



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**DETERMINAÇÃO DO ACETATO DE MEGESTROL EM PLASMA HUMANO  
POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA AO  
ESPECTRÔMETRO DE MASSA: APLICAÇÃO EM ESTUDO DE  
BIOEQUIVALÊNCIA**

**Ismael Leite Martins**

**Fortaleza**

**2004**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**DETERMINAÇÃO DO ACETATO DE MEGESTROL EM PLASMA HUMANO  
POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA AO  
ESPECTRÔMETRO DE MASSA: APLICAÇÃO EM ESTUDO DE  
BIOEQUIVALÊNCIA**

**ISMAEL LEITE MARTINS**

*Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.*

**Orientadora:** Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes

**FORTALEZA**

**2004**

M343d     Martins, Ismael Leite  
              Determinação do Acetato de Megestrol em Plasma Humano por Cromatografia  
              Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Espectrômetro de Massa : Aplicação em Estudo de  
              Bioequivalência / Ismael Leite Martins. - Fortaleza, 2004.  
              196 f. : il  
              Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes  
              Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Departamento  
              de Fisiologia e Farmacologia.

              1. Farmacocinética 2. Acetato de Megestrol 3. Betametasona 4. LC-MS-MS. I. Moraes,  
              Maria Elisabete Amaral de (Orient.). II. Título

CDD 615.7

**ISMAEL LEITE MARTINS**

**DETERMINAÇÃO DO ACETATO DE MEGESTROL EM PLASMA HUMANO  
POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA AO  
ESPECTRÔMETRO DE MASSA: APLICAÇÃO EM ESTUDO DE  
BIOEQUIVALÊNCIA**

Dissertação aprovada em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2004

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes (Orientadora)**

Universidade Federal do Ceará - UFC

---

**Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho**

Universidade Federal do Ceará - UFC

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Gisela Costa Camarão**

Universidade Federal do Ceará - UFC

## DEDICATÓRIA

---

*Dedico esta dissertação a todas as preciosidades  
que Deus me deu, meu pai, minha mãe,  
minha irmã, por todo amor e incentivo em  
todas as etapas importantes da minha vida.*

# **AGRADECIMENTOS**

---

A **Deus**, por estar sempre ao meu lado, dando-me forças para enfrentar todos os momentos dessa caminhada.

**Minha Família**, pelo carinho, apoio em cada situação difícil da minha vida, e pelo entusiasmo em cada conquista.

**Janaina Pinho Tavares**, minha namorada, que participou de momentos inesquecíveis desse trabalho me apoiando em tudo que fosse necessário.

**Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes**, minha orientadora, a qual apoiou-me na construção do saber científico, estimulando em mim a paixão pela Pesquisa Clínica, através de seus ensinamentos, bem como, oferecendo a oportunidade de realização de cursos em outros estados brasileiros. Também pude observar o afincamento, a dedicação e o respeito à pesquisa clínica, ao voluntário, o que a faz conquistar espaços ainda obscuros.

**Dr. Manoel Odorico de Moraes**, por colaborar sempre, seja com sua biblioteca, ou com seus ensinamentos enriquecedores, sempre dizendo que o futuro pertence àqueles que acreditam na beleza dos seus sonhos, contribuindo dessa forma para minha evolução diante da pesquisa científica.

**Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra**, por estar sempre disposto a nos ensinar a ciência com sua grande arte de professor e por ser um exemplo de ser humano.

**Dra. Gisela Costa Camarão**, por sempre mostrar disponível para atender meus pedidos de ajuda, colaborando com meu crescimento científico através do seu vasto conhecimento e de sua carinhosa presença na banca examinadora do exame de qualificação e na defesa de dissertação.

**Dr. José Pedrazzoli Jr.**, por ter me acolhido em seu laboratório na Unidade Integrada de Farmacologia e Gastroenterologia, Escola de Medicina da Universidade de São Francisco, Bragança Paulista-SP, com muito apreço.



**Professores do Curso de Pós-Graduação**, por terem transmitido com muita sapiência seus conhecimentos.

**Amigos da Unidade de Farmacologia Clínica**, meu agradecimento a todos vocês por terem colaborado na minha pesquisa científica, fazendo do trabalho diário um ambiente mais ameno e alegre.

**Colegas de Pós-Graduação**, por termos, juntos, vencido tantas disciplinas, apresentações de artigos e provas com um saldo maravilhoso, que é nossa amizade.

À **Malu, Maria Teresa, Fábria e Flávia**, da UNIFAC, pela colaboração e presteza bem como pelos momentos agradáveis que tivemos.

As secretárias do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, **Sílvia e Áurea**, que sempre estiveram dispostas a nos ajudar no que fosse preciso.

**Comitê de Ética em Pesquisa Clínica**, pelas críticas e sugestões, engrandecendo ainda mais o trabalho a ser desenvolvido e não permitindo abusos com seres humanos.

A todos os voluntários que participaram desse estudo.

**FUNCAP, CNPq e Instituto Claude Bernard**, por terem colaborado financeiramente durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

*“Não temos em nossas mãos a solução  
para todos os problemas do mundo;  
mas, diante dos problemas do mundo,  
temos nossas mãos.”*

**Ismael Leite Martins**

## **RESUMO**

---

## RESUMO

**Determinação do Acetato de Megestrol em Plasma Humano por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada ao Espectrômetro de Massa: Aplicação em Estudo de Bioequivalência.** Ismael Leite Martins. Orientadora: Maria Elisabete Amaral de Moraes. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2004.

Através da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massa no modo MS/MS, desenvolveu-se um método sensível e altamente seletivo para determinar os níveis de acetato de megestrol no plasma humano, usando a betametasona como padrão interno. O analito e o padrão interno foram extraídos das amostras do plasma através da solução de extração hexano-acetato de etila (1:1 v/v), e cromatografados em uma coluna C<sub>18</sub>. A fase móvel consistiu de acetonitrila-água (80:20 v/v), contendo 0,1% de ácido fórmico. A detecção foi realizada em um triplo-quadrupolo, através de um espectrômetro de massa no modo de monitoramento de reação múltipla via *electrospray*. O método tem um tempo de corrida de 3 minutos e limite de quantificação de 2 ng/mL. As curvas de calibração foram obtidas utilizando uma faixa de concentração de 2 a 150 ng/mL. As precisões intralote foram 3,16%, 4,65% e 2,68%, e a acurácia intralote foi de 6,77%, 6,23% e 5,73% para 6, 60 e 120 ng/mL, respectivamente. As precisões interlote foram 7,76%, 6,23% e 6,37%, e a acurácia interlote foi de 0,08%, 1,55% e 2,11% para as mesmas concentrações. Este método validado foi aplicado com sucesso para a determinação dos parâmetros farmacocinéticos dos comprimidos de acetato de megestrol administrados a 30 voluntários sadios.

**Palavras-chave:** Acetato de Megestrol – Betametasona – LC-MS-MS.

# **ABSTRACT**

---

## ABSTRACT

**Determination of Megestrol Acetate in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry: Application to a Bioequivalence Study.** Ismael Leite Martins. Advisor: Maria Elisabete Amaral de Moraes. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceara, 2004

A sensitive and highly selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) method was developed to determine megestrol acetate in human plasma using betamethazone as the internal standard. The analyte and internal standard were extracted from plasma samples by hexane/ethyl acetate (1:1 v/v), and chromatographed on a C<sub>18</sub> column. The mobile phase consisted of acetonitrila-water (80:20 v/v) including formic acid 0.1%. Detection was performed on a triple quadropole tandem mass spectrometer by multiple reaction mode via electrospray source. The method has a chromatographic run time of 3 min and a limit of quantification of 2 ng/mL. The linear calibration curves were obtained in the concentration range 2 – 150 ng/mL. The intra-batch precisions were 3.16%, 4.65%, and 2.68%; and the intra-batch accuracy was 6.77%, 6.23%, and 5.73% for 6, 60 and 120 ng/mL, respectively. The inter-batch precision was 7.76%, 6.23%, and 6.37% and the inter-batch accuracy was 0.08%, 1.55%, and 2.11% for the same concentrations. This validated method was successfully applied for the determination of pharmacokinetic profiles of megestrol acetate tablets administered to 30 healthy volunteers.

**Key words:** Megestrol Acetate – Betamethazone – LC-MS-MS.

## **LISTA DE FIGURAS**

---

<b>Figura 1.</b>	Fórmula estrutural do acetato de megestrol.	6
<b>Figura 2.</b>	Esquema de funcionamento do sistema de espectrometria de massa.	13
<b>Figura 3.</b>	Diagrama esquemático do processo de eletrospray. Um potencial elétrico aplicado entre a extremidade do spray e o orifício do espectrômetro em combinação com um fluxo criando um cone Taylor de gotas carregadas. A dessolvatação leva a carga do líquido para o analito, sendo, então, analisado no espectrômetro de massa (Direitos Autorais de PharmaGenomics, 2003).	16
<b>Figura 4.</b>	Esquema da origem iônica por eletrospray (Direitos Autorais de American Chemical Society 1985).	17
<b>Figura 5.</b>	Ilustração do filtro de massa quadruplo.	19
<b>Figura 6.</b>	Esquema demonstrativo da fragmentação de compostos utilizando espectrômetro de massa triplo-quadrupolo no modo monitoramento de reação múltipla (MRM).	20
<b>Figura 7.</b>	Análise da média dos índices de massa corporal pré e pós-estudo, em 29 voluntários sadios do sexo masculino.	53
<b>Figura 8.</b>	Análise hematológica das médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo, de 29 voluntários do sexo masculino, *p<0,05. Valores de referência: Hemoglobina = 13,5 a 18 g/dL (A) e Leucócitos = 3,6 a 10 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> (B).	56
<b>Figura 9.</b>	Análise da função renal das médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo, de 29 voluntários do sexo masculino, *p<0,05. Valores de referência: Creatinina = 0,7 a 1,3 mg/dL (A) e Ureia = 10 a 50 mg/dL (B).	57
<b>Figura 10.</b>	Linearidade da curva de calibração realizada com seis diferentes concentrações de acetato de megestrol (r = 0,998759).	59
<b>Figura 11.</b>	a) Plasma branco normal, lote 7997/3, b) Plasma branco normal, lote 42205/1, c) Plasma branco normal, lote 17679/5, d) Plasma branco normal, lote 42207/1, e) Plasma branco lipêmico, lote 32513/1, f) Plasma branco hemolisado, lote 34614/4.	60



- Figura 12.** Cromatograma MRM de plasma coletado três horas após a administração oral de uma dose de 160 mg de acetato de megestrol: (1) acetato de megestrol e (2) betametasona. 61
- Figura 13.** Espectro de massa do íon fragmento do acetato de megestrol (A) e betametasona (B). 62
- Figura 14.** Curva média da concentração plasmática (ng/mL) versus tempo (h) após a administração de duas formulações de 160 mg de acetato de megestrol em 28 voluntários saudáveis. 76

## **LISTA DE TABELA**

---

<b>Tabela 1:</b>	Material utilizado na etapa clínica dos testes de bioequivalência.	24
<b>Tabela 2:</b>	Equipamentos utilizados na etapa clínica dos testes de bioequivalência.	25
<b>Tabela 3:</b>	Definição das seqüências de tratamento.	25
<b>Tabela 4:</b>	Produtos estudados.	29
<b>Tabela 5:</b>	Descrição dos equipamentos e material.	35
<b>Tabela 6:</b>	Componentes do CLAE.	35
<b>Tabela 7:</b>	Padrões de referência.	35
<b>Tabela 8:</b>	Reagentes.	36
<b>Tabela 9:</b>	Preparo da Curva de Calibração para o Acetato de Megestrol.	38
<b>Tabela 10:</b>	Preparo dos controles de qualidade.	40
<b>Tabela 11:</b>	Padrões de Referência Certificados.	43
<b>Tabela 12:</b>	Amostras do fluido biológico (plasma).	43
<b>Tabela 13:</b>	Parâmetros farmacocinéticos.	49
<b>Tabela 14:</b>	Eventos adversos, intensidade, relacionamento com a medicação e ação adotada, relatados pelos trinta voluntários do sexo masculino.	55
<b>Tabela 15:</b>	Análise das funções hepática e metabólica da médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo, de 29 voluntários do sexo masculino.	56
<b>Tabela 16:</b>	Definição dos Controles de Qualidade (CQ).	63
<b>Tabela 17:</b>	Análise Intra-Lote dos Controles de Qualidade CQB, CQM e CQA.	64
<b>Tabela 18:</b>	Análise Intra-Lote dos Controles de Qualidade do Acetato de Megestrol em plasmas Lipêmico e Hemolisado.	65
<b>Tabela 19:</b>	Análise Inter-Lotes do Controle de Qualidade LQ.	66
<b>Tabela 20:</b>	Análise Inter-Lotes dos Controles de Qualidade CQB, CQM e CQA.	66
<b>Tabela 21:</b>	Análise da percentagem de recuperação do fármaco e do padrão interno.	67
<b>Tabela 22:</b>	Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido ao tempo e condições de análise dentro do auto-injetor.	69

<b>Tabela 23:</b>	Média e Desvios obtidos no estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido à análise no auto-injetor.	69
<b>Tabela 24:</b>	Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade baixo	70
<b>Tabela 25:</b>	Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade médio	71
<b>Tabela 26:</b>	Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade alto	71
<b>Tabela 27:</b>	Variação das médias dos controles de qualidade nos ciclos de congelamento e degelo em relação às médias das amostras recém-preparadas.	72
<b>Tabela 28:</b>	Estabilidade de longa duração para o Acetato de Megestrol no fluido biológico.	73
<b>Tabela 29:</b>	Estabilidade das amostras de plasma não processadas.	74
<b>Tabela 30:</b>	Estabilidade das soluções padrão para o Acetato de Megestrol e Betametasona.	75
<b>Tabela 31:</b>	ANOVA para $\ln(C_{\max})$ .	77
<b>Tabela 32:</b>	ANOVA para $\ln(\text{ASC}_{(0-144\text{h})})$ .	77
<b>Tabela 33:</b>	Média e IC (90%) dos parâmetros farmacocinéticos obtidos após a administração de 160 mg de Megestat <sup>®</sup> e Acetato de Megestrol.	79

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

---

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

%	porcentagem
±	mais ou menos
≤	menor ou igual
μg/mL	micrograma por mililitro
μL	microlitro
μL/min	microlitros por minuto
μL/mL	microlitros por mililitros
μm	micrômetro
>	maior
art.	artigo
cm	centímetro
eV	elétron volt
g	grama
g/dL	grama por decilitro
g/mol	grama/mol
h	hora
kDa	kilodalton
kg	kilograma
kg/m <sup>2</sup>	kilograma por metro quadrado
kV	kilovolt
l	litro
l/h	litro por hora
ln	logaritmo neperiano
m/z	massa/carga
mbar	milibar (unidade de pressão)
mg	miligrama
mg/dia	miligrama por mililitro
mg/dL	miligrama por decilitro
mg/Kg	miligrama por kilograma
mg/mL	miligrama por mililitro

mL	mililitro
mM	milimolar
mm	milímetro
mm <sup>3</sup>	milímetro cúbico
ng/mL	nanograma por mililitro
n°	número
rpm	rotações por minuto
U/L	unidade por litro
v	volt
v/v	volume por volume
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área Sob a Curva
<i>CAD</i>	<i>Collisionally Activated Dissociation</i>
<i>CID</i>	<i>Collision-Induced Dissociation</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
C <sub>max</sub>	Concentração Máxima
CNS-MS	Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
CQ	Controle de Qualidade
CQA	Controle de Qualidade Alto
CQB	Controle de Qualidade Baixo
CQM	Controle de Qualidade Médio
<i>CRF</i>	<i>Case Report Formulary</i>
CV	Coefficiente de Variação
DCB	Denominação Comum Brasileira
DP	Desvio padrão
ECG	Eletrocardiograma
EUA	Estados Unidos da América
<i>FDA</i>	<i>Food and Drug Administration</i>
<i>HPLC</i>	<i>High-Performance Liquid Chromatographic</i>
HUSF	Hospital Universitário São Francisco
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IES	Ionização por Eletrospray

IMC	Índice de Massa Corporal
K	Constante de eliminação
LQ	Limite de Quantificação
MRM	Monitoramento de reação múltipla
MS/MS	Triplo-quadrupolo
OMS	Organização Mundial de Saúde
SGOT	Glutamato-oxalacetato-transaminase
SGTP	Glutamato piruvato-transaminase
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
$t_{1/2}$	Meia-vida plasmática
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNIFAC	Unidade de Farmacologia Clínica
USP	United States Pharmacopeia
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
Vol.	Voluntário
WHO	<i>World Health Organization</i>



## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b>	iv
<b>AGRADECIMENTOS</b>	v
<b>EPIÍGRAFE</b>	viii
<b>RESUMO</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xiii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xvi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	xix
<b>SUMÁRIO</b>	xxiii
<b>INTRODUÇÃO</b>	1
<b>1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ENSAIOS CLÍNICOS</b>	2
<b>2. ACETATO DE MEGESTROL</b>	6
2.1. Farmacologia	6
2.2. Toxicologia	7
2.3. Farmacologia Clínica	7
2.4. Farmacocinética	8
2.5. Usos Terapêuticos	9
2.5.1. <i>Câncer de Mama</i>	9
2.5.2. <i>Câncer de Próstata</i>	10
2.5.3. <i>Câncer de Endométrio</i>	11
2.5.4. <i>Caquexia causada pelo Câncer</i>	11
2.6. Reações Adversas	11
2.6.1. <i>Efeitos Potencialmente Perigosos</i>	11
2.6.2. <i>Efeitos Adversos Severos ou Irreversíveis</i>	12
2.6.3. <i>Efeitos Adversos Sintomáticos</i>	12
<b>3. ESPECTROMETRIA DE MASSA</b>	13
<b>OBJETIVOS</b>	21
<b>OBJETIVO GERAL</b>	22
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	22

<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	23
<b>1. PROTOCOLO CLÍNICO</b>	24
1.1. Material e Equipamentos	24
1.2. Delineamento do Estudo	25
1.3. Seleção do Voluntário	26
1.3.1. Exames Laboratoriais	26
1.3.2. Critérios de Inclusão	26
1.3.3. Critérios de Exclusão	27
1.3.4. Critérios para Retirada do Estudo	28
1.4. Entrada do Voluntário no Estudo	28
1.4.1. Internamento	28
1.4.2. Restrições	28
1.4.3. Esquema Experimental	29
1.4.4. Coleta de Sangue	29
1.4.5. Efeitos Adversos	30
1.5. Comitê de Ética	31
1.6. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	31
1.7. Confidencialidade	32
1.8. Análise Estatística	33
<b>2. PROTOCOLO ANALÍTICO</b>	34
2.1. Princípios do Método	34
2.2. Segurança	34
2.3. Material	34
2.3.1. Equipamentos e Materiais	34
2.3.2. Padrões	35
2.3.3. Reagentes	36
2.3.4. Material Biológico	36
2.4. Preparo das Soluções	36
2.4.1. Soluções Padrão	36
2.4.2. Solução Padrão de Acetato de Megestrol	36
2.4.3. Solução Padrão de Betametasona	37
2.4.4. Soluções de trabalho	37
2.4.5. Fase Móvel usada no trabalho	37

2.5.	Preparo dos Padrões da Curva de Calibração e das Amostras	
	Controle de Qualidade	38
2.5.1.	<i>Preparo dos padrões da curva de calibração</i>	38
2.5.2.	<i>Preparo das amostras dos controles de qualidade</i>	39
2.6.	Preparo das Análises	40
2.6.1.	<i>Montagem da seqüência de determinações das amostras</i>	40
2.6.2.	<i>Extração das amostras</i>	41
2.6.3.	<i>Condições cromatográficas</i>	42
2.6.4.	<i>Condições de detecção no espectrômetro de massas no modo MS/MS</i>	42
2.7.	Validação do Método Bioanalítico	42
2.7.1.	<i>Validação Pré-estudo</i>	42
2.7.2.	<i>Especificidade</i>	43
2.7.3.	<i>Curva de calibração</i>	43
2.7.4.	<i>Determinação do limite de quantificação</i>	44
2.7.5.	<i>Linearidade</i>	44
2.7.6.	<i>Precisão e exatidão</i>	45
	2.7.6.1. <i>Validação intralotes</i>	45
	2.7.6.2. <i>Validação interlotes</i>	46
	2.7.6.3. <i>Recuperação</i>	46
2.8.	Estudo de Estabilidade do Fármaco no Fluido Biológico	46
2.8.1.	<i>Estabilidade de curta duração</i>	47
	2.8.1.1. <i>Estabilidade no tempo e condições de análise</i>	47
	2.8.1.2. <i>Estabilidade do fármaco em ciclos de congelamento e degelo</i>	47
2.8.2.	<i>Estabilidade de longa duração</i>	48
2.8.3.	<i>Estabilidade das amostras de plasma não processadas</i>	48
2.8.4.	<i>Estabilidade das soluções padrão</i>	48
2.9.	Determinação das Concentrações das Amostras	49
2.10.	Parâmetros Farmacocinéticos	49
2.11.	Análise Estatística	50
	2.11.1. <i>Material</i>	50
	2.11.2. <i>Métodos</i>	50

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	51
<b>1. ETAPA CLÍNICA</b>	52
<b>2. ETAPA ANALÍTICA</b>	58
<b>3. ETAPA FARMACOCINÉTICA</b>	76
<b>CONCLUSÃO</b>	82
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	84
<b>GLOSSÁRIO</b>	93
<b>ANEXOS</b>	101
ANEXO I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	102
ANEXO II – Formulário de Registro de Caso	111
ANEXO III – Tabela de Randomização das duas Formulações	139
ANEXO IV – Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa	141
ANEXO V – Gráficos das Curvas de Concentrações contra o Tempo e os Parâmetros Farmacocinéticos para cada Indivíduo	143

# INTRODUÇÃO

---

## 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ENSAIOS CLÍNICOS

A impropriedade e ineficiência da terapêutica e o desconhecimento da fisiopatologia das doenças levaram o escritor inglês Richard Gordon a afirmar que “a história da medicina foi, em grande parte, até os fins do século passado, a substituição da ignorância por mentiras” (GORDON, 1997). Somente depois que Claude Bernard (1813-1878), em sua obra *“Introduction à la Médecine Expérimentale”*, de 1865, formalizou os critérios científicos para reunir informações baseadas na experimentação, é que a medicina passou a ser considerada uma ciência (GUILLÉN *et al.*, 1987). Mesmo assim, a aplicação desses critérios à terapêutica vinha sendo, até recentemente, lenta e inconsistente. Embora os aspectos diagnósticos da medicina fossem abordados com sofisticação científica, o valor terapêutico dos medicamentos era determinado pela tradição de uso e o testemunho dos médicos. Em função disso, a avaliação da descoberta e do aperfeiçoamento de novos medicamentos teve como história um processo de risco e ineficiência (CHAST, 1995).

Os ensaios clínicos, seguindo princípios éticos e científicos de experimentação, são os responsáveis pelas bases da avaliação de eficácia e segurança de fármacos ou medicamentos. Os primeiros estudos de pesquisa clínica controlada foram iniciados por Harry Gold, em 1930, médico da Cornell University – EUA – seguida por Amberson, Mc Mahon e Pinner (1931), que introduziram os ensaios clínicos “simples cegos”, randomizados e controlados. Posteriormente Harry Gold (1950) passou a adotar os ensaios “duplos cegos”. Apesar disso, o termo Farmacologia Clínica, referindo-se à investigação de fármacos em seres humanos, somente foi introduzido nos meios científicos em 1952 (FACKLAND & FACKLAND, 1992).

As leis do FDA, que regulamentam a introdução de novos fármacos para uso terapêutico, tornaram-se mais rigorosas na década de 60, com o “Harry-Kefauver Amendment” (1962), após o desastre internacional da Talidomida, quando se passou, então, a exigir a utilização formal das técnicas dos ensaios clínicos duplos-cegos, randomizados e controlados, como forma de comprovar não só a segurança, mas, também, a eficácia dos fármacos candidatos à comercialização (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 1995).

A utilização dos ensaios clínicos foi a resultante lógica das necessidades médicas de cobertura de hiatos terapêuticos, em permeio com os imperativos econômicos do crescimento industrial e com o crescente rigor das repartições governamentais de vigilância sanitária. Além de ser técnica de conhecimento obrigatório para os especialistas da área, figura-se como indispensável componente da cultura médica atual, especialmente no que concerne à crítica aos trabalhos terapêuticos que perfazem cerca de 20 a 30% das publicações médicas (ROCHON *et al.*, 1998).

No Brasil, as pesquisas fármaco-clínicas foram iniciadas com psicotrópicos, na década de 80, pelo professor Elisaldo Carlini, no Departamento de Psicobiologia da Escola Paulista de Medicina, atual Universidade Federal Paulista. Entretanto, somente com os estudos de biodisponibilidade, bioequivalência e interações medicamentosas realizados pelos professores Dr. Gilberto de Nucci (Universidade de São Paulo), Dra. Maria Elisabete Amaral Moraes, Dr. Manoel Odorico de Moraes e Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra (Universidade Federal do Ceará), no início da década de noventa, é que a pesquisa com medicamentos no nosso país começou a ser amplamente divulgada no meio científico nacional e internacional (MORAES & MORAES, 2000).

De acordo com o *Food and Drug Administration* (FDA), produtos farmacêuticos são considerados equivalentes terapêuticos somente se eles são equivalentes farmacêuticos e se deles pode-se esperar obter o mesmo efeito clínico e perfil de segurança quando administrado para pacientes sob condições específicas.

Os estudos de bioequivalência podem ser estudos abertos e cruzados ou em algumas situações especiais, em paralelo. Durante a realização do estudo, os voluntários tomam as formulações teste e referência aleatoriamente em dois períodos distintos, utilizando-se geralmente uma população pequena de voluntários adultos e saudáveis, composta de 24 a 36 voluntários (BENETT, 1999).

A utilização de voluntários saudáveis é baseada no fato de que diversas patologias podem alterar a biodisponibilidade dos fármacos e podem fornecer dados

errôneos de suas biodisponibilidades. Para evitar essas variáveis os voluntários são submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais, a fim de confirmar o seu estado de higidez.

Doses únicas dos medicamentos teste e referência são administradas em períodos diferentes, havendo entre eles, um intervalo adequado para garantir que não haja efeitos residuais, que influenciaria artificialmente os resultados (HOWARD *et al.*, 2000). As amostras sanguíneas são coletadas para posterior quantificação, antes e após a administração de cada formulação, e em intervalos pré-estabelecidos para obtenção dos perfis farmacocinéticos necessários para se determinar a bioequivalência.

Medidas da área sob a curva de concentração plasmática (ASC) *versus* tempo e o pico de concentração plasmática ( $C_{max}$ ) são avaliados empregando-se procedimentos estatísticos (BENNETT, 1999). O método mais comumente empregado é o método trapezoidal. Essa curva pode ser descrita por uma série de trapézios que são determinados a cada ponto concentração *versus* tempo. A área representada pelos trapézios se aproxima da área sob a curva quanto maior o número de pontos coletados, quanto maior o número de pontos maior vai ser esta aproximação. A área do trapézio é igual à metade do produto da soma das alturas *versus* a largura.  $ASC = \frac{1}{2} (C_1 + C_2) (T_2 - T_1)$  (GIBALDI, 1999).

O órgão responsável pelos medicamentos genéricos no Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, determina que o cronograma de coletas das amostras sanguíneas deverá contemplar tempo igual ou superior a 3 a 5 vezes meias-vidas de eliminação do fármaco ou metabólito ativo (BRASIL, 2003b).

A bioequivalência de duas formulações é fornecida através da comparação das biodisponibilidades dos medicamentos teste e referência. Um medicamento é considerado bioequivalente quando as taxas e a extensão da absorção verificada através dos valores de  $C_{max}$  e da área sob a curva de concentração *versus* tempo devem-se encontrar dentro de um intervalo de 80 a 125% considerando um intervalo de confiança de 90% proposto pelo FDA e ANVISA (Brasil, 2003b).

As regulamentações do FDA estabelecem que duas formulações que apresentam taxa e extensão de absorção variando entre -20% a +25% são geralmente considerados



bioequivalentes. O uso do intervalo de -20% a +25% é baseado numa decisão médica que, para a maioria dos medicamentos, essa diferença na concentração do ingrediente ativo no sangue não será clinicamente significativa (FDA, 1997).

Todos voluntários selecionados para participar dos estudos de bioequivalência devem ser orientados sobre o protocolo, seus riscos e benefícios e assinam um termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando formalmente a sua participação no estudo, antes do seu início.

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento devem ser submetidos a um Comitê de Ética em Pesquisa. Assim como outros estudos clínicos, os estudos de bioequivalência deverão ser conduzidos de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), África do Sul (1996) e Edimburgo (2000) e a Resolução 196/96 e 251/97 do CNS-MS.

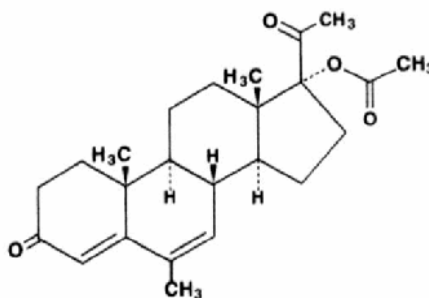
O primeiro teste de bioequivalência realizado no Brasil foi em 1989. Até então, esse tipo de estudo era desconhecido no país. Sabia-se apenas da experiência internacional, enquanto o Brasil era palco para o mercado de centenas de medicamentos similares e com Denominação Comum Brasileira (DCB), cópias supostamente fiéis aos originais que os inspiravam, porém sem a devida comprovação de qualidade, eficácia e segurança (LEITÃO, 2001).

Após 15 anos dos primeiros estudos de bioequivalência, pode-se observar um grande avanço nessa área, uma vez que se trabalhava com estrutura precária e com enorme ceticismo da comunidade científica. Atualmente o Brasil conta com tecnologia de ponta, estrutura física adequada e corpo científico qualificado, o que contribui para a credibilidade que agora faz jus a esta nova área de pesquisa, a Farmacologia Clínica.

## 2. ACETATO DE MEGESTROL

O acetato de megestrol ( $C_{24}H_{32}O_4$ ) é um derivado sintético da progesterona e seu uso no tratamento do câncer de mama avançado é bem estabelecido. Também tem papel na terapia de certos tumores hormônio-dependente (DOLLERY, 1999).

É designado quimicamente como 17-hidroxi-6-metilpregna-4, 6-diene-3, 20-dione acetato, um composto branco cristalino obtido por síntese química, cujo peso molecular é de 384,5 g/mol (Figura 1). Possui solubilidade em água menor que no álcool, sendo de aproximadamente 1:10000 e 1:60 respectivamente, com coeficiente de partição octanol/água elevado (DOLLERY, 1999).



**Figura 1. Fórmula estrutural do acetato de megestrol.**

### 2.1. FARMACOLOGIA

Existem dois grupos principais de progestágenos: a progesterona e seus análogos, e certos análogos da testosterona. O acetato de megestrol é um progestágeno sintético que modifica alguns dos efeitos do estrógeno quando age sob o tecido sensibilizado pelo estrógeno. As propriedades farmacológicas do acetato de megestrol são similares a progesterona natural.

A maturação estrógeno-induzida do epitélio vaginal é modificada pelo acetato de megestrol para um estado mais semelhante à situação esperada durante a gravidez. Os ácinos na glândula mamária proliferam sob a influência do estrógeno e dos progestágenos. O acetato de megestrol possui uma atividade anti-estrogênica significativa, mas não apresenta efeito androgênico. Tem alguns efeitos antigonadotrópico e também pouca atividade glicocorticóide e mineralcorticóide (DOLLERY, 1999).

O efeito da administração crônica de acetato de megestrol no crescimento de tumor pituitário estrógeno-induzido tem sido bem estudado em ratos. Esse tumor secreta prolactina e adrenocorticotrofina (LAMBERTS *et al.*, 1981). No modelo usado, o acetato de megestrol tem alguns efeitos supressivos em crescimento tumoral no fim do período de tratamento. O acetato de megestrol provavelmente age ligando-se ao receptor de progesterona.

## **2.2. TOXICOLOGIA**

Estudos de toxicidade animal com o acetato de megestrol têm mostrado hiperplasia endometrial e depressão da adrenal, timo, útero e ovários nos testes em ratos após administração por longo tempo. O uso prolongado de acetato de megestrol, em cadelas, resultou num aumento da incidência de tumores de mama benignos e malignos (WEIKEL *et al.*, 1977). No entanto, estudos comparativos entre ratos e macacos não demonstraram este aumento na incidência dos tumores acima descritos.

Em pacientes com avançado câncer de próstata “hormônio-resistente”, o risco de progressão rápida da doença deve ser lembrado quando progestágenos são administradas como um tratamento paliativo para caquexia do câncer (TASSINARI *et al.*, 2003).

## **2.3. FARMACOLOGIA CLÍNICA**

O acetato de megestrol, que apresenta um consagrado efeito progestogênico em humanos, é inicialmente usado como tratamento hormonal de alguns tumores, tais como câncer avançado de mama, do endométrio e de próstata (ERLICHMAN *et al.*, 2001). Na dose usada para a atividade progestogênica, muitos pacientes apresentaram ganho de peso. Muitos autores têm hipotetizado um envolvimento de várias citocinas (fator de necrose tumoral-alfa, interleucina-1, interleucina-6 e interferon-gama) na patogênese da anorexia-caquexia do câncer e sugeriram que altas doses de progesterona podem levar a uma diminuição da cascata de citocinas, e representar um importante papel na minimização da síndrome anorexia-caquexia (NELSON, 2000; DAVIS *et al.*, 2000; MANTOVANI *et al.*,

1998; GAGNON *et al.*, 1998; MALTONI *et al.*, 2001). Existem raramente efeitos farmacológicos clínicos sistêmicos, sendo estes referentes a aumento na pressão arterial.

#### 2.4. FARMACOCINÉTICA

O acetato de megestrol é completamente absorvido por via oral nas doses de 20, 40, 80 e 200mg. Grandes diferenças intra e interindividuais na absorção e no metabolismo do acetato de megestrol foram registradas (DIKKESCHEI *et al.*, 1990). Existem alguns métodos usados para estimar os níveis plasmáticos de acetato de megestrol, incluindo o radioimunoensaio (ALEXIEVA-FIGUSCH *et al.*, 1984) e a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, até então, considerada a técnica de escolha (BJÖRKHEM *et al.*, 1976).

Os níveis plasmáticos de acetato de megestrol podem sofrer variação de acordo com a escolha do método analítico utilizado. Variações também podem ocorrer devido a fatores que alterem a biodisponibilidade do fármaco, como inativação intestinal e hepática do fármaco, que podem ser afetadas por fatores como motilidade intestinal, bactérias intestinais, administração de antibióticos, peso corpóreo, dieta e função hepática. Três maiores metabólitos foram identificados como glicuronídeo conjugado em urina:  $17\alpha$ -acetoxi-2- $\alpha$ -hidroxi-6-metilpregna-4,6-dien-3,20-diona;  $17\alpha$ -acetoxi-2- $\alpha$ -hidroxi-6-hidrometilpregna-4,6-dien-3,20-diona;  $17\alpha$ -acetoxi-2- $\alpha$ -hidroxi-6-hidroximetilpregna-4,6-dien-3,20-diona. A maior parte da dose administrada, cerca de 57- 78%, é excretada na urina na forma de metabólitos. Não se tem relato da existência do acetato de megestrol inalterado na urina. Cerca de 30% da dose é excretada nas fezes (DOLLERY, 1999).

A dose única diária de 160 mg produz níveis plasmáticos similares aos encontrados após a administração das quatro doses de 40 mg. O pico de concentração plasmática foi obtido cerca de 3 horas após a administração de uma dose única. A curva de concentração plasmática parece ser bifásica, com meia-vida plasmática variando entre 15 a 20h. O acetato de megestrol atravessa a barreira placentária e é eliminado pelo leite materno (DOLLERY, 1999).

Não há clara evidência de qualquer relação entre a concentração plasmática de acetato de megestrol e seu efeito contra o câncer (ADLERCREUTZ *et al.*, 1983).

## **2.5. USOS TERAPÊUTICOS**

### ***2.5.1. Câncer de Mama***

O mecanismo pelo qual o acetato de megestrol age no câncer de mama ainda não está totalmente estabelecido. Como todos os tratamentos hormonais, ele é mais efetivo nos tumores que contêm receptores para estrógeno onde promove uma supressão do crescimento celular ou um aumento na taxa de apoptose por diminuição de receptores. Separando-se pacientes em dois grupos, sendo um receptor de estrógeno positivo e o outro negativo, observou-se que mais de 50% dos casos de receptor de estrógeno positivo apresentaram remissão durante tratamento com acetato de megestrol (BRITISH BREAST GROUP, 1980; TEULINGS *et al.*, 1980; BENRAAD *et al.*, 1980; ALEXIEVA-FIGUSCH *et al.*, 1981). A aparente contradição no sucesso do tratamento com altas doses de dietilbistrol no tratamento do câncer de mama pós-menopausa pode ser explicada por uma diminuição semelhante induzida por altas doses e exposição contínua prolongada.

Desde as primeiras publicações de remissão do câncer de mama através da terapia com progesterona no começo de 1950 (GORDON *et al.*, 1952), doses convencionais eram usadas com sucesso moderado (STOLL, 1976; MUGGIA *et al.*, 1968), levando a uma diminuição do interesse nessa terapia. Tornou-se mais efetiva quando altas doses foram aplicadas (MATTSON, 1978; PANUTTI *et al.*, 1978).

O acetato de megestrol é usado como terapia de segunda linha, quando outras terapias endócrinas falharam. Uma taxa de 64% de resposta foi obtida num estudo com 48 pacientes, com uma duração média de resposta de 7 meses (ROSS *et al.*, 1982). Entretanto, quando o acetato de megestrol tem sido usado como tratamento de primeira linha se obtêm uma taxa de resposta de 24 a 60% (ANSFIELD *et al.*, 1974; GREGORY *et al.*, 1985; BONOMI *et al.*, 1985; MORGAN, 1985). A duração média da resposta nestes casos foi superior a um ano.

