



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Carolina Peres**

**Planejamento de Estudo Clínico para a avaliação  
da biodisponibilidade comparativa de nova  
formulação de liberação prolongada de  
benzonidazol**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Medicina,  
Universidade Estadual Paulista “Júlio  
de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Pesquisa Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Rosângela Gonçalves Peccinini  
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Antônio Caramori

**Botucatu  
2017**

Carolina Peres

**Planejamento de Estudo Clínico para a  
avaliação da biodisponibilidade comparativa  
de nova formulação de liberação prolongada  
de benzonidazol**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Medicina,  
Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”,  
Câmpus de Botucatu, para  
obtenção do título de Mestre  
em Pesquisa Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Rosângela Gonçalves Peccinini  
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Antônio Caramori

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Peres, Carolina.

Planejamento de estudo clínico para a avaliação da biodisponibilidade comparativa de nova formulação de liberação prolongada de benzonidazol / Carolina Peres. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu  
Orientador: Rosângela Gonçalves Peccinini  
Coorientador: Carlos Antônio Caramori  
Capes: 40101096

1. A doença de Chagas. 2. Estudo clínico. 3. Protocolos médicos. 4. Medicamentos - Biodisponibilidade.

Palavras-chave: Benzonidazol; Biodisponibilidade comparativa; Estudo clínico; Liberação prolongada; Protocolo clínico .

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Elizabeth Caron Rosa e José Roberto Peres e à minha irmã Juliana Rosa, por tudo que fizeram por mim até hoje.

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e pela oportunidade em mais essa conquista.

À minha orientadora Profa. Dra. Rosângela Gonçalves Peccinini, exemplo de pessoa e profissional, pela confiança no meu trabalho, mesmo sabendo das dificuldades que eu enfrentaria e pela ajuda no desenvolvimento deste projeto.

Ao meu amigo Marcelo Davanço pelo auxílio infinito em todos os momentos no desenvolvimento deste projeto, ao conhecimento transmitido e pela amizade.

Aos meus pais pela oportunidade que me deram de poder estudar, pelo orgulho de ter nascido de vocês e pelo apoio.

À minha irmã Juliana Rosa e ao meu cunhado Nilton José Vidotto pelo exemplo, pela ajuda e estímulo durante a execução deste projeto.

Ao meu amigo Antônio Pansonato Júnior pela colaboração tecnológica, ajuda e paciência durante esta jornada.

Às minhas chefes Vivienne Castilho e Silvana Glikmanas pelo apoio e compreensão para os momentos dispensados durante o desenvolvimento deste trabalho.

À minha amiga Sandra Petrillo que me ajudou durante a realização deste mestrado profissional.

Ao meu companheiro, Paulo Salles, pela ajuda e compreensão.

À Camila Macedo pela ajuda técnica nos momentos que necessitei.

Ao meu co-orientador Carlos Antônio Caramori por aceitar me auxiliar neste projeto e pelo exemplo de profissional.

Ao Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM) e sua aluna, Talita Atanazio Rosa, pela concessão da fórmula dos comprimidos de liberação prolongada deste trabalho.

Aos professores e ex-professores da FCF – UNESP/Araraquara responsáveis pela minha formação e ensinamentos durante o curso de graduação em Farmácia-Bioquímica.

Aos professores e ex-professores da FMB – UNESP/Botucatu pelos ensinamentos propagados durante o mestrado profissional e por serem incentivadores de conhecimento.

À Banca examinadora de Qualificação e Defesa: Dr. Benedito Barravieira, Dra. Helen Baldan Cimatti, Dr. Michel Leandro de Campos e Dra. Silvana Andrea Molina Lima pela contribuição no trabalho e aprendizado transmitidos durante a apresentação.

Ao Centro de Pesquisa CAEP (Centro Avançado de Estudos e Pesquisas) pela atenção dispensada e pela elaboração do orçamento para viabilidade deste trabalho.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

Charles Chaplin

## RESUMO

A doença de Chagas é uma enfermidade que afeta milhões de pessoas no mundo, principalmente em países em desenvolvimento. No Brasil, o único fármaco disponível para tratamento desta doença é o benzonidazol (BNZ). Atualmente o regime posológico para adultos consiste na administração deste fármaco na forma de comprimidos de liberação imediata de 100 mg em duas ou três tomadas diárias, durante 60 dias. Apesar da elevada eficácia desse fármaco na fase aguda da doença (aproximadamente 70%), os eventos adversos são frequentes e muitas vezes causam a interrupção do tratamento. Diante desse cenário, o Laboratório de Tecnologia de Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) desenvolveu comprimidos de liberação prolongada, visando a redução da frequência de administrações do fármaco e a melhoria do tratamento com doses mais precisas. Em estudos pré-clínicos foram observadas vantagens da administração do comprimido de liberação prolongada na cinética do fármaco benzonidazol quando comparada a administração do comprimido de liberação imediata (formulação convencional). Entretanto, a continuidade do desenvolvimento do produto farmacêutico para aplicação terapêutica exige a avaliação em humanos. Logo, o objetivo deste trabalho foi reunir todas as informações e documentos necessários para a elaboração do protocolo de estudo clínico da nova formulação de liberação prolongada para futura submissão ao CEP e à ANVISA. Estabeleceu-se o protocolo para estudo Clínico de fase I – biodisponibilidade comparativa, aberto, aleatorizado, cruzado e monocêntrico. A administração foi estabelecida em dois tratamentos, duas sequências, dois períodos, nos quais os participantes recebem, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência. Serão realizados dois estudos independentes, no qual o primeiro estudo, os participantes estarão em jejum (Estudo I) e no segundo estudo, estarão alimentados (Estudo II). Serão 24 participantes para cada estudo, sendo 12



participantes de cada sexo. Os resultados deste estudo proporcionarão informações para avaliar se a administração da formulação Teste, benzonidazol 200mg, determina níveis plasmáticos semelhantes aos da formulação Referência, benzonidazol 100mg e se os mantém por período suficiente para a assunção de uma administração diária. Esta avaliação culminará com a decisão sobre a substituição da apresentação atualmente utilizada no tratamento da tripanossomíase pela nova formulação de liberação prolongada.

Palavras-chave: benzonidazol, biodisponibilidade comparativa, estudo clínico, liberação prolongada, protocolo clínico.

## ABSTRACT

Chagas disease affects millions of people worldwide, especially in developing countries. In Brazil, the only drug available for treatment of this disease is benznidazole (BNZ). Currently, the dosage regimen for adults consists of administration of this drug in the form of 100 mg immediate-release tablets in twice or three times a day for 60 days. Despite the high efficacy of this drug in the acute phase of the disease (approximately 70%), adverse effects are common and often cause discontinuation of treatment. In this scenario, the Laboratory of Drug Technology (LTM) of the Federal University of Pernambuco (UFPE) has developed extended-release tablets aimed at reducing the frequency of drug administration and improving treatment at more precise doses. In preclinical studies, advantages of extended-release tablet administration have been observed in the kinetics of the drug benznidazole when compared to the administration of the immediate release tablet (conventional formulation). However, the continued development of the pharmaceutical product for therapeutic application requires evaluation in humans. Therefore, the objective of this study was to gather all the information and documents necessary for the elaboration of the clinical study protocol of the new extended release formulation for future submission to the IRB (Institutional Review Board) and Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA). The protocol for Phase I clinical study - comparative, open, randomized, cross-over and monocentric was established. The administration was established in two treatments, two sequences, two periods, in which the participants receive, in each period, the test formulation or the reference formulation. Two independent studies will be performed, in which the first study, participants will be fasted (study I) and in the second study, they will be fed (study II). There will be 24 participants for each study, 12 participants of each sex. The results of this study will provide information to assess whether administration of the Test formulation, benznidazole 200mg, determines plasma levels similar to

those of the Reference formulation, benznidazole 100mg, and if these levels are maintained for a sufficient time for daily administration. This evaluation will culminate with the decision on the replacement of the present presentation used in the treatment of trypanosomiasis by the new extended-release formulation.

Keywords: benznidazole, comparative bioavailability, clinical trial, extended-release tablet, clinical trial protocol.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	11
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
3. OBJETIVOS .....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	22
4.1 Orientação da ANVISA sobre o desenho experimental .....	22
4.2 Elaboração do projeto de pesquisa .....	23
4.3 Desenho do estudo .....	23
4.4 Cálculo do número de participantes .....	24
4.5 Exames pré-confinamento e pós estudo .....	25
4.6 Critérios de inclusão e exclusão/elegibilidade .....	26
4.6.1 Critérios de inclusão.....	26
4.6.2 Critérios de exclusão.....	26
4.7 Estudo jejum x alimentado .....	28
4.7.1 Dieta hipercalórica para estudo alimentado .....	28
4.8 Cronograma de coletas de amostra .....	29
4.9 Termo de Consentimento Livre e esclarecido (TCLE) .....	30
4.10 Análise Farmacocinética .....	31
4.11 Método Bioanalítico e Validação.....	33
4.12 Análise Estatística .....	34
4.13 Centro de Pesquisa.....	36
5. RESULTADOS.....	36
5.1 Protocolo do estudo clínico .....	36
5.2 Planejamento financeiro do estudo.....	37
6. DISCUSSÕES.....	37
7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	37
8. REFERÊNCIAS .....	38
9. APÊNDICES.....	46
APÊNDICE A – Protocolo Clínico	
APÊNDICE B – Planejamento Financeiro estudo	

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ASC<sub>[0-t]</sub>** – área sob a curva de zero ao último tempo de quantificação

**ASC<sub>[0-∞]</sub>** - área sob a curva de zero extrapolada ao infinito

**BPC** - Boas Práticas Clínicas

**BNZ** - benzonidazol

**CCC** - cardiopatia chagásica crônica

**CEP** - Comitê de Ética em Pesquisa

**Cl** - clearance total ou plasmático

**Cl<sub>r</sub>** - clearance renal

**CLUE** - Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência

**C<sub>max</sub>** - Concentração plasmática máxima

**NCS** - Clinicamente Não Significativo

**CQ** - Controle de Qualidade

**CS** - Clinicamente Significativo

**C<sub>ss</sub>** - concentração plasmática no estado de equilíbrio

**CV** - Coeficiente de Variação

**DND<sub>i</sub>** - Drugs for Neglected Diseases initiative (em Português, Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas)

**DP** - Desvio Padrão

**ECG** - Eletrocardiograma

**EA** - Evento Adverso

**EAG** - Evento Adverso Grave

**EPR** - erro padrão relativo

**FDA** - Food Drug Administration

**F<sub>oral</sub>** - biodisponibilidade absoluta

**GCP** - Good Clinical Practice

**HPMC** - hidroxipropilmetilcelulose

**IC** - intervalo de confiança

**ICC** - insuficiência cardíaca congestiva

**ICH - Internacional Conference Harmonization**

**INF-gama – interferon gama**

**$k_a$  - constante de absorção**

**$k_{el}$  - constante de eliminação para modelo monocompartimental**

**LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco**

**Governador Miguel Arraes**

**$\ln$  - logaritmo natural**

**LP - Liberação prolongada**

**LPK100M - comprimido de liberação prolongada K100M**

**LTM - Laboratório de Tecnologia de Medicamentos da Universidade Federal de Pernambuco**

**MAT - mean absorption time (em português, tempo de absorção médio)**

**MRT - mean residence time (em português, tempo de residência médio)**

**NCS - Não clinicamente significativa**

**PI - Padrão Interno**

**POP - Procedimento Operacional Padrão**

**RDC - Resolução da Diretoria Colegiada**

**SVS - Secretaria de Vigilância Sanitária**

**TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

**$t_{max}$  - tempo para atingir a concentração plasmática máxima**

**$t_{1/2}$  - meia-vida de eliminação**

**$t_{1/2a}$  - meia-vida de absorção**

**$V_d$  - volume de distribuição**

**WHO - World Health Organization (em português, Organização Mundial da Saúde)**

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, uma das principais doenças tropicais negligenciadas no mundo, é causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Na América Latina, cerca de 9,8 milhões de pessoas encontram-se infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* e mais de 40 milhões estão expostos ao risco de contrair a doença (WHO, 2015).

A doença pode ser dividida em duas fases: uma fase aguda inicial, que geralmente é assintomática e uma fase crônica. A fase crônica se desenvolverá ao longo da vida, em 60 a 70% dos pacientes é clinicamente silenciosa, mas 30 a 40% dos casos desenvolverão problemas cardíacos (20 a 30%), problemas digestivos, ou uma combinação de ambos (10 a 15%). O tratamento agudo da doença de Chagas é altamente eficaz, enquanto a eficácia do tratamento antiparasitário de pacientes cronicamente infectados tem sido controversa há anos. No entanto, as evidências que apoiam o tratamento durante o estágio crônico da doença aumentaram consideravelmente (BERN et al., 2007; VIOTTI et al., 2009; VIOTTI et al., 2014; SOY et al., 2015).

A principal forma de transmissão da doença é pela picada do barbeiro infectado, inseto da família *Reduviidae*, onde a pessoa coça o local da picada e as fezes contaminadas com *Trypanosoma cruzi* penetram pelo orifício da picada. Além disso, a transmissão ocorre por via oral através da ingestão de alimentos contaminados (SHIKANAI-YASUDA et al., 2012), transmissão congênita (CARLIER et al., 2011), transplante de órgãos (CHIN-HONG et al., 2011), transfusão de sangue infectado (FEARON et al., 2001) e acidentes laboratoriais (HERWALDT, 2001).

O benzonidazol é atualmente considerado o medicamento tripanocida de primeira escolha para o tratamento da doença de Chagas, sendo o nifurtimox a segunda alternativa (FERNÁNDEZ et al., 2016). Tanto o nifurtimox quanto o BNZ são eficazes na forma aguda da doença, com taxas de cura parasitológica variando de 60 a 85% e subindo para 100%

em casos de transmissão congênita. No entanto, na fase crônica da doença, as taxas de cura variam de 15 a 40% (BERN et al., 2007).

O BNZ foi registrado pela Roche® em 1971 com o nome de Rochagan® e quase 50 anos depois, o tratamento para doença de Chagas continua sendo o mesmo (BERN et al., 2007). Entre os anos de 2004 a 2006, houve o repasse da patente e transferência da tecnologia de produção do BNZ pela empresa Roche® ao governo brasileiro (ROSA, 2015; SANTOS, 2011). Em 2011, a Agência Brasileira de Vigilância Sanitária registrou a primeira formulação pediátrica de 12,5 mg, sendo essa desenvolvida através de uma parceria entre LAFEPE e DNDi, para melhorar o tratamento da doença de Chagas em crianças.

Levando em consideração a necessidade de administração de BNZ em período prolongado, a necessidade de duas tomadas diárias e a estreita relação entre concentração plasmática e evento adverso, atualmente os pesquisadores do Laboratório de Tecnologia de Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) têm centrado suas pesquisas no desenvolvimento de novas formulações de BNZ e recentemente, foram desenvolvidas formulações de liberação prolongada (LP) utilizando o polímero hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), denominadas K4M e K100M (DAVANÇO et al., 2016).

Após isso, foi realizado estudo recente de farmacocinética pré-clínica em coelhos comparando a cinética do BNZ quando administrado na forma de comprimidos de liberação imediata *versus* a administração através de comprimidos de liberação prolongada (formulações K4M e K100M). Os parâmetros farmacocinéticos  $k_{el}$ ,  $K_a$ ,  $t_{1/2}$ ,  $t_{1/2a}$ ,  $t_{max}$ , MAT, MRT,  $ASC_{(0-t)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ , Cl,  $Cl_r$ , Vd e  $C_{max}$  foram calculados. Os parâmetros meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) e clearance total (Cl) não apresentaram diferença estatística entre os grupos, ficando em valores próximos a 4 h e 500 mL/h/kg, respectivamente. Foi demonstrado em animais que um dos sistemas de liberação prolongada (utilizando o polímero do tipo K100M) desenvolvido pelos pesquisadores do LTM promove manutenção da



concentração plasmática superior ao sistema de liberação imediata. Este ponto foi considerado vantajoso do ponto de vista clínico, pois neste tipo de administração, o fármaco poderá permanecer por mais tempo no organismo podendo contribuir com a atividade antiparasitária, além de diminuir as oscilações nas concentrações e, conseqüentemente, a redução na incidência de eventos adversos (DAVANÇO, 2016).

Há expectativas de que este sistema de liberação prolongada possa melhorar significativamente a terapêutica da doença de Chagas e a continuidade do desenvolvimento do produto farmacêutico para aplicação terapêutica exige a avaliação em humanos. Assim, o objetivo deste trabalho foi reunir todas as informações e documentos necessários para a elaboração do protocolo de estudo clínico da nova formulação de liberação prolongada para futura submissão ao CEP e à ANVISA.

