

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil coloca-se na décima posição no ranking dos maiores consumidores de medicamentos do mundo, movimentando aproximadamente 5 bilhões de dólares por ano. Além disso, é o primeiro colocado mundial no número de farmácias, com cerca de 50 mil lojas, correspondendo a 3,34 lojas para cada 10 mil habitantes (Pró-genéricos, 2004).

A eficácia clínica de um medicamento pode ser afetada por fatores fisiológicos como transporte através das membranas biológicas, motilidade e tempo de trânsito gastrintestinal, metabolização no trato gastrintestinal, por fatores inerentes ao fármaco, por fatores relacionados à forma farmacêutica, além de fatores externos, ou seja, administração concomitante a outros medicamentos ou interação com determinados alimentos. Estes fatores podem influenciar diretamente os parâmetros relacionados com a biodisponibilidade, isto é, a extensão da absorção do fármaco contido na forma farmacêutica e a velocidade com a qual este processo ocorre (Dressman *et al.*, 1998; Porta, 1999; Manadas *et al.*, 2002; Koono, 2005).

A equivalência terapêutica entre um produto teste e o produto referência pode ser demonstrada por meio de comparação farmacocinética, após a administração de ambos. Este procedimento é adotado em substituição aos ensaios clínicos, pois estes normalmente utilizam um elevado número de pacientes e requerem alto custo, além de um longo período de tempo. Esta abordagem baseia-se no princípio de que perfis semelhantes de concentração plasmática do fármaco *versus* tempo fornecerão resultantes similares em termos de eficácia e segurança, desde que exista uma relação bem definida entre a concentração do fármaco ou metabólito ativo e o efeito terapêutico (Meredith, 1996; Gleiter, 1998).

Dois produtos são considerados equivalentes terapêuticos se apresentarem biodisponibilidades semelhantes quando administrados ao mesmo indivíduo, na mesma dose molar, sob as mesmas condições experimentais, o que pode ser analisado em estudos de bioequivalência (Porta, 1999).

Durante os estudos de bioequivalência, os produtos teste e referência são administrados a voluntários sob as mesmas condições. Posteriormente, amostras biológicas como sangue, plasma ou urina, são analisadas em relação à concentração de fármaco ou metabólitos e os seguintes parâmetros farmacocinéticos dos medicamentos teste e referência são avaliados: concentração plasmática máxima (C_{max}) e área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo (ASC), que são comparados estatisticamente (Storpiritis, Consiglieri, 1995; Consiglieri, Storpiritis, 2000; Souza, 2005).

A ciclobenzaprina foi sintetizada originalmente em 1960. Atualmente, é utilizada, em conjunto com a fisioterapia, para o tratamento dos espasmos musculares, e das afecções músculo-esqueléticas como fibromialgias, lombalgias, torcicolos e periartrite, em doses que variam 20 a 40 mg ao dia (Linden *et al.*, 1983; Korolkovas, 2004; Drug Information, 2005).

Estão descritos na literatura poucos estudos referentes à farmacocinética e biodisponibilidade da ciclobenzaprina (Hucker, Stauffer, 1976; Hucker *et al.*, 1977; Hucker *et al.*, 1978; Till *et al.*, 1982; Wang *et al.*, 1996; Winchell *et al.*, 2002). Isto deve, em parte, pela ausência de métodos com sensibilidade adequada para quantificação deste fármaco em matrizes biológicas.

O acoplamento do detector de massas à cromatografia líquida de alta eficiência tem se tornado uma técnica valiosa, pois permite o desenvolvimento

de metodologias com baixo limite de detecção, sensibilidade, precisão e exatidão adequadas.

O Miosan[®] é o único produto contendo cloridrato de ciclobenzaprina comercializado no mercado brasileiro. Não existem produtos genéricos ou similares ao Miosan[®]. Desta forma, estudos que avaliem a biodisponibilidade deste produto e sua bioequivalência a outras formulações contendo ciclobenzaprina (desenvolvidas no Brasil ou importadas) tornam-se fundamentais no sentido de fornecer novas alternativas à população e reduzir os custos associados à farmacoterapia com ciclobenzaprina.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CICLOBENZAPRINA

2.1.1 HISTÓRICO

Os miorrelaxantes centrais são fármacos que deprimem seletivamente a parte do sistema nervoso central que controla o tônus muscular. São usados para promover relaxamento muscular nos espasmos músculo-esqueléticos, úteis como adjuvantes do repouso, da psicoterapia e de outras medidas apropriadas para tratar o mal-estar produzido por espasmo músculo-esquelético doloroso localizado (Korolkovas, 2004).

A ciclobenzaprina foi sintetizada originalmente em 1960 com a finalidade de ser usada como antidepressivo. Em doses diárias de 75 a 150 mg, mostrou-se eficaz no tratamento da depressão, mas sem oferecer vantagens sobre os agentes já existentes (Linden *et al*, 1983).

Este fármaco também foi utilizado, com sucesso limitado, no tratamento da esquizofrenia, ansiedade, cefaléia crônica e rigidez provocada pela doença de Parkinson (Linden *et al*, 1983). Em 1977, o cloridrato de ciclobenzaprina foi introduzido como adjuvante no alívio do espasmo muscular associado à dor músculo-esquelética aguda (Katz, Dube, 1988).

Atualmente, o cloridrato de ciclobenzaprina é empregado como relaxante muscular, particularmente nas dores associadas com a hiperatividade músculo-esquelética e distúrbios do sono, associados com a fibromialgia (Linden *et al*, 1983; Kobayashi *et al*, 1996; Drug Information, 2005).

2.1.2 ESTRUTURA QUÍMICA

A ciclobenzaprina é um relaxante muscular de ação central estruturalmente similar aos antidepressivos tricíclicos (Linden *et al*, 1983; Drug Information, 2005).

O cloridrato de ciclobenzaprina é um sal amino tricíclico, cuja fórmula empírica é $C_{20}H_{21}N \cdot HCl$, com peso molecular 311,9 g/mol. Apresenta-se como pó branco, cristalino, livremente solúvel em água e em álcool, ligeiramente solúvel em clorofórmio e praticamente insolúvel em hidrocarbonetos. O fármaco possui pK_a 8,47. Quimicamente, o cloridrato de ciclobenzaprina é designado como 3-(5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-ylidene)-N,N-dimethyl-1-propanamine cloridrato. Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 1 (Merck Index, 1996; Drug Information, 2005):

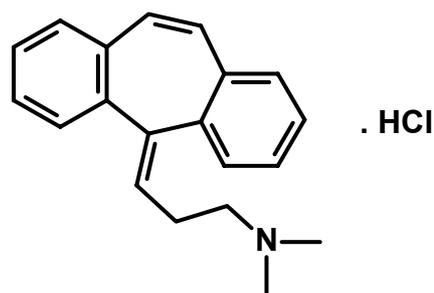


Figura 1: Fórmula estrutural do cloridrato de ciclobenzaprina

2.1.3 MECANISMO DE AÇÃO

O mecanismo de ação exato da ciclobenzaprina em humanos não é conhecido, mas sabe-se que este fármaco não atua diretamente no relaxamento músculo-esquelético e, diferentemente dos agentes bloqueadores neuromusculares, não deprime a condução neural, e nem a transmissão neuromuscular (Drug Information, 2005).

Estudos em animais sugerem que o efeito de relaxamento muscular da ciclobenzaprina é resultante da redução da atividade motora mediada pelos neurônios alfa (α) e gama (γ), bem como pela ação antagonista dos receptores 5-HT₂, com conseqüentes inibição do sistema serotoninérgico e relaxamento muscular (Share, McFarlene, 1975; Kobayashi *et al*, 1996; Korolkovas, 2004).

2.1.4 FARMACOCINÉTICA

Após administração oral, a ciclobenzaprina apresenta biodisponibilidade na faixa de 33 a 55 %. O efeito de relaxamento músculo-esquelético ocorre em concentrações plasmáticas de 20 a 30 ng/mL. Concentrações plasmáticas máximas de 4,3, 8,5 e 29,6 ng/mL são alcançadas em aproximadamente 4 horas após a administração oral de 5, 10 e 40 mg de ciclobenzaprina, respectivamente (Hucker, Stauffer, 1976; Hucker *et al.*, 1977; Hucker *et al.*, 1978; Till *et al.*, 1982; Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005).

As concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina aumentam proporcionalmente à dose, com farmacocinética linear na faixa de 2,5 a 10 mg (Winchell *et al.*, 2002).

Quando administrada em esquema de doses múltiplas (10 mg) a indivíduos sadios, três vezes ao dia, concentrações médias de 29,5 ng/mL são atingidas no estado de equilíbrio dentro de três a quatro dias, sendo aproximadamente quatro vezes mais altas que as obtidas após administração de dose única. Nesta posologia, a área sobre a curva de concentração plasmática *versus* tempo no intervalo de dose de oito horas (ASC_{0-8h}) foi 177 ng·h/mL (Winchell *et al.*, 2002; Drug Information 2005).

Concentrações plasmáticas significativamente maiores do fármaco foram encontradas em idosos, quando comparadas a indivíduos mais jovens em estudo de farmacocinética, provavelmente pela redução do *clearance* plasmático e não por mudanças na biodisponibilidade. Este aumento nas concentrações foi mais evidente em homens (160 %) do que em mulheres (40 %). Indivíduos com insuficiência hepática apresentaram valores de ASC e C_{max} mais altos, praticamente o dobro, quando comparados a indivíduos sadios. Com base nos resultados destes estudos, recomenda-se que este fármaco seja administrado com cautela em idosos e em indivíduos com insuficiência hepática (Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005).

O fármaco é amplamente distribuído para os tecidos corporais, dos quais é lenta e constantemente liberado para a corrente sanguínea, apresentando-se altamente ligado a proteínas plasmáticas (93 %) (Hucker, Stauffer, 1976; Hucker *et al.*, 1978; Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005). Estudos em animais demonstraram altas concentrações de ciclobenzaprina no intestino delgado, pulmões, rins e fígado (Hucker *et al.*, 1978; Winchell *et al.*, 2002). Não

existem dados publicados quanto à passagem do fármaco para a placenta, bem como sobre sua distribuição no leite humano, mas sabe-se que está presente no leite de ratas (Drug Information, 2005).

A ciclobenzaprina sofre recirculação entero-hepática e parece ser metabolizada durante sua primeira passagem pelo trato gastrointestinal (Hucker, Stauffer, 1976; Hucker *et al.*, 1977; Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005). As vias oxidativas e conjugativas estão envolvidas no metabolismo deste fármaco. Estudos *in vitro* sugerem que na via oxidativa, a N-desmetilação é mediada principalmente pelo citocromo P-450 (CYP) 3A4 e 1A2 e, em menor extensão, pelo 2D6 (Wang *et al.*, 1996; Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005).

Após administração oral, a ciclobenzaprina é excretada na urina, principalmente como metabólitos inativos glucoronídeos, e nas fezes, principalmente como fármaco inalterado. (Hucker *et al.*, 1978; Drug Information, 2005). Hucker & Stauffer (1976) sugerem que o fármaco é quase completamente metabolizado, pois apenas uma pequena fração de fármaco livre (0,2-1,5 %) e de fármaco marcado com C¹⁴ (6,3 %) foi excretada na urina em 24 horas.

A ciclobenzaprina apresenta eliminação lenta, com meia-vida na faixa de 8 – 37 horas e *clearance* plasmático de 41,3 L/h (Winchell *et al.*, 2002; Drug Information, 2005).

2.1.5 INDICAÇÕES, USOS E POSOLOGIA

A ciclobenzaprina é utilizada para o tratamento de espasmos musculares, por afecções músculo-esqueléticas como fibromialgias, lombalgias, torcicolos e periartrite, em associação com a fisioterapia (Korolkovas, 2004; Drug Information, 2005).

As doses variam de 20 a 40 mg ao dia, em duas a quatro administrações nas afecções músculo-esqueléticas e de 5 a 40 mg, ao deitar, na síndrome fibromiálgica (Korolkovas, 2004; Drug Information, 2005).

2.1.6 REAÇÕES ADVERSAS

A ciclobenzaprina é estruturalmente e farmacologicamente similar aos antidepressivos tricíclicos, apresentando propriedades anticolinérgicas, anti-histamínicas e sedativas (Linden *et al.*, 1983; Drug Information, 2005).

Os efeitos adversos mais comuns relatados após a administração de comprimidos contendo 5 ou 10 mg de ciclobenzaprina incluem sonolência (29-38 %), boca seca (21-32 %), tontura (1-3%), fadiga (6 %) e cefaléia (5 %). Outros efeitos que podem ocorrer, porém com menor frequência, são (Linden *et al.*, 1983; Drug Information, 2005):

- Sistema nervoso central: apreensão, ataxia, insônia, agitação, alucinações, diplopia;

- Trato gastrintestinal: dor abdominal, diarreia, constipação e náusea (1-3 %);
- Sistema cardiovascular: taquicardia, arritmia, vasodilatação; palpitação e hipotensão (menos de 1%);
- Reações de hipersensibilidade e dermatológicas: angioedema, prurido, edema facial, urticária, rash (menos de 1 %);
- Efeitos músculo-esqueléticos: fraqueza e contração muscular (menos de 1 %);
- Sistema geniturinário: retenção urinária (menos de 1 %).

2.2 DEFINIÇÕES

A intercambialidade entre vários produtos farmacêuticos deve resultar da equivalência farmacêutica, bioequivalência e equivalência terapêutica (Marzo, 1999). Apesar das tentativas de harmonização das exigências internacionais relativas à bioequivalência de medicamentos, existem ainda, diferenças importantes entre as definições desses termos utilizadas pelos órgãos de regulamentação de diversos países (Nation, Samsom, 1994; Steinijans, Schulz, 1992).

2.2.1 BIODISPONIBILIDADE

Segundo a FDA (United States, 2003), a biodisponibilidade é definida como a velocidade e extensão pela qual a substância ativa é absorvida da forma farmacêutica e torna-se disponível no sítio de ação. Para formas farmacêuticas que não pretendem liberar o fármaco na corrente sanguínea, a biodisponibilidade pode ser determinada por medidas que reflitam a velocidade e extensão pela qual o ativo torna-se disponível no local de ação.

Para a EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001), biodisponibilidade significa a velocidade e extensão pela qual um fármaco é absorvido a partir da forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação. Porém, como a maioria dos fármacos exerce ação sistêmica e considera-se que a substância na circulação sistêmica está em contínua troca com a substância no sítio de ação, pode-se adotar a seguinte definição: biodisponibilidade consiste na velocidade e extensão pela qual a substância ativa é liberada da forma farmacêutica e torna-se disponível na corrente sanguínea.

A ANVISA (Brasil, 2003a) define biodisponibilidade como a velocidade e extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração *versus* tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina.

2.2.2 BIODISPONIBILIDADE ABSOLUTA

Segundo Storpirtis (1999), a biodisponibilidade absoluta consiste na fração da dose administrada que é efetivamente absorvida pelo organismo. Pode ser determinada calculando-se a área sob a curva de concentração plasmática do fármaco *versus* tempo, tendo-se como referência uma injeção intravenosa, pois neste caso, a biodisponibilidade é de 100 %.

2.2.3 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA

A biodisponibilidade relativa consiste no estudo comparativo entre as biodisponibilidades de dois medicamentos administrados sob condições iguais e padronizadas (Consiglieri, Storpirtis, 2000).

Segundo a ANVISA (Brasil, 2003a), a biodisponibilidade relativa consiste no quociente entre a quantidade e a velocidade do princípio ativo que chega à circulação sistêmica a partir da administração extravascular de um produto de referência que contenha o mesmo princípio ativo.

A partir de 2003 os estudos de biodisponibilidade relativa passaram a ser requisitos obrigatórios aos produtos similares presentes no mercado brasileiro. Este termo foi introduzido no Brasil para diferenciar a denominação do produto teste avaliado. Assim, quando o produto teste avaliado for registrado como um medicamento similar, a denominação biodisponibilidade relativa é utilizada para avaliação da bioequivalência com o produto inovador (Brasil, 2003a).

2.2.4 BIOEQUIVALÊNCIA

A bioequivalência é definida pela ausência de diferença significativa na velocidade e extensão pela qual a substância ativa, 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 (United States, 2003).

De acordo com a EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001), dois produtos são considerados como bioequivalentes quando estes forem equivalentes ou alternativas farmacêuticas, cujas biodisponibilidades, após administração da mesma dose molar, forem de tal forma semelhantes, que garantam os mesmos efeitos em relação à eficácia e segurança.

Dois medicamentos são considerados bioequivalentes, segundo a ANVISA (Brasil, 2003) quando demonstrada a equivalência farmacêutica entre produtos que, ao serem administrados na mesma dose molar e nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade.

2.2.5 EQUIVALENTES FARMACÊUTICOS

De acordo com a FDA (United States, 2004) e ANVISA (Brasil, 2003), equivalentes farmacêuticos são dois produtos que contêm a mesma quantidade de um mesmo fármaco, na mesma forma farmacêutica e mesmo sal ou éster da molécula terapeuticamente ativa, podendo diferir apenas em relação aos

excipientes. Devem cumprir com as especificações farmacopeicas ou outros padrões de qualidade, em relação à identidade, teor, qualidade, pureza, potência e, quando aplicáveis, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução.

Equivalentes farmacêuticos, segundo a EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001), são produtos farmacêuticos que contêm a mesma quantidade de fármaco(s) na mesma forma farmacêutica e que cumprem requisitos de qualidade iguais ou comparáveis.

2.2.6 EQUIVALENTES TERAPÊUTICOS

Segundo a EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001), considera-se um produto farmacêutico como equivalente terapêutico quando este contém o mesmo fármaco e demonstre, clinicamente, a mesma segurança e eficácia do produto cuja eficácia e segurança tenham sido estabelecidas.

De acordo com a ANVISA (Brasil, 2003), dois medicamentos são considerados terapeuticamente equivalentes se eles são farmacologicamente equivalentes e, após administração na mesma dose molar, seus efeitos em relação à eficácia e segurança são essencialmente os mesmos, o que se avalia por meio de estudos de bioequivalência apropriados, ensaios farmacodinâmicos, ensaios clínicos e estudos *in vitro* (correlação *in vitro* / *in vivo*).

2.2.7 ALTERNATIVAS FARMACÊUTICAS

Alternativas farmacêuticas são produtos que contêm o mesmo fármaco, ou seu precursor, mas não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica, mesmo sal ou éster. Cada produto deve cumprir individualmente com suas especificações farmacopeicas ou outros padrões aplicáveis de qualidade, em relação à identidade, teor, qualidade, pureza, potência e, quando aplicáveis, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução (United States, 2004).

Para a EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products, 2001), alternativas farmacêuticas são produtos farmacêuticos que contêm o mesmo fármaco, mas diferem quanto à forma química do ativo (sal ou éster), forma farmacêutica ou teor.

Segundo a ANVISA (Brasil, 1999), alternativas farmacêuticas são medicamentos que contêm 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.

2.2.8 MEDICAMENTO INOVADOR

O medicamento inovador apresenta em sua composição pelo menos um fármaco ativo que tenha sido objeto de patente, mesmo já extinta, por parte da empresa responsável pelo seu desenvolvimento e introdução no mercado no país de origem e disponível no mercado nacional (Brasil, 2003).

2.2.9 MEDICAMENTO REFERÊNCIA

O medicamento referência consiste no medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja segurança, eficácia e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro. (Brasil, 2003).

2.2.10 MEDICAMENTO GENÉRICO

O medicamento genérico contém o mesmo princípio ativo, na mesma dose e forma farmacêutica do medicamento referência, administrado pela mesma via e com a mesma indicação terapêutica e apresentando a mesma segurança do medicamento referência no País, podendo ser, com este, intercambiável (Brasil, 1999). É produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada sua eficácia, segurança e qualidade, sendo designado pela Denominação Comum

Brasileira (DCB), ou na sua ausência, pela Denominação Comum Internacional (DCI) (Brasil, 2003).

2.2.11 MEDICAMENTO SIMILAR

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

2.3 FATORES QUE INFLUENCIAM A BIODISPONIBILIDADE DE MEDICAMENTOS

As variações de perfil de biodisponibilidade de medicamentos ocorrem, principalmente, em função das diferenças observadas em relação à eficácia e velocidade de absorção dos fármacos. Os fatores fisiológicos inerentes a cada indivíduo e os fatores relacionados à forma farmacêutica utilizada são os principais responsáveis por estas alterações (Souza, 2005).

A biodisponibilidade de medicamentos administrados por via oral pode ser influenciada por diversos fatores fisiológicos e físico-químicos, sendo que as características próprias do fármaco e de sua liberação a partir da forma farmacêutica exercem grande influência na quantidade e na velocidade de absorção. Considerando-se que a absorção ocorre somente após a solubilização do fármaco, os processos de desintegração da forma farmacêutica sólida, a liberação e dissolução do fármaco e sua permeabilidade através das membranas biológicas, são etapas determinantes na biodisponibilidade (Storpiertis, Consiglieri, 1995; Serra, 1998; Shargel, Yu, 1999; Panchagnula, Tomas, 2000).

De maneira geral, os fatores que influenciam a biodisponibilidade de medicamentos são: fisiológicos relacionados ao trato gastrointestinal (TGI), características físico-químicas do fármaco e características da forma farmacêutica e seus excipientes (Consiglieri *et al.*, 2000).

2.3.1 FATORES FISIOLÓGICOS RELACIONADOS AO TRATO GASTRINTESTINAL (TGI)

Dentre os fatores fisiológicos do TGI que podem influenciar a biodisponibilidade de fármacos destacam-se a superfície de absorção; o pH dos líquidos presentes; a velocidade de esvaziamento gástrico; a motilidade intestinal; a estabilidade dos fármacos nos líquidos presentes e a influência dos alimentos (Lipka, Amidon, 1999).

As diferenças na constituição das membranas do estômago, intestino delgado e intestino grosso determinam as variações na absorção dos fármacos. O intestino delgado, em função de suas microvilosidades, apresenta maior eficiência de absorção em relação ao estômago e intestino grosso, caracterizando a área de absorção efetiva dos fármacos (Shargel, Yu, 1993; Dressman *et al.*, 1998).

Um parâmetro importante que controla a absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos fármacos, consiste na habilidade da molécula em atravessar as membranas biológicas. Para um fármaco atravessar as membranas biológicas e atingir seu sítio de ação, é necessário um equilíbrio entre suas propriedades hidrofílicas e lipofílicas. De maneira geral, quanto maior a lipofilicidade, maiores serão a absorção, o metabolismo, a ligação a proteínas plasmáticas e a distribuição (Panchagnula, Thomas, 2000).

O pH dos líquidos do TGI varia de 1 a 7 no estado de jejum e de 3 a 7 após as refeições. Estas alterações, seja em função do perfil de pH dos líquidos do TGI ou em função de sua porção (estômago, intestino delgado, intestino grosso) ou ao longo do tempo, podem causar alterações na

biodisponibilidade de fármacos, uma vez que a desintegração, dissolução e absorção são processos pH-dependentes (Dressman *et al.*, 1998; Serra, 1998).

A presença de enzimas e sais biliares nos líquidos do TGI são fatores que podem alterar a absorção de fármacos. A secreção de bile no intestino delgado resulta em uma concentração substancial de sais biliares e lecitina, os quais favorecem a formação de micelas, podendo alterar a absorção de fármacos (Amidon *et al.*, 1995; Dressman *et al.*, 1998; Panchagnula, Thomas, 2000).

O conteúdo e o volume do estômago, bem como o pH, as calorias dos alimentos, a osmolaridade, a viscosidade, a temperatura e a capacidade seqüestrante de cálcio são alguns fatores que influenciam a velocidade de esvaziamento gástrico. Quando uma medicação é administrada por via oral com volumes maiores que 200 mL de líquido não calóricos, não tamponados, a velocidade de esvaziamento será maior e dependerá do volume administrado (Selen, 1991; Fleisher *et al.*, 1999).