### 2.5.2. Câncer de Próstata

Em 1941, Huggins e Hodges mostraram primeiro a notável regressão que pode ser obtida ou com castração ou terapia estrogênica, através da redução da circulação de testosterona plasmática (HUGGINS *et al.*, 1941). Entretanto, esses tratamentos são associados com angústia e graves efeitos colaterais. Métodos alternativos surgiram ao longo dos anos e, em particular, progestágenos tem mostrado ser potente no bloqueio androgênico (GELLER *et al.*, 1967). Tem sido postulado que o efeito antiandrogênico é mediado pela glândula pituitária ou por ação direta nas células intersticiais da próstata (MALTRY, 1970).

O acetato de megestrol, na dose de 160 mg/dia (JOHNSON *et al.*, 1975), tem demonstrado um efeito significativo com bloqueador androgênico.

Estudos clínicos subsequentes têm confirmado o efeito benéfico do acetato de megestrol (MALTRY, 1970; GELLER *et al.*, 1978; BONOMI *et al.*, 1985). A taxa de resposta relatada varia consideravelmente de acordo com as circunstâncias. Os melhores resultados foram relatados quando o acetato de megestrol foi usado como terapia de primeira linha. A duração média da resposta foi de aproximadamente um ano. Durante o período de resposta observou-se uma regressão da doença e redução da fosfatase ácida prostática.

Protocolos para tratamento hormonal de câncer avançado de próstata têm mudado recentemente e novos dados estão emergindo sobre a manipulação hormonal do câncer de próstata hormônio-resistente (GOKTAS *et al.*, 1999; SMALL *et al.*, 1997; DAWSON, 1998; JENSTER, 1999; BRUCHOVSKY *et al.*, 1990; DALIANI *et al.*, 1999; TAPLIN *et al.*, 1995). Mudanças funcionais nos receptores androgênicos têm sido hipotetizadas e antiandrógenos podem talvez agir na mutação desses receptores, representando um papel na promoção do crescimento tumoral e progressão da doença sob o bloqueio androgênico total (JENSTER, 1999; BRUCHOVSKY *et al.*, 1990; DALIANI *et al.*, 1999; TAPLIN *et al.*, 1995).

Acetato de megestrol agora tem um lugar bem estabelecido no tratamento de câncer avançado de próstata, embora ainda não exista um consenso claro de escolha para o modelo de terapia (CRAWFORD, 1994).

### ***2.5.3. Câncer de Endométrio***

Progesterona apresenta um efeito direto sobre o endométrio, sendo considerado o tratamento de primeira escolha nos pacientes com carcinoma endometrial avançado ou recorrente. Tem-se demonstrado sucesso no controle da doença por períodos variáveis em 15 a 30% dos pacientes. O acetato de megestrol tem apresentado resposta em 39% dos casos (WAIT, 1973) e aumentou a sobrevida média de 12 para 30 meses (WENTZ, 1985).

A dose recomendada para o tratamento do câncer avançado de endométrio é de 80 mg, quatro vezes ao dia. A dose total diária de 320mg pode ser usada com sucesso terapêutico com mínimos efeitos colaterais.

### ***2.5.4. Caquexia causada pelo Câncer***

Um curto período de uso de acetato de megestrol resultou em significativo ganho de peso e melhorou a função pulmonar de pacientes com fibrose cística (EUBANKS *et al.*, 2002). A caquexia é um sério problema que ocorre com o desenvolvimento do câncer. O tratamento com o acetato de megestrol é eficaz e seguro, tendo obtido bons resultados no combate a este evento, já que promove aumento do apetite e ganho de peso em pacientes com síndrome da anorexia-caquexia ou SIDA (LÓPEZ *et al.*, 2004).

## **2.6. REAÇÕES ADVERSAS**

### ***2.6.1. Efeitos Potencialmente Perigosos***

O acetato de megestrol pode induzir uma predisposição ao tromboembolismo, mas não há relatos de caso confirmado.

### ***2.6.2. Efeitos Adversos Severos ou Irreversíveis***

Raramente pode ocorrer trombose venosa, embolia pulmonar, insuficiência cardíaca e hipertensão. Tendo em vista a população de pacientes que fazem uso do fármaco, é difícil afirmar se estes são efeitos realmente da medicação.

Durante a terapia prolongada com acetato de megestrol, pode-se desenvolver a síndrome de Cushing (STEER, 1995). Pode ocorrer também supressão da adrenal e insuficiência adrenal aguda após a descontinuação da terapia (LEINUNG *et al.*, 1995).

Foi relatada catarata subcapsular em pacientes que receberam acetato de megestrol, mas a relação causa e efeito não foi provada (ARONSON *et al.*, 1993).

### ***2.6.3. Efeitos Adversos Sintomáticos***

O efeito sintomático do acetato de megestrol mais constante é o ganho de peso, associado ou não com retenção de líquidos, mas sempre com aumento de apetite. Outros efeitos sintomáticos são náusea, vômito, edema e secura vaginal, face de Cushing, hiperglicemia e alopecia. A urticária tem sido relatada em alguns casos após o uso prolongado.



### 3. ESPECTROMETRIA DE MASSA

A espectrometria de massa é uma técnica analítica poderosa usada para identificar compostos desconhecidos, quantificar materiais conhecidos e elucidar as propriedades químicas e estruturais das moléculas. A detecção de compostos pode ser conseguida para quantidades tão pequenas como  $10^{-15}$  g para um composto de massa de 1000 dalton. Isto significa que os compostos podem ser identificados em concentrações muito baixas (da ordem de  $10^{-12}$ ) em misturas quimicamente complexas. A espectrometria de massa fornece informação tanto para químicos, quanto para físicos, engenheiros, bioquímicos e biólogos, entre outros profissionais.

Os princípios científicos em que a técnica se baseia são simples. A essência da técnica envolve a geração de íons que são depois detectados. A sofisticação surge nos métodos que são usados para a geração desses mesmos íons e no modo de analisá-los (Figura 2).

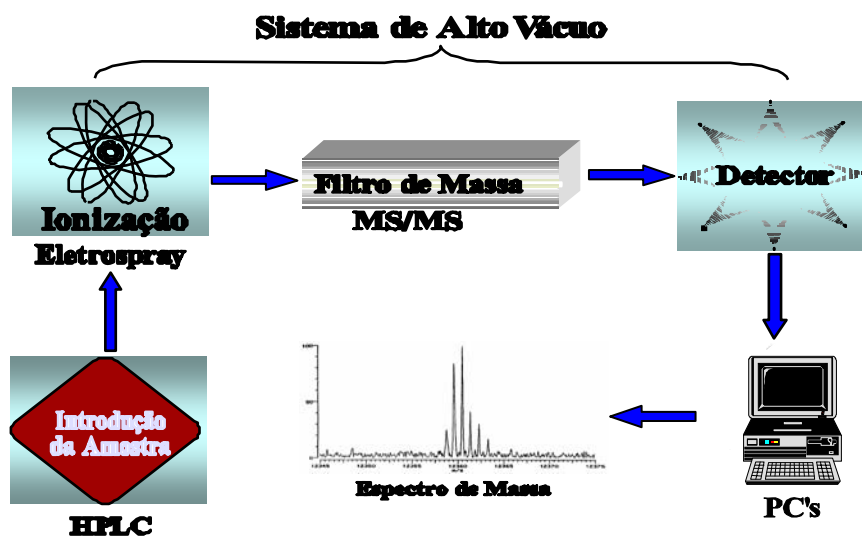


Figura 2. Esquema de funcionamento do sistema de espectrometria de massa.

Uma das técnicas de ionização, em maior expansão, é por *eletrospray* que passou por duas fases distintas de investigação e desenvolvimento. A primeira ocorreu antes de 1970 e centrou-se mais nos aspectos fundamentais do processo de produção de carga, como torná-lo viável, cabendo, aqui, salientar o trabalho realizado por Dole e colaboradores (1968). A segunda fase deu-se a partir de 1970 com destaque para o trabalho desenvolvido

em 1984 por Yamashita e Fenn, considerado pioneiro da espectrometria de massa de ionização por *eletrospray* (IES). A partir deste trabalho, a técnica sofreu um aperfeiçoamento notório com o desenvolvimento e construção de fontes iônicas comercializáveis baseadas no princípio de carregar gotas eletricamente.

Há, essencialmente, três características que a diferenciam das outras técnicas de ionização. A primeira delas é a capacidade para produzir íons multiplamente carregados, com número de cargas elevado, reduzindo, assim a razão  $m/z$ , de tal modo que seja possível analisar compostos de elevada massa molecular até centenas de kDa, em praticamente todo o tipo de analisadores. Uma segunda característica é que as amostras a serem analisadas devem ser introduzidas em solução, tornando possível o acoplamento com muitas técnicas de separação. Por último e não menos importante, há o fato de ser o *eletrospray* uma técnica de ionização suave, permitindo que as interações não covalentes entre moléculas que existem em solução sejam preservadas na fase gasosa.

O desenvolvimento da espectrometria de massa de IES permitiu, assim, novas possibilidades para análise de compostos de elevada massa molecular de todos os tipos, incluindo proteínas, nucleotídeos e polímeros sintéticos, sendo por isso uma técnica muito usada em diversas áreas de pesquisa.

Comparável ao excitante desenvolvimento da ressonância magnética nuclear durante as últimas três décadas, a espectrometria de massa entrou em uma fase de crescimento acelerado nos anos oitenta, começando com a introdução de métodos de ionização. É incrível a velocidade com a qual a espectrometria de massa tem se expandido dentro de áreas de pesquisa, nas quais, tradicionalmente, era limitado o seu uso (SIUZDAK, 2004).

No começo da década de 40, Lawrence desenvolveu uma separação baseada em espectrometria de massa para melhorar a radioatividade do urânio  $^{235}\text{U}$  da distribuição isotópica normal (SMITH *et al.*, 1947; YERGEY & YERGEY, 1997). Como parte do projeto Manhattan, Lawrence aplicou esse método para purificação do  $^{235}\text{U}$  radioativo, o qual foi então usado para construir a primeira bomba nuclear. Desde então, estes experimentos iniciais destinados à geração e separação de isótopos de urânio estão bem estabelecidos. Até

agora, a separação de compostos baseados na massa é, certamente, uma idéia intrigante da qual não se perde o interesse (SIUZDAK *et al.*, 1999).

A ciência da espectrometria de massa sofreu dramáticas mudanças na década passada e a expansão da sua utilidade tem aumentado, como na extensão da massa e sensibilidade da instrumentação. Mais especificamente, a espectrometria de massa de eletrospray (FENN *et al.*, 1990) tem sido aplicada em diversas áreas, além da rotina da determinação molecular, especialmente na química e bioquímica (SIUZDAK, 1996).

A produção de íons em *eletrospray* requer essencialmente dois passos: dispersão de gotas altamente carregadas quase à pressão atmosférica, seguida de evaporação da gota em condições que a permitam.

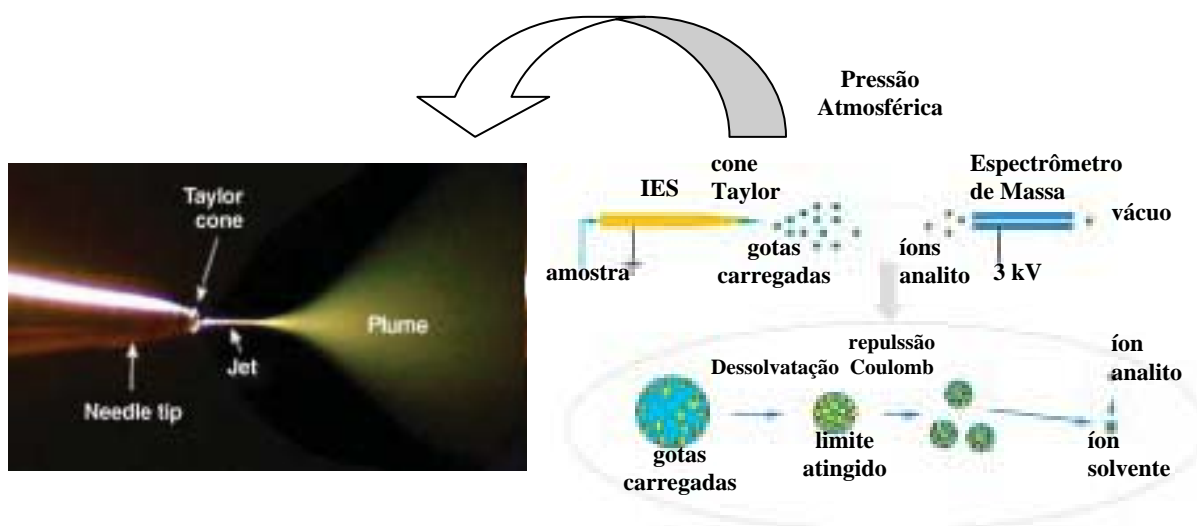
As soluções são primeiramente pulverizadas eletrostaticamente com formação de gotas pequenas e altamente carregadas. A nebulização da solução é, em alguns casos, facilitada pela ajuda de um gás nebulizador. Posteriormente, as moléculas de analito devem de alguma forma ser separadas do solvente na forma de íons. Este passo de formação de íons, como em muitas das técnicas de ionização consideradas suaves, é provavelmente o menos compreendido no processo global do *eletrospray*. Alguns mecanismos têm sido propostos para a desadsorção de íons a partir de gotas carregadas, sendo que o modelo de resíduo de carga de Dole (1968), aplicado a macromoléculas, foi, talvez, o primeiro a servir de base para a atual técnica de *eletrospray*. Nesse modelo é considerado que, à medida que o solvente se evapora, a densidade de carga à superfície aumentará até que as forças repulsivas de Coulomb, entre as cargas superficiais, excederão a tensão superficial levando à divisão da gota inicial. Se esse processo de divisão continuar e se a solução original for suficientemente diluída, será alcançado um estado no qual cada gota conterá uma única molécula que reterá parte da carga inicial, ou seja, formar-se-ão macro íons.

Um outro mecanismo, para a geração de íons pequenos, o da evaporação iônica, foi proposto por Iribarne e Thomson (1976) que sugeriram que a evaporação do solvente conduz a uma instabilidade das gotas com razões elevadas de densidade de carga superficial/raio da gota. A energia eletrostática associada com a gota carregada torna-se, então, suficientemente grande para desadsorver íons do analito para a fase gasosa.

Este mecanismo foi aplicado a macromoléculas por Fenn (1988), o qual propôs que, uma parte da molécula carregada podia penetrar a superfície da gota, devido a movimento Browniano. A existência de repulsão coulombiana, entre esta parte da molécula e a superfície da gota, puxará a molécula para fora da gota.

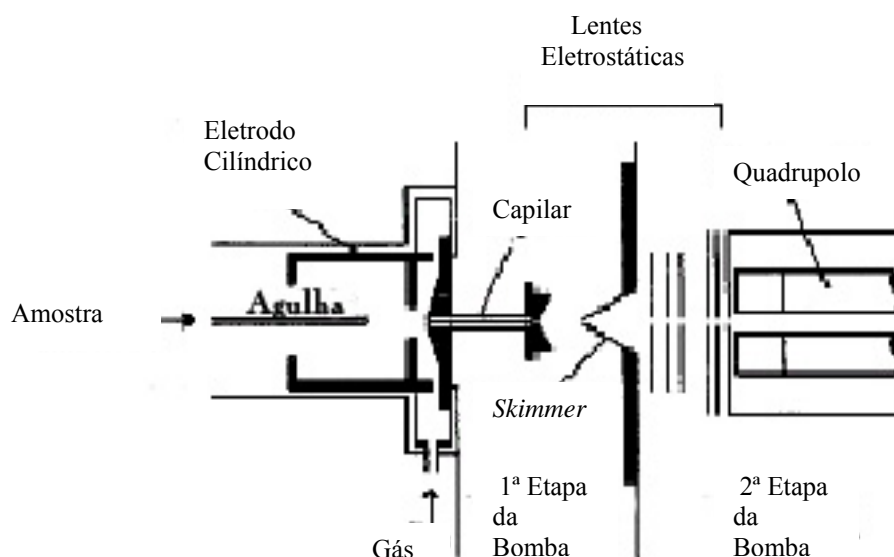
As fontes iônicas dos espectrômetros de massa estão, em geral, situadas numa região de alto vácuo. A fonte de IES encontra-se à pressão atmosférica e a evaporação do solvente é muitas vezes completada por intermédio de um fluxo contra corrente de um gás, em geral, argônio. Os íons gerados são, depois, transferidos desta zona de alta pressão para a zona de alto vácuo do analisador de massa.

Muitos são os sistemas de *electrospray* que têm sido construídos (COLE, 1997; NIESSEN, 1999), diferindo, entre si, em alguns dos componentes. Porém, na sua essência, são constituídos por um sistema de introdução de amostra, região da fonte onde os íons são gerados, um orifício para amostragem de íons e um sistema de transferência iônica, onde os íons são transportados para o analisador de massa (Figura 3).



**Figura 3. Diagrama esquemático do processo de *electrospray*. Um potencial elétrico aplicado entre a extremidade do *spray* e o orifício do espectrômetro em combinação com um fluxo criando um cone Taylor de gotas carregadas. A dessolvatação leva a carga do líquido para o analito, sendo, então, analisado no espectrômetro de massa (Direitos Autorais de PharmaGenomics, 2003).**

Em primeiro lugar, temos um capilar de aço inoxidável, mantido a um potencial relativamente elevado em relação a um contra-eletródo, onde o analito em solução é introduzido e pulverizado na sua extremidade, sendo que o sinal do potencial aplicado determina a polaridade das gotas e dos íons formados. A pressão entre o capilar e o contra-eletródo é a pressão atmosférica, sendo em seguida os íons amostrados através de um cone ou orifício, passando os íons para uma zona intermediária, mantida a uma pressão mais baixa por meio de uma bomba rotatória. Os íons atravessam, em seguida, um *skimmer*, em direção ao analisador, que se encontra a alto vácuo. O *skimmer* funciona como um separador de momento, sendo que os íons analito mais pesados passam através dele, enquanto que as moléculas mais leves de gás e solvente são bombeadas (Figura 4).



**Figura 4. Esquema da origem iônica por *eletrospray* (Direitos Autorais de American Chemical Society, 1985).**

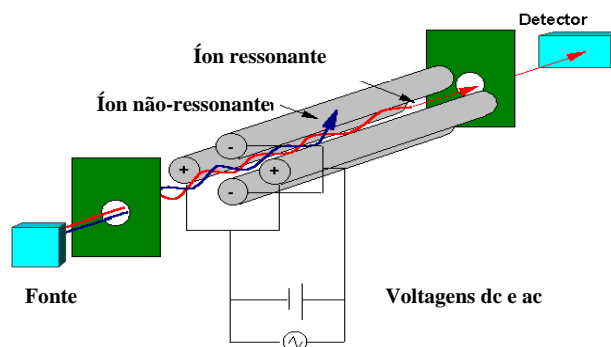
A cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (GC/MS) tem sido considerada uma técnica analítica adequada para a análise de misturas complexas. Tem, no entanto, a grande limitação de ser aplicável apenas a moléculas relativamente voláteis e termicamente estáveis. Um acoplamento semelhante entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massa (LC/MS) era, por isso, de todo o interesse, para a análise de compostos sem essas características, para os quais a análise por GC/MS só podia ser utilizada recorrendo a derivatizações que tornam o processo analítico muito demorado.

A IES através da espectrometria de massa sofreu um rápido crescimento, tornando-se, assim, uma técnica analítica fundamental para análise de uma vasta gama de compostos polares, não voláteis e termicamente instáveis, indo de compostos de baixa massa molecular até biopolímeros de elevada massa molecular. Os melhores resultados analíticos são, em geral, obtidos para analitos que são iônicos em solução e, é de se acreditar que os íons observados na fase gasosa são, pelo menos, um reflexo qualitativo dos íons na solução da amostra original, retendo aspectos da sua estrutura e associações não covalentes. O maior sucesso da técnica tem sido na sua aplicação na análise de moléculas biológicas não voláteis. Em princípio, todas as moléculas que podem ser carregadas são acessíveis a uma análise por espectrometria de massa. Entre estas, encontram-se os peptídeos e proteínas que podem ser protonados principalmente nas zonas básicas, ou seja, nos grupos terminais amino. Os oligonucleotídeos podem ser carregados no modo iônico negativo. Neste caso, o grupo fosfato fornece a carga por abstração do próton. Moléculas neutras, tais como oligossacarídeos, podem também ser detectadas, porque podem se ligar a íons sódio ou outros metais alcalinos como agente de carreamento.

Através da técnica, têm-se estudado as estruturas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias de proteínas. No que diz respeito à estrutura primária, a técnica permite, não só a determinação da massa molecular, como também a determinação da seqüência dos peptídeos na molécula.

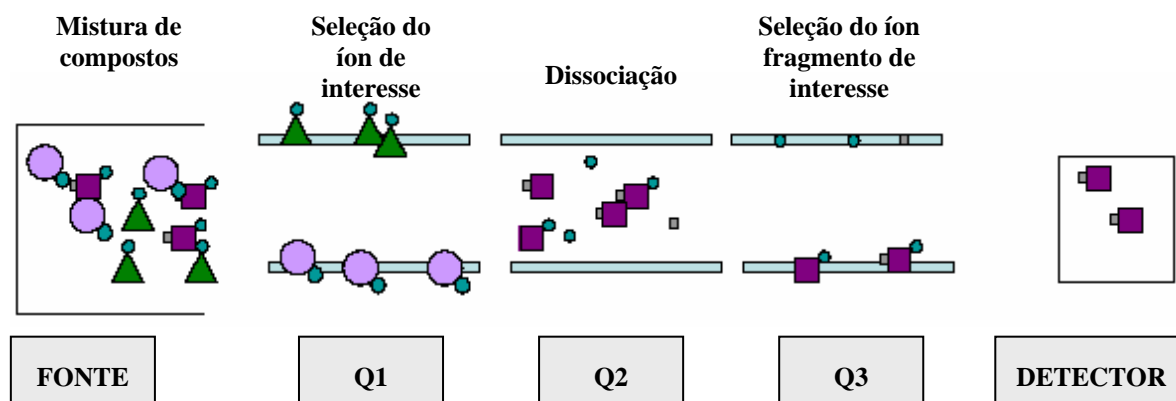
O analisador mais utilizado, e mesmo, o primeiro a ser comercializado em eletrospray através da espectrometria de massa, é o quadrupolo. Isto se deve, em princípio, ao fato de os quadrupolos serem relativamente baratos, fáceis de usar e capazes de fornecer bom rigor nos valores de massa medidos.

O analisador de massa quadrupolo é constituído por quatro eletrodos cilíndricos de geralmente 5-11 cm de comprimento. Cada cilindro tem aplicado uma voltagem de corrente direta e um adicional potencial de frequência de radio. Dois dos cilindros têm uma corrente direta de carga positiva, enquanto as outras duas têm carga negativa. A fase de frequência de radio é oposta para os eletrodos positivos e negativos (Figura 5).



**Figura 5.** Ilustração do filtro de massa quadrupolo.

As principais características dos espectros de massa de biomoléculas são a predominância de íons moleculares multiplamente carregados e a ausência de fragmentação que permitem a determinação rigorosa de massas moleculares. No entanto, no que diz respeito à estrutura molecular, pouca informação, em geral, é obtida. A dissociação pode ainda ser provocada por ativação colisional na região de decomposição de um espectrômetro acoplado a outro (MS/MS), sendo esta técnica relevante na obtenção de informação estrutural de moléculas. Uma mistura de compostos é introduzida e, com o primeiro espectrômetro de massa, seleciona-se um íon de interesse. Este é depois dissociado entre os dois espectrômetros, geralmente por colisão com gás argônio a uma certa pressão, transformando a energia cinética em energia vibracional. O segundo espectrômetro separa e determina os valores de  $m/z$  dos íons fragmentados para posterior detecção (ANTIGNAC *et al.*, 2000). A Figura 6 mostra o esquema da fragmentação utilizando espectrômetro de massa triplo-quadrupolo no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM).



**Figura 6. Esquema demonstrativo da fragmentação de compostos utilizando espectrômetro de massa triplo-quadrupolo no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM).**

É possível gerar tanto íons atômicos quanto íons moleculares de quase todos os materiais e introduzir, eficientemente, esses íons no sistema de vácuo do espectrômetro de massa para análise. Excetuando os polímeros orgânicos não polares, que são difíceis de ionizar, parece não ter limite de tamanho e complexidade das moléculas que podem ser ionizadas e analisadas. Durante a década passada, não foram introduzidos novos métodos de ionização, mas enormes avanços foram feitos na sensibilidade e utilidade deles. Esse desenvolvimento tem ocorrido em paralelo com o melhoramento dramático dos analisadores de massa, incluindo melhor resolução, acurácia, sensibilidade e velocidade de análise. A aplicação dessas técnicas tem crescido exponencialmente, particularmente nas ciências da vida. Parece que a tecnologia do espectrômetro de massa está se aproximando da maturidade, porém as aplicações ainda estão na infância (VESTAL, 2001).



## **OBJETIVOS**

---

**OBJETIVO GERAL:**

Determinar um método seguro, sensível, específico, de alta resolução, precisão e acurácia para quantificação do acetato de megestrol em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massa por ionização de *eletrospray*.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Avaliar as vantagens da determinação analítica do acetato de megestrol obtidas pela espectrometria de massa em relação aos métodos anteriores.
  
- Analisar os parâmetros farmacocinéticos do acetato de megestrol para as duas formulações administradas em um estudo de bioequivalência.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

---

## 1. PROTOCOLO CLÍNICO

### 1.1. MATERIAL E EQUIPAMENTOS

O material e os equipamentos utilizados na etapa clínica estão descritos nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1: Material utilizado na etapa clínica dos testes de bioequivalência.**

<b>Material Utilizado para Coleta</b>	<b>Fabricante</b>
Agulhas descartáveis 25x8	BD – USA
Agulhas 21G x 1 Vacutainer	BD – USA
Álcool 70%	HUWC-UFC
Algodão	Johnson and Johnson – USA
Coletores de fezes	Fornecido pelo LabPasteur
Coletores de urina	Fornecido pelo LabPasteur
Pipetas ajustáveis (100µL, 200µL, 1000µL)	Gilson Pipetman, França
Ponteiras plásticas para pipetas (5-200µL)	Unilab, Brasil
Ponteiras plásticas para pipetas (capacidade 200-1000µL)	Unilab, Brasil
Seringas descartáveis de 10 mL	BD – USA
Suporte para conexão da agulha	BD – USA
Tubos Vacutainer	BD – USA
Tubos plásticos para armazenar soro Corning	Corning Costar Corporation– Canadá

**Tabela 2: Equipamentos utilizados na etapa clínica dos testes de bioequivalência.**

<b>Aparelhos</b>	<b>Fabricante</b>
Termômetro thermo flat	Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda – Brasil
Esfignomanômetro Tycos 7050-14	Tycos –USA
Estetoscópio	Lytman – USA
Eletrocardiógrafo	Dixtal – Brasil
Balança	Balmak- Brasil
Centrífuga	Eppendorf
Freezer horizontal –20 °C	Eletrolux-Brasil

## 1.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO

A pesquisa consistiu de um estudo aberto, com replicação, de 30 voluntários sadios do sexo masculino. Depois da seleção e observado um período de pelo menos 4 semanas, sem fazer uso de qualquer medicação, os voluntários qualificados para participar do estudo foram internados por dois períodos de, aproximadamente, 36 horas, com intervalo de 27 dias entre os internamentos. Em cada internamento, os voluntários receberam a formulação Acetato de Megestrol ou Megestat<sup>®</sup>.

Os voluntários serão randomicamente designados a uma das seguintes seqüências de tratamento.

**Tabela 3: Definição das seqüências de tratamento.**

<b>Seqüência</b>	<b>Período de Tratamento I</b>	<b>Período de Tratamento II</b>
	<b>Código do Braço de Tratamento</b>	<b>Código do Braço de Tratamento</b>
1	Megestat <sup>®</sup>	Acetato de Megestrol
2	Acetato de Megestrol	Megestat <sup>®</sup>

### **1.3. SELEÇÃO DO VOLUNTÁRIO**

Os voluntários foram selecionados através de uma avaliação clínica completa, conduzida por um profissional médico, que incluía a realização de exames laboratoriais para avaliar as funções renal, hepática e hematológica, bem como avaliação da função cardíaca através de um eletrocardiograma (ECG).

#### ***1.3.1. Exames Laboratoriais***

Os seguintes exames laboratoriais foram realizados nos períodos pré-estudo (período de avaliação para seleção de voluntários saudáveis) e no pós-estudo (período após o último internamento):

1) *Análise Hematológica:* Hemoglobina, Hematócrito, Contagem Total e Diferencial de Leucócitos, Contagem de Plaquetas e VHS.

2) *Análise Bioquímica:* Creatinina, Bilirrubina Total, Proteína Total, Albumina, Glicose em jejum, Fosfatase Alcalina, Glutamato Oxalacetato-Transaminase (SGOT), Glutamato Piruvato-Transaminase (SGTP), Colesterol Total, Triglicérides, Ácido Úrico e Gama GT.

3) *Sumário de Urina*

4) *Exames realizados somente no período pré-estudo:* Parasitológico de Fezes; Análise Sorológica para Hepatite B, Hepatite C, HIV (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida-AIDS).

#### ***1.3.2. Critérios de Inclusão***

Os seguintes critérios teriam que ser satisfeitos para que o voluntário participasse do estudo:

1. Voluntário do sexo masculino com idade entre 18 a 50 anos;

2. Voluntário possuía índice de massa corpórea maior ou igual a 19 e menor ou igual a 28;
3. Ter sido submetido a uma história clínica e exame físico, e ser considerado saudável;
4. Concordar livremente em assinar o termo de consentimento, após todos os elementos essenciais do protocolo serem esclarecidos, antes de qualquer procedimento.

### ***1.3.3. Critérios de Exclusão***

Qualquer um dos seguintes critérios excluía o voluntário do estudo:

1. Resultados dos exames laboratoriais fora dos valores considerados normais ( $\pm$  10%), a menos que fossem considerados clinicamente irrelevantes;
2. Ter Participado de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer fármaco experimental nos últimos três meses que antecedem o início do estudo;
3. Fazer uso de medicação regular nas últimas 4 semanas que antecederam o início do estudo, ou fez uso de qualquer medicação uma semana antes do início do estudo;
4. Ter sido internado, por qualquer motivo, até 8 semanas antes do início do estudo;
5. Apresentar história de abuso de álcool ou fármacos, ou tinha ingerido bebidas alcoólicas nas 48 horas que antecederam o período de internação para início do estudo;
6. Possuir história de doença hepática, renal, pulmonar, gastrointestinal, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica;
7. Apresentar hipotensão ou hipertensão de qualquer etiologia que necessitasse de tratamento farmacológico;
8. Apresentar história ou tinha tido infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
9. Ter doado ou perdido 450 mL ou mais de sangue nos últimos três meses que antecederam ao estudo;
10. Voluntário do sexo feminino;
11. Ter qualquer condição que o impedia de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

#### ***1.3.4. Critérios para Retirada do Estudo***

As seguintes condições foram consideradas como critérios de retirada do estudo: o voluntário não desejava continuar no estudo, por razões outras que a ocorrência de eventos adversos do fármaco teste, por exemplo, indisponibilidade ou intolerância aos procedimentos do estudo; reações adversas do fármaco; testes laboratoriais anormais, julgados de relevância clínica; doença intercorrente requerendo medicação.

### **1.4. ENTRADA DO VOLUNTÁRIO NO ESTUDO**

Uma vez avaliada a higidez, os voluntários foram submetidos a uma entrevista para avaliação das condições emocionais para participar da investigação. Após retiradas todas as dúvidas, por parte dos voluntários, e os mesmos tendo concordado com o protocolo clínico, o termo de consentimento (ANEXO I) foi assinado, para participação no estudo.

#### ***1.4.1. Internamento***

Solicitou-se ao voluntário que se apresentasse para internamento, na Unidade de Farmacologia Clínica - UNIFAC – da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, aproximadamente às 21:00 horas da noite anterior à administração do medicamento, e que permanecesse na mesma até 24 horas após a mesma.

#### ***1.4.2. Restrições***

Todos os voluntários chegaram à Unidade de Farmacologia Clínica tendo feito uma refeição normal noturna (jantar). A partir das 23:00 horas da noite do internamento, os voluntários ficaram em jejum até a manhã seguinte e durante o período de 2 horas após a administração da medicação, quando um desjejum foi servido. O almoço foi servido entre 5 e 6 horas após administração e o jantar após 12 horas. Não foram permitidos outros alimentos no período de internação. Líquidos foram permitidos *ad libitum* após as refeições, mas bebidas contendo xantinas (incluindo chá, café e cola) foram evitadas.



Não foi permitido fumar durante o período de internamento. Medicamentos concomitantes foram evitados quando possível mas, em caso de necessidade, quando utilizada, foi registrada em formulário próprio. O consumo de álcool foi limitado durante o período de estudo e evitado completamente durante as 48 horas que antecedem cada coleta de sangue.

#### ***1.4.3. Esquema Experimental***

Os voluntários receberam, conforme a randomização (ANEXO III), um comprimido de acetato de megestrol (Tabela 4) como dose única entre 7:00 e 8:00 da manhã do dia após o confinamento (o tempo será anotado no CRF – ANEXO II), acompanhado de 200 mL de água mineral sem gás, após pelo menos 10 horas de jejum.

**Tabela 4: Produtos estudados.**

	<b>Formulação 1</b>	<b>Formulação 2</b>
<b>Nome</b>	Acetato de Megestrol	Megestat <sup>®</sup>
<b>Ingrediente Ativo</b>	Acetato de Megestrol	Acetato de Megestrol
<b>Forma</b>	Comprimidos	Comprimidos
<b>Dose</b>	160 mg	160 mg
<b>Lote</b>	GE7254	2L0110
<b>Data Fabricação</b>	04/02	10/02
<b>Validade</b>	04/04	10/05
<b>Fabricante</b>	Indústria Nacional	Bristol-Myers Squibb

#### ***1.4.4. Coleta de Sangue***

As amostras de sangue para determinação da concentração plasmática de acetato de megestrol foram obtidas, através de escalpe heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário, imediatamente antes da administração de uma das preparações de acetato de megestrol (tempo zero e *pool*) e aos seguintes intervalos, a partir da administração: 1:00, 1:30, 2:00, 2:30, 3:00, 3:30, 4:00, 5:00, 6:00, 8:00, 12:00, 16:00, 24:00, 36:00, 48:00, 72:00, 96:00, 120:00 e 144:00 horas.

A cada intervalo de tempo, foram coletados 8 mL de sangue (exceto antes da administração quando foram coletados dois tubos de 8 mL cada – tempo zero e *pool*) e colocados em tubos vacutainer de vidro contendo 30 µL de heparina. Após centrifugadas a 3.000 rpm, na temperatura de 8°C, durante 12 minutos, o plasma foi separado, colocados em tubos e em seguida os tubos devidamente identificados foram mantidos em freezer, numa temperatura de -20°C, até sua análise.

Três dias após a última coleta de sangue, os voluntários foram reavaliados clínica e laboratorialmente (período de pós-estudo).

#### ***1.4.5. Efeitos Adversos***

Foi solicitado aos voluntários que relatassem qualquer evento adverso e quando este evento ocorreu, para que fosse acompanhado clínica e laboratorialmente, até que os parâmetros alterados voltassem ao normal. Foi também inquerido se houve ou não necessidade de usar medicação adicional. As perguntas realizadas para saber se os voluntários tiveram algum evento adverso foram limitadas a perguntas gerais, tais como: *Como vai você?*

Definições de efeitos adversos quanto a intensidade:

*Leve:* experiência adversa facilmente tolerada.

*Moderada:* experiência adversa desagradável o bastante para interferir nas atividades cotidianas.

*Severo:* experiência adversa que impossibilita a realização das atividades cotidianas normais.

Relacionamento suposto com o medicamento experimental:

*Não atribuído:* Quando não há presença de relatos na literatura sobre o evento adverso ocorrido, não há provas objetivas ou subjetivas evidentes, a seqüência temporal do evento com a administração do medicamento não é plausível e os outros critérios também não são associados, não como atribuir um evento ao fármaco administrada.

*Possível:* Neste caso, além de não haver presença do evento observado no caso de re-administração do medicamento, não há melhora clínica na administração de um antagonista ou após *wash-out* do fármaco em estudo. Esse fato sugere a presença de causas alternativas para o evento adverso avaliado, pois apesar da existência de dados científicos e evidências, o evento pode estar sendo originado por um outro fator não relacionado ao medicamento.

*Provável:* Não se pode comprovar sua atribuição devido ao voluntário não ter apresentado o mesmo evento no caso de re-administração, tanto durante os internamentos quanto durante outras exposições anteriores.

*Atribuído:* Para a consideração de um evento adverso atribuído ao medicamento, ou certo, é preciso que o evento já seja conhecido na literatura e que haja provas para respaldar objetivamente ou subjetivamente o ocorrido. A seqüência temporal após a administração do medicamento também deve ser considerada de maneira sensata clinicamente.

## **1.5. COMITÊ DE ÉTICA**

O projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará, credenciado pelo CONEP, Conselho Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde/MS (ANEXO IV).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), África do Sul (1996) e Edimburgo (2000), assim como as regulamentações locais (Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS-MS, bem como Resolução 135/03 da ANVISA).

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

O “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” é uma tradução brasileira originária do termo francês “*consentement libre et éclairé*”. Esta forma é utilizada nas resoluções da Comissão Nacional de Saúde (CNS – MS), órgão que regula a ética na pesquisa em seres humanos no Brasil.

