

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM FARMACOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA COMBINAÇÃO
SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA EM RATOS COMO
FERRAMENTA PREDITIVA DE ESTUDOS DE
BIOEQUIVALÊNCIA/BIODISPONIBILIDADE RELATIVA EM
SERES HUMANOS**

FABIANE INES HOFFMANN

**TOLEDO - PR
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM FARMACOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA COMBINAÇÃO
SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA EM RATOS COMO
FERRAMENTA PREDITIVA DE ESTUDOS DE
BIOEQUIVALÊNCIA/BIODISPONIBILIDADE RELATIVA EM
SERES HUMANOS**

FABIANE INES HOFFMANN

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia da Universidade
Federal de Santa Catarina como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Thereza
Christina Monteiro de Lima

Co-Orientadora: MSc. Josélia Larger
Manfio

**TOLEDO - PR
2011**

Catálogo pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Neide e Elmar, e ao meu irmão Ricardo. Obrigada pelo amor, apoio, incentivo e ativa participação em todos os momentos de minha vida. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Finalizada uma etapa particularmente importante da minha vida, não poderia deixar de expressar o mais profundo agradecimento a todos os que me apoiaram nesta longa caminhada e contribuíram para a realização deste trabalho.

Primeiramente agradeço a Deus que, em todos os momentos, guiou meus passos, mesmo quando eu não os podia compreender, para que eu estivesse no lugar certo, na hora certa, encontrasse as pessoas certas em minha vida e, assim, tudo se fez possível.

À Professora Thereza Christina Monteiro de Lima, o meu maior agradecimento por toda a disponibilidade e orientação prestada, pelo apoio e compreensão que sempre manifestou.

À co-orientadora, Josélia Larger Manfio, agradeço pelo apoio incondicional, disponibilidade e pelo conhecimento transmitido ao longo do Curso de Mestrado e da minha vida profissional.

À coordenação do curso de Pós-graduação em Farmacologia da UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina e todos os docentes do curso de Mestrado Profissional por acreditarem neste projeto permitindo sua realização.

À Biocinese – Centro de Estudos Biofarmacêuticos e à Prati, Donaduzzi Indústria Farmacêutica pelo apoio financeiro e disponibilização de equipamentos e materiais para a realização das análises.

Aos meus pais, Neide e Elmar, pela confiança, incentivo, amor, apoio, carinho e presença em todos os momentos desta pesquisa e de toda a minha vida. Por tudo o que me ensinaram com imenso amor e dedicação, aprendizados maiores do que quaisquer outros, que determinaram boa parte do que hoje sou. Obrigada por tudo! Meu amor por vocês é infinito!

Ao meu irmão, Ricardo, por compartilhar comigo todos os momentos, mesmo aqueles em que a saudade batia forte e a distância não nos permitia estar próximos. Você é meu orgulho! Te amo muito!

À Mariely, mais que uma amiga, uma irmã de coração. Sua amizade é uma dádiva, uma bênção em minha vida. Obrigada pelo ombro conselheiro nas horas apertadas e pelo abraço forte nas horas mais felizes.

À Micheline, por dividir e compartilhar todos os momentos desta nossa jornada, pelo apoio e amizade.

À Ana Maria, pela amizade e por todas as contribuições que deram o suporte necessário para a concretização desta etapa importante em minha vida.

Ao amigo Maurício, que trouxe uma imensa contribuição para a conclusão deste trabalho, tanto na etapa estatística quando nas opiniões que direcionaram a pesquisa.

A todos da Biocinese – Centro de Estudos Biofarmacêuticos, muito mais do que colegas de trabalho, grandes amigos, agradeço a cada um pela amizade, pelo incentivo e apoio durante mais esta etapa.

Aos funcionários e estagiários da UNIPAR – Universidade Paranaense, em especial à Rose, Giovane, Aline M., Ana Paula, Eduardo e Franciele, pelo auxílio na manutenção do biotério, na execução dos experimentos com os animais e por todas as informações prestadas.

Aos demais familiares e amigos, por todo o incentivo, apoio, por me ouvir e questionar, compartilhar momentos de descontração e preocupação, por entender minha ausência ou por simplesmente fazer parte de minha vida. Só posso agradecer, sempre, por tudo o que representam.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	-	Por cento
[]	-	Concentração
CLAE	-	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
GUA	-	Guanina
h	-	Horas
mg	-	Miligramas
mL	-	Mililitros
ng	-	Nanogramas
°C	-	Indica temperatura em Graus Celsius
P&D	-	Pesquisa e Desenvolvimento
R	-	Medicamento Referência
SMZ	-	Sulfametoxazol
T	-	Medicamento Teste
TMP	-	Trimetoprima
Kg	-	Quilogramas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema de classificação biofarmacêutica	23
Figura 2 - Fórmulas estruturais do Sulfametoxazol (SMZ) e da Trimetoprima (TMP), respectivamente.....	30
Figura 03 - Esquema de administração das formulações.....	37
Figura 4 - Cromatograma de SMZ, TMP e o padrão interno GUA.....	39
Figura 05 - Concentrações plasmáticas médias SMZ suspensão oral administrado em ratos	45
Figura 06 - Concentrações plasmáticas médias TMP suspensão oral administrado em ratos.....	46
Figura 07 - Concentrações plasmáticas médias do fármaco SMZ comprimido administrado por via oral em ratos.....	50
Figura 08 - Concentrações plasmáticas médias do fármaco TMP em comprimido administrado por via oral em ratos	51
Figura 09 - Concentração plasmática média dos fármacos SMZ - Teste e SMZ Referência na formulação suspensão em 21 Voluntários	54
Figura 10 - Concentração plasmática média dos fármacos TMP - Teste e TMP - Referência na formulação suspensão em 21 voluntários	55
Figura 11 - Concentração plasmática média dos fármacos SMZ - Teste e SMZ Referência na formulação comprimido em 24 Voluntários	59
Figura 12 - Concentração plasmática média dos fármacos TMP - Teste e TMP - Referência na formulação comprimido em 24 Voluntários	61
Figura 13 – Cinética do fármaco SMZ suspensão em ratos <i>versus</i> SMZ suspensão em seres humanos	63
Figura 14 – Cinética do fármaco TMP suspensão em ratos <i>versus</i> TMP suspensão em seres humanos	64
Figura 15 – Cinética do fármaco SMZ suspensão em ratos <i>versus</i> SMZ comprimido em seres humanos	65
Figura 16 – Cinética do fármaco TMP suspensão em ratos <i>versus</i> TMP comprimido em seres humanos	66
Figura 17 – Cinética do fármaco SMZ em suspensão <i>versus</i> SMZ em comprimido em ratos	67
Figura 18 – Cinética do fármaco TMP em suspensão <i>versus</i> TMP em comprimido em ratos	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Cálculo da dose a ser administrada	36
Tabela 2 - Cronograma de coleta de amostras sanguíneas ..	37
Tabela 3 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ suspensão oral – formulação referência	44
Tabela 4 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ suspensão oral – formulação teste	44
Tabela 5 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP suspensão oral – formulação referência.	45
Tabela 6 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP suspensão oral – formulação teste	46
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	47
Tabela 8 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	48
Tabela 9 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ comprimido – formulação referência	49
Tabela 10 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ comprimido – formulação teste	49
Tabela 11 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP comprimido – formulação referência	50
Tabela 12 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP comprimido – formulação teste	51
Tabela 13 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln).....	52
Tabela 14 - Parâmetros cinéticos dos Fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	52
Tabela 15 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ – Referência	53
Tabela 16 – Parâmetros farmacocinéticos do fármaco SMZ - Teste	53
Tabela 17 - Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP - Referência	54
Tabela 18 - Parâmetros farmacocinéticos do fármaco TMP -Teste	55

Tabela 19 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	56
Tabela 20 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	57
Tabela 21 - Estatísticas das medidas farmacocinéticas do fármaco SMZ- Referência na formulação comprimido ...	58
Tabela 22 - Estatísticas das medidas farmacocinéticas do fármaco SMZ- Teste na formulação comprimido	58
Tabela 23 - Estatísticas das medidas farmacocinéticas do fármaco TMP Referência na formulação comprimido	59
Tabela 24 - Estatísticas das medidas farmacocinéticas do fármaco TMP Teste na formulação comprimido	60
Tabela 25 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	61
Tabela 26 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)	62
Tabela 27 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ suspensão oral – formulação referência	78
Tabela 28 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ suspensão oral – formulação teste.....	78
Tabela 29 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP suspensão oral – formulação referência	78
Tabela 30 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP suspensão oral – formulação teste	79
Tabela 31 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ comprimido – formulação referência	79
Tabela 32 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ comprimido – formulação teste	79
Tabela 33 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP comprimido – formulação referência	80
Tabela 34 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP comprimido – formulação teste	80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Pesquisa e desenvolvimento de medicamentos	17
1.2 Formas farmacêuticas	18
1.2.1. Suspensão	19
1.2.2. Comprimidos	20
1.3 Biodisponibilidade relativa /Bioequivalência.....	21
1.4 Sistema de classificação biofarmacêutico (SCB)	23
1.5 Estudos preditivos para biodisponibilidade relativa / bioequivalência	24
1.5.1 Estudos de permeabilidade intestinal e cutânea com tecido animal	25
1.5.2 Estudos de permeabilidade: modelo células CaCo-2	25
1.5.3 Dissolução	26
1.5.4 Estudos preditivos em animais	27
1.5.5 Correlação <i>in vitro/in vivo</i> (CIVIV).....	27
1.6 Terapia com antimicrobianos	28
1.7 Sulfametoxazol + Trimetoprima	28
1.7.1 Mecanismo de Ação	29
1.7.2 Indicações.....	30
1.7.3 Farmacocinética	31
2. OBJETIVOS	32
2.1 Objetivo geral.....	32
2.2 Objetivos específicos.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Considerações éticas	33
3.2 Medicamentos	33
3.2.1 Medicamento teste.....	33
3.2.2 Medicamento referência.....	33
3.3. Estudo farmacocinético em ratos	34
3.3.1 Animais	34
3.3.2. Definição da dose administrada	35
3.3.3 Esquema de administração	36
3.3.4 Coleta das amostras	37
3.3.5 Eutanásia dos animais	38
3.3.6 Análise das amostras	38
3.3.7 Validação do método.....	39
3.3.8. Análise Farmacocinética	39
3.4 Estudos de Biodisponibilidade Relativa / Bioequivalência em seres humanos	40

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Estudo farmacocinético em ratos	42
4.1.1 Análises das amostras	42
4.1.2. SMZ + TMP suspensão oral.....	43
4.1.2.1 Intervalos de confiança de bioequivalência - formulação suspensão	47
4.1.3 SMZ + TMP comprimido	48
4.1.3.1 Intervalos de confiança de bioequivalência - formulação comprimido.....	52
4.2 Estudo de biodisponibilidade relativa / Bioequivalência em seres humanos	53
4.2.1. SMZ + TMP suspensão oral.....	53
4.2.1.1 Intervalos de confiança - formulação suspensão.....	55
4.2.2 SMZ + TMP formulação comprimido	57
4.2.2.1 Intervalos de confiança - formulação comprimido	60
4.3 Comparação dos dados de ratos <i>versus</i> seres humanos.....	62
4.4 Comparação formulações suspensão <i>versus</i> comprimido em ratos	66
5. CONCLUSÃO	69
6. REFERÊNCIAS.....	70
Anexo 1 – Parecer de aprovação do Comitê de Ética	77
Anexo 2 – Parâmetros farmacocinéticos individuais de SMZ e TMP em ratos.....	78

RESUMO

AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA COMBINAÇÃO SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA EM RATOS COMO FERRAMENTA PREDITIVA DE ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA/BIODISPONIBILIDADE RELATIVA EM SERES HUMANOS

Diferenças relacionadas às características físico-químicas do fármaco, componentes da formulação e processos de fabricação podem gerar problemas na biodisponibilidade de medicamentos. Partindo deste princípio, e da necessidade de realização de testes mais específicos prévios a execução de estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência farmacêutica em humanos foi desenvolvida uma ferramenta em modelo animal para prever o comportamento farmacocinético de formulações desenvolvidas previamente a realização dos testes em humanos. Foram avaliados os perfis farmacocinéticos de formulações da associação sulfametoxazol + trimetoprima suspensão e comprimido administrados a ratos *Wistar*. Os resultados foram comparados com dados previamente obtidos em estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência com indivíduos saudáveis. Observou-se que, no caso da suspensão, os resultados se apresentaram mais consistentes e foi possível correlacionar o perfil dos fármacos em ratos e humanos. Nos comprimidos também houve relação entre os valores, entretanto, limitações do modelo animal não permitiram uma relação completa com os resultados encontrados em humanos. Os resultados encontrados no estudo permitem avaliações do comportamento farmacocinético individual de cada formulação testada, contribuindo para que problemas sejam identificados e corrigidos anteriormente à submissão dos medicamentos à testes oficiais de biodisponibilidade relativa / bioequivalência em humanos.

PALAVRAS CHAVES: sulfametoxazol, trimetoprima, biodisponibilidade relativa, bioequivalência.

ABSTRACT

Pharmacokinetic evaluation of sulfamethoxazole + trimethoprim combination in rats as a predictive tool to studies of bioequivalence/bioavailability in human beings

Differences related to physico-chemical characteristics of the drug, formulations components and manufacturing processes can lead to problems in drug bioavailability. With this assumption, and the need for more specific tests prior to implementation of relative bioavailability / bioequivalence studies in human beings, an animal model was developed to putatively predict, or not, the bioequivalence of formulations developed before testing in human beings. We have evaluated the pharmacokinetic profiles of sulfamethoxazole + trimethoprim tablet and suspension formulations administered to *Wistar* rats. The results were compared with previously obtained data in studies of relative bioavailability / bioequivalence in healthy volunteers. It was observed that the results were more consistent for the suspension formulation, being possible to correlate the drugs profile in rats and humans. For the tablets, there was some relationship between values, however, limitations of the animal model due to size did not allow a complete correlation with the results found in humans to the oral administration of solid formulations such as tablets. The findings of the present study allow assessments of individual pharmacokinetic behavior for each formulation tested in rats, contributing to identify problems and solve them prior to submission of official drug bioavailability / bioequivalence studies in humans.

KEYWORDS: sulfamethoxazole, trimethoprim, relative bioavailability, bioequivalence.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Pesquisa e desenvolvimento de medicamentos

O avanço das pesquisas científicas nas últimas décadas tem evidenciado que a segurança e eficácia clínica dos medicamentos não podem ser atribuídas exclusivamente às propriedades farmacológicas intrínsecas do fármaco. Fatores ligados às suas propriedades físico-químicas, bem como aqueles relacionados aos excipientes empregados na formulação, além do processo de fabricação, têm sido considerados responsáveis por alterações no efeito dos medicamentos, uma vez que podem afetar a biodisponibilidade dos fármacos (CHEN *et al.*, 2007; PANCHAGNULA; THOMAS, 2000).

O processo de desenvolvimento de novos medicamentos requer até 20 anos desde o estudo de moléculas promissoras até sua introdução no mercado. Muitas das moléculas estudadas apresentam problemas na fase inicial de estudos pré-clínicos e clínicos. Após estes estudos, 46% dos compostos que passam para a fase de desenvolvimento clínico apresentam problemas de eficácia e segurança (ELIOPOULOS *et al.*, 2008; VARMA *et al.*, 2004).

A absorção, distribuição, metabolismo e eliminação são estágios importantes relacionados ao perfil farmacocinético de uma molécula (VARMA *et al.*, 2004). Informações relacionadas a estes estágios, no desenvolvimento de um medicamento, fornecem maior segurança sobre o futuro perfil do fármaco.

Neste sentido, conhecer previamente a solubilidade e permeabilidade fornece, em estágios iniciais do desenvolvimento de um medicamento, informações relacionadas a forma de absorção, distribuição e da resposta terapêutica, principalmente para aqueles administrados por via oral (VARMA *et al.*, 2004).

Segundo Venkatesh e colaboradores (2000), os principais problemas no desenvolvimento de novos medicamentos são: baixa biodisponibilidade (39%), ausência de eficácia (29%), detecção de efeitos tóxicos (21%), razões de mercado (alto custo, baixa aceitação comercial, estratégias de marketing insuficientes) (6%).

Em 1991, 40% do total de falhas no desenvolvimento de novos fármacos estavam relacionados à biodisponibilidade e farmacocinética, já em 2000 esse percentual diminuiu em 10% (KOLA, LANDIS, 2004; PRENTIS, LIS E WALKER, 1988). Tal fato demonstra que cada vez mais a indústria investe em testes para compreender o perfil dos medicamentos em estudo, principalmente porque quanto mais avançada

estiver a fase de descontinuidade do projeto de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), maiores serão os prejuízos da empresa (VENKATESH, LIPPER, 2000; PRENTIS, LIS E WALKER, 1988).

A relação entre o fármaco, a forma farmacêutica que o contém e a via pela qual é administrado determina quanto e com que velocidade esse fármaco entra na circulação sistêmica. Para que ocorra efeito um medicamento precisa chegar ao sítio de ação e permanecer por tempo suficiente para ser considerado eficaz (ASHFORD, 2005a).