O tempo médio de trânsito intestinal é, geralmente de 3 a 4 horas e independe das condições de jejum ou alimentação. Porém, vários fármacos e excipientes podem influenciar a extensão da absorção por uma aceleração do tempo de trânsito intestinal (Fleisher, 1999).

O tempo de permanência do fármaco no intestino delgado é determinado pela motilidade intestinal. Assim, quanto maior o tempo de contato do fármaco com seu sítio de absorção, maior será a quantidade absorvida (Lipka, Amidon, 1999; Wilding, 1999).

A degradação química e/ou metabolização de fármacos no TGI prejudicam a biodisponibilidade. A degradação química de fármacos ocorre

principalmente em função da hidrólise ou da ação de enzimas presentes nos líquidos do TGI (Serra, 1998).

A presença de alimentos no TGI pode alterar de maneira acentuada a biodisponibilidade oral de alguns fármacos através de diferentes mecanismos, entre os quais citam-se: alteração da velocidade de esvaziamento gástrico, estímulo de produção de secreções pelo trato gastrintestinal, competição entre os alimentos e o fármaco pelos sistemas de absorção especializados, complexação dos fármacos com componentes dos alimentos, mudança de pH, aumento da viscosidade dos líquidos do trato gastrintestinal e mudanças do fluxo sanguíneo hepático promovido pelos alimentos (Amidon *et al.*, 1995; Charman *et al.*, 1997; Dressman *et al.*, 1998).

De modo geral, a presença de alimentos determina a velocidade de esvaziamento gástrico. Além disso, a natureza e a quantidade dos alimentos ingeridos podem influenciar os processos de desintegração e dissolução dos medicamentos, alterando a absorção dos fármacos (Serra, 1998).

O leite e seus derivados aumentam o pH gástrico, podendo acelerar a dissolução de comprimidos de liberação entérica, resultando em irritação gástrica e alterando a absorção. Alguns fármacos, como o norfloxacino, formam complexos com o cálcio proveniente do leite e de outros produtos contendo este elemento. A ingestão de carne, em especial as que contêm um elevado teor de gordura, retarda o esvaziamento gástrico. Determinados fármacos apresentam sua absorção inibida quando administrados com sucos de frutas ácidas, bebidas gasosas ou cafeína (Singh *et al.*, 1999; Leibovitch *et al.*, 2004).

2.3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO FÁRMACO

A solubilidade do fármaco pode ser considerada o principal fator relacionado às características físico-químicas que influenciam a biodisponibilidade de medicamentos. A dissolução do fármaco é um pré-requisito para absorção e conseqüente resposta clínica da maioria dos fármacos apresentados em formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral (Amidon *et al.*, 1995).

A solubilidade do fármaco pode ser influenciada por alguns fatores, entre os quais: características intrínsecas do próprio fármaco, como constante de dissociação e lipossolubilidade; tamanho de partícula; forma cristalina e apresentação molecular na forma de sais ou ésteres (Serra, 1998).

De acordo com o princípio de partição de pH, apenas as formas menos ionizadas, mais lipofílicas, podem ser absorvidas por difusão passiva, uma vez que a membrana do TGI funciona como barreira lipídica. No entanto, esse princípio apresenta limitações, pois o estômago, intestino e sangue não são compartimentos fechados e estáticos e a absorção de um fármaco não depende somente do fato de não estar ionizado, mas também de suas características de lipossolubilidade (Serra, 1998; Kano, 2002).

A área superficial do fármaco que entra em contato com o fluido biológico é determinada pelo tamanho de partícula. Assim, partículas de tamanho reduzido apresentam maior área de superfície de contato com o líquido do TGI, com conseqüente aumento da velocidade de dissolução e absorção, ocasionando alterações na biodisponibilidade (Storpiertis *et al.*, 1999).

O tamanho de partícula é de fundamental importância para fármacos de baixa solubilidade, mas exerce pouca influência para fármacos altamente

solúveis. A micronização para obtenção de partículas de 3 a 5 μm é freqüentemente utilizada para aumentar a velocidade de dissolução. Entretanto, a diminuição do tamanho da partícula nem sempre assegura uma absorção mais rápida ou melhor. Um exemplo em que a redução do tamanho de partícula pode levar a diminuição de absorção é o efeito da acidez dos fluidos gástricos que acelera a decomposição de fármacos como a penicilina G e a eritromicina (Dressman *et al.*, 1998; Consiglieri *et al.*, 2000).

O polimorfismo consiste na propriedade de alguns fármacos no estado sólido apresentarem duas ou mais formas cristalinas, sendo cada uma destas conhecidas como polimorfo. Os polimorfos mais solúveis são os metaestáveis. O fármaco pode não possuir uma forma cristalina, mas apresentar-se sob a forma amorfa, comumente mais solúvel que a forma cristalina correspondente. Uma outra variação da forma cristalina é que esta pode apresentar-se sob diferentes estados de solvatação, dependendo da molécula de solvente à qual a molécula do fármaco se associa. Geralmente, quanto mais hidratado o cristal, menor sua solubilidade e velocidade de dissolução, constituindo um fator significativo para absorção de fármacos (Serra, 1998; Storpirtis *et al.*, 1999; Consiglieri *et al.*, 2000).

No caso de fármacos que apresentam baixa solubilidade aquosa, modificações moleculares podem ser realizadas para a forma de sal, pois apresentarão dissolução mais rápida nos líquidos do TGI e, portanto, maior absorção. Modificações moleculares dos fármacos para as formas de ésteres, éteres e amidas promovem a proteção da degradação química nos líquidos biológicos, retardam a ação ou alteram as características sensoriais. Tais modificações determinam alterações na solubilidade e, conseqüentemente, na velocidade de dissolução (Panchagnula, Thomas, 2000).

2.3.3 CARACTERÍSTICAS DA FORMA FARMACÊUTICA E SEUS EXCIPIENTES

As formas farmacêuticas, os excipientes empregados na formulação, bem como os processos de fabricação influenciam a velocidade de liberação e, conseqüentemente, a absorção e biodisponibilidade dos fármacos. A velocidade de liberação do fármaco das formas farmacêuticas administradas por via oral, geralmente, diminui na seguinte ordem: soluções, suspensões, pós, cápsulas, comprimidos, comprimidos revestidos e/ou drágeas e comprimidos de liberação modificada (Serra, 1998).

A ocorrência de alterações na biodisponibilidade é, geralmente, maior no caso das formas farmacêuticas sólidas, devido aos excipientes empregados e à tecnologia empregada (Ferraz, 1997).

As soluções são formas farmacêuticas de escolha quando uma absorção rápida e completa é exigida. Para esta forma farmacêutica, a biodisponibilidade de fármacos pode ser afetada por alguns fatores, como estabilidade do fármaco nos líquidos do TGI, formação de complexo entre o fármaco e algum excipiente ou a incorporação do fármaco em micelas (Aulton, 1996).

As suspensões são empregadas para veicular fármacos pouco solúveis ou insolúveis em meio aquoso. Alterações na biodisponibilidade de fármacos administrados sob esta forma farmacêutica podem estar relacionadas com o tamanho de partícula, forma cristalina do fármaco, complexação do fármaco com algum excipiente, agentes tensoativos que, normalmente, favorecem a dissolução e substâncias que aumentam a viscosidade, as quais retardam a absorção e interferem no esvaziamento gástrico e na motilidade intestinal (Aulton, 1996).

As cápsulas de gelatina mole veiculam, normalmente, fármacos em solução ou suspensão, determinando uma dissolução e liberação mais rápidas. A biodisponibilidade de fármacos veiculados em cápsulas de gelatina dura será melhor ou igual àquela obtida pela administração em comprimidos, tendo em vista que as pequenas partículas do fármaco não são submetidas à compressão. As cápsulas de gelatina dissolvem-se rapidamente nos líquidos do TGI, liberando seu conteúdo, que se dispersa, favorecendo a dissolução do fármaco (Aulton, 1996; Serra, 1998).

Os comprimidos, cuja formulação normalmente emprega diluentes, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes e tensoativos, são considerados como as formas farmacêuticas que apresentam maiores problemas em relação à biodisponibilidade. A liberação do fármaco a partir de sua forma farmacêutica constitui um processo relativamente complexo, razão pela qual é fundamental o adequado desenvolvimento farmacotécnico e controle de qualidade neste tipo de formulação. A desagregação, a desintegração e a dissolução são etapas fundamentais para que ocorra a absorção de fármacos veiculados sob esta forma farmacêutica. As velocidades de desintegração e dissolução dos comprimidos podem ser influenciadas pelos seguintes fatores: concentração e características do fármaco; excipientes empregados e tecnologia de fabricação, como compressão direta, granulação por via úmida ou seca, e força de compressão (Aulton, 1996; Ferraz, 1997; Panchagnula, Tomas, 2000).

2.4 MODELOS COMPARTIMENTAIS

Os fármacos encontram-se em um estado dinâmico no organismo. Diversos processos (tais como absorção, distribuição, metabolismo e excreção) alteram as concentrações dos fármacos nos tecidos e fluidos corporais. (Dipiro, 2002).

Vários modelos matemáticos podem ser utilizados para simular a velocidade ou taxa dos processos de absorção, distribuição e eliminação, sendo denominados modelos farmacocinéticos (Ritschel, 1992; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

O tipo de modelo básico em farmacocinética é o modelo compartimental. Este modelo é descrito pelo número de compartimentos necessários para descrever o comportamento dos fármacos no organismo. O conceito de compartimento e de modelos compartimentais foi desenvolvido para fornecer as bases para a quantificação dos processos farmacocinéticos (Gomes; Reis, 2001).

O modelo compartimental representa, de uma maneira simplificada, os processos farmacocinéticos no organismo humano. O corpo pode ser representado como uma série, ou sistema, de compartimentos que comunicam-se reversivelmente entre si. Um compartimento não representa um tecido ou fluido, mas sim um grupo de tecidos ou fluidos (Dipiro, 2002). Modelos compartimentais baseiam-se em hipóteses lineares usando equações diferenciais. Considera-se que os fármacos movem-se para dentro e para fora dos compartimentos e constantes são usadas para representar a velocidade total do processo de entrada e saída do fármaco. O modelo é considerado

aberto desde que o fármaco possa ser eliminado deste sistema (Ritschel, 1992; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

O emprego de modelos compartimentais em farmacocinética leva em consideração que os processos estudados ocorrem segundo cinética de primeira ordem, onde a velocidade na qual se produz um processo é proporcional à quantidade ou concentração do fármaco existente no compartimento no qual se desenvolve (Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999).

A utilização dos modelos compartimentais leva à representação do organismo humano por meio de um ou mais compartimentos periféricos conectados a um compartimento central, este representado pelo plasma e tecidos altamente perfundidos. Modelos de um ou mais compartimentos são esquematizados por caixas reservatórios, permitindo a representação visual da velocidade do processo e a identificação das constantes farmacocinéticas necessárias para descrevê-lo adequadamente (Ritschel, 1992; Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

2.4.1 MODELO MONOCOMPARTIMENTAL

O modelo de um compartimento, ou monocompartimental, é o mais frequentemente utilizado na prática clínica.

É considerado o mais simples, pois inclui somente um compartimento e representa fármacos que após a administração, se distribuem para todos os tecidos atingindo rapidamente o equilíbrio em todo o organismo. A administração pode ser por via intravascular, ou seja, toda a dose do fármaco entra imediatamente na circulação sistêmica e não ocorre processo de

absorção, ou por via extravascular, quando a etapa de absorção deve ser considerada (Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

Os processos de absorção e eliminação que ocorrem após administração de um fármaco por via oral, intramuscular ou subcutânea, e que definem o perfil plasmático resultante, são adequadamente descritos por modelos farmacocinéticos de primeira ordem, os quais permitem a determinação dos parâmetros K_{ab} (constante de absorção de primeira ordem); F (fração da dose absorvida, ou biodisponibilidade) e K_{el} (constante de eliminação terminal). Assim, utilizando-se o modelo monocompartimental aberto com absorção e eliminação de primeira ordem é possível a determinação dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , T_{max} , Cl , K_{ab} , $t_{(1/2)ab}$, Vd , K_{el} , $t_{(1/2)el}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ (Welling, 1999).

2.4.2 MODELO MULTICOMPARTIMENTAL

Em alguns casos, após administração intravenosa rápida de um determinado fármaco, a curva de concentração plasmática (na escala logarítmica) *versus* tempo não declina linearmente e o perfil de decaimento plasmático não pode ser descrito por uma única função exponencial. Estas situações são descritas por modelos multicompartmentais (Ritschel, 1992; Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

Nos modelos multicompartmentais, o fármaco distribui-se por diferentes grupos de tecidos em várias velocidades. O fármaco é distribuído do compartimento central para um ou mais compartimentos periféricos, compostos por grupos de tecidos com fluxo sanguíneo mais baixo, pelos quais o fármaco apresenta afinidade, levando à aparência não linear da curva de concentração

plasmática *versus* tempo, em escala logarítmica. No entanto, após as concentrações do fármaco nos diversos compartimentos atingirem o equilíbrio, a curva passa a refletir a eliminação de primeira ordem (Ritschel, 1992; Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

O modelo de dois compartimentos, normalmente, consiste em um compartimento central, representado por tecidos altamente perfundidos (sangue, plasma, pulmões e rins, por exemplo), e um compartimento periférico, composto de tecidos menos perfundidos (como músculo e gordura, por exemplo). Este modelo é aplicado quando o fármaco apresenta uma distribuição (α) para tecidos altamente perfundidos e permite a visualização de dois processos: distribuição (processo rápido) e eliminação (processo lento). Calcula-se C_{max} , t_{max} , K_{ab} , $t_{(1/2)ab}$, k_{α} (constante de distribuição); $t_{(1/2)\alpha}$ (meia-vida de distribuição), k_{β} (constante de eliminação) e $t_{(1/2)\beta}$ (meia-vida de eliminação), Cl, Vd, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ (Ritschel, 1992; Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

O modelo de três compartimentos é conhecido como modelo de acúmulo ou de sítio de armazenamento e é caracterizado pela visualização de três porções de decaimento na curva de concentração plasmática *versus* tempo. Este modelo é aplicado quando existe a suspeita de acúmulo em algum tecido e o fármaco apresenta eliminação bifásica, representada por uma fase de eliminação rápida (β) e uma fase de eliminação lenta (γ). Calcula-se C_{max} , t_{max} , K_{ab} , $t_{(1/2)ab}$, k_{α} (constante de distribuição); $t_{(1/2)\alpha}$ (meia-vida de distribuição), k_{β} (constante de eliminação rápida) e $t_{(1/2)\beta}$ (meia-vida de eliminação rápida), γ (constante de eliminação lenta), $t_{(1/2)\gamma}$ (meia-vida de eliminação lenta) Cl, Vd, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ (Ritschel, 1992; Welling, 1997; Shargel, Yu, 1999; Dipiro, 2002).

2.5 BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA

A ineficácia clínica observada com o uso de alguns medicamentos, além de episódios de intoxicação, deram origem às investigações relacionadas à biodisponibilidade de produtos farmacêuticos (Storpiertis, Consiglieri, 1995).

Os primeiros trabalhos relacionados à absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas foram publicados na década de 30, quando dados de excreção urinária de salicilato foram utilizados como medida da eficácia clínica. A partir dos anos 50 surgiram os primeiros estudos com determinação de concentrações sanguíneas do fármaco (Abdou, 1989). No início da década de 60, constataram-se diferenças de biodisponibilidade entre diferentes formulações orais contendo agentes terapêuticos como a prednisona, varfarina, hormônios tireoidianos, cloranfenicol, tetraciclina e digoxina (Gleiter *et al.*, 1998).

O termo biodisponibilidade surgiu, na literatura científica, no início da década de 70, com a publicação de trabalhos relatando diferenças entre as curvas de decaimento plasmático obtidas após a administração de quatro formulações contendo digoxina a voluntários, em estudo cruzado. Esse período foi marcado pela publicação de inúmeros estudos relacionados à absorção de fármacos (Marzo, Balant, 1995; Porta, 1999).

Os principais fatores que desencadearam a realização dos inúmeros estudos de bioequivalência foram os elevados custos envolvidos na triagem clínica completa de novos medicamentos, além do desenvolvimento da tecnologia bioanalítica, especialmente a cromatografia líquida de alta eficiência, que melhoraram a especificidade, a sensibilidade e a precisão na determinação

de fármacos juntamente com seus produtos de biotransformação presentes em quantidades reduzidas nos líquidos biológicos (Consiglieri, Storpirtis, 2000)

Os termos absorção e biodisponibilidade têm significados diferentes e não podem ser usados intercambiavelmente. A biodisponibilidade, ou disponibilidade sistêmica, representa a quantidade do fármaco que chegou à circulação, enquanto a absorção representa a permeação do fármaco na mucosa do trato gastrointestinal, mas ainda não está disponível na circulação sistêmica. Um fármaco administrado por via oral deve alcançar a circulação sistêmica intacto para ser considerado biodisponível (Gleiter *et al.*, 1998; Löbenberg, Amidon, 2000).

Os ensaios clínicos seguem princípios éticos e científicos de experimentação e são os responsáveis pelas bases da avaliação de eficácia e segurança de fármacos ou medicamentos. Na atualidade, a farmacologia clínica desenvolve principalmente duas atividades: estudos farmacocinéticos e elaboração, execução e análise de ensaios clínicos para avaliar a segurança, qualidade e eficácia dos medicamentos em seres humanos. A confiabilidade dos resultados dos estudos de bioequivalência está, também, na dependência direta dos estudos analíticos. Os estudos clínicos devem ser elaborados com bastante clareza e segurança, seguindo os parâmetros estabelecidos na Declaração de Helsinque e, no Brasil, conforme as diretrizes e normas em pesquisa clínica envolvendo seres humanos presente na Resolução 196/96 (Moraes, Moraes, 2000).

Em função da longa duração e do elevado número de pacientes, além dos altos recursos financeiros envolvidos nos ensaios clínicos de longa duração, a comparação clínica direta tem sido substituída por avaliações indiretas (Kano, 2002). Com base no princípio de que curvas semelhantes de

decaimento sanguíneo de fármacos produzem o mesmo resultado em termos de eficácia e segurança, realizam-se ensaios de bioequivalência, em que a biodisponibilidade do medicamento teste é comparada à do medicamento inovador (Natiom, Sansom, 1994).

Os estudos de biodisponibilidade devem ser realizados para qualquer produto farmacêutico inovador, enquanto os ensaios de bioequivalência têm como objetivo demonstrar que um produto apresenta ou não diferenças significativas em relação ao desempenho biológico quando comparado a outro produto previamente aprovado. A biodisponibilidade representa a manifestação *in vivo* da qualidade de uma forma farmacêutica (Gleiter *et al.*, 1998; Consiglieri, Storpirtis, 2000).

Os testes de bioequivalência envolvem a comparação de medidas da biodisponibilidade entre as formulações do medicamento teste e do medicamento inovador. A definição de biodisponibilidade inclui a extensão com que o fármaco deixa a formulação e atinge a circulação sistêmica, expressa pela área sob a curva da concentração plasmática em função do tempo (ASC) e a velocidade com que este atinge a circulação sistêmica, expressa pela concentração máxima (C_{max}) e pelo tempo para atingir C_{max} (T_{max}) (Gleiter, 1998; Benet, 1999).

Dois produtos são considerados bioequivalentes quando demonstram biodisponibilidade comparável quando estudado sob as mesmas condições experimentais, isto é, não exibem diferenças significativas na quantidade absorvida de fármaco e na velocidade de absorção quando administrados em dose equivalente, nas mesmas condições, em ensaio apropriadamente planejado, garantindo os mesmos efeitos em relação à segurança e eficácia (Benet, 1999; Consiglieri, Storpirtis, 2000).

2.6 REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE BIOEQUIVALÊNCIA

Os estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos empregam, na maioria dos casos, a determinação das concentrações plasmáticas ou da excreção urinária em função do tempo (Storpirtis, Consiglieri, 1995).

O princípio fundamental do ensaio de bioequivalência está baseado na suposição de que, se dois produtos produzem perfis de concentrações sanguíneas semelhantes em humanos, apresentarão a mesma resposta, seja terapêutica ou tóxica (Meredith, 1996).

A bioequivalência entre produtos pode ser determinada por diversos métodos *in vitro* e *in vivo*. A escolha do método mais adequado depende do objetivo do estudo, dos métodos analíticos disponíveis e da natureza do produto farmacêutico (Porta, 1999).

Várias questões devem ser consideradas durante o planejamento de um estudo de bioequivalência, para minimizar a variabilidade externa e assegurar que fatores não relacionados às formulações dos produtos influenciem na qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos. Informações com relação à farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade do fármaco são primordiais para que o planejamento seja adequado (Nation, Sansom, 1994; Storpirtis, 2000).

Para que o estudo de bioequivalência apresente resultados confiáveis é necessário que o mesmo seja bem planejado e conduzido, envolvendo todas as etapas: clínica, analítica e estatística (Storpirtis, Consiglieri, 1995; Consiglieri, Storpirtis, 2000; Storpirtis *et al.*, 2004).

Para a realização da etapa clínica, deve ser estabelecido o cronograma de coleta das amostras, de acordo com o tipo de forma farmacêutica (liberação

imediate ou modificada) e a meia-vida de eliminação do fármaco. Os critérios de inclusão e exclusão dos voluntários do estudo devem ser suficientes para selecionar voluntários saudáveis, evitando que características fisiológicas dos indivíduos interfiram nos resultados. A forma pela qual as amostras serão coletadas, processadas, armazenadas e transportadas também faz parte do planejamento da etapa clínica (Shargel, Yu, 1999; Storpirtis *et al.*, 2004).

Na etapa analítica o fármaco é quantificado nas amostras, por esta razão deve ser realizada de forma a não deixar dúvidas sobre os resultados obtidos. Durante o planejamento da etapa analítica deve ser estabelecido o analito a ser quantificado (fármaco inalterado, metabólito, pró-fármaco), a matriz biológica utilizada (sangue total, plasma, soro ou urina) e o método analítico adequado. A metodologia para quantificação deve ser específica, exata e relativamente simples, para minimizar erros. O método deve ser validado antes da realização do estudo, apresentando todos os parâmetros de validação previamente estabelecidos (Bressole *et al.*, 1996; Causon, 1997).

A etapa estatística começa antes do início do estudo, com o cálculo do número adequado de voluntários para o fármaco em questão e a elaboração da lista de randomização. Também faz parte da etapa estatística o tratamento a que serão submetidos os dados gerados na etapa analítica (Storpirtis *et al.*, 2004).

2.6.1 PLANEJAMENTO

O método mais utilizado, por ser considerado o mais exato, preciso e reprodutível, é o ensaio de bioequivalência *in vivo* realizado em humanos, com

determinação do fármaco ou metabólito ativo no sangue total, plasma, soro ou urina, em função do tempo (Marzo, Balant, 1995; United States, 2004).

A utilização dos resultados obtidos a partir do perfil de excreção urinária pode oferecer vantagens na coleta das amostras e na quantificação do fármaco, quando a concentração urinária do mesmo é superior à plasmática. Porém, para a obtenção de resultados válidos e seguros, o fármaco deve ser excretado predominantemente por via renal na forma não biotransformada, para que quantidades significativas sejam eliminadas na urina, que deve ser completamente coletada (Serra, 1998).

A avaliação da bioequivalência por meio do efeito farmacológico agudo é adotada no caso de formas farmacêuticas de ação tópica, que não pretendem liberar o fármaco na corrente sanguínea, ou para fármacos que sofrem absorção sistêmica, mas não existem métodos adequados à sua quantificação nos líquidos biológicos, desde que este efeito seja mensurável e relacione-se à eficácia do produto (Nation, Sansom, 1994; United States, 2004).

Os ensaios clínicos em humanos que estabelecem a eficácia e segurança do produto são considerados os menos exatos, sensíveis e reprodutíveis. Para sua realização, é necessário um número muito elevado de pacientes, envolvem altos recursos financeiros e maior período de tempo. Só é aceito no caso de formas farmacêuticas de ação local, como por exemplo, em mucosas, formas orais não absorvíveis, e fármacos que sofrem absorção sistêmica, mas para os quais não existe método analítico adequado à sua quantificação nos líquidos biológicos e que não produzem efeito farmacológico mensurável, relacionado à eficácia (Consiglieri, Storpirtis, 2000; United States, 2004).