Segundo a Declaração do Congresso Nacional de Bioética (SIBI), realizado em junho de 2000, o art. 11º, dedicado aos temas da pesquisa e experimentação, relata que “os sujeitos das experimentações deverão dar seu consentimento livre e esclarecido e plenamente informado”.

O termo de consentimento livre e esclarecido é uma condição indispensável na pesquisa de seres humanos. Trata-se de uma decisão voluntária, verbal ou escrita, realizada por uma pessoa autônoma e capaz, selecionada após um processo informativo, para a experimentação consciente dos seus riscos, benefícios e possíveis conseqüências.

A prática do termo do consentimento livre e esclarecido contribui no exercício da ética dignificando e engrandecendo tanto o voluntário quanto o investigador da pesquisa.

Os voluntários selecionados para esse estudo de bioequivalência, receberam explanação sobre a natureza e os objetivos do estudo. Foi enfatizado que o trabalho teria a finalidade de pesquisa e que o voluntário não poderia esperar qualquer efeito terapêutico. O voluntário também tinha conhecimento da sua liberdade para se retirar a qualquer momento do estudo sem que isto lhe cause qualquer prejuízo no seu atendimento junto a Unidade de Farmacologia Clínica ou ao Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. Foi solicitado a cada voluntário que, caso concordasse com o protocolo de estudo, assinasse o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação do estudo.

## **1.7. CONFIDENCIALIDADE**

Os resultados da avaliação médica, o eletrocardiograma e os exames laboratoriais foram registrados em folha individual de cada voluntário. Todas as informações obtidas durante o estudo, referentes ao estado de saúde dos voluntários, ficam disponíveis aos médicos do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. Uma cópia dos exames laboratoriais realizados no período pré e pós-estudo foram fornecidas aos voluntários, quando solicitada.

## 1.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita utilizando o teste T de Student pareado. Dados iniciais (pré-estudo) referindo-se aos exames laboratoriais e medidas antropométricas (relação peso/altura) foram comparados com os obtidos após o término do ensaio (pós-estudo). Os dados foram calculados e analisados estatisticamente por determinação da menor diferença significativa ( $p < 0,05$ ) usando Microsoft Excel Version 7.0 and Graph Pad Prism Version 3.02.

## **2. PROTOCOLO ANALÍTICO**

### **2.1. PRINCÍPIOS DO MÉTODO**

O analito, acetato de megestrol, e o padrão interno, betametasona, foram extraídos do plasma humano por meio de extração líquido-líquido utilizando hexano/acetato de etila (1:1v/v). Após a extração, as amostras foram secas sob fluxo de ar comprimido, ressuspendidas em acetonitrila. Alíquotas das amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por Espectrometria de Massa.

### **2.2. SEGURANÇA**

Para o manuseio dos reagentes e material biológico e durante a realização dos experimentos laboratoriais, os analistas utilizaram equipamentos de proteção individual. As normas de segurança laboratorial foram seguidas, bem como os procedimentos adequados para a eliminação de resíduos.

### **2.3. MATERIAL**

O método analítico proposto requer os equipamentos, reagentes e material biológico descritos a seguir. Outros equipamentos e reagentes podem substituir os relacionados abaixo, desde que sejam de especificação equivalentes a estes. Qualquer mudança de equipamento ou reagente deve ser registrada.

#### ***2.3.1. Equipamentos e Material***

Os equipamentos e material utilizados estão descritos nas Tabelas 5 e 6.

**Tabela 5: Descrição dos equipamentos e material.**

Descrição	Fabricante / País de Origem
Pipetas de volume variável	Gilson / França
Pipetas de plástico descartáveis	Sigma / USA
Ponteiras descartáveis amarelas e azuis (volume)	Axygen / USA
Mesa agitadora (finemixer)	Fine PCR / Coréia
Misturador (vortex)	Phoenix / USA
Balança analítica	Precisa 40sm-200a / Alemanha

**Tabela 6: Componentes do CLAE.**

Descrição	Fabricante / modelo
Espectrômetro de Massa	Micromass / Quattro Micro™
Gerador de Nitrogênio	Domnick Hunter/UHPLC MS 18
Bomba Analítica	HP / Quat Pump Series 1100
Auto-injetor	HP / ALS Series 1100
Programa	Micromass/ Mass Lynx 3.5

### 2.3.2. Padrões

Na Tabela 7 estão descritos os padrões de referência do analito (acetato de megestrol) e do padrão interno (betametasona), respectivamente, utilizados no método.

**Tabela 7: Padrões de referência.**

Descrição	Nº de Lote	Validade	Fabricante/Endereço
Acetato de Megestrol	I	Vigente	USP/1260,01 Twinbrook Parkway Rockville, MD 20852 USA
Betametasona	K-1	Vigente	USP/1260,01 Twinbrook Parkway Rockville, MD 20852 USA

### 2.3.3. Reagentes

Na Tabela 8 estão apresentados os reagentes utilizados na extração e no preparo das soluções padrão e da fase móvel.

**Tabela 8: Reagentes.**

Descrição	Finalidade
Ácido Fórmico (grau P.A.)	Preparo da fase móvel
Água (purificada através de Milli-Q)	Preparo da fase móvel
Acetonitrila (grau HPLC)	Preparo da fase móvel e das soluções padrão de acetato de megestrol e de betametasona
Acetato de etila (grau P.A.)	Extração líquido-líquido
Hexano (grau HPLC)	Extração líquido-líquido

### 2.3.4. Material biológico

Quantidades necessárias de plasma humano foram coletadas de indivíduos diferentes, nas condições de plasma humano normal, lipêmico e hemolisado, utilizadas para preparar os padrões da curva de calibração e as amostras de controle de qualidade.

## 2.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES

### 2.4.1. Soluções Padrão

Todas as soluções padrão preparadas foram transferidas para frascos de plástico rotulados, com batoque e tampa de rosca, armazenadas na geladeira a 4°C e substituídas de acordo com os prazos de validade pré-determinados.

### 2.4.2. Solução Padrão de Acetato de Megestrol

Uma massa correspondente a 0,00531 g de acetato de megestrol foi cuidadosamente pesada, colocada em um balão volumétrico (50 mL) e preparada em acetonitrila, para a obtenção de uma solução de concentração 100 µg/mL.



### **2.4.3. Solução Padrão de Betametasona**

Uma massa correspondente a 0,00533 g de betametasona foi cuidadosamente pesada, colocada em um balão volumétrico (50 mL) e preparada em acetonitrila para a obtenção de uma solução de concentração 100 µg/mL. A partir desta solução, retirou-se 1,2 mL que foi colocado em um recipiente com capacidade para 100 mL, onde foi diluído em acetonitrila com fator de diluição 1:83,3, obtendo-se uma solução de betametasona na concentração de 1,2 µg/mL.

### **2.4.4. Soluções de trabalho**

As soluções de trabalho foram preparadas para consumo nos testes de pré-estudo, validação e estudo. As instruções de preparo e substituição destas são as mesmas que o das soluções padrão.

### **2.4.5. Fase Móvel usada no trabalho**

Para eluir o analito (acetato de megestrol) e o padrão interno (betametasona) no cromatógrafo, foi preparada a fase móvel, composta de acetonitrila-água (80:20 v/v) contendo 0,1% de ácido fórmico, que era preparada de acordo com a necessidade e substituída a cada corrida analítica. A preparação da fase móvel está descrita a seguir.

Em um recipiente de vidro, colocou-se 500 mL água e 0,5 mL de ácido fórmico. Após a homogeneização, a solução foi filtrada e, antes do uso, desgaseificada. Em outro recipiente de vidro, colocou-se 500 mL acetonitrila e 0,5 mL de ácido fórmico. Após a homogeneização, esta solução foi filtrada e, antes do uso, desgaseificada.

A mistura dessas duas soluções para compor a fase móvel foi realizada em uma bomba analítica HP/Quat Pump Serie 1100.

## 2.5. PREPARO DOS PADRÕES DA CURVA DE CALIBRAÇÃO E DAS AMOSTRAS CONTROLE DE QUALIDADE

As concentrações dos padrões da curva de calibração e das amostras controles de qualidade foram definidas de acordo com os procedimentos de rotina para a validação do método, em função da faixa prevista das concentrações das amostras a serem analisadas. Assim, estas concentrações correlacionam-se com a dose para qual o método foi desenvolvido. A utilização de outra dosagem pode levar a uma revisão destas concentrações, se a faixa prevista de concentrações da amostra não for a mesma.

### 2.5.1. Preparo dos padrões da curva de calibração

A curva de calibração inclui a análise de uma amostra branco (matriz biológica isenta de padrão do fármaco e do padrão interno), uma amostra zero (matriz biológica com adição de padrão interno) e de amostras contendo padrão do fármaco e padrão interno, contemplando a faixa prevista de concentrações que se pretende analisar. Os padrões da curva de calibração foram preparados adicionando-se o analito ao plasma humano. Os dados referentes ao preparo dos padrões da curva de calibração estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9: Preparo da Curva de Calibração para o Acetato de Megestrol.**

Nível	Amostra	Concentração no plasma (ng/mL)	Volume pipetado (µL)/ Concentração da Solução de Acetato de Megestrol preparada em plasma	Volume Final (mL)	Fator de Diluição
B	Branco	0	-	-	-
Z	Zero	0	-	-	-
1	Megestrol	2	400 (100 ng/mL)	20	1:50
2	Megestrol	10	200 (1000 ng/mL)	20	1:100
3	Megestrol	50	1000 (1000 ng/mL)	20	1:20
4	Megestrol	80	1600 (1000 ng/mL)	20	1:12,5
5	Megestrol	100	2000 (1000 ng/mL)	20	1:10
6	Megestrol	150	3000(1000 ng/mL)	20	1:6,67

Para o preparo do padrão acetato de megestrol 1000 ng/mL (em plasma), uma alíquota de 200  $\mu$ L da solução de acetato de megestrol 100  $\mu$ g/mL (preparada em acetonitrila) foi transferida para um tubo de vidro, o solvente foi seco sob fluxo de ar comprimido e o resíduo foi ressuscitado em 20 mL de *pool* plasma branco. A partir desta solução foram feitas diluições com *pool* de plasma branco, para o preparo dos padrões da curva de calibração nas concentrações de 10, 50, 80, 100 e 150 ng/mL. A solução de acetato de megestrol de 2 ng/mL foi preparada a partir da solução 100 ng/mL.

Os padrões da curva de calibração foram fracionados em alíquotas de 200  $\mu$ L, armazenadas em tubos tipo eppendorff devidamente rotulados e estocados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a sua utilização. Uma única amostra para cada uma das concentrações foi descongelada para cada ensaio, fornecendo volume suficiente para as análises.

### ***2.5.2. Preparo das amostras dos controles de qualidade***

Os controles de qualidade (CQs) definidos têm dois objetivos distintos: o definido por LQ é utilizado para determinar o Limite de Quantificação (LQ) do método analítico. Para sua determinação, foram feitas análises da matriz biológica contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível quantificável com precisão e exatidão aceitáveis. Os controles de qualidade baixo (CQB), controles de qualidade médio (CQM) e os controles de qualidade alto (CQA) foram utilizados para monitorar a precisão e exatidão do método de quantificação durante os ensaios.

Todos as amostras dos controles de qualidade foram preparadas adicionando-se o analito ao plasma humano. Os dados referentes ao preparo das amostras dos controles de qualidade estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10: Preparo dos controles de qualidade.**

CQ	Analito	Concentração no plasma (ng/mL)	Volume pipetado (µL)/ Concentração da Solução de Acetato de Megestrol preparada em plasma	Volume Final (mL)	Fator de Diluição
LQ	Megestrol	2	40 (100 ng/mL)	20	1:50
CQB	Megestrol	6	180 (1000 ng/mL)	30	1:166,7
CQM	Megestrol	60	1800 (1000 ng/mL)	30	1:16,7
CQA	Megestrol	120	3600 (1000 ng/mL)	30	1:8,33

Para o preparo dos controles de qualidade LQ, CQB, CQM e CQA, alíquotas das soluções de acetato de megestrol 100 e 1000 ng/mL (preparadas em plasma) foram colocados em tubos de vidro e os volumes completados com *pool* de plasma branco.

As amostras dos controles de qualidade foram fracionadas em alíquotas de 200µL, armazenadas em tubos tipo *ependorff* devidamente rotulados e estocadas a -20°C até a sua utilização. Uma única amostra para cada uma das concentrações foi descongelada para cada ensaio, fornecendo volume suficiente para as análises.

## 2.6. PREPARO DAS ANÁLISES

Quando a sensibilidade, precisão e a exatidão do método tiverem sido determinadas, apenas uma única análise deverá ser feita se a validação do método demonstrar que estes parâmetros estão rotineiramente dentro de limites aceitáveis.

### 2.6.1. Montagem da seqüência de determinações das amostras

Cada lote deverá conter as seguintes amostras:

1) Uma curva de calibração, composta por uma amostra branco (matriz biológica isenta de padrão do fármaco e do padrão interno), uma amostra zero (matriz biológica com adição do padrão interno) e amostras contendo padrão do fármaco e padrão interno. Cada amostra, desde a amostra branco até o último padrão de calibração, deverá ser incluída sem

réplica. As concentrações dos padrões da curva de calibração serão checadas pelo cálculo de volta (*back-calculation*) e se, os valores estiverem dentro das especificações da curva, a mesma será usada para determinar a concentração do fármaco nas amostras. Caso contrário, outra curva deverá ser construída. Os dados da curva de calibração serão armazenados no *software*;

2) As amostras a serem analisadas, sem replicatas;

3) Controles de qualidade (CQB, CQM, CQA), intercalados em intervalos adequados, dependendo do número total de amostras a serem determinadas.

### **2.6.2. Extração das amostras**

Os procedimentos de extração das amostras descritos a seguir foram aplicados não apenas para as amostras dos voluntários analisadas, mas também para os padrões das curvas de calibração e amostras de controle de qualidade. Para a extração do analito (acetato de megestrol) e do padrão interno (betametasona) das amostras biológicas, os seguintes passos foram seguidos:

1) Em tubos *ependorff*, colocou-se 200  $\mu\text{L}$  de plasma humano, 25  $\mu\text{L}$  da solução do padrão interno (betametasona 1,2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 1000  $\mu\text{L}$  de hexano:acetato de etila (1:1 v/v) e agitou-se por 5 min na mesa agitadora (velocidade 9);

2) Centrifugou-se as amostras a 14.000 rpm, durante 5 min, a temperatura de 4°C;

3) Transferiu-se 800  $\mu\text{L}$  da fase orgânica para tubos *ependorff*, evaporou-se o solvente sob fluxo de ar comprimido, ressuspendeu-se o resíduo em 100  $\mu\text{L}$  de acetonitrila e agitou-se por 1 min na mesa agitadora (velocidade 9);

4) Transferiu-se 90  $\mu\text{L}$  das amostras para *inserts* de vidro descartáveis e, em seguida, injetou-se alíquotas de 10  $\mu\text{L}$  no sistema cromatográfico.

### **2.6.3. Condições cromatográficas**

As análises cromatográficas foram realizadas usando uma coluna analítica Varian® C<sub>18</sub> (5 µm, 50 x 2,0 mm) e uma pré-coluna Securityguard™ C<sub>18</sub> (4,0 x 3,0 mm), mantidas a temperatura ambiente (~20°C).

O cromatógrafo líquido de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas no modo MS/MS foi programado para operar com fluxo de 0,13 mL/min, volume de injeção de 10 µL e o tempo total de corrida foi ajustado para 3 min.

### **2.6.4. Condições de detecção no espectrômetro de massas no modo MS/MS**

Os parâmetros do equipamento utilizados foram: Fonte de ionização por *electrospray* operando em modo positivo (IES+) e MRM 384,7 > 324,7 e 393,5 > 373,1 para monitoramento do acetato de megestrol e da betametasona, respectivamente. A temperatura da fonte foi de 100° C e dessolvatação de 250° C. O fluxo dos gases do cone e dessolvatação foram de 90 e 400 L/h, respectivamente. Os valores de voltagem do capilar, cone e energia de colisão foram, respectivamente, 0,50 kV, 30 V e 15 eV para o acetato de megestrol e 0,50 kV, 15 V e 8 eV para a betametasona, tendo como pressão de Argônio para a dissociação 2,5 x 10<sup>-3</sup> mbar.

## **2.7. VALIDAÇÃO DO MÉTODO BIOANALÍTICO**

### **2.7.1. Validação Pré-estudo**

Para a realização destes testes foram utilizados padrões de referência com procedência identificável para o preparo das soluções. A origem, o número do lote, bem como a existência ou não de um “Certificado de Análise (CA)” estão descritos na Tabela 11.

**Tabela 11: Padrões de Referência Certificados.**

<b>Padrão</b>	<b>Finalidade</b>	<b>Origem</b>	<b>Lote</b>	<b>CA*</b>
Acetato de Megestrol	Analito	Padrão de Referência USP	I	1
Betametasona	Padrão interno	Padrão de Referência USP	K-1	1

\*1. Padrões de referência com certificado, 2. Padrões de referência obtidos comercialmente, 3. Sintetizados por laboratório de análise, 4. Fornecido pelo agente financiador.

### **2.7.2. Especificidade**

Para confirmar a especificidade do método, foram analisadas amostras branco de plasma humano, obtidas de seis indivíduos nas condições descritas na Tabela 12.

**Tabela 12: Amostras do fluido biológico (plasma).**

<b>Indivíduo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Origem</b>	<b>Lote</b>
1	Plasma Humano Normal	HUSF	7997/3
2	Plasma Humano Normal	HUSF	42205/1
3	Plasma Humano Normal	HUSF	17679/5
4	Plasma Humano Normal	HUSF	42207/1
5	Plasma Humano Lipêmico	HUSF	32513/1
6	Plasma Humano Hemolisado	HUSF	34614/4

Cada amostra branco foi testada, utilizando os procedimentos de extração e as condições cromatográficas propostos, para avaliar interferência no tempo de retenção do fármaco, do metabólito ou do padrão interno. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos usando uma solução aquosa do analito em concentração próxima ao LQ.

### **2.7.3. Curva de calibração**

Para definir a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito, foi gerada uma curva de calibração com seis padrões contendo o fármaco e padrão interno. A curva de calibração na validação foi feita em triplicata, utilizando-se depois uma curva média (obtida através das réplicas) para determinar as concentrações do analito nas amostras. As concentrações dos padrões foram definidos em testes preliminares,

incluindo a primeira quantificação de amostras, levando-se em consideração a sensibilidade do método e a faixa prevista das concentrações das amostras a serem determinadas.

#### ***2.7.4. Determinação do limite de quantificação***

O limite de quantificação foi definido levando-se em consideração a sensibilidade, especificidade, precisão e exatidão do método analítico. Para a determinação do LQ, foram feitas análises da matriz biológica contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível quantificável com precisão e exatidão aceitáveis. Com isto, tentou-se assegurar que os menores valores possíveis fossem analisados, por meio de repetições de análises, com valores sucessivamente menores.

Os seguintes critérios foram seguidos para a definição do LQ:

a) A concentração do LQ deve ser, no mínimo, 5 vezes maior que qualquer interferência na amostra branco no tempo de retenção do fármaco;

b) A concentração do LQ deve ser identificável e reproduzível com precisão de 20% e exatidão entre 80-120% em relação à concentração nominal do padrão, através da análise de, no mínimo, cinco amostras de padrões.

#### ***2.7.5. Linearidade***

A linearidade da curva de calibração foi avaliada dentro dos seguintes critérios:

a) Desvio menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal para o LQ, em pelo menos duas das triplicatas;

b) Desvio menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração, em pelo menos duas das triplicatas;



c) A curva de calibração deve apresentar seis diferentes concentrações, das quais, no mínimo quatro, devem cumprir os critérios (a) e (b) acima descritos, incluindo o LQ e a maior concentração da curva de calibração;

d) O coeficiente de correlação será aceito se for igual ou maior do que 0,98.

### **2.7.6. Precisão e exatidão**

Para avaliar a precisão e exatidão do método, quatro concentrações distintas, na faixa esperada de concentrações foram analisadas, utilizando-se determinações por concentração. A precisão e exatidão foram determinadas em um mesmo lote (precisão e exatidão intralote) e em lotes diferentes (precisão e exatidão interlotes).

#### **2.7.6.1. Validação intralote**

A precisão e exatidão intralote foram determinadas utilizando-se um lote contendo as seguintes amostras:

- a) Uma curva de calibração contendo os padrões definidos anteriormente;
- b) Cinco amostras de cada controle de qualidade (CQ) definido.

Os seguintes critérios foram seguidos, para que a precisão e exatidão intralote fosse considerada aprovada:

- a) Precisão: para os controles CQB, CQM e CQA, o coeficiente de variação (CV) não deveria exceder 15% e para o LQ, admitiu-se valores menores ou iguais a 20%;
- b) Exatidão: o valor da exatidão para as amostras CQB, CQM e CQA, dentro do desvio de  $\pm 15\%$  do valor nominal e para o LQ, admitiu-se desvios menores ou iguais a 20%.

### 2.7.6.2. Validação interlotes

Os seguintes critérios foram seguidos para considerar a precisão e exatidão interlotes aprovadas:

a) Precisão: para os controles CQB, CQM e CQA, o CV obtido não deveria exceder 15% e para o LQ, admitiu-se valores menores ou iguais a 20%;

b) Exatidão: o valor da exatidão para as amostras CQB, CQM e CQA dentro do desvio de  $\pm 15\%$  do valor nominal e para o LQ, admitiu-se desvios menores ou iguais a 20%.

### 2.7.6.3. Recuperação

O cálculo da recuperação do fármaco é feito comparando-se as áreas dos picos do acetato de megestrol (CQB, CQM e CQA) das amostras extraídas do plasma com as áreas dos picos do acetato de megestrol, preparado em solução. As áreas são correlacionadas com a concentração, considerando-se que as áreas obtidas para os controles baixo, médio e alto preparados em solução (amostras não extraídas) correspondem, respectivamente, as concentrações nominais de 6, 60 e 120 ng/mL.

## 2.8. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO FÁRMACO NO FLUIDO BIOLÓGICO

Para realização do estudo de estabilidade devem ser observados os parâmetros de exatidão, precisão, linearidade, limite de quantificação, especificidade e robustez, previamente validados.

A estabilidade do fármaco em líquidos biológicos depende de suas propriedades químicas, da matriz biológica e do material de acondicionamento utilizado. A estabilidade determinada para um tipo de matriz e de material de acondicionamento específico não pode ser extrapolada para outros.

As condições de realização dos ensaios de estabilidade devem reproduzir as reais condições de manuseio e análise das amostras. Deve ser avaliada a estabilidade do analito durante a coleta e manuseio da amostra, após armazenagem de longa duração (congelamento) e curta duração (à temperatura ambiente), após ciclos de congelamento e descongelamento e nas condições de análise. Deve-se incluir também avaliação da estabilidade do analito nas soluções-padrão, preparadas com solvente apropriado e concentrações conhecidas.

As determinações de estabilidade devem utilizar um conjunto de amostras, preparadas a partir de uma solução estoque recente do fármaco em análise, adicionado à matriz biológica isenta de interferência.

### ***2.8.1. Estabilidade de curta duração***

#### *2.8.1.1. Estabilidade no tempo e condições de análise*

Para avaliar a estabilidade do fármaco no tempo e condições de análise, as amostras processadas foram mantidas dentro do auto-injetor, a temperatura ambiente, e cada amostra de controle de qualidade foi analisada em triplicata nos tempos 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 e 25 horas. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

#### *2.8.1.2. Estabilidade do fármaco em ciclos de congelamento e descongelamento*

Para avaliar a estabilidade do acetato de megestrol durante três ciclos de congelamento e descongelamento, foram analisadas cinco amostras de cada controle de qualidade, nas seguintes condições: amostras CQB, CQM e CQA foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e mantidas nesta temperatura por 24 horas. Após este tempo, as amostras foram submetidas ao descongelamento natural (degelo 1), a temperatura ambiente, extraídas e imediatamente analisadas. Depois de completamente descongeladas, as amostras foram novamente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , mantidas nesta temperatura por mais 24 horas, descongeladas (degelo 2), extraídas e analisadas. O mesmo procedimento foi repetido mais uma vez, com o intuito

de completar o 3º ciclo de congelamento e descongelamento (degelo 3). Os resultados foram comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

### ***2.8.2. Estabilidade de longa duração***

Para avaliar a estabilidade do fármaco, em plasma, sob condições de longa duração, o tempo de armazenamento deve exceder o intervalo de tempo compreendido entre a coleta da primeira amostra e a análise da última amostra dos voluntários. Neste estudo, o primeiro dia de coleta das amostras dos voluntários foi no dia 14/12/2003, as amostras do último voluntário foram analisadas no dia 25/03/04. A estabilidade de longa duração foi realizada utilizando-se amostras que ficaram armazenadas, a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por um período de 102 dias. Este tempo de armazenamento é superior ao intervalo de tempo compreendido entre a coleta da primeira amostra e a análise da última amostra dos voluntários.

### ***2.8.3. Estabilidade das amostras de plasma não processadas***

Foram realizadas análises com amostras recém-preparadas e não processadas, que foram mantidas em espera na bancada durante seis horas, à temperatura ambiente, depois extraídas e analisadas no sistema cromatográfico. Obteve-se, também, resultados de amostras depois de 4 dias de congelamento e, após o descongelamento natural, à temperatura ambiente, as amostras são extraídas e imediatamente analisadas.

### ***2.8.4. Estabilidade das soluções padrão***

Foram desenvolvidas análises com soluções padrão de acetato de megestrol 500ng/mL e de betametasona 1,2  $\mu\text{g/mL}$  recém-preparadas, com soluções padrão que foram mantidas em espera na bancada durante seis horas (à temperatura ambiente) e amostras dessas soluções, que foram armazenadas na geladeira durante 10 dias.

Para avaliar a estabilidade das soluções padrão, foram comparadas as áreas dos picos do acetato de megestrol e de betametasona das amostras recém-preparadas com as áreas dos picos do acetato de megestrol e de betametasona das amostras mantidas na bancada durante 6 h e das amostras refrigeradas durante 10 dias.

## 2.9. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DAS AMOSTRAS

Na determinação das concentrações das amostras, os cálculos foram efetuados em função da curva de calibração, construída para o fármaco analisado, no sistema de dados do Mass Lynx 3.5, utilizando os padrões da curva de calibração relacionados na Tabela 9. As funções de calibração foram calculadas através da razão entre as áreas dos picos do acetato de megestrol e do padrão interno betametasona. As concentrações do analito nas amostras foram calculadas a partir da equação de regressão linear da reta, obtida com a curva de calibração (concentração de acetato de megestrol em função das razões das áreas).

## 2.10. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Parâmetros farmacocinéticos (Tabela 13), tais como a área sob a curva do tempo zero ao infinito  $ASC_{(0-\infty)}$ , do tempo zero a 144 horas ( $ASC_{(0-144h)}$ ), concentração máxima atingida ( $C_{max}$ ), tempo para atingir a concentração máxima ( $T_{max}$ ), meia-vida plasmática ( $t_{1/2}$ ) e constante de eliminação ( $K$ ), foram calculados.

**Tabela 13: Parâmetros farmacocinéticos.**

$ASC_{(0-\infty)}$ :	Área sob a curva de concentração do fármaco versus tempo do tempo 0 (zero) extrapolada ao infinito, calculada pelo método linear-log trapezoidal. $AUC_{[0-\infty]} = AUC_{[0-144]} + Ct/K$ , onde $Ct$ é a última concentração quantificável;
$ASC_{(0-144h)}$ :	Área sob a curva de concentração do fármaco versus tempo do tempo 0 (zero) ao tempo de 144 h, calculada pelo método linear-log trapezoidal;
$C_{max}$ :	Pico de concentração plasmática máxima do fármaco, obtida diretamente dos dados;
$T_{max}$ :	Tempo para atingir o $C_{max}$ .
$t_{1/2}$	Representa o tempo em que a concentração do fármaco no plasma é reduzida a metade. Calcula-se através do logaritmo neperiano de 2 dividido pela constante de eliminação, $t_{1/2} = \ln 2/K$ .
$K$	Determina a taxa de eliminação do fármaco dos vasos sanguíneos. Serve para determinar a concentração do fármaco em um tempo $t$ .

## 2.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 2.11.1. *Material*

Os programas utilizados para esse tipo de análise foram o WinNonlin Professional Network Edition, versão 1.5 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA), Programa de Bioequivalencia para Estudos Cruzados em dois Períodos versão 3.4 (autor: Herman P Wijnand, Bs Oss, The Netherlands), Microsoft Excel version 7 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) e GraphPad Prism version 3.0 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA).

### 2.11.2. *Métodos*

A constante de eliminação terminal (K) de primeira ordem foi estimada através da regressão linear dos pontos da fase de eliminação numa plotagem log-linear. A meia-vida foi calculada através da fórmula ( $t_{1/2} = \ln 2/K$ ). A concentração plasmática máxima observada ( $C_{max}$ ) e o tempo para obter esta concentração ( $T_{max}$ ) foram obtidos diretamente da curva. A área sob a curva de concentração plasmática de megestrol versus tempo de 0 a 144 horas ( $AUC_{0-144h}$ ) foi calculada através do método trapezoidal. A extrapolação dessa área para o infinito ( $AUC_{0-\infty}$ ) foi feita adicionando o valor da relação  $C_{144}/K$  (onde  $C_{144}$  é a concentração plasmática obtida da coleta de 144 horas e K, que é a constante de eliminação) a  $AUC_{0-144h}$ .

A distribuição da população foi analisada usando o plote do histograma do valor da transformação normal (NTV), plote do probito e o teste de Kolmogorov-Smirnov, mostrando-se consistente com a distribuição Gaussiana se  $p > 0,05$  (CHOW, 1992). A análise da variância entre as populações foi observada através do teste F (Snedecor).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

## 1. ETAPA CLÍNICA

O desenho consistiu de um estudo aberto, randomizado, com replicação, de 30 voluntários, como preconizado por Benett em 1999, que utiliza, geralmente, uma população pequena de 24 a 36 voluntários saudáveis. O número de voluntários sadios deve sempre assegurar poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados do estudo (BRASIL, 2003b). O termo voluntário normal ou sadio deve ser interpretado como indivíduo adulto, sem anormalidades clínico-laboratoriais capazes de prejudicar a interpretação do experimento ou aumentar a sensibilidade do indivíduo ao potencial tóxico do fármaco em estudo. A idade variou entre 18 e 45 anos ( $26,17 \pm 6,56$ ), altura variando de 158 a 188,5 cm ( $172,97 \pm 7,70$ ) e índice de massa corporal médio de  $24,1 \pm 2,51 \text{ kg/m}^2$ .

Em 1983, Adlercreutz e colaboradores realizaram um estudo para avaliar os níveis plasmáticos de acetato de megestrol em 10 voluntários sadios do sexo feminino, com idade variando entre 21 e 40 anos, os quais foram internados e receberam um comprimido de 60 mg ou quatro de 15 mg de acetato de megestrol. Uma semana depois o experimento foi repetido utilizando um desenho cruzado. Entretanto, para o presente estudo, foi selecionada uma população exclusivamente composta por voluntários sadios do sexo masculino, a fim de reduzir as possíveis interferências na biodisponibilidade e variação interindividual, com administração de 160 mg de uma das formulações de acetato de megestrol.

Os voluntários qualificados para participar do estudo foram internados por dois períodos de aproximadamente 36 horas, com vinte e sete dias de intervalo entre os internamentos, para garantir que não haja um efeito residual do primeiro fármaco administrado, que inflaria artificialmente os resultados do segundo (HOWARD *et al.*, 2000).

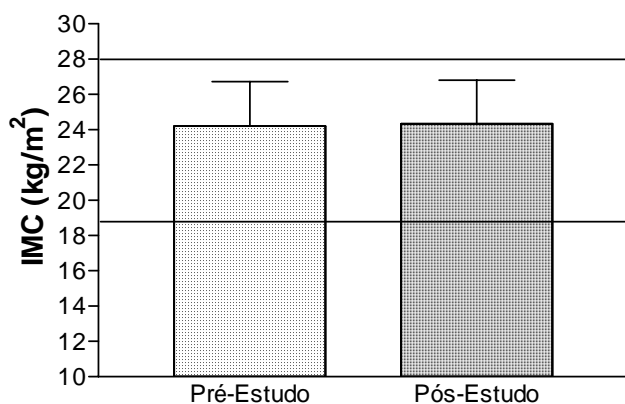
O órgão responsável pelos medicamentos genéricos no Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, determina que o cronograma de coletas das amostras sanguíneas deverá contemplar tempo igual ou superior a 3 a 5 vezes meias-vidas de eliminação do fármaco ou metabólito ativo (BRASIL, 2003b). Deve-se incluir o maior número possível de amostras na região próximo a concentração máxima atingida para que possibilite a determinação da área sob a curva de concentração sanguínea (BRASIL, 2003a). Amostras sanguíneas para a determinação dos níveis plasmáticos de acetato de megestrol



foram obtidas antes da administração (tempo zero e *pool*) e após a administração (1, 1:30, 2, 2:30, 3, 3:30, 4, 5, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96, 120 e 144 horas) de uma das formulações de acetato de megestrol.

Verificou-se, através de estudos com pacientes da síndrome anorexia-caquexia, que muitos deles apresentaram ganho de peso e aumento no apetite, representando um importante papel no seu tratamento, em doses usadas para a atividade progestogênica, compreendidas entre 400 e 800 mg/dia (NELSON, 2000; DAVIS *et al.*, 2000; MANTOVANI *et al.*, 1998; GAGNON *et al.*, 1998; MALTONI *et al.*, 2001; LÓPEZ *et al.*, 2004).

No presente estudo, não observou-se variação estatisticamente significativa no que diz respeito ao índice de massa corporal médio, antes e após o término da etapa clínica. De acordo com a literatura, verifica-se que em uma simples dose de 160 mg de acetato de megestrol não reflete em ganho de peso (Figura 7).



**Figura 7. Análise da média dos índices de massa corporal pré e pós-estudo, em 29 voluntários sadios do sexo masculino,  $p < 0,05$ .**

Os voluntários foram acompanhados durante o período do estudo através de aferições de sinais vitais, pulso, pressão sanguínea sistólica e diastólica, que foram realizadas a cada período de coleta de sangue. Não foi evidenciada qualquer anormalidade clínica para esses parâmetros.

Durante a terapia prolongada com acetato de megestrol, pode-se desenvolver a síndrome de Cushing (STEER, 1995). Pode ocorrer também supressão da adrenal e insuficiência adrenal aguda após a descontinuação da terapia (LEINUNG *et al.*, 1995). Diminuição significativa nos níveis séricos de cortisol foi observada na maioria dos pacientes com fibrose cística que receberam o acetato de megestrol. Notou-se um aumento nos níveis de insulina depois de seis meses de tratamento (EUBANKS *et al.*, 2001) e o fármaco tem sido associado com o desenvolvimento de diabetes em pacientes com fibrose cística (MARCHAND *et al.*, 2000).

O uso de 160 mg de acetato de megestrol, preconizado para o tratamento de câncer de mama e próstata, não foi verificado, por meio da anamnese e do exame clínico, nenhum sinal ou sintoma de supressão da adrenal. Através dos exames laboratoriais, não foram evidenciadas alterações no metabolismo dos carboidratos, protéico e lipídico, característicos da síndrome de Cushing.

As duas formulações de acetato de megestrol foram bem toleradas pelos voluntários. Dos trinta voluntários que participaram do estudo, sete (23,3%) relataram algum evento adverso de intensidade leve a moderada. Nenhum voluntário relatou a ocorrência de eventos severos, estando de acordo com os achados de López e colaboradores, em 2004. Os eventos adversos, observados durante os dois períodos de internação, não foram atribuídos ao medicamento, devido aos seguintes critérios: não há informações científicas prévias sobre o evento; não há provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão arterial, e outros parâmetros) ou subjetivas (clínicas); evento com seqüência temporal improvável após a administração do medicamento; presença de causas alternativas que podem ter causado o evento observado; ausência de melhora clínica plausível após retirada do medicamento (após eliminação); ausência de reação semelhante com o uso do mesmo medicamento no primeiro internamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico e ausência de reincidência quando da nova administração do medicamento (GUZZO, 2004). A relação dos eventos adversos, juntamente com sua intensidade e a ação adotada, estão relacionadas na Tabela 14.

**Tabela 14: Eventos adversos – intensidade, relacionamento com a medicação e ação adotada – relatados pelos trinta voluntários do sexo masculino.**

Voluntário	Descrição	Intensidade Leve Mod. Sev.	Atribuída ao fármaco?				Ação adotada
			Sim	Pos	Não	Des	
07. LS150468	Dor de Garganta	(X) ( ) ( )	( )	( )	(X)	( )	Observação
08. MS150271	Dor de Garganta	( ) (X) ( )	( )	( )	(X)	( )	Amoxicilina 500mg / Cepacaína
10. GG291279	Hemorróida	(X) ( ) ( )	( )	( )	(X)	( )	Venalot
15. JS070385	Suspeita de Colite	( ) (X) ( )	( )	( )	(X)	( )	Colonoscopia
18. UJ070680	Cefaléia	(X) ( ) ( )	( )	( )	(X)	( )	Observação
	Dor de Garganta	(X) ( ) ( )	( )	( )	(X)	( )	Observação
19. ML300974	Lesão Ocular	( ) (X) ( )	( )	( )	(X)	( )	Epitezan
23. IR270679	Diarréia	(X) ( ) ( )	( )	( )	(X)	( )	Imosec

Vinte e sete voluntários concluíram todas as etapas do estudo, havendo duas desistências por razões pessoais, uma após a primeira e outra durante a segunda fase do estudo, sendo que o último foi o único a não retornar para a realização do pós-estudo. Ocorreu, também, uma retirada durante a primeira fase devido a doença intercorrente requerendo medicação.

