11,13	7,44	5,39	4,61	NQ

NQ = não quantificável

Tabela AD.46 – Parâmetros farmacocinéticos da ondansetrona após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 24

Produto	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	t _{1/2} (h)	ASC _{0-t} (ng×h/mL)	ASC _{0-∞} (ng×h/mL)	k _{el} (h ⁻¹)
Zofran®	48,25	1,25	3,31	296,65	314,17	0,2095
Vonau®	34,73	3,00	3,82	269,25	294,68	0,1815

Figura AD.23. Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos referência (Zofran®) e teste (Vonau® *flash*) ao voluntário 24