2.6.2 PROTOCOLO DE ENSAIO

Os protocolos de ensaios de bioequivalência devem ser elaborados visando reduzir a variabilidade inerente aos mesmos, de forma que quaisquer diferenças detectadas entre os parâmetros farmacocinéticos possam ser atribuídas aos produtos em estudo (Porta, 1999). A variabilidade pode advir de várias fontes, tais como: variabilidade inter-indivíduo; variabilidade intra-indivíduo (ocasionada por variações das características de absorção de um mesmo voluntário em períodos distintos do estudo); efeito dos períodos (causado por ação residual de tratamentos precedentes); erro experimental e variabilidade devida a tratamentos diferentes, como a administração de produtos ou dosagens diferentes (Consiglieri, Storpirtis, 2000).

O estudo convencional é do tipo aberto, aleatório e cruzado (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001; Brasil, 2003c).

Segundo a ANVISA (Brasil, 2003d), entre as vantagens do estudo cruzado, cita-se a diminuição da variabilidade inter-individual, removida da comparação entre as formulações, pois cada indivíduo serve como seu próprio controle. Com uma aleatorização apropriada dos indivíduos para a seqüência de administração das formulações, o planejamento conduz a melhores estimativas entre as formulações.

A comparação entre os dois produtos (referência e teste) é realizada em duas fases em esquemas de dose simples ou múltipla. Os grupos são formados pelo mesmo número de voluntários, num esquema denominado Quadrado Latino (Marzo, Balant, 1995). Na primeira fase, os voluntários do grupo 1 recebem o produto referência, enquanto que os do grupo 2 recebem o produto teste. Quando todo o fármaco desta fase for eliminado, período

denominado *wash out*, o procedimento é repetido, invertendo-se os grupos (Brasil, 2003c). Este intervalo de tempo entre os dois períodos deve garantir que nenhum efeito residual da primeira administração esteja presente no próximo período, pois a presença de efeitos residuais tem grande impacto na inferência estatística de bioequivalência entre formulações. Recomenda-se um *wash out* de no mínimo sete meias-vidas de eliminação (Brasil, 2003d).

A escolha do tipo de administração dos produtos em estudo relaciona-se tanto ao modo habitual de administrá-los, quanto às vantagens e limitações encontradas com o uso de cada modalidade (Storpiertis, Consiglieri, 1995). Os ensaios que empregam a administração em dose única são considerados mais adequados para a avaliação da bioequivalência para formas farmacêuticas de liberação imediata, pois geralmente apresentam maior sensibilidade na avaliação da liberação do fármaco do produto para a circulação sistêmica (Brasil, 2004). Entretanto, há situações em que é necessário utilizar doses múltiplas (Nation, Sansom, 1994; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001; Consiglieri, Storpiertis, 2000; United States, 2004):

- Quantidades reduzidas do fármaco, ou porção ativa, ou produto de biotransformação no plasma após administração de dose única;
- Método analítico para quantificação do fármaco ou metabólito ativo com sensibilidade inadequada, originando resultados com precisão inadequada;
- Alta variabilidade inter-individual nas concentrações plasmáticas de fármaco ou taxa de disponibilidade inadequada;
- Diferenças na velocidade, mas não na extensão da absorção;

- Considerações éticas que impedem a utilização de voluntários saudáveis, sendo o estudo efetuado em pacientes, como no caso de medicamentos citotóxicos;
- Na avaliação de formas farmacêuticas de liberação controlada, adicionalmente aos ensaios de dose única.

Nestes casos, deve-se esperar o tempo necessário para atingir o estado de equilíbrio estacionário (*steady-state*), quando a quantidade de fármaco introduzida em cada dose se iguala à quantidade eliminada pelo organismo, tempo correspondente a 4 a 5 meias-vidas de eliminação do fármaco. A posologia adotada corresponde à recomendada para uso clínico (Storpiertis, Consiglieri, 1995; Porta, 1999).

2.6.3 TAMANHO DA AMOSTRA

Existem vários meios para calcular o tamanho da amostra, utilizando-se gráficos ou tabelas que levam em consideração parâmetros como coeficiente de variação, intervalo de confiança, poder estatístico e nível de significância (Romeu, 2002).

Segundo Nation & Sansom (1994), o número de voluntários no ensaio deve ser suficiente para garantir a obtenção de resultados estatisticamente significativos, no entanto, a utilização de amostras excessivamente grandes não é eticamente justificável.

Segundo a ANVISA (Brasil, 2003c), o número de voluntários deverá assegurar poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos

resultados do estudo de bioequivalência, por exemplo, 80%. Normalmente, o número de voluntários é calculado por meio do coeficiente de variação e poder do teste, por meio de dados de literatura ou de um estudo piloto, não sendo permitida utilização de número inferior a 12. Na ausência de dados relativos ao coeficiente de variação do fármaco, o número de voluntários deve ser de, no mínimo 24 voluntários.

A FDA (United States, 2004), também recomenda o número mínimo de 24 voluntários, enquanto a EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001), considera 12 o número mínimo de voluntários necessário em ensaios de bioequivalência, determinado pela variância residual associada com o parâmetro primário avaliado, estimado por meio de um estudo piloto, de estudos anteriores ou dados de literatura, pelo nível de significância desejado e pelo desvio suposto em relação ao produto referência.

2.6.4 SELEÇÃO DE VOLUNTÁRIOS

A seleção do grupo de voluntários deve observar características antropométricas (raça, sexo, idade, relação peso-altura), estado físico, hábitos alimentares, consumo de álcool, tabagismo, além de aspectos psíquicos (Storpiertis, Consiglieri, 1995), com o objetivo de minimizar a variabilidade e permitir a detecção de diferenças entre os produtos avaliados, sendo que a inclusão de voluntários sadios favorece certa homogeneidade na população em estudo (Wilians, 1991; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

Os ensaios de bioequivalência são conduzidos, de acordo com o medicamento, em voluntários sadios com idade entre 18 e 50 anos e capazes de fornecer seu consentimento livre e esclarecido, do sexo masculino, feminino ou ambos, sendo que neste último caso, o número de homens e mulheres deve ser igual e distribuído igualmente entre as seqüências (Brasil, 2004). O sexo dos voluntários não é importante em ensaios de bioequivalência, pois o objetivo do estudo é comparar a biodisponibilidade entre os produtos e não verificar possíveis diferenças entre homens e mulheres (Nation, Sanson, 1994; Marzo, Balant, 1995).

Os critérios de inclusão e de exclusão podem variar de acordo com o medicamento, sendo que a maioria tem como objetivo minimizar as variações tanto quanto possível (Marzo, Balant, 1995).

Os participantes devem apresentar-se dentro de um limite de $\pm 15\%$ do peso considerado normal, levando-se em conta altura e estatura física. Devem-se evitar indivíduos fumantes e com histórico de abuso de álcool ou drogas. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem ser identificados (Brasil, 2004). A EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001) admite a inclusão de fumantes moderados (menos de 10 cigarros por dia) desde que as conseqüências desta inclusão sejam adequadamente discutidas.

Em determinados casos, considerações éticas impedem a realização de ensaios em voluntários sadios, como no caso de medicamentos citotóxicos. Além disso, determinados fármacos exibem comportamento diferente em indivíduos sadios e pacientes. Nestes casos, os ensaios devem ser realizados em pacientes voluntários, portadores da patologia para a qual o medicamento é

indicado, com seu consentimento livre e esclarecido. (Saseen *et al.*, 1997; Brasil, 2004; United States, 2004).

Com base nos resultados do estado de saúde dos voluntários, através de exames clínicos e laboratoriais (exames de sangue, urina, provas de função renal, hepática e cardíaca), são incluídos apenas os indivíduos que não corram riscos de participar do estudo e que não apresentem alterações significativas em parâmetros fisiológicos, capazes de alterar os resultados experimentais (Nation, Sansom, 1994; Storpirtis, Consiglieri, 1995; Brasil, 2000; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

2.6.5 PADRONIZAÇÃO DO ENSAIO

Os ensaios de bioequivalência devem ser padronizados visando diminuir a variabilidade de todos os fatores envolvidos no estudo, com exceção aos que se relacionam aos produtos avaliados. Desta forma, a dieta, ingestão de líquidos, a postura e a prática de exercícios devem ser padronizadas, pois a biodisponibilidade pode ser influenciada pelo tempo de trânsito gastrintestinal, além de fluxos sanguíneos regionais (Consiglieri, Storpirtis, 2000; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

Os medicamentos são administrados aos voluntários, geralmente, em jejum de pelo menos oito horas antes da administração, acompanhado de volume de líquido padronizado, normalmente 200 mL de água, sendo recomendado que o período de jejum continue por quatro horas após a administração dos produtos (Nation, Sansom, 1994; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

Os voluntários participantes do estudo não devem fazer uso de medicamentos por um período adequado anteriormente ao estudo e durante a execução do mesmo, abster-se de alimentos e bebidas que exerçam influência nas funções hepática, renal, circulatória e gastrintestinal, como bebidas alcoólicas e xânticas ou alguns tipos de sucos de frutas (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

2.6.6 PERÍODO DE COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

O conhecimento das características farmacocinéticas do fármaco em estudo é imprescindível para o estabelecimento dos tempos de coleta das amostras de biológicas utilizadas na avaliação da bioequivalência de medicamentos, de forma a interpretar as transferências do mesmo desde a absorção até completa eliminação do organismo (Storpiotis, Consiglieri, 1995).

Nos ensaios de bioequivalência que envolvem determinação da curva de concentração plasmática do fármaco ou metabólito ativo em função do tempo, a coleta de amostras deve ser realizada em intervalos adequados que permitam estimar a concentração plasmática máxima do fármaco (C_{max}) e o tempo para atingi-la (T_{max}) com precisão razoável, e assegurar a estimativa exata da constante de eliminação terminal (β). O delineamento experimental deve prever a perfeita definição da curva de concentração plasmática do fármaco *versus* tempo, para o cálculo da área sob a curva (ASC), um dos parâmetros mais importantes empregado na determinação da biodisponibilidade e avaliação da bioequivalência de medicamentos (Nation,

Sansom, 1994; Storpirtis, Consiglieri, 1995; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

O período de coleta de amostras deve contemplar um período de tempo igual ou superior a 3 a 5 vezes a meia vida de eliminação do fármaco. O intervalo entre as coletas pode ser aumentado após a fase pós-absortiva, evitando-se períodos muito longos que ultrapassem a meia-vida de eliminação do fármaco ou metabólito (Nation, Sansom, 1994; Brasil, 2004).

No caso de ensaios de bioequivalência envolvendo dados de excreção urinária, a coleta de amostras deve ser efetuada com frequência suficiente para garantir a obtenção de dados para a construção da curva de excreção urinária do fármaco em função do tempo e permitir a estimativa da velocidade e extensão da eliminação do fármaco (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001).

2.6.7 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS AVALIADOS

Os parâmetros farmacocinéticos determinados nos estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos relacionam-se com a quantidade de fármaco absorvida e com a velocidade deste processo (Nation, Sansom, 1994; Storpirtis, Consiglieri, 1995; Consiglieri, Storpirtis, 2000). Estes parâmetros são (Ritschel, 1992; Shargel, Yu, 1993; European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001; Brasil, 2004):

- ✓ **ASC_{0-t}**: área sob a curva de decaimento plasmático, sangüíneo ou sérico do fármaco ou metabólito ativo, do tempo 0 h ao tempo t, correspondente à coleta da última amostra;

- ✓ **ASC_{0-∞}**: área sob a curva de decaimento plasmático, sangüíneo ou sérico do fármaco ou metabólito ativo, extrapolada do tempo 0 h ao infinito;

- ✓ **C_{max}**: concentração plasmática, sangüínea ou sérica máxima que o fármaco ou metabólito ativo atingem após a administração;

- ✓ **C_{min}**: concentração plasmática, sangüínea ou sérica mínima que o fármaco ou metabólito ativo atingem durante o intervalo de dose no estado de equilíbrio estacionário, após a administração em esquema de doses múltiplas;

- ✓ **C_m**: concentração plasmática, sangüínea ou sérica média que o fármaco ou metabólito ativo atingem durante o intervalo de dose no estado de equilíbrio estacionário, após a administração em esquema de doses múltiplas;

- ✓ **Flutuação**: relação entre a diferença das concentrações plasmáticas, sangüíneas ou séricas máxima e mínima e a concentração média durante o intervalo de dose no estado de equilíbrio estacionário, após a administração em esquema de doses múltiplas $((C_{max} - C_{min}) / C_m)$;

- ✓ **T_{max}** : tempo necessário para atingir C_{max} ;
- ✓ **$T_{(1/2)}$** : meia-vida de eliminação do fármaco ou metabólito ativo;
- ✓ **TMR**: tempo médio de residência do fármaco ou metabólito ativo;
- ✓ **Xu_t** : excreção urinária acumulada do fármaco ou metabólito ativo do tempo 0 h ao tempo t, correspondente à coleta da última amostra;
- ✓ **Xu_{∞}** : excreção urinária acumulada do fármaco ou metabólito ativo extrapolada do tempo 0 h ao infinito;
- ✓ **dXu/dt** : velocidade de excreção urinária do fármaco ou metabólito ativo.

Os parâmetros avaliados em um estudo de bioequivalência do tipo cruzado, de dois períodos e dose única, com determinação da concentração do fármaco em sangue, plasma ou soro, são: C_{max} , T_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$. Estes parâmetros são considerados adequados para descrever a extensão e velocidade da absorção de formas farmacêuticas de liberação convencional (Schulz, Steinijans, 1991; Brasil, 2004).

2.6.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Após a administração dos produtos teste e referência a voluntários sadios em ensaios de bioequivalência, a questão que se pretende responder ao se submeter à análise estatística os valores obtidos para os parâmetros farmacocinéticos relativos à biodisponibilidade, não é se os produtos apresentam ou não diferenças significativas entre suas biodisponibilidades, mas sim, se estas biodisponibilidades são suficientemente semelhantes para que as formulações teste e referência possam ser consideradas terapeuticamente equivalentes (Porta, 1999).

Atualmente as agências regulatórias EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001), ANVISA (Brasil, 2003d) e FDA (United States, 2004) exigem evidências de bioequivalência por meio dos parâmetros ASC, C_{max} e T_{max} .

Recomenda-se que os parâmetros ASC_{0-t} e C_{max} sejam transformados logaritmicamente. Deve-se realizar análise da variância (ANOVA) para estes parâmetros para avaliar a influência da seqüência (grupo ou ordem) de administração, indivíduos, período ou fases e o tratamento (Consiglieri, Storpirtis, 2000; Brasil, 2004; United States Pharmacopeia, 2005).

Os órgãos reguladores consideram dois produtos bioequivalentes quando o intervalo de confiança de 90 % (I.C. 90 %) da razão entre as médias dos valores dos referidos parâmetros farmacocinéticos estejam compreendidos entre 80 – 125 % (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2001; Brasil, 2004; United States, 2004; United States Pharmacopeia, 2005).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

No presente trabalho o objetivo geral foi verificar a intercambialidade entre comprimidos contendo cloridrato de ciclobenzaprina produzidos por dois fabricantes distintos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar método bioanalítico para quantificação de ciclobenzaprina em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas;
- Definir a farmacocinética da ciclobenzaprina em voluntários sadios;
- Avaliar a bioequivalência entre formulações contendo cloridrato de ciclobenzaprina produzidas por dois laboratórios diferentes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 AMOSTRAS

Foram avaliadas amostras de comprimidos de liberação imediata contendo 10 mg de cloridrato de ciclobenzaprina, provenientes de dois laboratórios farmacêuticos distintos, conforme descrito abaixo:

⇒ **Laboratório Apsen Farmacêutica S/A**

Miosan[®] comprimidos contendo 10 mg de cloridrato de ciclobenzaprina (produto TESTE).

Lote analisado: 309024, com validade até setembro de 2005.

⇒ **Laboratório Merck Co. Inc**

Flexeril[®] comprimidos contendo 10 mg de cloridrato de ciclobenzaprina (produto REFERÊNCIA)

Lote analisado: 2092441A, com validade até abril de 2005.

4.1.2 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS DE REFERÊNCIA

Todas as análises foram realizadas utilizando-se padrão secundário de cloridrato de ciclobenzaprina lote 2003G1429, teor de pureza 99 %, fornecido por Apsen Farmacêutica S/A, com validade até dezembro de 2004 e padrão secundário de amitriptilina (padrão interno) lote 1026, teor de pureza de 99,8 %, válido até dezembro de 2004, fornecido por Dipharma.

4.1.3 SOLVENTES, REAGENTES E MATERIAIS

Foram utilizados os seguintes solventes, reagentes e materiais:

- ⇒ Água ultrapura obtida em equipamento Millipore, modelo MiliQ Academic;
- ⇒ Acetonitrila grau cromatográfico J. T. Baker;
- ⇒ Metanol grau cromatográfico J. T. Baker;
- ⇒ Éter terc-butimetílico grau cromatográfico J. T. Baker;
- ⇒ Ácido fórmico p.a. Merck;
- ⇒ Acetato de amônio p.a. Sigma;
- ⇒ Plasma branco fornecido pelo banco de sangue do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;
- ⇒ Nitrogênio White Martins;
- ⇒ Gelo seco;
- ⇒ Unidades filtrantes Millipore, tipo HV Millex em polietileno com membrana Durapore[®] com 13 mm de diâmetro e poros de 0,45 μm ;
- ⇒ Membranas filtrantes de acetato de celulose regenerado Sartorius de 47 mm de diâmetro e poro de 0,22 μm ;
- ⇒ Balões volumétricos Pyrex[®] de 50 e 100 mL;
- ⇒ Provetas Pyrex[®] de 250, 500 e 1000 mL;
- ⇒ Ponteiras descartáveis Brand[®];
- ⇒ Seringas de vidro BD Yale de 10 mL;
- ⇒ Tubos de ensaio com rolha esmerilhada de 10 mL;
- ⇒ Tubos cônicos de 10 mL;

- ⇒ Material médico-hospitalar: seringas descartáveis BD de 5 e 10 mL, agulhas descartáveis BD 25 x 7 e 40 x 12, escalpe BD 21G, escalpe Safe-t-intima[®] 20G, heparina sódica frasco-ampola 5000 UI Ariston, algodão hidrófilo não estéril Cremer, soro fisiológico 0,9 % de 250 mL, luvas para procedimento não estéreis Supermax[®], tubos para coleta de sangue Vacutainer[®] de 10 mL contendo heparina;
- ⇒ Coluna cromatográfica Phenomenex[®], modelo Luna 5 µm C18 (2), de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno;
- ⇒ Pré-coluna cromatográfica Phenomenex[®], modelo AJ0-4287 C18, de 5 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, contendo partículas de 5 µm.

4.1.4 EQUIPAMENTOS

- ⇒ Balança analítica Toledo, modelo AB 204-S;
- ⇒ Banho ultrassônico Odontobrás, modelo 2840D;
- ⇒ Banho termostático Fisaton, modelo 577;
- ⇒ Centrífuga Heraeus, modelo Megafuge 2.0 D37520;
- ⇒ Sistema de filtração a vácuo Sartorius;
- ⇒ Agitadores de tubos tipo vórtex Phoenix, modelo AP 56;
- ⇒ Pipetas automáticas de volume fixo 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µL Brand Transferpette;
- ⇒ Pipeta automática de volume variável de 10 a 100 µL Eppendorf;
- ⇒ Pipeta automática de volume variável de 0,5 a 5,0 mL Labsystems Finnpiquette;

- ⇒ Pipetador automático de 0,5 a 5,0 mL Brand Dispensette;
- ⇒ Cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, composto por uma bomba quaternária LC-10ADvp, degaseificador DGU-14^A, injetor automático de amostras SIL-10ADvp, unidade de controle SCL-10ADvp; detector de massas triplo-quadrupolo de alta eficiência Micromass Quattro LC; software MassLynx NT data system.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA EM PLASMA HUMANO

O desenvolvimento de um método analítico envolve a evolução e otimização de vários estágios da preparação da amostra, separação cromatográfica, detecção e quantificação. O método de quantificação deve ser específico para cada analito, exato e relativamente simples, de modo a minimizar os erros (Bressole *et al.*, 1996; Causon, 1997).

Estão descritos na literatura diversos métodos para quantificação de ciclobenzaprina em plasma (Hucker, Stauffer, 1976; Hucker, Stauffer, 1976b; Constanzer *et al.*, 1985; Constanzer *et al.*, 1995). Entretanto, todos apresentam alguma desvantagem que dificulta sua aplicação em ensaios de bioequivalência, seja em relação à técnica empregada, à utilização de padrão interno não disponível comercialmente, a procedimentos de extração complexos ou à baixa sensibilidade. Assim, neste trabalho, desenvolveu-se e

validou-se metodologia simples, sensível, exata e precisa para quantificação de ciclobenzaprina em plasma humano através de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas.

4.2.1.1 PREPARO DE PADRÕES

Para o preparo das soluções-padrão de trabalho utilizaram-se soluções estoque de ciclobenzaprina e amitriptilina (padrão interno – PI) em metanol na concentração de 1000 µg/mL. A partir destas, obtiveram-se soluções, em metanol, nas concentrações de 1,0 µg/mL (padrão interno), 10 ng/mL, 60 ng/mL, 100 ng/mL e 300 ng/mL (ciclobenzaprina). Estas soluções foram armazenadas em frasco de vidro âmbar e mantidas a –20 °C.

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

4.2.1.2 PREPARO DAS AMOSTRAS DE PLASMA PADRÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

Para garantir a estabilidade das amostras de plasma padrão da curva de calibração, estas foram preparadas diariamente a partir de soluções-padrão de 10 ng/mL, 60 ng/mL e 100 ng/mL ciclobenzaprina em metanol. Tomaram-se alíquotas adequadas de solução-padrão de ciclobenzaprina em metanol e 25

μL de solução-padrão de amitriptilina a $1,0 \mu\text{g/mL}$ em metanol, evaporando-se o solvente em corrente de nitrogênio. Adicionaram-se $1000 \mu\text{L}$ de plasma branco e as amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos tipo vórtex por 30 segundos.

O Quadro 1 apresenta as diluições realizadas para obtenção das amostras de plasma padrão da curva de calibração.

Quadro 1 Obtenção de amostras de plasma padrão de ciclobenzaprina da curva de calibração

Concentração da solução-padrão de ciclobenzaprina	Alíquota	Volume de plasma branco	Concentração final de ciclobenzaprina
10 ng/mL	25 μL	1000 μL	0,25 ng/mL
10 ng/mL	50 μL	1000 μL	0,50 ng/mL
10 ng/mL	100 μL	1000 μL	1,0 ng/mL
100 ng/mL	25 μL	1000 μL	2,5 ng/mL
100 ng/mL	50 μL	1000 μL	5,0 ng/mL
100 ng/mL	100 μL	1000 μL	10,0 ng/mL
60 ng/mL	250 μL	1000 μL	15,0 ng/mL

4.2.1.3 PREPARO DAS AMOSTRAS DE PLASMA PADRÃO DE CONTROLE DE QUALIDADE

As amostras de plasma de controle de qualidade foram preparadas em três concentrações, controle de qualidade baixo (CQB = 0,75 ng/mL); controle de qualidade médio (CQM = 6 ng/mL) e controle de qualidade alto (CQA = 12 ng/mL) .

Transferiram-se alíquotas de solução-padrão de ciclobenzaprina em metanol, nas concentrações de 100 ng/mL ou 300 ng/mL, conforme descrito no Quadro 2, para balões volumétricos de 50 mL. A seguir, adicionou-se lentamente o plasma branco e homogeneizou-se gentilmente para evitar a formação de espuma. Após completar o volume agitou-se vigorosamente para garantir a homogeneização.