Para cada voluntário, foi preenchida uma ficha clínica contendo os critérios de admissão, história médica pré-estudo, exame físico geral pré e pós estudo, resultado ECG pré e pós estudo, fichas de administração, coleta de sangue e aferição de sinais vitais do 1º e 2º internamentos, registro de eventos adversos, medicação para tratamento de eventos adversos, término prematuro do estudo, determinações laboratoriais e comentários adicionais. Para exemplificar, encontra-se em anexo a ficha clínica do vol. 01 GC020579 (ANEXO II).

Os exames clínicos e laboratoriais pós-estudo não apresentaram alterações estatística e clinicamente significantes, quando comparados aos exames realizados no período pré-estudo. A Tabela 15 expõe as médias das determinações laboratoriais pré e pós-estudo juntamente com os valores de referência estipulados pelo laboratório de análise, representando a função hepática (SGTP, SGOT, bilirrubina total e gama GT) e metabólica

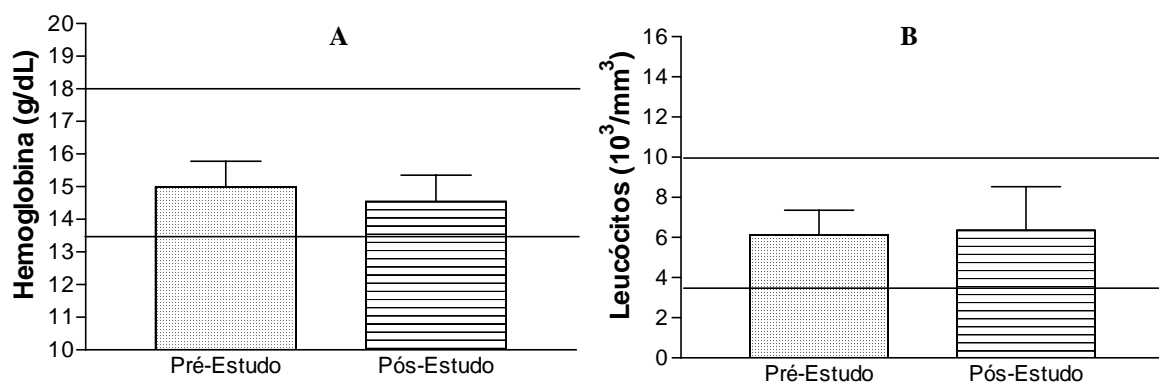
(glicose e colesterol), de vinte e nove voluntários do sexo masculino. As Figuras 8 e 9 representam a análise da função hematológica e renal, respectivamente.

Em 2001, Eubanks e colaboradores realizaram um estudo utilizando 17 pacientes pediátricos portadores de fibrose cística, que reflete em perda de apetite e má nutrição. O estudo consistia na administração de 7,5 mg/kg/dia. Após seis meses de administração de acetato de megestrol em 10 pacientes, foi relatado um leve crescimento nos níveis de SGTP e SGOT em um deles. Alterações dos demais exames laboratoriais não foram encontrados na literatura. A dose utilizada no presente estudo foi inferior a relatada no ensaio realizado por Eubanks e colaboradores, uma vez que este último envolveu pacientes com anorexia e caquexia (dose de 400-800 mg/dia) enquanto que, no atual estudo, foi utilizada uma dose estabelecida para tratamento de câncer de mama ou próstata (dose de 160 mg/dia).

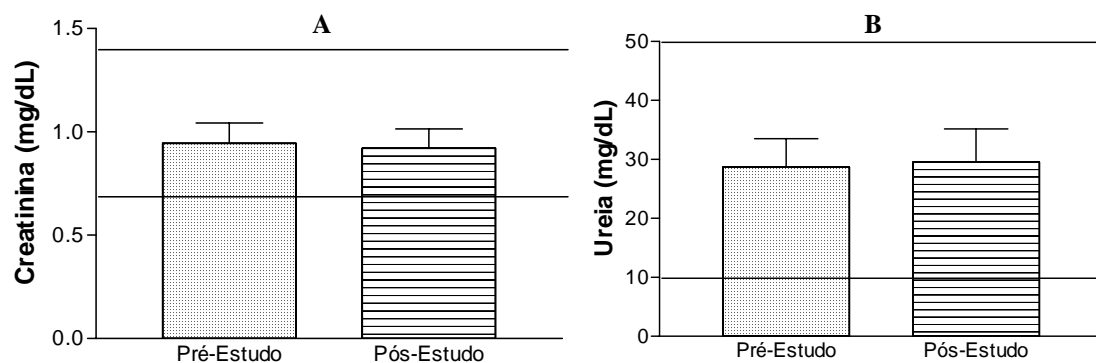
**Tabela 15: Análise das funções hepática e metabólica das médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo de 29 voluntários do sexo masculino.**

Hepática e Metabólica	SGTP (U/L)	SGOT (U/L)	Bilirrubina total (mg/dL)	Gama GT (U/L)	Glicose (U/L)	Colesterol (mg/dL)
Pré-Estudo	22,09 ± 9,25	20 ± 4,63	0,99 ± 0,51	25,83 ± 14,13	85,48 ± 4,83	155,17 ± 27,91
Pós-Estudo	23,82 ± 8,30	21,69 ± 11,18	1,05 ± 0,55	27,10 ± 16,45	86,24 ± 6,76	158,72 ± 28,13
Valores de Referência	21 – 72	17 – 59	0,2 – 1,3	15 – 73	70 – 110	Até 200

\* Estatisticamente significativo do pré-estudo ( $p < 0,05$ )



**Figura 8. Análise hematológica das médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo de 29 voluntários do sexo masculino, \* $p < 0,05$ . Valores de referência: Hemoglobina = 13,5 a 18 g/dL (A) e Leucócitos = 3,6 a 10 x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> (B).**



**Figura 9. Análise da função renal das médias dos valores dos exames laboratoriais pré e pós-estudo, de 29 voluntários do sexo masculino, \* $p < 0,05$ . Valores de referência: Creatinina = 0,7 a 1,3 mg/dL (A) e Uréia = 10 a 50 mg/dL (B).**

Com esses dados, notou-se que as variações ocorridas, após o término do estudo, estão dentro dos valores de normalidade e não eram estatisticamente significantes. Dessa forma, garantiu-se com segurança o estado de higidez dos voluntários.

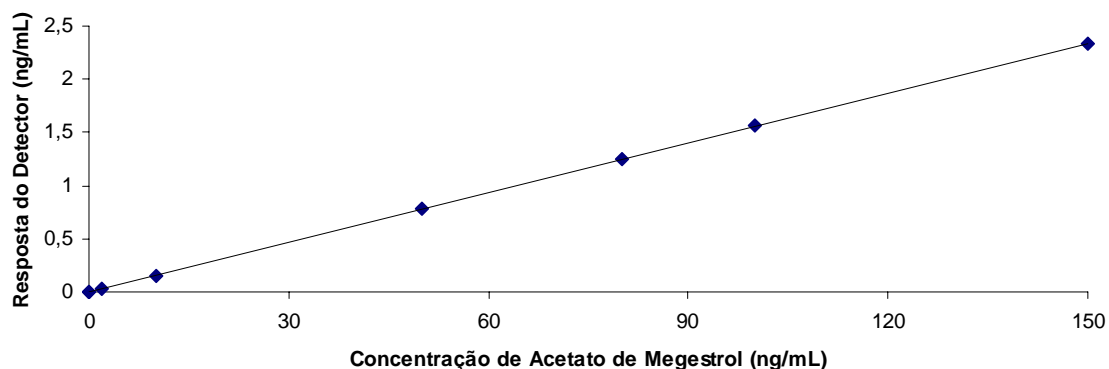
## 2. ETAPA ANALÍTICA

A validação do método bioanalítico é um processo utilizado para garantir que um método analítico quantitativo é sustentável para aplicações biomédicas. Um método desenvolvido envolve avaliação e otimização de várias etapas de preparação de amostras, separação cromatográfica, detecção e quantificação. A validação garante que os parâmetros de eficiências analítica, como sensibilidade, seletividade, precisão, exatidão, recuperação e estabilidade, estão adequados ao seu uso (CAUSON, 1997).

O método descrito foi linear até 150 ng/mL e possui menor limite de quantificação de 2 ng/mL. Isso significa que, neste intervalo de quantificação superior e inferior, essa metodologia analítica é capaz de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (BRASIL, 2003c). Através de métodos estatísticos, foi obtido um coeficiente de correlação maior que 0,98 ( $r = 0,998759$ ) estipulado pela legislação vigente (BRASIL, 2003c).

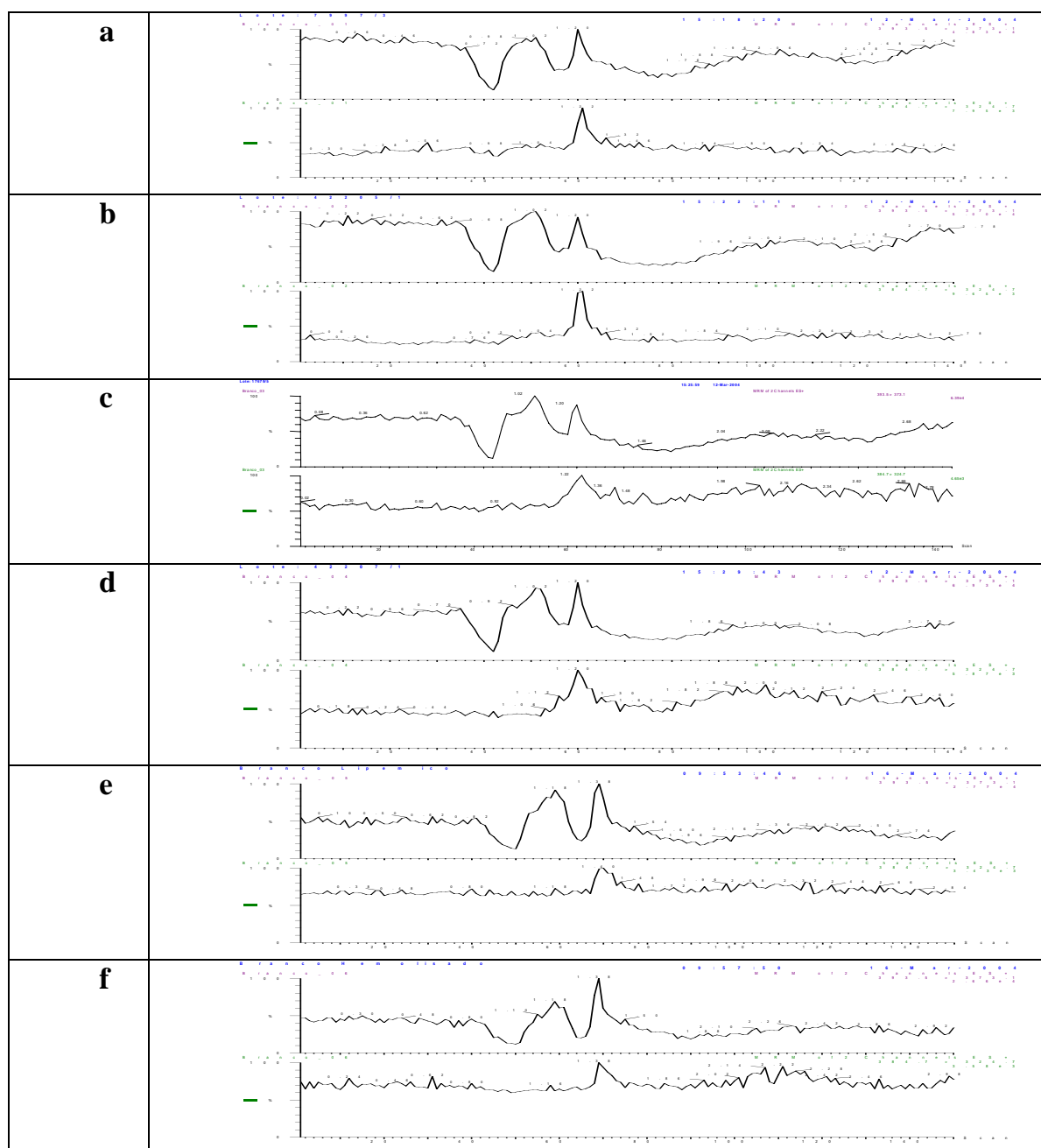
Em 1990, Dikkeschei e colaboradores realizaram uma dosagem de acetato de megestrol e acetato de ciproterona no plasma de pacientes portadores de câncer de mama avançado, através de cromatografia líquida de alta eficiência, e obtiveram linearidade até 626 ng/mL ( $y = 1,712x + 0,0012$ ;  $n = 6$ ;  $r = 0,999$ ) para o acetato de megestrol. O menor limite de quantificação obtido foi de 5 ng/mL para os dois esteróides. Analisando este último dado, conclui-se que o método aqui proposto possui uma melhor sensibilidade do que os estudos desenvolvidos anteriormente.

A curva de calibração, representada na Figura 10, mostra a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito. Observa-se, então, a linearidade da curva média de calibração realizada com seis diferentes concentrações (2, 10, 50, 80, 100 e 150 ng/mL) de acetato de megestrol, tendo como equação  $y = 0,0155893x + 0,000268986$  ( $r = 0,998759$ ). A precisão e a exatidão, encontradas nas curvas de calibração de um dos lotes da validação, foram de 7,04%, 6,14%, 2,62%, 2,56%, 1,34% e 1,85%, e -0,50%, 2,67%, -3,53%, -1,41%, 1,55% e 1,12%, respectivamente. Obtendo-se, dessa forma, desvios menores que 20% para o LQ e menores que 15% para as demais concentrações, em relação à concentração nominal, critérios exigidos pela ANVISA (BRASIL, 2003c).



**Figura 10. Linearidade da curva de calibração realizada com seis diferentes concentrações de acetato de megestrol ( $r= 0,998759$ ).**

A capacidade de medir exatamente um composto, em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz, determina a especificidade e a seletividade do método bioanalítico (MASSART, 1988). A especificidade pode ser investigada pela análise de pelo menos seis amostras de origem diferente da matriz alvo, checando as interferências dos componentes endógenos. Qualquer interferente deve ser menor que 20% da detecção do LQ (CAUSON, 1997). Cada amostra branco foi testada, e os resultados mostraram que não foram encontradas interferências significativas, seja em plasma branco normal, lipêmico ou hemolisado, como demonstrado nos cromatogramas apresentados na Figura 11.

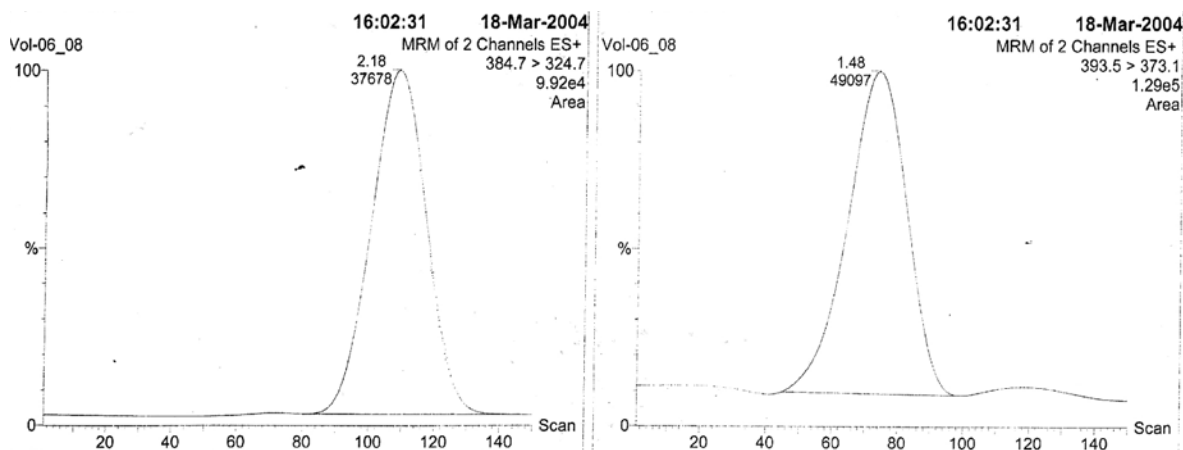


**Figura 11. Cromatograma MRM de plasma branco humano: a) Plasma branco normal, lote 7997/3, b) Plasma branco normal, lote 42205/1, c) Plasma branco normal, lote 17679/5, d) Plasma branco normal, lote 42207/1, e) Plasma branco lipêmico, lote 32513/1, f) Plasma branco hemolisado, lote 34614/4.**

Durante a corrida analítica, o tempo necessário para a detecção do pico do analito ou do padrão interno, caracteriza o tempo de retenção dessas substâncias, sendo de 2,2 e 1,5 minutos, respectivamente, sugerindo que o método desenvolvido possui um elevado grau de especificidade. A Figura 12 apresenta um cromatograma MRM de plasma coletado

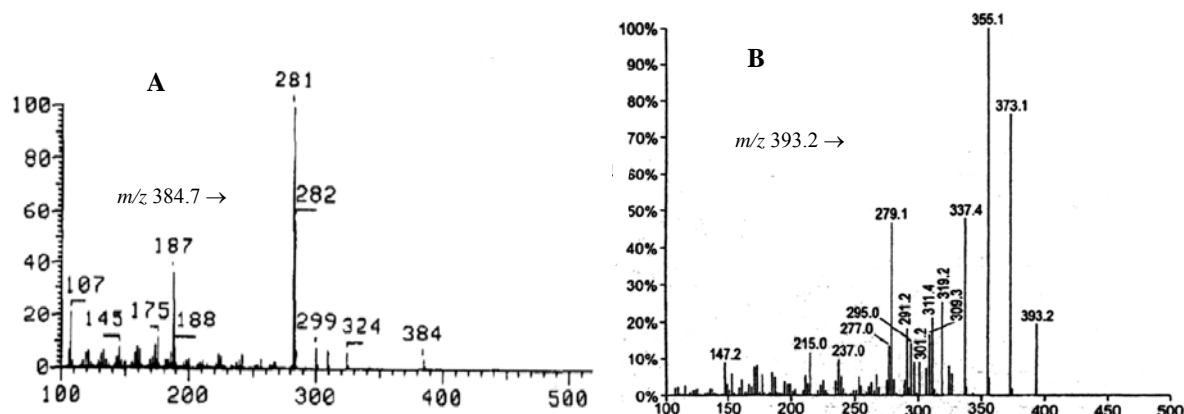


três horas após a administração oral de uma dose de 160 mg de acetato de megestrol, com os respectivos tempos de retenção.



**Figura 12. Cromatograma MRM de plasma coletado três horas após a administração oral de uma dose de 160 mg de acetato de megestrol: (1) acetato de megestrol e (2) betametasona.**

Na detecção do método utilizado, a dissociação induzida por colisão (*CID*) fornece uma energia controlada pelo potencial de separação, ocorrendo entre o orifício e o *skimmer*. A nebulização da solução é, em alguns casos, facilitada pela ajuda do gás nitrogênio. Posteriormente, as moléculas de analito são separadas do solvente, na forma de íons, por quebra das ligações através da energia vibracional gerada a partir da energia de colisão. O acetato de megestrol ( $m/z$  384,7) apresentou fragmentos de íons de  $m/z$  324,7 e para a betametasona ( $m/z$  393,2) fragmentos de  $m/z$  373,1 (Figura 13). Esses produtos foram obtidos a partir da dissociação provocada por ativação colisional (*CAD*), onde o gás argônio produz uma energia vibracional fragmentando os íons precursores. Isso ocorre quando essas moléculas são submetidas ao modo de monitoramento de reação múltipla (*ANTIGNAC et al.*, 2000).



**Figura 13. Espectro de massa do íon fragmento do acetato de megestrol (A) e betametasona (B).**

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada como a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação, chamada de precisão intralote, e a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes, chamada de precisão interlote (CAUSON, 1997).

A proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro define a exatidão de método analítico. Deve ser determinada em uma mesma corrida analítica, a exatidão intralote, e em corridas diferentes, a exatidão interlote (BRASIL, 2003c).

Para obter a precisão e a exatidão, foram utilizadas 4 concentrações distintas dentro da faixa das concentrações esperadas, incluindo o LQ e as concentrações do controle de qualidade. Por definição, o coeficiente de variação (CV), para a precisão, não pode exceder 15% para cada concentração analisada – tolerância até 20% da concentração do limite de quantificação. Em se tratando da exatidão, deve estar dentro de 15% do valor atual em relação à média das amostras de cada concentração – tolerância até 20% da concentração do limite de quantificação (BRASIL, 2003c).

A Tabela 16 apresenta as concentrações das amostras controle de qualidade e os critérios utilizados para a definição de tais concentrações, de acordo com o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos da ANVISA (BRASIL, 2003c). Vale salientar, que não foi encontrado na literatura, nenhum relato de métodos que tenham utilizados amostras de controle de qualidade baixo, médio e alto para a determinação do acetato de megestrol em plasma humano.

**Tabela 16: Definição dos Controles de Qualidade (CQ).**

<b>Tipo do CQ</b>	<b>Identificação do CQ</b>	<b>Definição de Faixa</b>	<b>Valor Definido (ng/mL)</b>
CQ-LQ	LQ	Mesma concentração do LQ	2
CQ Baixo	CQB	Menor ou igual a 3 x LQ	6
CQ Médio	CQM	Aproximadamente a média entre CQB e CQA	60
CQ Alto	CQA	75-90% da maior concentração da curva de calibração	120

As precisões e as exatidões intralote foram 3,16%, 4,65% e 2,68%, e 6,77%, 6,23% e 5,73% para CQB (6 ng/mL), CQM (60 ng/mL) e CQA (120 ng/mL), respectivamente, sendo determinadas para um único lote em quintuplicata e os resultados das análises estão apresentados na Tabela 17.

O estudo realizado por Dikkeschei e colaboradores, em 1990, testou a precisão e exatidão intralote do seu ensaio aplicando à cinco amostras de plasma, uma única concentração de 70,9 ng/mL de acetato de megestrol. Obteve um coeficiente de variação de 1,3% e exatidão de -3,53%. Apesar dos valores encontrados serem inferiores aos obtidos no presente estudo, não é possível compará-los isoladamente com a finalidade de afirmar a superioridade na precisão e exatidão da metodologia de Dikkeschei, uma vez que foi utilizada, para análise, uma única e diferente concentração daquelas desenvolvidas nesse estudo.

**Tabela 17: Análise Intralote dos Controles de Qualidade CQB, CQM e CQA.**

<b>Replicatas</b>	<b>CQB</b>	<b>CQM</b>	<b>CQA</b>
<b>1</b>	6,18	60,38	129,89
<b>2</b>	6,26	62,17	124,10
<b>3</b>	6,36	63,10	124,99
<b>4</b>	6,65	68,17	124,22
<b>5</b>	6,58	64,88	131,20
<b>Média</b>	6,41	63,74	126,88
<b>DP</b>	0,20	2,96	3,39
<b>CV (%)</b>	<b>3,16</b>	<b>4,65</b>	<b>2,68</b>
<b>Exatidão(%)</b>	<b>106,77</b>	<b>106,23</b>	<b>105,73</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

Na Tabela 18 estão apresentados os resultados dos ensaios realizados para avaliar a precisão e exatidão intra-lote do método analítico, utilizando-se plasmas lipêmico e hemolisado. Observou-se que os valores de precisão foram 3,37%, 3,84% e 4,64% para o primeiro plasma, e 4,09%, 3,65% e 2,51% para o segundo. A exatidão ficou em torno de 6,37%, 0,33% e 0,54%, e 6,93%, -3,73% e -6,4%, para CQB, CQM e CQA, respectivamente. Foi verificado um alto grau de precisão e exatidão intra-lote para as referidas concentrações, sugerindo não haver variabilidade e discrepância entre os resultados das amostras dosadas. Na literatura consultada, não foi encontrado nenhum relato de estudo prévio utilizando diferentes concentrações de acetato de megestrol em plasma humano lipêmico e hemolisado. Esse trabalho, procurou garantir a reprodutibilidade e concordância das análises, reduzindo, assim, as possíveis interferências nas amostras contendo plasma lipêmico e hemolisado.

**Tabela 18: Análise Intralote dos Controles de Qualidade do Acetato de Megestrol em plasmas Lipêmico e Hemolisado.**

	Plasma Lipêmico			Plasma Hemolisado		
Réplicas	CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
<b>1</b>	6,32	62,15	121,12	6,37	56,60	111,20
<b>2</b>	6,23	56,97	119,22	6,08	60,95	112,03
<b>3</b>	6,27	59,08	115,54	6,46	55,31	115,83
<b>4</b>	6,76	62,63	129,94	6,81	58,14	114,10
<b>5</b>	6,33	60,17	117,39	6,36	58,11	108,45
<b>Média</b>	6,38	60,20	120,64	6,42	57,82	112,32
<b>DP</b>	0,22	2,31	5,60	0,26	2,11	2,82
<b>CV(%)</b>	<b>3,37</b>	<b>3,84</b>	<b>4,64</b>	<b>4,09</b>	<b>3,65</b>	<b>2,51</b>
<b>Exatidão(%)</b>	<b>106,37</b>	<b>100,33</b>	<b>100,54</b>	<b>106,93</b>	<b>96,37</b>	<b>93,60</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

As análises da precisão e exatidão interlotes são apresentados nas Tabelas 19 e 20. Sendo incluído no cálculo, a análise do limite de quantificação que apresentou 7,53% e 1,20%, respectivamente. Os controles de qualidade baixo-médio-alto tiveram para esses parâmetros, os seguintes resultados: 7,76%, 6,23% e 6,37%, e 0,08%, 1,51% e 2,11%, respectivamente.

A avaliação da precisão e exatidão interlote realizada por Dikkeschei e colaboradores, utilizou dezessete amostras de plasma, a uma concentração de 70,9 ng/mL de acetato de megestrol. Obteve como resultado um coeficiente de variação de 4% e exatidão de -3,53%. Novamente, esses resultados não garantem a superioridade desse método em relação ao aqui proposto, pois é aplicado somente uma única e diferente concentração para determinar a reprodutibilidade e exatidão da metodologia.

Essa nova metodologia contou com a análise da precisão e exatidão de quatro diferentes concentrações, incluindo limite de quantificação (2 ng/mL) e controles de qualidade (6, 60 e 120 ng/mL). Isso nos permite afirmar que os resultados obtidos na quantificação do acetato de megestrol, em diversas concentrações plasmáticas, bem como na avaliação do seu perfil farmacocinético, possui um alto grau de confiança.

**Tabela 19: Análise Interlotes do Controle de Qualidade LQ.**

	<b>LQ (ng/mL)</b>
<b>Média</b>	2,02
<b>DP</b>	0,15
<b>CV (%)</b>	<b>7,53</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>101,20</b>

Concentração nominal: LQ= 2 ng/mL

**Tabela 20: Análise Interlotes dos Controles de Qualidade CQB, CQM e CQA.**

	<b>CQB</b>	<b>CQM</b>	<b>CQA</b>
<b>Média</b>	6,00	60,93	122,53
<b>DP</b>	0,47	3,80	7,80
<b>CV (%)</b>	<b>7,76</b>	<b>6,23</b>	<b>6,37</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>100,08</b>	<b>101,55</b>	<b>102,11</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

A recuperação absoluta de um método bioanalítico é medida comparando os resultados analíticos de amostras extraídas de acetato de megestrol (concentração baixa, média e alta), contemplando a faixa de linearidade do método, com os resultados obtidos com soluções padrão não extraídas de acetato de megestrol, que representam 100% de recuperação. A mesma análise foi feita para 1,2 µg/mL de betametasona. Essa recuperação indica se o método de extração forneceu condições para que não houvesse desperdício significativo do analito presente na amostra (TAYLOR, 1987). Na Tabela 21 estão apresentados os resultados das análises de recuperação, que avaliaram a eficiência do procedimento de extração do método.

**Tabela 21: Análise da porcentagem de recuperação do fármaco e do padrão interno.**

Réplicas	Acetato de Megestrol			Betametasona
	CQB	CQM	CQA	1,2 µg/mL
1	3,37	49,04	109,07	896,31
2	4,80	51,03	110,96	969,50
3	4,99	51,03	111,63	944,36
4	4,63	51,05	110,72	985,73
5	4,66	53,17	109,30	970,76
<b>Média</b>	4,49	51,06	110,34	953,33
<b>DP</b>	0,64	1,46	1,11	35,17
<b>CV (%)</b>	14,29	2,87	1,00	3,69
<b>Recuperação (%)</b>	<b>74,86</b>	<b>85,11</b>	<b>91,95</b>	<b>79,44</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

Os valores de recuperação para os controles de qualidade baixo, médio e alto do acetato de megestrol foram 74,86%, 85,11% e 91,95%, respectivamente. A legislação vigente (BRASIL, 2003c) permite valores menores que 100%, desde que a recuperação seja precisa e exata. Embora seja desejável obter uma recuperação mais próxima de 100% quanto possível a fim de maximizar a sensibilidade do método, é improvável que recuperações acima de 50% comprometam a integridade do método. Bons índices de precisão e exatidão podem ser obtidos com uma recuperação moderada, resultando em uma adequada sensibilidade (CAUSON, 1997).

A validação do método analítico foi realizada com sucesso, uma vez que cumpriu os seguintes critérios:

a) Especificidade: não ocorreram interferências nos tempos de retenção do fármaco ou estas foram menores que 20% da resposta do padrão LQ. Não houve interferência no tempo de retenção do padrão interno ou esta foi menor que 5% da resposta na concentração utilizada no estudo;

b) Sensibilidade: a menor concentração da curva de calibração foi aceito como LQ uma vez que apresentou CV < 20%;

c) Precisão: o coeficiente de variação (CV) calculado para os controles de qualidade CQB, CQM e CQA foram menores ou iguais a 15% e menores ou iguais a 20% para o controle de qualidade LQ;

d) Exatidão: a exatidão calculada para o controle de qualidade LQ e para os controles de qualidade CQB, CQM e CQA apresentaram valores compreendidos dentro do desvio de + 20% e + 15%, respectivamente, em relação ao valor nominal.

Estudos de estabilidade mostram que a concentração de analito presente na amostra no momento da análise corresponde à concentração presente no momento da coleta (DADGAR *et al.*, 1995). As amostras utilizadas nos estudos de estabilidade devem ser comparadas com as recém-preparadas (controles 100%) e analisadas na mesma corrida analítica. Valores superiores a -10% podem denotar comprometimento dos dados, embora variações acima de -20% podem ser aceitos em certas condições (HILL, 1994). As amostras serão consideradas estáveis quando não se observar desvio superior a 15% do valor obtido das amostras recém-preparadas, com exceção do LQ, para o qual se aceita desvio de até 20% (BRASIL, 2003c).

Os resultados da estabilidade do fármaco, no tempo e condições de análise dentro do auto-injetor, mostraram que as variações, em relação às concentrações nominais, encontraram-se dentro da faixa permitida de + 15% até o tempo de 12 horas, conforme a Tabela 22.

Estudos de estabilidade são de notória importância para assegurar a qualidade nos procedimentos bioanalíticos; apesar disso, não foi encontrado nenhum relato, em publicações científicas, a cerca da execução desses testes nas quantificações já realizadas para o acetato de megestrol.



**Tabela 22: Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido ao tempo e condições de análise dentro do auto-injetor.**

t (h)	CQB(1)	CQB(2)	CQB(3)	CQM(1)	CQM(2)	CQM(3)	CQA(1)	CQA(2)	CQA(3)
0	5,75	6,47	5,86	58,17	62,86	58,81	113,93	114,51	118,01
1	5,97	6,55	5,79	56,52	64,67	60,53	110,22	112,73	114,87
2	5,93	6,03	5,42	55,42	61,10	63,04	125,00	123,31	128,74
3	5,96	6,05	5,46	55,48	63,76	62,11	123,88	122,86	127,29
4	6,00	6,56	5,69	58,61	65,94	64,62	124,58	122,04	125,73
6	5,42	5,94	5,98	62,17	63,79	56,86	110,19	110,52	116,95
8	5,97	6,47	6,36	60,90	65,65	60,36	113,50	114,70	119,78
12	6,56	6,54	6,22	61,97	66,50	63,83	120,79	118,48	126,82
25	6,35	7,16	6,37	61,72	66,53	67,18	136,31	138,71	147,68
<b>Média</b>	5,99	6,42	5,91	59,00	64,53	61,93	119,82	119,76	125,10
<b>DP</b>	0,32	0,37	0,36	2,79	1,83	3,15	8,65	8,49	9,88
<b>CV (%)</b>	<b>5,42</b>	<b>5,84</b>	<b>6,05</b>	<b>4,72</b>	<b>2,84</b>	<b>5,09</b>	<b>7,22</b>	<b>7,09</b>	<b>7,90</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>99,83</b>	<b>106,98</b>	<b>98,43</b>	<b>98,33</b>	<b>107,56</b>	<b>103,21</b>	<b>99,85</b>	<b>99,80</b>	<b>104,25</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

A Tabela 23 apresenta as variações obtidas quando são comparados os valores médios de CQB, CQM e CQA obtidos no tempo 0 h com os valores médios de CQB, CQM e CQA obtidos no tempo 12 h. Os resultados obtidos estão abaixo do desvio permitido de 15% para os três controles analisados e, portanto, pode-se concluir que as amostras permaneceram estáveis dentro do auto-injetor durante o período de 12 h.

**Tabela 23: Média e Desvios obtidos no estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido à análise no auto-injetor.**

t (0 h)	CQB	CQM	CQA	t (12 h)	CQB	CQM	CQA
<b>Média</b>	6,03	59,95	115,48	<b>Média</b>	6,44	64,10	122,03
<b>DP</b>	0,39	2,54	2,21	<b>DP</b>	0,19	2,28	4,31
<b>CV (%)</b>	6,44	4,24	1,91	<b>CV (%)</b>	2,96	3,55	3,53
					<b>CQB</b>	<b>CQM</b>	<b>CQA</b>
<b>Variação entre o tempo de 0 a 12 h (%)</b>					-6,86	-6,93	-5,67

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

Durante a validação do método, tomaram parte dos estudos de estabilidade, testes realizados em ciclos de congelamento e degelo. A oscilação de temperatura, à qual as amostras seriam submetidas na quantificação, foi simulada através dos ciclos executados durante o desenvolvimento do método. A finalidade destes testes foi verificar a ocorrência de degradação de uma fração significativa da amostra. A avaliação da estabilidade do acetato de megesterol durante três ciclos de congelamento e descongelamento para os controles de qualidade baixo, médio e alto está apresentada nas Tabelas 24, 25 e 26, respectivamente.

**Tabela 24: Estudo de estabilidade do Acetato de Megesterol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade baixo.**

Réplicas	Amostras recém-preparadas	CQB		
		Degelo 1	Degelo 2	Degelo 3
1	5,92	5,89	5,79	5,26
2	6,23	5,46	5,67	5,78
3	5,61	5,83	6,12	5,59
4	5,80	5,21	5,67	5,94
5	6,08	5,41	5,95	5,49
<b>Média</b>	5,93	5,56	5,84	5,61
<b>DP</b>	0,24	0,29	0,19	0,26
<b>CV (%)</b>	<b>4,06</b>	<b>5,22</b>	<b>3,32</b>	<b>4,67</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>98,80</b>	<b>92,67</b>	<b>97,33</b>	<b>93,53</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL

**Tabela 25: Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade médio.**

	Amostras recém-preparadas	CQM		
Réplicas	CQM	Degelo 1	Degelo 2	Degelo 3
1	62,59	54,23	55,56	56,46
2	61,84	57,25	54,11	61,40
3	65,01	56,77	56,11	64,53
4	65,37	66,18	74,22	67,45
5	62,24	57,97	59,39	68,63
<b>Média</b>	<b>63,41</b>	<b>58,48</b>	<b>59,88</b>	<b>63,69</b>
<b>DP</b>	<b>1,65</b>	<b>4,53</b>	<b>8,25</b>	<b>4,92</b>
<b>CV (%)</b>	<b>2,60</b>	<b>7,74</b>	<b>13,77</b>	<b>7,72</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>105,68</b>	<b>97,47</b>	<b>99,80</b>	<b>106,16</b>

Concentração nominal: CQM= 60 ng/mL

**Tabela 26: Estudo de estabilidade do Acetato de Megestrol em plasma submetido a três ciclos de congelamento e descongelamento para o controle de qualidade alto.**

	Amostras recém-preparadas	CQA		
Réplicas	CQA	Degelo 1	Degelo 2	Degelo 3
1	114,06	117,84	55,56	133,89
2	128,61	105,33	54,11	127,06
3	121,46	105,64	56,11	121,56
4	119,33	110,02	74,22	115,46
5	117,85	109,35	59,39	117,59
<b>Média</b>	<b>120,26</b>	<b>109,64</b>	<b>59,88</b>	<b>123,11</b>
<b>DP</b>	<b>5,39</b>	<b>5,05</b>	<b>8,25</b>	<b>7,47</b>
<b>CV (%)</b>	<b>4,48</b>	<b>4,61</b>	<b>13,77</b>	<b>6,07</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>100,22</b>	<b>91,36</b>	<b>99,80</b>	<b>102,59</b>

Concentração nominal: CQA= 120 ng/mL

São apresentadas as variações das médias para cada controle de qualidade (CQB, CQM e CQA) em cada ciclo de descongelamento e degelo, em relação às médias obtidas para as amostras recém-preparadas, na Tabela 27.