Os resultados do estudo clínico proporcionarão informações para avaliar se a administração da formulação Teste, benzonidazol 200mg, determina níveis plasmáticos semelhantes aos da formulação Referência, benzonidazol 100mg e se os mantém por período suficiente para a assunção de uma administração diária. Esta avaliação culminará com a decisão sobre a substituição da apresentação atualmente utilizada no tratamento da tripanossomíase pela nova formulação de liberação prolongada.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

Mesmo após 100 anos do primeiro relato da doença de Chagas, essa doença negligenciada continua sendo um grave problema de saúde pública na América Latina, resultando em grande impacto social e econômico (DA SILVA et al., 2014). Estima-se que ocorram 7 mil mortes por ano causada pela doença de Chagas (WHO, 2015).

A doença de Chagas é endêmica em 21 países da América Latina, entretanto, o número de casos está crescendo em países não endêmicos

e desenvolvidos, como Austrália, Canadá, Japão, Espanha e Estados Unidos, devido ao aumento da migração de latino-americanos para estes países e, conseqüente, transfusão sanguínea entre indivíduos infectados e indivíduos sadios (DNDi, 2012).

A doença de Chagas aparece em duas fases clínicas: uma fase aguda, geralmente assintomática ou caracterizada por sintomas não específicos que, se não tratados, podem progredir para uma fase crônica, onde 20% a 30% dos pacientes infectados desenvolvem formas graves de cardiopatia ou megaformações digestivas (DNDi, 2012).

Durante a fase aguda da infecção, os pacientes tendem a ter uma variedade de sintomas que variam de lesões cutâneas, inchaço das pálpebras, típico sinal chamado de sinal de Romaña, sintomas semelhantes a gripe, incluindo febre, dor de cabeça e dor muscular. A doença de Chagas crônica pode levar a lesões mais críticas, com até 30% dos pacientes que sofrem de distúrbios cardíacos e até 10% que sofrem de sintomas digestivos ou neurológicos. À medida que avança o sistema cardiovascular, a doença de Chagas pode levar à morte súbita ou à insuficiência cardíaca, causada pela destruição progressiva do músculo cardíaco e do sistema nervoso (BERN et al, 2007; WIENS et al, 2016).

Em estudo recente realizado por Fragata-Filho e colaboradores, avaliou-se um grupo de 310 pacientes com doença de Chagas na fase crônica que apresentaram ECGs normais na primeira visita médica foram seguidos por quase 20 anos. Os dados demonstraram que o tratamento com BNZ evita a aparência de anormalidades no ECG nos pacientes tratados ao longo dos anos, sugerindo o BNZ também pode ser eficaz na fase crônica da doença (FRAGATA-FILHO et al., 2016).

Alguns estudos observacionais com benzonidazol administrados a 5 mg/kg/dia durante 30 dias em pacientes adultos com doença de Chagas demonstraram uma redução na progressão da doença cardíaca e uma conversão para achados negativos por testes sorológicos em até 30% dos

pacientes tratados após acompanhamento de longo prazo (CANÇADO, 2002; SOSA-ESTANI et al., 2009; ÁLVAREZ et al., 2016).

O estudo de Garcia e colaboradores (2005), comparou as alterações cardíacas em ratos em fase crônica da doença de Chagas tratados com benzonidazol *versus* ratos não tratados, demonstrando que os ratos não tratados com BZN aumentam as alterações cardíacas, como por exemplo, distúrbios na condução intraventricular, bloqueio atrioventricular e extrasístoles. Assim, o estudo sugere que o tratamento com BZN pode prevenir o desenvolvimento da cardiomiopatia crônica severa.

Em 2014, foram publicados os dados do estudo CHAGASAZOL, estudo clínico de fase II na qual foi realizada a comparação de segurança e eficácia do posaconazol *versus* segurança e eficácia do BNZ em 78 adultos com infecção crônica de *T. cruzi*. Os pacientes receberam um dos seguintes tratamentos: posaconazol de 400 mg duas vezes ao dia (doses elevadas de posaconazol), posaconazol de 100 mg duas vezes ao dia (baixa dose de posaconazol) ou benzonidazol de 150 mg duas vezes ao dia. O estudo concluiu que o posaconazol não é eficaz para a fase crônica da doença, além de o número de falhas no grupo tratado com posaconazol ser significativamente maior que o grupo tratado com benzonidazol (MOLINA, et al., 2014).

O estudo clínico BENEFIT avaliou o uso do BNZ no tratamento da doença de Chagas crônica em 2.854 pacientes com cardiomiopatia chagásica. Os pacientes receberam benzonidazol ou placebo por 80 dias e foram seguidos por 5,4 anos. O estudo concluiu que a terapia com BNZ reduziu significativamente a detecção sérica de parasitas, mas não diminuiu significativamente a progressão clínica cardíaca ao longo de 5 anos de seguimento (MORILLO, et al., 2015).

O estudo recente denominado STOP-CHAGAS teve como objetivo determinar se o posaconazol em monoterapia ou combinado com o benzonidazol foi superior ao benzonidazol em monoterapia na eliminação de parasitas de *T. cruzi* medidos por reação em cadeia da polimerase em

tempo real (RT-PCR) em pacientes chagásicos assintomáticos. O estudo foi realizado com 120 pacientes, os quais foram randomizados em 4 grupos: 400 mg de posaconazol duas vezes ao dia; benzonidazol 200 mg e placebo duas vezes ao dia; benzonidazol 200 mg duas vezes ao dia e posaconazol 400 mg duas vezes ao dia; ou placebo 10 mg duas vezes ao dia. O estudo concluiu que o posaconazol demonstrou atividade tripanostática durante o tratamento, mas é ineficaz a longo prazo em portadores assintomáticos. Logo, não foram observadas vantagens da terapia combinada em relação à monoterapia com BNZ (MORILLO, et al., 2017).

### **Mecanismo de ação**

O benzonidazol induz a formação de radicais livres e metabólitos eletrofílicos dentro do parasita *Trypanosoma cruzi*, através da redução do grupo nitro (NO<sub>2</sub>) envolvendo as enzimas do tipo nitroredutases (citocromo P-450 redutase, xantina oxidase e aldeído oxidase) havendo a formação de um intermediário radicalar (R-NO<sub>2</sub>), e sequencialmente, um radical hidroxilamina (R-NHOH). O radical nitro formado neste processo estaria atuando no efeito tripanocida do BNZ através de ligações covalentes com macromoléculas do parasita: DNA nuclear e mitocondrial, lipídeos e proteínas (DIAZ, et al, 2000; CASTRO; DIAZ DE TORANZO, 1988).

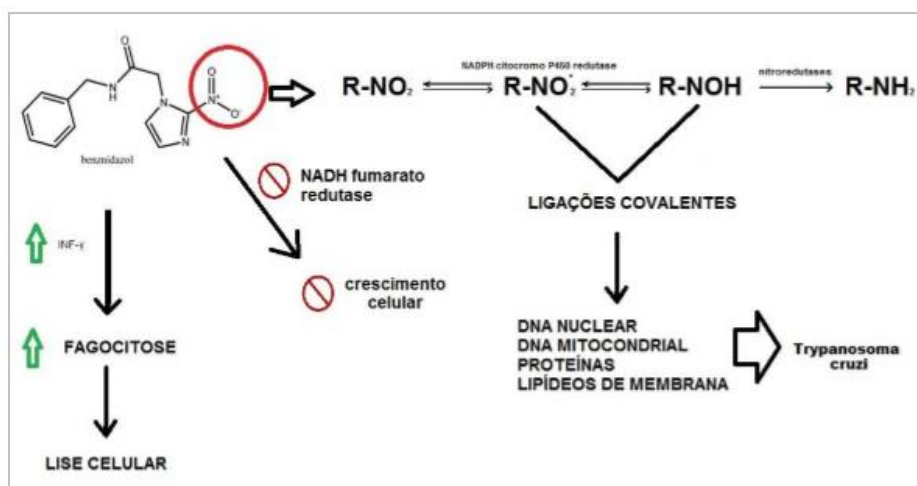
Estudo realizado por microscopia eletrônica, indicou que o BNZ catalisa a formação de quebras de cadeia dupla no parasita, já que seu DNA genômico sofre uma grande descompactação de heterocromatina após a exposição ao BNZ. Além disso, foi demonstrado que a superexpressão das proteínas de reparo do DNA mitocondrial aumenta a sobrevivência do parasita após a exposição ao BNZ, indicando que há indução de lesões no DNA mitocondrial, logo, a incorporação de nucleotídeos oxidados durante a replicação de DNA leva a quebras de DNA

de cadeia dupla potencialmente letal no DNA de *T. cruzi* (RAJÃO et al., 2014).

Em pacientes na fase crônica, o BNZ diminui a persistência do parasita, oxidação do NADPH, eventos adversos imunes (expressão de citocina pró-inflamatória) e infiltrados inflamatórios (WEN et al., 2010).

Na Figura 1 abaixo foram esquematizados os possíveis mecanismos de ação do BNZ na atividade anti-*T.cruzi* evidenciados até o momento (DAVANÇO et al., 2016).

**Figura 1** – Esquema simplificado dos possíveis mecanismos de ação do BNZ na atividade anti-*T.cruzi* (DAVANÇO, 2016).



Com base no mecanismo de ação do BNZ, é possível prever que os efeitos colaterais tóxicos do BNZ estão envolvidos com a redução enzimática do grupo nitro mediados principalmente pelo citocromo P450 (CYP), a citocromo P450 redutase e parcialmente pela xantina oxidoredutase (XOR). A toxicidade do BNZ deriva da geração de intermediários reativos que se ligam covalentemente a macromoléculas (MECCA et al., 2008), podendo atuar em outros sistemas e causar eventos adversos no hospedeiro (CASTRO et al., 2006).

## Farmacocinética

Foi avaliada a farmacocinética pré-clínica do BZN em cão, ovelha, camundongos (MOREIRA DA SILVA et al., 2012; WORKMAN et al., 1984), em ratos (DAVANÇO et al., 2014; LEONARDI et al., 2013; MORILLA et al., 2005) e recentemente, em coelhos (DAVANÇO et al., 2016). Entretanto, a farmacocinética do BZN em humanos ainda foi pouco estudada até o momento, apresentando literatura científica restrita.

Em estudo de revisão sistemática e meta-análise realizado por Wiens e colaboradores (2016), foram incluídos nove estudos de farmacocinética com BNZ em pacientes saudáveis e pacientes chagásicos, os quais foram descritos abaixo. Foi realizada a administração de BNZ na dose de 100mg e os seguintes parâmetros foram avaliados:  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $ASC_{(0-t)}$ ,  $ASC_{(0-\infty)}$ ,  $Cl/F$ ,  $V/F$ ,  $k_{el}$ ,  $k_a$ ,  $t_{1/2}$ ,  $t_{1/2a}$  e  $ASC$  (WIENS et al., 2016).

Os primeiros ensaios farmacocinéticos com BNZ foram publicados por Raaflaub e Ziegler (1979) com estudo de dose única com BNZ de 100mg (Radanil®) administrados em 6 sujeitos. O BNZ foi rapidamente absorvido a partir do trato gastrointestinal com  $C_{max}$  entre 2,2 a 2,8  $\mu\text{g/mL}$  entre 3 a 4 horas após a administração por via oral. As curvas de concentração *versus* tempo apresentaram pouca variação interindividual, além de indicar que a cinética segue o modelo monocompartimental. A meia vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) variou de 10,5 a 13,6 h, com um valor médio de 12 horas. A biodisponibilidade relativa foi verificada em três dos indivíduos e encontrou-se o valor médio de 91,7% (RAAFLAUB; ZIEGLER, 1979).

Em 1980 foi realizado outro estudo por Raaflaub com administração de múltiplas doses de BNZ a 3,5 mg/Kg duas vezes por dia em 8 sujeitos. O volume de distribuição ( $V_d$ ) foi igual a 0,56 L/kg, a  $t_{1/2}$  de 12 horas e a taxa de ligação a proteínas plasmáticas foi cerca de 40%. A eliminação do fármaco por via renal foi de 60 a 67% e de 22 a 28% por via fecal (RAAFLAUB, 1980).

Roberts e colaboradores (1984) realizaram estudo de fase I administrando 25mg/Kg de BNZ em 11 sujeitos e encontraram correlação linear entre a dose administrada e os valores de  $C_{m\acute{a}x}$  e  $ASC_{0-\infty}$ . A  $t_{1/2}$  não sofreu alteração com a variação de dose, ficando na média de  $12,8 \pm 0,5$  h, enquanto o  $t_{m\acute{a}x}$  foi de 4,25 h, a ligação a proteínas plasmáticas de 60% e a excreção inalterada do fármaco na urina foi de 6% (ROBERTS et al., 1984).

Altcheh e colaboradores realizaram estudo de coorte para avaliar a farmacocinética populacional do BNZ em 40 crianças de 2 a 8 anos de idade, com uma dose diária de 5-8 mg/kg, duas vezes ao dia, no período de 60 dias. Observou-se que as concentrações plasmáticas em crianças foram estatisticamente menores quando comparadas às concentrações em adultos, usando dados de concentração plasmática no estado de equilíbrio ( $C_{ss}$ ) e fazendo as devidas correções entre dose e peso ( $C_{ss} = 3,61$  mg/L em crianças de 2 – 7 anos;  $C_{ss} = 6,88$  mg/L em crianças de 7 – 12 anos; e  $C_{ss} = 9,69$  mg/L em adultos). Segundo os autores, tal fato deu-se devido ao alto clearance (Cl/F) do BNZ encontrado em crianças nesta faixa de idade, portanto, quanto mais jovem a criança, o Cl/F é significativamente maior comparado com crianças e adultos mais velhos. Os dados também apontam variação nos valores de  $t_{1/2}$  por idade: 3,04 h em crianças de 2 – 7 anos; 9,41 h em crianças de 7 – 12 anos; 12,77 h em adultos (ALTCHEH et al., 2014).

Em 2015, Bronn realizou estudo para avaliar o efeito da ingestão de alimentos na administração em dose única de BNZ de 100mg em 18 sujeitos saudáveis. O  $C_{max}$  foi de 2,20 mg/L, o  $t_{max}$  foi de 2,75 horas,  $k_{el}$  de  $0,05$  h<sup>-1</sup>,  $k_a$  de  $1,18$  h<sup>-1</sup> e  $t_{1/2}$  de 12,95 horas. Conclui-se que a presença de alimentos no trato digestório interfere na absorção do BNZ (BRONN, 2015; WIENS et al., 2016).

Recentemente, Soy e colaboradores publicaram resultados do estudo de avaliação de PK populacional do BNZ em 49 pacientes adultos em fase crônica, durante 56 dias de tratamento. Foram avaliados dois regimes posológicos: administração de 2,5 mg/kg/12h e 2,5 mg/kg/24h. Concluiu-se

que o regime de 2,5 mg/kg/12h pode levar a exposição excessiva dos pacientes e o regime de 2,5 mg/kg/24h seria suficiente para atingir as concentrações plasmáticas da faixa terapêutica admitidas pelos autores (SOY *et al.*, 2015).

### **3. OBJETIVOS**

O objetivo deste projeto foi reunir todas as informações e documentos necessários para a elaboração do estudo clínico de fase I da nova formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol (BNZ) para posterior submissão ao CEP e à ANVISA.

### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1 Orientação da ANVISA sobre o desenho experimental**

Em questionamento levado à ANVISA sobre estudo proposto com nova formulação de LP de 200mg de BNZ, explicando que haviam sido realizados testes pré-clínicos realizados com camundongos e coelhos, a mesma nos preconizou a realização do estudo de fase I para avaliar o perfil farmacocinético da formulação de liberação imediata e liberação prolongada de 200mg.

No estudo de fase I realiza-se a avaliação inicial em humanos, geralmente 20 a 100 participantes, a tolerância em voluntários saudáveis, avaliando a maior dose tolerável, menor dose efetiva, relação dose/efeito, duração do efeito e efeitos colaterais (BRASIL, 2015).

Como o estudo de fase I propõe-se a estabelecer uma evolução preliminar da segurança e do perfil farmacocinético, este assemelha-se muito ao estudo de bioequivalência relativa/biodisponibilidade (BD/BE), onde avalia-se o perfil farmacocinético do fármaco (concentração versus tempo) e a segurança de uma nova formulação. Tendo vista que não foram



disponibilizadas referências específicas de estudo de fase I, utilizou-se referências de estudos de bioequivalência relativa/biodisponibilidade, além das referências de pesquisa clínica.