Após o preparo, estas amostras foram fracionadas em frascos de polipropileno de 3 mL, devidamente identificados com a concentração e a data de preparo, e armazenadas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Quadro 2 Obtenção de amostras de plasma de controle de qualidade de ciclobenzaprina

Controle de Qualidade	Concentração da solução-padrão de ciclobenzaprina	Alíquota	Volume de plasma	Concentração final de ciclobenzaprina
CQB	100 ng/mL	375 μ L	50 mL	0,75 ng/mL
CQM	300 ng/mL	1000 μ L	50 mL	6,0 ng/mL
CQA	300 ng/mL	2000 μ L	50 mL	12 ng/mL

4.2.1.4 PROCEDIMENTO DE PURIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A análise cromatográfica de substâncias presentes em matrizes biológicas (soro, plasma, urina) em geral requer um pré-tratamento da amostra, em função da complexidade destas matrizes, da existência de proteínas que são incompatíveis com as colunas cromatográficas e da baixa concentração das substâncias a serem analisadas (Queiroz *et al.*, 2001).

A purificação das amostras 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 ciclobenzaprina, foi realizada pela técnica de extração líquido-líquido com solvente orgânico. Adicionaram-se 1000 μ L de plasma aos tubos de ensaio contendo 25 μ L de solução de padrão interno (amitriptilina) em metanol, na concentração de 1000 ng/mL, homogeneizando-se por 30 segundos em agitador de tubos. A seguir, extraiu-se o plasma com 4,0 mL de éter terc-butilmetílico durante 60 segundos em

agitador de tubos. Após centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos, imergiu-se o extrato orgânico em gelo seco para congelamento da fase aquosa. Procedeu-se à filtração do extrato orgânico em unidade HV Millex com membrana Durapore® de 13 mm de diâmetro e poro de 0,45 µm. O filtrado foi transferido para tubo cônico e evaporado sob corrente de nitrogênio a 40 °C. Ressuspendeu-se o resíduo em 500 µL de fase móvel para injeção no sistema cromatográfico.

4.2.1.5 CONDIÇÕES PARA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Empregou-se para separação coluna de marca Phenomenex®, modelo Luna 5 µm C18 (2), de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, contendo partículas de 5 µm, e pré-coluna de marca Phenomenex®, modelo AJ0-4287 C18, de 5 mm de comprimento e 4,60 mm de diâmetro interno, contendo partícula de 5 µm.

A fase móvel foi constituída por mistura de tampão acetato de amônio 10 mM e acetonitrila, na proporção de 10:90 (v/v), contendo 0,1 % de ácido fórmico e foi eluída a um fluxo de 0,35 mL/min. Filtrou-se a solução em membrana filtrante com diâmetro de 47 mm e poros de 0,22 µm, degaseificando-se em banho ultrassônico por 10 minutos.

O sistema cromatográfico foi acoplado a um espectrômetro de massa com eletrospray-positivo. A aquisição foi realizada no modo de ionização múltipla (MRM), monitorando-se as transições de m/z 276,60 > 216,40 para

ciclobenzaprina e 278,0 > 218,0 para amitriptilina (padrão interno). Para análise dos extratos reconstituídos, foram injetados 50 µL no sistema cromatográfico. Os principais parâmetros relacionados a detecção por espectrometria de massas estão resumidos no Quadro 3.

Quadro 3 Parâmetros relacionados a detecção por espectrometria de massas

Parâmetro	Valor
Temperatura da fonte (°C)	100
Temperatura de dessolvatação (°C)	350
Fluxo do gás de dessolvatação (L/h)	405
Voltagem do capilar (kv)	3.0
Voltagem do cone (kv)	35
Energia de colisão (v)	25

4.2.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA EM PLASMA

A validação de um método bioanalítico é um processo usado para garantir que os parâmetros da performance analítica estão adequados para seu uso (Causon, 1997).

A utilização de metodologias validadas tem aumentado com o objetivo de assumir um nível mínimo de qualidade. A bioanálise é uma das áreas da ciência analítica que requer a validação do método, uma vez que os resultados

de um estudo de bioequivalência podem não ser reconhecidos pelas autoridades oficiais caso não sejam provados que tais resultados são baseados em um método validado (Hartmann *et al.*, 1998).

A validação foi realizada pela determinação de especificidade, recuperação, limite de quantificação, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade, conforme relatado por Bressole *et al.* (1996) e Causon (1997) e pelos critérios estabelecidos pelas diretrizes para validação de métodos bioanalíticos da FDA (United States, 2001) e pela ANVISA (Brasil, 2003e).

4.2.2.1 ESPECIFICIDADE

Pode-se definir especificidade como a capacidade de um método em distinguir o analito de todas as outras substâncias presentes na amostra (Causon, 1997).

Este parâmetro foi investigado pela análise de seis amostras de plasma, sendo quatro amostras de plasma branco, uma amostra de plasma lipêmico e uma amostra de plasma hemolisado, em comparação com uma solução contendo o padrão em concentração próxima ao limite de quantificação e o padrão interno, para verificação da existência de interferência por parte de componentes endógenos (Brasil, 2003e).

O plasma branco foi obtido de voluntários sadios após centrifugação de sangue coletado em tubos contendo anticoagulante, geralmente heparina, e isento de padrão de ciclobenzaprina e padrão interno. O plasma lipêmico foi obtido da mesma maneira, porém após o voluntário receber uma refeição rica em gordura, enquanto que o plasma hemolisado foi obtido por meio do

congelamento de sangue de voluntário e posterior centrifugação por 10 minutos a 3500 rpm.

4.2.2.2 RECUPERAÇÃO

A recuperação é a medida da eficiência de um método em detectar todos os analitos de interesse presentes na amostra original (Braggio *et al*, 1996). Corresponde ao resultado obtido após análises de amostras de plasma branco acrescidas de padrão, submetidas à pré-tratamento, expresso como porcentagem do resultado obtido após análise de padrão puro, não submetido ao pré-tratamento (Causon, 1997).

Tal parâmetro foi determinado comparando-se resultados de análises de amostras de plasma adicionado de padrão de ciclobenzaprina e padrão-interno, submetidas ao processo de extração, a resultados de análises de amostras de ciclobenzaprina e padrão interno em metanol, não submetidas a esse processo, que representam 100% de recuperação, em três diferentes concentrações (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL) e seis repetições (Causon, 1997; Brasil, 2003e).

Porcentagens próximas a 100% são desejáveis, porém admitem-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata (Brasil, 2003e).

4.2.2.3 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração que pode ser determinada, distinguindo-se do ruído, com exatidão e precisão aceitáveis (Bressolle *et al*, 1996; Causon, 1997).

O limite de quantificação 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, 2003e).

4.2.2.4 LINEARIDADE

A linearidade, representada pela curva de calibração, indica a relação entre a concentração do analito e a resposta do método, constituída, neste trabalho, pela área sob o pico do sinal cromatográfico (Bressolle *et al*, 1996). O método de regressão linear dos mínimos quadrados normalmente é utilizado para definir matematicamente a curva de calibração. Em geral, um fator de peso ($1/x$ ou $1/x^2$) é usado para evitar a inclinação da curva de calibração em favor das concentrações mais elevadas (Braggio *et al*, 1996).

Para construção da curva de calibração, utilizaram-se amostras de plasma adicionado de padrão de ciclobenzaprina em sete concentrações diferentes (0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 15,0 ng/mL) e seis repetições. A curva de calibração incluiu a análise da amostra de plasma branco e da amostra "zero" (plasma isento de padrão 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 área sob o pico do sinal cromatográfico, considerada variável dependente (y). Os parâmetros da correlação foram estimados através do método dos mínimos quadrados.

Alguns critérios a serem considerados na avaliação da curva de calibração incluem 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, 2003).

4.2.2.5 PRECISÃO

A precisão de um método bioanalítico consiste na medida do erro aleatório. É definida como a concordância entre várias medidas da mesma amostra, sendo expressa como coeficiente de variação (C.V.%) dessas medidas. A precisão intra-ensaio refere-se ao coeficiente de variação obtido por repetição do método com o mesmo analista, utilizando o mesmo equipamento e os mesmos reagentes, em um curto intervalo de tempo (no mesmo dia, por exemplo). A precisão inter-ensaios é obtida por meio de alteração de condições, como mudança de analista, reagentes ou

equipamento, ou pela utilização do método durante várias semanas ou meses (Causon, 1997).

Este parâmetro foi determinado pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL) e seis réplicas no mesmo dia (precisão intra-ensaio) e em seis réplicas por dia durante quatro dias consecutivos (precisão inter-ensaios), calculado segundo a equação abaixo:

$$\text{C.V. (\%)} = \frac{\text{DP}}{\text{CMD}} \times 100,$$

onde:

CV = coeficiente de variação

DP = desvio padrão

CMD = concentração média determinada

O coeficiente de variação não deve exceder valores superiores a 15 %, exceto para o limite de quantificação (LQ), para o qual admitem-se valores menores ou iguais a 20 % (Brasil, 2003e).

4.2.2.6 EXATIDÃO

A exatidão de um método bioanalítico é uma medida do erro sistemático definida como a concordância entre o valor medido e o valor real (Causon, 1997).

O referido parâmetro foi determinado pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL) e seis repetições no mesmo dia (exatidão intra-ensaio) e em seis repetições por dia durante quatro dias (exatidão inter-ensaios), calculado a partir da seguinte equação:

$$\text{Exatidão (\%)} = \frac{\text{CMD}}{\text{CT}} \times 100,$$

onde:

CMD = concentração média determinada

CT = concentração teórica

4.2.2.7 ESTABILIDADE

O conhecimento da estabilidade de um analito é essencial para se garantir a integridade da amostra (Braggio *et al*, 1996). Os dados de estabilidade são necessários para mostrar que a concentração do analito no momento análise corresponde à sua concentração no momento da coleta (Causon, 1997).

A estabilidade foi avaliada em várias condições, conforme recomendado pela Resolução nº 899 (Brasil, 2003e):

- Estabilidade das soluções-padrão utilizadas para preparação diária da curva de calibração;
- Estabilidade de amostras de plasma mantidas a -20°C e submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento;
- Estabilidade à temperatura ambiente durante 4 horas, denominada estabilidade de curta duração;
- Estabilidade pós-processamento, ou seja, estabilidade das amostras de plasma processadas e mantidas por 24 horas e 48 horas à temperatura ambiente;
- Estabilidade de longa duração, que deve exceder o intervalo de tempo compreendido entre a coleta da primeira amostra e a análise da última, de acordo com o protocolo de estudo de bioequivalência.

4.2.2.7.1 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 (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL), submetidas às seguintes condições: congelamento a -20°C por 12 horas, descongelamento e recongelamento por mais 12 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 obtidos foram

comparados com os resultados de amostras recém-preparadas (amostras processadas e analisadas imediatamente após o preparo).

4.2.2.7.2 ESTABILIDADE DE CURTA DURAÇÃO

Foram utilizadas triplicatas de amostras de plasma de controle de qualidade em três concentrações (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL), submetidas a descongelamento natural e mantidas a temperatura ambiente durante 4 horas. Após este período as amostras foram processadas e analisadas, comparando-se os resultados com os de amostras recém-preparadas.

4.2.2.7.3 ESTABILIDADE PÓS-PROCESSAMENTO

Este parâmetro avaliou 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 = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL), foram analisadas após 24 e 48 horas a temperatura ambiente. Os resultados obtidos foram comparados com os de amostras recém-preparadas.

4.2.2.7.4 ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO

Este parâmetro foi determinado avaliando-se a estabilidade das amostras durante o período de tempo entre a data da coleta das amostras de plasma de voluntários que receberam ciclobenzaprina e a data do término das análises. Os resultados das amostras de controle de qualidade analisadas em triplicata, em três concentrações (baixa, CQB = 0,75 ng/mL; média, CQM = 6 ng/mL e alta CQA = 12 ng/mL), após 4 meses mantidas a -20 °C, foram comparados com os resultados de amostras recém-preparadas.

4.2.2.7.5 ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES-PADRÃO

Para avaliar a estabilidade das soluções-padrão em metanol, estas foram analisadas diariamente durante as etapas de validação e análise de amostras de voluntários, com monitoramento diário das áreas dos picos cromatográficos obtidos. Os resultados obtidos diariamente foram comparados com os resultados de amostras obtidas no dia de preparo das soluções-padrão.

4.2.3 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 e do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (ANEXO A)

4.2.3.1 CASUÍSTICA

O estudo foi realizado em humanos, de acordo com as normas éticas internacionais e nacionais para ensaios desta natureza e com a regulamentação estabelecida pela ANVISA (Brasil, 2000).

Foram selecionados para este estudo 26 voluntários sadios, sendo 13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, com idade média de 32 anos, com peso e altura médios de 65 kg e 167 cm, respectivamente (Tabela 1). Todos foram devidamente informados sobre as características da pesquisa, assinando termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

Os voluntários satisfizeram os seguintes critérios:

- ⇒ não fumantes;
- ⇒ bom estado de saúde, idade entre 21 e 45 anos e peso dentro do ideal $\pm 15\%$, calculado pela fórmula $PI = 0,9 (H - 100)$ em que PI é o peso ideal (kg) e H, a altura do voluntário (cm);

- ⇒ ausência de patologias cardíacas, renais, gastrintestinais, neurológicas ou metabólicas;
- ⇒ sem antecedentes de hipersensibilidade a medicamentos;
- ⇒ não estavam em tratamento com medicamentos;
- ⇒ voluntários do sexo feminino não estavam em estado de gravidez (comprovado através de exame laboratorial) ou em período de amamentação.

A inclusão dos voluntários foi baseada também nos resultados de 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 e hepatite C;
- ⇒ eletrocardiograma com doze derivações;
- ⇒ β -HCG (para mulheres).

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

Os voluntários foram excluídos do estudo nos casos a seguir:

- ⇒ fumavam mais que 10 cigarros ao dia;
- ⇒ apresentaram resultados fora da normalidade para os exames clínicos e laboratoriais;
- ⇒ apresentaram mal-estar decorrente da retirada de amostras de sangue, tal como tontura, queda de pressão ou desmaio e expressassem desejo de serem excluídos do estudo;
- ⇒ apresentaram reações adversas ao medicamento administrado;
- ⇒ independentemente de qualquer intercorrência, expressaram desejo de serem excluídos do estudo.

Tabela 1 Características dos voluntários selecionados para o ensaio de bioequivalência. D.P.I. = desvio do peso ideal; D.P=desvio padrão

Voluntário	Sexo	Idade (anos)	Altura (cm)	Peso (Kg)	D.P.I. (%)
1	F	28	165	62	11
2	F	29	161	59	7
3	F	34	161	57	4
4	F	32	162	57	2
5	F	25	159	51	-5
6	F	35	161	62	14
7	F	22	163	61	7
8	F	38	174	76	13
9	F	43	155	52	5
10	F	35	164	57	1
11	F	30	162	59	6
12	F	33	172	65	0
13	F	33	153	55	14
14	M	30	184	85	14
15	M	28	170	71	13
16	M	40	170	72	11
17	M	37	171	73	15
18	M	31	172	74	14
19	M	23	170	70	10
20	M	38	169	56	-10
21	M	28	162	57	-13
22	M	37	175	77	14
23	M	27	174	61	-8
24	M	30	172	73	13
25	M	37	178	72	3
26	M	36	175	77	14
Média		32	167	65	7
DP		5	8	9	8

4.2.3.2 PROCEDIMENTO DO ENSAIO DE BIOEQUIVALÊNCIA

O estudo foi do tipo quantitativo direto com delineamento aleatório, cruzado e aberto, formando-se dois grupos de voluntários, A e B. Na Fase 1, os voluntários do grupo A receberam 1 comprimido de Flexeril[®], lote 2092441A, empregado como produto referência, enquanto que os do grupo B receberam 1 comprimido de Miosan[®], lote 309024, considerado como o produto teste. Na Fase 2 realizada após 30 dias (período de *wash out*), o procedimento foi repetido, invertendo-se os grupos (Tabela 4.5). Os voluntários 1, 10 e 23 desistiram de participar do estudo por motivos pessoais, sendo excluídos do estudo.

Os comprimidos foram administrados aos voluntários pela manhã, após jejum de 8 horas, e foram ingeridos com auxílio de 200 mL de água. Os voluntários receberam almoço, lanche e jantar padronizados, respectivamente, 4, 7 e 11 horas após a administração dos medicamentos.

Os voluntários foram orientados a não ingerir bebidas alcoólicas, café e outras bebidas xânticas 48 horas antes do ensaio, e durante a sua realização estas bebidas não foram oferecidas. Além disso, foram orientados a não tomar qualquer medicamento uma semana antes do estudo ou durante sua realização.

Quadro 4 Desenho amostral para ensaio de bioequivalência de comprimidos contendo ciclobenzaprina

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

T = produto teste (Miosan[®], lote 309024, produzido por Apsen Farmacêutica S/A);
R = produto referência (Flexeril[®], lote 2092441A, produzido por Merck Co. Inc);
Os voluntários 1, 10 e 23 foram excluídos do estudo.

4.2.3.3 COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de 8 mL de sangue dos voluntários em tubo heparinizado a 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 144, 192 e 240 horas após a administração dos produtos. As amostras foram centrifugadas e o plasma, acondicionado em duplicata, foi congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em freezer até a realização do ensaio para quantificação do fármaco.

4.2.4 QUANTIFICAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA NAS AMOSTRAS DE PLASMA

Realizou-se a quantificação de ciclobenzaprina nas amostras de plasma conforme metodologia descrita no item 4.2.1.4.

As amostras de plasma de voluntários que receberam ciclobenzaprina foram analisadas paralelamente à curva de calibração com sete pontos e amostras em triplicata de controle de qualidade em três diferentes concentrações (alta, média e baixa):

- ⇒ Controle de qualidade alto (CQA): 12 ng/mL
- ⇒ Controle de qualidade médio (CQM): 6,0 ng/mL
- ⇒ Controle de qualidade baixo (CQB): 0,75 ng/mL

A análise das amostras de controle de qualidade concomitante a amostras de plasma de voluntários é uma garantia da qualidade e da estabilidade das mesmas durante o procedimento analítico empregado.

4.2.5 AVALIAÇÃO DA BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE OS PRODUTOS

A bioequivalência entre os produtos foi determinada após quantificação de ciclobenzaprina nas amostras de plasma provenientes do estudo clínico, através da comparação dos parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção do fármaco a partir das duas formulações (Ritschel, 1992; Shargel, Yu, 1999; Dipiro *et al.*, 2002).

Estes parâmetros relacionam-se a:

➔ Quantidade de fármaco absorvida:

ASC_{0-t}: área parcial sob a curva de decaimento plasmático do fármaco (concentração *versus* tempo), calculada pelo método dos trapezóides do tempo zero ao tempo t, onde t é o tempo relativo à última concentração determinada experimentalmente;

ASC_{0-∞}: área total sob a curva de decaimento plasmático do fármaco (concentração *versus* tempo), calculada do tempo zero ao tempo infinito, ou seja, $ASC_{0-t} + C_t/K_{el}$, no qual C_t corresponde à última concentração do fármaco determinada experimentalmente e K_{el} é a constante de eliminação da fase terminal. A ASC_{0-t} deve ser superior ou igual 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, sem interpolação dos dados;

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

Também foram calculados os seguintes parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção e à eliminação do fármaco (Ritschel, 1992; Shargel, Yu, 1999; Dipiro *et al.*, 2002):

k_a: constante de absorção do fármaco, determinada a partir da equação que define a fase absorptiva do fármaco em função do tempo:

$$C = C_0 e^{-k_a \cdot t};$$

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

k_{β} : constante de velocidade correspondente à fase de eliminação rápida do fármaco, determinada a partir da equação que define a parte inicial de decaimento plasmático do fármaco em função do tempo:

$$C = C_0 e^{-k_{\beta} \cdot t};$$

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

k_{γ} : constante de velocidade correspondente à fase de eliminação lenta do fármaco, determinada a partir da equação que define a parte terminal de decaimento plasmático do fármaco em função do tempo:

$$C = C_0 e^{-k_{\gamma} \cdot t};$$

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

Cl: *clearance* plasmático, determinado a partir da equação: $Cl = \text{dose} \times F$ (fração da dose biodisponível) / $ASC_{0-\infty}$;

Vd: volume de distribuição, determinado a partir do valor do *clearance*, pela fórmula $Vd = Cl/\beta$.

4.2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos a partir do estudo de bioequivalência foram submetidos à análise estatística, conforme recomendado pela ANVISA (Brasil, 2003e), pela FDA (United States, 2001) e de acordo com os critérios relatados por Past & Jaeger (1990), Rescigno (1992), Powers (1993), Ormsby (1994), Chow & Liu (2000) e Senn (2001). Os valores médios obtidos foram avaliados através da análise da variância (ANOVA) e da construção do intervalo de confiança 90 % (I.C. 90 %). Realizou-se análise multivariada, utilizando-se ANOVA, para os parâmetros C_{max} , T_{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 para tal a escala logarítmica. Foi considerado nível de significância (α) menor que 0,05. Dois produtos possuem a mesma biodisponibilidade 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:

$$80 \% \leq \frac{ASC_{0-t} \text{ (teste)}}{ASC_{0-t} \text{ (referência)}} \leq 125\%$$

$$80 \% \leq \frac{ASC_{0-\infty} \text{ (teste)}}{ASC_{0-\infty} \text{ (referência)}} \leq 125\%$$

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

Onde:

ASC_{0-t} = área sob a curva do tempo zero a t (tempo relativo à última concentração determinada experimentalmente);

$ASC_{0-\infty}$ = área sob a curva do tempo zero a infinito;

C_{max} = concentração plasmática máxima.

Os parâmetros farmacocinéticos relativos à eliminação plasmática de ciclobenzaprina foram submetidos à análise estatística, incluindo testes paramétricos (teste t-pareado) e testes não-paramétricos (Wilcoxon), para verificar se existe diferença entre estes parâmetros para os produtos Referência e Teste. Determinou-se o intervalo de confiança I.C. 95 % para os valores de $t_{(1/2)}$ de ciclobenzaprina correspondentes à fase de eliminação rápida (β) e à fase de eliminação lenta (γ), para os produtos Referência e Teste isoladamente e para os produtos Referência e Teste em conjunto.

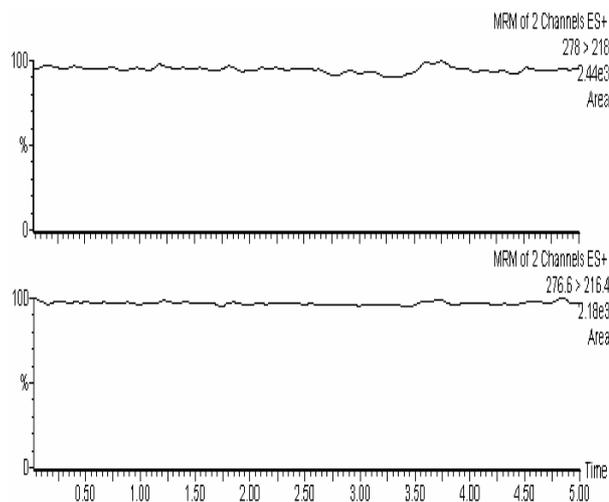
5. RESULTADOS

5.1 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA EM PLASMA HUMANO

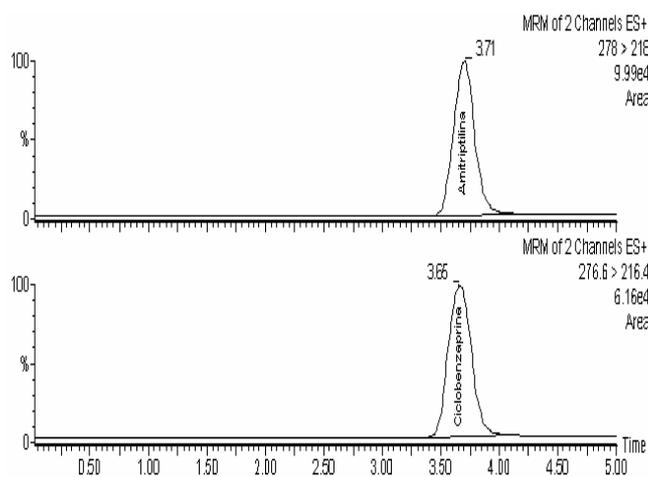
O método desenvolvido mostrou-se adequado para quantificação de ciclobenzaprina em amostras de plasma provenientes de ensaio de bioequivalência. Esta adequação é comprovada a seguir, pelos resultados dos parâmetros obtidos durante a validação do método, ou seja, especificidade, recuperação, limite de quantificação, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade.