**Tabela 27: Variação das médias dos controles de qualidade nos ciclos de congelamento e degelo em relação às médias das amostras recém-preparadas.**

	CQB			CQM			CQA		
	Degelo1	Degelo2	Degelo3	Degelo1	Degelo2	Degelo3	Degelo1	Degelo2	Degelo3
<b>Variação* (%)</b>	<b>-6,21</b>	<b>-1,48</b>	<b>-5,33</b>	<b>-7,77</b>	<b>-5,57</b>	<b>0,45</b>	<b>-8,84</b>	<b>-6,08</b>	<b>2,37</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

\* Variação das amostras recém preparadas e degelos 1, 2 e 3

A Tabela 27 traz uma comparação das variações das médias dos CQB, CQM e CQA para amostras recém-preparadas (Tabelas 24, 25 e 26) e as médias dos CQB, CQM e CQA, em cada ciclo de congelamento e degelo (Tabelas 24, 25 e 26). Com base nestes resultados, pode-se inferir que o acetato de megestrol analisado no plasma humano é estável nos três ciclos de congelamento e descongelamento, quando armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ , uma vez que foram quantificados a cada degelo.

A Tabela 28 apresenta os resultados das análises realizadas com amostras recém-preparadas (a fresco) e com as amostras de longa duração, que permaneceram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por um período equivalente ao compreendido entre a primeira coleta e análise da última amostra, segundo o preconizado pela ANVISA na RE nº 899/2003.

**Tabela 28: Estabilidade de longa duração para o Acetato de Megestrol no fluido biológico.**

Réplicas	Amostras Recém Preparadas			Amostras de longa duração		
	CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
<b>1</b>	5,98	65,48	108,45	5,63	57,96	111,44
<b>2</b>	6,05	57,21	127,35	5,42	54,06	113,69
<b>3</b>	5,62	59,66	111,54	5,81	58,26	109,82
<b>4</b>	5,71	55,79	109,68	5,40	55,62	113,02
<b>5</b>	6,44	54,75	109,39	5,64	59,10	106,87
<b>Média</b>	5,96	58,58	113,28	5,58	57,00	110,97
<b>DP</b>	0,32	4,28	7,94	0,17	2,09	2,74
<b>CV (%)</b>	<b>5,42</b>	<b>7,30</b>	<b>7,01</b>	<b>3,06</b>	<b>3,67</b>	<b>2,47</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>99,33</b>	<b>97,63</b>	<b>94,40</b>	<b>93,00</b>	<b>95,00</b>	<b>92,47</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

As variações obtidas, quando são comparados os valores médios de CQB, CQM e CQA, para as amostras recém-preparadas, com os valores médios de CQB, CQM e CQA, para as amostras armazenadas, durante 102 dias (período de armazenamento para o estudo de estabilidade de longa duração), estão abaixo dos desvios permitidos de 15% para os três controles analisados e, portanto, pode-se concluir que o acetato de megestrol, analisado no plasma humano, permaneceu estável neste período em que as amostras ficaram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e, portanto, apresentam estabilidade de longa duração.

Na Tabela 29, estão apresentados os resultados das análises realizadas com amostras recém-preparadas, amostras não processadas (mantidas, em espera, na bancada durante seis horas, à temperatura ambiente, para, então serem extraídas e analisadas no sistema cromatográfico) e amostras após quatro dias de congelamento.

**Tabela 29: Estabilidade das amostras de plasma não processadas.**

Réplicas	Amostras Recém preparadas			Amostras analisadas após 6h à temperatura ambiente			Amostras analisadas após 4 dias de congelamento		
	CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
<b>1</b>	5,92	62,59	114,06	6,13	56,61	117,79	5,24	58,92	116,53
<b>2</b>	6,23	61,84	128,61	5,51	58,02	110,36	5,54	66,24	125,46
<b>3</b>	5,61	65,01	121,46	5,21	57,50	113,63	5,58	57,38	119,84
<b>4</b>	5,80	65,37	119,33	5,53	58,99	112,63	5,45	62,80	124,01
<b>5</b>	6,08	62,24	117,85	5,35	60,32	116,55	5,47	57,57	117,62
<b>Média</b>	5,93	63,41	120,26	5,55	58,29	114,19	5,46	60,58	120,69
<b>DP</b>	0,24	1,65	5,39	0,35	1,43	3,00	0,13	3,84	3,91
<b>CV (%)</b>	<b>4,06</b>	<b>2,60</b>	<b>4,48</b>	<b>6,34</b>	<b>2,45</b>	<b>2,63</b>	<b>2,41</b>	<b>6,34</b>	<b>3,24</b>
<b>Exatidão (%)</b>	<b>98,80</b>	<b>105,68</b>	<b>100,22</b>	<b>92,43</b>	<b>97,15</b>	<b>95,16</b>	<b>90,93</b>	<b>100,97</b>	<b>100,58</b>

Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

Comparando-se os valores médios obtidos, para os controles de qualidade baixo, médio e alto das amostras recém-preparadas com as amostras não processadas, com aqueles obtidos para as amostras analisadas após quatro dias de congelamento, pode-se notar que as variações resultantes são menores que 15% para todos os controles de qualidades, o que indica a estabilidade das amostras de plasma não processadas durante o processo de quantificação.

Devem se fazer presentes, ainda, testes para verificação da estabilidade das soluções padrão do analito e do padrão interno, com a finalidade de assegurar a manutenção das propriedades físico-químicas, mesmo sob as variações ambientais que decorrem do processo bioanalítico. Na Tabela 30, estão apresentados os resultados das análises das áreas dos picos, obtidos em cromatogramas, realizadas com soluções padrão de acetato de megesterol 500 ng/mL e de betametasona 1,2 µg/mL recém-preparadas, seis horas após preparo (à temperatura ambiente) e após dez dias de refrigeração.

**Tabela 30: Estabilidade das soluções padrão para o Acetato de Megestrol e Betametasona.**

Réplicas	Recém Preparada		Soluções padrão 6h após preparo a temperatura ambiente		Soluções padrão após 10 dias de refrigeração	
	Acetato de Megestrol	Betametasona	Acetato de Megestrol	Betametasona	Acetato de Megestrol	Betametasona
<b>1</b>	173571	174825	202012	173261	201124	163855
<b>2</b>	175633	172786	201444	174663	199015	162823
<b>3</b>	173319	162468	199783	161331	200987	163093
<b>Média</b>	174174,3	170026,3	201079,7	169751,7	200375,3	163257
<b>DP</b>	1269,51	6624,63	1158,30	7326,13	1180,07	535,19
<b>CV (%)</b>	<b>0,73</b>	<b>3,90</b>	<b>0,58</b>	<b>4,32</b>	<b>0,59</b>	<b>0,33</b>

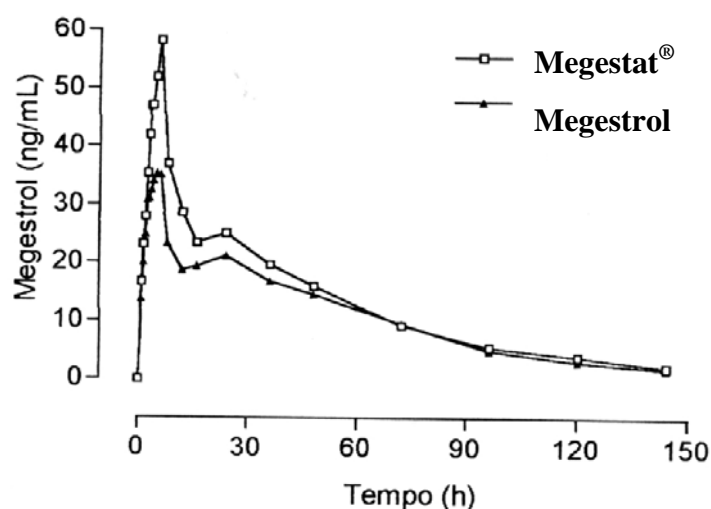
Concentração nominal: CQB= 6 ng/mL, CQM= 60 ng/mL e CQA= 120 ng/mL

Comparando-se os valores médios das áreas obtidas para as soluções padrão de acetato de megestrol e de betametasona recém-preparadas com os valores médios obtidos para as soluções padrão mantidas à temperatura ambiente, expostas durante 6h, e com as soluções padrão analisadas após 10 dias sob refrigeração, pode-se notar que as variações obtidas são menores que 15%, o que indica a estabilidade físico-química das soluções padrão do fármaco e do padrão interno.

### 3. ETAPA FARMACOCINÉTICA

A metodologia desenvolvida foi aplicada para a quantificar e traçar o perfil farmacocinético de duas formulações de 160 mg de acetato de megestrol em um estudo de bioequivalência. Através da etapa de validação do método, foi garantida, por meio de estudos experimentais, a confiabilidade dos resultados, indicando a adequada especificidade, linearidade, precisão, sensibilidade, exatidão e robustez - capacidade de resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos.

A Figura 14 representa a curva média das concentrações plasmáticas de acetato de megestrol dos 28 voluntários *versus* tempo. É importante ressaltar o fato de que a Figura 14 foi construída a partir das médias dos valores das concentrações de cada tempo, porém não avalia a razão das médias geométricas de  $C_{max}$  e  $ASC_{(0-144h)}$ , não podendo ser utilizada para questionar a intercambialidade das duas formulações. No entanto, com ela obtemos uma representação gráfica dos processos farmacocinéticos de absorção e excreção dos fármacos. No anexo V estão apresentados os gráficos das curvas de concentrações contra o tempo e os parâmetros farmacocinéticos para cada indivíduo.



**Figura 14. Curva média da concentração plasmática (ng/mL) versus tempo (h) após a administração de duas formulações de 160 mg de acetato de megestrol em 28 voluntários saudáveis.**



Para avaliar as variações inter (seqüência) e intra-individual (período) para a concentração máxima e a área sob a curva, utilizou-se de uma análise de variância para obter a variabilidade dos dados, em um delineamento cruzado padrão 2x2, como mostra as Tabelas 31 e 32.

**Tabela 31: ANOVA para  $\ln(C_{\max})$ .**

Fonte	g.l.	SQ	QM	F	Valor de p
Inter-individual					
Seqüência	1	0,4594	0,4194	1,2708	<b>0,2699</b>
Resíduos (Inter)	26	8,5818	0,3300	2,0244	0,0389
Intra-individual					
Fármaco	1	1,6351	1,6351	10,0290	0,0039
Período	1	0,0256	0,0256	0,1570	<b>0,6951</b>
Resíduos (Intra)	26	4,2391	0,1630		
Total	55	14,9013			

**Tabela 32: ANOVA para  $\ln(ASC_{(0-144h)})$ .**

Fonte	g.l.	SQ	QM	F	Valor de p
Inter-individual					
Seqüência	1	0,4572	0,4572	0,9531	<b>0,3379</b>
Resíduos (Inter)	26	12,4736	0,4797	4,5069	0,00017
Intra-individual					
Fármaco	1	0,8737	0,8737	8,2083	0,0081
Período	1	0,0982	0,0982	0,9226	<b>0,3456</b>
Resíduos (Intra)	26	2,7676	0,1064		
Total	55	16,6705			

Verifica-se que, tanto para  $C_{\max}$  como para  $ASC_{(0-144h)}$ , o efeito de seqüência não é significativo, pois o valor de p é maior que 0,05 (valor de p = 0,2699 para  $C_{\max}$  e valor de p = 0,3379 para  $ASC_{(0-144h)}$ ). Constata-se, através desses dados, que há uma variação inter-individual não significativa entre os valores encontrados para  $C_{\max}$  e para  $ASC_{(0-144h)}$ .

Nota-se também que o efeito do período não é significativo (valor de  $p = 0,6951$ ) para  $C_{\max}$ , bem como para  $ASC_{(0-144h)}$  (valor de  $p = 0,3456$ ). Isso demonstra que a variabilidade intra-individual não representou um fator de interferência na absorção do fármaco e conseqüentemente, alteração da biodisponibilidade de ambas as formulações. Deve-se ressaltar que entre as administrações houve um intervalo de 27 dias, suficiente para a completa eliminação do medicamento.

Em 1984, Alexieva-Figusch e colaboradores utilizaram técnicas de radioimunoensaio para determinar as concentrações de acetato de megestrol em dez voluntários sadios do sexo feminino, após administração de um comprimido de 60 mg ou quatro de 15 mg, em um estudo cruzado. A média do  $C_{\max}$  após 2,6 horas foi de 43,9 ng/mL (variação de 21,7 a 87,7 ng/mL) e a área sob a curva obtida de 0 a 24 horas foi de 495 ng.h/mL (variação de 288 a 967 ng.h/mL). Este trabalho, através da análise de variância, demonstrou a existência de grande variabilidade intra e inter-individual, sugerindo a existência de problemas metodológicos.

Como, geralmente, são administradas doses elevadas de acetato de megestrol, o monitoramento dos níveis plasmáticos se faz necessário, dadas as já esperadas diferenças intra e inter-individuais na absorção e no metabolismo (DIKKESCHEI *et al.*, 1985). Entretanto, particularmente no estudo aqui relatado, não se observou diferenças intra e inter-individuais estatisticamente significativas. Deve-se considerar, ainda, que este resultado foi obtido em um ensaio clínico, que contou com a participação de voluntários saudáveis e do sexo masculino, eliminando-se assim, a interferência de doenças – um fator de variação intra-individual – e variações hormonais cíclicas – um fator de variação inter-individual.

Dikkeschei, em 1990, desenvolveu um método para quantificar o acetato de megestrol através da cromatografia líquida de alta eficiência e, em seguida, para maior credibilidade do seu ensaio, as amostras foram dosadas por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. Essa técnica contou com um limite de quantificação de 5 ng/mL, com a análise de somente uma concentração de acetato de megestrol em plasma, para assegurar a reprodutibilidade e segurança do método bioanalítico. Ao comparar a metodologia antes utilizada com a atualmente desenvolvida, verifica-se um aumento na sensibilidade e seletividade, tornando o método mais rápido (cada quantificação foi

programada para 3 minutos), permitindo a dosagem – incluindo-se aqui, preparo, aquisição e processamento de dados – de mais de 160 amostras diariamente.

Na Tabela 33 estão apresentados os parâmetros farmacocinéticos médios, usando um intervalo de confiança de 90%, obtidos das análises plasmáticas de 28 voluntários submetidos ao ensaio entre Megestat<sup>®</sup> e Acetato de Megestrol.

**Tabela 33: Média e IC (90%) dos parâmetros farmacocinéticos obtidos após a administração de 160 mg de Megestat<sup>®</sup> e Acetato de Megestrol.**

Parâmetros Farmacocinéticos		Formulação	
		Megestat <sup>®</sup>	Acetato de Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	Média (IC 90%)	1882,97 (1566,99 – 2198,95)	1577,34 (1242,79 – 1911,89)
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	Média (IC 90%)	2113,47 (1734,72 – 2492,23)	1768,38 (1360,34 – 2176,42)
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)		90,4	90,8
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	Média (IC 90%)	66,89 (56,48 – 77,31)	48,44 (40,31 – 56,56)
$T_{max}$ (h)	Média (IC 90%)	4,41 (3,87 – 4,95)	6,45 (3,86 – 9,04)
$t_{1/2}$ (h)	Média (IC 90%)	40,96 (34,23 – 47, 69)	33,52 (29,24 – 37,80)
$K$ (1/h)	Média (IC 90%)	0,02 (0,018 – 0,022)	0,02 (0,016 – 0,024)

Com base nos parâmetros farmacocinéticos encontrados, as duas formulações apresentaram diferenças no que diz respeito à área sob a curva e à concentração máxima. Entretanto, os valores médios do tempo máximo para atingir o pico de concentração permaneceram sem diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,21$ ), para o intervalo de 90% de confiança.

Tendo em vista que  $ASC_{(0-\infty)}$  consiste de um valor estimado representativo da extensão total de absorção do fármaco e, que a  $ASC_{(0-144h)}$  representa a extensão de absorção

quantificada na metodologia em estudo, a relação desses dois valores deve ser maior ou igual a 80%. A média de  $ASC_{0-144h}$  (Megestat<sup>®</sup> = 1882,97, Megestrol = 1577,34) é maior que 80% da média de  $ASC_{0-\infty}$  (Megestat<sup>®</sup> 80% = 1690,77, Megestrol 80% = 1414,70), para o medicamento Megestat<sup>®</sup> e Acetato de Megestrol, conforme preconiza a RE n° 899/2003.

As razões das médias geométricas do  $C_{max}$  e  $ASC_{0-144h}$  da formulação de comprimidos de acetato de megestrol 160 mg pelo Megestat<sup>®</sup> 160mg foi de 71,05% e 77,89%, respectivamente. O intervalo de confiança de 90% foi de 59,11 – 85,41% e 67,13 - 90,38%, respectivamente.

A *Food and Drug Administration* (FDA) propôs que formulações farmacêuticas sejam consideradas bioequivalentes quando a razão das médias de  $C_{max}$  e  $AUC_{(0-144h)}$  apresentarem-se entre 80–125% (considerando um intervalo de confiança de 90%). Os resultados estatísticos demonstraram que a formulação de acetato de megestrol 160 mg não foi bioequivalente à formulação Megestat<sup>®</sup> quanto à taxa ( $C_{max}$ ) e extensão de absorção (ASC) após uma única administração.

De acordo com Dollery (1999), a meia-vida de eliminação do acetato de megestrol é de aproximadamente 15 a 20 horas. Nossos resultados demonstraram, no entanto, que o valor médio da meia-vida para as duas formulações testadas foi de 33,52 a 40,96 horas. Tal diferença pode ser justificada pela maior sensibilidade do método (LQ = 2 ng/mL) em relação aos métodos utilizados em estudos anteriores, tornando possível a detecção de níveis plasmáticos com precisão e exatidão, em um intervalo de tempo para o qual a quantificação não seria possível anteriormente.

Uma vantagem da sensibilidade do método descrito é permitir, ao investigador, administrar doses mais baixas da medicação testada e com isso aumentar o grau de segurança para os voluntários do estudo, diminuindo a probabilidade de aparecimento de um número maior de eventos adversos, já que, na maioria das vezes, esses são dose-dependentes. A sensibilidade do método analítico é um fator determinante da dose utilizada no estudo farmacocinético.

Devido ao grande uso de acetato de megestrol para o tratamento de vários tipos de câncer hormônio-dependente ou da caquexia, a grande variação inter-individual indica uma forte necessidade de monitorização dos níveis plasmáticos durante o tratamento. A especificidade e os níveis plasmáticos são relativamente altos depois da dosagem comumente utilizada no tratamento do câncer, tornando a monitorização das concentrações plasmáticas de acetato de megestrol mais confiáveis. Entretanto, não foram desenvolvidos estudos que relatem os efeitos desse fármaco no tratamento do câncer, obtidos através de suas concentrações sanguíneas reais.

## **CONCLUSÃO**

---

Através da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massa no modo MS/MS, desenvolveu-se um método sensível e altamente seletivo do que outros já registrados para determinar os níveis de acetato de megestrol no plasma humano. O método desenvolvido é rápido, sendo a quantificação programada para 3 minutos e mais de 160 amostras podem ser dosadas diariamente.

O método bioanalítico foi aplicado com sucesso para analisar os parâmetros farmacocinéticos do acetato de megestrol após a administração de duas formulações de 160 mg para voluntários saudáveis, que mostraram não ser intercambiáveis.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---



1. ADLERCREUTZ, H.; ERIKSEN, P.B.; CHRISTENSEN, M.S. Plasma concentrations of megestrol acetate and medroxyprogesterone acetate after single oral administration to healthy subjects. **Journal Pharmaceutical & Biomedical Analysis.**, v. 1, n. 2, p. 153-162, 1983.
2. ALEXIEVA-FIGUSCH, J.; BLANKENSTEIN, M.A.; HOP, W.C.J.; KLIJN, J.G.M.; LAMBERTS, S.W.J.; DE JONG, F.H.; DOCTER, R.; ADLERCREUTZ, H.; VAN GILSE, H.A. Treatment of metastatic breast cancer patients with different dosages of megestrol acetate; dose relations, metabolic and endocrine effects. **European Journal of Cancer Clinical Oncology**, v. 20, p. 33-40, 1984.
3. ALEXIEVA-FIGUSCH, J.; TEULINGS, F.A.G. et al. In: LECLERQ, G.; TOMA, S.; PARIDAENS, R.; HENSON, J.C. Clinical Interest of Steroid Hormone Receptors in Breast Cancer; **European Experience. Recent Results in Cancer Research.** Springer Verlag, Berlin, 1981.
4. ANSFIELD, F.J.; DAVIS, H.L.; ELLERBY, R.A.; RAMIREZ, G. A clinical trial of megestrol acetate in advanced breast cancer. **Cancer**, v. 33, p. 907-910, 1974.
5. ANTIGNAC, J.P., BIZEC, B.L., MONTEAU, F., POULAIN, F., ANDRE, F., Collision-induced dissociation of corticosteroids in electrospray tandem mass spectrometry and development of a screening method by high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, **RCMS**, v. 14, p. 33-39, 2000.
6. ARONSON, N.E.; AMEGIN, G.P. Posterior subcapsular cataract associated with megestrol acetate therapy. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 19, p. 90-91, 1993.
7. BENNET, P.K.; YU-TSYR, L.; EDOM, R.; HENION, J. Quantitative determination of orlistat (tetrahydrolipostatin Ro18-0647) in human plasma by HPLC coupled with ion spray tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 32, p. 739-749, 1997.
8. BENNETT, L.Z. Understanding Bioequivalence Testing. **Transplantation Proceedings**, v. 31, Suppl 3A, 7S-9S, 1999.
9. BENRAAD, T.H.J.; FRIBERG, L.G.A.; KOENDERS, J.M.; KULLANDER, S. Do estrogen and progesterone receptors (E2R and PR) in metastasizing endometrial cancers predict the response to gestagen therapy? **Acta Obstetric Gynecology Scandinavica**, v. 59, p. 155-159, 1980.

10. BJÖRKHEM, I.; BLOMSTRAND, R.; LAUTTO, O.; SVENSON, L.; OHMAN, G. Toward absolute methods in clinical chemistry: application of mass fragmentography to high-accuracy analyses. **Clinical Chemistry**, v. 22, p. 1789-1801, 1976.
11. BONOMI, P.; JOHNSON, P.; ANDERSON, K., et al.. Primary hormonal therapy of advanced breast cancer with megestrol acetate. **Seminars in Oncology**, v. 12, p. 48-54, 1985.
12. BONOMI, P.; PRESSIS, D.; BUNTING, N. et al.. Megestrol acetate used as primary hormonal therapy in stage D prostatic cancer. **Seminars in Oncology**, v. 12, p. 36-39, 1985.
13. BRASIL. Resolução da diretoria colegiada da ANVISA (RDC) N° 135, de 29 de maio de 2003. Estabelece regulamento técnico para medicamento genérico. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 02 de junho de 2003a.
14. BRASIL. Resolução N° 896, de 29 de maio de 2003. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 02 de junho de 2003b.
15. BRASIL. Resolução N° 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 02 de junho de 2003c.
16. BRITISH BREAST GROUP, **Gynaecologia**, v. 35, p. 509-510, 1980.
17. BRUCHOVSKY, N.; RENNIE, P.S.; COLDMAN, A.J.; et al.. Effect of antiandrogen withdrawal on stem cell composition of the Shionogi carcinoma. **Cancer Research**, v. 50, p. 2275-2282, 1990.
18. CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis. Viewpoint and discussion. **Journal of Chromatography B**, v. 689, p. 175-180, 1997.
19. CHAST, F. **História Contemporânea dos Medicamentos**. Editions la Decouverte, Paris, 1995.
20. CHOW, S-C; LIU, J-P. **Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies**. Published by Marcel Dekker Inc., New York, 1992.
21. CODY, R.B.; TAMURA, J.; FINCH, J.W.; MUSSELMAN, B.D.J. **American Society for Mass Spectrometry**, v. 5, 194p, 1994.
22. COLE, R.B. **Electrospray Ionization Mass Spectrometry**. John Wiley & Sons Inc., Chichester, 1997.

23. CRAWFORD, E.D. Changing concepts in the management of advanced prostate cancer. **Urology Symposium**, v. 44, p. 67-74, 1994.
24. DADGAR, D.; BURNETT, P.E.; CHOC, M.G.; GALLICANO, K.; HOOPER, J.W. Application issues in bioanalytical method validation, sample analysis and data reporting. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, p. 89, 1995.
25. DALIANI, D.; PAPANDREOU, C.N. Markers of androgen-independent progression of prostatic carcinoma. **Seminars in Oncology**, v. 26, n. 4, p. 399-406, 1999.
26. DAVIS, M.P.; DICKERSON, D. Cachexia and anorexia: cancer's covert killer. **Support Care Cancer**, v. 8, p. 180-187, 2000.
27. DAWSON, N.A. **Hormonal therapy for prostate cancer: what you need to know.** American Society of Clinical Oncology Eds., Alexandria, Virginia, p. 368-372, 1998.
28. DIKKESCHEI, L.D.; VAN VEELLEN, H.; NAGEL, G.T.; WILLEMSE, P.H.B.; WOLTHERS, B.G. Specific and sensitive determination of medroxyprogesterone acetate in human serum by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 345, p. 1-10, 1985.
29. DIKKESCHEI, L.D.; WOLTHERS, B.G.; RUYTER-BUITENHUIS, A.W.; NAGEL, G.L.; SLEIJFER, D.T.; WILLEMSE, P.H.B.; VAN DER SLIK, W. Determination of megestrol acetate and cyproterone acetate in serum of patients with advanced breast cancer by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 529, p. 145-154, 1990.
30. DOLE, M.; MACK, L.L.; HINES, R.L.; MOBLEY, R.C.; FERGUSON, L.D.; ALICE, M.B.J. **Chemical Physics**, v. 49, 2240p, 1968.
31. DOLLERY, C. **Therapeutic Drugs.** Churchill Livingstone. 2<sup>a</sup> Ed., London, p. M33-M34, 1999.
32. ERLICHMAN, C.; LORINZI, C.L. Hormonal therapies. In: DEVITA, V.T.JR.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S.A. **Cancer. Principles and practice of oncology**, 6 Ed. Lippincott Williams and Wilkins, p. 478-488, 2001.
33. EUBANKS, V.; KOPPERSMITH, N.; WOOLDRIDGE, N.; CANCY, J.P.; LYRENE, R.; ARANI, R.B.; LEE, J.; MOLDAWER, L.; ATCHISON, J.; SORSCHER, E.J.; MAKRIS, C.M. Effects of megestrol acetate on weight gain, body composition and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. **The Journal of Pediatrics**, v. 140, n. 4, p. 439-444, 2002.

34. FACLAND, M.; FACKLAND, H. **Healing Drugs: The History of Pharmacology**. Facts on File Inc., New York, 1992.
35. FENN, J.B.; MANN, M.; MENG, C.K.; WONG, S.F.; WHITEHOUSE, C.M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, v. 246, p. 64-71, 1989.
36. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **General Considerations for The Clinical Evaluation of Drugs**. U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1997.
37. GAGNON, B.; BRUERA, E. A review of the drug treatment of cachexia associated with cancer. **Drugs**, v. 55, p. 657-688, 1998.
38. GALLAGHER, R.T.; CHAPMAN, J.R.; MANN, M. **Rapid Community Mass Spectrometry**, v. 4, 369p, 1990.
39. GELLER, J.; ALBERT, J.; YEN, S.S.C. Treatment of advanced cancer of prostate with megestrol acetate. **Urology**. v. 12, p. 537-541, 1978.
40. GELLER, J.; FRUCHTMAN, B.; NEWMAN, H.; ROBERTS, T.; SILVA, R. Effect of progestational agents on carcinoma of the prostate. **Cancer Chemotherapy Reports**, v. 51, 41p, 1967.
41. GIBALDI, M. **Biopharmaceuticals and Clinical Pharmacokinetics**. 4a Ed, 1991.
42. GOKTAS, S.; CRAWFORD, E.D. Optimal hormone therapy for advanced prostatic carcinoma. **Seminars in Oncology**, v. 26, n. 2, p. 162-173, 1999.
43. GORDON, D.; HORWITT, B.N.; SEGALOF, A.; MURISON, P.J.; SCHLOSSER, J.V. **Cancer**, v. 5, p.275-277, 1952.
44. GORDON, R. **Assustadora História da Medicina**, Editora Ediouro, São Paulo, 1997.
45. GREGORY, D.; COHEN, J.C.; OINES, D.W.; MIMS, C.H. Megestrol acetate therapy for advanced breast cancer. **Journal of Clinical Oncology** v. 3, p. 155-160, 1985.
46. GUILLÉN, D.G.; ALBARRACIN, A.; ARQUIOLA, E.; ERILL, S.; MONTIEL, L.; PESET, J.L.; ENTRALGO, P.L. **Historia del Medicamento**. Ediciones Doyma, 4ª Ed., Madrid, 1987.
47. GUZZO, G.C. **Estudo da frequência e causalidade dos eventos adversos registrados nos estudos de bioequivalência realizados na unidade de farmacologia clínica nos anos de 2000 a 2003**. Dissertação de Mestrado. Fortaleza: UFC, 2004.
48. HILL, H. **Proceedings of Analytical Validation: A practical approach to meet current regulatory requirements**, Management Forum, London, 1994.

49. HOWARD, C.A.; NICHOLAS, G.P.; LLOYD, V.A.JR. **Pharmaceutical Dosage forms and drug delivery systems**, Editorial Premier 6a Ed, 2000.
50. HUGGINS, C.; HODGES, C.V. Studies on prostatic cancer. The effect of castration of oestrogen and of androgens injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. **Cancer Research**, v. 1, p. 293-297, 1941.
51. IRIBARNE, J.V.; THOMSON, B.A.J. **Chemical Physics**, v. 64, 2287p, 1976.
52. JENSTER, G. The role of androgen receptor in the development and progression of prostate cancer. **Seminars in Oncology**, v. 26, n.4, p. 407-421, 1999.
53. JOHNSON, D.E., KAESLER, K.E., AYALA, A.G. Megestrol acetate for treatment of advanced carcinoma of the prostate. **Journal of Surgical Oncology**, v. 7, p. 9-15, 1975.
54. LAMBERTS, S.W.J.; JANSSENS, E.N.W.; BONNS, E.G. et al.. Effects of megestrol acetate on growth and secretion of a pituitary tumour. **European Journal of Cancer and Clinical Oncology**, v. 17, p. 925-931, 1981.
55. LEINUNG, M.C.; LIPORACE, R.; MILLER, C.H. Induction of adreno suppression by megestrol acetate in patients with AIDS. **Annals of Internal Medicine**, v. 122, p. 843-845, 1995.
56. LEITÃO, A.P.A. **Avaliação Farmacocinética de duas Formulações de Acetato de megestrol em Condições de Jejum e após Dieta Rica em Cálcio**, Dissertação de Mestrado. Fortaleza: UFC, 2001.
57. LÓPEZ, A.P.; FIGULS, M.R.; CUCHI, G.U.; BERENSTEIN, E.G.; PASIES, B.A.; ALEGRE, M.B.; HERDMAN, M. Systematic review of megestrol acetate in the treatment of anorexia-cachexia syndrome. **Journal of Pain and Symptom Management**, 2004.
58. MALTONI, M.; NANNI, O.; SCARPI, E.; et al.. High-dose progestins for the treatment of cancer anorexia-cachexia syndrome: a systematic review of randomized clinical trials. **Annals of Oncology**, v. 12, n. 3, p. 289-300, 2001.
59. MALTRY, E. Use of megestrol acetate (a low progestational agent) in the treatment of carcinoma of the prostate. In: **Proceedings of the Kimbrough urological seminar**, 18<sup>th</sup> annual meetings, Norwich Eaton Laboratories, p. 135-137, 1970
60. MANTOVANI, G.; MACCIO, A.; LAI, P.; et al.. Cytokine involvement in cancer anorexia/cachexia: role of megestrol acetate and medroxy-progesterone acetate on cytokine down-regulation and improvements on clinical symptoms. **Critical Review of Oncology**, v. 9, p. 99-106, 1998.

61. MARCHAND, V.; BAKER, S.S.; STARK, T.J.; BAKER, R.D. Randomized, double-blind, placebo controlled pilot trial of megestrol acetate in malnourished children with cystic fibrosis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 31, p. 264-269, 2000.
62. MASSART, D.L.; ANDEGINSTE, B.G.M.; DEMING, S.N.; MICHOTTE, Y.; KAUFMAN, L. In: **Chemometrics a Textbook**, Elsevier, New York, 1988.
63. MATTSON, W. **Acta Radiological of Oncology**, v. 17, p. 387-400, 1978.
64. MENG, C.K.; MCEWEN, C.N.; LARSEN, B.S. **Rapid Community Mass Spectrometry**, v. 4, 147p, 1990.
65. MORAES, M.E.A.; MORAES, M.O. Ensaio Clínicos de Medicamentos no Brasil. **Fármacos e Medicamentos**, v. 6, n. 1, p. 35-40, 2000.
66. MORGAN, L.R. Megestrol acetate versus tamoxifen in advanced breast cancer in post menopausal patients. **Seminars in Oncology**, v. 12, p. 43-47, 1985.
67. MUGGIA, F.M.; CASSILETH, P.A.; OCHOA, J.R.M.; FLATOW, F.A., GELLHORN, A., HYMAN, G.A. Treatment of breast cancer with medroxyprogesterone acetate. **Annals of Internal Medicine**, v. 68, p. 328-337, 1968.
68. NELSON, K.A. The cancer anorexia-cachexia syndrome. **Seminars in Oncology**, v. 27, n. 1, p. 64-68, 2000.
69. NIESSEN, W.M.A. **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry**, 2<sup>a</sup> Ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1999.
70. PANUTTI, F.; MARTONI, A.; LENZA, G.R. A possible new approach to the treatment of metastatic breast cancer: massive doses of medroxyprogesterone acetate. **Cancer Treatment Rep.**, v. 62, 449p, 1978.
71. ROCHON, P.A.; BERGER, P.B.; GORDON, M. et al.. The evolution of clinical trials: inclusion and representation **CMAJ**, v. 159, p. 1373-1374, 1998.
72. ROCKVILLE, M.D. **History of the Pharmacopeia**. Pharmacopeia Convention, 23<sup>rd</sup> revision, United States, 1995.
73. ROSS, M.B.; BUZDAR, A.U.; BLUMESCHLEIN, G.R. Treatment of advanced breast cancer with megestrol acetate after therapy with Tamoxifen. **Cancer**, v. 49, p. 413-417, 1982.
74. SIUZDAK, G. Mass Spectrometry for Biotechnology. **Academic Press**, San Diego, 162p, 1996.

75. SIUZDAK, G. The expanding role of mass spectrometry in biotechnology. **Journal of American Society for Mass Spectrometry**, v. 15, 625p, 2004.
76. SIUZDAK, G.; HOLLENBECK, T.; BOTHNER, B. Preparative Mass Spectrometry with Electrospray Ionization. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 34, p. 1087-1088, 1999.
77. SMALL, J.E.; VOGELZANG, N.J. Second line hormonal therapy for advanced prostate cancer: a shifting paradigm. **Journal of Clinical Oncology**, v. 15, p. 382-388, 1997.
78. SMITH, L.P.; PARKINS, W.E.; FORRESTER, A.T. **Physics Review**, v. 72, 989p, 1947.
79. STEER, K.A.; KURTZ, A.B.; HONOUR, J.W. Megestrol- induced, Cushing's syndrome. **Clinical Endocrinology**, v. 42, p. 91-93, 1995.
80. STOLL, B.A. Endocrine adjuvant therapy in breast cancer. **British Medical Journal**, v. 2, 1075p, 1976.
81. TAPLIN, M.E.; BUBLEY, G.J.; SHUSTER, T.D.; et al.. Mutation of the androgen receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, p. 1393-1398, 1995.
82. TASSINARI, D.; FOCHESATI, F.; PANZINI, I.; POGGI, B.; SARTORI, S.; RAVAIOLI, A. Rapid Progression of Advanced "Hormone-Resistant" Prostate Cancer During Palliative Treatment with Progestins for Cancer Cachexia. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 25, n. 5, p. 481-484, 2003.
83. TAYLOR, J.K. In: **Quality Assurance of Chemical Measurements**, Lewis, Chelsea, Mich., 1987.
84. TEULINGS, F.A.G.; KULPERS, T.J.; BLONK-VAN DER WIJST, J. In: WITTCLIFF, J.L.; DAPUNT, O. **Steroid Receptors and Hormone-Dependent Neoplasias**. Masson, New York, p. 101-103, 1980.
85. VESTAL, M.L. Methods of Ion Generation. **Chemistry Review**, v. 101, n. 2, p. 361-375, 2001.
86. WAIT, R.B. Megestrol acetate in the management of advanced endometrial carcinoma. **Obstetrics and Gynecology**, v. 41, p. 129-130, 1973.
87. WEIKEL, J.H.; NELSON, L.W. Problems in evaluating chronic toxicity of contraceptive steroids in dogs. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 3, p. 167-177, 1977.

88. WENTZ, W.B. Progestin therapy in lesions of endometrium. **Seminars in Oncology**, v. 12, p. 23-27, 1985.
89. WHITEHOUSE, C.M.; DREYER, R.N.; YAMASHITA, M.; FENN, J.B. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers. **Journal of Physical Chemistry**, v. 57, p. 675-679, 1985.
90. WONG, S.F.; MENG, C.K.; FENN, J.B. Analyzing organic molecules with electrospray mass spectrometry. **Journal of Physical Chemistry**, v. 92, 546p, 1988.
91. YERGEY, A.L.; YERGEY, A.K.J. **American Society for Mass Spectrometry**, v. 8, 943p, 1997.



## **GLOSSÁRIO**

---

**Biodisponibilidade Absoluta (F):** a fração do fármaco sistemicamente absorvida e a disponibilidade do fármaco da forma farmacêutica quando comparada com a biodisponibilidade do fármaco após administração intravenosa. É usualmente calculada como a razão da área sob a curva (ASC) da concentração plasmática versus tempo, para a forma farmacêutica administrada oralmente em relação a ASC obtida após administração intravenosa do fármaco. Um valor F de 0,80 ou 80% indica que apenas 80% do fármaco ficou disponível sistemicamente da forma farmacêutica.