A biodisponibilidade está diretamente relacionada com absorção e é de grande importância para administração de fármacos em vias extravasculares (oral, intramuscular, subcutânea, transdérmica, retal, vaginal, etc.). (ABDOU, 1989).

A absorção é a transferência do fármaco do local de administração para a corrente sanguínea. Assim, por definição, quando um medicamento é administrado por via intravascular apresenta 100% de biodisponibilidade, ou seja, toda a dose é administrada diretamente na corrente sanguínea e pode se ligar a receptores e desencadear o efeito farmacológico (ASHFORD, 2005a).

Vários são os fatores que influenciam na biodisponibilidade de um fármaco, que de maneira geral podem ser divididos em fatores fisiológicos relacionados ao trato gastrointestinal, características físico-químicas do fármaco e características da forma farmacêutica e seus excipientes (SHARGEL, *et al.*, 2005).

De acordo com Ku (2008), diferenças em relação às características físico-químicas do fármaco, componentes da formulação e processos de fabricação diferentes, podem gerar diferenças de biodisponibilidade que, podem comprometer a bioequivalência e intercambialidade de medicamentos genéricos. Quando existem ferramentas adequadas de controle de qualidade durante o desenvolvimento farmacotécnico tal situação pode ser evitada.

Formas farmacêuticas sólidas apresentam maiores fatores que afetam a biodisponibilidade com maior frequência do que outras formas. Características do fármaco, excipientes, diferenças na dissolução, técnicas de compressão e revestimento precisam de um controle rigoroso durante seu desenvolvimento, pois potencialmente são as formas que podem apresentar problemas em relação à biodisponibilidade e bioequivalência (ABDOU, 1989; GIBALDI, 1991).

1.2 Formas farmacêuticas

A velocidade de liberação do fármaco das formas farmacêuticas administradas por via oral, geralmente diminui na seguinte ordem: soluções, suspensões, pós, cápsulas, comprimidos, comprimidos revestidos e/ou drágeas e comprimidos de liberação modificada (AULTON, 2005).

A definição da forma farmacêutica oral estabelece a quantidade de etapas que o medicamento vai realizar desde sua administração até dissolução nos fluidos gastrintestinais. (ASHFORD, 2005a).

Quanto maior o número de etapas que intervêm no processo de absorção, maior será o número de potenciais obstáculos para que a absorção ocorra e maior será a probabilidade que uma determinada forma farmacêutica venha a reduzir a biodisponibilidade apresentada pelo fármaco. (ASHFORD, 2005).

O emprego de suspensões geralmente ocorre para incorporar fármacos insolúveis ou pouco solúveis em meio aquoso. A biodisponibilidade de medicamentos administrados na forma de suspensão pode estar relacionada com: tamanho da partícula, forma cristalina do fármaco, complexação do fármaco com excipientes, agentes para favorecer a dissolução, substâncias que aumentam a viscosidade, etc. (ASHFORD, 2005, AULTON, 2005).

As formas sólidas de medicamentos podem ser obtidas por compressão de uma mistura de excipientes com o fármaco, sendo comprimidos simples, revestidos, bucais, sublinguais, efervescentes, mastigáveis. Os maiores problemas relacionados com a biodisponibilidade de fármacos ocorrem com comprimidos, em função de fatores relacionados à tecnologia de fabricação e aos adjuvantes empregados. Para que o fármaco seja liberado desta forma farmacêutica são necessárias as etapas de desagregação, desintegração e dissolução (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1981; FERRAZ, 1994).

Neste sentido, estudos biofarmacêuticos tornam-se importantes e relevantes para avaliar formulações em suas características físico-químicas (estudos *in vitro*) e biológicas (estudos *in vivo*), principalmente porque estes fatores influenciarão na biodisponibilidade das formulações desenvolvidas (KARALIS et al., 2008).

1.2.1. Suspensão

As suspensões são sistemas heterogêneos em que a fase externa ou contínua é líquida ou semi-sólida e a interna ou dispersa é formada por partículas sólidas praticamente insolúveis no veículo (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981).

As suspensões podem ser de uso oral, intramuscular, subcutâneo e tópico, além das preparações oftálmicas. Para fármacos insolúveis, de sabor desagradável ou para prolongar ações medicamentosas, a suspensão oral é uma das formas farmacêuticas mais utilizadas. Nesse tipo de formulação, o tamanho das partículas dispersas pode condicionar a facilidade de absorção ou a predominância de uma ação local no intestino, além disso, é possível incorporar, com maior facilidade, adjuvantes para mascarar o sabor desagradável (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981; MARTIN, 1993; FLORENCE, ATTWOOD, 2003).

Alguns fatores e propriedades físico-químicas devem ser considerados quando uma suspensão é preparada, tais como, viscosidade, densidade da fase dispersante, tamanho das partículas, temperatura de armazenagem, inibição de crescimento de cristais e mudanças polimórficas são de especial significância, pois modificações nesses parâmetros, durante o tempo de armazenagem do produto, pode afetar o desempenho da formulação (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981; LACHMANN, LIEBERMAN, KANING, 2001; MARTIN, 1993; FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

1.2.2. Comprimidos

Acredita-se que 90% de todos os medicamentos usados na terapia por ação sistêmica sejam administrados por via oral, e destes, as formas sólidas são as preferidas. Comprimidos e cápsulas constituem formas farmacêuticas unitárias, permitem uma dosagem única e exata, são formas compactas e com boa estabilidade (LACHMAN, 2001, ANSEL, *et al.*, 2000, REMINGTON, 2004).

Sastry e colaboradores (2000) afirmam que formas farmacêuticas sólidas, especialmente os comprimidos, são muito utilizadas na terapia principalmente por apresentarem vantagens tais como: facilidade para administração, estabilidade da composição, segurança para prescrição e maior adesão do paciente ao tratamento.

Comprimidos obtidos por compressão, com o auxílio de adjuvantes apropriados, ou sem eles, apresentam diferenças relacionadas ao tamanho, forma, peso, dureza, espessura, forma de desintegração e liberação dependendo da indicação a qual ele se destina (ANSEL, *et al.*, 2000, REMINGTON 2004).

Existem várias formas de administração de comprimidos, a via oral é a mais comum, os comprimidos são deglutidos e em algumas

situações devem ser dissolvidos antes na água, outros devem permanecer na boca (ação local), outros são inseridos em cavidades do organismo, aplicados sobre a pele, ou ainda, adaptados à preparação de soluções injetáveis (ANSEL, *et al.*, 2000; HIR, 1997).

Podem-se citar como principais vantagens dos comprimidos em relação a outras formas farmacêuticas (LACHMAN, 2001; HIR, 1997):

- Baixo custo quando comparado com outras formas farmacêuticas orais;
- Boa estabilidade físico-química e microbiológica;
- Forma compacta que favorece a embalagem e o transporte;
- Menor percepção do sabor e odor desagradáveis de certos princípios ativos comparados com formas líquidas, além de estas características organolépticas estarem totalmente mascaradas quando revestido;
- Apresenta forma unitária de dosagem que oferece maior capacidade, dentre todas as outras formas farmacêuticas, de precisão de dose e menor variabilidade no conteúdo;
- Mais leves e compactos que todas as formas farmacêuticas orais;
- Podem ser produzidos mais facilmente em grande escala do que qualquer outra forma oral unitária.
- Facilmente administrável dispensando a necessidade de pessoal técnico capacitado.

1.3 Biodisponibilidade relativa /Bioequivalência

No início da década de 60 as diferenças na biodisponibilidade foram reconhecidas. A administração de formulações de liberação imediata de digoxina com diferentes tamanhos de partículas desencadeou eventos adversos sérios. Tais observações levaram à fundamentação dos primeiros critérios para o estabelecimento de testes de bioequivalência pelo FDA (*Food and Drug Administration*), agência reguladora norte-americana em 1977 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005).

No mundo todo, a definição estabelecida pelo FDA é utilizada e refere-se à quantidade absorvida de um fármaco, a partir de sua forma farmacêutica, e à velocidade pela qual esse processo ocorre. De acordo com Bueno (2005), a definição do FDA cita que biodisponibilidade é uma propriedade que deriva da administração do medicamento ao organismo e que, por citar a forma farmacêutica, deixa claro que a mesma pode influenciá-la.

Os ensaios destinados à determinação de biodisponibilidade e/ou bioequivalência de fármacos administrados em uma determinada formulação farmacêutica visam garantir a eficácia e segurança dos mesmos. Segundo princípios éticos, a FDA recomenda a utilização de modelo animal que possa ser correlacionado com aqueles obtidos em humanos. Na ausência desses modelos, os testes devem incluir seres humanos sob condições normais e padronizadas (ARANCÍBIA; PEZOA, 1992; STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995).

O conceito de biodisponibilidade é definido como a velocidade e extensão da absorção do fármaco a partir de uma determinada forma farmacêutica, tornando-se disponível no local de ação. Quando fármacos de ação sistêmica são administrados por via extravascular, a absorção passa a ser um pré-requisito para o efeito terapêutico dos mesmos e a biodisponibilidade passa a ser associada diretamente à qualidade do medicamento (SHARGEL; YU, 2005).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999) define biodisponibilidade como sendo a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina.

A bioequivalência é a demonstração de equivalência farmacêutica entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio (s) ativo (s) e que tenham comparável biodisponibilidade quando estudados sob um mesmo desenho experimental (BRASIL, 1999).

Os estudos de biodisponibilidade de medicamentos são empregados com várias finalidades (STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995):

- bioequivalência entre medicamentos;
- medicamentos que contêm fármacos novos na terapêutica;
- novas formulações contendo fármacos já conhecidos;
- formas farmacêuticas de liberação modificada;
- associação de fármacos;
- alterações na formulação de um medicamento;
- alterações de posologia/ esquema terapêutico.

Contudo, tais estudos estão sujeitos a um grande número de fontes de variação, como por exemplo, as variabilidades individuais (intra-indivíduos e inter-indivíduos), as diferenças entre as formulações de um mesmo lote, ou mesmo o erro experimental na análise dos parâmetros farmacocinéticos. Estudos de bioequivalência e revisões que abordam o tema têm dado grande atenção para a variabilidade individual

(JACKSON, 1994). Algumas pesquisas apontam fatores genéticos como fontes de variação intra-indivíduos, porém, esses dados ainda não estão completamente elucidados (PELKONEN; BOOBIS; REMY, 2001).

Para Steppe (1996), diferenças de biodisponibilidade de medicamentos ocorrem, principalmente, em função das diferenças observadas em relação à eficiência e velocidade de absorção de fármacos. Variações intra-individuais e os fatores relacionados à forma de dosagem utilizada são os principais responsáveis por essas alterações. Por esse motivo, formas farmacêuticas sólidas, administradas por via oral, apresentam frequentemente problemas de biodisponibilidade em relação a outras formas de dosagem.

1.4 Sistema de classificação biofarmacêutico (SCB)

O Sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) foi criado por Amidon e colaboradores, em 1995 e representa um novo padrão baseado na classificação de fármacos de acordo com suas propriedades biofarmacêuticas e engloba as propriedades fundamentais relacionadas à absorção de fármacos como permeabilidade e solubilidade (AMIDON et al., 1995; TAKAGI et al., 2006).

Como fundamentalmente extensão e velocidade de absorção de um medicamento dependem basicamente da solubilidade e permeabilidade do fármaco através de membranas biológicas o SCB divide os fármacos em 4 classificações (MARTINEZ; AMIDON, 2002), conforme Figura 1:

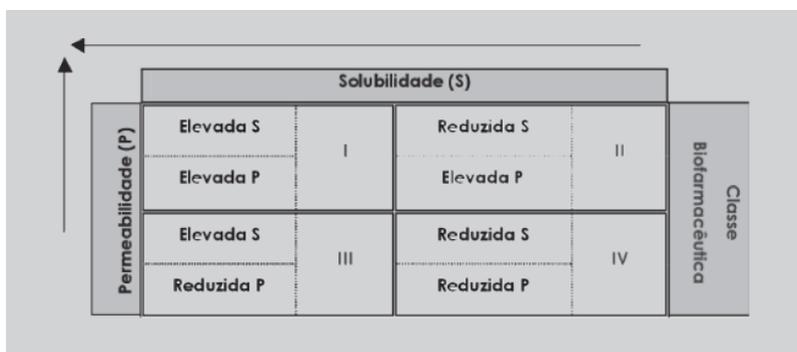


Figura 1 - Sistema de classificação biofarmacêutica (adaptado de Lonbenberg e Amidon, 2000)

Com o SCB é possível estimar o desempenho farmacocinético *in vivo* de um medicamento através de dados de permeabilidade e solubilidade (KARALIS et al., 2008, DAHAN, *et al.*, 2009).

Desde a introdução do sistema em 1995, este vem sendo utilizado para isentar do teste de bioequivalência fármacos altamente solúveis e altamente permeáveis (classe 1) que sejam aprovados no teste de perfil de dissolução (COOK; ADDICKS; WU, 2008). A utilização deste sistema para bioisenção de fármacos e foi adotado oficialmente nos últimos anos por agências como o FDA (UNITES STATES, 2002).

A bioisenção dos fármacos da classe 1 é possível pois a absorção oral de um medicamento, por exemplo, dependente basicamente da solubilidade aquosa e permeabilidade gastrointestinal. A dissolução do medicamento somada ao SCB permite considerar solubilidade, permeabilidade e dissolução: fatores que afetam a velocidade e extensão da absorção de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata: (DAHAN, *et al.*, 2009).

O SCB permite a redução da exposição de voluntários sadios aos fármacos candidatos aos testes de bioequivalência e identificar se a biodisponibilidade de determinado produto farmacêutico é sensível a alterações do processo produtivo, dos constituintes da formulação ou da concentração do fármaco, desta forma reduz custos e tempo necessários para os processos de desenvolvimento de produtos farmacêuticos (LENNERNÄS; ABRAHAMSSON, 2005; SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

Entretanto, o SCB assume que nenhum outro componente da formulação altere a permeabilidade de membrana ou o trânsito intestinal (AMIDON, 1995) sendo assim, para complementar questões que surgiram a partir do SCB foram desenvolvidos inúmeros modelos para testar principalmente a permeabilidade e solubilidade de fármacos.

1.5 Estudos preditivos para biodisponibilidade relativa / bioequivalência

A aplicação de conceitos farmacocinéticos e farmacodinâmicos pode aperfeiçoar o processo de desenvolvimento de um novo medicamento, ou ainda racionalizar a utilização daqueles já existentes (MEIBOHM & DERENDORF, 2002).

Modelos animais são utilizados em estágios pré-clínicos para avaliação preditiva de toxicidade, definição da dose etc.; modelos farmacocinéticos ou farmacodinâmicos *in vivo* fornecem informações sobre os efeitos de idade e sexo, interações e variabilidade do fármaco,

enquanto as avaliações *in vitro* permitem avaliar parâmetros físico-químicos de formas farmacêuticas.

1.5.1 Estudos de permeabilidade intestinal e cutânea com tecido animal

Determinar a permeabilidade dos fármacos através de membranas do trato gastrointestinal (TGI) auxilia na previsão da biodisponibilidade e estudos utilizando tecido animal para avaliar a permeabilidade intestinal são realizados desde 1950. No decorrer dos anos foram desenvolvidos vários modelos, utilizando diferentes tecidos e segmentos de intestino de diferentes espécies e foram sendo observadas significâncias morfológicas significativas diferenças morfológicas e funcionais entre os modelos animais e os enterócitos humanos (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

Um modelo de permeabilidade intestinal, desenvolvido desde a década de 50, utiliza porções invertidas do intestino e permite a avaliação da absorção por meio de segmentos de origem animal. É utilizado para o estudo de mecanismos de transporte de fármacos, assim como para absorção passiva, transporte ativo, além da cinética de transporte na presença e ausência de glicoproteína-P (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007). Também existem na literatura modelos utilizando células de difusão para avaliação da permeação cutânea. O modelo consiste em células compostas por 2 compartimentos (receptor e fase doadora), separados por uma membrana sintética ou pele (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

O tecido de porco foi o que apresentou maior semelhança anatômica e biológica ao intestino humano e tem sido frequentemente utilizado para estudos de permeabilidade, mecanismo de transporte e metabolismo de fármacos, entretanto, devido a dificuldade em obter tecidos viáveis, ou que se mantenham adequados durante os experimentos por necessitarem de oxigenação, o modelo apresenta restrições (PIETZONKA *et al.*, 2002).

1.5.2 Estudos de permeabilidade: modelo células CaCo-2

HILGERS e colaboradores (1990) sugerem que células de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2) podem ser úteis para prever o potencial de absorção oral de fármacos. Essas células são cultivadas em filtros permeáveis e porosos e se diferenciam espontaneamente em enterócitos, formando uma membrana composta de células em monocamada aderidas por junções e apresentam como vantagem a

rápida multiplicação celular (BALIMANE; CHONG; MORRISON, 2000).