5.1.1 ESPECIFICIDADE

O método desenvolvido mostrou-se específico para ciclobenzaprina e amitriptilina (padrão interno), obtendo-se boa separação destes entre si e dos componentes do plasma branco, lipêmico ou hemolisado, com tempos de retenção de 3,65 minutos para ciclobenzaprina e 3,71 minutos para amitriptilina (**Figura 2**).



(A)



(B)

Figura 2 Cromatogramas referentes a: (A) plasma branco, obtido de voluntário sadio e (B) plasma branco adicionado de padrão de ciclobenzaprina (15 ng/mL) e de padrão interno (amitriptilina 25 ng/mL).

5.1.2 RECUPERAÇÃO

A recuperação média da extração foi de 92,76 % para ciclobenzaprina e 94,45 % para amitriptilina, com precisão e exatidão dentro dos limites especificados, demonstrando que o procedimento de extração descrito para o método bioanalítico apresentou eficiência adequada (Tabela 2).

Tabela 2 Recuperação média do procedimento de purificação das amostras de plasma para ciclobenzaprina (padrão) e amitriptilina (padrão interno). Cada valor representa a média de seis determinações. CV = coeficiente de variação

Concentração de ciclobenzaprina (ng/mL)	Recuperação (%)	
	Padrão (CV%)	Padrão interno (CV%)
0,75	102,15 (3,55)	105,16 (3,67)
6,0	94,14 (5,56)	93,79 (6,13)
12,0	81,99 (10,41)	84,39 (11,96)
Média	92,76 (10,95)	94,45 (11,01)

5.1.3 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O limite de quantificação do método foi de 0,25 ng/mL, com precisão de 9,18 % e exatidão de 104,38 %.

5.1.4 LINEARIDADE

Obteve-se relação linear entre as concentrações 0,25 e 15,0 ng/mL. Os parâmetros relativos à curva de calibração estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Parâmetros relativos à curva de calibração do método analítico para quantificação de ciclobenzaprina em plasma por CLAE com detecção por espectrometria de massas na faixa de concentração 0,25 a 15,0 ng/mL

Parâmetro	Valor
Coeficiente angular (a)	0,0648
Coeficiente linear (b)	0,0014
Coeficiente de correlação (r^2)	0,9979

5.1.5 PRECISÃO

A precisão variou entre 3,11 e 3,72 % para amostras analisadas no mesmo dia (intra-ensaio) e entre 5,47 e 6,93 % para amostras analisadas em dias diferentes (inter-ensaios). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

5.1.6 EXATIDÃO

A exatidão variou entre 90,62 e 96,74 % e 95,16 e 98,85 % para análises intra e inter-ensaios, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 Precisão e exatidão intra-ensaio e inter-ensaios referentes a método analítico para quantificação de ciclobenzaprina em plasma por CLAE com detecção por espectrometria de massas. Cada valor representa a média de seis determinações para precisão e exatidão intra-ensaio e seis determinações por dia durante 4 dias para precisão e exatidão inter-ensaios.

Concentração (ng/mL)	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intra-ensaio	Inter-ensaios	Intra-ensaio	Inter-ensaios
0,75	3,72	6,93	96,74	98,85
6,0	3,13	5,57	90,78	95,16
12,0	3,11	5,47	90,62	95,17

5.1.7 ESTABILIDADE

5.1.7.1 ESTABILIDADE EM CICLOS DE CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO

As amostras mantiveram-se estáveis quando mantidas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e analisadas após três ciclos de congelamento e descongelamento (Tabelas 5, 6 e 7). Os resultados obtidos foram comparados com os de amostras recém-preparadas, sendo aceitos desvios entre $\pm 15\%$.

Tabela 5 Estabilidade de ciclobenzaprina em amostras de plasma, analisadas imediatamente após o preparo, mantidas à temperatura de -20°C e submetida a um ciclo de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Ciclo 1			
	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,75	2,40	100,09	0,65	2,90	86,89	-13,20
6,0	6,60	1,16	109,92	5,77	1,21	96,19	-12,50
12,0	11,48	1,09	95,70	10,93	3,32	91,08	-4,80

Tabela 6 Estabilidade de ciclobenzaprina em amostras de plasma, analisadas imediatamente após o preparo, mantidas à temperatura de -20°C e submetidas a dois ciclos de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Ciclo 2			
	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,74	1,83	99,21	0,68	1,41	90,45	-8,82
6,0	5,39	4,01	89,79	5,50	3,13	91,71	2,14
12,0	12,38	1,77	103,15	10,58	2,84	88,19	-14,50

Tabela 7 Estabilidade de ciclobenzaprina em amostras de plasma, analisadas imediatamente após o preparo, mantidas à temperatura de -20°C e submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Ciclo 3			
	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,85	1,87	113,17	0,81	6,75	107,40	-5,10
6,0	6,37	1,71	106,19	6,04	0,88	100,75	-5,10
12,0	13,18	6,31	109,80	11,55	3,33	96,26	-12,30

5.1.7.2 ESTABILIDADE DE CURTA DURAÇÃO

A estabilidade de curta duração foi avaliada mantendo-se amostras de plasma de controle de qualidade, em três concentrações, descongeladas e mantidas à temperatura ambiente por 4 horas. Após este período, estas amostras foram processadas e analisadas. Os resultados foram comparados com os de amostras recém-preparadas, sendo aceitos desvios entre $\pm 15\%$ (Tabela 8).

Tabela 8 Estabilidade de ciclobenzaprina 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

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Amostras processadas após 4 horas à temperatura ambiente			
	Conc.det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det. (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,73	4,06	96,80	0,82	3,45	109,69	13,31
6,0	5,46	2,33	91,02	5,28	3,64	88,01	-3,30
12,0	10,79	3,04	89,96	11,04	1,72	92,02	2,30

5.1.7.3 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 preparação conforme método validado previamente descrito. 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 à temperatura ambiente (Tabelas 9). Foi avaliada também a estabilidade por 48 horas (Tabela 10) à temperatura ambiente.

Tabela 9 Estabilidade de ciclobenzaprina em amostras de plasma analisadas 24 horas após o procedimento de purificação. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras recém-preparadas			Amostras analisadas 24 horas após o processamento			
	Conc. Det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc. Det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,73	4,06	96,80	0,73	3,51	97,13	0,30
6,0	5,46	2,33	91,02	5,48	4,83	91,30	0,31
12,0	10,79	3,04	89,96	11,30	2,59	94,15	4,66

Tabela 10 Estabilidade de ciclobenzaprina em amostras de plasma analisadas 48 horas após o procedimento de purificação. Cada resultado representa a média de três determinações. Desvio = desvio em relação à amostra recém-preparada

Conc. Nominal (ng/mL)	Amostras descongeladas e imediatamente processadas			Amostras após 48 horas à temperatura ambiente			
	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Conc.det (ng/mL)	Precisão (%)	Exatidão (%)	Desvio (%)
0,75	0,78	5,36	104,65	0,86	0,51	114,62	9,5
6,0	6,12	2,02	101,94	6,23	2,15	103,84	1,86
12,0	12,24	1,50	101,96	12,55	1,11	104,56	2,55

5.1.7.4 ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO

As amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários, armazenadas a -20 °C, mantiveram-se estáveis por quatro meses.

5.1.7.5 ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES-PADRÃO

A estabilidade das soluções-padrão de ciclobenzaprina e amitriptilina em metanol foi determinada pela análise diária das mesmas durante as corridas analíticas da validação e das amostras de plasma dos voluntários. Os resultados obtidos apresentaram-se dentro dos limites especificados, com desvio médio de 3,52 % para o padrão e de 9,09 % para o padrão interno.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLASMA DE VOLUNTÁRIOS

As amostras de plasma contendo ciclobenzaprina foram analisadas dentro do período de tempo definido para a estabilidade das amostras e nas condições estabelecidas durante a validação do método.

Os sinais cromatográficos foram integrados automaticamente pelo programa do sistema – Micromass Quattro LC, Quantify. Para integração foi utilizado o valor de 1000 para “noise”.

5.3 ENSAIO CLÍNICO DE BIOEQUIVALÊNCIA

Durante a primeira fase do ensaio clínico (Fase 1), os voluntários 1, 10 e 23 desistiram de participar do estudo, sendo excluídos. Portanto, o ensaio foi realizado com 23 voluntários sadios, sendo 12 do sexo masculino e 11 do sexo feminino.

5.4 AVALIAÇÃO DA BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE OS MEDICAMENTOS TESTE E REFERÊNCIA

As concentrações plasmáticas médias de ciclobenzaprina, após a administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios, estão apresentadas na Tabela 11. Os valores individuais estão no ANEXO C.

Tabela 11 Concentrações plasmáticas médias de ciclobenzaprina após administração dos produtos referência (Flexeril® lote 2092441A) e teste (Miosan® lote 309024) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação; NQ = não quantificável

Tempo (h)	Concentração plasmática (ng/mL)					
	Produto referência (Flexeril®)			Produto teste (Miosan®)		
	Média	D.P.	C.V. (%)	Média	D.P.	C.V. (%)
0,0	NQ	NQ
1,0	0,78	0,59	76,22	1,05	0,97	92,88
2,0	4,51	2,39	52,97	4,26	2,69	63,25
3,0	5,88	2,32	39,42	5,67	2,20	38,88
4,0	6,11	1,96	32,03	6,06	2,00	33,01
5,0	6,66	2,13	31,99	6,70	2,11	31,49
6,0	5,93	1,85	31,17	5,92	1,84	31,01
7,0	5,33	1,47	27,60	5,53	1,76	31,88
8,0	4,98	1,46	29,36	4,99	1,50	29,97
10,0	4,18	1,24	29,62	4,27	1,19	27,92
12,0	3,67	1,10	29,94	3,64	1,12	30,72
24,0	2,45	0,91	37,21	2,52	1,14	45,48
48,0	1,37	0,67	49,28	1,40	0,78	55,41
72,0	0,79	0,51	64,92	0,80	0,50	63,08
96,0	0,46	0,42	90,37	0,52	0,40	76,95
144,0	0,16	0,25	154,77	0,14	0,21	154,70
192,0	0,05	0,12	228,95	0,04	0,12	280,22
240,0	NQ	NQ

As curvas médias de decaimento plasmático referentes aos produtos teste e referência estão representadas na Figura 3. As curvas individuais estão no ANEXO C.

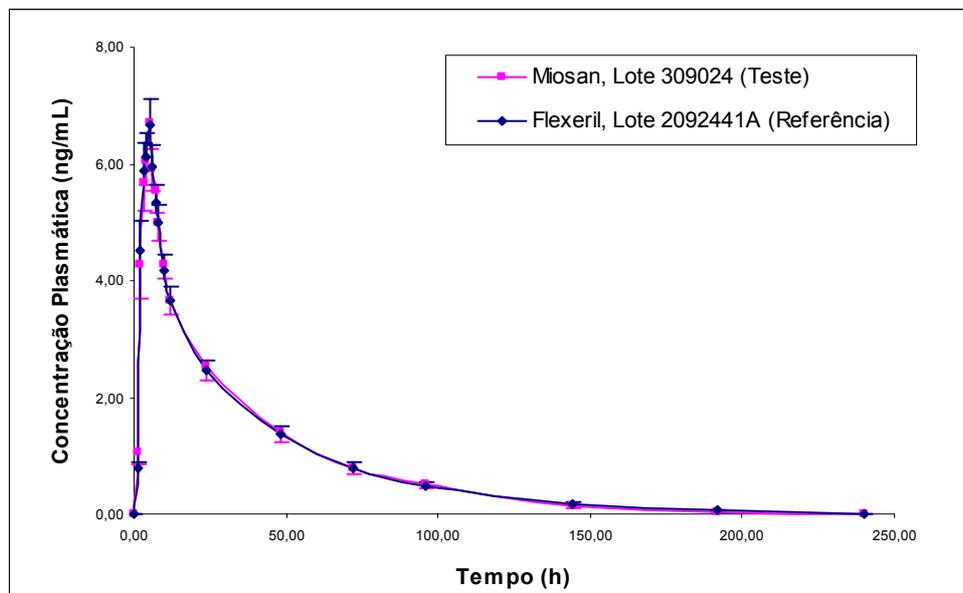


Figura 3 Curvas médias de decaimento plasmático após a administração oral dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios. As barras verticais representam o erro padrão da média.

As Tabelas 12 e 13 apresentam a média dos valores dos parâmetros farmacocinéticos referentes à fase de absorção (C_{max} , t_{max} , k_a , $t_{(1/2)a}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$), obtidos após a administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A), respectivamente, a 23 voluntários sadios. Os valores individuais estão no ANEXO C.

Tabela 12 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina obtidos após administração do produto teste (Miosan[®] lote 309024) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. (%) = coeficiente de variação.

Voluntário	K_a	t_{(1/2)a} (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	ASC_{0-t} (ngxh/mL)	ASC_{0-∞} (ngxh/mL)
2	2,01	0,34	2,00	11,11	181,73	207,11
3	1,43	0,48	5,00	8,71	294,09	312,53
4	0,17	4,08	5,00	8,35	216,00	236,85
5	0,81	0,86	5,00	5,70	120,43	131,57
6	0,46	1,51	5,00	5,48	139,59	155,53
7	1,02	0,68	5,00	9,70	241,76	260,06
8	0,48	1,44	5,00	5,24	130,51	147,25
9	0,40	1,73	5,00	3,99	126,15	147,85
11	0,40	1,73	5,00	8,01	222,76	236,98
12	0,46	1,51	5,00	4,72	154,16	196,83
13	0,72	0,96	5,00	6,26	151,06	171,94
14	0,20	3,47	7,00	9,69	501,62	538,00
15	0,49	1,41	5,00	7,47	230,88	248,56
16	0,23	3,01	5,00	6,81	240,30	253,23
17	1,17	0,59	2,00	11,35	243,80	271,26
18	0,49	1,41	3,00	8,08	224,46	247,40
19	0,55	1,26	3,00	10,02	174,07	183,31
20	0,73	0,95	3,00	5,36	94,68	108,91
21	0,24	2,89	5,00	5,62	96,42	105,25
22	0,05	13,86	7,00	3,23	106,72	116,64
24	1,06	0,65	3,00	4,83	115,79	126,9
25	0,75	0,92	6,00	3,99	86,83	94,76
26	0,98	0,71	5,00	10,89	345,2	362,02
Média	0,67	2,02	4,61	7,16	193,00	211,34
D.P.	0,46	2,76	1,34	2,48	96,20	100,68
C.V. (%)	68,80	136,78	29,07	34,70	49,84	47,64

Tabela 13 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina obtidos após administração do produto referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. (%) = coeficiente de variação.

Voluntário	K_a	$t_{(1/2)a}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	ASC_{0-t} (ngxh/mL)	$ASC_{0-\infty}$ (ngxh/mL)
2	1,87	0,37	5,00	6,74	176,32	198,17
3	2,72	0,25	2,00	9,87	318,06	333,91
4	0,17	4,08	5,00	6,64	186,73	201,22
5	1,58	0,44	3,00	5,34	97,94	110,13
6	0,60	1,16	4,00	4,85	123,02	140,94
7	1,15	0,60	5,00	9,51	235,31	251,24
8	0,82	0,85	3,00	5,74	145,43	165,54
9	0,44	1,58	5,00	3,31	107,97	124,78
11	0,44	1,58	5,00	7,42	236,17	256,70
12	0,61	1,14	5,00	7,86	250,16	272,56
13	1,02	0,68	4,00	5,75	140,96	162,93
14	1,08	0,64	3,00	10,10	383,39	405,70
15	0,55	1,26	5,00	8,86	337,09	355,52
16	0,25	2,77	7,00	5,59	184,32	204,84
17	0,13	5,33	2,00	7,73	193,18	212,92
18	0,84	0,83	3,00	10,0	177,04	190,64
19	0,13	5,33	6,00	7,74	173,62	187,13
20	0,51	1,36	5,00	5,28	95,04	109,83
21	0,21	3,30	5,00	5,82	99,20	109,65
22	0,13	5,33	7,00	3,52	93,82	106,62
24	1,02	0,68	5,00	3,70	78,93	89,57
25	0,72	0,96	4,00	7,75	174,10	189,78
26	1,23	0,56	5,00	10,77	400,45	434,70
Média	0,79	1,79	4,48	6,95	191,66	209,35
D.P.	0,63	1,69	1,34	2,21	93,26	96,80
C.V. (%)	79,86	94,69	30,01	31,72	48,66	46,24

As Tabelas 14 e 15 apresentam a média dos valores dos parâmetros farmacocinéticos referentes à fase de eliminação plasmática (Cl , Vd , K_{β} , $t_{(1/2)\beta}$, K_{γ} , $t_{(1/2)\gamma}$) obtidos após a administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A), respectivamente, a 23 voluntários sadios. Os valores individuais estão no ANEXO C.

Tabela 14 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação plasmática de ciclobenzaprina obtidos após administração do produto teste (Miosan[®] lote 309024) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. (%) = coeficiente de variação.

Voluntário	Cl (L/h)	Vd (h)	K _β	t _{(1/2)β} (h)	K _γ	t _{(1/2)γ} (h)
2	26,56	1354,88	0,10	6,81	0,02	34,65
3	17,60	1205,35	0,07	10,09	0,01	46,82
4	23,22	1548,07	0,11	6,39	0,02	39,15
5	41,80	1749,06	0,09	7,98	0,03	25,76
6	35,36	1571,71	0,09	7,43	0,02	30,00
7	21,15	1236,79	0,15	4,69	0,02	37,87
8	37,35	1721,28	0,07	10,16	0,02	32,23
9	37,20	2043,89	0,07	10,16	0,02	32,23
11	23,21	1303,85	0,08	8,82	0,02	35,18
12	27,94	1940,50	0,08	8,70	0,02	43,31
13	31,99	1607,39	0,07	10,61	0,02	30,66
14	10,22	751,70	0,08	8,42	0,02	44,14
15	22,13	1374,37	0,05	12,86	0,02	36,28
16	21,72	1005,53	0,04	17,50	0,02	32,08
17	20,28	930,07	0,09	7,69	0,02	28,76
18	22,23	954,13	0,08	8,67	0,03	26,55
19	30,00	980,54	0,07	9,87	0,03	24,66
20	50,50	1158,22	0,04	15,43	0,03	21,72
21	52,26	1006,86	0,08	8,61	0,05	13,35
22	47,16	1799,83	0,06	11,55	0,03	27,28
24	43,34	1726,79	0,12	5,84	0,03	22,87
25	58,04	1702,01	0,11	6,06	0,03	20,32
26	15,19	1033,51	0,09	7,35	0,02	42,52
Média	31,15	1378,54	0,08	9,20	0,02	31,67
D.P.	12,89	367,35	0,03	3,01	0,01	8,42
C.V. (%)	41,39	26,65	30,69	32,66	32,73	26,58

Tabela 15 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação plasmática de ciclobenzaprina obtidos após administração do produto referência (Flexeril® lote 2092441A) a 23 voluntários sadios. D.P. = desvio padrão; C.V. (%) = coeficiente de variação.

Voluntário	Cl (L/h)	Vd (h)	K_{β}	$t_{(1/2)\beta}$ (h)	K_{γ}	$t_{(1/2)\gamma}$ (h)
2	27,75	1303,03	0,09	7,46	0,02	30,26
3	16,47	1035,94	0,06	10,85	0,01	47,14
4	27,33	1598,47	0,10	6,95	0,02	40,06
5	49,94	1770,92	0,08	8,23	0,03	24,57
6	39,02	1840,73	0,09	7,52	0,02	35,18
7	21,89	1265,40	0,12	5,87	0,02	37,26
8	33,22	1545,33	0,10	7,26	0,02	33,48
9	44,08	2226,09	0,10	7,26	0,02	33,48
11	21,43	1306,46	0,08	8,88	0,02	39,38
12	20,18	1245,62	0,04	16,94	0,02	38,93
13	33,76	1786,08	0,09	7,98	0,02	33,97
14	13,56	961,48	0,08	8,74	0,02	44,14
15	15,47	1105,03	0,06	12,40	0,02	43,86
16	26,85	1132,91	0,03	20,26	0,02	28,40
17	25,83	1137,96	0,08	8,47	0,02	28,64
18	28,85	1182,41	0,09	8,09	0,03	25,57
19	29,39	832,61	0,09	7,91	0,04	19,63
20	50,08	1178,31	0,08	8,37	0,04	17,54
21	50,16	1023,70	0,06	11,23	0,05	14,14
22	51,59	1742,74	0,05	13,15	0,03	23,41
24	61,40	2146,96	0,08	8,75	0,03	24,23
25	28,98	825,67	0,11	6,18	0,04	19,80
26	12,65	1037,08	0,09	8,11	0,01	51,72
Média	31,73	1357,87	0,08	9,43	0,02	31,95
D.P.	13,71	398,40	0,02	3,44	0,01	10,02
C.V. (%)	43,21	29,34	27,15	36,50	40,11	31,35

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na Tabela 16 são apresentados os resultados da análise da variância (ANOVA) para avaliação de efeitos produto, grupo e período em relação aos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, obtidos após a administração dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios

Tabela 16 Resultados da análise da variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos de produto, grupo e período em relação aos parâmetros C_{max} , AUC_{0-t} e $AUC_{0-\infty}$, em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Fonte de Variação	Nível Descritivo (p)		
	$\ln C_{max}$	$\ln ASC_{0-t}$	$\ln ASC_{0-\infty}$
Produto	0,7186	0,7990	0,7928
Grupo	0,5542	0,7114	0,7203
Período	0,8092	0,6400	0,5931

$p > 0,05$: não há efeito

As Tabelas 17, 18 e 19 apresentam, respectivamente, os resultados da análise da variância (ANOVA) em relação aos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, incluindo fonte, grau de liberdade, soma dos quadrados, quadrado médio, valor de F e resíduo, obtidos após a administração dos produtos teste e referência aos 23 voluntários sadios.

Tabela 17 Resultado da análise da 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 teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0047	0,0047	0,1333	0,7186
Grupo	1	0,0802	0,0802	0,3614	0,5542
Período	1	0,0021	0,0021	0,0598	0,8092
Voluntário (Grupo)	21	4,6592	0,2219		
Resíduo	21	0,7449	0,0355		

Tabela 18 Resultado da 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 teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0022	0,0022	0,0665	0,7990
Grupo	1	0,0575	0,0575	0,1406	0,7114
Período	1	0,0076	0,0076	0,2252	0,6400
Voluntário (Grupo)	21	8,5820	0,4087		
Resíduo	21	0,7069	0,0337		

Tabela 19 Resultado da 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 teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Fonte	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	p
Produto	1	0,0021	0,0021	0,0708	0,7928
Grupo	1	0,0494	0,0494	0,1317	0,7203
Período	1	0,0087	0,0087	0,2945	0,5931
Voluntário (Grupo)	21	7,8805	0,3753		
Resíduo	21	0,6195	0,0295		

Os intervalos de confiança (I.C. 90%) para as relações entre os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, na escala logarítmica, obtidos após a administração dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 Intervalos de confiança 90% (IC 90 %) para as relações entre os parâmetros C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

IC 90 %		
In C_{max}	In ASC_{0-t}	In $ASC_{0-\infty}$
93,0 % – 112,0 %	92,6 % – 111,1 %	93,1 % – 110,4 %

As razões entre os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ transformados logaritmicamente, obtidos após administração dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios, são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21 Razões entre os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, transformados em escala logarítmica, obtidos após administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Parâmetro	Razão entre as médias	Limite inferior	Limite superior
$\ln(C_{max})$	0,02	-0,07	0,11
$\ln(ASC_{0-t})$	0,01	-0,08	0,10
$\ln(ASC_{0-\infty})$	0,01	-0,07	0,10

Os valores de poder do teste estatístico para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$, obtidos após a administração dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 Valores do poder do teste estatístico para os parâmetros C_{\max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ obtidos após a administração dos produtos dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios

Parâmetro farmacocinético	Poder do teste (%)
C_{\max}	97
ASC_{0-t}	97
$ASC_{0-\infty}$	98

Os intervalos de confiança (I.C. 95 %) para as relações entre os parâmetros farmacocinéticos $t_{(1/2)\beta}$ (meia-vida de eliminação rápida) e $t_{(1/2)\gamma}$ (meia-vida de eliminação lenta), obtidos após a administração dos produtos teste e referência a 23 voluntários sadios, são apresentados nas Tabelas 23 e 24.