**Biodisponibilidade Oral:** indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração versus tempo na circulação sistêmica ou a partir de sua excreção urinária. É a fração da dose de um medicamento, oralmente administrado, que foi absorvida e atinge a circulação como princípio ativo (Lei nº 9.787, de 10/2/99).

**Biodisponibilidade Relativa:** disponibilidade sistêmica do fármaco a partir de sua forma farmacêutica quando comparada a uma formulação de referência. É calculada como a razão da área sob a curva da concentração plasmática versus tempo, ASC para a forma farmacêutica em relação ao ASC do referência. Uma biodisponibilidade relativa de  $F = 1,0$  ou 100% implica que a biodisponibilidade a partir da forma farmacêutica é a mesma, mas não indica a completa absorção sistêmica do fármaco. A determinação da biodisponibilidade é muito importante em estudos de medicamentos.

**Denominação Comum Brasileira:** denominação do fármaco ou princípio farmacologicamente ativo aprovado pelo órgão federal responsável pela vigilância sanitária (Lei nº 9.787, de 10/2/99).

**Denominação Comum Internacional:** denominação do fármaco ou princípio farmacologicamente ativo recomendada pela Organização Mundial de Saúde (Lei nº 9.787, de 10/2/99).

**Equivalência Farmacêutica:** dois medicamentos são considerados terapeuticamente equivalentes se eles são farmacêuticamente 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 ou estudos in vitro.

**Equivalentes Farmacêuticos:** são medicamentos que contêm o mesmo fármaco, isto é, mesmo sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos. Devem cumprir com as mesmas 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 (BRASIL, 2003a).

**Bioequivalência:** dois medicamentos são ditos bioequivalentes quando são administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais e não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade (BRASIL, 2003a).

**Droga:** é a matéria prima mineral, vegetal ou animal da qual se podem extrair um ou mais princípios ativos. De acordo com esta aceção, os agentes terapêuticos de origem sintética não são drogas.

**Fármaco:** é a substância química de constituição definida que pode ter aplicação em Farmácia, seja como preventivo, seja como curativo, seja como agente de diagnóstico; a ser aceita esta definição, a matéria prima mineral, vegetal ou animal da qual se podem extrair uma ou mais bases medicamentosas não é fármaco, pois sua constituição química não é necessariamente conhecida.

**Medicamento:** produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico". (Lei nº 5.991, de 17/12/73). É uma forma farmacêutica terminada que contém o fármaco, geralmente em associação com adjuvantes farmacotécnicos.

**Medicamentos Bioequivalentes:** são medicamentos equivalentes farmacêuticos que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não

apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade, segundo a Resolução RDC nº 135, de 29 de maio de 2003.

**Medicamento Referência:** medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (Lei nº 9.787, de 10/2/99).

**Medicamento Genérico:** medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCI (Lei nº 9.787, de 10/2/99).

**Estudo Aberto:** tanto o pesquisador responsável como o sujeito da pesquisa são informados e têm conhecimento sobre a medicação que será administrada.

**Estudo Cruzado:** em uma das fases da pesquisa administra-se ao sujeito da pesquisa (voluntário) o medicamento referência e na outra o medicamento teste, ou vice-versa. O mesmo voluntário deve ser submetido as duas formulações.

**Índice de Massa Corpórea (IMC):** é a razão do peso (Kg) pela altura ao quadrado (m). É o melhor indicador de obesidade, pois enfatiza a adiposidade relativa dos indivíduos e minimiza os efeitos da altura. O valor ótimo é de 20 - 27 segundo Ministry of National Health and Welfare, Canadá, entretanto, a National Academy of Sciences enfatiza que o IMC aumenta com a idade, de 19 – 24 para adultos jovens e de 24 – 29 para acima de 65 anos.

**Analito:** composto químico específico a ser mensurado, podendo ser o fármaco não-transformado, biomolécula ou seu derivado, metabólito ou produto de degradação em uma matriz biológica (BRASIL, 2003c).

**Matriz Biológica:** material distinto de origem biológica, que pode ser amostrado e processado de modo reprodutível (BRASIL, 2003c).

**Controle de Qualidade:** amostra de matriz biológica adicionada do analito, usada para monitorar o desempenho de um método bioanalítico e para avaliar a integridade e validade dos resultados das amostras desconhecidas, analisadas numa corrida individual (BRASIL, 2003c).

**Corrida Analítica:** conjunto completo de amostras em estudo, com um número apropriado de padrões e controles de qualidade para sua validação e que tem sua análise completa nas mesmas condições (BRASIL, 2003c).

**Padrão Interno:** composto, geralmente, com características estruturais similares ao analito, adicionado aos padrões de calibração e amostras em concentrações conhecidas e constantes, para facilitar a determinação do analito (BRASIL, 2003c).

**Padrão de Calibração:** matriz biológica a qual foi adicionada uma quantidade conhecida de analito. Os padrões de calibração são usados para construir a curva de calibração, com a qual são determinadas as concentrações do analito nos controles de qualidade e nas amostras desconhecidas em estudo (BRASIL, 2003c).

**Precisão:** representa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, quando o procedimento é aplicado diversas vezes numa mesma amostra homogênea, em idênticas condições de ensaio (BRASIL, 2003c).

**Exatidão:** representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados e um valor aceito como referência (BRASIL, 2003c).

**Linearidade:** corresponde à capacidade do método de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame (analito) (BRASIL, 2003c).

**Limite de Detecção:** menor concentração de um analito que o procedimento bioanalítico consegue diferenciar confiavelmente do ruído de fundo (BRASIL, 2003c).

**Limite Inferior de Quantificação:** menor quantidade de um analito numa amostra que pode ser determinada quantitativamente com precisão e exatidão aceitáveis (BRASIL, 2003c).

**Especificidade:** habilidade do método bioanalítico de medir e diferenciar o analito de componentes que possam estar presentes na amostra, tais como metabólitos, impurezas, compostos de degradação ou componentes da matriz (BRASIL, 2003c).

**Reprodutibilidade:** precisão entre dois laboratórios. Também representa a precisão do método sob as mesmas condições operacionais, num curto período de tempo (BRASIL, 2003c).

**Estabilidade:** parâmetros que visa determinar se um analito mantém-se quimicamente inalterado numa dada matriz sob condições específicas, em determinados intervalos de tempo (BRASIL, 2003c).

**Recuperação:** eficiência de extração de um método analítico, expressa como a porcentagem da quantidade conhecida de um analito, obtida da comparação dos resultados analíticos de amostras branco acrescidas de padrão e submetidas ao processo de extração, com os resultados analíticos de solução padrão não extraídas (BRASIL, 2003c).

**Área sob a Curva da Concentração Plasmática versus Tempo, de Zero ao Infinito –  $ASC_{0-\infty}$ :** relaciona-se com a quantidade ou a extensão de absorção do fármaco. A quantidade da absorção sistêmica do fármaco é diretamente relacionada com ASC que é geralmente calculado pelo método trapezoidal; onde  $ASC_{[0-\infty]} = ASC_{[0-t]} + Ct/K$ , e expresso em unidades de concentração vezes tempo.

**Concentração Máxima Atingida no Plasma -  $C_{max}$ :** concentração mais elevada do fármaco atingida na circulação sanguínea após administração de um fármaco. Relaciona-se a intensidade da resposta farmacológica. O  $C_{max}$  ideal deve estar dentro da janela terapêutica.

**Constante de Eliminação K:** representa a soma de todas as taxas constantes para remoção do fármaco do corpo, incluindo a taxa constante da excreção renal e metabolismo

(biotransformação) como descrito através da equação:  $K = K_r + K_m$ , onde  $K_r$  = constante de excreção renal e  $K_m$  = constante de metabolismo. Determina a taxa de eliminação do fármaco dos vasos sanguíneos. Serve para determinar a concentração do fármaco em um tempo  $t$ . É inversamente relacionada à meia vida do fármaco:  $K = 0,693/t_{1/2}$ .

**Meia Vida de Eliminação do Fármaco  $t_{1/2}$ :** representa o tempo em que a concentração do fármaco no plasma é reduzida a metade. Calcula-se através do logaritmo neperiano ( $\ln$ ) de 2 ( $\ln 2 = 0,693$ ) dividido pela constante de eliminação.  $t_{1/2} = \ln 2 / K$ .

**Tempo correspondente à Concentração Máxima Atingida no Plasma -  $T_{max}$ :** tempo correspondente para que o fármaco atinja a concentração máxima ( $C_{max}$ ).

## **ANEXOS**

---



## **ANEXO I**

---

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

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

O abaixo-assinado, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_ anos, RG nº \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos Médicos/Pesquisadores Profa Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes, Prof. Fernando Antonio Frota Bezerra e do Farmacêutico Ismael Leite Martins, da Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) da Universidade Federal do Ceará. O abaixo-assinado está ciente que:

### **NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO**

O objetivo da pesquisa é verificar se um comprimido de Megestrol (160 mg) produzido pela APOTEX do Brasil Ltda. - Formulação Teste - atinge níveis no sangue equivalentes ao Megestat® da Bristol-Meyer Squibb - Formulação Referência. Você receberá as duas medicações, cada uma em uma ocasião diferente. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá um sorteio.

## **PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES**

Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir na Unidade de Farmacologia Clínica para avaliar a sua condição de saúde. Você será examinado por um médico que lhe fará um exame completo, medindo o seu pulso, sua temperatura, sua pressão arterial. Também será feito um exame do coração (eletrocardiograma). O médico lhe perguntará se você teve ou tem alguma doença e se você faz uso de algum medicamento. Durante a visita serão coletadas amostras de sangue, urina e fezes para exames laboratoriais. Os exames laboratoriais incluem exame de sangue completo como hemograma completo; bioquímica sangüínea (glicose no sangue, proteínas totais, albumina, transaminases oxalacética e pirúvica, gamaglutamil transferase, creatinina, uréia, ácido úrico, colesterol e triglicerídeos); exame sumário de urina (Urina I). Exames para a hepatite B e C e para AIDS (HIV 1 e HIV2), no sangue, e exame de fezes (protoparasitológico), serão feitos somente no pré estudo.

Durante o estudo, você será internado duas vezes por aproximadamente 36 horas cada período, com intervalo mínimo de 4 dias. Em cada internamento, a) será colhida uma amostra de sangue para dosagem de creatinina, hemoglobina, hematócrito e transaminases; b) será administrado um comprimido de Megestrol (160 mg), acompanhado de 240 mL de água sem gás; c) serão coletadas 18 amostras de sangue de 9 mL, cada, através de agulha introduzida em veia superficial para a dosagem do medicamento e mais uma amostra de 20 mL antes da administração da medicação para o controle do método de dosagem do acetato de megestrol no plasma. d) em intervalos regulares, será verificada sua pressão, pulso e temperatura; e) serão também servidas refeições padronizadas (ceia, na noite da internação [se não interferir com o jejum]; café da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar e ceia no dia de administração do medicamento; café da manhã no dia de alta) ou bebidas em horários preestabelecidos. Após a coleta de 24 horas você receberá alta da UNIFAC, devendo retornar para coleta de 36, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após a administração

da medicação, em cada internação. Um total de 400 mL de sangue será colhido durante todo o estudo.

A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 60 dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

## **RESPONSABILIDADES**

É condição indispensável, para participação no ensaio clínico, que esteja em boa saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações e que tampouco tenha participado de outro estudo clínico com medicamentos nos últimos 3 meses. Algumas regras deverão ser seguidas para sua participação no estudo: a) não pode ser dependente de drogas ou álcool e caso o investigador tenha alguma suspeita, poderá solicitar exame de urina para detecção do uso de drogas; b) não pode ter doado (ou retirado/perdido por qualquer motivo) sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o estudo ou ter doado 1500 mL (um litro e meio) no período de um ano antecedendo o estudo; c) não pode tomar bebidas contendo cafeína e xantinas (café, chá, coca-cola, etc) nas 12 horas que antecedem as internações até a última coleta.

É ainda de sua responsabilidade em relação a sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às internações na data e horários informados; b) permanecer em jejum pelo tempo previsto (pelo menos 12 horas) em cada internação; c) tomar toda a medicação prevista; d) Ingerir toda a alimentação e líquidos que tenham sido previstos; e) retornar à Unidade 4 vezes em cada internação para a coleta da amostra de sangue após a alta de cada uma das internações, no horário indicado pela equipe, relativo à coleta de 48h, 72h, 96h, 120 e 144 horas após a medicação; f) retornar à Unidade na data, horário e local combinados, para realização da consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

## **POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

A administração pela boca de Megestrol de maneira continuada pode causar reações como: Náusea, vômito, urticária, inchaço e aumento do apetite. Entretanto o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de Megestrol tem menor probabilidade de aparecer. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

A retirada de sangue é um procedimento seguro e pode causar um leve desconforto, além de uma mancha roxa pequena no local da picada que freqüentemente resolve sem maiores problemas.

## **BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES**

A participação neste estudo, não tem objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo traga qualquer benefício em função do tratamento.

## **INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)**

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento nesta Instituição, sem qualquer custo. Não haverá no entanto qualquer compensação de ordem financeira em função do ocorrido, a não ser que a condição faça jus da indenização prevista no Seguro de Vida em Grupo mencionado abaixo. Contudo, ao assinar este termo, você não está renunciando qualquer direito legal que você possui.

Durante o período de 90 dias a partir da data da assinatura deste termo, o voluntário estará assegurado (Seguro de Vida em Grupo).

## **RESSARCIMENTO**

De acordo com valores previamente estabelecidos, os voluntários serão ressarcidos das despesas e tempo despendidos na realização do supracitado estudo clínico após a consulta de alta. Caso desista ou seja dispensado antes do estudo ser finalizado o voluntário receberá proporcionalmente ao tempo despendido, no final do estudo. Entende também que a desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento.

Estima-se que durante o período de sua participação no Estudo vocês terão como despesa apenas os gastos de deslocamento da residência ou trabalho até à Unidade de Farmacologia Clínica para internação e consultas, bem como coletas de amostras após a alta; ou ao Laboratório de Análises Clínicas para a realização dos exames. Ainda deve ser previsto eventuais visitas posteriores para acompanhamento dos eventos adversos. O ressarcimento destas despesas já está incluído no valor estabelecido no item acima.

## **PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento médico desta Instituição.

Obteve todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

Independente de seu desejo e consentimento, sua participação no ensaio clínico poderá ser interrompida, em função a) da ocorrência de eventos adversos; b) da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de

sua participação no estudo; c) do não cumprimento das normas estabelecidas; d) de qualquer outro motivo que, a critério médico, seja do interesse de seu próprio bem estar ou dos demais participantes; e) da suspensão do Estudo como um todo.

A Unidade de Farmacologia Clínica o manterá informado, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

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

## **DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO A PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO**

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. A Unidade de Farmacologia Clínica não identificará o voluntário por ocasião da publicação dos resultados obtidos.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética e Pesquisa Clínica, ou autoridades do(s) órgão(s) governamentais envolvido(s) na fiscalização e acompanhamento do estudo terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, com o propósito de verificar os procedimentos e dados do ensaio, sem no entanto violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizando tal acesso, mesmo se você se retirar do Estudo.

## **CONTATOS E PERGUNTAS**

Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar a Unidade de Farmacologia Clínica e solicitar que a mesma contacte os médicos responsáveis pelo ensaio clínico ou então entrar em contato diretamente com os mesmos nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento.

Poderá contactar a Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes para receber informações adicionais, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário.

Poderá contactar a Secretaria do Comitê em Pesquisas do complexo hospitalar da UFC para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

Se você concorda com o exposto acima leia e assine o documento abaixo.

Eu declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após, tive nova oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo o também sobre o Estudo e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido estou autorizando o acesso às minhas informações, conforme explicitado anteriormente.



Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

Fortaleza, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

NOME DO VOLUNTÁRIO	DATA	Assinatura
PESSOA QUE ESTÁ OBTENDO O TERMO DE CONSENTIMENTO	DATA	Assinatura
TESTEMUNHA (Somente necessário se o voluntário não souber ler)	DATA	Assinatura

CONTROLE INTERNO    N° do Estudo: \_\_\_\_/\_\_\_\_    N° do Voluntário: \_\_\_\_\_

## **ANEXO II**

---

## HISTÓRIA CLÍNICA – PRÉ-ESTUDO

 História colhida em: 28/11/03

Dados do Voluntário					
Nascimento	Idade	Sexo	Raça	Ocupação	
02/05/79	24	<input checked="" type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	<input checked="" type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> O	Técnico em Informática	

 Caucasóide Mulata Negra Amarela Outra

Medidas					
Pressão Arterial Sistólica / Diastólica (Após 5 min sentado)	Pulso Arterial	Altura	Peso Corporal (Roupas leves)	Índice de Massa Corporal	Temperatura (axilar)
130/90	76	1,75	75,5	25	36,9
mm/Hg	batimentos/min	m	Kg	Kg/m <sup>2</sup>	°C

Revisão de Sistemas			
Sistema / História	Normal	Anormal	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Alergias	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Alergia a drogas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos-ouvidos-nariz-garganta	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Genitourinário	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sistema Nervoso Central	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematopoético-Linfático	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Endócrino-Metabólico	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dermatológico	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Músculo-esquelético	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Estabilidade Emocional	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abuso de Álcool ou Drogas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
História Familiar	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Pai diabético e hipertenso
História Cirúrgica	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Outras Informações		O profissional deve também averiguar se há suspeita de não enquadramento do voluntário em função dos Critérios de Inclusão / Exclusão, assinalando o campo apropriado nas folhas onde constam estes critérios.				
<b>Voluntárias Mulheres</b>	Hist. Obstétrica	Gest.:	Partos:	Abortos:	Cesáreas:	<b>DUM:</b>
			<input type="checkbox"/> ACO <input type="checkbox"/> ACIM <input type="checkbox"/> DIU <input type="checkbox"/> Outro:			
<b>Tabagismo</b>	<input type="checkbox"/> Fumante	Qtde:	<b>Doação de Sangue</b>		<input checked="" type="checkbox"/> Nunca Doou	
<input checked="" type="checkbox"/> Nunca Fumou	<input type="checkbox"/> Ex-Fumante	Época:			<input type="checkbox"/> Última doação:	
<b>Café</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / dia :	Outras inf: <small>Informar p.ex., o nome do anticoncepcional</small>			
<b>Chá</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / dia :				
<b>Álcool</b>	<input type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / sem.: finais de semana				

Dados Brutos assinados por:

 Madja Luciana Lima Pimentel CREMEC 7854  
 Profissional Responsável pela Avaliação

28/11/03

Data da Assinatura

## **EXAME FÍSICO – PRÉ-ESTUDO**

<b>Exame Físico</b>			
<b>Item</b>	<b>Normal</b>	<b>Anormal</b>	<b>Forneça os detalhes que julgar pertinentes</b>
Aparência	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele/ Mucosas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça e Pescoço	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tireóide	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nariz	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca/ Garganta	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tórax	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Coração	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fígado	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Baço	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gânglios Linfáticos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Condição Neurológica	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Músculo-esquelético	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Comentários Adicionais			

<b>Recomendações</b>	
Reiteradas as restrições quanto ao uso de medicamentos ?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Reiteradas as restrições de dieta (alimentos e bebidas) ?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Reiterada a possibilidade de falha do ACO / DIU, bem como a recomendação do uso de preservativos ?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Não se Aplica
Reiteradas as demais diretrizes e restrições previstas em protocolo ?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não

## EXAMES LABORATORIAIS – PRÉ-ESTUDO 1/2

<b>Hematologia</b>		Coletado em: 29/11/03		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar repetição do Hemograma	
Data *	Parâmetro	Valor	Correção	Valores de referência	
	Hemoglobina g/dL	13,9		Homem: 13,5 - 18	Mulher: 11,5 - 16,4
	Hematócrito %	41,3		Homem: 40 - 54	Mulher: 36 - 47
	Eritrócitos $10^6/\text{mm}^3$	4,7		Homem: 4,5 - 6,5	Mulher: 3,9 - 5,8
	Leucócitos $10^3/\text{mm}^3$	5,1		5 - 10	
	Contagem Diferencial %				
	Bastões	1		1 - 3	
	Segmentados	60		40 - 75	
	Linfócitos	26		20 - 45	
	Monócitos	10		2 - 10	
	Basófilos	0		0 - 1	
	Eosinófilos	3		1 - 6	
	Outros	-		-	
	Plaquetas $10^3/\text{mm}^3$	214		150 - 450	
Comentários Globais					

<b>Bioquímica</b>		Coletado em: 29/11/03		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar repetição do Teste	
Data *	Parâmetro	Valor	Correção	Comentários	
	Colesterol Total mg/dL	161		<input type="checkbox"/>	≤ 200
	Triglicerídeos mg/dL	63		<input type="checkbox"/>	≤ 150
	Proteínas Totais g/dL	6,48		<input type="checkbox"/>	6,6 - 8,7
	Albumina mg/dL	4,46		<input type="checkbox"/>	3,4 - 4,8
	Globulinas g/dL	2,02		<input type="checkbox"/>	-
	Ácido Úrico mg/dL	5,1		<input type="checkbox"/>	Homem: 3,4 - 7,0    Mulher: 2,4 - 5,7
	Bilirrubina Total mg/dL	0,89		<input type="checkbox"/>	Até 1,1
	Direta mg/dL	0,23		<input type="checkbox"/>	Até 0,3
	Indireta mg/dL	0,66		<input type="checkbox"/>	Até 0,7
	Fosfatase Alcalina U/L	187		<input type="checkbox"/>	Homem: < 270    Mulher: < 240
	γGT U/L	23		<input type="checkbox"/>	Homem: 8 - 61    Mulher: 5 - 36
	TGO (AST) U/L	17		<input type="checkbox"/>	Homem: até 38    Mulher: até 32
	TGP (ALT) U/L	17,2		<input type="checkbox"/>	Homem: até 41    Mulher: até 31
	Uréia mg/dL	30,2		<input type="checkbox"/>	10 - 50
	Creatinina mg/dL	1,1		<input type="checkbox"/>	0,7 - 1,2
	Glicose em jejum mg/dL	87		<input type="checkbox"/>	70 - 105
Comentários Globais					

\* A ser preenchida somente quando a data da coleta do material para a 1ª realização de algum teste diferir da data indicada no cabeçalho. Não usar para repetições

## EXAMES LABORATORIAIS – PRÉ-ESTUDO 2/2

Análise de Urina		Coletado em: 29/11/03		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar a repetição do Ex. de Urina
Data *	Parâmetro	Valor	Correção	Comentários
	Densidade	1022		1005 – 1030
	pH	6,0		4,5 – 8,0 (média 6,0)
	Proteínas	-		-
	Glicose	-		-
	Corpos Cetônicos	-		-
	Urobilinogênio	TN		Traços Normais
	Bilirrubina	-		-
	Nítritos	-		-
	<b>Análise Microscópica</b>			
	Glób. Brancos	02		< 03
	Glób. Vermelhos	-		-
	Cilindros	-		0 – 1
	Céls Epiteliais	01		Algumas
	Cristais	-		-
	Bactérias	-		-
	Outros	-		-
Comentários Globais				

Fezes	Coletado em: 29/11/03		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar a repetição do Ex. de Fezes
Parasitológico	<input type="checkbox"/> Positivo	<input checked="" type="checkbox"/> Negativo	Comentários:

Sorologia	Coletado em: 10/07/03		<input checked="" type="checkbox"/> Marque quando solicitar a repetição do Teste
Parâmetro	Resultado		Comentários
Hepatite B	<input type="checkbox"/> Positivo	<input checked="" type="checkbox"/> Negativo	<input type="checkbox"/>
Hepatite C	<input type="checkbox"/> Positivo	<input checked="" type="checkbox"/> Negativo	<input type="checkbox"/>
HIV 1 + HIV 2	<input type="checkbox"/> Positivo	<input checked="" type="checkbox"/> Negativo	<input type="checkbox"/>

Teste Gravidez	Coletado em:		<input type="checkbox"/> ⇐ Repetição Solicitada	<b>NÃO APLICÁVEL</b> <input checked="" type="checkbox"/>
βHCG	<input type="checkbox"/> Positivo	<input type="checkbox"/> Negativo	Comentários:	

Dados Brutos assinados por: Ismael Leite Martins 02/12/03  
Responsável pela transcrição dos dados Data da Assinatura

Dados Brutos assinados por: M Elisabete Amaral de Moraes CREMEC 2145 02/12/03  
Médico Responsável pela Avaliação Data da Assinatura

**ECG – PRÉ-ESTUDO**Exame realizado em: 28/11/03

Parâmetros		ECG 12 derivações		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar a repetição do Exame	
Ritmo Cardíaco	Sinusal	FC	60 bpm		
		Intervalo PR	0,14 s		
		Duração do QRS	0,08 s		
		QT	0,36 s		
Diagnóstico	Normal	<input checked="" type="checkbox"/>			
	Anormal	<input type="checkbox"/> Não clinicamente significativo			
		<input type="checkbox"/> Clinicamente significativo			
Especificação da Anomalia (preencher caso tenha sido assinado "Diagnóstico Anormal", independentemente de ser significativo)					
Conclusão	<input checked="" type="checkbox"/> Apto para participação no Estudo			<input type="checkbox"/> Não Apto	
	<input type="checkbox"/> Apto com restrições →			Indique as restrições específicas ↗	
	<b>Observações</b>				

Comentários

Dados Brutos assinados por:

Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367

28/11/03

Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura

## AVALIAÇÃO PRÉ-ESTUDO

Repetição de Exames		ASSINALE SE NÃO REALIZADO <input checked="" type="checkbox"/>	
Parâmetro	Data Coleta (dd/mm)	Resultado	Responsável pela transcrição dos dados Rubrica e Data
Hemograma			
Bioquímica			
Exame de Urina			
Exame de Fezes			
Sorologia			
ECG			

Comentários

Conclusão da Triagem	Avaliação do voluntário realizada em conjunto com os Critérios de Admissão <input checked="" type="checkbox"/>
Após a avaliação inicial, incluindo a história, exame físico, exames laboratoriais, ECG e com base nos critérios de inclusão e exclusão para participação em estudos de biodisponibilidade, o médico responsável considerou o Voluntário:	<input checked="" type="checkbox"/> Apto (p/ participação em estudos de biodisponibilidade) <input type="checkbox"/> Apto, com restrições ( <i>ver Comentários acima</i> ) <input type="checkbox"/> Não Apto



**CRITÉRIOS DE ADMISSÃO**

1/2

Data de Referência da Avaliação\*: 12/12/03

<b>Critérios de Inclusão</b>		
1. O voluntário tem entre 18 e 50 anos de idade	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
2. O índice de massa corpórea do voluntário é maior que 19 e menor do que 28	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
3. O voluntário foi examinado e considerado com boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo médico, de acordo com as regras definidas no Protocolo e avaliações a que foi submetido: história clínica, medidas de pressão e pulso, exame físico, ECG, e exames laboratoriais complementares.	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
4. O voluntário é capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não

<b>Critérios de Exclusão</b>		
1. O voluntário tem hipersensibilidade conhecida a(s) droga(s) a ser(em) estudada(s) ou a compostos quimicamente relacionados; história de reações adversas graves ou hipersensibilidade a qualquer droga	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
2. História ou presença de doença hepática, gastrointestinal ou outra condição que interfere com a absorção, distribuição, excreção ou metabolismo da droga	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
3. Uso de terapia de manutenção com qualquer droga, exceto ACO	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
4. Tem história de doença, renal, pulmonar, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem história ou teve infarto do miocárdio, angina pectoris e/ou insuficiência cardíaca	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
5. Achados eletrocardiográficos não recomendados a critério do investigador para a participação no estudo	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
6. Os resultados dos exames laboratoriais complementares estão fora dos valores considerados normais de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados não clinicamente significativos pelo investigador	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não

\* A Data de Referência corresponde à última data na qual as informações foram obtidas para fins de utilização na avaliação dos Critérios de Admissão. Corresponde, normalmente à data do Exame Físico, salvo a realização de entrevista, avaliação de resultados de exames laboratoriais complementares ou outro contato por parte equipe considerado para avaliação dos Critérios de Admissão.

**CRITÉRIOS DE ADMISSÃO**

2/2

<b>Crítérios de Exclusão</b>		
7. O Voluntário fuma mais que dez cigarros por dia.	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
8. O voluntário ingere mais do que 5 xícaras de café ou chá por dia	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
9. Tem história de abuso de álcool ou drogas	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
10. Fez uso de medicação regular dentro das 2 semanas que antecederam o início deste estudo, especialmente aquelas que induzem o citocromo P450 IIIA (cetoconazol, itraconazol, fluconazol, rifampina, eritromicina, claritromicina, etc) ou anticonvulsivantes (carbamazepina, fenobarbital, fenitoína) ou fez uso de qualquer medicação uma semana antes do início deste estudo, excetuando-se outras drogas que não citadas acima em que, com base na meia-vida do fármaco e/ou metabólitos ativos, possa ser assumida a completa eliminação	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
11. Foi internado por qualquer motivo até 6 semanas antes do primeiro período de tratamento deste estudo	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
12. Terapia dentro dos 3 meses prévios ao início do tratamento deste estudo com qualquer droga que se conheça ter um potencial tóxico bem definido nos grandes órgãos	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
13. O voluntário participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer droga experimental dentro dos 3 meses que antecedem o início do tratamento deste estudo	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
14. O voluntário doou ou perdeu 450 mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecederam ao estudo.	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não
15. O voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo à juízo do investigador	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não

<b>Conclusão</b>	
<b>Após a avaliação da história, exame físico, exames laboratoriais, ECG, critérios de inclusão e exclusão o médico responsável considerou o Voluntário:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Apto para participação no Estudo <input type="checkbox"/> Não Apto

**PRIMEIRO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

1/6

<b>Internação</b>		ASSINALE SE O VOLUNTÁRIO NÃO COMPARECEU <input type="checkbox"/>	
Admitido na UNIFAC	Data 14/12/03	Horário 21:00	Rubrica:

<b>Exames Laboratoriais*</b>		Material Coletado em: Data 14/12/03				
	Hemoglobina	Hematócrito	Creatinina	TGO (AST)	TGP (ALT)	Rubrica
Valor	14,4	42,3	1,5	17	33	
Valores Normais	H: 13,5 – 18,0 M: 11,5 – 16,4	H: 40,0 – 54,0 M: 36,0 – 47,0	0,6 – 1,3	15 – 37	30 – 65	
	g/dL	%	mg/dL	U/L	U/L	-

\* Solicitado somente quando exigido pelo protocolo

<b>Avaliação Segurança / Aderência</b>		<b>Inicial</b>	Avaliado em: Data 15/12/03
Alguma mudança significativa desde o exame de seleção ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Algum sinal, sintoma ou doença desde o exame de seleção ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de Sinais e Sintomas Pré-Dose
Ingeriu medicamentos nos 14 dias que precedem a data do início do tratamento ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de medicação Pré-dose
Suspeita de abuso de drogas ou ingeriu bebidas alcoólicas nas últimas 12 horas ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Realizar teste previsto no Protocolo Resultado:
Ingeriu alimentos ou bebidas constantes nas restrições de dieta	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Foi hospitalizado por qualquer motivo	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Doou ou perdeu Sangue (> 450mL)	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Se encontra enquadrado em qualquer outro <i>Critério de Exclusão</i> ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:

<b>Avaliação de Aderência</b>		<b>Pré-Dose</b>	Avaliado em: Data 15/12/03
Deixou de cumprir as restrições de dieta, sobretudo período de Jejum	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Realizou exercício físico intenso durante a Internação (12 horas antes da medicação)	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Deixou de cumprir qualquer outra restrição ( ou resposta positiva na reavaliação dos critérios acima )	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
O voluntário ratificou seu desejo de participar do Estudo? (Consentimento Informado)	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input checked="" type="checkbox"/> Caso assinalada a coluna à direita em qualquer dos 11 itens acima <input type="checkbox"/> Preencher abaixo ↗	
O médico responsável (em conjunto com o Pesquisador Principal no caso de uso de medicamentos) decidiu que o Voluntário:		<input checked="" type="checkbox"/> permanece <u>apto</u> para participar no Estudo <input type="checkbox"/> deve ser <u>desligado</u> do Estudo	

Obs.: Complete as Folhas de "Sinais e Sintomas Pré-dose" e "Medicação Pré-dose" quanto ao status pré-dose.

Dados Brutos assinados por:

Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367














15/12/03




Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura

## UTILIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS

2/6

Medicação Pré-Dose						
Princípio(s) Ativo(s)	Nome Comercial	Apresentação		Via Administ.	Prescrição 	Data do Término Tratamento (dd-mm-aa)
Data do Início Tratamento (dd-mm-aa)	Hora (hh:mm ou turno)	Dose (em unidades)	Int. de Dose (1x/dia, ... 8/8h)	Duração Tratamento		
T <sub>1</sub>				Via:	① ② ③	
		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>2</sub>				Via:	① ② ③	
		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>3</sub>				Via:	① ② ③	
		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>4</sub>				Via:	① ② ③	
		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

 Prescrição: ① Equipe UNIFAC ② Prescrição Externa ③ Auto-medicação  Data  hora

## SINAIS E SINTOMAS PRÉ-DOSE

T <sub>1</sub>
T <sub>2</sub>
T <sub>3</sub>
T <sub>4</sub>



Utilize o campo acima para qualquer outra informação julgada relevante

Revisão Pré-Dose	A ser realizada imediatamente antes da administração da 1ª dose da <i>medicação do Estudo</i> .	Revisado em: (data)	15/12/03
Foi utilizada alguma medicação desde o prazo de controle previsto no Protocolo até o início do Tratamento ?		<input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim → <i>Complementar o quadro acima</i> ↗	

Dados Brutos assinados por:

Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367  
Médico Responsável pela Revisão Pré-dose

15/12/03

Data da Assinatura

**PRIMEIRO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

3/6

Formulação deste Período de Internação:	TST <input checked="" type="checkbox"/> Megestrol, comp. 160mg, VO (APOTEX)
---	---

Administração(ões)			
Data Administração (dd/mm/aa)	Jejum Observou o jejum previsto?	Administração [ 1 ] Administrado de acordo c/ Protocolo [ 2 ] Erro/Inversão na randomização → ◇ [ 3 ] Erro na dose → ◇ [ 9 ] Outro → ◇	Rubrica ↓
15/12/03	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	1[X] 2[ ] 3[ ] 9[ ]	

◇ Indique os detalhes no campo de Observações disponível na penúltima folha desta seção ↗

Coleta de Amostras		A ser preenchido somente quando houver mais de uma amostra a ser coletada ↗ Neste caso, será(ão) mostrado(s) o(s) número(s) da(s) amostra(s) a coletar			
Material: Sangue		Amostras: [1] Megestrol [2]		Volume por amostra: 9 mL	
Nº de Ordem	Tempo de Coleta (hh:mm)	Horário Previsto (hh:mm)	Horário Real (hh:mm)	Desvios <input type="checkbox"/> Atrasos / Indisponibilidade / Outros	Rubrica ↓
		(coluna para correções)	(coluna para correções)		
1	00:00	07:20	07:20		
2	01:00	08:20	08:20		
3	01:30	08:50	08:50		
4	02:00	09:20	09:20		
5	02:30	09:50	09:50		
6	03:00	10:20	10:20		
7	03:30	10:50	10:50		
8	04:00	11:20	11:20		
9	05:00	12:20	12:20		
10	06:00	13:20	13:20		
11	08:00	15:20	15:20		
12	12:00	19:20	19:20		
13	16:00	23:20	23:20		
14	24:00	07:20	07:20		
15	36:00	19:20	19:41	A2	
16	48:00	07:20	07:20		
17	72:00	07:20	07:20		
18	96:00	07:20	07:20		
19	120:00	07:20	07:20		
20	144:00	07:20	07:20		

Atraso na coleta → [A1] Problema no acesso venoso [A2] Atraso do Voluntário [A3] Erro Operacional

Não coletada → [N1] Problema no acesso venoso [N2] Não comparecimento do Voluntário [N3] Erro Operacional

Outros Casos → [6] Amostra Hemolisada [7] Amostra Hiperlipêmica [8] Perda no Processamento [9] Outros desvios





**PRIMEIRO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

6/6

<b>Avaliação Pré-Alta</b>		Avaliado em Data: 16/12/03	
Alguma mudança significativa desde o exame anterior?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Algum Evento Adverso durante o internamento ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de "Eventos Adversos."
Ingeriu medicamentos concomitantes ao tratamento ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de "Medicação Pós-dose"
Deixou de cumprir alguma restrição do Protocolo?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher folha de comentários adicionais
A alta ocorreu por desligamento do Voluntário ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher o quadro de "Término Prematuro" e comentários adicionais, caso haja relação. ↗
▼			<b>PREENCHER</b>
ABAIXO SOMENTE NO CASO DE DESLIGAMENTO ▼			
	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher abaixo: ↗
Alguma das formulações sob investigação foi ingerida ?			
Reiteradas as restrições de doação e participação em estudos ?	<input type="checkbox"/> Sim		<input type="checkbox"/> Não
<b>Conclusão:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Alta Autorizada	<input type="checkbox"/> Alta inicialmente não autorizada →	Rubrica:
↗ Caso a Alta não tenha sido inicialmente autorizada, informar a Data e Horário em que a Alta foi concedida:			
		Data	Horário

<b>Saída da UNIFAC</b>		<input checked="" type="checkbox"/> O voluntário deixou a UNIFAC logo após a autorização de alta		Rubrica ↗
Efetivada em	Data: 16/12/03	Horário: 08:00		

Dados Brutos assinados por:

M Elisabete Amaral de Moraes CREMEC 2367

16/12/03

Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura



**SEGUNDO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

1/6

<b>Internação</b>		ASSINALE SE O VOLUNTÁRIO NÃO COMPARECEU <input type="checkbox"/>		
Admitido na UNIFAC	Data 18/01/04	Horário 21:05	Rubrica:	

<b>Exames Laboratoriais*</b>		Material Coletado em: Data 18/01/04				
	Hemoglobina	Hematócrito	Creatinina	TGO (AST)	TGP (ALT)	Rubrica
Valor	14,3	43,1	1,2	16	40	
Valores Normais	H: 13,5 – 18,0 M: 11,5 – 16,4	H: 40,0 – 54,0 M: 36,0 – 47,0	0,6 – 1,3	15 – 37	30 – 65	
	g/dL	%	mg/dL	U/L	U/L	-

\* Solicitado somente quando exigido pelo protocolo

<b>Avaliação Segurança / Aderência</b>		<b>Inicial</b>	Avaliado em: Data 19/01/04
Alguma mudança significativa desde o exame anterior ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Algum sinal, sintoma ou doença desde o exame anterior ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de Eventos Adversos
Ingeriu medicamentos desde a alta da internação anterior ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de medicação Pós-dose
Suspeita de abuso de drogas ou ingeriu bebidas alcoólicas nas últimas 12 horas ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Realizar teste previsto no Protocolo Resultado:
Ingeriu alimentos ou bebidas constantes nas restrições de dieta	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Foi hospitalizado por qualquer motivo	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Doou ou perdeu Sangue (> 450mL)	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Encontra-se enquadrado em qualquer outro <i>Critério de Exclusão</i> ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:

<b>Avaliação de Aderência</b>		<b>Pré-Dose</b>	Avaliado em: Data 19/01/04
Deixou de cumprir as restrições de dieta, sobretudo período de Jejum	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Realizou exercício físico intenso durante a Internação (12 horas antes da medicação)	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Deixou de cumprir qualquer outra restrição (ou resposta positiva na reavaliação dos critérios acima)	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
O voluntário ratificou seu desejo de participar do Estudo? (Consentimento Informado)	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input checked="" type="checkbox"/> Caso assinalada a coluna à direita em qualquer dos 11 itens acima <input type="checkbox"/> Preencher abaixo ↗	
O médico responsável (em conjunto com o Pesquisador Principal no caso de uso de medicamentos) decidiu que o Voluntário:		<input checked="" type="checkbox"/> permanece <u>apto</u> para participar no Estudo <input type="checkbox"/> deve ser <u>desligado</u> do Estudo	

Obs.: Complete as Folhas de "Sinais e Sintomas Pré-dose" e "Medicação Pré-dose" quanto ao status pré-dose.