## **4.2 Elaboração do projeto de pesquisa**

O protocolo clínico foi desenvolvido baseando-se nos princípios éticos da Declaração de Helsinki de 1964 e suas versões atualizadas, no Documentos das Américas, do Código de Nuremberg, do Manual de Boas Práticas Clínicas, das normas dos órgãos regulamentadores e através dos princípios e critérios disciplinados pelos textos normativos do Brasil: autonomia, beneficência, não-maleficência, justiça, privacidade e confidencialidade.

Além disso, o protocolo foi elaborado baseando-se nas Boas Práticas Clínicas (BPC/GCP) e na Conferência Internacional em Harmonização (ICH Topic E6 (R1) e Topic E3, na Resolução - RE nº 466, de 12 de dezembro de 2012, a qual aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e na Resolução – RE nº 251, de 07 de agosto de 1997, a qual dispõe das “Normas de Pesquisa envolvendo seres humanos”.

Para composição os itens e subitens do protocolo de estudo, utilizou-se o “Guia para protocolo e relatório técnico de estudo de bioequivalência” (Resolução - RE nº 894, de 29 de maio de 2003 e o Manual de Boas Práticas em Bioequivalência e Biodisponibilidade da ANVISA.

## **4.3 Desenho do estudo**

O protocolo foi elaborado realizando estudo cruzado com planejamento de blocos aleatorizados modificados, nos quais cada bloco recebe mais de uma formulação de um mesmo fármaco em períodos

diferentes. Os indivíduos em cada bloco recebem uma sequência diferente de formulações.

As vantagens em se utilizar esse planejamento é que cada indivíduo tem seu próprio controle, a variabilidade inter-individual é removida da comparação entre formulações e a aleatorização apropriada produz as melhores estimativas não viciadas para diferença entre formulações (Resolução - RE nº 898/2003).

No protocolo propõe-se dois estudos independentes, um no estado em jejum e outro no estado alimentado. Cada estudo apresenta delineamento cruzado (crossover) 2 x 2, não replicado com duas formulações, dois períodos, duas sequências, na qual cada indivíduo é aleatoriamente alocado para a sequência RT ou TR em dois períodos, separados por um período de eliminação adequado (Resolução - RE nº 898/2003).

O experimento cruzado deve ser usado quando não existe efeito residual nos tratamentos, sendo o caso do BNZ. Logo, foi elaborado Protocolo Clínico para delineamento cruzado para dois medicamentos (T = teste; R = referência), sendo teste benzonidazol 200mg e referência o benzonidazol de 100mg.

#### **4.4 Cálculo do número de participantes**

Durante a etapa de planejamento de estudo, uma das questões mais importantes é o número de participantes necessário para obter um poder desejado, a fim de assegurar poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados.

Comumente, para o desenho de estudos de Biodisponibilidade relativa/Bioequivalência utiliza-se a metodologia do cálculo da função do poder do teste baseado numa estimativa de coeficiente de variação intra-individual (CV%) obtida através da literatura ou de um estudo piloto. Entretanto, após levantamento bibliográfico, em artigo de revisão de BZN,

o CV do BNZ não poderia ser utilizado no cálculo do tamanho amostral, pois os autores fizeram uma estimativa do parâmetro.

Assim, na falta de dados relativos ao coeficiente de variação do fármaco (provenientes de estudos de BE/BA), optou-se por seguir a Resolução – RE nº 1.170/2006, a qual prevê um número mínimo de 24 participantes e estabelecer número suficiente de voluntários prevendo possíveis *dropouts*. Logo, o número amostral do estudo será de 24 participantes, sendo 12 participantes de cada sexo somando-se os *dropouts*.

#### **4.5 Exames pré-confinamento e pós estudo**

Os exames clínicos laboratoriais pré e pós estudo estão descritos conforme a Resolução - RE nº 894, de 29 de maio de 2003, a qual dispõe do "Guia para protocolo e relatório técnico de estudo de bioequivalência" e a RDC nº 41, de 28 de abril de 2000.

Os exames solicitados são os seguintes:

1. Eletrocardiograma com 12 derivações;
2. Exames hematológicos: hemoglobina, eritrócito, hematócrito, leucócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos, plaquetas;
3. Bioquímicos: colesterol total, triglicérides, ureia, creatinina, glicemia, ácido úrico, TGO, TGP, bilirrubina total, bilirrubina indireta, bilirrubina direta, fosfatase alcalina, gama GT, proteínas totais, globulina;
4. Sorológicos: hepatite B, hepatite C e HIV;
5. Beta HCG (para as mulheres);
6. Urina tipo I (de rotina): depósitos, densidade, proteínas, pH, glicose, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina, nitrito, leucócitos, hemácias, cilindros, cristais amorfos e outros elementos.
7. Teste de álcool e drogas de abuso.

Os valores de referências adotados para avaliação dos exames acima serão estabelecidos pelo laboratório local.

#### **4.6 Critérios de inclusão e exclusão/elegibilidade**

Os critérios de elegibilidade incluem critérios de inclusão e exclusão. O objetivo de ter critérios de inclusão e exclusão é inscrever um grupo de participantes que possam ajudar a responder à pergunta da pesquisa e devem ser compartilhadas por todos os participantes.

##### **4.6.1 Critérios de inclusão**

Os critérios de inclusão definem as principais características da população alvo e acessível. Para este protocolo, foram incluídos:

- Homens e mulheres na idade entre 18 e 50 anos;
- Mulheres não grávidas e/ou que não estejam amamentando;
- O participante que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9 Kg/m<sup>2</sup>;
- Fumantes e não fumantes, desde que sejam identificados no início do estudo;
- Boas condições de saúde, ou seja, que não apresente os exames descritos no item 4.5 considerados pelo Investigador Principal como clinicamente significantes (CS).

##### **4.6.2 Critérios de exclusão**

O critério de exclusão indica o subgrupo de indivíduos que, embora preencha os critérios de inclusão, também apresenta características ou manifestações que podem interferir na qualidade dos dados, assim como

na interpretação dos resultados (LUNA, B., 1998) ou tornar a participação perigosa.

Para este protocolo foram considerados critérios de exclusão, de forma geral, os seguintes itens:

- Hipersensibilidade ao BNZ ou à composto quimicamente relacionados ou a algum componente da formulação;
- Histórica médica que possa interferir na absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do BNZ;
- Eletrocardiograma com resultados não recomendados a critério do Investigador Principal;
- História de abuso de drogas e/ou medicamentos ou consumo expressivo de álcool;
- Dieta que possa afetar a disposição cinética do fármaco;
- Uso de ácido acetilsalicílico, pois foi encontrado em levantamento bibliográfico que há possibilidade de sangramento;
- O uso eventual de qualquer medicamento, que a critério do Investigador interfira na farmacocinética da medicação ou tratamento dentro dos 3 meses prévios ao tratamento com qualquer medicamento considerado tóxico;
- Internação por qualquer motivo entre 8 semanas antes do início de tratamento deste estudo e da data de avaliação;
- Participação em outro estudo dentro dos 6 meses que antecedem o início deste estudo;
- Doação ou perda de sangue;
- Teste positivo de gravidez para as mulheres;
- Resultados dos exames laboratoriais de seleção descritos no item 4.5 com alterações CS e/ou que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo;
- Doença ou condição grave que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo.

## 4.7 Estudo jejum x alimentado

Conforme a Resolução - RE nº 1.170/2006, devem ser realizados estudos com alimentação com formas farmacêuticas orais de liberação prolongada ou controlada, adicionalmente ao estudo em jejum.

Para estudos de bioequivalência de medicamentos com liberação controlada, o FDA recomenda o seguinte desenho de estudo: randomizado, equilibrado, dose única, dois tratamentos (alimentado e jejum), dois períodos e duas seqüências (FDA, 2002).

Assim, no Estudo I será realizado estudo em jejum com administrações de BNZ de liberação imediata de 100mg *versus* BNZ de liberação prolongada de 200mg. No Estudo II, será realizado estudo alimentado com administrações de BNZ de liberação imediata de 100mg *versus* BNZ de liberação prolongada de 200mg.

### 4.7.1 Dieta hipercalórica para estudo alimentado

Para estudos alimentados, é recomendado que sejam conduzidos utilizando condições de refeições que ofereçam o maior efeito na fisiologia do trato gastrointestinal de modo que a disponibilidade sistêmica do medicamento seja maximamente afetada.

Como a ANVISA não publicou nenhuma norma, resolução ou guia que descreva a dieta adotada em estudos de bioequivalência de medicamentos classe II em estudo jejum *versus* alimentado para os participantes, optou-se por seguir o “Guidance for Industry” do FDA, o qual descreve os efeitos em estudos de bioequivalência em jejum *versus* alimentados (FDA, GUIDANCE FOR INDUSTRY, 2002).

A refeição será baseada em uma dieta gordurosa (aproximadamente 50% do total de caloria da refeição) e de alta-caloria (800 a 1000 calorias) é recomendada para o teste alimentado *versus* jejum de estudos de BE.

Essa refeição deve conter aproximadamente 150 calorias de proteína, 250 calorias de carboidrato e 500-600 calorias de gordura.

#### 4.8 Cronograma de coletas de amostra

Os tempos de coleta foram determinados baseando-se no guia de planejamento de estudos de Biodisponibilidade relativa/Bioequivalência, no qual o cronograma de coleta das amostras deve garantir a adequada caracterização do perfil plasmático do fármaco ou metabólito (concentração *versus* tempo), contemplando um tempo igual ou superior a 3-5 vezes a meia-vida de eliminação dos mesmos. O BNZ apresenta meia-vida de aproximadamente 12 horas, optou-se por coletar amostras por 48 horas. Como na determinação dos tempos de coleta é considerado também o  $T_{max}$ , foram interpolados pontos de coletas ao redor do  $T_{max}$ , por aproximadamente 3 horas para uma boa definição deste parâmetro.

Baseado nos estudos pré-clínicos e na  $t_{1/2}$  em humanos do BNZ, os tempos de coleta propostos foram os seguintes: 00:00, (pré-dose); 00:25; 00:50; 01:00; 01:50; 02:00; 02:50; 03:00; 04:00; 06:00; 08:00; 10:00; 12:00; 12:50; 13:00; 13:50; 14:00; 14:50; 15:00; 16:00; 18:00; 20:00; 24:00; 36:00; 48:00 horas. Totalizou-se 25 amostras para cada participante, por período do estudo, sendo que em cada período do estudo será coletado 125 mL e 10 mL serão para os exames pré e pós estudo (exames bioquímicos, hematológicos e drogas de abuso). Por fim, será coletado de cada participante o total de 260 mL durante o estudo inteiro, sendo essa quantidade aceitável para que não haja alterações significativa na volemia dos voluntários.

É recomendado pela legislação vigente que o intervalo entre as internações, tempo entre a administração da formulação referência e teste ou vice-versa (período de washout), seja no mínimo de 7 a 10 meias-vidas de eliminação  $t_{1/2}$ . Assim, como a  $t_{1/2}$  do BNZ em humanos é de 12 h, o

*washout* será de no mínimo 4 dias entre os períodos. Optou-se por 5 dias devido a logística do estudo no centro.

#### **4.9 Termo de Consentimento Livre e esclarecido (TCLE)**

O TCLE é o documento que esclarece ao participante da pesquisa sobre a sua participação em um projeto de pesquisa, permitindo a tomada de decisão autônoma e sem constrangimentos. Além disso, configura como proteção ética e legal para o pesquisador, uma vez que manifesta claramente a aceitação do participante em participar voluntariamente ao estudo.

O TCLE elaborado neste projeto contempla todos os aspectos mencionados na Resolução CNS 466/12, a qual dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, sendo a linguagem adequada ao entendimento dos participantes da pesquisa, com informações claras sobre os propósitos e justificativa da investigação, procedimentos que serão utilizados, ponderação entre riscos e benefícios, previsão de desconfortos, riscos e benefícios, assistência fornecida pelo médico responsável do estudo (investigador principal), formas de ressarcimento ou indenização, garantia de total liberdade para o participante decidir quanto à sua participação, manutenção da confidencialidade de seus dados e a retirada do seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalização ou prejuízo. O TCLE informa o título completo da pesquisa e apresenta-se como um convite ao participante.

O TCLE também foi elaborado de acordo com a Resolução nº 510/2016, a qual dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes, além de regulamentar termos e definições, princípios éticos, obtenção do Consentimento e do Assentimento referentes a pesquisa clínica.



O TCLE elaborado neste projeto está apresentado no Apêndice I do Protocolo clínico.

#### **4.10 Análise Farmacocinética**

Para avaliação farmacocinética do BNZ na administração dos comprimidos de liberação imediata de 100mg e da liberação prolongada de 200mg serão calculados os parâmetros farmacocinéticos descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros farmacocinéticos que serão avaliados para a formulação de 100mg e 200mg de BNZ.

Parâmetro	Descrição
ASC <sub>[0-48]</sub>	Área sob a curva de zero ao último tempo quantificável (48 horas). Calculado pelo método dos trapézios.
ASC <sub>[0-∞]</sub>	Área sob a curva de zero extrapolado ao infinito. Calculado pelo método dos trapézios.
$k_e$	Constante de eliminação de primeira ordem, estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados, no logaritmo natural da concentração versus tempo para os últimos.
$C_{max}$	Maior concentração plasmática alcançada, com base nos dados experimentais, obtida diretamente na curva de concentração versus tempo.
$t_{1/2}$	meia-vida de eliminação, calculada como $\ln 2/k_e$ .
$t_{max}$	Tempo de ocorrência da $C_{max}$ .
MAT	Tempo médio de absorção. Calculado pela estatística dos momentos.
MRT	Tempo de residência médio. Calculado pela estatística dos momentos.
$C_{p\text{médio}}$	Concentração plasmática média. Calculada pela $ASC/\text{tempo}$ .
$t_{1/2 a}$	Meia vida de absorção, calculada como $\ln 2/k_a$ .
$k_a$	Constante de absorção, estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados após tratamento dos dados pelo método dos resíduos.

Os parâmetros farmacocinéticos serão apresentados como valores individuais, médias (aritmética e geométrica), desvio padrão e coeficiente de variação. Será construído o intervalo de confiança (IC) de 90%.

#### **4.11 Método Bioanalítico e Validação**

A resolução – RE nº 1.170, de 19 de abril de 2006, a qual determina a publicação do Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos, possui como um de seus anexos a Lista 2 da ANVISA, a qual trata sobre os analitos que devem ser monitorados em estudos de bioequivalência. Após revisão desta legislação, foi constatado que o BNZ não consta na lista 2, logo, será quantificado o fármaco inalterado em plasma.

O método bioanalítico para quantificação do BNZ em plasma será desenvolvido e validado pelo centro contratado, seguindo as recomendações da RDC nº 27/2012, a qual dispõe dos "Requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos".

Serão realizados os seguintes ensaios na validação do método bioanalítico:

- Seletividade: verifica a capacidade do método de diferenciar e quantificar o analito e padrão interno na presença de outros componentes da amostra biológica;
- Efeito residual: aparecimento ou aumento do sinal do analito ou PI;
- Efeito Matriz: efeito na resposta do analito ou PI causado por componentes da matriz biológica;
- Curva de calibração: demonstra a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito. A curva de calibração é utilizada para determinar as concentrações do analito nas amostras;

- Precisão e exatidão intra e intercorridas: a precisão de um método determina a proximidade dos resultados obtidos por repetidas aferições de múltiplas alíquotas de uma única fonte de matriz, enquanto a exatidão aponta a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência ou esperado;
- Estabilidade do analito em matriz biológica e solução: determina se a concentração de um analito mantém-se dentro de limites estabelecidos, numa dada matriz, sob condições específicas, que reproduzem as condições de armazenamento, preparo e análise das amostras em estudo.

A central analítica onde será realizada as análises das amostras será um centro de pesquisa credenciado pela ANVISA.

#### **4.12 Análise Estatística**

A Resolução - RE nº 898/2003, dispõe do “Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência”, foi utilizado para elaboração da análise estatística deste projeto.

Na legislação está descrito como se determina o período de eliminação (*washout*), efeitos residuais (*carry-over*), descrição do planejamento, considerações de um delineamento básico e delineamento experimental, descreve aleatorização, cronograma de coleta, número de participantes e tipo de desenho. Além disso, esta resolução descreve a etapa estatística, englobando transformação logarítmica, procedimento geral, justificativas para utilização de transformação logarítmica, análise dos dados, efeito de sequência, considerações de *outliers* e poder do teste e tamanho da amostra.

Não é recomendado excluir um *outlier*, pois a existência de um outlier sem violação do protocolo pode indicar falha na formulação ou exemplo de subpopulação.

É recomendado pela legislação que os valores dos parâmetros (ASC e  $C_{max}$ ) sejam transformados usando logaritmo natural, pois, em geral, uma comparação preliminar de interesse num estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência é a utilização da razão ao invés da diferença, entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos (ASC e  $C_{max}$ ) dos dados do produto teste e de referência. Entretanto, utilizando a transformação logarítmica, o modelo linear generalizado empregado na análise de dados permite fazer inferências estatísticas sobre a diferença entre duas médias na escala logarítmica, as quais podem ser re-transformadas em inferências estatísticas sobre a razão das duas médias na escala original.

Para este estudo, a relação ( $r_{areas}$ ) entre  $ASC_{[0-t]}$ ,  $ASC_{[0-\infty]}$ , será utilizada para avaliar o desenho experimental. O valor mínimo de 0,8 para  $r_{areas}$  será considerado para a continuidade da avaliação estatística dos demais aspectos do estudo.

A  $ASC_{0-48h}$  e  $C_{max}$ , para a formulação de liberação prolongada, transformadas em logaritmo natural, serão comparadas por teste t pareado na situação de jejum e alimentado para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A comparação entre homens e mulheres, na administração da liberação prolongada será realizada por teste t não pareado, nas condições de jejum e alimentado separadamente.

A soma das  $ASC_{0-24h}$  das duas administrações da formulação de liberação imediata e  $C_{max}$  serão transformadas em logaritmo natural e serão comparadas por teste t pareado na situação de jejum e alimentado para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A comparação entre homens e mulheres, na administração da liberação imediata será realizada por teste t não pareado, nas condições de jejum e alimentado separadamente.

A soma das  $ASC_{0-24h}$  das duas administrações da formulação de liberação imediata serão transformadas em logaritmo natural e serão comparadas a  $ASC_{0-48h}$  da formulação de liberação prolongada,

transformada em logaritmo natural, por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A  $C_{max}$  da formulação de liberação prolongada e a  $C_{max}$  da formulação de liberação imediata serão transformadas em logaritmo natural e comparadas por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

O  $t_{max}$  da formulação de liberação prolongada e a  $t_{max}$  da formulação de liberação imediata serão transformados em logaritmo natural e comparados por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

Os demais parâmetros calculados serão relatados como valores individuais com a apresentação de média (aritmética e geométrica) desvio padrão e coeficiente de variação, mas não serão comparados estatisticamente.

#### **4.13 Centro de Pesquisa**

O centro de escolha para realização o estudo clínico planejado neste projeto será responsável pela parte clínica, analítica e estatística e será um centro credenciado pela ANVISA e que siga a Norma técnica nº 04/2015, a qual apresenta um guia de inspeção para verificar o cumprimento das Boas Práticas Clínicas nas pesquisas clínicas com medicamentos.

O investigador principal e o patrocinador do estudo deverão seguir as Boas Práticas Clínicas (Good Clinical Practice – GCP) e a Conferência Internacional de Harmonização (ICH).

### **5. RESULTADOS**

#### **5.1 Protocolo do estudo clínico**

O Protocolo Clínico foi elaborado conforme item a 4.1 a 4.12 apresentados. O Protocolo Clínico de fase I com seus apêndices é apresentado no Apêndice A.

## **5.2 Planejamento financeiro do estudo**

O orçamento do estudo foi elaborado pelo Centro Avançado de Estudos e Pesquisas – CAEP, localizado em Campinas/SP. Para a publicação de valores e nome do centro de pesquisa foi elaborada uma carta solicitando a autorização ao CAEP para publicação dos mesmos.

O orçamento do estudo completo é apresentado no Apêndice B.

## **6. DISCUSSÕES**

Este planejamento do estudo clínico servirá como base para execução do estudo propriamente dito, o qual será submetido ao CEP local para aprovação e, possivelmente, seguirá para a ANVISA para fins de registro de nova formulação de benzonidazol.

## **7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

Por fim, tendo em vista a confecção do Protocolo Clínico com seus apêndices (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, dieta/refeição oferecidas aos participantes, termo de recrutamento dos pacientes, texto de divulgação para seleção dos participantes) e a avaliação financeira do estudo, este projeto gerou o planejamento completo de um estudo clínico de fase I para avaliação de uma formulação de liberação prolongada de benzonidazol. Assim, após executado, poderá contribuir significativamente na terapêutica da doença de Chagas, proporcionando a melhoria do tratamento com administração única diária, expectativa de diminuição da

oscilação das concentrações plasmáticas, conseqüente melhor adesão do paciente ao tratamento e possível redução de eventos adversos.

## 8. REFERÊNCIAS

ALTCHEH, J. et al. Population Pharmacokinetic Study of Benznidazole in Pediatric Chagas Disease Suggests Efficacy despite Lower Plasma Concentrations than in Adults. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 5, p. e2907, may 2014.

ÁLVAREZ, M. G. et al. New scheme of intermittent benznidazole administration in patients chronically infected with trypanosoma cruzi: a pilot short-term follow-up study with adult patients. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 2, february 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 41, de 28 de abril de 2000. Dispões de consideração da necessidade de serem estabelecidos critérios mínimos para aceitação de unidades que realizam ensaios de equivalência farmacêutica, biodisponibilidade e bioequivalência em medicamentos. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 20 jul 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de Biodisponibilidade Relativa/Bioequivalência. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 abr 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 1170, de 19 de abril de 2006. Determina a publicação do Guia para provas de Biodisponibilidade



Relativa/Bioequivalência de medicamentos. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 jul 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, de 11 de maio de 2009. Dispõe sobre o Guia de Inspeção em Boas Práticas Clínicas. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 abr 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 27 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 mai 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 466/12, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as seguintes diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 abr 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 510, de 07 de abril de 2016. Dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes. Disponível em: [www.anvisa.com.br](http://www.anvisa.com.br). Acesso em: 10 abr 2017.

BERN, C. et al. Evaluation and treatment of Chagas Disease in the United States: A Systematic Review. **JAMA**, v. 298, n. 18, p. 2171-2181, 2007.

BERN, C. et al. Trypanosoma cruzi and Chagas' disease in the United States. **Clin Microbiol Rev**, v. 24, n. 4, p. 655–681, 2011.

BROON, A. 2015. **A study to evaluate the food effect of a new formulation containing 100mg benznidazole. Amonocentric open, randomized, single dose, two-period crossover trial in healthy volunteers.** Cooperative Clinical Drug Research and Development, Hoppegarten, Germany.

CANÇADO, J. R. Long-term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 29-37, 2002.

CARLIER, Y. et al. Congenital Chagas Disease: Recommendations for Diagnosis, Treatment and Control of Newborns, Siblings and Pregnant Women. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 10, e1250, 2011.

CASTRO, J. A. et al. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human Exp Toxicol**, v. 25, n. 8, p. 471-479, 2006.

CASTRO, J. A.; DIAZ DE TORANZO, E. G. Toxic effects of nifurtimox and benznidazole, two drugs used against American trypanosomiasis (Chagas'disease). **Biomed Environ Sci**, v. 1, n. 1, p. 19-33, 1988.

CHIN-HONG, P. V. et al. Screening and Treatment of Chagas Disease in Organ Transplant Recipients in the United States: Recommendations from the Chagas in Transplant Working Group. **Am J Transplant**, v. 11, n. 4, p. 672-680, 2011.

DA SILVA, G. M. S. et al. A Clinical Adverse Drug Reaction Prediction Model for Patients with Chagas Disease Treated with Benznidazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 11, 2014.

DAVANÇO, M. G. et al. Rapid and sensitive ultra-high-pressure liquid chromatography method for quantification of antichagasic benznidazole in plasma: application in a preclinical pharmacokinetic study. **Biomed. Chromatogr**, v. 29, p. 1008–1015, 2015.

DAVANÇO, M. G. **Farmacocinética do benznidazol administrado em coelhos na forma de comprimidos de liberação imediata e comprimidos de liberação prolongada. 2016.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

DAVANÇO, M. G. et al. Benznidazole Extended-Release Tablets for Improved Treatment of Chagas Disease: Preclinical Pharmacokinetic Study. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 6, n. 4, 2016.

DIAZ, E. G. et al. Benznidazole-induced ultrastructural and biochemical alterations in rat colon. **Acta Pharmacol Sin**, v. 21, n. 11, p. 961-966, 2000.

DNDi - Drugs for Neglected Disease initiative. Proposal for the inclusion of benznidazol pediatric dosage form as treatment for Chagas disease in children younger than 2 years old in the World Health Organization model list of essential medicines for children. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: [http://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/19/applications/Benznidazole\\_6552\\_C\\_NF.pdf](http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/19/applications/Benznidazole_6552_C_NF.pdf). Acesso em: 20 jul 2017.

FEARON, M.A. et al. A case of vertical transmission of Chagas disease contracted via blood transfusion in Canada. **Can J Infect Dis Med Microbiol**, v. 24, n. 1, p. 32-34, 2013.

FERNANDEZ, M. L. et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic responses in adult patients with Chagas disease treated with a new formulation of benznidazole. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 3, 2016.

FDA - Food and Drug Administration Rockville MD (2002). Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations.

FRAGATA-FILHO, A. A. et al. Evaluation of Parasiticide Treatment with Benznidazol in the Electrocardiographic, Clinical, and Serological Evolution of Chagas Disease. **PLoS Negl Trop Dis**, v.10, 2016.

GARCIA, S. et al. Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas' Disease Decreases Cardiac Alterations. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 49, n. 4, p. 1521–1528, april 2005.

HERWALDT, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. **Clin Microbiol Rev**, n. 14, p. 659–688, 2001.

ICH Topic E6 (R1): Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH 135/1996)

ICH Topic E3: Structure and content of clinical reports (CPMP/ICH 135/1995).

GMP Regulation – Annex 13, fevereiro 2010.

LEONARDI, D. et al. Effects of benznidazole: cyclodextrin complexes on the drug bioavailability upon oral administration to rats. **Int J Biol Macromol**, v. 62, p. 543-548, 2013.

LUNA, B. Sequência básica na elaboração de protocolos de pesquisa. **Arq Bras Cardiol**, v. 71, n. 6, 1998.

MECCA, M. M. et al. Benznidazole biotransformation in rat heart microsomal fraction without observable ultrastructural alterations: comparison to Nifurtimox-induced cardiac effects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 6, 2008.

MOLINA, I. et al. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for Chronic Chagas' Disease. **N Engl J Med**, v. 370, p. 20, 2014.

MORILLA, M. J. et al. Benznidazole vs benznidazole in multilamellar liposomes: how different they interact with blood components? **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 213-219, 2005.

MORILLO, C.A. et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. **N Engl J Med**, v. 373, p. 14, 2015.

MORILLO, C.A. et al. Benznidazole and Posaconazole in Eliminating Parasites in Asymptomatic T. Cruzi Carriers: The STOP-CHAGAS Trial. **J Am Coll Cardiol.**, v. 69, n. 8, p. 939-947, 2017.

RAAFLAUB, J.; ZIEGLER, W. H. Single-dose pharmacokinetics of the trypanosomide benznidazole in man. **Arzneimittelforschung**, v. 29, p. 1611-1614, 1979.

RAAFLAUB, J. Multiple-dose kinetics of the trypanosomide benznidazole in man. **Arzneimittelforschung**, v. 30, n. 12, p. 2192-2194, 1980.

RAJÃO, M. A. et al. Unveiling benznidazole's mechanism of action through overexpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*. **Environ Mol Mutagen**, v. 55, n. 4, p. 309-321, 2014.

ROBERTS, J. T. et al. A phase I study of the combination of benznidazole and CCNU in man. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 10, n. 9, p. 1745-1748, 1984.

ROSA, T. A. **Desenvolvimento farmacotécnico e estudos de dissolução de diferentes comprimidos de benznidazol para o tratamento de doença de Chagas**. 2015. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SANTOS, F. L. A. **Desenvolvimento de comprimido de liberação prolongada de benznidazol**. 2011. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SHIKANAI-YASUDA, M.A; CARVALHO, M.A. Oral transmission of Chagas disease. **Clin Infect Dis**, v. 54, p. 845–852, 2012.

SHARGEL, L.; KANFER, I. Generic drug product development. Solid oral dosage forms. New York: Marcel Dekker, 2005.

SOSA-ESTANI, S. et al. Therapy, diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease: insight gained in Argentina. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, n. 104, p. 167-180, 2009.

SOY, D. et al. Population Pharmacokinetics of Benznidazole in Adult Patients with Chagas Disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 6, 2015.

STORPIRTIS, S. et al. Farmacocinética Básica e Aplicada. Rio de Janeiro: Guanabara Koonan, 2011.

TOUTAIN, P. L.; BOUESQUET-MÉLOU, A. Plasma Clearance. **J Vet Pharmacol Ther**, v. 27, n. 6, p. 415-425, 2004a.

VIOTTI, R. et al. Side effects of benznidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 7, p. 157–163, 2009.

VIOTTI, R. et al. Towards a paradigm shift in the treatment of chronic Chagas disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 635–639, 2014.

WEN, J. J. et al. Increased oxidative stress is correlated with mitochondrial dysfunction in chagasic patients. **Free Radic Biol Med**, n. 41, p. 270-276, 2006.

WIENS, M. O. et al. Systematic Review and Meta-analysis of the Pharmacokinetics of Benznidazole in the Treatment of Chagas Disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 12, 2016.

WHO. World Health Organization. Chagas' disease (American trypanosomiasis). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>. Acesso em 30 de junho de 2016.

## **9. APÊNDICES**

APÊNDICE A – Protocolo Clínico

APÊNDICE B – Planejamento Financeiro estudo



## APÊNDICE A

### Protocolo Clínico

# **PROTOCOLO DE ESTUDO CLÍNICO**

Substância: benzonidazol

Código: EC01-2017

Versão: 1.0 de 01/09/2017

Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol em participantes sadios de ambos os sexos.

## Protocolo de Estudo Clínico

---

“Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol em participantes sadios de ambos os sexos”.

---

Identificação do Protocolo: EC01-2017

Versão 1.0 de 01 de Setembro de 2017.

Produto(s): Benzonidazol

Fase de desenvolvimento: Fase I

Baseado no “Tripartite Harmonised ICH Guideline” - “E6 – Good Clinical Practice: Consolidated Guideline”, no “Documento das Américas” e na Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset West (1996), Edinburgh (2000), Tóquio (2004) Seul (2008) e Fortaleza (2013).

## **CONDIÇÃO DE CONFIDENCIALIDADE**

As informações contidas neste documento são estritamente confidenciais e estão disponíveis para revisão dos investigadores, comitês de ética e outras autoridades nacionais. Não está autorizada a divulgação, a menos que tal divulgação seja exigida por órgãos oficiais e/ou regulatórios.

Além disso, a confidencialidade dos dados que possam identificar os sujeitos da pesquisa deve ser protegida, respeitando-se a privacidade e as regras de confidencialidade de acordo com os requerimentos regulatórios aplicáveis, evitando danos e discriminação.