Tabela 23 Intervalos de confiança 95% (IC 95 %) para as relações dos parâmetros $t_{(1/2)\beta}$ obtidos após administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios, calculados para cada produto individualmente e para os dois produtos em conjunto (Global)

IC 95 %		
Produto Referência	Produto Teste	Global
$\ln t_{(1/2)\beta}$	$\ln t_{(1/2)\beta}$	$\ln t_{(1/2)\beta}$
7,9 % – 10,9 %	7,9 % – 10,5 %	8,4 % – 10,3 %

Tabela 24 Intervalos de confiança 95% (IC 95 %) para as relações dos parâmetros $t_{(1/2)\gamma}$ obtidos após administração dos produtos teste (Miosan[®] lote 309024) e referência (Flexeril[®] lote 2092441A) a 23 voluntários sadios, calculados para cada produto individualmente e para os dois produtos em conjunto (Global)

IC 95 %		
Produto Referência	Produto Teste	Global
$\ln t_{(1/2)\gamma}$	$\ln t_{(1/2)\gamma}$	$\ln t_{(1/2)\gamma}$
27,6 % – 36,3 %	28,0 % – 35,3 %	29,1 % – 34,5 %

6. DISCUSSÃO

A avaliação da bioequivalência entre os produtos foi efetuada por meio de um estudo quantitativo direto, com delineamento randomizado, cruzado e aberto, no qual todos os voluntários recebem tanto o produto teste quanto o produto referência, em duas fases distintas.

O desenho cruzado apresenta algumas vantagens nos estudos de bioequivalência, entre as quais: a administração dos produtos teste e referência para cada voluntário reduz a variabilidade inter-individual, pois cada indivíduo constitui seu próprio controle; remove a variabilidade inter-individual na comparação entre as formulações; fornece a melhor estimativa imparcial para as diferenças entre as formulações, desde que haja uma apropriada randomização dos indivíduos para a seqüência das administrações (Chow, Liu, 2000).

Entre as duas fases do ensaio clínico houve um período de *washout* de 30 dias, superior a 10 meias-vidas da ciclobenzaprina, garantindo a completa eliminação do fármaco. O *washout* pode ser definido como o intervalo de tempo entre os tratamentos para o qual o efeito de uma formulação administrada em um tratamento não interfere no próximo (Brasil, 2003).

Estão descritos na literatura diversos métodos para quantificação de ciclobenzaprina em matrizes biológicas (Hucker, Stauffer, 1976; Constanzer *et al*, 1985; Constanzer *et al*, 1995).

Hucker & Stauffer (1976) desenvolveram um método para quantificação de ciclobenzaprina em plasma utilizando cromatografia gasosa com detector de nitrogênio. Para a purificação das amostras foi utilizado n-heptano em meio ácido, seguido de alcalinização e reextração com éter. Esta técnica apresenta como desvantagem uma etapa adicional na purificação das amostras, sendo

necessária uma dupla extração para garantir a recuperação adequada do fármaco.

Constanzer *et al.* (1985) determinou a concentração de ciclobenzaprina em amostras de plasma e urina através de cromatografia capilar gasosa com detector de nitrogênio. Com a finalidade de aumentar a recuperação das amostras, foi necessário adicionar trietilamina (TEA) após extração com hexano. Este método apresenta também como vantagem à técnica supracitada o uso de extração simples. Porém, o uso de aditivos durante a etapa de purificação das amostras é uma desvantagem, pois durante a etapa analítica, um número elevado de amostras provenientes de ensaio de bioequivalência é analisado, portanto há um consumo maior de tempo.

Em 1995, Constanzer *et al.* realizaram um estudo comparativo entre as técnicas de cromatografia líquida com detector de ultra-violeta e com detector de massas para quantificação de ciclobenzaprina em amostras de plasma e urina. As amostras foram alcalinizadas e, em seguida, extraídas utilizando-se hexano. Os resultados apresentados foram satisfatórios quanto ao limite de quantificação e à recuperação das amostras. A técnica de quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas apresenta algumas vantagens em relação à detecção por ultravioleta, entre as quais redução do tempo de análise, menor limite de quantificação e a possibilidade de análise de um número maior de amostras nas corridas analíticas diárias.

O método utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de massas foi selecionado por possibilitar a quantificação de ciclobenzaprina em amostras de plasma com precisão e exatidão. O método desenvolvido mostrou-se específico e, durante a aplicação do mesmo,

comprovou-se sensibilidade adequada à aplicação em estudos de farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência, nos quais a detecção de pequenas concentrações plasmáticas é de extrema importância.

Durante o desenvolvimento de métodos cromatográficos, uma consideração importante é a escolha do uso de padrão externo ou padrão interno. O uso de padrão externo implica na comparação da resposta do analito com uma reta de calibração gerada a partir de respostas do padrão externo. Sempre que é possível obter um padrão isotópico ou estruturalmente semelhante ao analito, a utilização do padrão interno é a opção de escolha. O padrão interno é adicionado inicialmente às amostras, passando por todas as etapas de pré-tratamento. Para determinar a concentração do analito, utiliza-se a razão entre as respostas do analito (padrão) e padrão interno, possibilitando minimizar os erros oriundos de possíveis perdas durante o preparo das amostras (Causon, 1997).

Neste trabalho, utilizou-se a amitriptilina como padrão interno, cuja estrutura química é semelhante à da ciclobenzaprina, apresentando adequada seletividade no método desenvolvido. O emprego de amitriptilina constitui-se em uma vantagem deste método em relação aos citados anteriormente, nos quais os padrões internos utilizados não são disponíveis comercialmente e foram sintetizados, exigindo um trabalho maior, pois se tornam necessários a caracterização e purificação dos mesmos.

As amostras biológicas contendo os fármacos, obtidas dos voluntários e destinadas aos estudos de bioequivalência, devem passar por um tratamento prévio à sua análise cromatográfica, objetivando uma separação cromatográfica livre de interferentes (Queiroz *et al.*, 2001).

A purificação de ciclobenzaprina através de extração líquido-líquido é uma técnica muito utilizada (Hucker, Stauffer, 1976; Constanzer *et al*, 1985; Constanzer *et al*, 1995), pela característica apolar da molécula.

Neste trabalho, as amostras foram purificadas por extração líquido-líquido simples, utilizando-se éter terc-butílmético como solvente extrator, possibilitando maior recuperação do padrão e do padrão interno em relação aos outros solventes. A recuperação média da extração foi de 92,76 % para ciclobenzaprina e 94,45 % para amitriptilina, com precisão e exatidão dentro dos limites especificados.

A fase móvel utilizada neste método constitui-se por uma mistura de acetonitrila e tampão acetato, na concentração 10 mM na proporção de 90:10 (v/v), acrescida de 0,1 % de ácido fórmico. Esta fase foi eluída a um fluxo de 0,35 mL/min, sendo este inferior ao fluxo utilizado no trabalho de Constanzer *et al* (1995) que também empregou cromatografia líquida de alta eficiência.

O tempo de corrida de cada análise cromatográfica foi de 5 minutos, inferior ao apresentado nos trabalhos de Hucker, Stauffer (1976) e Constanzer *et al* (1985), que foi de 10 a 14 minutos, e próximo ao apresentado por Constanzer *et al* (1995), pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas. A diminuição no tempo de análise possibilita redução da quantidade de fase móvel utilizada e aumento de vida útil da coluna cromatográfica.

O limite de quantificação do fármaco é um parâmetro de elevada importância, tendo em vista que no estudo de bioequivalência foi administrado apenas um comprimido a cada voluntário em cada uma das fases, ocasionando baixas concentrações plasmáticas do fármaco, especialmente nas amostras relativas aos últimos tempos de coleta. A quantificação com precisão e

exatidão do fármaco nestas amostras é essencial para a determinação dos parâmetros farmacocinéticos relativos à eliminação. Neste trabalho, o limite de quantificação (0,25 ng/mL) foi inferior ao obtido por Huckler, Stauffer (1976) e Constanzer *et al* (1985), 10 ng/mL e 1 ng/mL, respectivamente, e próximo ao obtido por Constanzer *et al* (1995) possibilitando a quantificação de ciclobenzaprina na faixa de decaimento plasmático, onde são observadas baixas concentrações. Valores de concentração inferiores ao limite de quantificação não são utilizados no cálculo dos parâmetros farmacocinéticos.

O método mostrou-se linear na faixa de concentração de 0,25 – 15 ng/mL, com índice de correlação (r^2) de 0,9979. Esta faixa de linearidade foi adequada à aplicação do método aos estudos de bioequivalência e farmacocinética.

Os valores obtidos para análise de ciclobenzaprina no mesmo dia (intra-ensaio) variaram de 3,11-3,72% para precisão e de 90,62-96,74% para exatidão. Amostras analisadas em dias diferentes (inter-ensaios) apresentaram precisão entre 5,47 e 6,93% e exatidão entre 95,16 e 98,85%. Os resultados apresentados estão de acordo com o estabelecido pelas diretrizes para validação de métodos analíticos (Bressole *et al.*, 1996; Brasil, 2003).

As amostras de ciclobenzaprina em plasma a - 20°C permaneceram estáveis ao serem submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento. A análise de amostras de plasma descongeladas e mantidas à temperatura ambiente por 4 horas e de amostras plasmáticas processadas e mantidas por 24 e 48 horas à temperatura ambiente demonstra que as mesmas permaneceram estáveis, indicando adequabilidade do método ao tempo e condições de análise. A estabilidade de longa duração foi determinada pelo tempo correspondente ao intervalo de tempo entre a primeira fase do ensaio

clínico e o último dia de análise das amostras. As amostras de ciclobenzaprina em plasma a -20°C permaneceram estáveis durante este período, correspondente a quatro meses.

Os resultados obtidos após avaliação dos parâmetros de validação demonstram que o método cromatográfico apresentou-se específico, sensível, preciso e exato, justificando sua aplicação em estudos de bioequivalência e farmacocinética.

O produto teste Miosan[®], lote 309024 – Apsen Farmacêutica Ltda e o produto referência Flexeril[®], lote 2092441^a – Merck Co. Inc são classificados como equivalentes farmacêuticos por conterem o mesmo fármaco, na mesma dosagem e na mesma forma farmacêutica. Eles têm sua qualidade assegurada, cumprindo as especificações farmacopeicas (ANEXO D), entretanto, isto não atesta a intercambialidade entre estes produtos. A realização do estudo *in vivo* é necessária para que se obtenham conclusões definitivas sobre a bioequivalência dos produtos em estudo.

As curvas médias de decaimento plasmático dos produtos teste (Miosan[®]) e referência (Flexeril[®]), bem como as médias dos parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção e utilizados na determinação da bioequivalência C_{max} (teste: 7,16 ng/mL; referência: 6,95 ng/mL), t_{max} (teste: 4,61 h; referência: 4,48 h), ASC_{0-t} (teste: 193,00 ngxh/mL; referência: 191,66 ngxh/mL) e $ASC_{0-\infty}$ (teste: 211,34 ngxh/mL; referência: 209,35 ngxh/mL) apresentaram-se semelhantes.

Estes resultados são compatíveis com os reportados por Hucker & Stauffer (1976), Hucker *et al.* (1977), Hucker *et al.* (1978) e Winchell *et al.* (2002), que obtiveram valores para C_{max} de 8,5 ng/mL, e 4 horas para t_{max} em

trabalhos que utilizaram as mesmas doses de ciclobenzaprina do presente estudo.

Os valores dos parâmetros farmacocinéticos K_a (referência: 0,79; teste: 0,67) e $t_{(1/2)a}$ (referência: 1,79 h; teste: 2,02 h), relacionados à absorção, mas que não são utilizados na avaliação da bioequivalência, apresentaram-se também semelhantes para os dois produtos .

Os resultados obtidos neste trabalho referentes ao *clearance* plasmático da ciclobenzaprina (teste: 31,15 L/h; referência: 31,73 L/h) são semelhantes ao relatado por Winchell *et al.* (2002). Os resultados obtidos para o parâmetro volume de distribuição (V_d) para os produtos teste (1378,54 L) e referência (1357,87 L) confirmam que o fármaco é amplamente distribuído, como relatado por Hucker & Stauffer (1976) e Winchell *et al.* (2002).

Não existem trabalhos publicados que relatem o processo de eliminação plasmática de ciclobenzaprina detalhadamente. Há somente um trabalho de Winchell *et al.* (2002) relatando o tempo de meia-vida de eliminação, na faixa de 8 – 37 horas.

Através da análise das curvas de decaimento plasmático de ciclobenzaprina *versus* tempo com base no modelo multicompartmental, observou-se que o fármaco apresenta eliminação bifásica. A partir desta constatação calcularam-se os parâmetros farmacocinéticos relativos à fase de eliminação rápida ou fase beta (β), que ocorre em média entre 5 e 12 horas após a administração de ciclobenzaprina por via oral, e os parâmetros farmacocinéticos relativos à fase de eliminação lenta ou fase gama (γ), que ocorre em média a partir da 24^a hora após a administração de ciclobenzaprina por via oral.

Enquanto os parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção sofrem influência da formulação utilizada para veiculação do fármaco e, portanto, podem apresentar diferenças entre produtos diferentes contendo o mesmo fármaco, o mesmo não ocorre com os parâmetros farmacocinéticos relativos à eliminação. Para estes parâmetros, não se espera variação de valores em função da formulação. O presente estudo confirmou esta expectativa, uma vez que os valores obtidos para k_{β} (referência: 0,08; teste: 0,08), $t_{(1/2)\beta}$ (referência: 9,43 h; teste: 9,20 h), k_{γ} (referência: 0,02; teste: 0,02) e $t_{(1/2)\gamma}$ (referência: 32,92 h; teste: 31,67 h) apresentaram-se semelhantes entre os dois produtos. Após realização de análise estatística através de testes paramétricos (teste t-pareado) e testes não-paramétricos (teste Wilcoxon) não constatou-se diferença estatística no tempo de meia-vida de eliminação da fase rápida e da fase lenta entre os produtos Teste (Miosan[®]) e referência (Flexeril[®]), o que possibilita a utilização de todos os resultados para determinação de um único intervalo de confiança para estes parâmetros.

A análise multivariada, realizada por meio da análise da variância (ANOVA), possibilita avaliar a existência de efeitos de período, grupo e produto. A observação de efeito de período ou fase não invalida o estudo de bioequivalência, uma vez que a ANOVA verifica a igualdade dos produtos (tratamentos), independentemente da ocorrência dos mesmos. Embora a presença de diferenças significativas entre as fases não seja desejável, ela pode ocorrer de forma aleatória e não invalida o ensaio, desde que as causas sejam devidamente investigadas e justificadas. O efeito de grupo ou seqüência 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. Este efeito

pode ser ignorado se o estudo aplicou dose única; incluiu apenas voluntários saudáveis normais; o fármaco não era uma molécula endógena; foi aplicado período de *washout* adequado entre as duas fases e o estudo preencheu todos os critérios científicos e estatísticos preconizados (protocolo de ensaio; validação de método analítico; coleta adequada de dados; análise estatística apropriada e intervalos de confiança adequados). O último efeito avaliado é o efeito produto, que consiste em indicar se existe ou não igualdade entre os produtos avaliados. A constatação deste indica que os produtos não são iguais, mas não implica que eles não sejam clinicamente equivalentes. A equivalência clínica é determinada por meio do cálculo do intervalo de confiança 90% para as médias dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , AUC_{0-t} e $AUC_{0-\infty}$. Produtos clinicamente equivalentes devem apresentar resultados dentro do intervalo de confiança 90 % de 80 a 125% e, assim, estar de acordo com os critérios de bioequivalência (Koono, 2005).

No presente trabalho, a ANOVA revelou para os valores dos parâmetros farmacocinéticos utilizados na avaliação da bioequivalência (C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$) nível descritivo (p) acima de 0,05, indicando ausência de efeitos de período, grupo, produto e voluntário. Portanto, não há diferença significativa entre os dois períodos do ensaio, entre os dois grupos de indivíduos, entre os produtos avaliados e entre os voluntários.

Os limites do intervalo de confiança 90 % (I.C. 90%) devem estar compreendidos entre 80 – 125 %, sendo utilizado para demonstrar se a biodisponibilidade do fármaco no produto teste é muito alta ou muito baixa em relação à do produto referência, determinando se existem grandes diferenças em relação aos valores médios (Shargel, Yu, 1993; United States, 2001; Brasil, 2003).

Os resultados do I.C. 90 % para os parâmetros farmacocinéticos avaliados encontram-se dentro dos limites estabelecidos (C_{max} : 93,0 % – 112,0 %; ASC_{0-t} : 92,6 % – 111,1 % e $ASC_{0-\infty}$: 93,1 % – 110,4 %), 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 é dependente 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.

Neste estudo, o poder estatístico dos testes utilizados para determinação do I.C. 90 % das relações entre os parâmetros farmacocinéticos foi de 97 % para C_{max} , 97 % para ASC_{0-t} e 98 % para $ASC_{0-\infty}$, indicando que o número de voluntários foi adequado e que trata-se de um fármaco de baixa variabilidade.

A constatação de que a ciclobenzaprina é um fármaco de baixa variabilidade contradiz os resultados obtidos por Winchell *et al.* (2002) que descrevem o tempo de meia-vida de eliminação variando dentro de uma faixa muito ampla, de 8 – 37 horas. Provavelmente estes autores não diferenciaram as duas fases da eliminação do fármaco e incluíram nesta faixa valores referentes à meia-vida de eliminação rápida e à meia-vida de eliminação lenta. No presente estudo, constatou-se que valores próximos a 8 horas correspondem à meia-vida de eliminação rápida, enquanto que valores próximos a 37 horas correspondem à meia-vida de eliminação lenta.

A avaliação da bioequivalência é baseada na hipótese de que quando dois produtos farmacêuticos são equivalentes em relação a velocidade e extensão pelas quais o fármaco ou substância ativa é absorvido e torna-se

disponível no sítio de ação, pode-se considerá-los equivalentes terapêuticos (Chow, Liu, 2000).

Os estudos de bioequivalência são os substitutos para os ensaios clínicos de avaliação da equivalência terapêutica em termos de segurança e eficácia entre os produtos farmacêuticos. Portanto, o objetivo de um estudo de bioequivalência é identificar equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas que serão utilizados de forma intercambiável, para o mesmo efeito terapêutico. Assim, produtos farmacêuticos bioequivalentes podem ser administrados intercambiavelmente (Chow, Liu, 2000).

No presente estudo, todos os parâmetros avaliados encontram-se dentro dos limites estabelecidos, demonstrando que os produtos avaliados são bioequivalentes, podendo ser administrados a pacientes de maneira intercambiável, sem prejuízo do efeito terapêutico.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados previamente apresentados, é possível concluir que:

- O método analítico desenvolvido e validado para quantificação de ciclobenzaprina em plasma humano demonstrou sensibilidade, reprodutibilidade, recuperação e estabilidade adequadas, justificando sua utilização em ensaios de farmacocinética e bioequivalência;
- A farmacocinética da ciclobenzaprina é descrita por modelo multicompartmental, com eliminação bifásica.
- O produto teste Miosan[®], lote 309024, produzido por Apsen Farmacêutica S/A pode ser considerado bioequivalente ao produto referência Flexeril[®], lote 2092441A, produzido por Merck Co. Inc;
- Os produtos teste Miosan[®], lote 309024, produzido por Apsen Farmacêutica S/A e referência Flexeril[®], lote 2092441A, produzido por Merck Co. Inc, podem ser administrados a pacientes de forma intercambiável, sem prejuízo da eficácia terapêutica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDON, H.M. *Dissolution, bioavailability and bioequivalence*. Easton: Meck Publishing, 1989. 554p.
2. AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research*, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS – PRÓ-GENÉRICOS. Genéricos. História. *História dos medicamentos genéricos no Brasil*. São Paulo: Pró-genéricos, 2004. Disponível em: <http://www.progenericos.org.br/historia.shtml>. Acesso em: 19 out. 2005.
4. AULTON, M.E., ed. *Pharmaceutics: the science of dosage form design*. New York: Churchill Livingstone, 1996. 734p.
5. BENET, L.Z. Understanding bioequivalence testing. *Transplantation Proceedings*, v.31, suppl.3A, p.75-95, 1999.
6. 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.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.41, de 28 de abril de 2000*. Determina que as entidades ou empresas que porventura pretendam cadastrar-se junto à ANVS/MS para se habilitarem à realização dos ensaios de equivalência farmacêutica, biodisponibilidade e/ou bioequivalência deverão proceder ao preenchimento de formulário específico disponível, via Internet, no endereço eletrônico <http://anvs.saude.gov.br>, seção da Rede Brasileira de Laboratórios, item cadastramento. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1237&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.133, de 29 de maio de 2003*.

Dispõe sobre o registro de medicamento similar e dá outras providências. 2003a. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=7901> Acesso em: 18 out. 2005.

9. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.135, de 29 de maio de 2003*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento técnico para medicamentos genéricos. 2003b. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=7909&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
10. 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. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=251&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.896, de 29 de maio de 2003c*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Determina a publicação do "Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência". Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=3690&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
12. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.898, de 29 de maio de 2003b*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência" anexo. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=2489&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
13. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.899, de 29 de maio de 2003e*.

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: 18 out. 2005.

14. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RE n.397, de 12 de novembro de 2004*. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária determina a publicação do "Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência". Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20200&word=>. Acesso em: 18 out. 2005.
15. BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. *Journal of Chromatography, B: Biomedical Sciences and Applications*, v.686, n.1, p.3-10, 1996.
16. 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.
17. CHARMANN, W.N.; PORTER, C.J.H.; MITHANI, S.; DRESSMAN, J.B. Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipid and pH. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.86, n.3, p.269-282, 1997.
18. CHOW, S.C.; LIU, J.P. *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies*. Statistics: textbook and monographs. New York: Marcel Dekker, v.133, 2000. 416p.
19. 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.

20. CONSIGLIERI, V.O.; STORPIRTIS, S.; FERRAZ, H.G. Aspectos farmacotécnicos relacionados à biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.21, n.1, p.23-41, 2000.
21. CONSTANZER, M.; CHAVEZ, C.; MATUSZEWSKI, B. Development and comparison of high-performance liquid chromatographic methods with tandem mass spectrometric and ultraviolet absorbance detection for the determination of cyclobenzaprine in human plasma and urine. *Journal of Chromatography, B: Biomedical Applications*, v.666, n.1, p.117-126, 1995.
22. CONTANZER, M.L.; VINCEK, W.C.; BAYNE, W.F. Determination of cyclobenzaprine in plasma and urine using capillary gas chromatography with nitrogen-selective detection. *Journal of Chromatography*, v.339, n.2, p.414-418, 1985.
23. DIPIRO, J.T.; SPRUILL, W.J.; BLOUIN, R.A.; PRUEMER, J.M. *Concepts in clinical pharmacokinetics*. 3.ed. S.l.: American Society of Health-System Pharmacists, 2002. 200p.
24. DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorpt: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research*, v.15, n.1, p.11-22, 1998.
25. AHFS Drug information: 2005. Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists, 2005.
26. 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.eu.int/pdfs/human/ewp/140198en.pdf#search=%22Human%20Medicines%20Evaluation%20Unit.%20Committee%20for%20Proprietary%20Medicinal%20Products.%20Note%20for%20guidance%](http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/140198en.pdf#search=%22Human%20Medicines%20Evaluation%20Unit.%20Committee%20for%20Proprietary%20Medicinal%20Products.%20Note%20for%20guidance%20)

[20on%20the%20investigation%20of%20bioavailability%20and%20bioequivalence%22](#). Acesso em:18 out. 2005.