Muitos autores têm demonstrado que a permeabilidade de medicamentos pelas células Caco-2 apresentou correlação positiva com a porcentagem de fármacos absorvidos no organismo, tanto por difusão passiva quanto por transporte ativo (ARTURSSON; PALM; LUTHMAN, 1996; USP, 2000).

Entre os modelos celulares existentes, a linhagem celular Caco-2 é a mais amplamente utilizada e vem sendo investigada como sendo um modelo *in vitro* para estudos de absorção de fármacos (JUNG *et al.*, 2006).

Muitos estudos *in vitro*, com Caco-2, sugerem que transportadores podem facilitar ou limitar a absorção de muitos fármacos, entretanto, estudos *in vivo* têm evidenciado que os transportadores representam tanta influencia na absorção. As diferenças entre os estudos *in vitro* e *in vivo* pode ser explicada pela diferença inerente de cada sistema.

A maioria dos estudos feitos com Caco-2 esta metodologia pode ser usada para identificar fármacos com problemas potenciais de absorção (ARTURSSON; PALM; LUTHMAN, 2001), mas, as conclusões de estudos *in vitro* devem ser cuidadosamente avaliadas antes de serem extrapoladas para as condições *in vivo* e a influência dos transportadores na absorção de fármacos deve ser minuciosamente explicada quando se tratar de isenção de estudos de bioequivalência com base no SCB (YU *et al.*, 2002).

1.5.3 Dissolução

A dissolução de medicamentos pode ser definida como o fenômeno em que um fármaco no estado sólido é liberado e solubiliza após a administração, sendo assim uma importante condição para absorção sistêmica do fármaco, podendo afetar a biodisponibilidade do mesmo. (ABDOU, 1989; STORPIRTIS (1999).

O teste de dissolução era utilizado para formas farmacêuticas convencionais, como comprimidos e cápsulas, e formas farmacêuticas de liberação modificada., mas nos últimos anos se tornou importante para verificação da liberação de fármacos a partir das mais diversas formas farmacêuticas como pós, comprimidos mastigáveis, comprimidos sublinguais, gomas mastigáveis, supositórios, adesivos transdérmicos, aerossóis e semi-sólidos (ARZAMI; ROA; LÖBENBERG, 2007).

O teste de dissolução é um teste oficial utilizado pelas farmacopéias para avaliação da liberação dos fármacos a partir das formas farmacêuticas sólidas e semi-sólidas (ARZAMI; ROA; LÖBENBERG, 2007).

Na dissolução *in vitro* podem ser obtidos dados importantes em vários estágios do desenvolvimento de produtos. O teste também permite a escolha de uma forma farmacêutica que apresente o melhor desempenho na liberação do fármaco (DRESSMAN et al., 1998).

Muitos pesquisadores sugerem que o teste de dissolução possa prever o desempenho *in vivo* do produto a partir do teste *in vitro*. Estas metodologias permitiriam uma redução da carga de trabalho necessária para o desenvolvimento de um produto farmacêutico, e principalmente a diminuição do número de estudos clínicos (DRESSMAN et al., 1998).

1.5.4 Estudos preditivos em animais

Embora os estudos farmacocinéticos em humanos sejam mais minuciosos, detalhados e abrangentes, informações preliminares obtidas a partir de ensaios em animais de pequeno porte, como ratos, podem ser aplicáveis para nortear o delineamento de estudos clínicos (KAISER, 2009).

Os dados farmacocinéticos normalmente fornecidos de estudos em ratos, cães e/ou macacos são utilizados para ajudar a prever o comportamento farmacocinético de moléculas em seres humanos. (WARD, SMITH, 2004). Entretanto, a bioequivalência em animais não necessariamente pode ser extrapolada para humanos e a correlação deve ser validada. (SAHA, MALBACH, 1993).

1.5.5 Correlação *in vitro/in vivo* (CIVIV)

O conceito de correlação *in vitro / in vivo* (CIVIV) vem sendo muito utilizado atualmente. O CIVIV consiste na relação entre a propriedade biológica ou parâmetros derivados com as propriedades físico-químicas da mesma dosagem (UNITED, 2005).

Este princípio de correlação envolve três níveis que são apresentados por UPPOOR (2001):

- A: correlação ponto a ponto entre o perfil de dissolução *in vitro* e a fração absorvida *in vivo* (Obtida a partir da curva de concentração plasmática do fármaco em função do tempo);

- B: tempo médio de dissolução (TMD) *in vitro versus* tempo médio de residência (TMR) ou ao TMD *in vivo*;

- C: único ponto entre um parâmetro da dissolução e um parâmetro farmacocinético;

O conhecimento das características físico-químicas de um fármaco como solubilidade e permeabilidade são imprescindíveis para estabelecer *C_{IV}*. Testes de dissolução, SCB, estudos de permeabilidade e farmacocinéticos são utilizados para possibilitar uma correlação (POLLI, et al., 1996).

1.6 Terapia com antimicrobianos

A terapêutica antimicrobiana tem como objetivo a erradicação efetiva de microrganismos patogênicos, utilizando a menor dose possível em curto período de duração de tratamento, e com o menor número de efeitos adversos. Para que seja determinada a posologia, são incorporados fatores farmacocinéticos e farmacodinâmicos do antimicrobiano (EBERT & CRAIG, 1990).

Avaliações microbiológicas *in vitro* permitem a obtenção de informações completas sobre a ação do antimicrobiano, entretanto, *in vivo* as concentrações do fármaco são alteradas durante o intervalo entre as dosagens, evento que não é contemplado por estes estudos. Diferenças na absorção, distribuição e eliminação de um antimicrobiano podem resultar em consequências no tratamento. Sendo assim, é necessário incorporar parâmetros farmacocinéticos aos dados obtidos *in vitro* a fim de ampliar a compreensão da atividade clínica de um antimicrobiano (EBERT & CRAIG, 1990; VAN BAMBEKE & TULKENS, 2001).

Embora a influência dos parâmetros farmacocinéticos sobre o efeito dos antimicrobianos *in vivo* tem sido relatada na literatura científica, entretanto, até o momento não há definição do melhor método preditivo de atividade antibacteriana. (TURNIDGE, 1998; LI, 2000; AMSDEN, 2001; VAN BAMBEKE & TULKENS, 2001; FRIDT-MOLLER, 2002).

1.7 Sulfametoxazol + Trimetoprima

A introdução da trimetoprima (derivado da pirimidina) associada ao sulfametoxazol (classe das sulfonamidas) contribuiu significativamente para o desenvolvimento da quimioterapia. Essa constituiu a primeira preparação antibacteriana desenvolvida por investigação sistemática de uma série de compostos com mecanismo de ação conhecido, em oposição à situação usual em que o mecanismo de

ação de determinado agente antibacteriano é elucidado depois de extensiva pesquisa e uso clínico (SILVA, 2006). Assim, foi constituída a aplicação prática de um princípio teórico, isto é, quando dois fármacos atuam em etapas sequenciais na via de determinada reação enzimática obrigatória das bactérias, o resultado de sua combinação é sinérgico. Em grande parte do mundo esta combinação é conhecida como cotrimoxazol (GOODMAN & GILMAN, 2006).

A combinação de trimetoprima (TMP) e sulfametoxazol (SMZ) é um antibactericida de amplo espectro contra organismos gram-positivos e gram-negativos (MORGAN, RAYMOND, 1980). Quando os dois componentes são combinados, seu potencial mútuo de atividade antibactericida resulta em uma ação mais rápida, com um espectro amplo e um baixo potencial de indução à resistência (BUSHBY, HITCHINGS, 1968; LI, 2000).

Essa associação tem demonstrado ser altamente efetiva para o tratamento de uma variedade de doenças infecciosas e é uma das ferramentas mais utilizadas para tratamento antimicrobiano (GOODMAN & GILMAN, 2006).

Em um estudo utilizando camundongos da linhagem *Swiss* que receberam uma formulação oral contendo 800 mg de SMZ e 160 mg de TMP, demonstrou-se que após a absorção a relação inalterada de SMZ/TMP foi de 20 para 50 e se manteve após 10 h da administração. Isso demonstra que um tratamento adequado com SMZ-TMP depende da biodisponibilidade dos dois componentes nas formulações farmacêuticas e na farmacocinética individual. O SMZ é metabolizado pelo N4 acetil transferase e é sabido que a atividade desta enzima varia nas diferentes populações (SCHWARTZ, REIDER, 1970; MONTEIRO *et al.*, 1997; LI, 2000).

As vantagens apresentadas para o uso da combinação TMP-SMZ são: redução da concentração mínima inibitória (CIM), incremento da atividade bactericida e redução do risco de resistência (BUSHBY, 1975).

1.7.1 Mecanismo de Ação

A associação de SMZ + TMP age sinérgicamente, bloqueando duas enzimas que catalisam estágios sucessivos na biossíntese do ácido folínico no microrganismo. São freqüentemente eficazes contra bactérias que são resistentes a um deles isoladamente. Por causa de seu mecanismo de ação, o risco de resistência bacteriana é minimizado (RANG *et al.*, 2003).

O SMZ inibe a incorporação do ácido para-aminobenzóico (PABA) no ácido fólico, mediada pela enzima diidropteroato-sintetase, enquanto a TMP impede a redução do diidrofolato a tetraidrofolato, inibindo a enzima diidrofolato-sintetase. O tetraidrofolato é essencial para as reações de transferência de carbono na célula bacteriana (SILVA, 2006).

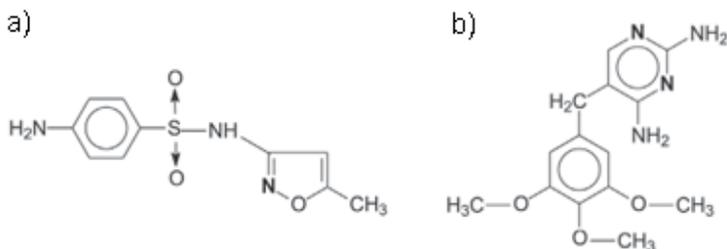


Figura 2 - Fórmulas estruturais do Sulfametoxazol (a) e da Trimetoprima (b), respectivamente.

A interação sinérgica entre a sulfonamida e a TMP é previsível com base nos respectivos mecanismos. Existe uma relação ótima entre as concentrações dos dois agentes para obter o sinergismo que é igual à relação entre as concentrações inibitórias mínimas dos fármacos quando atuam independentemente. Apesar de esta relação variar para diferentes bactérias, a mais eficaz para o maior número de microrganismos é de 20 partes de SMZ para 1 de TMP. (GOODMAN & GILMAN, 2006)

1.7.2 Indicações

As formulações de SMZ e TMP são indicadas no tratamento das infecções causadas por bactérias sensíveis à esta associação, tais como: infecções do trato respiratório alto e baixo; infecções do trato urinário e renais; infecções genitais em ambos os sexos; infecções gastrintestinais e infecções da pele e tecidos moles (BRUMFITT, *et al.*, 1973; HITCHINGS, 1973).

1.7.3 Farmacocinética

Após uma dose oral única da combinação a TMP é absorvida mais rapidamente do que o SMZ (SILVA, 2006), sendo que 96% da dose é eliminada pela urina e somente 4% pelas fezes, significando uma absorção quase total no intestino (MOFFAT, et al., 2004).

Em geral são obtidas concentrações máximas sanguíneas de TMP em 2h, na maioria dos pacientes, enquanto que as concentrações máximas de SMZ são alcançadas em 4h após dose única oral. As meias-vidas da TMP e do SMZ são de cerca de 11 e 10 h respectivamente (GOODMAN & GILMAN, 2006).

Aproximadamente 42 a 46% da TMP e 66% do SMZ estão ligados a proteínas do sangue. Uma pequena quantidade de SMZ circulante fica sob a forma conjugada. A TMP é rapidamente distribuída nos tecidos, atingindo o líquido cefalorraquidiano, rins, pulmões e baço (RANG, et al., 2003).

Segundo Kremers e colaboradores (1974), em estudo realizado para obter a comparação entre doses múltiplas e doses únicas de SMZ 800 mg e TMP 160 mg foram obtidos os seguintes dados farmacocinéticos:

Para TMP (dose única):

- concentração plasmática máxima ($C_{máx}$): 1,57 $\mu\text{g/mL}$;
- tempo para a concentração plasmática máxima ($T_{máx}$): 1 h;
- tempo para meia-vida ($T_{1/2}$): 10,3 h.

Para SMZ (dose única):

- concentração plasmática máxima ($C_{máx}$): 48,7 $\mu\text{g/mL}$;
- tempo para a concentração plasmática máxima ($T_{máx}$): 3 h;
- tempo para meia-vida ($T_{1/2}$): 8,7 h.

Já Kielhofner (1990), descreve a farmacocinética geral destes fármacos citando como valores para o pico de concentração plasmática ($C_{máx}$) de TMP: 1,1 $\mu\text{g/mL}$ e para SMZ: 20,3 $\mu\text{g/mL}$.

A necessidade de dados consistentes e atuais em modelos animais que investiguem a farmacocinética da associação TPM + SMZ, comumente usada na clínica médica, levou à proposição do presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo estabelecer uma ferramenta de auxílio no desenvolvimento de medicamentos que serão submetidos a estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência farmacêuticos em seres humanos, avaliar a biodisponibilidade relativa de produtos contendo a associação entre SMZ e TMP após administração oral em ratos da linhagem *Wistar* comparando com dados já obtidos em seres humanos.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a quantificação de SMZ e TMP presente no plasma através de método bioanalítico validado em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

- Avaliar a biodisponibilidade comparativa dos princípios ativos, SMZ e TMP, após a administração oral em ratos, com base em comparações estatísticas dos parâmetros farmacocinéticos relevantes, através de dados da concentração dos fármacos na corrente sanguínea.

- Comparar os resultados farmacocinéticos obtidos no estudo em animais com dados obtidos em estudos de biodisponibilidade relativa/ bioequivalência farmacêutica já realizados em seres humanos a fim de verificar correlação ou não dos dados encontrados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

Todos os animais utilizados para a execução do experimento foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, transportados até o Biotério da Universidade Paranaense (UNIPAR, Toledo – PR) onde foram mantidos até a conclusão dos experimentos

O protocolo para realização do experimento foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o número 23080.023789/2010-80/CEUA/UFSC (Anexo 01).

O presente estudo foi realizado de acordo com o normatizado pela legislação brasileira e todos os demais preceitos éticos nacionais e internacionais para a utilização de animais em pesquisas.

3.2 Medicamentos

Foram utilizadas formulações contendo a associação de SMZ + TMP conforme descrito a seguir:

3.2.1 Medicamento teste

O medicamento teste 1 foi sulfametoxazol 40 mg/mL + trimetoprima 8 mg/mL suspensão oral, produzido por indústria patrocinadora do estudo de bioequivalência farmacêutica.

O medicamento teste 2 foi sulfametoxazol 400 mg + trimetoprima 80 mg comprimido simples, produzido por indústria patrocinadora do estudo de bioequivalência farmacêutica.

3.2.2 Medicamento referência

O medicamento referência 1 foi o Bactrim[®] (sulfametoxazol 40 mg/mL + trimetoprima 8 mg/mL) suspensão oral, produzido por Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A.

O medicamento referência 2 foi o Bactrim[®] (sulfametoxazol 400 mg + trimetoprima 80 mg) comprimido simples, produzido por Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A..

3.3. Estudo farmacocinético em ratos

3.3.1 Animais

Foram utilizados 48 (quarenta e oito) ratos da linhagem *Wistar*, fêmeas adultas, com peso entre 200 e 300 g e cerca de 12 semanas de idade, que foram mantidos em condições ambientais controladas: ciclo claro/escuro de 12h, com luzes se acendendo às 6:00, e temperatura de 22 ± 2 °C. Os animais ficaram alojados em gaiolas com dimensão 41 x 34 x 16 cm com capacidade para até 6 ratos/caixa, com água e alimento livre, exceto durante a realização dos experimentos.

O número de animais foi calculado pela fórmula:

$$n = \left(\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})\sigma}{\delta} \right)^2$$

$$n = \left(\frac{(1,96 + 1,28) \times 30}{40} \right)^2 \cong 6$$

δ = Erro máximo da estimativa

σ = desvio-padrão da população

Z_{α} = Valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado

Z_{β} = Valor crítico que corresponde ao poder do teste desejado

$$n = \left(\frac{Z_{\alpha}\sigma}{\delta} \right)^2$$

$$n = \left(\frac{1,96 \times 19}{15} \right)^2 \cong 6$$

δ = Erro máximo da estimativa

σ = desvio-padrão da população

Z_{α} = Valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado

O número de 6 (seis) animais para cada sub-grupo também foi estimado em função da variabilidade dos dados para o SMZ e a TMP em animais com base em pesquisa bibliográfica.

As quantidades de alimento, assim como sua qualidade, foram padronizadas para todos os animais. Os animais permaneceram em jejum de ração por um período de 8h antes e 4 h após a administração dos medicamentos. O jejum de líquidos iniciou após a administração dos medicamentos e permaneceu até 4 h após.