## SUMÁRIO

SINOPSE .....	54
LISTA DE FIGURAS .....	64
LISTA DE TABELAS .....	64
LISTA DE QUADROS.....	65
1. INTRODUÇÃO .....	66
2. OBJETIVOS DO ESTUDO.....	76
2.1 Objetos primários.....	76
2.2 Objetivos secundários.....	76
3. PLANO DO ESTUDO.....	76
3.1. Tipo de plano de estudo.....	76
3.2. Produto investigacional.....	77
3.2.1. Identificação dos produtos .....	77
3.2.2. Seleção das doses no estudo .....	78
3.2.3. Embalagem e etiquetagem .....	78
3.3. Obtenção e contabilização dos produtos para estudo .....	79
3.4. Identificação dos medicamentos.....	80
3.5. Posologia e forma de administração .....	81
4. DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	83
4.1. Determinação do tamanho da amostra.....	83
4.2. Avaliação clínica dos participantes.....	83
4.3. Exames clínicos laboratoriais.....	85
4.4. Critérios de inclusão do participante .....	88
4.5. Critérios de exclusão do participante .....	89
4.6. Critérios de retirada.....	91
4.7. Critérios para descontinuação do participante.....	92
5. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO .....	92
5.1. Definição dos períodos de estudo .....	92
5.2. Exames pré-estudo .....	92
5.3. Exames pós-estudo.....	93
5.4. Fluxograma do estudo .....	94
6. LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS PARTICIPANTES .....	96
7. CONDUZAS PERMITIDAS E NÃO PERMITIDAS .....	97
7.1. Outras obrigações e restrições .....	98

7.2. Horários de jejum e de refeição .....	99
7.2.1 Estudo em jejum (Estudo I).....	99
7.2.2 Estudo alimentado (Estudo II) .....	101
7.3. Dieta .....	103
7.3.1 Estudo em jejum (Estudo I).....	103
7.3.2 Estudo alimentado (Estudo I) .....	104
7.4. Cronograma de coleta das amostras .....	106
8. PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO INICIAL DAS AMOSTRAS .....	108
8.1. Armazenamento e transporte das amostras .....	108
9. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA .....	108
9.1 Registro e análise dos parâmetros de segurança .....	109
9.2. Procedimentos para registrar e comunicar EA e doenças intercorrentes .....	110
9.3. Acompanhamento dos participantes após o EA.....	111
9.4. Procedimento para monitorar a adesão do participante ao protocolo.....	112
10. RISCOS RELACIONADOS COM A PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO .....	113
10.1 Riscos relativos ao procedimento .....	113
10.2 Riscos relativos ao medicamento de investigação.....	114
11. IDENTIFICAÇÃO DOS DADOS A SEREM REGISTRADOS NO CRF.....	114
11.1 Tratamento da documentação de dados clínicos.....	115
12. ÉTICA .....	115
12.1 Comitê de ética em pesquisa .....	115
12.2. Conduta do estudo.....	116
12.3. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	116
12.4 Confidencialidade .....	117
12.5 Ressarcimento .....	117
12.6 Financiamento e seguro .....	118
12.7 Manuseio dos dados e manutenção dos registros.....	118
13. ETAPA ANALÍTICA E AVALIAÇÃO DE FARMACOCINÉTICA .....	118
13.1 Avaliação do perfil farmacocinético .....	118
13.2. Métodos de obtenção e registro do material para quantificação do fármaco .	119
14. MÉTODO BIOANALÍTICO E VALIDAÇÃO.....	119
14.1. Validação pré-estudo .....	120
14.2. Controle de qualidade durante a análise de rotina e curvas de calibração	123
14.3. Análise das amostras do estudo.....	124
14.4. Outliers e repetição de análise.....	124

14.5.	Quantificação das amostras .....	124
14.6.	Tratamento e documentação de dados bioanalíticos .....	126
15.	ANÁLISE FARMACOCINÉTICA .....	127
15.1.	Parâmetros farmacocinéticos .....	127
15.2.	Descrições dos critérios e métodos estatísticos.....	128
15.3.	Seleção dos participantes a serem incluídos na análise .....	129
16.	CONTROLE DE QUALIDADE E GARANTIA DE QUALIDADE .....	129
17.	ACESSO DIRETO AOS DOCUMENTOS/DADOS FONTE .....	130
18.	POLÍTICA DE PUBLICAÇÃO DE DADOS .....	130
19.	CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE DESVIO DE PROTOCOLO .....	130
20.	RELATÓRIOS .....	130
21.	APÊNDICES .....	131
	Apêndice I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
	Apêndice II – Dieta/Refeições	
	Apêndice III – Texto de divulgação do estudo	
	Apêndice IV – Termo de recrutamento	

**SINOPSE**

<b>Título do estudo:</b> “Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg em participantes saudáveis de ambos os sexos”.	
<b>Identificação do Protocolo</b>	EC01-2017
<b>Patrocinador</b>	Lafepe (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco)
<b>Fase de desenvolvimento do estudo</b>	Estudo Clínico de fase I – Biodisponibilidade comparativa
<b>Delineamento do estudo</b>	Os dois estudos (jejum e alimentado) serão aberto, aleatorizado, cruzado, monocêntrico.
<b>Plano de estudo</b>	Dois tratamentos, duas sequências, dois períodos, nos quais os participantes recebem, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência. A sequência de tratamento atribuída a cada participante nos períodos de estudo é determinada por uma lista de randomização gerada automaticamente pelo sistema IWRS (Sistema de randomização integrado).
<b>Objetivo do estudo</b> <b>Objetivo primário</b>	Avaliar se a formulação teste, benzonidazol 200mg produzida pelo LTM-UFPE, quando administrada em dose única proporciona níveis plasmáticos compatíveis com a formulação referência, benzonidazol 100 mg comprimido de liberação imediata, quando administrada em duas



	tomadas (intervalo de 12 h) em participantes saudáveis de ambos os sexos.
<b>População e características gerais</b>	Serão selecionados indivíduos saudáveis do sexo masculino e feminino de 18 a 50 anos com peso $\pm$ 15% do peso considerado normal levando em consideração altura e estrutura física.
<p><b>Critérios de Inclusão:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Homens e mulheres na idade entre 18 e 50 anos;</li> <li>• Mulheres não grávidas e/ou que não estejam amamentando;</li> <li>• O participante que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9 kg/m<sup>2</sup>;</li> <li>• Fumantes e não fumantes. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem ser identificados;</li> <li>• Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a critério de um profissional legalmente habilitado, de acordo com as regras previstas neste Protocolo, e avaliações a que foi submetido: histórica clínica, sequencial de história médica, medidas antropométrica, sinais vitais, exame físico, ECG e exames laboratoriais complementares;</li> <li>• Capacidade de compreender a natureza do estudo e objetivo do estudo, inclusive os riscos e eventos adversos e com intenção de cooperar com o Investigador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.</li> </ul> <p><b>Critérios de exclusão:</b></p> <p><i>Problemas relacionados com o fármaco:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• O participante tem sabidamente hipersensibilidade ao fármaco BNZ, a composto quimicamente relacionados e a componentes da formulação;</li> <li>• Uso de terapia de manutenção com qualquer medicamento, excetuando-se anticoncepcionais.</li> </ul> <p><i>Doenças ou problemas de saúde:</i></p>	

- História de infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca congestiva;
- História ou presença de doença hepática ou gastrointestinal ou outra condição que interfira com absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do fármaco;
- História de doença renal, pulmonar, epilética, hematológica ou psiquiátrica;
- Eletrocardiograma com resultados não recomendados a critério do Investigador Principal.

*Hábitos ou dependências:*

- Participante com história de abuso de drogas e/ou medicamentos ou consumo expressivo de álcool;
- Participantes que estejam em dieta que possa afetar a disposição cinética do fármaco;
- Participante que faz uso de ácido acetilsalicílico (possibilidade de sangramento).

*Condições encontradas nos dias/meses que antecedem o estudo:*

- Uso de qualquer medicação dentro de uma semana, excetuando-se anticoncepcionais por via oral. O uso eventual de qualquer medicamento, que a critério do Investigador interfira na farmacocinética da medicação;
- Tratamento dentro dos 3 meses prévios ao tratamento com qualquer medicamento que seja considerado tóxico;
- Internação por qualquer motivo entre 8 semanas antes do início do primeiro período de tratamento deste estudo e da data de avaliação;
- Participação anterior do participante em estudo experimental ou ingestão de medicamento experimental dentro dos 6 meses que antecedem o início deste estudo e a data da avaliação;
- Doação ou perda de 450mL de sangue do participante dentro dos 4 meses anteriores ao estudo ou doação de mais de 1500mL dentro dos 12 meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação.

*Outras condições:*

<ul style="list-style-type: none"> <li>• História de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer medicamento ou aos outros componentes da formulação daquele medicamento específico;</li> <li>• Teste positivo de gravidez para as mulheres;</li> <li>• Resultados dos exames laboratoriais de seleção com alterações clinicamente significativas (hemograma completo, TGO/AST, TGP/ALT, sódio, potássio, ureia, creatinina, glicemia de jejum e urina tipo I), que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo;</li> <li>• Doença ou condição grave que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo.</li> </ul>	
<b>Produto Referência, dosagem e via de administração</b>	Benzonidazol 100mg, comprimido de liberação imediata, via oral.
<b>Produto Teste, dosagem e via de administração</b>	Benzonidazol 200mg, comprimido de liberação prolongada, via oral.
<b>Analito</b>	Benzonidazol (fármaco inalterado)
<b>Duração do tratamento</b>	Cada estudo terá duração de 14 dias, separados por um período de <i>washout</i> de no mínimo 5 dias.
<b>Volume de sangue por amostra</b>	5,0 mL
<b>Tempos de coleta do benzonidazol 100mg e para o estudo jejum e alimentado</b>	00:00, (pré-dose); 00:25, 00:50; 01:00; 01:50; 02:00; 02:50; 03:00, 04:00; 06:00; 08:00; 10:00; 12:00; 12:50; 13:00; 13:50; 14:00; 14:50; 15:00; 16:00; 18:00; 20:00; 24:00; 36:00; 48:00 horas, totalizando 25 amostras para cada participante, por período do estudo.
<b>Tempos de coleta do benzonidazol de 200mg para o estudo jejum e alimentado</b>	00:00, (pré-dose); 00:25, 00:50; 01:00; 01:50; 02:00; 02:50; 03:00, 04:00; 06:00; 08:00; 10:00; 12:00; 12:50; 13:00; 13:50; 14:00; 14:50; 15:00; 16:00; 18:00; 20:00; 24:00; 36:00; 48:00 horas, totalizando 25 amostras para cada participante, por período do estudo.

<b>Volume total de sangue coletado por participante</b>	260 mL, sendo que cada período do estudo será coletado 125 mL e 10 mL serão para os exames pré e pós estudo
<b>Período de internação</b>	48 horas cada internação, sendo 02 internações.
<b>Intervalo entre as internações (período de wash out)</b>	O mínimo de 5 dias, considerando a meia-vida do fármaco (7 a 10 meias-vida de eliminação $t_{1/2}$ ).
<b>Prazo para finalização do estudo</b>	Até seis meses após o início do estudo.
<b>Metodologia Analítica</b>	As análises das amostras biológicas serão realizadas através de um método bioanalítico por LC-MS/MS previamente validado conforme legislação vigente (RDC nº 27/2012 da ANVISA).
<b>Variáveis farmacocinéticas</b>	ASC <sub>[0-t]</sub> , ASC <sub>[0-∞]</sub> , C <sub>max</sub> , T <sub>max</sub> , $t_{1/2}$ ; $t_{1/2a}$ , MRT, MAT e Cp média.
<b>Plano para análise dos dados</b>	Os parâmetros farmacocinéticos serão apresentados como valores individuais, médias (aritmética e geométrica), desvio padrão e coeficiente de variação. Será construído o intervalo de confiança (IC) de 90%. A relação ( $r_{areas}$ ) entre ASC <sub>[0-t]</sub> , ASC <sub>[0-∞]</sub> , será utilizada para avaliar o desenho experimental. O valor mínimo de 0,8 para $r_{areas}$ será considerado para a continuidade da avaliação estatística dos demais aspectos do estudo. A ASC <sub>0-48h</sub> e C <sub>max</sub> , para a formulação de liberação prolongada, transformadas em logaritmo natural, serão comparadas por teste t pareado na situação de jejum e alimentado para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A comparação entre homens e mulheres, na administração da liberação prolongada será realizada por teste t não pareado, nas condições de jejum e alimentado separadamente.

A soma das  $ASC_{0-24h}$  das duas administrações da formulação de liberação imediata e  $C_{max}$  serão transformadas em logaritmo natural e serão comparadas por teste t pareado na situação de jejum e alimentado para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A comparação entre homens e mulheres, na administração da liberação imediata será realizada por teste t não pareado, nas condições de jejum e alimentado separadamente.

A soma das  $ASC_{0-24h}$  das duas administrações da formulação de liberação imediata serão transformadas em logaritmo natural e serão comparadas a  $ASC_{0-48h}$  da formulação de liberação prolongada, transformada em logaritmo natural, por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

A  $C_{max}$  da formulação de liberação prolongada e a  $C_{max}$  da formulação de liberação imediata serão transformadas em logaritmo natural e comparadas por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

$T_{max}$  da formulação de liberação prolongada e a  $T_{max}$  da formulação de liberação imediata serão transformados em logaritmo natural e comparados por teste t não pareado, na situação de jejum e alimentado, para o grupo dos homens e mulheres separadamente.

	<p>Os demais parâmetros calculados serão relatados como valores individuais com a apresentação de média (aritmética e geométrica) desvio padrão e coeficiente de variação, mas não serão comparados estatisticamente.</p>
--	---

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

**ASC<sub>[0-t]</sub>** – área sob a curva de zero ao último tempo de quantificação

**ASC<sub>[0-∞]</sub>** – área sob a curva de zero extrapolada ao infinito

**ASMC** – área sob o momento da curva

**BPC** – Boas Práticas Clínicas

**BPF** – Boas Práticas de Fabricação

**BPL** – Boas Práticas de Laboratório

**b.p.m** – batida por minuto

**BNZ** – benzonidazol

**CQA** – amostra de controle de qualidade de alta concentração

**CQB** – amostra de controle de qualidade de baixa concentração

**CQD** – amostra de controle de qualidade de diluição

**CQM** – amostra de controle de qualidade de média concentração

**CCC** – cardiopatia chagásica crônica

**CEP** – Comitê de Ética em Pesquisa

**Cl** – clearance total ou plasmático

**Cl<sub>r</sub>** – clearance renal

**CLUE** - Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência

**C<sub>max</sub>** – Concentração plasmática máxima

**CONEP** – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

**C<sub>p</sub> média** – Concentração plasmática média

**CQ** – Controle de Qualidade

**CRF** – Case Report Form – Formulário de relato de caso

**CS** – Clinicamente Significativo

**C<sub>ss</sub>** – concentração plasmática no estado de equilíbrio

**CV** – Coeficiente de Variação

**DND<sub>i</sub>** – Drugs for Neglected Diseases initiative (em Português, Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas)

**DP** – Desvio Padrão

**ECG** – Eletrocardiograma

**EA** – Evento Adverso

**EAG** – Evento Adverso Grave

**EPR** – erro padrão relativo

**FC – Frequência Cardíaca**  
**FDA – Food Drug Administration**  
**f<sub>e</sub> – fração excretada inalterada na urina**  
**F<sub>oral</sub> – biodisponibilidade absoluta**  
**GCP – Good Clinical Practice**  
**HPMC – hidroxipropilmetilcelulose**  
**IC – intervalo de confiança**  
**ICC – insuficiência cardíaca congestiva**  
**ICM – Índice de massa corpórea**  
**ICH – Internacional Conference Harmonization**  
**INF-gama – interferon gama**  
**IV – via de administração intravenosa**  
**IWRS – Interactive Web Response System**  
**ka – constante de absorção**  
**kel – constante de eliminação para modelo monocompartimental**  
**LIQ – Limite Inferior de Quantificação**  
**Lafepe – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes**  
**Ln – logaritmo natural**  
**LP – Liberação prolongada**  
**LPK100M – comprimido de liberação prolongada K100M**  
**LQ – Limite de Quantificação**  
**LTM – Laboratório de Tecnologia de Medicamentos da Universidade Federal de Pernambuco**  
**LSQ – Limite Superior de Quantificação**  
**MAT – mean absorption time (em português, tempo de absorção médio)**  
**MRT – mean residence time (em português, tempo de residência médio)**  
**NCS – Não clinicamente significante**  
**PI – Padrão Interno**  
**POP – Procedimento Operacional Padrão**  
**RBA – relative bioavailability (em português, biodisponibilidade relativa)**  
**RDC – Resolução da Diretoria Colegiada**  
**SVS – Secretaria de Vigilância Sanitária**  
**TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**



**$t_{\text{máx}}$  – tempo para atingir a concentração plasmática máxima**

**$t_{1/2}$  – meia-vida de eliminação**

**$t_{1/2a}$  – meia-vida de absorção**

**UPECLIN – Unidade de Pesquisa Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu**

**UTI – Unidade de Terapia Intensiva**

**$V_d$  – volume de distribuição**

**WHO – World Health Organization (em português, Organização Mundial da Saúde)**

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmula molecular do benzonidazol.....	67
<b>Figura 2.</b> Etiqueta padrão para o medicamento Teste.....	79
<b>Figura 3.</b> Etiqueta padrão para o medicamento Referência. ....	79
<b>Figura 4.</b> Desenho de estudo cruzado 2x2 (jejum/alimentado) de benzonidazol. 81	

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Definição das sequências de tratamento do Estudo I e do Estudo II. .	77
<b>Tabela 2.</b> Informações do produto teste e produto referência.....	78
<b>Tabela 3.</b> Composição dos comprimidos de liberação prolongada de BNZ.....	81
<b>Tabela 4.</b> Horários das refeições para participantes em jejum e alimentado. ....	82
<b>Tabela 5.</b> Exames clínicos laboratoriais a serem realizados pelos participantes e referenciados na CRF. ....	86
<b>Tabela 6.</b> Exames clínicos a serem realizados pelos participantes e referenciados na CRF.....	87
<b>Tabela 7.</b> Classificação da obesidade segundo o IMC* (índice de massa corpórea).....	89
<b>Tabela 8.</b> Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg. ....	100
<b>Tabela 9.</b> Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg. ....	100
<b>Tabela 10.</b> Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg. ....	102
<b>Tabela 11.</b> Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg. ....	103
<b>Tabela 12.</b> Composição das refeições do estudo em jejum.....	104
<b>Tabela 13.</b> Composição das refeições do estudo alimentado.....	105

<b>Tabela 14.</b> Composição da dieta específica hipercalórica de pacientes alimentados.....	106
<b>Tabela 15.</b> Tempos de coleta de amostras de sangue para as análises farmacocinéticas, em cada período do estudo.....	107
<b>Tabela 16.</b> Parâmetros determinados utilizando modelos não compartimentais.....	128

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Fluxograma dos procedimentos previsto nas consultas para cada participante durante o estudo 1 (jejum) e o estudo 2 (pós-prandial). .....	96
---	----

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase é uma doença negligenciada que afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo, principalmente em países da América Latina. Atualmente, a doença de Chagas é encontrada em áreas endêmicas de 21 países. O vetor que carrega o agente causador, o parasita hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, é o inseto triatomíneo, conhecido popularmente no Brasil como “barbeiro” (WHO, 2016).

No Brasil, a Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) do Ministério da Saúde, estima que existam entre dois a três milhões de indivíduos infectados. No entanto, nos últimos anos, a ocorrência de Doença de Chagas aguda tem sido observada em diferentes estados, em especial na região da Amazônia Legal, principalmente, em decorrência da transmissão oral (Ministério da Saúde, 2016).

Para diagnosticar a doença é realizado um exame de sangue (sorologia), concedido pelo SUS em todos os estados nos Laboratórios Centrais de Saúde Pública. Os métodos sorológicos se baseiam na detecção de anticorpos anti-T.cruzi da classe IgG, sendo característica da fase crônica, enquanto que os anticorpos da classe IgM são características da fase aguda, porém, esporadicamente podem ser detectados na fase crônica de alguns pacientes (BRASIL et al., 2010).

A doença de Chagas é classificada evolutivamente em duas fases: aguda e crônica, sendo que fase aguda pode ser a infecção primária ou a reativação de fase crônica.

No local da picada do inseto hematófago, conhecido popularmente como barbeiro, pode ser observada uma inflamação local, como o sinal de Romana (edema palpebral unilateral) acompanhada algumas vezes de conjuntivite. A fase aguda é devida à infecção primária ou a reativação de fase crônica e quando inicial, persiste de 6 a 8 semanas. Em muitos pacientes infectados por transmissão vetorial, a fase aguda não é diagnosticada. O eletrocardiograma (ECG) pode revelar taquicardia sinusal, baixa voltagem dos complexos QRS, prolongamento do intervalo PR e/ou QT e alteração da repolarização ventricular. Podem ser observadas arritmias ventriculares e fibrilação atrial em situações de pior prognóstico (DE ANDRADE et al., 2011).

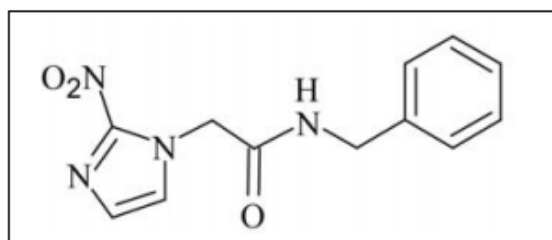
Já na fase crônica, a forma indeterminada do parasita pode durar de 30 a 40 anos e há a evolução clínica de quatro situações: a forma indeterminada, a forma

cardíaca, a forma digestiva e a forma mista, acometimento cardíaco e digestivo no mesmo paciente (DE ANDRADE et al., 2011).

A principal alteração da inflamação crônica é a cardiopatia chagásica crônica (CCC), a qual é essencialmente uma miocardiopatia dilatada, usualmente de baixa intensidade, mas incessante, que provoca destruição tissular progressiva e fibrose extensa no coração. As alterações morfológicas e funcionais ocorrem em intensidade variada e não se correlacionam diretamente ao grau de depressão ventricular. É dito que distúrbios microcirculatórios contribuam como amplificadores dos efeitos inflamatórios, causando a isquemia miocárdica (DE ANDRADE et al., 2011).

Há dois fármacos comprovadamente tripanossomicidas, o nifurtimox e o benzonidazol. No entanto, no Brasil, o único fármaco disponível para tratamento da doença de Chagas é o benzonidazol (BNZ).

O benzonidazol (Figura 1) é um antiparasitário (antichagásico) com atividade específica *in vitro* e *in vivo* contra o *Trypanosoma cruzi* e o seu nome químico é 2-Nitro-N-(fenilmetil)-1H-imidazol-1-acetamida ( $C_{12}H_{12}N_4O_3$ ), com peso molecular de 260,25.



**Figura 1.** Fórmula molecular do benzonidazol.

Apresenta-se na forma de pó cristalino, levemente amarelado, inodoro, insípido e estável ao ar. É muito pouco solúvel em água, muito solúvel em dimetilsulfóxido, facilmente solúvel em dimetilformamida, solúvel em hexano, ligeiramente solúvel em etanol, metanol, acetato de etila e cloreto de metileno, pouco solúvel em acetona, muito pouco solúvel em clorofórmio, álcool isopropílico, glicerol e praticamente insolúvel em éter de petróleo. Muito pouco solúvel em hidróxido de sódio 0,1 M e ácido clorídrico 0,1 M. A faixa de fusão é de 188 °C a 190 °C. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed, vol. 2, pg. 683-684, 2010.)

### **Farmacocinética**

O fármaco benzonidazol é administrado pela via oral que, dentre as vias de administração, é considerada a mais importante diante do seu frequente uso, facilidade e segurança.

A farmacocinética do BZN em humanos foi pouco estudada até o momento, apresentando literatura científica bem restrita.

Raaflaub e colaboradores (1979) demonstraram que a absorção do BNZ se dá completamente após a administração de comprimidos de 100 mg. Foi avaliada a administração de um único comprimido de benzonidazol de 100mg em jejum, acompanhado de chá com torrada sem manteiga, a seis voluntários sadios do sexo feminino. Determinou-se a concentração de BZN no plasma sanguíneo nos seguintes tempos: 0,5; 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 36, 48 e 72 horas após a administração. Nos seis indivíduos, de maneira uniforme, atingiram-se os níveis plasmáticos máximos após 3 a 4 horas, na faixa de 2,2 a 2,3 ug/ml. Houve a queda monoexponencial da concentração plasmática após a sexta hora, indicando que a fase de absorção é significativa nas primeiras quatro a cinco horas após a administração do comprimido (RAAFLAUB et al., 1979).

Em estudo recente foi avaliada a farmacocinética populacional do BNZ em crianças de 2 a 8 anos de idade, com uma dose diária de 5-8 mg/kg, no período de 60 dias. Observou-se que as concentrações plasmáticas em crianças foram estatisticamente menores quando comparadas às concentrações em adultos, usando dados de concentração plasmática no estado de equilíbrio ( $C_{ss}$ ) e fazendo as devidas correções entre dose e peso ( $C_{ss} = 3,61$  mg/L em crianças de 2 – 7 anos;  $C_{ss} 6,88$  mg/L em crianças de 7 – 12 anos; e  $C_{ss} = 9,69$  mg/L em adultos), justificado pelo alto clearance (Cl/F) do BNZ encontrado em crianças nesta faixa de idade. Os eventos adversos encontrados nas crianças foram menores quando comparados aos eventos nos adultos, indicando uma relação direta entre concentração plasmática e incidência de eventos adversos no uso do BNZ (ALTCHEH et al., 2014).

Em artigo de revisão sistemática de 2016, utilizando as bases de dados Embase, Medline, SciELO e LILACS, incluindo nove estudos em jejum com adultos utilizando formulação de 100mg de BNZ. Foram estimados nove parâmetros farmacocinéticos: ASC,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ , constante de eliminação ( $k_{el}$ ) e absorção ( $K_a$ ), meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ), meia-vida de absorção ( $t_{1/2a}$ ), clearance oral e volume de distribuição (Vd) do benzonidazol. Os resultados mostraram consistência entre os estudos. A ASC e  $C_{max}$  foram 51,31 mg\*h/L (95% IC: 45,01, 60,28 mg\*h/L) e 2,19

mg/L (95% IC: 2,06, 2,33 mg/L), respectivamente. O  $T_{max}$  foi de 2,93 horas (95% IC; 2,57, 3,48). As  $k_a$  e  $k_{el}$  foram  $1,16 \text{ h}^{-1}$  (95% IC, 0,59, 1,76) e  $0,052 \text{ h}^{-1}$  (95% IC; 0,045, 0,059), respectivamente, com correspondentes meia-vida de absorção e meia-vida de eliminação de 0,60 h (95% IC; 0,38, 1,11) e 13,27 h (95% IC, 11,79, 15,42). O clearance foi de 2,04 L/h (95% IC, 1,77, 2,32), enquanto o  $V_d$  foi de 39,19 L (95% IC, 36,58, 42,17) (WIENS et al., 2016).

A eliminação ocorre principalmente por biotransformação. A maior parte do fármaco é excretada na urina (de 60 a 67% da dose) dentro de quatro dias, com apenas pequena porção (19%) sob forma inalterada, e 22 a 28% por via fecal. A meia vida de eliminação varia entre 10,5 a 23,6 horas, com valor médio de 12 horas (RAAFLAUB et al., 1980).

### **Mecanismo de ação**

A atividade do fármaco BNZ se dá através de intermediários radicalares e/ou metabólitos nucleofílicos. A molécula de BNZ apresenta um grupo nitro ( $\text{NO}_2$ ) que é reduzido ao grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) através da ação de enzimas do tipo nitroreduases que atuam especificamente em sistemas moleculares R- $\text{NO}_2$ . Assim, através de reação catalisada pela NADPH P450 redutase (citocromo) há a formação de um intermediário radicalar (R- $\text{NO}_2$ ) e na sequência, a formação de hidroxilamina (R-NHOH). De acordo com estudos já conduzidos com BNZ, o radical nitro formado neste processo estaria atuando no efeito tripanocida através de ligações covalentes com macromoléculas do parasita: DNA nuclear e mitocondrial, lipídeos e proteínas (CASTRO et al., 2006; URBINA, 2002).

Além disso, há evidências que no nível molecular há quebra na dupla fita de DNA e danos ao DNA mitocondrial em testes realizados em células geneticamente modificadas expostas ao BNZ. Outro mecanismo de ação do BNZ seria através do aumento da fagocitose atuando na elevação da produção da citocina interferon gama ( $\text{INF-}\gamma$ ), causando, conseqüentemente, a lise celular. Ainda, há evidência de que o fármaco atue na inibição enzima NADH-fumarase redutase, dessa forma, há o bloqueio do crescimento do *T. cruzi* (RAJÃO et al., 2014; ROMANHA et al., 2002).

### **Eventos adversos (EAs)**

Os adultos apresentam menor tolerabilidade que crianças em relação aos eventos adversos. Foram compilados os seguintes eventos adversos do BNZ em humanos: manifestações de hipersensibilidade (20% dos casos), como dermatite, edema periorbital, linfadenopatia, dores musculares, febre e os distúrbios gastrintestinais, principalmente náuseas, podem ocorrer na fase inicial do tratamento, mas desaparecem espontaneamente após alguns dias, sem necessidade de redução da dose. Depressão da medula óssea (casos raros), como neutropenia, agranulocitose e púrpura trombocitopêmica; e polineuropatia periférica (7% dos casos), como parestesias e polineurite. (CASTRO et al., 2006).

Foi realizado estudo descrevendo os eventos adversos em pacientes com Doença de Chagas crônica tratados com BNZ, determinando os fatores de risco e comparando os perfis toxicológicos de duas formulações produzidas pela Roche e pela ELEA. Durante um período de 5 anos, um total de 746 pacientes foram diagnosticados com DC, destes, 472 foram tratados com BNZ. Uma grande proporção de pacientes (n= 360 [76%]) apresentaram EA, sendo que os mais frequentes foram: hipersensibilidade (52,9%), dor de cabeça (12,5%) e dor epigástrica (10,4%), sendo que mulheres apresentam mais EA comparados com homens, 81,3% versus 66% (MOLINA et al., 2015), além de indivíduos negros apresentarem menos EA comparados com indivíduos brancos (DA SILVA et al., 2014) Eventos dermatológicos, manifestações no trato digestório e sintomas gerais aparecem cerca de 10 dias após o início do tratamento, enquanto EA neurológicos aparecem após 40 dias. Em relação aos testes de função hepática e hematológica, a maioria dos pacientes não sofreu alteração significativa das enzimas hepáticas ou da contagem das células sanguíneas. Entretanto, 14 pacientes sofreram neutropenia e outros 14 apresentaram nível de aminotransferase quatro vezes maior que o nível normal (MOLINA et al., 2015).

### **Posologia**

No Brasil, o benzonidazol foi registrado pela Roche com o nome de Rochagan® e entre 2004 a 2006 cedeu sua patente e a tecnologia de fabricação ao Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE (Anonymous, 2011). Atualmente, este fármaco está disponível na forma de comprimidos birranhurados



de liberação imediata de 100 mg (uso adulto) e comprimidos de 12,5 mg (uso pediátrico).

Atualmente, o regime posológico para adultos consiste na dose diária de 5 a 7 mg/kg de peso corporal, devendo ser dividida em duas tomadas, uma após o café da manhã e outra após o jantar, com intervalo aproximado de 12 horas entre elas. O tratamento deve ser mantido durante 30 a 60 dias consecutivos.

Apesar da eficácia desse fármaco na fase aguda da doença, os eventos adversos são frequentes, levando alguns pacientes a desistirem do tratamento.

Em estudo realizado recentemente com 39 pacientes, utilizou-se dosagem de 2,5 mg/kg/12 h de BNZ por 60 dias, entretanto, demonstrou-se que esse regime pode causar uma superdosagem significativa aos pacientes. Além disso, os resultados deste estudo podem auxiliar na otimização dos regimes de dosagem de BNZ a fim de propor um novo esquema terapêutico (SOY et al., 2015).

### **Contra-indicação**

O fármaco não deve ser ingerido juntamente com álcool, pois pode haver acúmulo de acetaldeído, anticoagulantes devido aos efeitos serem potencializados pela inibição do metabolismo enzimático e não deve ser administrado junto com ácido acetilsalicílico (ácido acetilsalicílico), pois há a possibilidade de sangramento (VIOTTI et al., 1994).

### **Efeito da alimentação**

Os parâmetros  $C_{max}$  e AUC não foram afetados pela administração de benzonidazol comprimido de 100 mg com uma refeição rica em alto teor de gordura (aproximadamente 1034 kcal total, 67 kcal de gordura, 42 kcal de carboidratos, 59 kcal de proteína) em comparação com condições de jejum em voluntários adultos saudáveis. As concentrações séricas de benzonidazol atingiram os níveis máximos em 3,2 horas (1-10 horas) após a administração de comprimidos de BNZ comprimido 100 mg após refeição com alto teor de gordura e alto teor calórico, enquanto que em condições de jejum, o  $T_{max}$  foi de 2,0 horas (0,5-4 horas) (FDA, 2017).

### **Interações medicamentosas**

Estudos *in vitro* demonstraram que o benzonidazol é um substrato da glicoproteína P (P-gP) e não indutor das enzimas 1A2, 2B6 e 3A4 do citocromo P450 em concentrações até 100 uM (FDA, 2017).

## REFERÊNCIAS

ALTCHEH, J. et al. Population Pharmacokinetic Study of Benznidazole in Pediatric Chagas Disease Suggests Efficacy despite Lower Plasma Concentrations than in Adults. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, e2907, 2014.

Anonymous. 2011. Shortage of benznidazole leaves thousands of Chagas patients without treatment, on medecins sans frontieres. <http://www.doctorswithoutborders.org/news-stories/briefing-document/shortage-benznidazole-leaves-thousands-chagas-patients-without> (Acesso: 03 maio de 2016).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 27. Requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos, de 17 de maio de 2012. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 20 de jun de 2017).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 41. Guia para as entidades ou empresas que porventura pretendam cadastrar-se junto à ANVS/MS para se habilitarem à realização dos ensaios de equivalência farmacêutica, biodisponibilidade e/ou bioequivalência, de 28 de abril de 2000. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 894. Guia para elaboração de protocolo de estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, 29 de maio de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 466. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, 12 de dezembro de 2012. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 1.170. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos, 19 de abril de 2006. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Resolução nº 898. Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, 29 de maio de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Resolução nº 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, 29 de maio de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (Acesso: 10 agos de 2015).

Conselho Nacional de Saúde. Comissões do Conselho Nacional de Saúde. Disponível em: <[http://conselho.saude.gov.br/web\\_comissoes/conep](http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep) >. Acesso em: 10 agos. 2015.

CANÇADO, J.R. Long-term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 29-37, 2002.