27. FERRAZ, H.G. *Avaliação biofarmacêutica in vitro e in vivo (Bioequivalência) de comprimidos de ampicilina 500 mg comercializados no Brasil*. São Paulo, 1997. 135p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
28. FLEISCHER, D.; LI, C.; ZHOU, Y.; PAO, L.H.; KARIM, A. Drug, meal ad formulation interactions influencing drug absorption after oral administration: clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, v.36, n.3, p.233-254, 1999.
29. GLEITER, C.H.; KLOTZ, U.; KUHLMANN, J.; BLUME, H.; STANISLAUS, F.; HARDER, S.; PAULUS, H.; POETHKO-MÜLLER, C.; HOLZ-SLOMCZYK, M. When are bioavailability studies required?: a German proposal. *Journal of Clinical Pharmacy*, v.38, n.10, p.904-911, 1998.
30. HARTMANN, C.; VERBEKE-SMEYERS, J.; MASSART, D.L.; McDOWALL, R.D. Validation of bioanalytical chromatographic methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.17, p.193-218, 1998.
31. HUCKER, H.B.; STAUFFER, S.C. Gas-liquid chromatographic determination of nanogram amounts of cyclobenzaprine in plasma using a nitrogen detector. *Journal of Chromatography*, v.124, p.164-168, 1976b.
32. HUCKER, H.B.; STAUFFER, S.C. GLC determination of cyclobenzaprine in plasma and urine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.65, n.8, p.1253-1255, 1976.
33. HUCKER, H.B.; STAUFFER, S.C.; ALBERT, K.S.; LEI, B.W. Plasma levels and bioavailability of cyclobenzaprine in human subjects. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.17, n.11/12, p.719-727, 1977.
34. HUCKER, H.B.; STAUFFER, S.C.; BALLETO, A.J.; WHITE, S.D.; ZACCHEI, A.G.; ARISON, B.H. Physiological disposition and metabolism of cyclobenzaprine in the rat, dog, rhesus, monkey and man. *Drug Metabolism and Disposition*, v.6, n.6, p.659-672, 1978.

35. KANO, E.K. *Avaliação biofarmacêutica de formulações contendo cefadroxil: estudo in vitro e in vivo (bioequivalência)*. São Paulo, 2002. 233p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
36. KATZ, W.A.; DUBE, J. Cyclobenzaprine in the treatment of acute muscle spasm: review of a decade of clinical experience. *Clinical Therapeutics*, v.10, n.2, p.216-228, 1988.
37. KOBAYASHI, H.; HASEGAWA, Y.; ONO, H. Cyclobenzaprine, a centrally acting muscle relaxant, acts on descending serotonergic systems. *European Journal of Pharmacology*, v.311, p.29-35, 1996.
38. KOONO, E.E.M. *Avaliação de bioequivalência de comprimidos contendo 500 mg de tinidazol*. São Paulo, 2005. 157p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
39. KOROLKOVAS, A. *Dicionário terapêutico Guanabara: 2004/2005*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
40. LEIBOVITCH, E.R.; DEAMER, R.L.; SANDERSON, L.A. Food-drug interactions: careful drug selection and patient counseling can reduce the risk in older patients. *Geriatrics*, v.59, n.3, p.19-22, 32-33, 2004.
41. LINDEN, C.H.; MITCHINER, J.C.; LINDZON, R.D.; RUMACK, B.H. Cyclobenzaprine overdose. *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology*, v.20, n.3, p.281-288, 1983.
42. LIPKA, E.; AMIDON, G.L. Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data: optimizing oral drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, v.62, p.41-49, 1999.
43. LÖBENBERG, R.; AMIDON, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system: new scientific approaches to international regulatory standards. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.50, p.3-12, 2000.

44. MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.38, n.4, p.375-399, 2002.
45. MARZO, A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharmaceutical Research*, v.40, n.4, p.357-368, 1999.
46. MARZO, A.; BALANT, L.P. Bioequivalence: an updated reappraisal addressed to applications of interchangeable multi-source pharmaceutical products. *Arzneimittel Forschung*, v.45, n.2, p.109-115, 1995.
47. MERCK index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 12.ed. Whitehouse Station: Merck, 1996.
48. MEREDITH, P.A. Generic drugs: therapeutic equivalence. *Drug Safety*, v.15, n.4, p.233-242, 1996.
49. MORAES, M.E.A.; MORAES, O.M. Ensaio clínico de medicamentos no Brasil. In: Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamento Genérico. Profissionais da Saúde. *Artigos*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/profissionais/artigos/ensaios.htm>. Acesso em: 18 out. 2005.
50. NATION, R.L.; SANSOM, L.N. Bioequivalence requirements for generic products. *Pharmacology & Therapeutics*, v.62, n.1/2, p.41-55, 1994.
51. ORMSBY, E. Statistical methods in bioequivalence. In: JACKSON, A.J., ed. *Generics and bioequivalence*. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.1-27.
52. PABST, G.W.; CHIOU, W.L. Review of methods and criteria for evaluation of bioequivalence studies. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v.38, p.3-50, 1990.

53. PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N.S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. *International Journal of Pharmaceutics*, v.201, p.131-150, 2000.
54. 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.
55. POWERS, J.D. Statistical considerations in pharmacokinetic study design. *Clinical Pharmacokinetics*, v.24, n.5, p.380-387, 1993.
56. 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.
57. ESCIGNO, A. Bioequivalence. *Pharmaceutical Research*, v.9, p.925-928, 1992.
58. RITSCHER, W.A. *Handbook of basic pharmacokinetics*. 4.ed. Hamilton: Drug Intelligence, 1992. 588p.
59. ROMEU, G.A. *Avaliação da bioequivalência de formulações do mercado nacional contendo doxicilina*. São Paulo, 2002. 165p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
60. SASEEN, J.J.; PORTER, J.A.; BARNETTE, D.J.; BAUMANN, J.L.; ZAJAC, E.J.; CARTER, B.L. Postabsorption concentration peaks with brand-name and generic verapamil: a double-blind, crossover study in elderly hypertensive patients. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.37, n.6, p.526-534, 1997.
61. SCHULZ, H.U.; STEINIANS, V.W. Striving for standards in bioequivalence assessment: a review. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, v.29, n.8, p.293-298, 1991.

62. SELEN, A. Factors influencing bioavailability and bioequivalence. In: WELLING, P.G.; TSE, F.L.; DIGHE, S., eds. *Pharmaceutical bioequivalence*. New York: Marcel Dekker, 1991. p.117-148. (Drug and the Pharmaceutical Sciences, v.48).
63. SENN, S. Statistical issues in bioequivalence [correction of bioequivalence]. *Statistics in Medicine*, v.20, n.17/18, p.2785-2799, 2001.
64. 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.
65. SHARE, N.N.; McFARLENE, C.S. Cyclobenzaprime: a novel centrally acting skeletal muscle relaxant. *Neuropharmacology*, v.14, n.9, p.675-684, 1975.
66. SHARGEL, L.; YU, A.B.C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 3.ed. London: Prentice-Hall International, 1993. 625p.
67. SHARGEL, L.; YU, A.B.C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 4.ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999. 768p.
68. SINGH, N.B. Effects of food on clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, v.37, n.3, p.213-255, 1999.
69. SOUZA, J. *Avaliação das características físico-químicas, farmacocinéticas e da biodisponibilidade relativa de comprimidos contendo associação de lamivudina 150 mg e zidovudina 300 mg*. São Paulo, 2005. 290p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
70. STEINIJANS, V.W.; HAUSCHKE, D. Update on the statistical analysis of bioequivalence studies. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, v.30, suppl.1, p.S45-S50, 1992.

71. STORPIRTIS, S. Biofarmacotécnica: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: s.n., 1999. 78p.
72. 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.
73. STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F.; VILANOVA, C.M. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa Divulga. *Artigos, Entrevista e Relatórios*. 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/genericos_referencia.pdf
Acesso em: 20 out. 2005.
74. STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRÍGUEZ, 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.
75. TILL, A.E.; CONSTANZER, M.L.; DEMETRIADES, J.; IRVIN, J.D.; LEE, R.B. Evidence for route dependent biotransformation of cyclobenzaprine hydrochloride. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, v.3, n.1, p.19-28, 1982.
76. UNITED States Pharmacopoeia: USP28; The National Formulary: NF23. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2004.
77. UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. *Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation*. 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/Guidance/4252fnl.pdf#search=%22Food%20and%20Drug%20Administration.%20Guidance%20for%20Industry%3A>

[%20Bioanalytical%20Method%20Validation%22](#). Acesso em: 20 out. 2005

78. UNITED STATES. National Archives and Records Service. Office of the Federal register. Code of Federal regulations. Title 21: Food and Drugs. Subchapter D: Drug for human use. Part 320. *Bioavailability and Bioequivalence Requirements*. 2004. Disponível em: <http://www.washingtonwatchdog.org/documents/cfr/title21/part320.html>. Acesso em: 16 ago. 2005.
79. WANG, R.W.; LIU, L.; CHENG, H. Identification of human liver cytochrome P450 isoforms involved in the vitro metabolism of cyclobenzaprine. *Drug Metabolism and Disposition*, v.24, n.7, p.786-791, 1996.
80. WILDING, I.R. Evolution of the biopharmaceutics classification system (BCS) to oral modified release (MR) formulations; what do we need to consider? *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.8, p.157-159, 1999.
81. WILLIAMS, R.L.; UPTON, R.A.; BALL, L.; BRAUN, R.L.; LIN, E.T.; LIANG, GEE, W.; LEESON, L.J. Development of a new controlled release formulation of chorpheniramine maleate using *in vitro in vivo* correlations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.80, n.1, p.22-25, 1991.
82. WINCHELL, G.A.; KING, J.D.; CHAVEZ-ENG, C.M.; CONSTANZER, M.L.; KORN, S.H. Cyclobenzaprine pharmacokinetics including the effects of age, gender, and hepatic insufficiency. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.42, p.61-69, 2002.
83. WELLING, P.G. *Pharmacokinetics: process, mathematics, and applications*. 2.ed. Washington: American Chemical Society, 1997. 393p.

ANEXO A

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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 DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DE COMPRIMIDOS CONTENDO 10 MG DE CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA PRODUZIDOS POR APSEN FARMACÊUTICA S/A E MERCK CO. INC.

Pesquisadores envolvidos: Profa. Dra. Valentina Porta, Dr. Paulo Andrade Lotufo, Farmacêutica Tatiane Maria de Lima Souza Brioschi e Farmacêutica Eunice Kazue Kano.

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 ciclobenzaprina, produzidos por duas indústrias diferentes. A ciclobenzaprina é um remédio usado como relaxante muscular.

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 Ensaio Clínicos do Hospital Universitário da USP, 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 comprimidos com água. Além disso, o jejum deverá ser mantido até quatro horas depois de tomar o remédio. Para avaliar a absorção do fármaco pelo organismo serão realizadas coletas de sangue nos seguintes tempos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 144, 192 e 240 horas. Este procedimento será repetido com o outro comprimido, com intervalo de, no mínimo, trinta dias. Para evitar que sua veia seja puncionada 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 ciclobenzaprina é um remédio utilizado mundialmente. Entre os países que aprovaram sua utilização estão os Estados Unidos e os países da Europa. Também no Brasil sua utilização é permitida pelo Ministério da Saúde. A ciclobenzaprina geralmente é bem tolerada. Devido a administração de duas doses únicas de 10 mg de ciclobenzaprina o aparecimento de algum efeito desagradável é pouco provável. Entretanto é contra-indicado em pacientes com história de alergia. Algumas reações desagradáveis são: sonolência, boca seca, vertigem, cansaço, náusea (enjôo), dor de cabeça, visão turva (embaçada) e confusão mental. Entretanto, tais reações são observadas em pacientes que recebem

ciclobenzaprina por muitos dias. Nas condições em que será realizado o presente estudo (administração de doses únicas de 10 mg de ciclobenzaprina) é improvável o aparecimento de algum desses efeitos. 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: 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 os critérios estabelecidos na Resolução 135/2003, este não é o caso de comprimidos de ciclobenzaprina. 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 benefícios indiscutíveis à população, na medida em que permitirá a comercialização de comprimidos de ciclobenzaprina com qualidade biofarmacêutica comprovada.

Métodos alternativos existentes: Atualmente, não existem outros métodos que possam ser aplicados em estudos desse tipo.

Forma de acompanhamento e assistência: 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 3815-8484 (Profa. Dra. Valentina Porta, Farmacêutica Eunice Kazue Kano e Farmacêutica Tatiane Maria de Lima Souza) e 3 (Dr. Paulo Andrade Lotufo.).

Garantia de sigilo: 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: Cada voluntário receberá R\$ 400,00 (quatrocentos reais) como forma de ressarcimento das despesas decorrentes de sua participação na pesquisa.

Indenização (Seguro): A ocorrência de eventuais danos associados à pesquisa será devidamente indenizada por meio de seguro individual contratado para os voluntários, que prevê indenização de R\$ 100.000,00 em caso de morte e R\$ 50.000,00 em caso de 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 DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DE COMPRIMIDOS CONTENDO 10 MG DE CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA PRODUZIDOS POR APSEN FARMACÊUTICA S/A E MERCK CO. INC.”**.

Data: ____/____/____

Voluntário

Pesquisador

Testemunha 1

Testemunha 2

ANEXO C

CURVAS DE DECAIMENTO PLASMÁTICO E PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS INDIVIDUAIS

VOLUNTÁRIO 2

Tabela AC.1 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 2

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,48	11,11	8,30	7,60	7,45	6,20	5,49	4,98	3,98	3,38	2,14	1,28	0,83	0,50	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,74	4,80	6,02	5,61	6,74	6,22	5,13	4,92	3,87	3,51	2,51	1,29	0,82	0,47	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

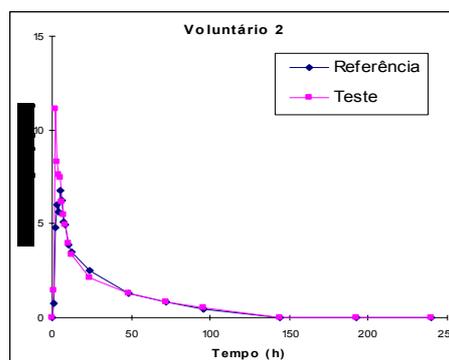


Figura AC. 1 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 2

Tabela AC.2 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 2

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	2,01	0,34	2,00	11,11	181,73	207,11
Flexeril [®]	1,87	0,37	5,00	6,74	176,32	198,17

Tabela AC.3 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 2

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	26,56	1354,88	0,10	6,81	0,02	34,65
Flexeril [®]	27,75	1303,03	0,09	7,46	0,02	30,26

VOLUNTÁRIO 3

Tabela AC.4 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 3

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,36	1,49	4,24	6,00	8,71	6,82	6,33	5,42	5,10	4,46	3,34	2,05	1,35	1,10	0,4797	0,27	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,65	9,87	8,14	8,39	9,22	7,46	6,34	6,23	5,33	4,97	2,92	2,09	1,60	1,16	0,51	0,25	NQ

NQ = não quantificável

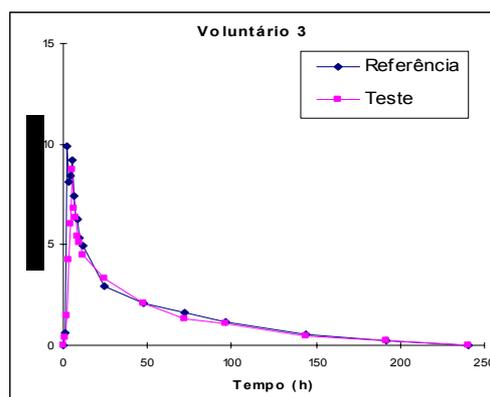


Figura AC. 2 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 3

Tabela AC.5 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 3

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	1,43	0,48	5,00	8,71	294,09	312,53
Flexeril [®]	2,72	0,25	2,00	9,87	318,06	333,91

Tabela AC.6 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 3

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	17,60	1205,35	0,07	10,09	0,01	46,82
Flexeril [®]	16,47	1035,94	0,06	10,85	0,01	47,14

VOLUNTÁRIO 4

Tabela AC.7 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,45	3,12	5,89	7,29	8,35	6,88	6,17	5,07	4,01	3,69	2,72	1,48	0,93	0,62	0,31	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,75	3,78	4,76	5,56	6,64	5,93	5,77	5,42	4,38	3,31	2,01	1,27	0,85	0,57	0,25	NQ	NQ

NQ = não quantificável

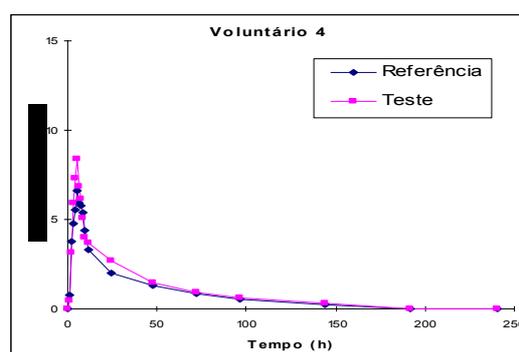


Figura AC. 3 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 4

Tabela AC.8 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 4

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,17	4,08	5,00	8,35	216,00	236,85
Flexeril [®]	0,17	4,08	5,00	6,64	186,73	201,22

Tabela AC.10 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 4

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	23,22	1548,07	0,11	6,39	0,02	39,15
Flexeril [®]	27,33	1598,47	0,10	6,95	0,02	40,06

VOLUNTÁRIO 5

Tabela AC.11 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 5

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,44	3,24	4,42	4,62	5,70	4,47	3,88	3,97	3,18	2,61	1,58	0,84	0,43	0,27	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,99	4,81	5,34	4,59	4,97	3,94	3,48	3,38	2,51	2,45	1,33	0,60	0,34	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

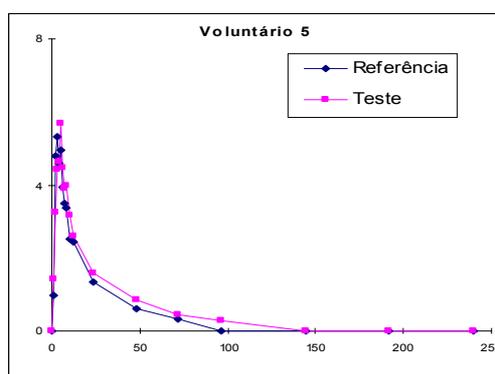


Figura AC. 4 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 5

Tabela AC.12 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 5

Produto	K_a	$t_{(1/2)\alpha}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,81	0,86	5,00	5,70	120,43	131,57
Flexeril [®]	1,58	0,44	3,00	5,34	97,94	110,13

Tabela AC.13 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 5

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	41,80	1749,06	0,09	7,98	0,03	25,76
Flexeril [®]	49,94	1770,92	0,08	8,23	0,03	24,57

VOLUNTÁRIO 6

Tabela AC.14 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 6

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	NQ	1,40	3,15	5,11	5,48	5,24	5,09	4,83	3,74	3,09	1,88	1,06	0,59	0,36	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,73	3,35	4,53	4,85	4,63	3,88	3,84	3,27	2,93	2,32	1,49	1,05	0,56	0,38	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

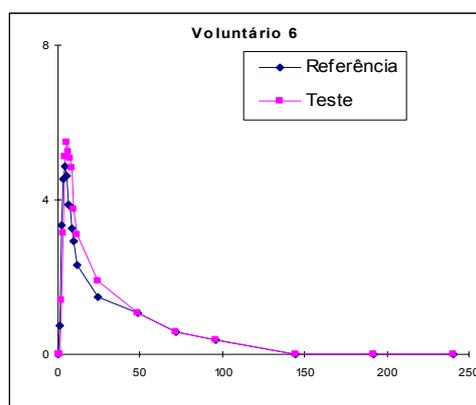


Figura AC. 5 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 6

Tabela AC.15 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 6

Produto	K_a	$t_{(1/2)\alpha}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,46	1,51	5,00	5,48	139,59	155,53
Flexeril [®]	0,60	1,16	4,00	4,85	123,02	140,94

Tabela AC.16 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 6

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	35,36	1571,71	0,09	7,43	0,02	30,00
Flexeril [®]	39,02	1840,73	0,09	7,52	0,02	35,18

VOLUNTÁRIO 7

Tabela AC.17 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 7

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,20	7,41	9,32	9,47	9,70	8,27	8,32	6,54	4,45	3,74	2,32	1,83	1,09	0,66	0,31	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,84	4,93	8,32	8,65	9,51	8,50	6,30	6,44	4,07	4,25	2,81	1,65	0,99	0,56	0,28	NQ	NQ

NQ = não quantificável

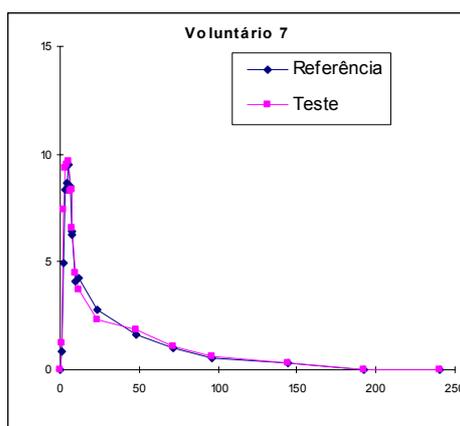


Figura AC. 6 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 7

Tabela AC.18 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 7

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	1,02	0,68	5,00	9,70	241,76	260,06
Flexeril [®]	1,15	0,60	5,00	9,51	235,31	251,24

Tabela AC.19 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 7

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	21,15	1236,79	0,15	4,69	0,02	37,87
Flexeril [®]	21,89	1265,40	0,12	5,87	0,02	37,26

VOLUNTÁRIO 8

Tabela AC.20 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 8

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,55	4,14	4,08	4,51	5,24	4,24	3,76	3,59	3,16	2,76	1,65	1,03	0,55	0,36	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	1,10	5,41	5,74	5,58	5,62	4,59	4,03	3,85	2,84	2,66	1,85	1,21	0,66	0,43	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

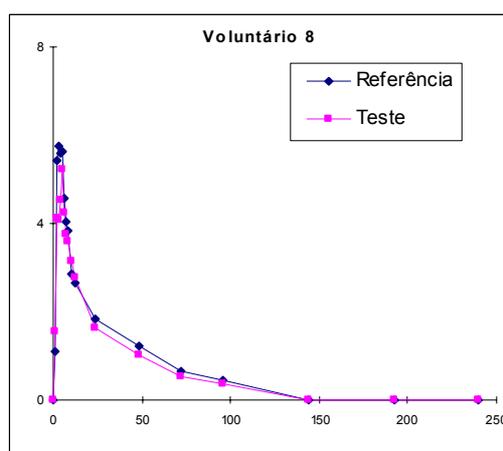


Figura AC. 7 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 8

Tabela AC.21 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 8

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,48	1,44	5,00	5,24	130,51	147,25
Flexeril [®]	0,82	0,85	3,00	5,74	145,43	165,54

Tabela AC.22 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 8

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	37,35	1721,28	0,07	10,16	0,02	32,23
Flexeril [®]	33,22	1545,33	0,10	7,26	0,02	33,48

VOLUNTÁRIO 9

Tabela AC.23 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 9

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	NQ	1,11	2,76	3,11	3,99	3,79	3,42	3,41	2,95	2,78	1,99	0,95	0,59	0,40	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	NQ	0,91	1,28	2,09	3,31	2,67	3,10	2,95	2,72	2,14	1,83	0,86	0,51	0,33	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