3.3.2. Definição da dose administrada

A definição da dose a ser administrada foi calculada a partir de extrapolações alométricas, seguindo a fórmula apresentada a seguir:

$$TMB = K \times M^{(0,75)}$$

TMB: taxa metabólica basal ou custo mínimo de energia por animal

K: constante que para mamíferos placentários = 70

M: peso metabólico

Foi calculada a TMB para o animal modelo (no caso o homem) e para o animal teste (rato), em seguida é realizado o cálculo para extrapolação da dose:

$$\text{Cálculo dose} = (\text{Dose}_{(\text{animal modelo})} / \text{TMB}_{(\text{animal modelo})}) * \text{TBM}_{(\text{animal teste})}$$

Com base nos cálculos apresentados, segue a tabela com a definição das doses em ratos com média de 300 g:

Tabela 1 – Cálculo da dose a ser administrada

	SULFAMETOXAZOL		TRIMETOPRIMA	
	Animal Conhecido	Animal Teste	Animal Conhecido	Animal Teste
Espécie	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rattus navergeticus albinus</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rattus navergeticus albinus</i>
Nome Comum	Homem	Rato Wistar	Homem	Rato Wistar
Dosagem (mg)	400	6,70	80	1,34
Dosagem (mg/Kg)	5,71	22,33	1,14	4,47
Peso (Kg)	70	0,3	70	0,3
K	70	70	70	70
TMB	1694,03	28,38	1694,03	28,38

3.3.3 Esquema de administração

Os 48 animais foram divididos em dois grupos de 24 (vinte e quatro) animais identificados pelo tipo de administração: Grupo 1 – SMZ + TMP suspensão; Grupo 2 – SMZ + TMP comprimido, de acordo com esquema de alocação apresentado na Figura 3.

Cada subgrupo recebeu em cada um dos períodos uma única dose das formulações de SMZ + TMP por via oral, administrada através de gavagem, em dose única, em concentração definida de acordo com cálculo alométrico, dissolvido em um volume de 2 mL de água destilada.

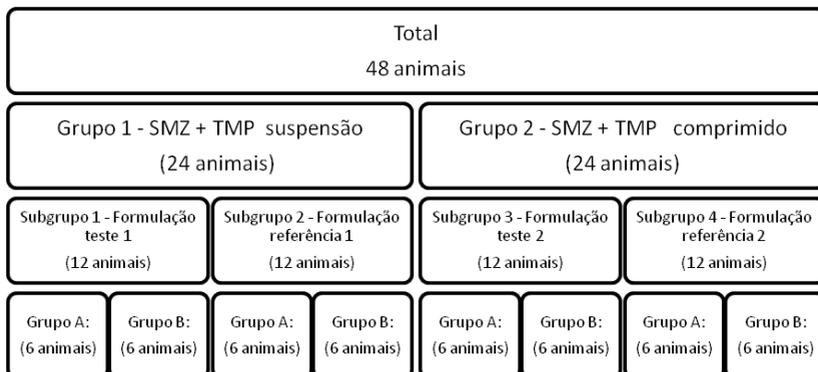


Figura 3 – Esquema de administração das formulações:

3.3.4 Coleta das amostras

Foram coletadas cinco amostras de 0,4 mL de sangue de cada rato, totalizando aproximadamente 2 mL de sangue durante o experimento. As coletas de sangue foram estipuladas contemplando de 3 a 5 meias-vidas dos fármacos estudados no organismo dos animais.

Tabela 2 - Cronograma de coleta de amostras sanguíneas

Coletas grupo A	Coletas grupo B
00:00; 00:30; 01:30; 02:30; 04:00; 24:00.	00:15; 01:00; 02:00; 03:00; 06:00.

As coletas das amostras foram realizadas através da veia caudal dos animais, sendo esta dilatada através de fonte de calor. A dilatação da veia caudal ocorreu aproximando-se a cauda do animal uma lâmpada comum 110 *watts* por aproximadamente 5 min antes das coletas.

Para a realização das coletas foi utilizada uma caixa acrílica de contenção (Insight[®]) para imobilização do animal. Por um período de 1 semana antes da realização dos experimentos os animais foram submetidos à familiarização da caixa de contenção. Este procedimento foi realizado cinco vezes ao dia com duração de 2 min e intervalo de 10 min cada coleta para cada animal.

As amostras de sangue foram coletadas através de uma pequena incisão na ponta da cauda do animal, extraíndo-se o volume necessário para quantificação das amostras. O sangue coletado foi transferido para tubos contendo 50 µL de heparina sódica (50 UI de heparina para 200 µL de sangue) como anticoagulante.

Cada amostra foi centrifugada em refrigeração de 4° C, e velocidade de rotação de 5000 rpm por 10 min. O plasma obtido após a centrifugação foi separado em tubos Eppendorf® e armazenado em freezer na temperatura de -20°C até o momento da análise.

3.3.5 Eutanásia dos animais

Após a conclusão dos experimentos a eutanásia foi realizada por anestesia profunda com 2 mL de tiopental (150 mg/kg) administrado na cavidade peritoneal de cada animal.

3.3.6 Análise das amostras

O método bioanalítico foi desenvolvido para quantificação de SMZ e TMP em diferentes concentrações plasmáticas. Os analitos e o padrão interno foram extraídos do plasma dos animais e posteriormente analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

A quantificação das amostras foi realizada através da razão da área do analito e do padrão interno, em função de uma curva de calibração contendo concentrações conhecidas.

O SMZ, a TMP e a guaifenesina (GUA) (padrão interno) foram extraídos do plasma dos animais por precipitação de proteínas utilizando ácido pérclorico 0,5 M como agente precipitante. Após a extração, as amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção Ultravioleta.

A cromatografia foi realizada em uma coluna analítica Shim-Pack C18 ®(150 x 4,6 mm) mantida a temperatura de 40°C. O Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu do Brasil, São Paulo, Brasil) foi programado para operar com fluxo de 1 mL/min, volume de injeção de 40 µL e o tempo total de corrida foi ajustado para 18 minutos. O comprimento de onda utilizado foi de 254 nm. A fase móvel trietilamina 0,1%: acetonitrila (85:15) garantiram a eficiência da separação cromatográfica dos picos analisados (SMZ, TMP e GUA). A Figura 04 mostra o cromatograma obtido para os fármacos SMZ, TMP e GUA (padrão interno) em plasma de rato.

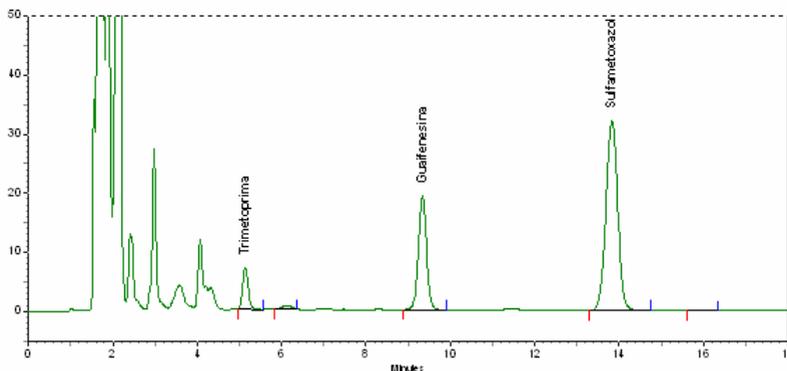


Figura 4 - Cromatograma de SMZ, TMP e o padrão interno GUA.

3.3.7 Validação do método

A metodologia para análise de TMP e SMZ em CLAE foi validada através dos parâmetros: especificidade, linearidade, limite inferior de quantificação, recuperação, precisão, exatidão do método e ainda estabilidade dos fármacos em matriz biológica.

A validação do método de análise foi baseada no guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003).

Para a quantificação das amostras no plasma dos ratos, o método, previamente validado em plasma humano foi parcialmente testado com a matriz de rato para assegurar a não ocorrência de efeito de matriz e garantindo a confiabilidade dos resultados obtidos.

3.3.8. Análise Farmacocinética

Para análise e cálculo dos parâmetros farmacocinéticos foram utilizados os seguintes *softwares*: WinNolin[®] versão 5.0.1 e Microsoft Excel[®] versão 2000 *Small Business*, juntamente com o programa Microsoft Word[®] versão 2000 *Small Business*.

Foram analisados os seguintes parâmetros:

- ASC (Área Sob a Curva): calculada pelo método dos trapezoides, do tempo zero ao tempo t (ASC0-t), onde t é o tempo relativo à última concentração do fármaco determinada

experimentalmente (acima do limite de quantificação); A área sob a curva de concentração sanguínea versus tempo, calculada do tempo zero

ao tempo infinito ($ASC_{0-\infty}$), onde $ASC_{0-\infty} = ASC_{0-t} + \frac{C_t}{K_{el}}$, onde C_t é a

última concentração do fármaco determinada experimentalmente (acima do limite de quantificação) e K_{el} é a constante de eliminação da fase terminal;

- tempo de meia vida ($t_{1/2}$): calculada pela fórmula:

$$t_{1/2} = \frac{\log 2}{K_e}$$

K_e é a constante de velocidade de eliminação do fármaco, calculada para cada voluntário como o coeficiente de inclinação da reta de regressão ajustada nos 4 a 6 últimos valores de concentração transformados em \log_{10} , multiplicado por -2,303.

A concentração máxima ($C_{máx}$) e o tempo que se leva para atingir a concentração máxima ($T_{máx}$) foram determinados através da análise dos resultados das concentrações quantificadas na etapa analítica de todos os tempos coletados.

3.4 Estudos de Biodisponibilidade Relativa / Bioequivalência em seres humanos

Foram utilizados resultados de dois estudos realizados pela Biocinese – Centro de Estudos Biofarmacêuticos, Toledo/PR, conduzidos em separado, do tipo aberto, randomizado e cruzado, com dois períodos de internamentos cada, respeitando um intervalo (*wash-out*) de 7 (sete) dias entre os períodos para garantir que não houvesse nenhum efeito residual do primeiro fármaco administrado, que aumentaria artificialmente os resultados do segundo período.

No estudo da formulação comprimido, foi administrado 1 (um) comprimido de SMZ 400 mg + TMP 80 mg, para o estudo da suspensão foram administrados 10 mL (seringa) da suspensão de SMZ 40 mg/mL + TMP 80 mg/mL.

As amostras de sangue para determinação do nível plasmático do medicamento foram colhidas através de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço sendo que as coletas ocorreram nos seguintes tempos: 00:00; 00:20; 00:40; 01:00; 01:20; 01:40; 02:00; 02:20; 02:40; 03:00; 03:20; 03:40; 04:00; 04:20; 04:40;

05:00; 06:00; 08:00; 10:00; 12:00; 24:00; 48:00 h após a administração de cada formulação.

Após a coleta de cada amostra, o cateter foi lavado com 1 mL de solução de heparina sódica (50 UI/mL). As amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas a 3.000 rpm por 10 min, e o plasma foi removido e armazenado a uma temperatura de -20 °C até ser utilizado no ensaio de doseamento. As amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção Ultravioleta e posteriormente os resultados foram analisados estatisticamente.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, os horários de alimentação e liberação de líquidos foram controlados durante a execução do estudo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo farmacocinético em ratos

Estão descritos na literatura vários trabalhos envolvendo estudos farmacocinéticos de sulfametoxazol e trimetoprima, em voluntários sadios, pacientes e também em animais (HUTT *et al* 1993; KEILHOFNER, 1990; KREMERS, *et al.*, 1974; SHEIK-SALEM *et al* 1993).

Numerosas metodologias, incorporando tanto dados *in vitro* como pré- clínicos, têm sido desenvolvidas nos últimos anos, com o objetivo de prever a farmacocinética humana. Esta é uma meta importante na descoberta de um novo fármaco para minimizar risco para os participantes durante os primeiros estudos em humanos (HOSEA, *et al.*, 2009).

Estabelecer um modelo animal para prever o perfil farmacocinético de medicamentos pode fornecer informações importantes antes da realização de estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência em humanos, reduzindo o tempo e o custo destes últimos.

Os animais receberam os medicamentos via oral através de gavagem, deste modo foi possível avaliar um dos estágios primordiais para a farmacocinética que é a absorção por via oral. Além disso, utilizando esta via, a metodologia segue o mesmo procedimento regulamentado em estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência em humanos.

A manutenção do bem estar do animal é uma importante consideração quando é realizada uma amostragem sanguínea próxima dos limites e o impacto científico da resposta fisiológica do animal também deve ser considerado, podendo afetar a interpretação e a validade dos resultados encontrados (DIEHL, *et al.*, 2001).

A realização de coletas seriadas de acordo com o tempo para determinação das concentrações plasmáticas permitiu uma adequada caracterização do perfil farmacocinético dos fármacos em estudo. O volume das coletas para realização do estudo não excedeu 40% do volume sanguíneo do animal. De acordo com Scipioni e colaboradores (1997), este limite não causa quaisquer efeitos prejudiciais aos ratos.

4.1.1 Análises das amostras

A validação garante, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas a que se propõe,

assegurando assim a confiabilidade dos resultados. O método bioanalítico foi validado através da avaliação dos parâmetros de especificidade, recuperação, linearidade, precisão, exatidão, limite de quantificação, fator de diluição e robustez.

O plasma humano foi extraído e analisado por CLAE para determinar que os componentes endógenos do plasma não apresentassem interferência para analito ou padrão interno. As curvas de calibração foram constituídas de sete concentrações de TMP e SMZ, variando de 5-400 ng/mL e de 50 a 1500 ng/mL, respectivamente. O valor calculado para o coeficiente de determinação de SMZ foi de $r^2 = 0,998754$ e para TMP $r^2 = 0,997136$, indica respectivamente linearidade do método.

O valor do coeficiente de correlação linear ($r^2 = 0,998754$ de SMZ e $r^2 = 0,997136$ para TMP) indicou adequada linearidade dos fármacos para o método. A faixa de linearidade avaliada para SMZ foi de 500-40000 ng/mL e TMP de 50-1500ng/mL. Observou-se também, que o método apresentou-se preciso e exato, pois os valores do CV para cada nível de concentração estudado foram inferiores ao limite aceito de 15% e a exatidão correspondente, na faixa de 85 a 115% do valor nominal. As recuperações obtidas com o método de extração líquido-líquido desenvolvido propiciaram significativa percentagem de recuperação média para o SMZ (91,28%), TMP (80,89%) e PI (97,19%). Os estudos de estabilidade foram planejados e executados com base nas reais condições de manuseio e análise das amostras. Observou-se que as amostras de SMZ e TMP se mantiveram estáveis quando armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e analisadas após três ciclos de congelamento e descongelamento, demonstrando que podem ser congeladas e descongeladas sem comprometer sua integridade. Comprovou-se também que as amostras são estáveis pelos períodos de 7 horas até a sua extração de 25 horas após a colocação no auto-injetor do equipamento.

Diante da análise dos resultados, os parâmetros avaliados encontram-se de acordo com os critérios de aceitação preconizados pela legislação, definindo o método como validado, assegurando sua aplicabilidade a estudos clínicos e de biodisponibilidade.

4.1.2. SMZ + TMP suspensão oral

Para administração da suspensão, a formulação foi diluída em água destilada e administrada aos animais, conforme dose pré-definida através de extrapolação alométrica.

Os parâmetros farmacocinéticos médios do SMZ na formulação suspensão oral seguem apresentados nas tabelas 3 e 4:

Tabela 3 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ suspensão oral – formulação referência.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,33	1,00	0,52	38,73	1,00	2,00
$C_{m\acute{a}x}$	57979,02	56174,18	15300,64	26,39	40692,49	75967,55
K_{el}	0,24	0,18	0,18	71,97	0,15	0,60
$T_{1/2}$	3,56	3,86	1,26	35,33	1,15	4,65
ASC_{0-t}	331892,42	229092,47	218872,53	65,95	155820,67	694890,15
ASC_{0-inf}	412550,19	404230,50	187565,75	45,46	194396,70	707634,23

Tabela 4 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ suspensão oral – formulação teste.

Medida Farmac	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,50	1,50	0,32	21,08	1,00	2,00
$C_{m\acute{a}x}$	46360,10	41028,40	12085,44	26,07	34553,14	62598,12
K_{el}	0,15	0,16	0,05	32,71	0,06	0,19
$T_{1/2}$	5,36	4,30	2,99	55,73	3,61	11,35
ASC_{0-t}	4 210365,2 399997,8	156413,74	101861,09	48,42	140874,85	388912,51
ASC_{0-inf}	6	266628,50	301848,19	75,46	221579,77	1004066,49

A figura 5 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para o SMZ, após a administração oral de cada uma das formulações suspensão.