CASTRO, J. A. et al. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human Experimental Toxicology**, v. 25, n. 8, p. 471–479, 2006.

DA SILVA, G. M. S. et al. A Clinical Adverse Drug Reaction Prediction Model for Patients with Chagas Disease Treated with Benznidazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 11, p. 6371–6377, 2014.

DAVANÇO, M. G., DE CAMPOS, M. L.; PECCININI, R. G. Rapid and sensitive ultra-high- pressure liquid chromatography method for quantification of antichagasic benznidazole in plasma: application in a preclinical pharmacokinetic study. **Biomed. Cromatogr**, 2014.

DAVANÇO, M. G. et al. Benznidazole Extended-Release Tablets for Improved Treatment of Chagas Disease: Preclinical Pharmacokinetic Study. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 4, 2016.

DE ANDRADE, J. P. et al, I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. Resumo Executivo. **Arq Bras Cardiol**, v. 96, n. 6, p. 434-442, 2011.

DNDi. Doença de chagas. Disponível em: <<http://www.dndial.org/pt/doencas-negligenciadas/doenca-de-chagas.html>>. Acesso em: 10 agos. 2015.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. Benznidazole Label. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/209570lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/209570lbl.pdf). Acesso em: 05 out 2017.

MOLINA, I. et al. Toxic Profile of Benznidazole in Patients with Chronic Chagas Disease: Risk Factors and Comparison of the Product from Two Different Manufacturers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 10, 2015.

OMARI, D. M. et al. Bioequivalence of Two Oral Extended Release Formulations of Ciprofloxacin Tablets in Healthy Male Volunteers under Fed and Fasting Conditions. **J Bioequiv Availab**, v. 3, n. 2, O38-O42, 2011.

RAJÃO, M. A. et al. Unveiling Benznidazole's mechanism of action through overexpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*. **Environ Mol Mutagen**, v. 55, n. 4, p. 309–321, 2014.

RAAFLAUB, J.; ZIEGLER, W. H. Single-dose pharmacokinetics of the trypanosomicide benznidazole in man. **Arzneimittelforschung**, v. 29, p. 1611–1614, 1979.

RAAFLAUB, J. Multiple-dose kinetics of the trypanosomide benznidazole in man. **Arzneimittelforschung**, v. 30, n. 12, p. 2192-2194, 1980.

SOY, D. et al. Population Pharmacokinetics of Benznidazole in Adult Patients with Chagas Disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v, 59, n. 6, 2015.

VIOTTI, R. et al. Towards a paradigm shift in the treatment of chronic Chagas disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 635–639, 2014.

WIENS, M. O. et al. Pharmacokinetics of benznidazole in Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 60, n. 15, 2016.

WHO. World Health Organization. Chagas' disease (American trypanosomiasis). Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/> (Acesso: 14 nov de 2016).

WHO. World Health Organization. Chagas' disease: important advances in elimination of transmission in four countries in Latin America. W. H. O. Press Office Feature no. 183. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995.

## **2. OBJETIVOS DO ESTUDO**

### **2.1 Objetos primários**

Avaliar se a formulação teste, benzonidazol 200mg, comprimido de liberação prolongada, produzida pelo Laboratório de Tecnologia de Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), quando administrado em dose única, atinge níveis plasmáticos semelhantes aos da formulação referência, benzonidazol 100mg, comprimido de liberação imediata, produzido pelo LAFEPE, quando administrada em duas tomadas com intervalo de 12 horas.

### **2.2 Objetivos secundários**

Outras avaliações pretendidas são a influência da condição pós-prandial ingestão de alimentos e a do sexo no perfil farmacocinético do BNZ quando administrado na forma de comprimidos de liberação imediata e prolongada.

A biodisponibilidade comparativa das formulações será avaliada com base em comparações estatísticas de parâmetros farmacocinéticos obtidos através dos dados de concentração plasmática do fármaco inalterado.

## **3. PLANO DO ESTUDO**

O estudo foi delineado a fim de permitir que se obtenham os parâmetros farmacocinéticos para a comparação estatística entre a biodisponibilidade do fármaco quando administrado na forma de comprimidos de liberação imediata e de liberação prolongada. Esta abordagem será feita através da construção do perfil farmacocinético do BNZ, considerando a abordagem matemática de modelos compartimentais e não compartimentais no cálculo dos parâmetros farmacocinéticos.

### **3.1. Tipo de plano de estudo**

O estudo será aberto, monocêntrico, randomizado, cruzado, com dois tratamentos, duas sequências, quatro períodos, nos quais os participantes recebem,

em cada período, a formulação de liberação prolongada ou a formulação de liberação imediata.

De acordo com a RE nº 1.170/2006, como se trata de uma formulação de liberação prolongada serão necessários dois estudos. Os participantes estarão em jejum no Estudo I e alimentados no Estudo II, conforme a Tabela 01. A sequência de tratamento atribuída a cada participante nos períodos de estudo é determinada por uma lista de randomização gerada automaticamente pelo IWRS.

As formulações serão administradas por via oral seguidos de coleta de sangue de pelo menos 3 a 5 meias-vida de eliminação do fármaco. Os períodos entre os tratamentos deverão obedecer a um intervalo mínimo de sete meias-vida de eliminação entre eles (período de *washout* do fármaco).

Os participantes serão aleatoriamente designados a uma das seguintes sequências de tratamento.

**Tabela 1.** Definição das sequências de tratamento do Estudo I e do Estudo II.

<b>Estudo*</b>	<b>Sequência</b>	<b>Período I</b>	<b>Período II</b>
<b>I</b>	1	Referência	Teste
	2	Teste	Referência
<b>II</b>	1	Referência	Teste
	2	Teste	Referência

\* **Estudo I: administração em jejum; Estudo II: administração pós-prandial.**

### **3.2. Produto investigacional**

#### **3.2.1. Identificação dos produtos**

O produto referência está registrado pelo LAFEPE. As amostras terão sua origem diretamente a partir de lotes que serão produzidos e avaliados após aprovação deste protocolo.

A formulação de liberação prolongada será disponibilizada pelo LTM-UFPE e um laudo de controle de qualidade será disponibilizado comprovando a qualidade do produto a ser testado. Os lotes selecionados para o estudo deverão ser de qualidade adequada e seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPF).

As informações técnicas dos produtos teste e referência são demonstradas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Informações do produto teste e produto referência.

<b>Informação Farmacêutica</b>	<b>Produto Teste</b>	<b>Produto Referência</b>
Nome do produto	Benzonidazol	Benzonidazol
Forma Farmacêutica	Comprimido de liberação prolongada	Comprimido de liberação imediata
Fabricante	LTM-UFPE	Lafepe
Ingrediente Ativo	Benzonidazol	Benzonidazol
Dosagem	200mg	100mg
Número de Lote	A produzir	A produzir
Data de fabricação	A produzir	A produzir
Data de Validade	A produzir	A produzir
Endereço	Av. Professor Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária - Recife/PE	Av. Dois Irmãos, 1117 - Dois Irmãos - Recife/PE

### 3.2.2. Seleção das doses no estudo

Nos estudos jejum e pós-prandial, para a apresentação de liberação prolongada, a dose administrada será de 200 mg. Já para a apresentação de liberação imediata, será administrado 01 comprimido de 100 mg a cada 12 horas, por um dia.

### 3.2.3. Embalagem e etiquetagem

Os produtos sob investigação serão embalados de forma individual para cada participante incluído no estudo. Uma quantidade extra de medicamento, conforme critério do farmacêutico responsável será enviada em envelope lacrado, para eventuais perdas até o momento da administração.



A etiqueta do medicamento deve ser padronizada conforme Figuras 2 e 3 abaixo.

**Figura 2.** Etiqueta padrão para o medicamento Teste.

Patrocinador:		
<b>PROTOCOLO DO ESTUDO: EC01-2017</b>		
<b>MEDICAMENTO: BENZONIDAZOL 200mg - TESTE</b>		
Lote:	Data de fabricação:	Validade:
Farmacêutico Responsável:		
Armazenamento: Conservar o medicamento em sua embalagem original em temperatura ambiente (entre 15°C e 30°C), protegido da luz e umidade. Só devem ser retirados da embalagem na hora de tomar. <b>Modo de usar:</b> um comprimido de 200mg uma vez ao dia.		
Via de Administração: via oral.		
Apresentação:		
<b>ATENÇÃO! Produto destinado exclusivamente à Estudo Clínico.</b>		
Este produto não deve ser comercializado. Manter fora do alcance de crianças.		
Este produto não pode ser utilizado por outra pessoa. Uso exclusivo a quem foi destinado.		
Esta embalagem não deve ser descartada e deverá ser devolvida, mesmo que este não tenha sido utilizado totalmente. Este produto deve ser utilizado conforme orientação médica.		
Código do Sujeito: _____		
Investigador Principal: _____		
Data: ____/____/____		

**Figura 3.** Etiqueta padrão para o medicamento Referência.

Patrocinador:		
<b>PROTOCOLO DO ESTUDO: EC01-2017</b>		
<b>MEDICAMENTO: BENZONIDAZOL 100mg - REFERÊNCIA</b>		
Lote:	Data de fabricação:	Validade:
Farmacêutico Responsável:		
Armazenamento: Conservar o medicamento em sua embalagem original em temperatura ambiente (entre 15°C e 30°C), protegido da luz e umidade. Só devem ser retirados da embalagem na hora de tomar. <b>Modo de usar:</b> um comprimido de 100mg a cada 12 horas.		
Via de Administração: via oral.		
Apresentação:		
<b>ATENÇÃO! Produto destinado exclusivamente à Estudo Clínico.</b>		
Este produto não deve ser comercializado. Manter fora do alcance de crianças.		
Este produto não pode ser utilizado por outra pessoa. Uso exclusivo a quem foi destinado.		
Esta embalagem não deve ser descartada e deverá ser devolvida, mesmo que este não tenha sido utilizado totalmente. Este produto deve ser utilizado conforme orientação médica.		
Código do Sujeito: _____		
Investigador Principal: _____		
Data: ____/____/____		

Todas as medicações serão armazenadas em caixas codificadas não identificadas, segundo as condições de armazenamento especificadas pelo fabricante (armazenamento entre 15°C e 30°C protegida da luz e da umidade) ou conforme orientação do fabricante. Um número adequando de amostras de retenção para cada produto será armazenado no local da pesquisa, conforme legislação vigente.

### 3.3. Obtenção e contabilização dos produtos para estudo

Deverá ser enviada para o centro de estudo quantidade extra da formulação de liberação prolongada e de liberação imediata tanto para fins de retenção de amostras como para a administração das mesmas.

Ao final de cada confinamento, a medicação remanescente (ambos os produtos) será enviada de volta para suas embalagens originais, incluindo as parcialmente utilizadas e as embalagens não utilizadas, que serão conservadas como amostras de retenção extra, em quantidade suficiente para a repetição do estudo.

O Farmacêutico responsável ou delegado para a atividade no centro manterá em local próprio, amostras de retenção de ambas as formulações até um ano após o vencimento do prazo de validade mais longo. Será mantido um inventário com um registro dos medicamentos recebidos, administradas, devolvidas, enviadas ao patrocinador ou retidas.

### **3.4. Identificação dos medicamentos**

**Formulação Referência:** benzonidazol 100 mg comprimido de liberação imediata produzidos pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (Lafepe), obtido por granulação por via úmida, utilizando os seguintes excipientes: amido, lactose, talco e estearato de magnésio.

**Formulação Teste:** benzonidazol de 200mg produzido pelo LTM-UFPE. Os comprimidos de liberação prolongada de BNZ 200 mg foram obtidos por granulação por via úmida. A composição está descrita na Tabela 03.

**Tabela 3.** Composição dos comprimidos de liberação prolongada de BNZ.

Excipientes	(%)
Benzonidazol	40,00
PVP K-30	1,00
HPMC K100M	25,00
Lactose spray-dried	33,00
Estearato de magnésio	1,00

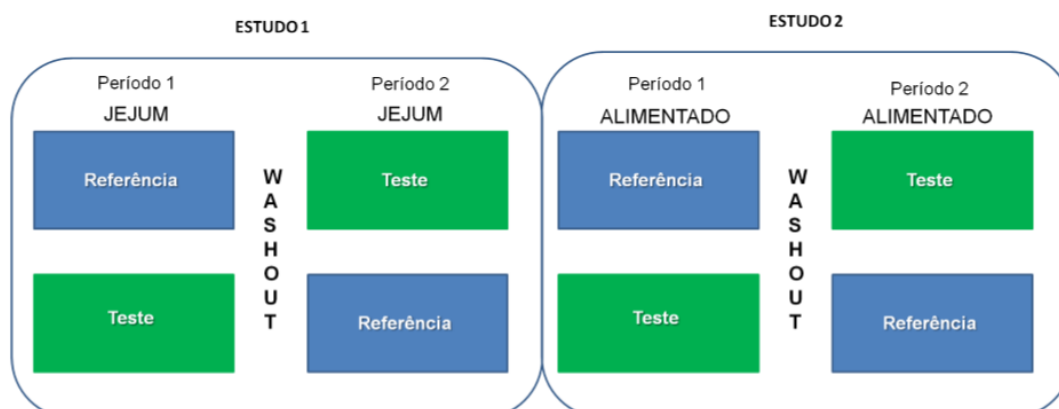
Legenda: BNZ= Benzonidazol; PVP= Polivinilpirrolidona; HPMC= Hidroxipropilmetilcelulose.

Fonte: Talita Atanzio Rosa

Foram preparadas dispersões sólidas de BNZ com polivinilpirrolidona (PVP) e incorporadas em matriz polimérica de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) visando prolongar a liberação do fármaco e manter concentrações plasmáticas constantes.

### 3.5. Posologia e forma de administração

Por se tratar de estudo de medicamentos de liberação prolongada, serão necessários dois estudos. A formulação de liberação prolongada será administrada em dose única, enquanto que a formulação de liberação imediata em duas tomadas, uma dose de 100mg a cada 12 horas. A Figura 4 representa o desenho do estudo cruzado de benzonidazol.

**Figura 4.** Desenho de estudo cruzado 2x2 (jejum/alimentado) de benzonidazol.

Os participantes receberão em cada um dos períodos de internação, 01 comprimido de liberação prolongada contendo 200mg de benzonidazol e 01 comprimido de liberação imediata de 100mg a cada 12 horas (totalizando 24 horas ou 2 tomadas), por via oral, com um copo de água mineral sem gás e temperatura ambiente (200mL), seguindo a aleatorização do estudo.

A Tabela 4 abaixo mostra os horários das refeições dos participantes em jejum e alimentado nos dois períodos para os dois estudos (OMARI, M. et al, 2011).

**Tabela 4.** Horários das refeições para participantes em jejum e alimentado.

<b>Dia</b>	<b>Refeição</b>	<b>Jejum</b>	<b>Alimentado (dieta específica hipercalórica)</b>
1	<b>Café da manhã</b>	-	½ hora antes da administração do medicamento
1	<b>Almoço</b>	4 horas após administração do medicamento.	4 horas após administração do medicamento
1	<b>Lanche da tarde</b>	8 horas após administração do medicamento	8 horas após administração do medicamento
1	<b>Jantar</b>	10 horas após administração do medicamento	10 horas após administração do medicamento
1	<b>Ceia</b>	14 horas após administração do medicamento.	14 horas após administração do medicamento.
2	<b>Café da manhã</b>	24 horas após administração do medicamento	24 horas após administração do medicamento

Os participantes do estudo em jejum deverão permanecer em jejum absoluto a partir das 22 horas da noite do confinamento, ou seja, pelo menos 10 horas de jejum antes da administração da medicação.

## 4. DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

A população a ser estudada será constituída de 24 participantes sadios adultos, para cada estudo, de ambos os sexos com idade de 18 e 50 anos, com índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9. Não há restrições quanto ao grupo étnico. Os participantes serão recrutados entre aqueles que se apresentem à Unidade Clínica.

### 4.1. Determinação do tamanho da amostra

Após revisão na literatura do fármaco benzonidazol, constatou-se que não há dados de variabilidade na literatura provenientes de estudos de BE/BR. De acordo com a legislação, o pesquisador responsável pelo estudo pode optar por utilizar um número mínimo de 24 voluntários, sendo que o protocolo do estudo deve estabelecer número suficiente de voluntários prevendo possíveis "dropouts".

Portanto, o tamanho da amostra do estudo foi estipulado baseado na RE nº 1.170/2006, a qual diz cita "O número de voluntários deverá sempre assegurar poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados do estudo de bioequivalência. O número de voluntários pode ser calculado por meio do coeficiente de variação e poder do teste, não sendo permitida utilização de número inferior a 12".