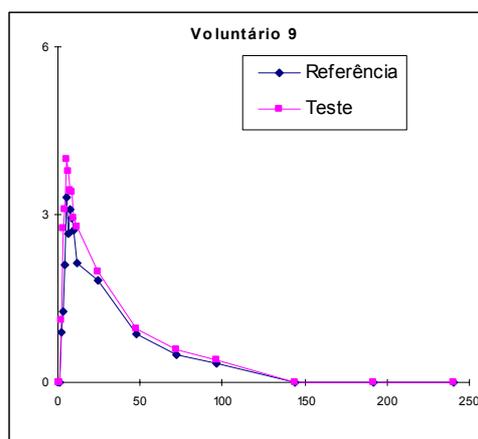


Figura AC. 8 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 9

Tabela AC.24 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 9

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,40	1,73	5,00	3,99	126,15	147,85
Flexeril [®]	0,44	1,58	5,00	3,31	107,97	124,78

Tabela AC.25 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 9

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	37,20	2043,89	0,07	10,16	0,02	32,23
Flexeril [®]	44,08	2226,09	0,10	7,26	0,02	33,48

VOLUNTÁRIO 11

Tabela AC. 26 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 11

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,49	5,12	6,89	7,51	8,01	6,27	6,12	5,93	4,51	4,11	2,66	1,59	0,93	0,56	0,25	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,36	3,95	6,35	7,35	7,42	6,46	5,77	5,23	5,03	3,84	2,80	1,77	1,09	0,74	0,34	NQ	NQ

NQ = não quantificável

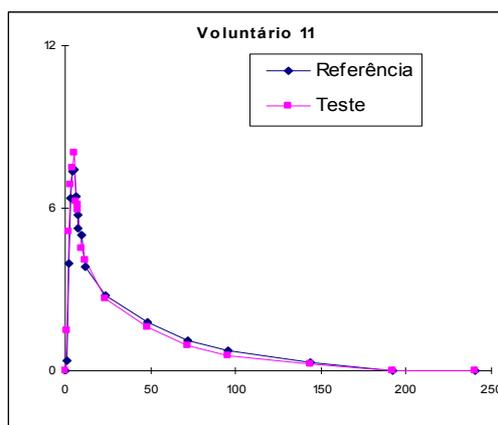


Figura AC. 9 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 11

Tabela AC. 27 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 11

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,40	1,73	5,00	8,01	222,76	236,98
Flexeril [®]	0,44	1,58	5,00	7,42	236,17	256,70

Tabela AC.28 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 11

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	23,21	1303,85	0,08	8,82	0,02	35,18
Flexeril [®]	21,43	1306,46	0,08	8,88	0,02	39,38

VOLUNTÁRIO 12

Tabela AC.29 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 12

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,52	3,77	3,65	4,51	4,72	4,42	4,10	3,93	3,42	2,70	2,05	1,22	0,97	0,61	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,45	4,34	6,13	6,57	7,86	6,68	5,87	5,47	4,66	4,34	3,00	1,94	1,18	0,74	0,36	NQ	NQ

NQ = não quantificável

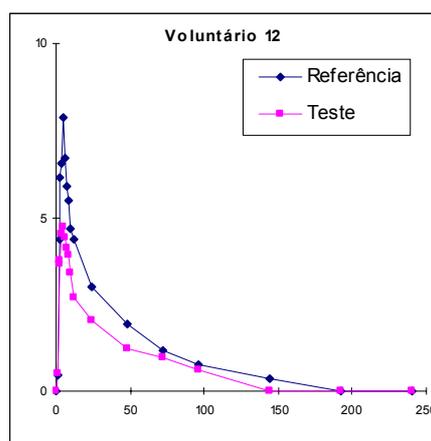


Figura AC.10 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 12

Tabela AC. 30 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 12

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,46	1,51	5,00	4,72	154,16	196,83
Flexeril [®]	0,61	1,14	5,00	7,86	250,16	272,56

Tabela AC.31 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 12

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	27,94	1940,50	0,08	8,70	0,02	43,31
Flexeril [®]	20,18	1245,62	0,04	16,94	0,02	38,93

VOLUNTÁRIO 13

Tabela AC.32 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 13

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																		
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h	
Miosan [®]	NQ	0,56	3,15	4,71	5,37	6,26	5,22	4,72	4,33	3,62	3,59	2,07	1,08	0,59	0,42	NQ	NQ	NQ	
Flexeril [®]	NQ	0,25	2,26	4,85	5,75	5,66	5,50	4,98	4,53	3,73	3,16	1,76	1,03	0,58	0,42	NQ	NQ	NQ	

NQ = não quantificável

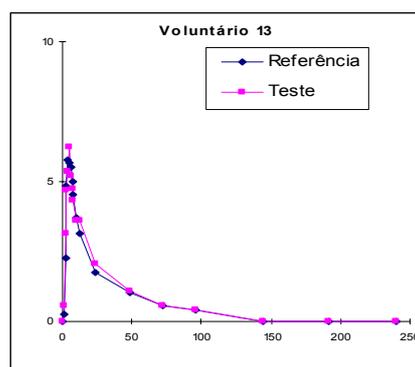


Figura AC.11 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 13

Tabela AC. 33 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 13

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,72	0,96	5,00	6,26	151,06	171,94
Flexeril [®]	1,02	0,68	4,00	5,75	140,96	162,93

Tabela AC.34 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 13

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	31,99	1607,39	0,07	10,61	0,02	30,66
Flexeril [®]	33,76	1786,08	0,09	7,98	0,02	33,97

VOLUNTÁRIO 14

Tabela AC.35 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 14

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,36	3,14	6,16	7,06	9,22	9,63	9,69	9,03	7,10	6,50	6,51	4,13	2,29	1,82	0,71	0,49	NQ
Flexeril [®]	NQ	1,16	8,33	10,10	7,92	9,91	8,42	6,63	7,23	6,23	5,27	4,73	2,53	1,82	1,22	0,63	0,31	NQ

NQ = não quantificável

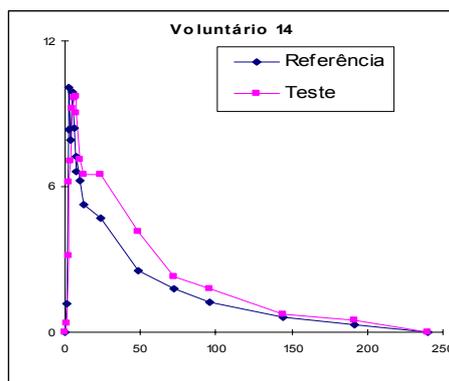


Figura AC.12 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 14

Tabela AC. 36 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 14

Produto	K_a	$t_{(1/2)\alpha}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,20	3,47	7,00	9,69	501,62	538,00
Flexeril [®]	1,08	0,64	3,00	10,10	383,39	405,70

Tabela AC.37 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 14

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	10,22	751,70	0,08	8,42	0,02	44,14
Flexeril [®]	13,56	961,48	0,08	8,74	0,02	44,14

VOLUNTÁRIO 15

Tabela AC.38 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 15

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,82	4,49	6,48	7,33	7,47	6,30	7,17	5,36	5,94	4,62	2,90	1,51	0,92	0,59	0,28	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,78	3,89	8,05	7,17	8,86	7,68	7,33	6,84	5,73	5,67	3,73	2,66	1,40	0,99	0,53	0,26	NQ

NQ = não quantificável

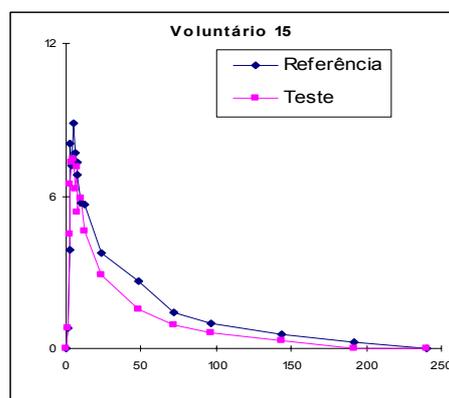


Figura AC.13 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 15

Tabela AC. 39 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 15

Produto	K_a	$t_{(1/2)\alpha}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,49	1,41	5,00	7,47	230,88	248,56
Flexeril [®]	0,55	1,26	5,00	8,86	337,09	355,52

Tabela AC.40 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 15

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	22,13	1374,37	0,05	12,86	0,02	36,28
Flexeril [®]	15,47	1105,03	0,06	12,40	0,02	43,86

VOLUNTÁRIO 16

Tabela AC.41 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 16

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,78	3,31	4,92	5,42	6,81	5,86	5,65	5,01	5,00	4,27	3,17	1,91	1,10	0,68	0,28	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,40	2,47	3,86	4,40	5,36	5,11	5,59	4,63	4,14	4,03	2,83	1,51	0,86	0,49	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

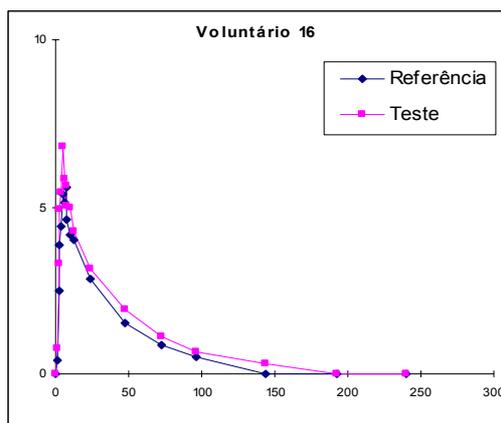


Figura AC.13 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 16

Tabela AC. 42 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 16

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,23	3,01	5,00	6,81	240,30	253,23
Flexeril [®]	0,25	2,77	7,00	5,59	184,32	204,84

Tabela AC.43 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 16

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	21,72	1005,53	0,04	17,50	0,02	32,08
Flexeril [®]	26,85	1132,91	0,03	20,26	0,02	28,40

VOLUNTÁRIO 17

Tabela AC.44 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 17

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																		
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h	
Miosan [®]	NQ	3,52	11,35	8,40	8,96	9,12	8,01	7,15	6,23	5,45	4,84	3,42	1,70	0,98	0,60	NQ	NQ	NQ	
Flexeril [®]	NQ	2,27	7,73	7,57	6,37	7,72	6,65	6,21	5,76	4,73	4,33	2,54	1,33	0,72	0,45	NC	NQ	NQ	

NQ = não quantificável

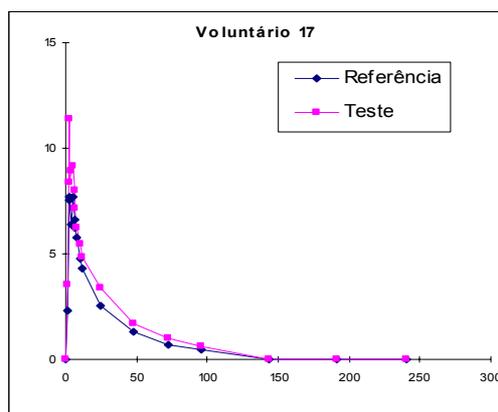


Figura AC.14 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 17

Tabela AC. 45 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 17

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	1,17	0,59	2,00	11,35	243,80	271,26
Flexeril [®]	0,13	5,33	2,00	7,73	193,18	212,92

Tabela AC.46 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 17

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	20,28	930,07	0,09	7,69	0,02	28,76
Flexeril [®]	25,83	1137,96	0,08	8,47	0,02	28,64

VOLUNTÁRIO 18

Tabela AC.47 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 18

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	2,44	6,16	8,08	7,54	7,30	7,38	6,35	5,60	5,15	4,05	3,57	1,63	0,93	0,53	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	1,87	7,97	10,00	7,60	7,22	6,14	6,01	5,00	4,62	3,86	2,37	1,07	0,59	0,33	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

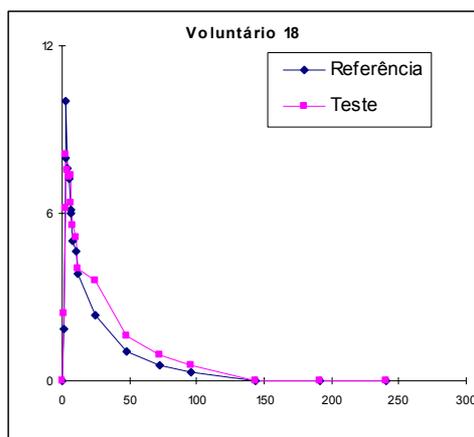


Figura AC.15 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 18

Tabela AC. 48 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 18

Produto	K_a	$t_{(1/2)\alpha}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,49	1,41	3,00	8,08	224,46	247,40
Flexeril [®]	0,84	0,83	3,00	10,00	177,04	190,64

Tabela AC.49 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 18

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	22,23	954,13	0,08	8,67	0,03	26,55
Flexeril [®]	28,85	1182,41	0,09	8,09	0,03	25,57

VOLUNTÁRIO 19

Tabela AC.50 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 19

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	3,37	4,56	10,02	7,73	7,85	6,64	5,85	6,33	5,07	4,52	2,03	1,06	0,47	0,28	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	1,38	6,59	5,17	6,26	6,90	7,74	7,10	6,81	6,06	4,55	2,60	1,08	0,48	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

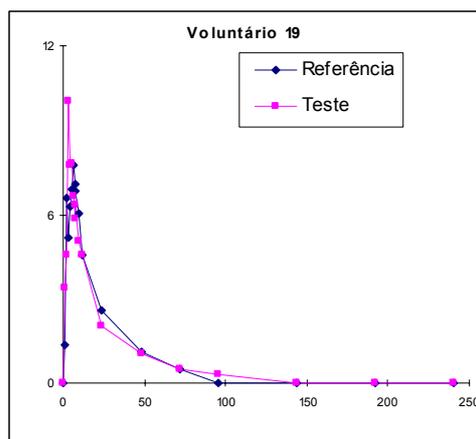


Figura AC.16 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 19

Tabela AC. 51 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 19

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,55	1,26	3,00	10,02	174,07	183,31
Flexeril [®]	0,13	5,33	6,00	7,74	173,62	187,13

Tabela AC.52 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 19

Produto	Cl	Vd	K_{β}	$t_{(1/2)\beta}$	K_{γ}	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	30,00	980,54	0,07	9,87	0,03	24,66
Flexeril [®]	29,39	832,61	0,09	7,91	0,04	19,63

VOLUNTÁRIO 20

Tabela AC.53 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 20

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																		
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h	
Miosan [®]	NQ	1,24	4,47	5,36	4,42	4,73	4,03	3,94	3,71	3,53	3,20	1,33	0,62	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	
Flexeril [®]	NQ	NQ	1,85	3,93	5,17	5,28	4,79	4,22	4,05	3,17	2,95	1,62	0,63	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	

NQ = não quantificável

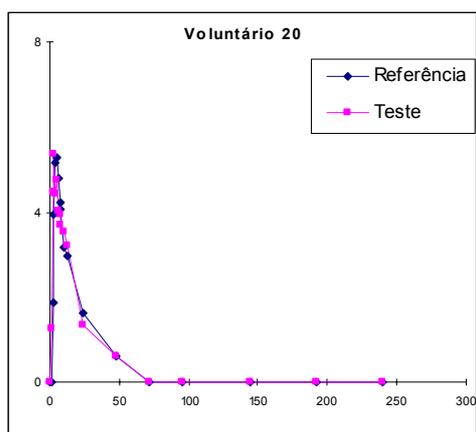


Figura AC.17 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 20

Tabela AC. 54 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 20

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,73	0,95	3,00	5,36	94,68	108,91
Flexeril [®]	0,51	1,36	5,00	5,28	95,04	109,83

Tabela AC.55 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 20

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	50,50	1158,22	0,04	15,43	0,03	21,72
Flexeril [®]	50,08	1178,31	0,08	8,37	0,04	17,54

VOLUNTÁRIO 21

Tabela AC.56 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 21

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	NQ	2,61	4,91	5,61	5,62	5,35	5,41	4,44	4,01	3,07	1,40	0,46	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,38	3,14	4,56	5,54	5,82	5,00	4,43	3,87	3,89	2,99	1,65	0,51	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

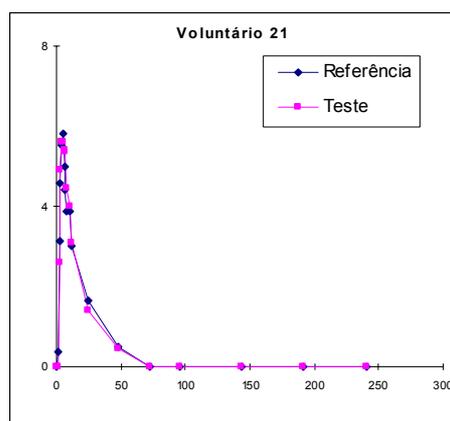


Figura AC.18 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 21

Tabela AC. 57 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 21

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,24	2,89	5,00	5,62	96,42	105,25
Flexeril [®]	0,21	3,30	5,00	5,82	99,20	109,65

Tabela AC.58 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 21

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	52,26	1006,86	0,08	8,61	0,05	13,35
Flexeril [®]	50,16	1023,70	0,06	11,23	0,05	14,14

VOLUNTÁRIO 22

Tabela AC.59 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 22

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	NQ	1,17	1,97	2,54	2,92	3,08	3,23	3,14	2,93	2,47	1,55	0,91	0,46	0,26	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	NQ	0,81	1,85	3,41	2,70	3,23	3,52	3,16	2,79	2,56	1,57	0,72	0,38	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

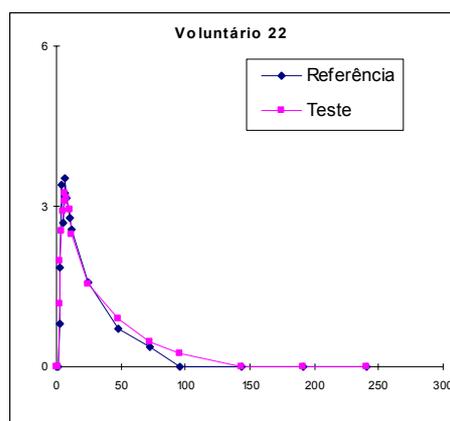


Figura AC.19 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 22

Tabela AC. 60 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 22

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,05	13,86	7,00	3,23	106,72	116,64
Flexeril [®]	0,13	5,33	7,00	3,52	93,82	106,62

Tabela AC.61 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 22

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	47,16	1799,83	0,06	11,55	0,03	27,28
Flexeril [®]	51,59	1742,74	0,05	13,15	0,03	23,41

VOLUNTÁRIO 24

Tabela AC.62 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 24

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,59	4,00	4,83	4,10	4,60	4,35	3,72	3,42	3,05	2,00	2,40	0,93	0,56	0,28	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,44	2,20	3,42	3,28	3,70	3,13	2,80	2,69	2,13	1,97	1,20	0,52	0,30	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

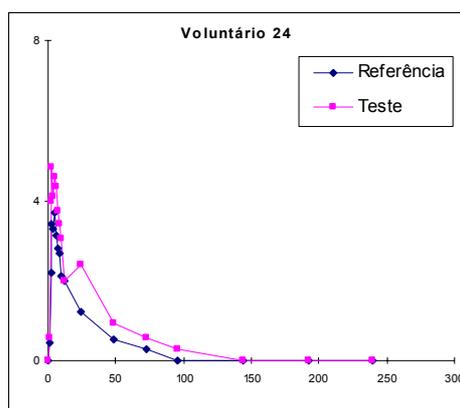


Figura AC.20 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 24

Tabela AC. 63 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 24

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	1,06	0,65	3,00	4,83	115,79	126,90
Flexeril [®]	1,02	0,68	5,00	3,70	78,93	89,57

Tabela AC.64 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 24

Produto	Cl	Vd	K_p	$t_{(1/2)\beta}$	K_r	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	43,34	1726,79	0,12	5,84	0,03	22,87
Flexeril [®]	61,40	2146,96	0,08	8,75	0,03	24,23

VOLUNTÁRIO 25

Tabela AC.65 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 25

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	0,81	2,50	3,66	3,90	3,89	3,99	3,48	2,95	2,64	1,89	1,39	0,56	0,27	NQ	NQ	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	1,71	5,82	7,16	7,75	7,36	7,49	5,62	4,98	4,27	3,57	2,97	1,25	0,55	NQ	NQ	NQ	NQ

NQ = não quantificável

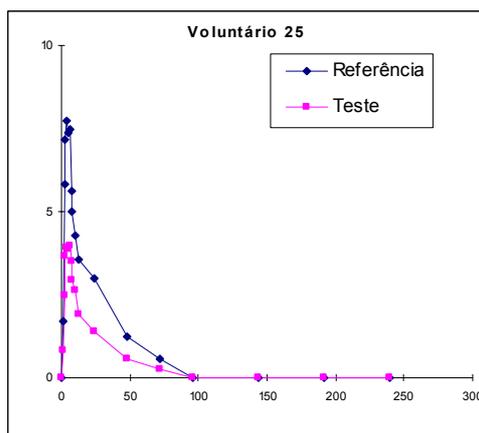


Figura AC.21 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 25

Tabela AC. 66 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 25

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,75	0,92	6,00	3,99	86,83	94,76
Flexeril [®]	0,72	0,96	4,00	7,75	174,10	189,78

Tabela AC.67 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 25

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	58,04	1702,01	0,11	6,06	0,03	20,32
Flexeril [®]	28,98	825,67	0,11	6,18	0,04	19,80

VOLUNTÁRIO 26

Tabela AC.67 Concentrações plasmáticas de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 26

Produto	Concentração Plasmática (ng/mL)																	
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	10h	12h	24h	48h	72h	96h	144h	192h	240h
Miosan [®]	NQ	1,16	5,18	8,20	9,71	10,89	9,79	8,26	7,56	6,30	5,44	3,80	2,42	1,58	1,02	0,48	NQ	NQ
Flexeril [®]	NQ	0,69	4,58	8,06	10,70	10,77	9,27	8,58	7,91	6,41	5,65	4,15	2,84	1,86	1,34	0,78	0,42	NQ

NQ = não quantificável

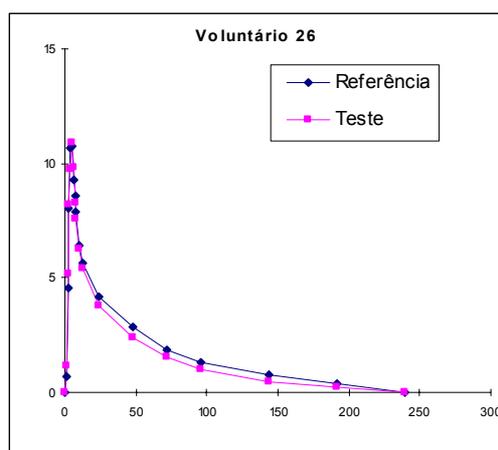


Figura AC.22 Curvas de decaimento plasmático após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 26

Tabela AC. 68 Parâmetros farmacocinéticos referentes à absorção de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 26

Produto	K_a	$t_{(1/2)a}$	t_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$
		(h)	(h)	(ng/mL)	(ngxh/mL)	(ngxh/mL)
Miosan [®]	0,98	0,71	5,00	10,89	345,20	362,02
Flexeril [®]	1,23	0,56	5,00	10,77	400,45	434,70

Tabela AC.69 Parâmetros farmacocinéticos referentes à eliminação de ciclobenzaprina após administração dos produtos teste (Miosan[®], lote 309024) e referência (Flexeril[®], lote 2092441A) ao voluntário 26

Produto	Cl	Vd	K_β	$t_{(1/2)\beta}$	K_γ	$t_{(1/2)\gamma}$
	(L/h)	(h)		(h)		(h)
Miosan [®]	15,19	1033,51	0,09	7,35	0,02	42,52
Flexeril [®]	12,65	1037,08	0,09	8,11	0,01	51,72

ANEXO D

CÓPIA DO LAUDO DE EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA