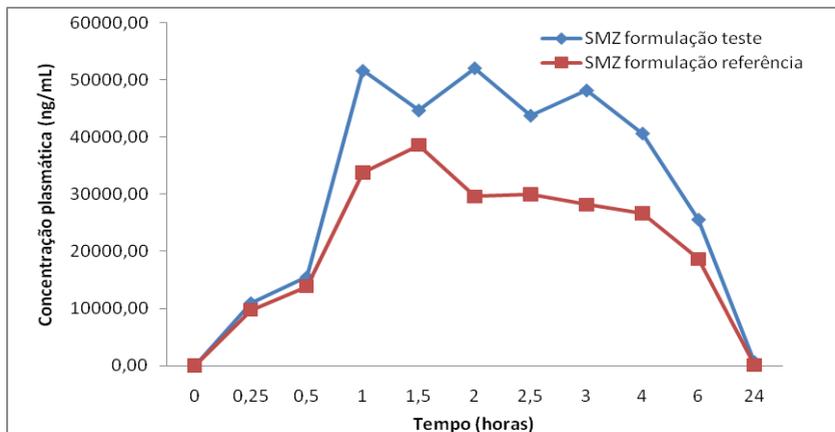


Figura 5 - Concentrações plasmáticas médias SMZ suspensão oral administrado em ratos.

Os parâmetros farmacocinéticos médios do TMP na formulação suspensão oral seguem apresentados nas tabelas 5 e 6:

Tabela 5 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP suspensão oral – formulação referência.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,50	1,25	0,77	51,64	1,00	3,00
$C_{m\acute{a}x}$	599,57	547,66	423,50	70,63	113,76	1198,51
K_{el}	0,26	0,28	0,16	61,13	0,07	0,51
$T_{1/2}$	4,19	2,48	3,51	83,81	1,35	10,55
ASC_{0-t}	1480,82	1140,87	806,99	54,50	783,42	2613,71
ASC_{0-inf}	2078,54	1966,61	1115,38	53,66	1009,04	4002,92

Tabela 6 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP suspensão oral – formulação teste.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,17	1,00	0,26	22,13	1,00	1,50
$C_{m\acute{a}x}$	483,39	244,44	606,18	125,40	166,93	1714,16
K_{el}	0,52	0,58	0,22	41,99	0,12	0,71
$T_{1/2}$	1,94	1,20	1,83	94,15	0,98	5,64
ASC_{0-t}	636,28	469,10	474,87	74,63	319,37	1574,26
ASC_{0-inf}	699,34	509,91	507,38	72,55	365,22	1695,29

A figura 6 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para a TMP, após a administração oral de cada uma das formulações suspensão.

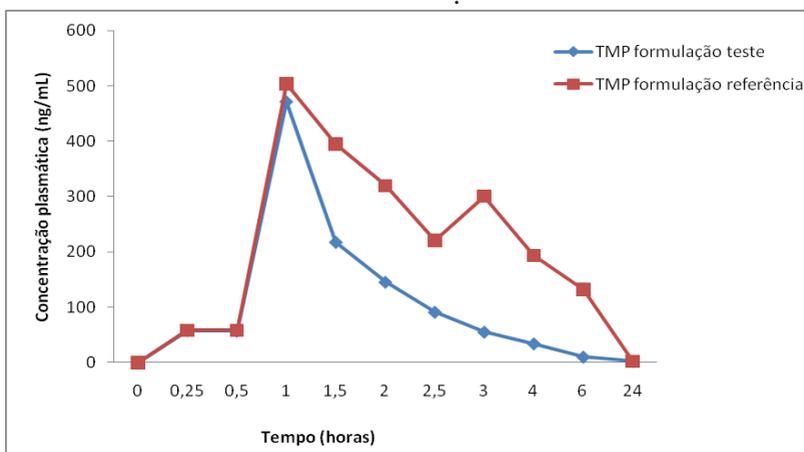


Figura 6 - Concentrações plasmáticas médias TMP suspensão oral administrado em ratos.

4.1.2.1 Intervalos de confiança de bioequivalência - formulação suspensão

Na Tabela 7 e 8 são mostrados os valores dos intervalos de confiança (IC 90%) para $C_{m\acute{a}x}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} , para os fármacos SMZ e TMP, respectivamente.

Tabela 7 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
$Ln(C_{m\acute{a}x})$	80,18	(61,17% - 105,11%)	(80% - 125%)	6,69	38,23%	Não Bioequivalent e
$Ln(ASC_{0-t})$	68,81	(39,60% - 119,61%)	(80% - 125%)	27,90	16,71%	Não Bioequivalent e
$Ln(ASC_{0-inf})$	90,21	(52,22% - 155,83%)	(80% - 125%)	27,27	16,86%	Não Bioequivalent e

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Quando aplicado o critério da bioequivalência entre as formulações teste e referência de SMZ na formulação suspensão, (Tabela 7), os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos não estão contidos nos intervalos de bioequivalência, assim o fármaco SMZ - Teste é não é bioequivalente ao fármaco SMZ – Referência, para a formulação suspensão.

Um dos fatores que pode ter causado tal resultado foi pequeno número de animais utilizados no estudo ($n = 6$). Isto pode ser confirmado através da verificação do poder do teste encontrado na análise, que deve ser próximo de 100% e no presente estudo resultou em valores entre 16,71% (para $C_{m\acute{a}x}$) a 38,23% (para ASC_{0-inf}).

Tabela 8 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
Ln(C_{máx})	70,75	(28,30% - 176,82%)	(80% - 125%)	76,58	12,40%	Não Bioequivalente
Ln(ASC_{0- j})	40,88	(22,80% - 73,32%)	(80% - 125%)	31,14	16,00%	Não Bioequivalente
Ln(ASC_{0- inf})	32,20	(17,99% - 57,62%)	(80% - 125%)	30,91	16,04%	Não Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se pode observar na Tabela 8, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos não estão contidos nos intervalos de bioequivalência. Assim, o fármaco TMP - Teste não é bioequivalente ao fármaco TMP - Referência, para a formulação suspensão.

4.1.3 SMZ + TMP comprimido

As formulações comprimidos também foram administradas em dosagens alométricas, entretanto, a formulação passou por um processo de maceração e posterior diluição em água destilada para permitir a administração via gavagem. Devido à maceração do comprimido, foi perdida alguma forma farmacêutica da formulação, sendo assim, o estágio da dissolução, que é importante para a caracterização do perfil farmacocinético foi modificado.

De modo geral, os fármacos devem estar em solução nos fluidos antes de poderem ser absorvidos (ASHFORD, 2005), entretanto, neste caso, como foi realizada uma solução do comprimido ocorreu uma grande diferença entre os valores farmacocinéticos encontrados para seres humanos e ratos que se justifica devido à limitação da ferramenta aplicada em ratos. Como não é possível administrar um comprimido em sua forma íntegra, optou-se pela maceração do mesmo.

Os parâmetros farmacocinéticos médios do SMZ na formulação comprimido seguem apresentados nas tabelas 9 e 10:

Tabela 9 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ comprimido – formulação referência.

Medida Farmac	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
T_{máx}	1,83	1,75	0,41	22,27	1,50	2,50
C_{máx}	125681,02	121980,99	15337,32	12,20	6	150452,83
K_{el}	0,11	0,13	0,04	37,70	0,03	0,15
T_{1/2}	8,48	5,48	7,69	90,70	4,77	24,15
ASC_{0-t}	962316,79	989942,16	2	27,04	4	6
	1507568,4	1133539,6	988941,9		955788,4	3507815,0
ASC_{0-inf}	1	0	3	65,60	5	5

Tabela 10 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ comprimido – formulação teste.

Medidas Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
T_{máx}	1,83	1,75	0,68	37,26	1,00	3,00
C_{máx}	109536,20	102363,56	30222,15	27,59	76841,21	162594,94
K_{el}	0,17	0,15	0,06	35,97	0,12	0,28
T_{1/2}	4,33	4,77	1,26	29,06	2,45	5,77
ASC_{0-t}	723319,87	646851,51	431372,02	59,64	281746,03	1501436,48
ASC_{0-inf}	787596,98	679468,51	406598,71	51,63%	391314,01	1550021,53

A figura 7 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para a SMZ, após a administração oral de cada uma das formulações comprimido

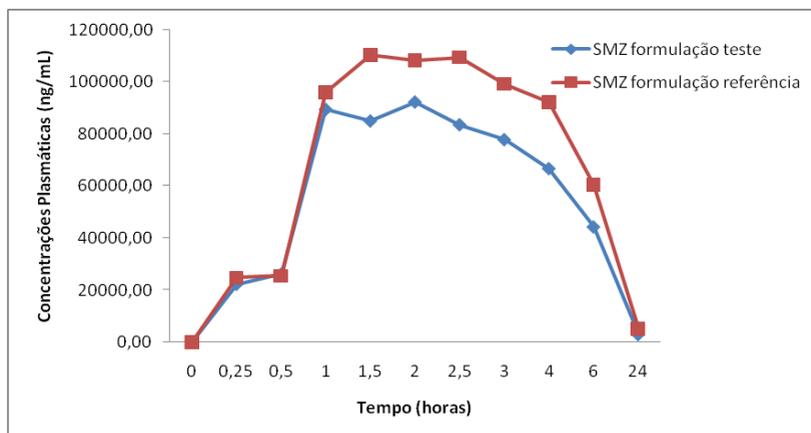


Figura 7 - Concentrações plasmáticas médias do fármaco SMZ em comprimido administrado por via oral em ratos.

Os parâmetros farmacocinéticos médios do TMP na formulação comprimido seguem apresentados nas tabelas 11 e 12:

Tabela 11 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP comprimido – formulação referência.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,25	1,25	0,27	21,91	1,00	1,50
$C_{m\acute{a}x}$	658,10	568,98	260,10	39,52	417,55	1081,92
K_{el}	0,50	0,46	0,14	27,72	0,37	0,77
$T_{1/2}$	1,45	1,51	0,32	22,11	0,90	1,87
ASC_{0-t}	1053,30	1055,39	258,32	24,52	690,09	1459,40
ASC_{0-inf}	1209,44	1230,88	196,75	16,27	994,74	1534,70

Tabela 12 – Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP comprimido – formulação teste.

Medida Farmacocinética	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV	Mínimo	Máximo
$T_{\text{máx}}$	1,00	1,00	0,32	31,62%	0,50	1,50
$C_{\text{máx}}$	404,29	291,00	304,12	75,22%	143,52	978,97
K_{el}	0,43	0,48	0,19	43,61%	0,06	0,57
$T_{1/2}$	2,96	1,46	3,81	128,74%	1,21	10,73
ASC_{0-t}	793,61	703,64	458,82	57,81%	272,15	1343,26
ASC_{0-inf}	965,03	777,62	579,04	60,00%	391,06	1796,34

A figura 8 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para a TMP, após a administração oral de cada uma das formulações comprimido.

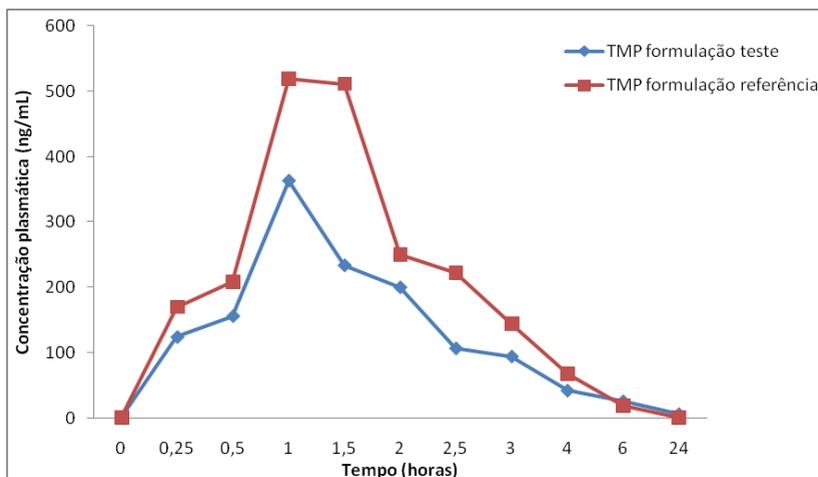


Figura 8 - Concentrações plasmáticas médias do fármaco TMP em comprimido administrado por via oral em ratos.

4.1.3.1 Intervalos de confiança de bioequivalência - formulação comprimido

Nas Tabelas 13 e 14 são mostrados os valores dos intervalos de confiança (IC 90%) para $C_{\text{máx}}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} , para os fármacos SMZ e TMP, respectivamente.

Tabela 13 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln))

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
$\text{Ln}(C_{\text{máx}})$	85,15	(68,88% - 105,25%)	(80% - 125%)	4,10	53,92%	Não Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-t})$	67,99	(41,40% - 111,65%)	(80% - 125%)	22,45	18,37%	Não Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-inf})$	53,66	(32,59% - 88,36%)	(80% - 125%)	22,70	18,28%	Não Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se pode observar na Tabela 13, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos não estão contidos nos intervalos de bioequivalência. Assim, o fármaco SMZ - Teste não é bioequivalente ao fármaco SMZ - Referência.

Tabela 14 - Parâmetros cinéticos dos Fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
$\text{Ln}(C_{\text{máx}})$	53,53	(30,43% - 94,18%)	(80% - 125%)	29,14	16,42%	Não Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-t})$	65,71	(39,26% - 110,00%)	(80% - 125%)	24,23	17,75%	Não Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-inf})$	68,91	(42,90% - 110,70%)	(80% - 125%)	20,51	19,18%	Não Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se pode observar na Tabela 14, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos não estão contidos nos intervalos de bioequivalência, assim o fármaco TMP - Teste não é bioequivalente ao fármaco *TMP* - Referência.

4.2 Estudo de biodisponibilidade relativa / Bioequivalência em seres humanos

4.2.1. SMZ + TMP suspensão oral

Nas tabelas 15 e 16, observou-se um mesmo padrão das medidas $T_{m\acute{a}x}$, $C_{m\acute{a}x}$, K_{el} , $T_{1/2}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} para os fármacos teste e referência.

Tabela 15 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ - Referência.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,93	1,50	1,09	56,73	0,67	4,50
$C_{m\acute{a}x}$	39274,72	37939,31	7660,88	19,51	27913,51	59749,83
K_{el}	0,07	0,07	0,02	22,13	0,03	0,10
$T_{1/2}$	10,66	10,20	3,46	32,48	7,20	23,27
ASC_{0-t}	486379,01456372,12	108071,94	22,22	300817,43	764464,37	
ASC_{0-inf}	527782,07484345,55	129459,14	24,53	333641,70	923476,01	

Tabela 16 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ - Teste.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	1,89	1,50	0,76	40,16	0,67	3,50
$C_{m\acute{a}x}$	36387,89	36233,90	8259,98	22,70	24786,43	56672,93
K_{el}	0,07	0,07	0,01	14,72	0,06	0,09
$T_{1/2}$	10,21	10,38	1,37	13,45	7,41	12,31
ASC_{0-t}	450937,93	433752,05	107977,22	23,95	318201,58730210,66	
ASC_{0-inf}	479705,34	460322,50	108240,46	22,56	367658,84758516,95	

A figura 9 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para o SMZ, após a administração oral de cada uma das formulações suspensão em voluntários sadios.

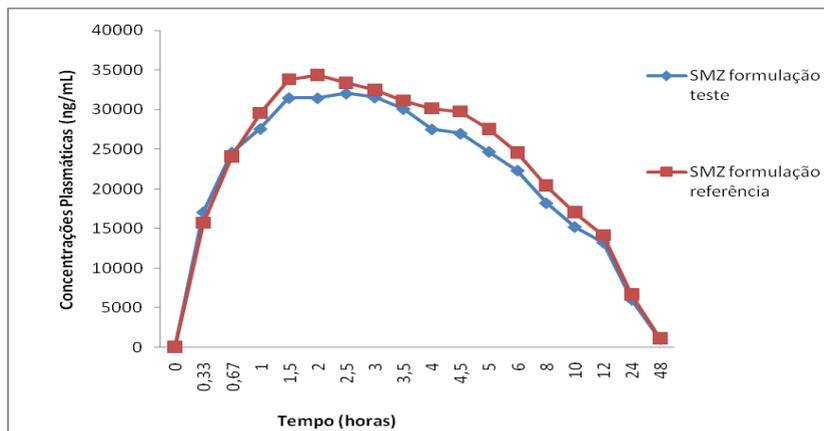


Figura 9 - Concentração plasmática média dos fármacos SMZ - Teste e SMZ Referência na formulação suspensão em 21 voluntários.

Nas tabelas 17 e 18, observou-se um mesmo padrão nas medidas $T_{máx}$, $C_{máx}$, K_{el} , $T_{1/2}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} para os fármacos teste e referência de TMP em voluntários.

Tabela 17 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP - Referência.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
$T_{máx}$	1,56	1,00	1,13	72,90	0,67	4,50
$C_{máx}$	768,29	774,41	231,17	30,09	291,13	1230,96
K_{el}	0,10	0,09	0,06	59,81	0,02	0,29
$T_{1/2}$	9,61	7,49	6,87	71,49	2,38	33,98
ASC_{0-t}	7681,45	7217,65	4092,79	53,28	1496,81	21043,88
ASC_{0-inf}	10807,51	9535,03	9659,94	89,38	2212,04	50462,91

Tabela 18 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP - Teste.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
$T_{máx}$	1,48	1,00	1,01	68,33	0,67	4,00
$C_{máx}$	633,82	625,10	188,98	29,82	276,14	1005,99
K_{el}	0,12	0,08	0,08	70,07	0,03	0,34
$T_{1/2}$	8,54	8,37	5,01	58,65	2,05	22,32
ASC_{0-t}	6339,82	5757,14	3002,58	47,36	1126,88	11272,03
ASC_{0-inf}	7523,82	8168,41	3401,31	45,21	1374,66	12711,66

A figura 10 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para a TMP, após a administração oral de cada uma das formulações suspensão em voluntários saudáveis.