Dados Brutos assinados por:

M Elisabete Amaral de Moraes CREMEC 2145

19/01/04

Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura

**SEGUNDO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

2/6

Formulação deste Período de Internação:	REF <input checked="" type="checkbox"/> Megestat® comp. 160mg, VO (Bristol-Meyer Squibb)
---	--

Administração(ões)			
Data Administração (dd/mm/aa)	Jejum Observou o jejum previsto?	Administração [ 1 ] Administrado de acordo c/ Protocolo [ 2 ] Erro/Inversão na randomização → ◇ [ 3 ] Erro na dose → ◇ [ 9 ] Outro → ◇	Rubrica ↓
19/01/04	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	1[X] 2[ ] 3[ ] 9[ ]	

◇ Indique os detalhes no campo de Observações disponível na penúltima folha desta seção ↗

Coleta de Amostras		A ser preenchido somente quando houver mais de uma amostra a ser coletada ↗ Neste caso, será(ão) mostrado(s) o(s) número(s) da(s) amostra(s) a coletar			
Material: Sangue		Amostras: [1] Megestrol [2]		Volume por amostra: 9 mL	
Nº de Ordem	Tempo de Coleta (hh:mm)	Horário Previsto (hh:mm)	Horário Real (hh:mm)	Desvios <input type="checkbox"/> Atrasos / Indisponibilidade / Outros	Rubrica ↓
		(coluna para correções)	(coluna para correções)		
1	00:00	07:20	07:20		
2	01:00	08:20	08:20		
3	01:30	08:50	08:50		
4	02:00	09:20	09:20		
5	02:30	09:50	09:50		
6	03:00	10:20	10:20		
7	03:30	10:50	10:50		
8	04:00	11:20	11:20		
9	05:00	12:20	12:20		
10	06:00	13:20	13:20		
11	08:00	15:20	15:20		
12	12:00	19:20	19:20		
13	16:00	23:20	23:20		
14	24:00	07:20	07:20		
15	36:00	19:20	19:20		
16	48:00	07:20	07:20		
17	72:00	07:20	07:20		
18	96:00	07:20	07:31	A1	
19	120:00	07:20	07:26		
20	144:00	07:20	07:20		

Atraso na coleta → [A1] Problema no acesso venoso [A2] Atraso do Voluntário [A3] Erro Operacional

Não coletada → [N1] Problema no acesso venoso [N2] Não comparecimento do Voluntário [N3] Erro Operacional

Outros Casos → [6] Amostra Hemolisada [7] Amostra Hiperlipêmica [8] Perda no Processamento [9] Outros desvios





**SEGUNDO PERÍODO DE INTERNAÇÃO**

5/6

<b>Avaliação Pré-Alta</b>		Avaliado em Data: 20/01/04	
Alguma mudança significativa desde o exame anterior?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Comentários:
Algum Evento Adverso durante a hospitalização ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de "Eventos Adversos."
Ingeriu medicamentos concomitantes ao tratamento ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher a folha de "Medicação Concomitante"
Deixou de cumprir alguma restrição do Protocolo?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher folha de comentários adicionais
A alta ocorreu por desligamento do Voluntário ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher o quadro de "Término Prematuro" e comentários adicionais, caso haja relação. ↗
			▼ PREENCHER
ABAIXO SOMENTE NO CASO DE DESLIGAMENTO ▼			
	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim →	Preencher abaixo: ↗
Alguma das formulações sob investigação foi ingerida ?			
Reiterada a necessidade de comparecer ao Exame Pós Alta ?			<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Reiteradas as restrições de doação e participação em estudos ?			<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
<b>Conclusão:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Alta Autorizada	<input type="checkbox"/> Alta inicialmente não autorizada →	Rubrica:
↗ Caso a Alta não tenha sido inicialmente autorizada, informar a Data e Horário em que a Alta foi concedida:			
		Data	Horário

<b>Saída da UNIFAC</b>		<input checked="" type="checkbox"/> O voluntário deixou a UNIFAC logo após a autorização de alta		Rubrica ↗
Efetivada em	Data: 20/01/04	Horário: 08:00		

Dados Brutos assinados por:

Renata Amaral de Moraes CREMEC 8314  
Médico Responsável pela Avaliação

20/01/04

Data da Assinatura

## UTILIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS

6/6

Medicação Pós-Dose						
Princípio(s) Ativo(s)	Nome Comercial	Apresentação		Via Administ.	Prescrição	Data do Término Tratamento (dd-mm-aa)
Data do Início Tratamento (dd-mm-aa)	Hora (hh:mm ou turno)	Dose (em unidades)	Int. de Dose (1x/dia, ... 8/8h)	Duração Tratamento		
T <sub>1</sub>				Via:	① ② ③	i
i		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>2</sub>				Via:	① ② ③	i
i		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>3</sub>				Via:	① ② ③	i
i		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
T <sub>4</sub>				Via:	① ② ③	i
i		Dose:	Int.	Dur.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

Prescrição: ① Equipe UNIFAC ② Prescrição Externa ③ Auto-medicação i Data hora

## SINAIS E SINTOMAS PÓS-DOSE

T <sub>1</sub>
T <sub>2</sub>
T <sub>3</sub>
T <sub>4</sub>

Utilize o campo acima para qualquer informação julgada relevante

Revisão de Alta	A ser realizada somente na ocasião da Alta	Revisado em: 20/01/04
Foi utilizada alguma medicação desde o início do Tratamento até o término do Estudo Clínico? <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim → <i>Complementar o quadro acima</i>		

Dados Brutos assinados por:

 M Elisabete Amaral de Moraes CREMEC 2145  
 Médico Responsável pela Revisão

20/01/04

Data da Assinatura

**EXAME FÍSICO – PÓS-ESTUDO**Exame Realizado em: 29/01/04ASSINALE SE NÃO REALIZADO\* (Ver Encerramento do Estudo) 

<b>Medidas</b>			
<i>Pressão Arterial</i> Sistólica / Diastólica (Após 5 min sentado)	Pulso Arterial (Sentado)	Peso Corporal (Roupas leves)	Temperatura (axilar)
120/80	96	78	36,1
mm/Hg	batimentos/min	kg	°C

(Se necessário, preencher Folha de EAs)

<b>Exame Físico</b>			
Item	Normal	Anormal	Forneça os detalhes que julgue pertinentes
Aparência	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele/ Mucosas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça e Pescoço	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tireóide	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nariz	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca/ Garganta	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tórax	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Coração	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fígado	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Baço	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gânglios Linfáticos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Condição Neurológica	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Músculo-esquelético	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Comentários Adicionais			
Sem alterações			

\* Assinalar somente no encerramento do estudo, já que o voluntário pode vir a comparecer em uma nova convocação

Dados Brutos assinados por:

Dra. Célia Regina Amaral Uchoa CREMEC 5554  
Médico Responsável pela Avaliação

29/01/04

Data da Assinatura

**EXAMES LABORATORIAIS – PÓS-ESTUDO** 1/2ASSINALE SE NÃO REALIZADO\* (Ver Encerramento do Estudo) 

<b>Hematologia</b>		Coletado em: 28/01/04		<input type="checkbox"/> ↔ Marque quando solicitar repetição do Hemograma	
Data *	Parâmetro	Valor	Correção	Comentários	
	Hemoglobina g%	13,7		Homem: 13,5 -18	Mulher: 11,5 – 16,4
	Hematócrito %	40,6		Homem: 40 - 54	Mulher: 36 – 47
	Eritrócitos $10^6/\text{mm}^3$	4,5		Homem: 4,5 – 6,5	Mulher: 3,9 - 5,8
	Leucócitos $10^3/\text{mm}^3$	5,2		5 – 10	
	Contagem Diferencial %				
	Bastões	1		1 – 3	
	Segmentados	58		40 – 75	
	Linfócitos	26		20 – 45	
	Monócitos	11		2 – 10	
	Basófilos	1		0 – 1	
	Eosinófilos	3		1 – 6	
	Outros	-		-	
	Plaquetas $10^3/\text{mm}^3$	258		150 - 450	
Comentários Globais					

<b>Bioquímica</b>		Coletado em: 28/01/04		<input type="checkbox"/> ↔ Marque quando solicitar repetição do Teste	
Data *	Parâmetro	Valor	Correção	Comentários	
	Colesterol Total mg/dL	174		<input type="checkbox"/>	≤ 200
	Triglicerídeos mg/dL	74		<input type="checkbox"/>	≤ 150
	Proteína Total g/dL	6,56		<input type="checkbox"/>	6,6 – 8,7
	Albumina mg/dL	4,67		<input type="checkbox"/>	3,4 – 4,8
	Globulinas g/dL	1,89		<input type="checkbox"/>	-
	Ácido Úrico mg/dL	4,5		<input type="checkbox"/>	Homem:3,4 a 7,0 Mulher:2,4 a 5,7
	Bilirrubina Total mg/dL	0,66		<input type="checkbox"/>	Até 1,1
	Direta mg/dL	0,14		<input type="checkbox"/>	Até 0,3
	Indireta mg/dL	0,52		<input type="checkbox"/>	Até 0,7
	Fosfatase Alcalina U/L	184		<input type="checkbox"/>	Homem: < 270 Mulher: < 240
	γGT U/L	24		<input type="checkbox"/>	Homem: 8 - 61 Mulher: 5 - 36
	TGO (AST) U/L	17		<input type="checkbox"/>	Homem: até 38 Mulher: até 32
	TGP (ALT) U/L	19,9		<input type="checkbox"/>	Homem: até 41 Mulher: até 31
	Uréia mg/dL	24,8		<input type="checkbox"/>	10 – 50
	Creatinina mg/dL	1,0		<input type="checkbox"/>	0,7 – 1,2
	Glicose em jejum mg/dL	94		<input type="checkbox"/>	70 – 105
Comentários Globais					

\* A ser preenchida somente quando a data da coleta do material para a 1ª realização de algum teste diferir da data indicada no cabeçalho. Não usar para repetições



**EXAMES LABORATORIAIS – PÓS-ESTUDO** 2/2

<b>Análise de Urina</b>		Coletado em: 28/01/04		<input type="checkbox"/> ⇐ Marque quando solicitar a repetição do Ex. de Urina
<b>Data *</b>	<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Correção</b>	<b>Comentários</b>
	Densidade	1017		1005 – 1030
	pH	5,0		4,5 – 8,0 (média 6,0)
	Proteínas	-		-
	Glicose	-		-
	Corpos Cetônicos	-		-
	Urobilinogênio	TN		Traços Normais
	Bilirrubina	-		-
	Nitritos	-		-
	<b>Análise Microscópica</b>			
	Leucócitos	< 01		< 03
	Hemácias	-		-
	Cilindros	-		0 – 1
	Céls Epiteliais	< 01		Algumas
	Cristais	-		-
	Bactérias	-		-
	Outros	-		-
Comentários Globais*				

Dados Brutos assinados por:

Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367

03/02/04

Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura

## AVALIAÇÃO PÓS-ESTUDO

Repetição de Exames		ASSINALE SE NÃO REALIZADO <input type="checkbox"/>	
Parâmetro	Data Coleta (dd/mm)	(Novo) Resultado	Responsável Avaliação Rubrica e Data
Hemograma			
Bioquímica			
Exame de Urina			
ECG			
Outros			

Comentários

Dados Brutos assinados por:

 Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367  
 Médico Responsável pela Avaliação

03/02/04

Data da Assinatura

**E C G – PÓS-ESTUDO**

Exame realizado em: 29/01/04

ASSINALE SE NÃO REALIZADO\* (Ver Encerramento do Estudo) 

Parâmetros		ECG 12 derivações	
Ritmo Cardíaco	Sinusal	HR	76 bpm
		Intervalo PR	0,14 s
		Duração do QRS	0,08 s
		QT	0,34 s
Diagnóstico	Normal	<input checked="" type="checkbox"/>	
	Anormal	<input type="checkbox"/>	Não clinicamente significativo
		<input type="checkbox"/>	Clinicamente significativo
<b>Especificação da Anomalia</b> (preencher caso tenha sido assinado "Diagnóstico Anormal", independentemente de ser significativo)			
<b>Conclusão Comparativa</b> (em relação ao ECG pré-tratamento)	<input checked="" type="checkbox"/> Inalterado ou sem alterações clinicamente relevantes		
	<input type="checkbox"/> Nova alteração ou piora em relação à situação inicial	→	Preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , indicando as condições pré e pós-estudo Preencher demais folhas complementares s/n
	<input type="checkbox"/> Melhora em relação à situação inicial		
	<input type="checkbox"/> Outro	→	Especificar abaixo e preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , se aplicável
	<input type="checkbox"/> Não comparado		
	<b>Observações:</b>		

Dados Brutos assinados por:

Fernando Antônio Frota Bezerra CREMEC 2367

29/01/04

Médico Responsável pela Avaliação

Data da Assinatura

**ENCERRAMENTO DA ETAPA CLÍNICA**

1/2

Avaliado em: 03/02/04

Avaliação		
Foram evidenciadas diferenças significativas entre os resultados de exame laboratoriais pré e pós-estudo ? *	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , indicando o exame e os valores pré e pós-estudo Preencher demais folhas complementares, se necessário
Foram evidenciadas diferenças significativas entre os achados de exame clínico / físico pré e pós-estudo ? *	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , indicando o as condições pré e pós-estudo

\* As alterações laboratoriais ou de história clínica/exame físico consideradas *não significativas* (N.S.) **não devem** ser assinaladas como "Sim"

Segurança		
Alguma mudança significativa desde a última avaliação?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Comentários:
Algum Evento Adverso desde a última avaliação ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Preencher a folha de "Eventos Adversos" .
Deixou de cumprir restrições previstas no Protocolo desde a última avaliação ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Preencher a folha de "Eventos Adversos" .
Ingeriu medicamentos concomitantes ao tratamento ?	<input checked="" type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim → Preencher a folha de "Medicação Pós-dose"
Reiteradas as restrições de doação e participação em estudos ?		<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não

Término Prematuro		ASSINALE SE <b>NÃO</b> HOUVE TÉRMINO PREMATURO ☞ <input checked="" type="checkbox"/>	
Ocasão em que foi observada a saída:  Data: _____ Hora: _____	<input type="checkbox"/> Antes dos Períodos de Tratamento (antes da 1ª internação)		
	Durante o _____° Período de Tratamento	<input type="checkbox"/> Antes da administração das terapias previstas <input type="checkbox"/> Após a administração, durante a internação <input type="checkbox"/> Após ter recebido alta da internação	
	<input type="checkbox"/> Não compareceu à Avaliação Pós-Estudo ou parte dela		
O fato ocorreu:	Em Função de	Devido a	
	<input type="checkbox"/> Decisão da Equipe	<input type="checkbox"/> Resposta positiva à reavaliação de Critério de Exclusão <input type="checkbox"/> Não Aderência às exigências do Protocolo <input type="checkbox"/> EAs <input type="checkbox"/> Outras razões, a juízo do investigador	
	<input type="checkbox"/> Decisão do Voluntário	<input type="checkbox"/> Razões Pessoais <input type="checkbox"/> Retirada Consentimento <input type="checkbox"/> EAs <input type="checkbox"/> Intolerância aos Procedimentos <input type="checkbox"/> Indisponibilidade <input type="checkbox"/> Outras razões <input type="checkbox"/> Informação Não Disponível	
	<input type="checkbox"/> Constatação de Simples Abandono (Não houve retorno por parte do voluntário)		
	<input type="checkbox"/> Óbito	Data do Óbito _____ / _____ / _____	(ver Eventos Adversos)
Principal <i>Causa Mordis</i> _____			

Dados Brutos assinados por:

Ismael Leite Martins

03/02/04

Responsável pelas informações

Data da Assinatura

**ENCERRAMENTO DA ETAPA CLÍNICA**

2/2

**Informações Finais****Data em que foi administrada a última dose dos produtos sob Investigação:** 19/01/04

(indicar a data relativa ao último período de internação)

**Encerramento:**

- Conclusão do Estudo - Alta regular da Etapa Clínica após todas as avaliações
- Desistência / Retirada do Consentimento antes da 1º internação / administração terapia
- Alta regular após Término Prematuro, com as avaliações aplicáveis \*
- Encerramento Administrativo do CRF por abandono, sem completar as Avaliações Pós-Estudo \*\*
- Encerramento Administrativo do CRF; o Voluntário permanece sob acompanhamento \*\*\*  
(a documentação do acompanhamento ou abandono após o encerramento do CRF será anexada ao Arquivo do Estudo)
- Encerramento devido à óbito (ver Eventos Adversos e Término Prematuro)

\* O voluntário desistiu ou foi desligado do estudo por qualquer motivo (inclusive EAs), mas compareceu em todos os exames de alta e/ou outras avaliações aplicáveis

\*\* O voluntário abandonou durante as internações ou durante as avaliações pós-estudo, ou não retornou para acompanhamento de EAs .

\*\*\* Inclui os casos em que está prevista a conclusão das avaliações e os casos em que EAs permanecem em aberto, sob acompanhamento após o encerramento do CRF. Envolve os casos em que, por questão de prazos, há necessidade de encerramento administrativo do CRF, independentemente do potencial de retorno/comparecimento do voluntário

(Mesmo com Alta regular, o surgimento de Eventos Adversos pode ensejar acompanhamento *a posteriori* do encerramento deste CRF, que serão documentadas à parte e anexadas ao Arquivo do Estudo)**Comentários Adicionais:****Eu certifico que:**

**Revisei todos os dados em todas as páginas deste CRF e, até onde é de meu melhor conhecimento, eles estão corretos, completos e, quando transcritos, correspondem exatamente aos registros originais.**

\_\_\_\_\_  
Responsável pela Garantia da Qualidade\_\_\_\_\_  
Assinatura\_\_\_\_\_  
Data da Assinatura

M Elisabete Amaral de Moraes CREMEC 2145

Investigador Principal

\_\_\_\_\_  
Assinatura\_\_\_\_\_  
Data da Assinatura

## **ANEXO III**

---

TABELA DE RANDOMIZAÇÃO DAS DUAS FORMULAÇÕES

Nº Vol	Iniciais		1ª Fase		2ª Fase
1	GC020579		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
2	EN310578		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
3	FS061258		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
4	CG080283		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
5	FT181265		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
6	BC130681		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
7	LS150468		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
8	MS150271		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
9	DC100684		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
10	GG291279		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
11	RS040572		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
12	DF161070		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
13	TO191183		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
14	DS101179		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
15	JS070385		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
16	RD300683		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
17	PL261277		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
18	UJ070680		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
19	ML300974		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
20	FR050480		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
21	CA290678		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
22	MA190676		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
23	IR270679		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
24	JC280882		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
25	WN220682		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
26	ST090182		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
27	DT170276		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
28	JF090174		<b>Megestat®</b>		Acetato de Megestrol
29	FB130580		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>
30	SS240271		Acetato de Megestrol		<b>Megestat®</b>

## **ANEXO IV**

---



## DECLARAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Universidade Federal do Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N° 307/03

Fortaleza, 05 de setembro de 2003

**Protocolo COMEPE n° 173/03**

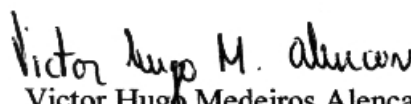
**Pesquisador responsável:** Maria Elisabete Amaral de Moraes

**Dept°./Serviço:** Unidade de Farmacologia Clínica/UFC

**Título do Projeto:** "Estudo de biodisponibilidade de uma formulação de acetato de Megestrol comprimido de 160mg da APOTEX do Brasil Ltda versus uma formulação de acetato de Megestrol comprimido de 160mg do produto de Referência da Bristol Myers Squibb (Megestat®) em voluntários sadios"

Levamos ao conhecimento de V.S<sup>a</sup>. que o Comitê de Ética em Pesquisa e do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o protocolo clínico, a ficha clínica e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto supracitado na reunião do dia 04 de setembro de 2003.

Atenciosamente,

  
Victor Hugo Medeiros Alencar  
Prof. Auxiliar III/ Médico

  
Mirian Parente Monteiro  
Prof. Adjunto II/ Farmacêutica

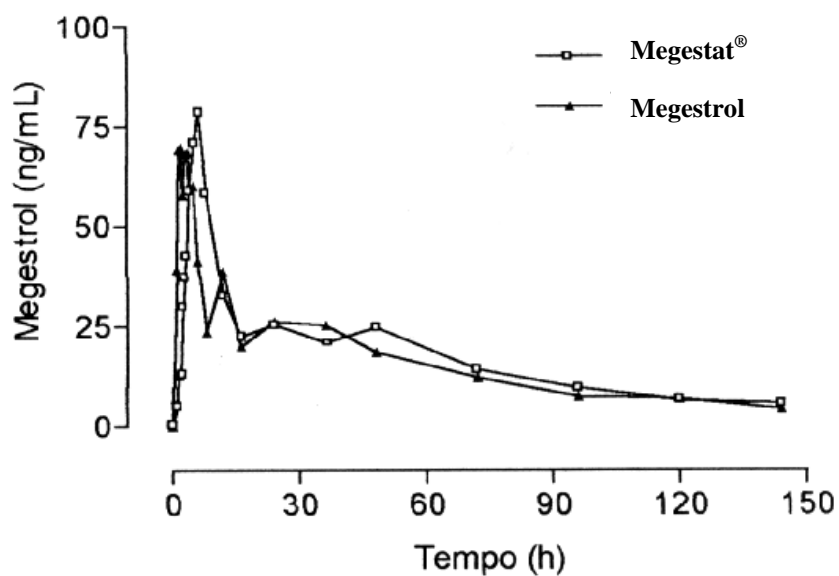
  
Eduardo Augusto Torres da Silva  
Prof. Adjunto IV/ Engenheiro Biofísico

## **ANEXO V**

---

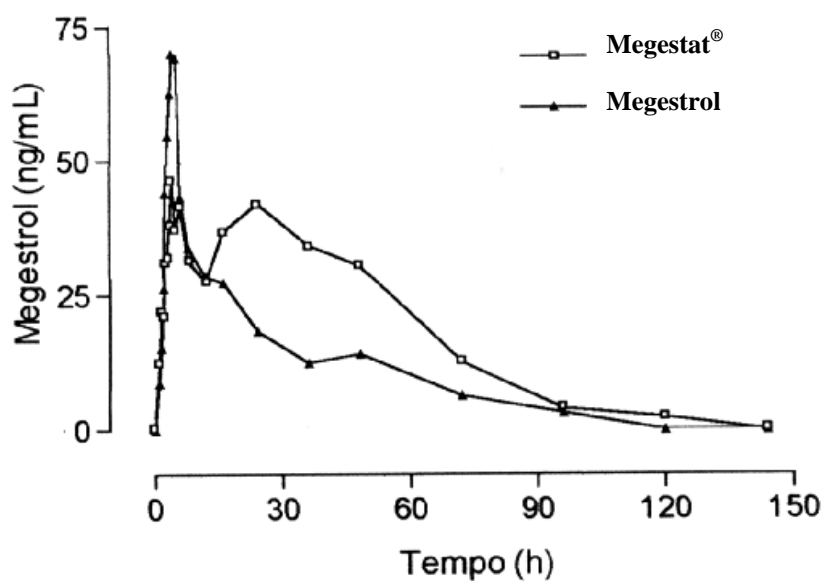
**GRÁFICOS DAS CURVAS DE CONCENTRAÇÕES CONTRA O TEMPO E  
OS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA CADA INDIVÍDUO**

**VOLUNTÁRIO 1**



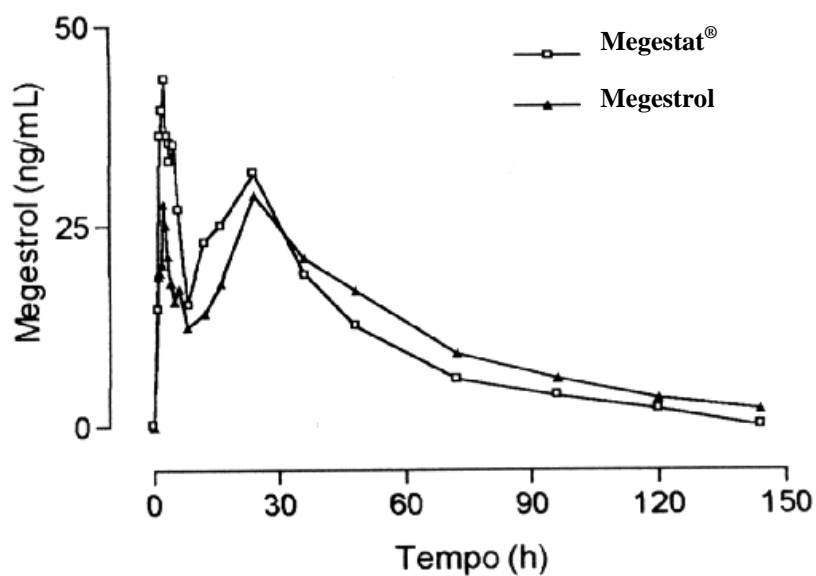
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 1	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2463,04	2266,14
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2875,3	2542,37
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	85,66	89,13
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	78,61	69,71
$T_{max}$ (h)	6	2
$t_{1/2}$ (h)	50,49	44,74
$K$ (1/h)	0,014	0,016

## VOLUNTÁRIO 2



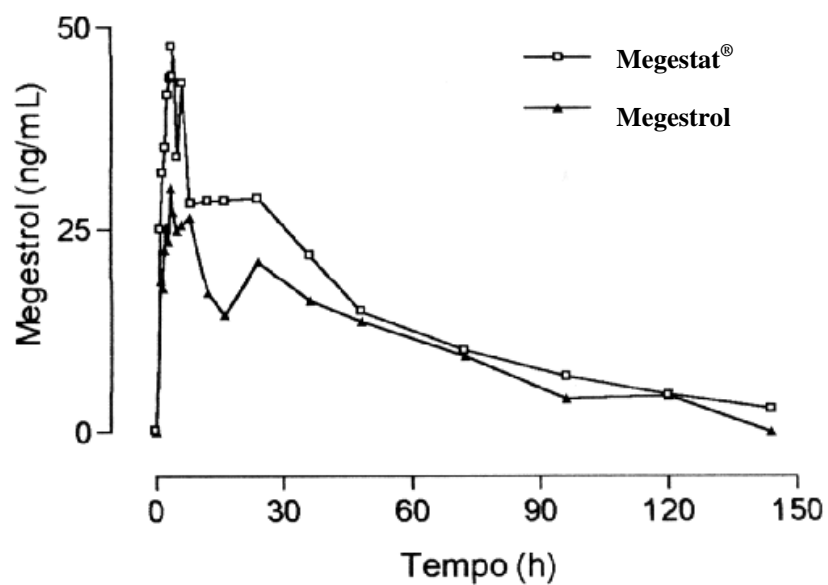
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 2	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2423,18	1468,75
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2457,62	1533,45
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	98,60	95,78
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	46,1	70,04
$T_{max}$ (h)	4	4
$t_{1/2}$ (h)	18,69	22,38
$K$ (1/h)	0,037	0,031

## VOLUNTÁRIO 3



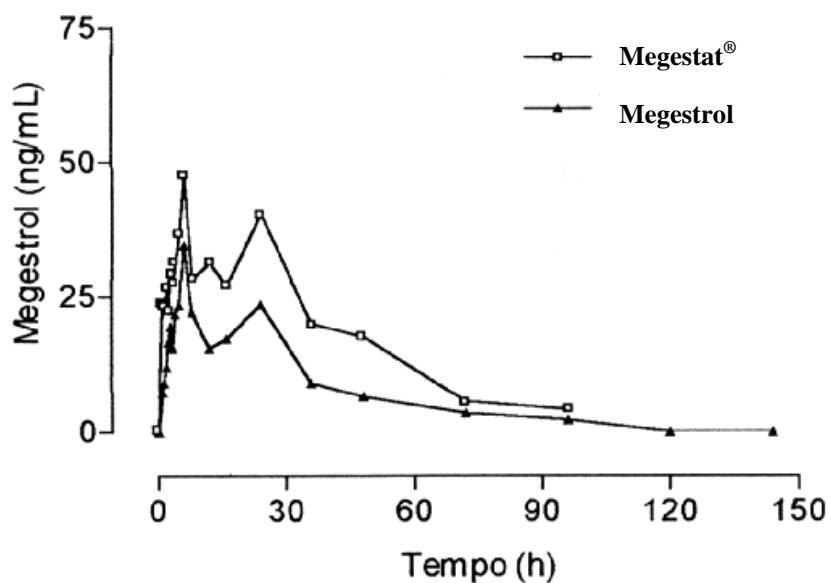
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 3	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1525,75	1624,64
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1600,21	1721,56
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	95,35	94,37
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	43,24	28,92
$T_{max}$ (h)	2,5	24
$t_{1/2}$ (h)	32,55	31,84
$K$ (1/h)	0,021	0,022

## VOLUNTÁRIO 4



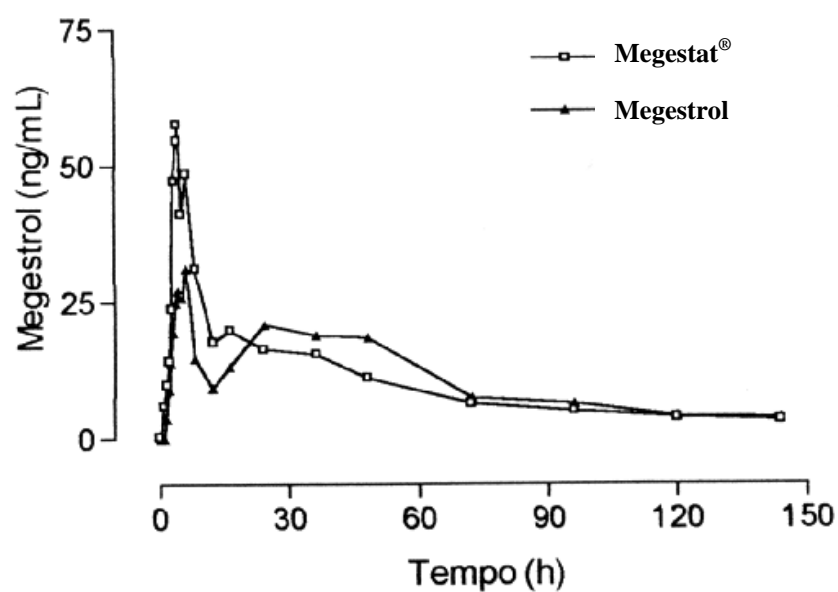
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 4	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1976,57	1451,83
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2143,97	1646,27
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	92,19	88,19
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	47,55	30,09
$T_{max}$ (h)	4	3,5
$t_{1/2}$ (h)	40,71	38,67
$K$ (1/h)	0,017	0,018

## VOLUNTÁRIO 5



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 5	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1685,55	942,18
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1818,03	1012,06
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	92,71	93,10
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	47,64	34,63
$T_{max}$ (h)	6	6
$t_{1/2}$ (h)	21,86	29,84
$K$ (1/h)	0,032	0,023

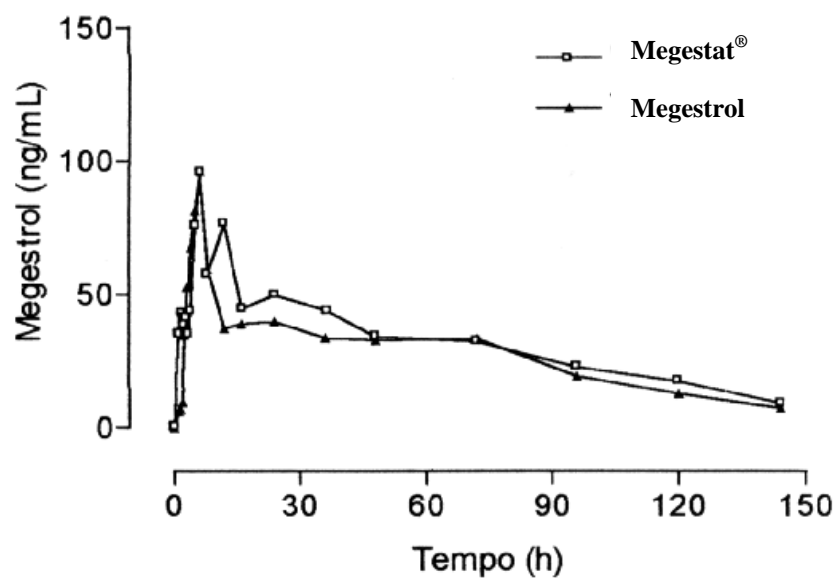
## VOLUNTÁRIO 6



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 6	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1463,63	1501,19
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1825,77	1731,76
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	80,17	86,69
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	57,41	31,05
$T_{max}$ (h)	4	6
$t_{1/2}$ (h)	75,38	42,85
$K$ (1/h)	0,009	0,016

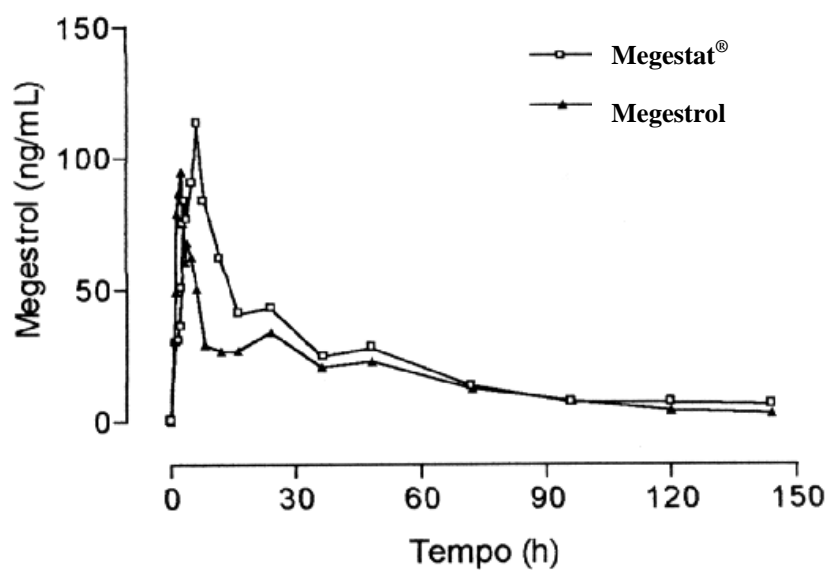


## VOLUNTÁRIO 7



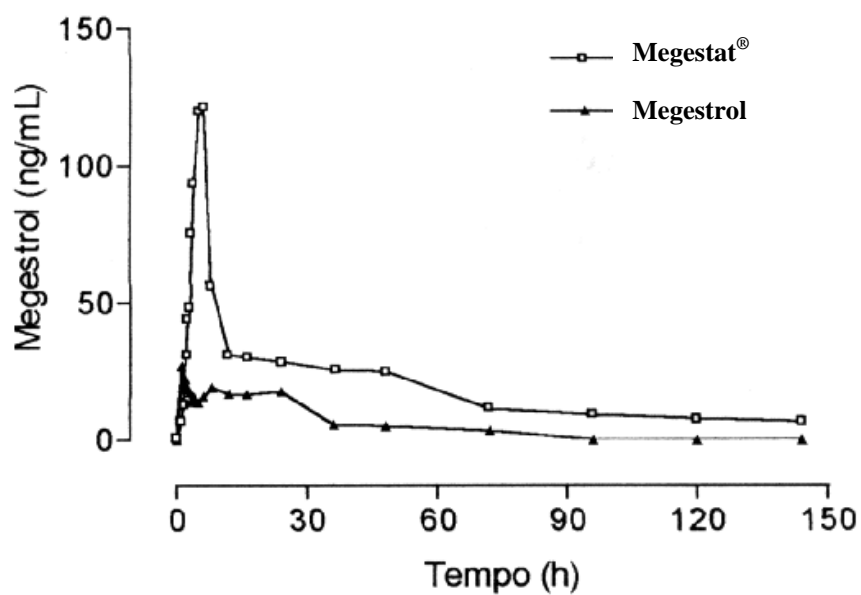
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 7	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	4584,58	3941,22
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	5138,46	4285,31
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	89,22	91,97
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	96,07	96,19
$T_{max}$ (h)	6	6
$t_{1/2}$ (h)	41,5	33,13
$K$ (1/h)	0,017	0,021