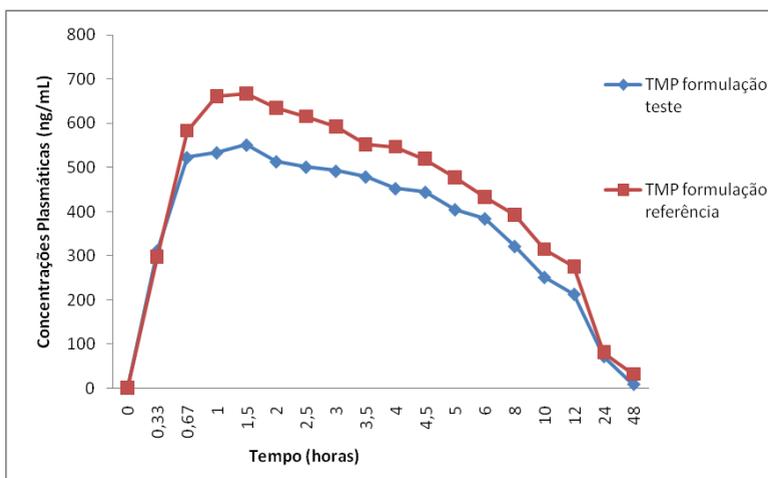


Figura 10 - Concentração plasmática média dos fármacos TMP - Teste e TMP - Referência na formulação suspensão em 21 voluntários.

4.2.1.1 Intervalos de confiança - formulação suspensão

Nas tabelas 19 e 20 são mostrados os valores dos intervalos de confiança (IC 90%) para $C_{\text{máx}}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\text{inf}}$, para os fármacos SMZ e TMP, respectivamente.

Tabela 19 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
$\text{Ln}(C_{\text{máx}})$	91,96	(87,82% - 96,30%)	(80% - 125%)	8,56	100,00%	Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-t})$	92,25	(86,85% - 97,99%)	(80% - 125%)	11,22	99,99%	Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-\text{inf}})$	91,14	(86,59% - 95,93%)	(80% - 125%)	9,52	100,00%	Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se observa na Tabela 19, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos estão contidos nos intervalos de bioequivalência. Assim, o fármaco SMZ - Teste é bioequivalente ao fármaco SMZ - Referência.

Apesar das diferenças possivelmente geradas devido ao pequeno número de animais utilizados, os valores de média geométrica, quando aplicado o critério da bioequivalência, em ratos foram 80,18; 68,81 e 90,21 em ratos e 91,95; 92,25 e 91,14 em humanos, respectivamente para $C_{\text{máx}}$, ASC_{0-t} e $ASC_{0-\text{inf}}$. Esta semelhança permite a visualização de que o modelo é aplicável e possui poder discriminativo na determinação da bioequivalência destas formulações.

Outro parâmetro que confirma esta afirmação é o coeficiente de variação (CV), principalmente para o parâmetro $C_{\text{máx}}$ os valores foram próximos sendo 6,69% em ratos e 8,56% em humanos.

Tabela 20 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
Ln(C_{máx})	82,40	(74,38% - 91,29%)	(80% - 125%)	19,17	97,22%	Não Bioequivalente
Ln(ASC_{0-t})	83,90	(74,77% - 94,14%)	(80% - 125%)	21,61	93,91%	Não Bioequivalente
Ln(ASC_{0-inf})	77,32	(65,68% - 91,02%)	(80% - 125%)	30,96	73,41%	Não Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se pode observar na Tabela 20, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos não estão contidos nos intervalos de bioequivalência. Assim, o fármaco TMP - Teste não é bioequivalente ao fármaco TMP – Referência.

Quando analisada a média geométrica e os intervalos de confiança entre ratos e humanos, mesmo com as evidentes diferenças de valores, verifica-se uma tendência a não bioequivalência nas duas situações.

4.2.2 SMZ + TMP formulação comprimido

Nas Tabelas 21 e 22, observou-se um mesmo padrão nas medidas $C_{máx}$, K_{el} , $T_{1/2}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} para os fármacos teste e referência.

Tabela 21 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ- Referência na formulação comprimido.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
T_{máx}	3,63	3,75	1,04	28,80	1,50	5,00
C_{máx}	33661,45	33747,19	8211,41	24,39	15040,08	52385,59
K_{el}	0,07	0,07	0,01	15,56	0,04	0,09
T_{1/2}	10,20	9,78	1,93	18,96	7,55	17,54
ASC_{0-t}	508122,61	488000,60	144357,14	28,41	214972,52	796400,71
ASC_{0-inf}	535351,83	496278,82	149398,24	27,91	280445,10	838372,32

Tabela 22 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco SMZ- Teste na formulação comprimido.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
T_{máx}	2,58	2,50	1,17	45,50	0,69	5,00
C_{máx}	38136,84	36759,06	8582,14	22,50	17897,06	56030,46
K_{el}	0,07	0,07	0,01	13,70	0,05	0,09
T_{1/2}	9,70	9,41	1,49	15,35	7,55	14,37
ASC_{0-t}	516717,90	519703,34	110206,97	21,33	324084,84	731077,59
ASC_{0-inf}	537402,03	540410,26	112767,88	20,98	340886,78	763547,73

A figura 11 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para o SMZ, após a administração oral de cada uma das formulações comprimido em voluntários sadios.

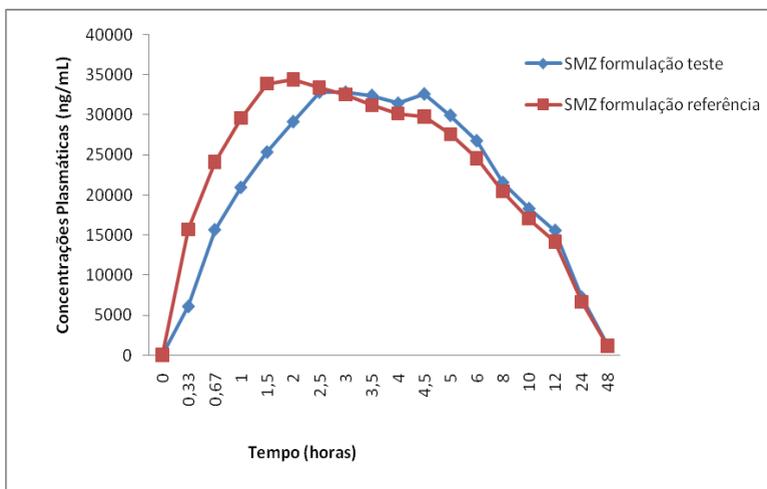


Figura 11 - Concentração plasmática média dos fármacos SMZ - Teste e SMZ Referência na formulação comprimido em 24 voluntários.

Nas tabelas 23 e 24, observou-se um mesmo padrão das medidas $T_{m\acute{a}x}$, K_{el} , $T_{1/2}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} para os fármacos teste e referência.

Tabela 23 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP Referência na formulação comprimido.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	2,68	2,00	2,17	80,94	0,69	8,00
$C_{m\acute{a}x}$	612,22	556,49	242,40	39,59	225,47	1228,20
K_{el}	0,10	0,08	0,11	113,45	0,01	0,58
$T_{1/2}$	12,27	9,83	9,54	77,70	1,20	48,82
ASC_{0-t}	8298,74	6456,87	5329,22	64,22	556,02	19578,74
ASC_{0-inf}	10355,76	7451,63	7572,28	73,12	669,67	31464,57

Tabela 24 - Parâmetros farmacocinéticos (expressos como média dos valores) do fármaco TMP Teste na formulação comprimido.

Medida Farmac.	Média	Mediana	Desvio-Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
$T_{m\acute{a}x}$	2,10	1,50	1,80	85,87	0,33	8,00
$C_{m\acute{a}x}$	702,92	699,08	246,61	35,08	256,24	1116,26
K_{el}	0,10	0,08	0,07	73,59	0,02	0,27
$T_{1/2}$	11,24	9,29	8,28	73,64	2,54	40,01
ASC_{0-t}	7938,26	5995,59	5467,67	68,88	1422,11	23331,77
ASC_{0-inf}	10193,61	7502,32	8303,88	81,46	1688,21	42140,84

A figura 12 apresenta a curva média das concentrações plasmáticas dos medicamentos referência e teste *versus* tempo para a TMP, após a administração oral de cada uma das formulações comprimido em voluntários saudáveis.

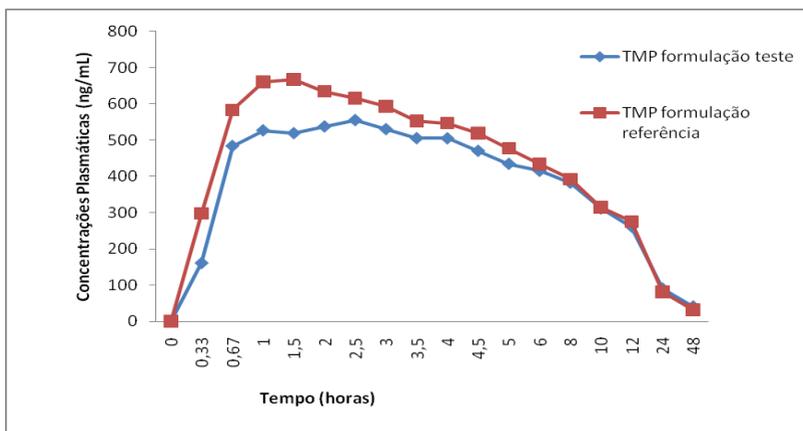


Figura 12 - Concentração plasmática média dos fármacos TMP - Teste e TMP - Referência na formulação comprimido em 24 voluntários.

4.2.2.1 Intervalos de confiança - formulação comprimido

Nas tabelas 25 e 26 são mostrados os valores dos intervalos de confiança (IC 90%) para $C_{m\acute{a}x}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} , para os fármacos SMZ e TMP, respectivamente.

Tabela 25 - Parâmetros cinéticos dos fármacos SMZ – Teste e SMZ – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
Ln(C_{máx})	87,85	(83,59% - 92,32%)	(80% - 125%)	10,04	100,00%	Bioequivalente
Ln(ASC_{0-t})	96,27	(90,45% - 102,46%)	(80% - 125%)	12,63	99,99%	Bioequivalente
Ln(ASC_{0-inf})	97,86	(92,35% - 103,71%)	(80% - 125%)	11,74	100,00%	Bioequivalente

MG: Média geométrica; IC: Intervalo de confiança; IB: Intervalo de bioequivalência; CV: Coeficiente de variação.

Como se pode observar na Tabela 25, os intervalos de confiança de 90% dos parâmetros farmacocinéticos estão contidos nos intervalos de bioequivalência. Assim, o fármaco SMZ - Teste é bioequivalente ao fármaco SMZ - Referência.

Quando analisados os intervalos de bioequivalência entre as formulações comprimido teste e referência de SMZ em ratos, os intervalos de 68,88% - 105,25% para o C_{máx}, 41,40% - 111,65% para a ASC_{0-t} e 32,59% - 88,36% para ASC_{0-inf} não se enquadram no intervalo de bioequivalência. Enquanto, em humanos os intervalos demonstraram bioequivalência. O CV do SMZ manteve-se abaixo de 25% tanto em humanos como em ratos. Os intervalos obtidos em ratos seguiram a mesma tendência, entretanto, devido ao baixo poder de teste houve uma ampliação do intervalo em comparação com humanos.

Tabela 26 - Parâmetros cinéticos dos fármacos TMP – Teste e TMP – Referência (dados transformados em logaritmo natural (Ln)).

Razão T/R	MG	IC (90%)	IB	CV(%)	Poder do Teste	Conclusão
$\text{Ln}(C_{\text{máx}})$	86,42	(77,02% - 96,97%)	(80% - 125%)	23,54	93,93 %	Não Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-t})$	101,56	(88,84% - 116,11%)	(80% - 125%)	27,49	86,80 %	Bioequivalente
$\text{Ln}(ASC_{0-inf})$	98,51	(85,50% - 113,51%)	(80% - 125%)	29,17	83,30 %	Bioequivalente

Como se pode observar na Tabela 26, o intervalo de confiança de 90% do parâmetro farmacocinético $C_{\text{máx}}$ não está contido no intervalo de bioequivalência. Assim, o fármaco TMP - Teste não é bioequivalente ao fármaco TMP - Referência.

Quando aplicado o critério da bioequivalência entre as formulações teste e referência de TMP na formulação comprimido, foi possível identificar que os intervalos para o $C_{\text{máx}}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} não se enquadram dentro do intervalo de bioequivalência

Quando avaliados os cálculos cinéticos da TMP comprimido em humanos, o intervalo de confiança de $C_{\text{máx}}$ também não se enquadrou nos limites da bioequivalência. Já ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} foram bioequivalentes.

Um resultado que apresentou semelhança foi o CV que em ratos foi 29,14% para $C_{\text{máx}}$, 24,23% para ASC_{0-t} e 20,51% para ASC_{0-inf} e em humanos foi 23,54% para $C_{\text{máx}}$, 27,49% para ASC_{0-t} e 29,17% para ASC_{0-inf} .

O CV é uma informação importante para a definição do tamanho do grupo a ser definido para garantir o poder do teste. Para a TMP os valores foram próximos, permitindo uma correlação importante das informações quando na necessidade de extrapolação de dados em animais para delinear estudos em humanos.

4.3 Comparação dos dados de ratos *versus* seres humanos

As figuras 13, 14, 15 e 16 apresentam uma comparação entre as curvas de concentração plasmática de SMZ e TMP quando administrados em humanos e ratos para as formulações suspensão oral e comprimido.

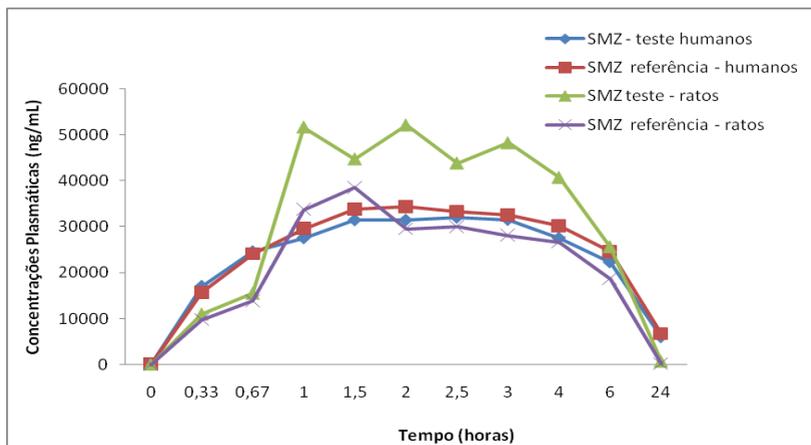


Figura 13 – Cinética do fármaco SMZ suspensão em ratos *versus* SMZ suspensão em seres humanos.

Após a administração da formulação suspensão em ratos, o pico de concentração plasmática máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de SMZ na formulação referência foi atingido em 1,33 h e a para a formulação teste foi 1,50 h. Em humanos os resultados foram semelhantes sendo 1,93 h para o medicamento referência e 1,89 para o teste.

A concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) do SMZ em ratos foi 57979,02 ng/mL para o medicamento referência e 46360,10 ng/mL para o teste. Neste parâmetro a diferença foi maior quando comparado ao $C_{m\acute{a}x}$ obtido em humanos: 39274,72 ng/mL (referência) e 36387,89 ng/mL (teste), entretanto, a mesma tendência proporcional pode ser observada.

O parâmetro de meia-vida ($t_{1/2}$) e a constante de eliminação (K_{el}) para o SMZ na suspensão também foram diferentes quando comparados ratos e humanos. Sabe-se que os parâmetros $t_{1/2}$ e K_{el} encontram-se diretamente relacionados conforme a fórmula para determinação da meia-vida ($t_{1/2} = 0.693/K_{el}$) (JENKINS, et al., 1998).

Mesmo ocorrendo diferenças entre humanos e ratos, o perfil farmacocinético apresentou correlação, e isto pode ser verificado através da proporcionalidade do $t_{1/2}$ e K_{el} quando comparados com humanos.

Uma Kel maior indica um $t_{1/2}$ menor, ou seja uma depuração mais rápida, o que ocorreu com os ratos, de acordo com o esperado face a sua taxa metabólica mais elevada.

Através da comparação entre os dados animais e humanos, é possível verificar que mesmo com algumas diferenças evidentes nos parâmetros farmacocinéticos, o perfil plasmático do SMZ em ratos e humanos foi semelhante e apresentou relação.

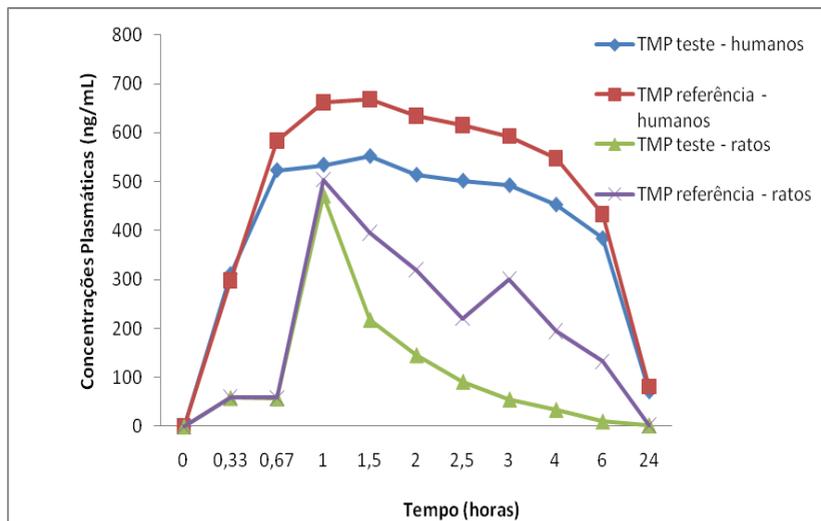


Figura 14 – Cinética do fármaco TMP suspensão em ratos *versus* TMP suspensão em seres humanos.

A TMP na formulação suspensão administrada em ratos apresentou valores de ($T_{máx}$) atingido em 1,50 h e 1,17 h para referência e teste, respectivamente. Em humanos os resultados foram 1,56 h para o composto referência e 1,48 h para o teste.

Através da comparação dos dados em animais e humanos, é possível identificar a similaridade dos resultados obtidos quanto a este parâmetro.

O parâmetro de concentração plasmática apesar de não apresentar valores próximos em animais e humanos, reproduziu a proporcionalidade de menor concentração para a formulação teste. A Kel e o $t_{1/2}$ da TMP suspensão entre formulação teste e referência nos ratos foram divergentes, já em humanos tal ocorrência não foi tão evidente.

A comparação dos dados mostrou que há uma diferença de perfil apresentada quando comparadas as áreas das curvas entre ratos e humanos.

De acordo com Tu e colaboradores (1989), a disposição do TMP em ratos foi descrita tanto por modelo de dois compartimentos abertos, com a eliminação de um compartimento central, e por modelo não-compartimental. A sua distribuição em tecidos ocorre por fenômeno bifásico. Tal evidencia corrobora com o encontrado nos resultados, em que possivelmente as diferenças evidenciadas nos testes sejam resultado de um metabolismo diferenciado para a TMP em ratos.

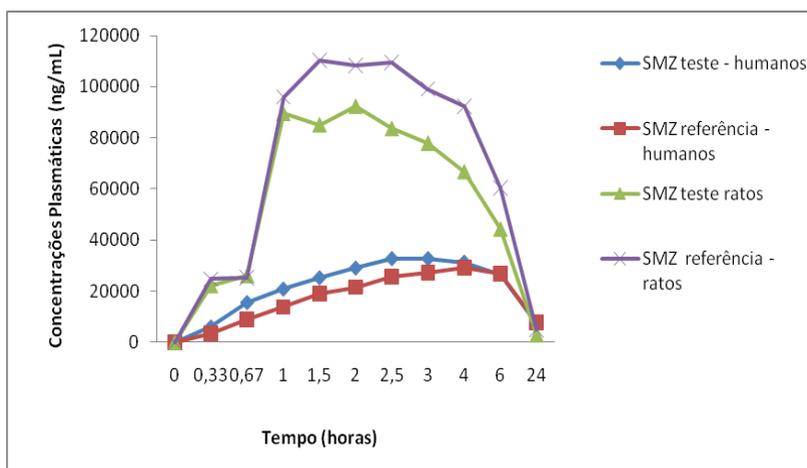


Figura 15 – Cinética do fármaco SMZ comprimido em ratos *versus* SMZ comprimido em seres humanos.

Quando analisados os resultados farmacocinéticos do SMZ comprimido teste e referência administrado em ratos o parâmetro T_{max} foi de 1,83 h tanto para o teste quanto para o referência. Entretanto, para os demais parâmetros as diferenças foram representativas como $t_{1/2}$ de 8,48 h para o medicamento referência e 4,33 h para o teste, C_{max} de 125681,02 ng/mL para o composto referência e 109536,20 ng/mL para o teste.

Podem ser verificados os perfis semelhantes das formulações em ratos, e a diferença na eliminação entre os medicamentos teste e referência. Essa diferença pode ser comprovada através da comparação entre os resultados de ASC0-t e ASC0-inf.

Quando comparadas as curvas entre humanos e ratos, as diferenças geradas pela forma de administração do comprimido em ratos são evidentes. Devido a maceração dos comprimidos, o perfil dos ratos apresentou absorção mais rápida e em maior concentração plasmática e, conseqüentemente, maior ASC. Mesmo com estas limitações os perfis plasmáticos seguiram um mesmo perfil e uma mesma proporção.

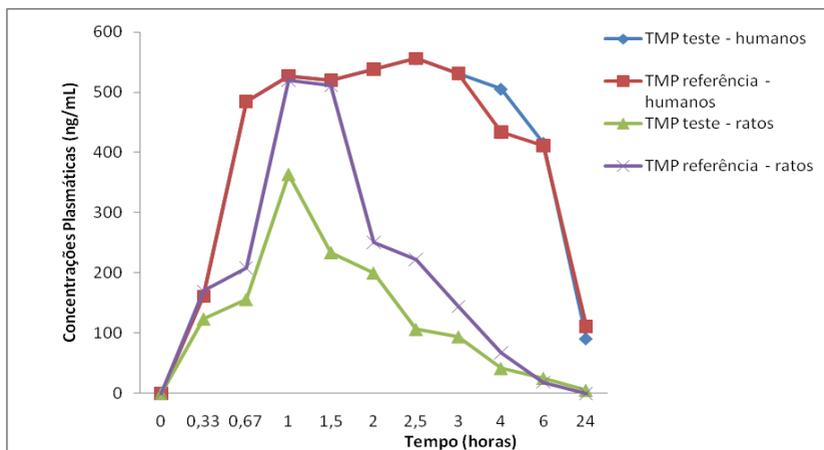


Figura 16 – Cinética do fármaco TMP comprimido em ratos *versus* TMP comprimido em seres humanos.

O parâmetro de meia-vida ($t_{1/2}$) e a constante de eliminação (K_{el}) para o TMP comprimido foram diferentes quando comparados ratos e humanos. Nos ratos o $t_{1/2}$ e a K_{el} do referência foram respectivamente 31,45 h e 0,50 e para o teste foi 2,96 h e 0,43. Já nos humanos o $t_{1/2}$ para a formulação referência foi 12,27 h e a K_{el} 0,10, e para o teste o $t_{1/2}$ foi 11,24 h e a K_{el} foi 0,10.

Existe uma diferença na metabolização da TMP em ratos, que gerou as diferenças nos valores encontrados. Mesmo a formulação comprimido sendo macerada, os valores de C_{max} foram semelhantes, entretanto há diferenças significativas nos parâmetros $t_{1/2}$ e K_{el} .

4.4 Comparação formulações suspensão *versus* comprimido em ratos

As figuras 17 e 18 apresentam as formulações suspensão e comprimido administradas em ratos comparadas para os fármacos SMZ e TMP.

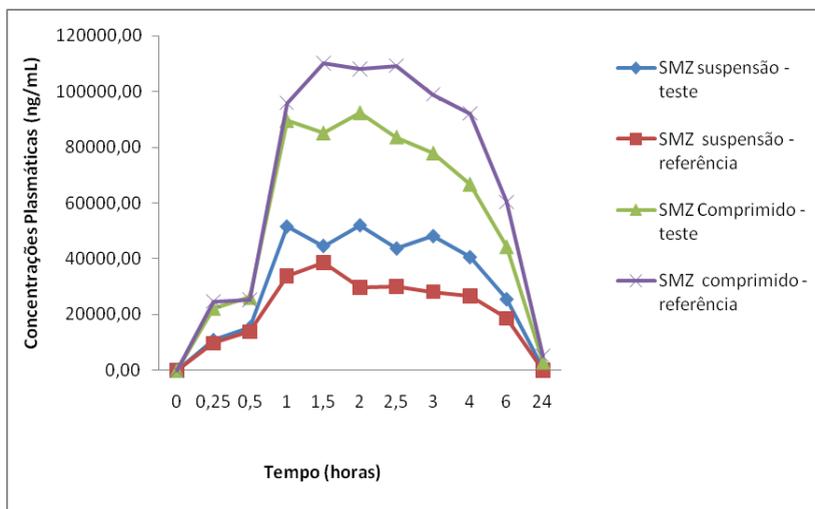


Figura 17 – Cinética do fármaco SMZ em suspensão *versus* SMZ em comprimido em ratos.

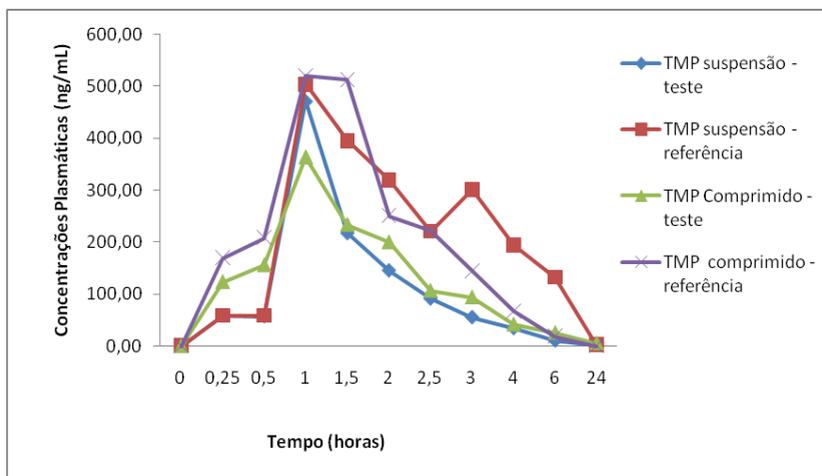


Figura 18 – Cinética do fármaco TMP em suspensão *versus* TMP em comprimido em ratos.

De maneira geral quando se avalia, isoladamente o intervalo de confiança e seu respectivo resultado: bioequivalente ou não bioequivalente, os estudos em animais carecem de significância, pois o número de animais utilizado no presente estudo foi muito limitado. No entanto, tal ferramenta foi capaz de reproduzir a tendência que pode ser

verificada através da comparação entre as médias geométricas obtidas em todas as situações avaliadas. A comparação entre os perfis de SMZ suspensão e comprimido em ratos mostra que é possível avaliar que principalmente C_{max} e ASC são parâmetros diferentes entre as formas farmacêuticas. Já no caso da TMP tal fato não ocorreu.

Quando suspensão e comprimido são administradas em suas formas físicas intactas, espera-se que as suspensões liberem mais rapidamente o princípio ativo, permitindo uma maior absorção (AULTON, 2005). Entretanto, no caso no SMZ, diferentemente do esperado, a maior ASC e os maiores valores de C_{max} ocorreram para a formulação comprimido. Como discutido anteriormente, como o comprimido não foi administrado em sua forma íntegra, é muito provável que a absorção tenha sido afetada, chegando ao ponto de superar o perfil da suspensão. A TMP não representou diferença em maior amplitude devido ao metabolismo diferenciado do princípio ativo em ratos.

Nas formas farmacêuticas sólidas, são realizados diversos artifícios para controlar a biodisponibilidade (FERRAZ, 1994). Diante dos resultados encontrados, e da possibilidade de aplicação futura da ferramenta (modelo experimental), sugere-se que para formas farmacêuticas sólidas, seja utilizada outra espécie animal que permita a administração da forma farmacêutica em sua forma íntegra. A este respeito, estudos recentes sugerem a utilização de *minipigs*, porcos, cães ou macacos como espécies promissoras para pesquisas preditivas (KATORI, et al., 1995). Estes animais apresentam características como trato gastrointestinal semelhante aos humanos, o que permite uma avaliação mais precisa de todos os estágios farmacocinéticos.

Os investimentos voltados para a pesquisa e desenvolvimento de medicamentos são muitos. Mesmo assim, muitas vezes estes investimentos e anos de pesquisa são desperdiçados devido ao insucesso no resultado de um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, estudo este necessário para o registro de medicamentos no Brasil, de acordo com a legislação vigente.

O modelo animal em estudo, mesmo não demonstrando uma correlação completa entre os dados em humanos e ratos, se apresenta como uma ferramenta útil, pois permite avaliações do comportamento farmacocinético individual de cada formulação testada, contribuindo para que problemas sejam identificados e corrigidos anteriormente à submissão dos medicamentos à testes oficiais de biodisponibilidade relativa / bioequivalência em humanos.

5. CONCLUSÃO

O método analítico para quantificação das amostras sanguíneas coletadas dos animais foi validado para quantificação em CLAE, seguindo os parâmetros especificados na legislação vigente. A validação do método em matriz de rato assegurou a não ocorrência de efeito de matriz e garantiu a confiabilidade dos resultados obtidos.

O estudo dos parâmetros farmacocinéticos de SMZ e TMP, administrados em ratos nas formulações comprimido e suspensão, foi facilmente caracterizado através da metodologia apresentada e seguiu os mesmos princípios utilizados em estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência em seres humanos. Deste modo foi possível comparar a biodisponibilidade dos animais com dados obtidos em estudos já realizados em seres humanos.

A correlação dos dados foi encontrada em diversos parâmetros, principalmente para a formulação suspensão. Uma limitação da ferramenta está relacionada provavelmente à forma como foi administrado o comprimido (maceração) que não permitiu uma caracterização ideal e a correlação dos dados para esta forma farmacêutica.

Entretanto, pode-se afirmar que, mesmo com as limitações que o presente modelo apresentou, a proposta de um modelo experimental utilizando ratos demonstrou-se eficiente na predição de dados farmacocinéticos em seres humanos. Em vários parâmetros avaliados a correlação entre os dados humanos *versus* ratos foi obtida, o que permite o uso do modelo animal para certas classes de medicamentos, como as aqui estudadas (classe IV – solubilidade e permeabilidades baixas), e formulações (líquidas), pelo menos até que se encontre uma maneira de administrar as formas sólidas de modo a não interferir com sua dissolução e conseqüente absorção.

6. REFERÊNCIAS

ABDOU, H.M. **Dissolution, bioavailability & bioequivalence**. Easton: Mack Publishing, 554p. 1989.

ANVISA-BRASIL, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Legislação. **Lei n.9787, de 10 de fevereiro de 1999**. Altera a Lei n.6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências.

AMIDON, G.L.; BERMEJO, M. **Modern biopharmaceutics**. Versão 6.03. Ann Arbor: TSRL, 2003.

AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, n.3, p.413-420, 1995.

AMSDEN GW. Advanced generation macrolides: tissue-directed antibiotics. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 18, p. 11 – 15, 2001.

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

ARANCIBIA, A.; PEZOA, R., eds. **Biodisponibilidade de medicamentos**. Santiago: Universidad de Chile, Facultad de Ciências Químicas y Farmacêuticas, 309p., 1992.

ARTURSSON, P.; PALM, K.; LUTHMAN, L. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 22, p. 67 – 84, 1996.

ARZAMI, S.; ROA, W.; LÖBENBERG, R. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v.328, p.12–21, 2007.

ASHFORD, M. Biodisponibilidade – fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª.ed. Porto Alegre: Artmed. cap.17, p.245-263, 2005.

ASHFORD, M. Introdução à biofarmácia. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª.ed. Porto Alegre: Artmed., cap.15, p.225–228. 2005a

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª. ed Porto Alegre: ARTMED, 677 p., 2005.

- BACTRIM F: SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA. **Roche, Produtos Químicos e Farmacêuticos S.A.**: Rio De Janeiro. [Bula de medicamento], 2009
- BALIMANE, P.V.; CHONG, S.; MORRISON, R.A. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v.44, p.301–212, 2000.
- BRUMFITT, W., HAMILTON-MILLER, J.M.T., KOSMIDIS, J. Trimethoprim-sulfamethoxazole: the present position. **Journal of Infectious Diseases**, 128 (Suppl.), p.S778-S791, 1973.
- BUENO, M.M. **Implantação, evolução, aspectos técnicos e perspectivas da regulamentação técnica de biodisponibilidade relativa e bioequivalência de medicamentos genéricos e similares no Brasil**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 193p., 2005.
- BUSHBY S.R, HITCHINGS G.H. Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v.33, n.1, p.72–90, 1968.
- BUSHBY, S.R.M. Synergy of trimethoprim-sulfamethoxazole. **Canadian Medical Association Journal**, v. 11, n.214, 1975.
- CHEN, M.L.; STRAUGHN, A.B; SADRIEH, N.; MEYER, M.; FAUSTINO. P.J.; CIAVARELLA, A.B.; MEIBOHM, B.; YATES, C.R.; HUSSAIN, A.S. A modern view of excipient effects on bioequivalence: case study Sorbitol. **Pharmaceutical Research**, v.24, n.1, p.73–80, 2007.
- COOK, J.; ADDICKS, W.; WU, Y. Application of the biopharmaceutical classification system in clinical drug development: an industrial view. **The AAPS Journal**, v.10, n.2, p.306 – 310, 2008.
- DAHAN, A. MILLER,J.M., AMIDON,G.L. Prediction of solubility and permeability class membership: provisional BCS Classification of the world’s top oral drugs. **The AAPS Journal**, v.11, n. 4, p.740 – 746, 2009.
- DIEHL, K.H., HULL, R.; MORTON, D.; PFISTER, R.; RABEMAMPIANINA, Y.; SMITH, D.; VIDAL, J.M.; VAN DE VORSTENBOSCH, C. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. **Journal of Applied Toxicology**. v.21, p.15-23, 2001
- DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical Research**, v.15, p.11-22, 1998.