## VOLUNTÁRIO 8



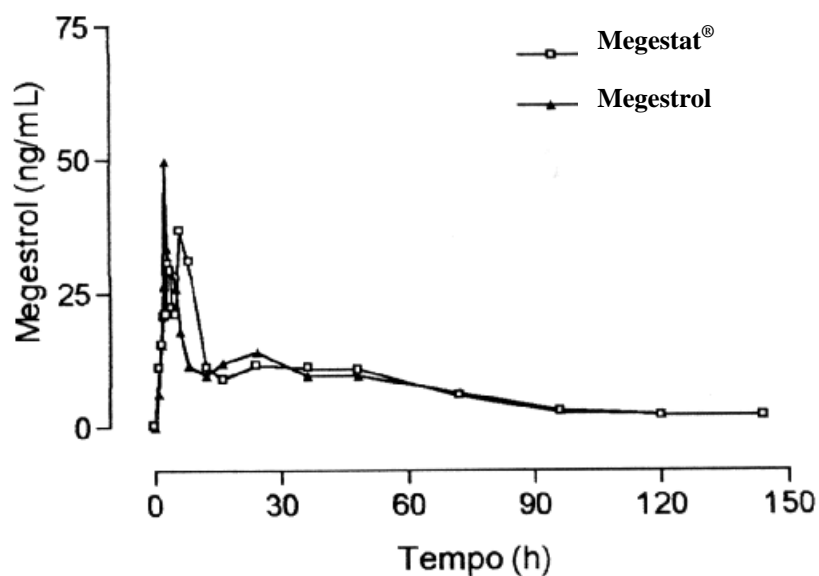
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 8	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	3164,27	2370,15
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	3537,7	2515,83
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	89,44	94,21
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	113,17	94,84
$T_{max}$ (h)	6	2,5
$t_{1/2}$ (h)	39,94	32,68
$K$ (1/h)	0,017	0,021

## VOLUNTÁRIO 9



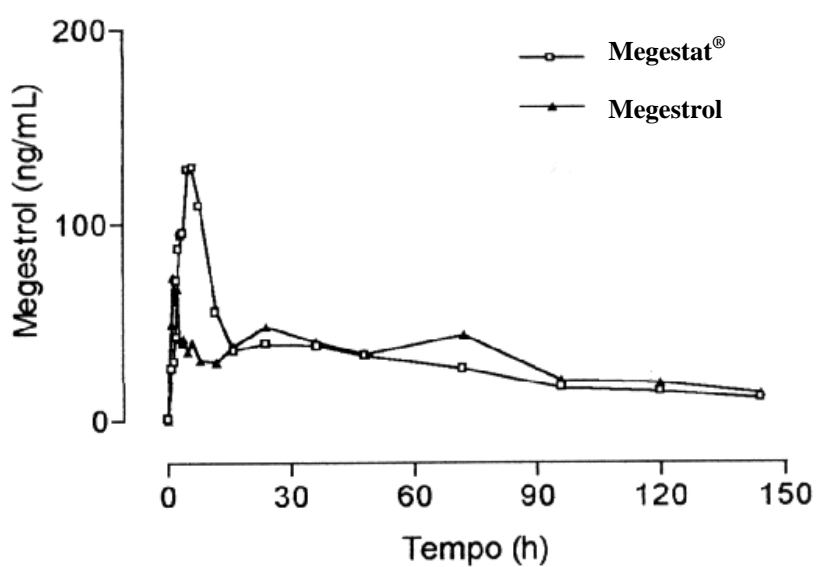
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 9	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2721,44	738,97
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	3686,47	919,58
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	73,82	80,36
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	120,96	26,91
$T_{max}$ (h)	6	1
$t_{1/2}$ (h)	100,89	46,02
$K$ (1/h)	0,007	0,015

## VOLUNTÁRIO 10



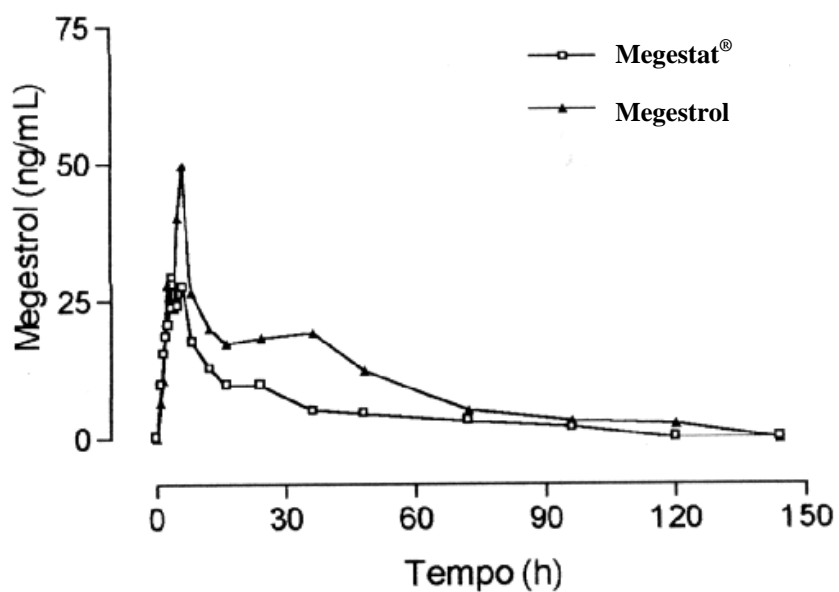
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 10	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1054,66	1022,42
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1172,03	1145,09
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	89,99	89,29
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	36,6	49,57
$T_{max}$ (h)	6	2,5
$t_{1/2}$ (h)	40,27	40,88
$K$ (1/h)	0,017	0,017

## VOLUNTÁRIO 11



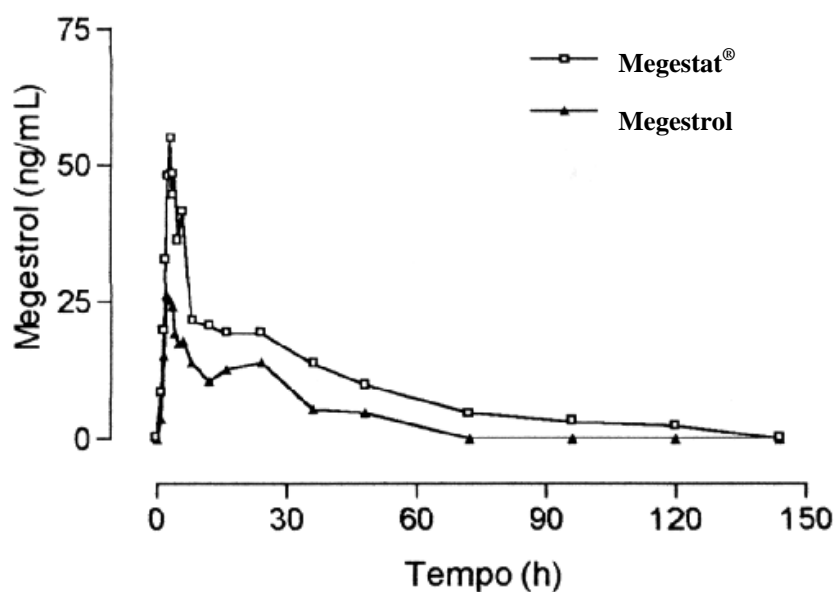
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 11	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	4251,44	4411,29
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	5133,21	5778,45
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	82,82	76,34
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	128,87	73,5
$T_{max}$ (h)	6	1,5
$t_{1/2}$ (h)	57,77	69,17
$K$ (1/h)	0,012	0,010

## VOLUNTÁRIO 12



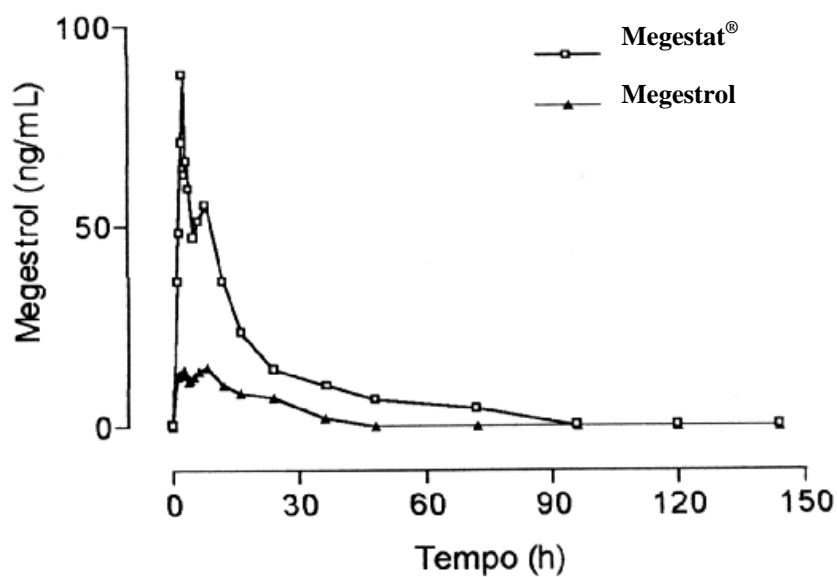
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 12	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	669,12	1332,52
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	766,82	1426,45
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	87,26	93,42
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	29,47	49,71
$T_{max}$ (h)	4	6
$t_{1/2}$ (h)	41,68	32,61
$K$ (1/h)	0,017	0,021

## VOLUNTÁRIO 13



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 13	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1265,96	560,27
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1347,69	636,11
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	93,94	88,08
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	54,88	26,3
$T_{max}$ (h)	3	2
$t_{1/2}$ (h)	32,12	19,39
$K$ (1/h)	0,022	0,036

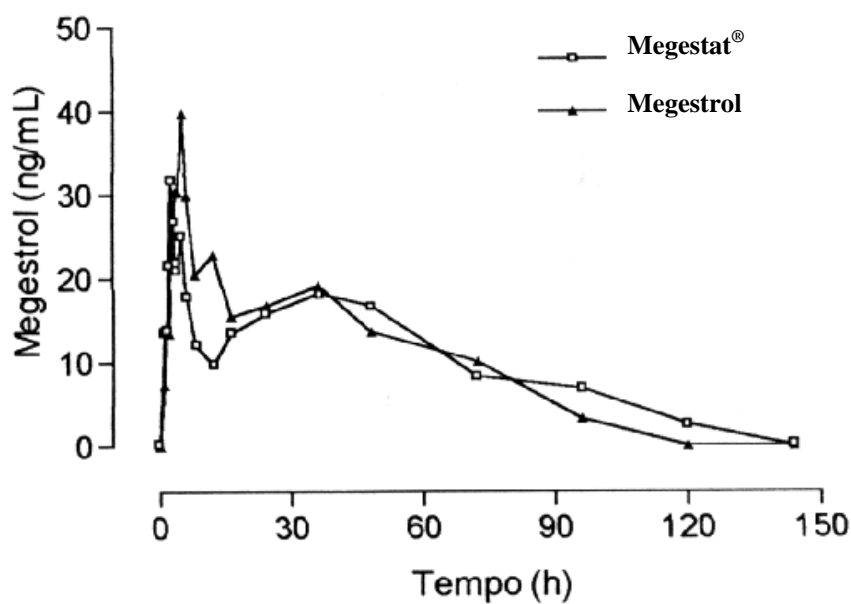
## VOLUNTÁRIO 14



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 14	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1295,83	310,54
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1423,08	329,52
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	91,06	94,24
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	87,72	14,83
$T_{max}$ (h)	2,5	8
$t_{1/2}$ (h)	28,23	10,58
$K$ (1/h)	0,025	0,066

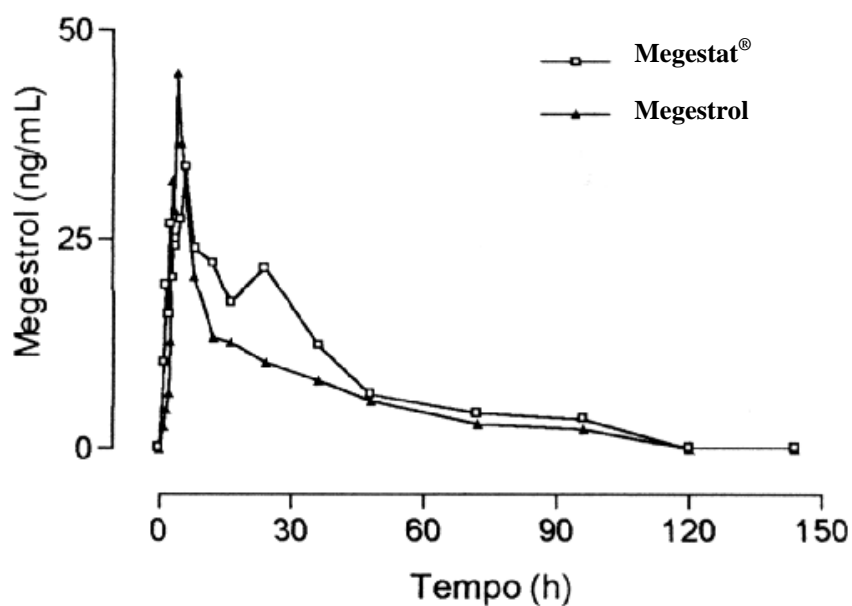


## VOLUNTÁRIO 16



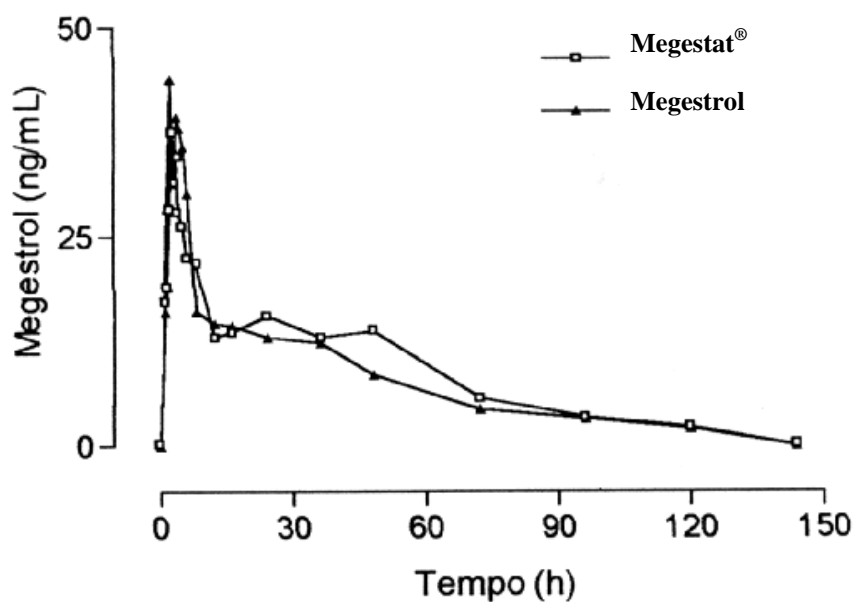
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 16	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1374,1	1352,92
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1460,02	1431,72
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	94,12	94,50
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	31,68	39,68
$T_{max}$ (h)	2,5	5
$t_{1/2}$ (h)	31,05	24,97
$K$ (1/h)	0,022	0,028

## VOLUNTÁRIO 17



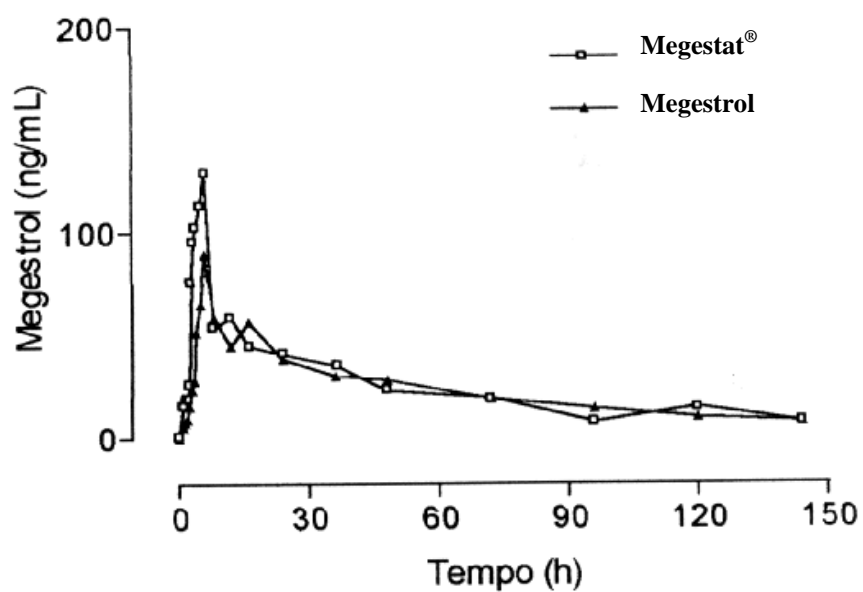
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 17	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1080,4	774,37
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1178,98	852
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	91,64	90,89
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	33,65	44,81
$T_{max}$ (h)	6	4
$t_{1/2}$ (h)	27,57	31,21
$K$ (1/h)	0,025	0,022

## VOLUNTÁRIO 18



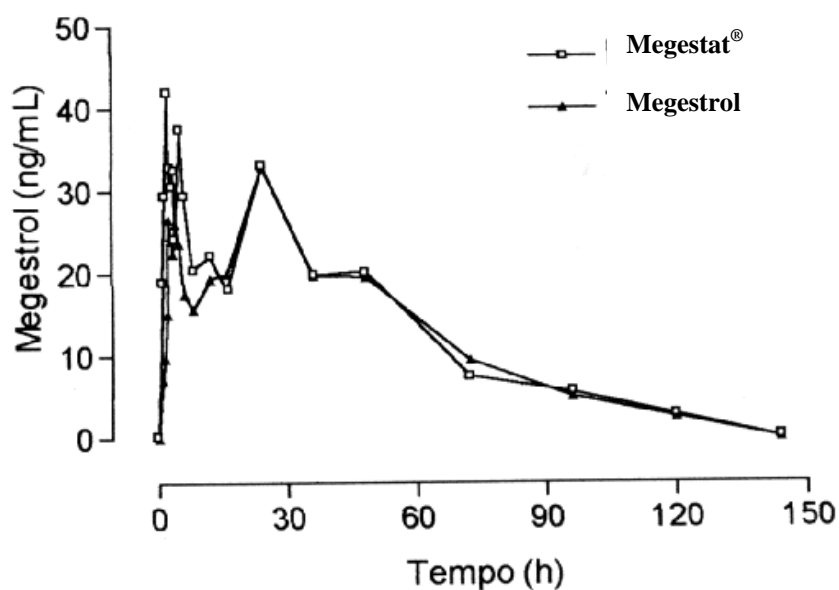
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 18	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1177,36	1054,86
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1260,98	1139,29
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	93,37	92,59
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	37,61	43,82
$T_{max}$ (h)	2,5	2
$t_{1/2}$ (h)	34,78	36,59
$K$ (1/h)	0,020	0,019

## VOLUNTÁRIO 19



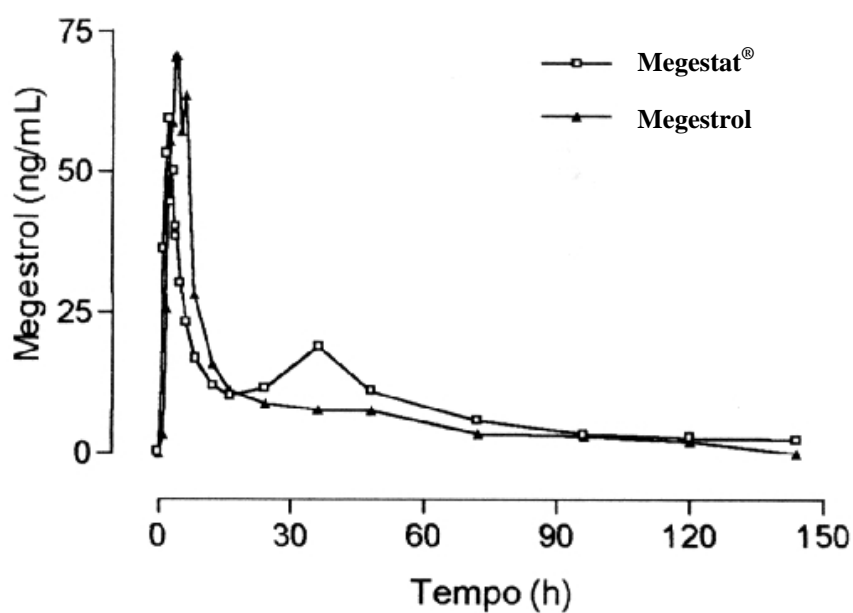
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 19	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	3499,63	3358,03
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	4038,82	3930,32
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	86,65	85,44
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	129,25	89,72
$T_{max}$ (h)	6	6
$t_{1/2}$ (h)	47,79	51,65
$K$ (1/h)	0,015	0,013

## VOLUNTÁRIO 20



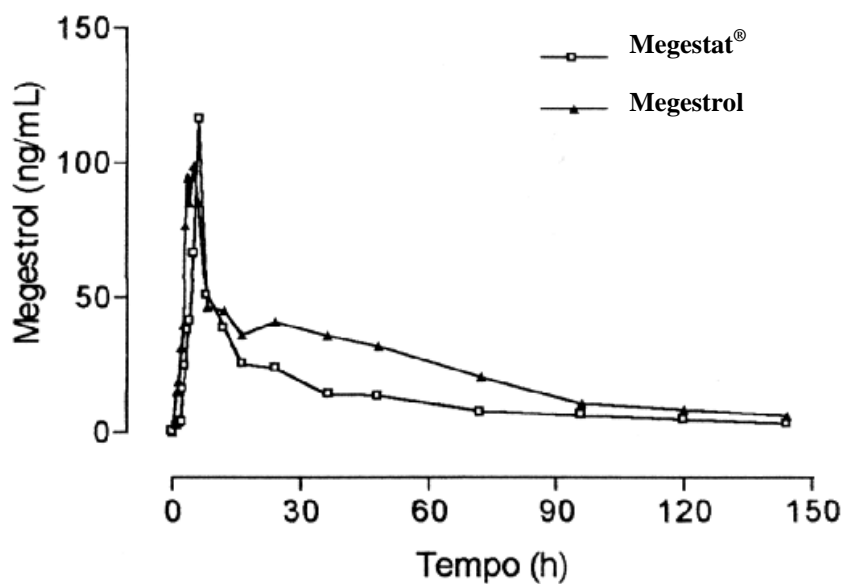
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 20	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1721,93	1663,01
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1798,34	1720,38
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	95,75	96,67
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	41,9	32,98
$T_{max}$ (h)	2	24
$t_{1/2}$ (h)	27,51	24,35
$K$ (1/h)	0,025	0,028

## VOLUNTÁRIO 21



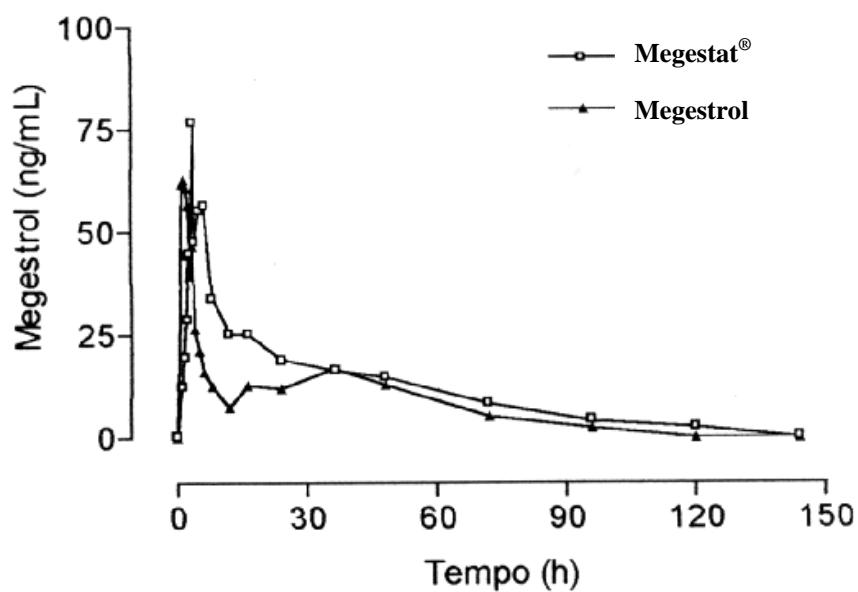
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 21	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1246,54	1058,85
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1604,01	1159,53
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	77,71	91,32
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	59,5	70,62
$T_{max}$ (h)	2	4
$t_{1/2}$ (h)	99,91	42,36
$K$ (1/h)	0,007	0,016

## VOLUNTÁRIO 22



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 22	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1891,08	3365,99
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2161,45	3908,26
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	87,49	86,13
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	116,01	99,02
$T_{max}$ (h)	6	5
$t_{1/2}$ (h)	55,61	61,42
$K$ (1/h)	0,013	0,011

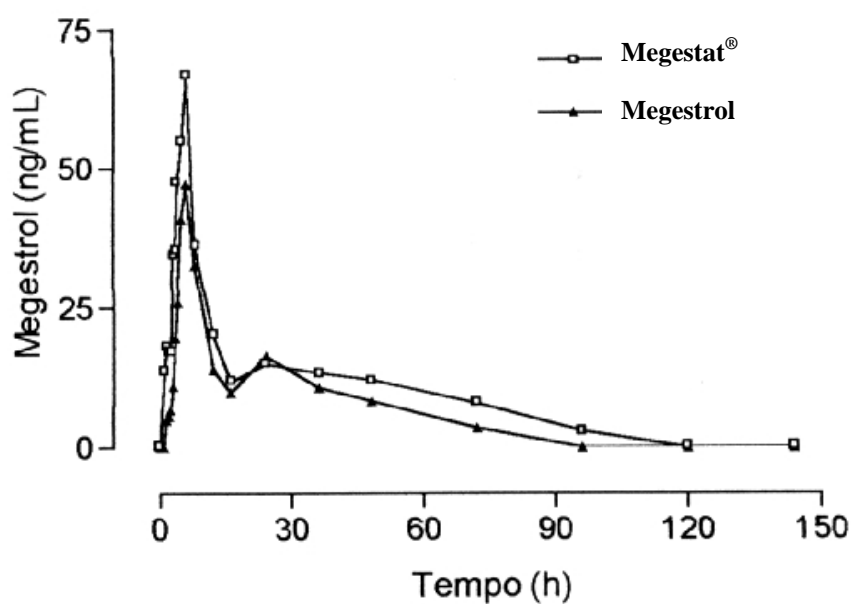
## VOLUNTÁRIO 23



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 23	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1641,31	1105,91
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1713,01	1146,86
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	95,81	96,43
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	76,49	62,87
$T_{max}$ (h)	3,5	1,5
$t_{1/2}$ (h)	27,81	19,95
$K$ (1/h)	0,025	0,035

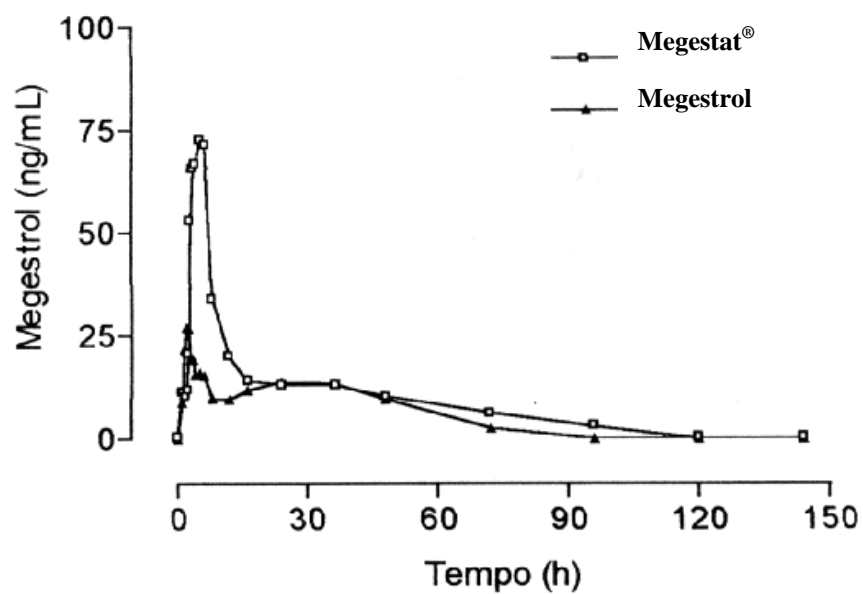


## VOLUNTÁRIO 24



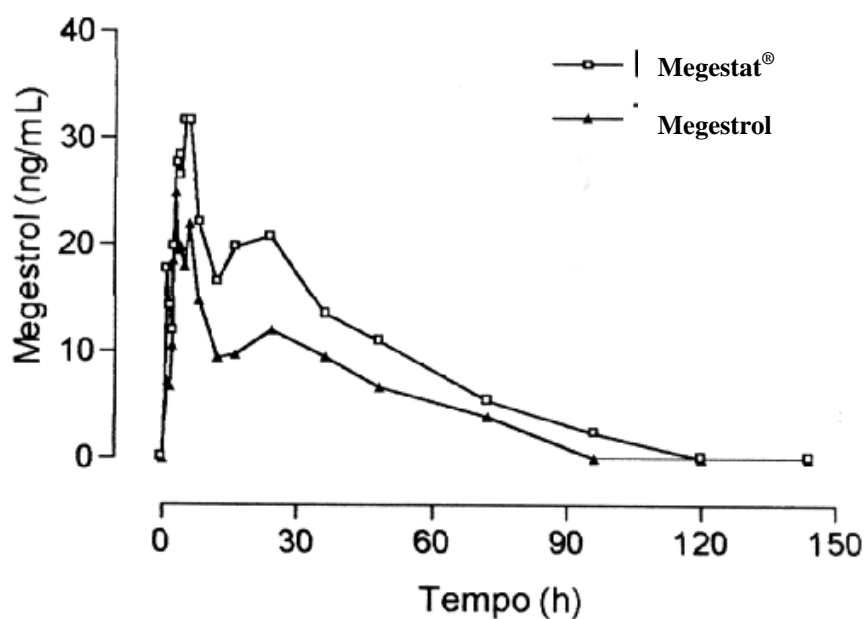
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 24	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1289,02	872,7
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1353,43	941,86
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	95,24	92,66
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	66,6	47,24
$T_{max}$ (h)	6	6
$t_{1/2}$ (h)	23,5	21,98
$K$ (1/h)	0,030	0,032

## VOLUNTÁRIO 25



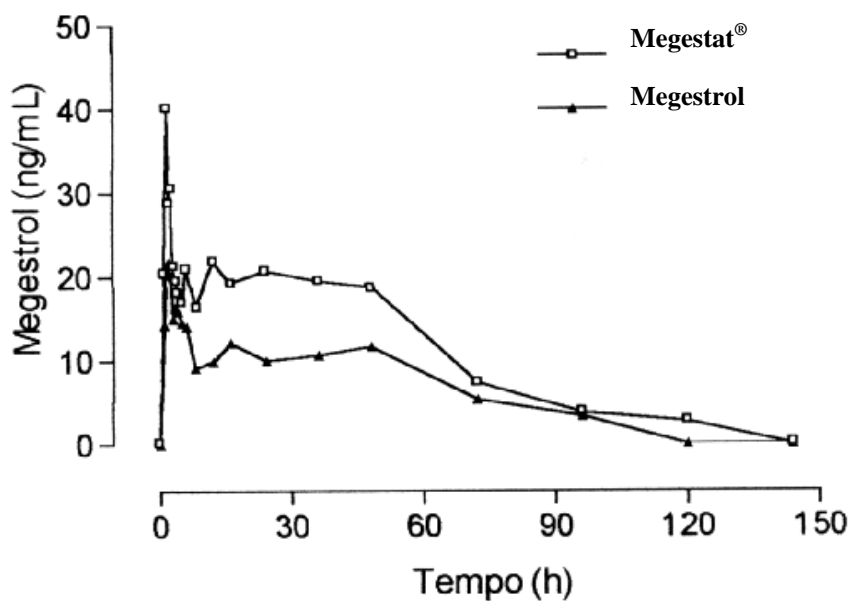
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 25	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1267,8	772,96
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1357,3	798,21
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	93,41	96,84
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	72,85	27,07
$T_{max}$ (h)	5	2
$t_{1/2}$ (h)	28,72	14,9
$K$ (1/h)	0,024	0,047

## VOLUNTÁRIO 26



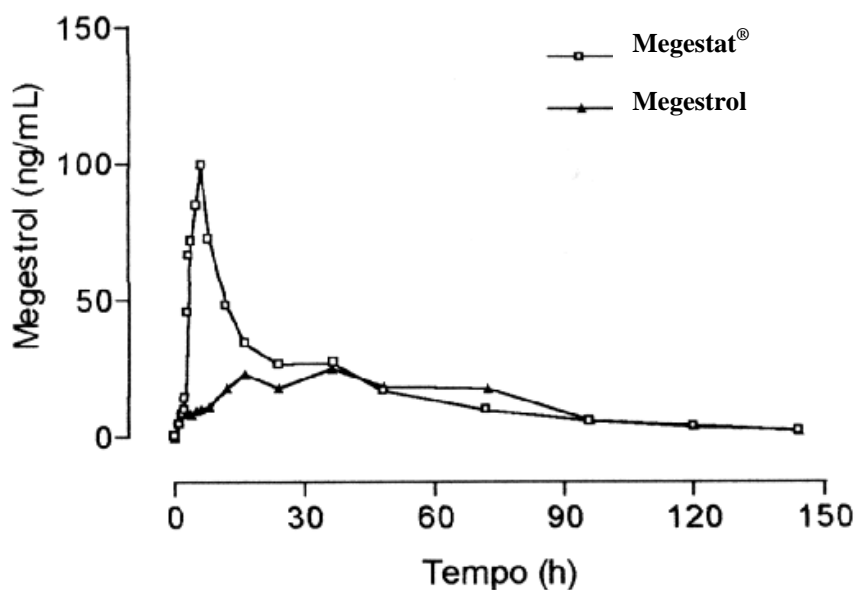
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 26	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1152,26	693,97
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1199,31	812,96
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	96,08	85,36
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	31,54	24,9
$T_{max}$ (h)	6	3
$t_{1/2}$ (h)	21,91	29,3
$K$ (1/h)	0,032	0,024

## VOLUNTÁRIO 27



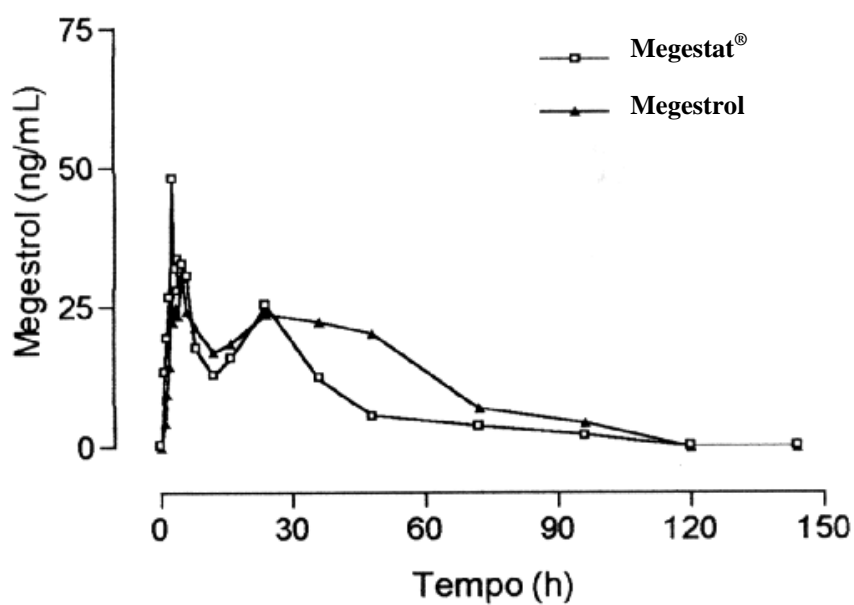
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 27	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1487,33	880,97
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1560,14	969,03
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	95,33	90,91
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	40,27	21,78
$T_{max}$ (h)	1,5	2
$t_{1/2}$ (h)	26,87	26,59
$K$ (1/h)	0,026	0,026

## VOLUNTÁRIO 28



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 28	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2340,61	1780,7
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	2470,82	1898,93
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	94,73	93,77
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	99,23	24,94
$T_{max}$ (h)	6	36
$t_{1/2}$ (h)	36,39	35,17
$K$ (1/h)	0,019	0,020

## VOLUNTÁRIO 30



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 30	Formulação	
	Megestat®	Megestrol
$ASC_{0-144h}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1008,69	1488,13
$ASC_{0-\infty}$ (ng*h*mL <sup>-1</sup> )	1094,25	1581,55
$ASC_{(0-144h)} / ASC_{(0-\infty)}$ (%)	92,18	94,09
$C_{max}$ (ng*mL <sup>-1</sup> )	48,15	30,44
$T_{max}$ (h)	2,5	5
$t_{1/2}$ (h)	35,27	23,31
$K$ (1/h)	0,020	0,030

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)