- EBBERT, S., C.; CRAIG, W., A. Pharmacodynamic properties of antibiotics: application to drug monitoring and dosage regimen design. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 11, n.6, p. 319 – 326, 1990.
- ELIOPOULOS, H.; GIRANDA, V.; CARR, R.; TIEHEN, R.; LEAHY, T.; GORDON, G. Phase O Trials: an industry perspective. **Clinical Cancer Research**, v.14, n.12, p.3683–3688, 2008.
- FERRAZ, H.G. Fatores determinantes da dissolução de formas farmacêuticas sólidas. Parte I: formulação e tecnologia de fabricação. **Infarma**, Brasília, v. 3, p. 17-19, 1994.
- FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**, 3ª. ed. São Paulo: EDUSP, 2003.
- FRIMODT-MOLLER N. How predictive is PK/PD for antibacterial agents? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 19(4), p. 333-339, 2002.
- GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 406p.
- GOODMAN, A.G., GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11ª. ed. Editora McGraw-Hill, 2006.
- HITCHINGS, G.H. Mechanism of action of trimethoprim-sulfamethoxazole. **Journal of Infectious Diseases**, v.128, S433-S436, 1973.
- HIR, A. Le. **Noções de Farmácia Galênica**. 6ª.ed São Paulo: Andrei, 444 p., 1997.
- HOSEA, N.A.; COLLARD, W.T.; COLE, S.; MAURER, T.S.; FANG, R.X.; JONES, H.; KAKAR, S.M.; NAKAI, Y.; SMITH, B.J.; WEBSTER, R.; BEAUMONT, K. Prediction of human pharmacokinetics from preclinical Information: comparative accuracy of quantitative prediction approaches. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 49, p. 513, 2009.
- HUTT, V., KLINGMANN, I., PABST, G.U., SALAMA, Z., NIEDER, M., JAEGER, H. Studies of the pharmacokinetics and bioavailability of a new trimethoprim/sulfamethoxazole preparation in healthy volunteers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.18, n.2, 109-114, 1993.
- JACKSON, A.J., ed., **Generics and bioequivalence**. Boca Raton: CRC Press, p.49-100, 1994.
- JENKINS, A.J., CONE, E.J. **Pharmacokinetics: Drug absorption, distribution and elimination**. In: Karch SB, editor. Drug Abuse Handbook. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1998.

- JUNG, S.J.; et al.??? Prediction of permeability of drugs through study on quantitative structure-permeability relationship. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, p.469–475, 2006.
- KAISER, M. **Avaliação pré-clínica em roedores do perfil farmacocinético do benzaldeído semicarbazona livre e complexado em beta ciclodextrina.** Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 90p., 2009.
- KARALIS, V.; MACHERAS, P.; PEER, A.; SHAH, V. Bioavailability and bioequivalence: focus on physiological factors and variability. **Pharmaceutical Research**, v.25, n.8, p.1956–1962, 2008.
- KARALIS, V.; MACHERAS, P.; PEER, A.; SHAH, V. Bioavailability and bioequivalence: focus on physiological factors and variability. **Pharmaceutical Research**, v.25, n.8, p.1956–1962, 2008.
- KATORI, N.; AOYAGI, N.; TERAQ, T. Estimation of agitation intensity in the GI Tract in humans and dogs based on *in vitro/in vivo* correlation. **International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology**, v. 22, p. 237-243, 1995.
- KEILHOFNER, M. A. Trimetoprim - Sulfametoxazole: Pharmacokinetics, clinical uses, and adverse reactions. **Texas Heart Institute Journal**, v.17 n. 2, 1990.
- KOLA, I.; LANDIS, J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? **Nature Reviews Drug Discovery**, v.3, p.711–715, 2004.
- KREMERS, M. P.; DUVIVER, J.; HEUSGHEM, C. Pharmacokinetic studies of co-trimoxazole in man after single and repeated doses. **The Journal of Clinical Pharmacology** n. 14, p. 112-117, 1974.
- KU, M.S. Use of biopharmaceutical classification system in early drug development. **The AAPS Journal**, v.10, n.1, p.208–212, 2008.
- LACHMANN. H.A.; LIEBERMAN,H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica.** v 2., Lisboa: Ed. Fundação Calouste Gulbekian, 2001.
- LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.57, n.3, p.273-285, 2005.
- LI , R., C. New pharmacodynamic parameters for antimicrobial agents. **Int J Antimicrob Agents**, v.13 (4), p. 229-35, 2000.
- LOBENBERG, R.; AMIDON, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.50, n.1, p.3-12, 2000.

- MARTIN, A. **Physical Pharmacy**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 477- 486, 1993.
- MARTINEZ, M.N.; AMIDON, G.L. A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. **Journal of Clinical Pharmacology**, v.42, p.620-643, 2002.
- MEIBOHM B, DERENDORF H. Pharmacokinetic / pharmacodynamic studies in drug product development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91 (1), p.18 – 91, 2002.
- MOFFAT, A. C., OSSELTON, D. M., WIDDOP, B. **Clarke's analysis of drugs and poisons**. Ed. E G C Clarke, 3rd ed., 2004.
- MONTEIRO, J. L.; CAMPOS, S. B.; SEGURO, A. C. Efeitos renais do trimetoprim e sulfametoxazol. **Revista Brasileira de Nefrologia**, v.19, p. 276-279, 1997.
- MORGAN, D.J., RAYMOND, K. Evaluation of slow infusions of co-trimoxazole by using predictive pharmacokinetics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 17, n. 2, p. 132-137, 1980.
- PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N.S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics**, v.201, p.131-150, 2000.
- PELKONEN, O.; BOOBIS, A.R.; REMY, U.G. *In vitro* prediction of gastrointestinal absorption and bioavailability: an experts' meeting report. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v.57, p.621-627, 2001.
- PIETZONKA, P., WALTER, E.; DUDA-JOHNER, S.; LANGGUTH, P.; MERKLE, H.P.; Compromised integrity of excised porcine intestinal epithelium obtained from the abattoir effects the outcome of *in vitro* particle uptake studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 39-47, 2002.
- POLLI, J.E.; CRISON, J.R.; AMIDON, G.L. Novel approach to the analysis of *in vitro* - *in vivo* relationships. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, p. 753-761, 1996.
- PRENTIS, R.A.; LIS, Y.; WALKER, S.R. Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964–1985). **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.25, p.387–396, 1988.
- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica**. Lisboa, Ed. Fundação Calouste Gulbenkian. v. 1., 3^a. ed., p. 1182- 1254, 1981
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5^a. ed. Elsevier Editora Ltda, 2003.

REMINGTON, J.P. **Remington: a ciência e a prática da farmácia**. 20ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2208 p., 2004.

SASTRY, S.V., NYSHADHAM, J.R., FIX, J.A. Recent technological advances in oral drug delivery, **Pharmaceutical Sciences Technology Today**, v.3, p.138–145, 2000.

SCIPIONI, R.L., DITERS, R.W., MYERS, W.R., HART S.M. Clinical and clinico-pathological assessment of serial phlebotomy in the Sprague Dawley rat. **Laboratory Animal Science**, v.47, p.293–299, 1997.

SCHWARTZ, D.E., REIDER, J. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole and trimethoprim in man and their distribution in the rat. **Chemotherapy**, v.15, p.337-355, 1970.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C.; PONG, S.W. **Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics**. 5ª. ed. New York. Appleton & Lange Reviews, MacGraw-Hill., 892p. 2005.

SHEIK-SALEM, M.; ALKAYSI H N, GHARAIBEH A M, AMARI F F, SALLAM E, SHUBAIR M S. Analysis and bioequivalence study on two tablet formulations of cotrimaxazole. **Journal of Clinical, Pharmacology and Therapy**, v.18, n.2, 109-114, 1993.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7º. ed. Editora Guanabara Koogan S.A., 2006

SOUZA, J.; FREITAS, Z. M.; STORPIRTIS, S. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.4, p.515–527, 2007.

STEPPE, M. **Avaliação da biodisponibilidade e bioequivalência de suspensões extemporâneas de amoxicilina**. Porto Alegre, 1996. 183p. [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambiabilidade de medicamentos genéricos**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1999. 78p. [Apostila].

STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V.O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.31, n.2, p.63-70, 1995.

TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, L.X.; AMIDON, G.L. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drugs products in

the United States, Great Britain, Spain and Japan. **Molecular Pharmaceutics**, v.3, n.6, p.631-643, 2006.

TURNIDGE, J., D. The pharmacodynamics of β -lactams. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, p. 10-22, 1998.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. **Guidance for industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms base on a biopharmaceutics classification system**. Rockville: FDA, 2000. p.1-13.

UNITED STATES PHARMACOPEIA: **USP 29: The National Formulary: NF 24**. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, p.1064-1065, p.1961- 1963, 2005.

UPPOOR, V. R. S. Regulatory perspectives on *in vitro* (dissolution)/*in vivo* (bioavailability) correlations. **Journal of Controlled Release**. v. 72, p. 127-132, 2001

VAN BAMEKE F., TULKENS, P.M. Macrolides: pharmacokinetics and pharmacodynamics. **The International Journal of Antimicrobial Agents**, v.18, Suppl.1, p. S17-S23, 2001.

VARMA, M.V.; KHANDAVILLI, S.; ASHOKRAJ, Y.; JAIN, A.; DHANIKULA, A.; SOOD, A.; THOMAS, N.S.; PILLAI, O.; SHARMA, P.; GANDHI, R.; AGRAWAL, S.; NAIR, V.; PANCHAGNULA, R. Biopharmaceutic classification system: a scientific framework for pharmacokinetic optimization in drug research. **Current Drug Metabolism**, v.5, n.5, p.375-388, 2004.

VENKATESH, S.; LIPPER, R.A. Role of the development scientist in compound lead selection and optimization. **Journal of Pharmaceutical Science**, 89 (2), p.145-154, 2000.

WARD, K.W., SMITH, B.R. Comprehensive quantitative and qualitative evaluation of extrapolation of intravenous pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey to humans. Ii. Volume of distribution and mean residence time. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 32, n. 6, p. 603 – 611, 2004.

YU, L.X.; AMIDON, G.L; POLLI, J.E.; ZHAO, H.; MEHTA, M.U.; CONNER, D.P.; SHAH, V.P.; LESKO, L.J.; CHEN, M.L.; LEE, V.H.; HUSSAIN, A.S. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. **Pharmaceutical Research**, v.19, n.7, p.921-925, 2002.

Anexo 1 – Parecer de aprovação do Comitê de Ética

Resultado de Solicitação de Protocolo

Protocolo

PP00423

Título

Avaliação dos parâmetros farmacocinéticos da associação de Sulfametoxazol + Trimetoprima em ratos..

Data de Entrada

21/07/2010

Resultado:

Aprovado

Data/Prazo

25/10/2010

Considerações

Ofício nº 209/CEUA/PRPE/2010

Do: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

Ao(à): Prof(a) Dr(a) Thereza Christina Monteiro de Lima, Departamento de Farmacologia – CCB

Prezado(a) Professor(a),

Em relação ao protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade a CEUA deliberou o seguinte:

- APROVADO ad referendum, por um ano(s), para a utilização de noventa e seis ratos (*Rattus Norvegicus*).
- Procedência do animal: Biotério Central da UFSC.
- Processo cadastrado sob o número: 23080.023789/2010-18

Por ocasião do término desse protocolo, DEVERÁ SER APRESENTADO RELATÓRIO detalhado relacionando o uso de animais no Projeto desenvolvido aos resultados obtidos, conforme formulário ON LINE CEUA.

Atenciosamente,

Relatório Final previsto para (90 dias após término da vigência do protocolo ou no momento da apresentação de um novo protocolo)

Data 25/01/2012

Data 25/10/2010

Parecer(es):

Prof. Assoc. Carlos Rogério Tonussi, D.Sc.
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – PRPE – UFSC
PRESIDENTE

Anexo 2 – Parâmetros farmacocinéticos individuais de SMZ e TMP em ratos

Tabela 27 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ suspensão oral – formulação referência.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	ASC_{0-inf}
1A	0,16	4,34	1,00	75967,55	501550,98	512101,01
2A	0,17	4,14	1,00	63120,07	694890,15	707634,23
3A	0,19	3,57	2,00	74280,48	274043,91	457337,74
4A	0,60	1,15	2,00	49228,28	180907,77	194396,70
5A	0,20	3,54	1,00	44585,23	155820,67	252708,22
6A	0,15	4,65	1,00	40692,49	184141,04	351123,25

Tabela 28 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ suspensão oral – formulação teste.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	ASC_{0-inf}
1B	0,14	4,94	1,00	38275,26	142150,67	271550,15
2B	0,19	3,69	1,50	40953,93	146451,90	221579,77
3B	0,14	4,79	1,50	34553,14	140874,85	247809,52
4B	0,18	3,81	1,50	60677,27	388912,51	393274,36
5B	0,19	3,61	2,00	41102,86	166375,59	261706,86
6B	0,06	11,35	1,50	62598,12	277425,90	1004066,49

Tabela 29 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP suspensão oral – formulação referência.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	ASC_{0-inf}
1A	0,11	6,05	1,00	309,57	939,60	2136,61
2A	0,31	2,24	1,00	292,25	846,60	1009,04
3A	0,30	2,30	1,50	785,75	1342,13	1796,61
4A	0,26	2,66	3,00	897,57	2613,71	4002,92
5A	0,51	1,35	1,00	1198,51	2359,45	2501,73
6A	0,07	10,55	1,50	113,76	783,42	1024,34

Tabela 30 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP suspensão oral – formulação teste.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{o-t}	ASC_{o-inf}
1B	0,71	0,98	1,50	342,61	644,20	740,14
2B	0,12	5,64	1,00	1714,16	1574,26	1695,29
3B	0,43	1,60	1,50	187,74	421,75	458,21
4B	0,54	1,29	1,00	266,01	516,44	561,60
5B	0,62	1,11	1,00	222,87	319,37	365,22
6B	0,68	1,02	1,00	166,93	341,65	375,57

Tabela 31 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ comprimido – formulação referência.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{o-t}	ASC_{o-inf}
1A	0,13	5,18	2,50	150452,83	974262,36	1011128,22
2A	0,12	5,79	1,50	135960,25	1226263,36	1303599,53
3A	0,12	5,87	2,00	112484,22	1155584,62	1225004,67
4A	0,03	24,15	1,50	126797,76	484535,64	3507815,05
5A	0,15	4,77	2,00	117164,22	927632,80	955788,45
6A	0,14	5,12	1,50	111226,86	1005621,97	1042074,53

Tabela 32 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco SMZ comprimido – formulação teste.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{o-t}	ASC_{o-inf}
1B	0,28	2,45	1,00	122954,22	408111,76	549960,24
2B	0,12	5,77	1,50	99048,00	618690,47	660416,03
3B	0,22	3,18	1,50	76841,21	281746,03	391314,01
4B	0,14	4,94	2,00	162594,94	1501436,48	1550021,53
5B	0,15	4,59	3,00	105679,12	854921,94	875349,06
6B	0,14	5,07	2,00	90099,73	675012,55	698520,99

Tabela 33 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP comprimido – formulação referência.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	ASC_{0-inf}
1A	0,52	1,34	1,00	1081,92	1459,40	1534,70
2A	0,45	1,55	1,50	537,68	1158,67	1241,30
3A	0,37	1,87	1,00	451,97	900,83	994,74
4A	0,77	0,90	1,50	859,19	1090,39	1220,46
5A	0,47	1,47	1,00	417,55	690,09	1012,83
6A	0,44	1,58	1,50	600,27	1020,39	1252,58

Tabela 34 - Parâmetros farmacocinéticos individuais do fármaco TMP comprimido – formulação teste.

Animal	K_{el}	T_{1/2}	T_{max}	C_{max}	ASC_{0-t}	ASC_{0-inf}
1B	0,49	1,42	1,00	978,97	1343,26	1508,02
2B	0,46	1,50	1,00	143,52	272,15	391,06
3B	0,57	1,21	0,50	336,26	466,70	539,49
4B	0,42	1,64	1,00	484,34	940,59	1011,88
5B	0,55	1,26	1,50	245,74	458,08	543,36
6B	0,06	10,73	1,00	236,93	1280,92	1796,34