Neste caso, cada estudo (Estudo I e Estudo II) será realizado com o número mínimo de voluntários, considerando N=24. O número de *dropouts* será considerado de 20% do N total, pois não temos dados da variabilidade do fármaco, ou seja, serão selecionados 29 participantes, sendo que 24 participantes deverão completar cada estudo.

### 4.2. Avaliação clínica dos participantes

A seleção de participantes será realizada na Unidade de Pesquisa Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP (UPECLIN). O cadastramento dos participantes que participarão do estudo será feito através de divulgação junto à população de Botucatu e sua região, pelos veículos de comunicação usuais e legais, tais como fixação de cartazes em locais públicos e privados (Apêndice III)

Um mínimo de 29 participantes sadios de ambos os sexos, serão selecionados diretamente da população da região, considerando uma perda de seguimento de 20% de participantes. Entretanto, 24 participantes de ambos os sexos, sendo 12 homens e 12 mulheres deverão completar cada estudo.

Os participantes somente serão aceitos no estudo se forem considerados saudáveis, elegidos por profissionais perfeitamente habilitados, com base na história médica, exame físico e exames laboratoriais que antecedem a admissão no estudo.

Os participantes são recrutados por redes de relacionamentos, contato com participantes já cadastrados ou pelo cadastro via internet disponível no site do Centro de Pesquisa. As pessoas interessadas serão orientadas a comparecer ao local do recrutamento em hora marcada pelo telefone para uma palestra. Nesta palestra, serão abordados os seguintes temas:

- O que é recrutamento;
- Como se dá o processo de recrutamento;
- Como é uma pesquisa clínica em linhas gerais;
- A necessidade de uma consulta médica e a série de exames prévios para avaliar a saúde do candidato antes e após a administração do fármaco;
- O que é termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE);
- Em quais situações o participante poderá ser retirado ou retirar-se do estudo;
- O que é comitê de ética em pesquisa e sua função na pesquisa.

A participação dos voluntários nas atividades de recrutamento e seleção será acompanhada de autorização prévia conforme o Termo de Recrutamento (Apêndice IV).

Assim que o candidato aceitar ser participante da pesquisa, assinará a confirmação da coleta de dados pessoais (nome completo, endereço, RG, CPF, data de nascimento, telefone, estado civil, sexo e grau de instrução), anteriormente já coletados. Além disso, será realizada a consulta com o médico para obtenção da histórica clínica, dados antropométricos, sinais vitais.

Após os resultados dos exames acima, será definido pelo prosseguimento do participante no processo de recrutamento, através dos critérios de inclusão e exclusão, considerando apto ou inapto para seguimento no estudo. Caso o participante seja inapto, receberá as informações pertinentes e se necessários, será encaminhado para o serviço de saúde.

Os participantes aptos seguirão para a consulta médica para realização do teste físico e anamnese. Caso o participante seja considerado apto nesta nova etapa, seguirá para exames clínicos laboratoriais, segundo a Resolução – RE nº 894, de 29 de maio de 2003, a qual determina o "Guia para protocolo e relatório técnico de estudo de bioequivalência", no qual constam os seguintes exames: eletrocardiograma, exames hematológicos, bioquímicos (incluindo provas de função hepática e renal), sorológicos (Hepatite B, Hepatite C, HIV),  $\beta$ HCG (para as mulheres) e urina tipo I.

Após a avaliação dos resultados dos exames clínicos laboratoriais o médico avaliará a aptidão do participante para participação do estudo ou, caso contrário, receberá informações pertinentes e, se necessário, será encaminhado para o serviço de saúde.

Os participantes serão informados sob a restrição do uso de medicamentos durante a participação no estudo e demais restrições constantes neste Protocolo.

Uma vez confirmada a aptidão, os participantes terão todas suas dúvidas restantes sanadas e, caso concordem com a participação na pesquisa, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os participantes considerados aptos para participação no estudo serão internados por 02 períodos de aproximadamente 48 horas cada, com intervalo mínimo de 07 dias entre as internações, devendo retornar à Unidade de Pesquisa Clínica para a coleta de amostra correspondente ao tempo de 48 horas após a administração do medicamento, em cada período de internação.

### **4.3. Exames clínicos laboratoriais**

Com a finalidade de avaliar as condições de saúde dos participantes durante o processo de seleção, os participantes realizarão os testes apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Exames clínicos laboratoriais a serem realizados pelos participantes e referenciados na CRF.

<b>Categoria</b>	<b>Exame</b>
<b>ECG</b>	Eletrocardiograma com doze derivações.
<b>Análise Hematológica</b>	Hematócrito, hemoglobina, contagem total e diferencial de leucócito, contagem de glóbulos vermelho e contagem de plaquetas.
<b>Análise Bioquímica</b>	Ureia, Creatinina, Fosfatase alcalina, Glicemia, Bilirrubina total, Proteínas totais, albumina, Triglicérides totais, SGOT, SGTP, ácido úrico, $\gamma$ GT, sódio e potássio.
<b>Teste para gravidez</b>	$\beta$ HCG (para mulheres);
<b>Sorologia</b>	Sorologia para hepatite B, C e HIV;
<b>Urina</b>	Urina tipo I

Os resultados dos exames laboratoriais serão considerados “normais” quando estiverem dentro da faixa de valores de referências declarada pelo laboratório. No entanto, os valores alterados dos exames podem ser considerados “normais” caso o Investigador Principal ou Sub-Investigador os julguem como Não Clinicamente Significativos (NCS). Caso haja necessidade de repetição de exames para certificar-se da aptidão do participante, esta será realizada antes da seleção do participante. Alterações dos kits de teste utilizados após a aprovação deste protocolo, resultando em novas faixas de normalidade, serão referenciadas na CRF.

O eletrocardiograma será avaliado por um cardiologista da equipe de avaliação clínica, o qual deverá informar se os achados específicos são julgados como normais, anormais, NCS ou anormais. O Investigador Principal ou Sub-Investigador informará se o participante é considerado apto a participar do estudo. O relatório do ECG será mantido como parte da documentação do estudo.

Será registrado na e-CRF os resultados dos exames sempre que este for considerado como “cl clinicamente não significativo” (NCS) a critério do Investigador Principal.

Antes na admissão no estudo, os participantes deverão submeter-se a um exame clínico que engloba a revisão dos seguintes itens:



**Tabela 6.** Exames clínicos a serem realizados pelos participantes e referenciados na CRF.

<b>Categoria</b>	<b>Exames</b>
<b>História médica</b>	Alergias; olhos, nariz e garganta; sistemas respiratórios, cardiovascular, gastrointestinal, genito-urinário, nervoso central, hematopoiético-linfático, endócrino, dermatológico, musculoesquelético, estabilidade emocional, história familiar e cirúrgica.
<b>Exame Físico</b>	Olhos, orelha, nariz, garganta, pescoço (incluindo a tireoide), coração, pulmões, abdômen (incluindo fígado e baço), pele, linfonodo, sistema nervoso, esqueleto, músculos e mamas (para mulheres).
<b>Dados antropométricos</b>	Pressão arterial (medida após 15 minutos após descanso, na posição sentada), pulso, altura, peso, índice de massa corpórea e temperatura em °C.

A pressão arterial será considerada como normal dentro dos seguintes limites: 90-139 mmHg para a sistólica e 50-89 mmHg para a diastólica. A frequência cardíaca dentro de 50-100 b.p.m. será considerada normal. A temperatura corporal dentro de 35,5°C – 37,5°C será considerada normal. Em caso de valores destes exames encontrarem-se fora daqueles considerados como “normais”, o investigador poderá repeti-los a fim de certificar-se da aptidão do participante.

O índice de massa corpórea será considerado normal quando maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9 Kg/m<sup>2</sup>.

Deverá ser anotado pelo Investigador Principal na ficha clínica e em prontuário de cada participante qualquer anormalidade de história médica e exame físico considerado NCS, conforme julgado pelo próprio Investigador.

Os exames laboratoriais deverão ser realizados em um período não superior a 3 meses que antecedem a primeira administração da medicação. Já o exame de βHCG e as sorologias tem duração de 30 dias e 6 meses, respectivamente.

Os exames clínicos deverão ser realizados em um período não superior a 30 dias que antecedem a primeira administração da medicação.

O teste de gravidez será realizado antes da primeira internação.

Os exames laboratoriais pós-estudo e o ECG serão repetidos cerca de 10 dias após a última coleta de sangue do ensaio, em horário previamente estabelecido. Após o recebimento destes resultados, em data já agendada por ocasião de coleta dos exames, os participantes deverão comparecer para o exame clínico de alta, data em que serão, a princípio, dispensados. No entanto, o acompanhamento de um ou mais participantes poderá ser prolongado, implicando ou não na realização de consultas ou exames laboratoriais adicionais, em função de possíveis eventos adversos detectados.

#### **4.4. Critérios de inclusão do participante**

Os seguintes critérios devem ser satisfatórios para que o participante possa participar do estudo:

- Homens e mulheres na idade entre 18 e 50 anos;
- Mulheres não grávidas e que não estejam amamentando;
- O participante que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9 (vide Tabela 7);
- Fumantes e não fumantes. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem ser identificados;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a critério de um profissional legalmente habilitado, de acordo com as regras previstas neste Protocolo, e avaliações a que foi submetido: histórica clínica, sequencial de história médica, medidas antropométrica, sinais vitais, exame físico, ECG e exames laboratoriais complementares;
- Capacidade de compreender a natureza do estudo e objetivo do estudo, inclusive os riscos e eventos adversos e com intenção de cooperar com o Investigador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

**Tabela 7.** Classificação da obesidade segundo o IMC\* (índice de massa corpórea).

IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	Classificação	Grau obesidade
<18,5	Magro ou desnutrido	0
18,5-24,9	Normal	0
25-29,9	Sobrepeso	0
30-34,9	Obesidade	I
30-39,9	Obesidade	II
>40	Obesidade grave	III

\*Who Consultation of Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva: World Health Organization, 1998.

#### 4.5. Critérios de exclusão do participante

Os seguintes critérios excluirão o participante do estudo:

*Problemas relacionados ao medicamento:*

- O participante tem sabidamente hipersensibilidade ao medicamento em estudo ou a composto quimicamente relacionados;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer medicamento, excetuando-se anticoncepcionais.

*Doenças ou problemas de saúde:*

- História de infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca.
- História ou presença de doença hepática ou gastrointestinal ou outra condição que interfira com absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do fármaco;
- História de doença renal, pulmonar, epilética, hematológica ou psiquiátrica;
- Eletrocardiograma com resultados não recomendados a critério do Investigador Principal;

*Hábitos ou dependências:*

- Participante com história de abuso de droga e/ou medicamento ou consumo expressivo de álcool;
- Participantes que estejam em dieta que possa afetar a farmacocinética do fármaco;
- Participante que faz uso de ácido acetilsalicílico (possibilidade de sangramento);

*Condições encontradas nos dias/meses que antecedem o estudo:*

- Uso de qualquer medicação dentro de uma semana, excetuando-se anticoncepcionais por via oral. O uso eventual de qualquer medicamento, que a critério do Investigador interfira na farmacocinética da medicação;
- Tratamento dentro dos 03 meses prévios ao tratamento com qualquer medicamento que seja considerado tóxico;
- Internação por qualquer motivo entre 08 semanas antes do início do primeiro período de tratamento deste estudo e da data de avaliação;
- Participação anterior do participante em estudo experimental ou ingestão de medicamento experimental dentro dos 06 meses que antecedem o início deste estudo e a data da avaliação;
- Doação ou perda de 450mL de sangue do participante dentro dos 04 meses anteriores ao estudo ou doação de mais de 1500mL dentro dos 12 meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação.

*Outras condições:*

- História de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer medicamento ou aos outros componentes da formulação daquele medicamento específico;
- Teste positivo para gravidez para as mulheres;
- Resultados dos exames laboratoriais de seleção com alterações clinicamente significantes (hemograma completo, TGO/AST, TGP/ALT, sódio, potássio, ureia, creatinina, glicemia de jejum e urina tipo I), que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo;
- Doença ou condição grave que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo.

#### 4.6. Critérios de retirada

*Solicitação por parte do participante para retirar-se do estudo a qualquer momento:*

- Participante não deseja continuar no estudo por razões pessoais (ou sem razão justificada);
- Participante não deseja continuar o uso do medicamento devido aos eventos adversos de estudo;
- Participante não deseja continuar o estudo por outras razões, por exemplo, indisponibilidade de tempo ou vontade própria.

*O Investigador Principal pode retirar o participante do estudo por qualquer uma das razões seguintes:*

- Não adesão às exigências deste Protocolo;
- Resposta positiva para qualquer reavaliação de qualquer um dos critérios de exclusão, no momento da admissão ao primeiro período de tratamento ou em ocasião subsequente;
- Vômito logo após a ingestão da medicação e/ou no tempo equivalente a duas vezes o  $T_{max}$  do medicamento em estudo;
- Eventos adversos ou sintomas de toxicidade;
- Doença intercorrente necessitando de medicação;
- Falta de mais de 10% dos valores das concentrações sanguíneas do fármaco provenientes da administração de cada medicamento por participante;
- Qualquer outra condição que a critério do Investigador Principal seja interessante para a manutenção do bem-estar do participante;

Os detalhes e razões da retirada do participante do estudo serão anotados no Formulário de Relato de Caso (CRF).

O participante será considerado um “término prematuro” caso venha a ser retirado do estudo antes da administração do medicamento.

No caso de o participante ser retirado ou retirar-se do estudo após a administração da medicação, este será considerado “*Drop out*”.

Para ser preservado o N do estudo, os terminos prematuros na 1ª fase do estudo poderão ser substituídos por participantes “*stand by*”. Os participantes em

*stand by* caracterizam-se por fazer parte da seleção e estarem aptos a participarem do estudo.

Entretanto, a participação ocorre em caso de término prematuro na 1ª fase.

O participante que assinou o TCLE e foi substituído pelo participante *standy by*, fará parte do estudo e, portanto, manterá seu número e a documentação arquivada com os demais participantes.

#### **4.7. Critérios para descontinuação do participante**

A fim de garantir o bem-estar do participante, o estudo poderá ser interrompido caso o Investigador Principal ou do Patrocinador estabeleça que os riscos a que os participantes estão sendo submetidos sejam superiores aos antecipadamente previstos ou mesmo, a qualquer momento pelo participante por decisão própria.

Além disso, os participantes poderão ter sua participação no estudo encerrada antecipadamente em função dos “Critérios de Retirada” descritos no item 4.6 deste Protocolo.

### **5. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

#### **5.1. Definição dos períodos de estudo**

O período pré-estudo tem duração de no máximo 30 dias antes da primeira administração do medicamento até o período 1, tanto para Estudo I (jejum), quanto do Estudo II (alimentado). As avaliações realizadas durante o exame pré-estudo e o instante anterior à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido englobam o período pré-estudo.

O período 1 tem início com a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e fim instantes antes da segunda administração do medicamento. O período 2 tem início com a segunda administração pretendida e tem duração até a alta do participante no estudo.

#### **5.2. Exames pré-estudo**

Os participantes serão examinados antes da seleção, com a finalidade de garantir que estejam clinicamente saudáveis. Os seguintes exames serão realizados durante os 30 dias que antecedem a primeira internação:

- Histórico do participante, inclusive o histórico médico;
- Exame físico: ECG com 12 derivações, pressão sanguínea, temperatura corporal, frequência cardíaca, peso e altura;
- Exames laboratoriais: sangue, urina, teste de gravidez ( $\beta$ -HCG para mulheres);
- Bem-estar geral do participante;
- Teste de hálito (suspeita de álcool);
- Teste de drogas de abuso.

### **5.3. Exames pós-estudo**

O exame pós-estudo é realizado para verificar se o participante não apresenta nenhuma doença ou danos à saúde. O exame pós-estudo será realizado dentro de 10 dias após a coleta da última amostra de sangue para a análise farmacocinética do segundo período e terá a seguinte composição:

- Exame físico: ECG com 12 derivações, pressão sanguínea, temperatura corporal, frequência cardíaca, peso e altura;
- Exames laboratoriais: sangue, urina, teste de gravidez ( $\beta$ HCG para mulheres);
- Bem-estar geral do participante e medicação concomitante.

Indivíduos que apresentarem anormalidades subjetivas ou objetivas ao final do estudo serão acompanhados. Qualquer evento adverso que permaneça sem solução após o encerramento do estudo requer avaliação detalhada e acompanhamento até ser resolvido ou até que se obtenha uma explicação razoável para a sua persistência. Se o indivíduo se recusar a seguir as instruções do Investigador, este estará liberado de responsabilidade.

Durante o exame pós-estudo, cada participante será orientado a não doar sangue por menos de 04 meses, nem participar, por no mínimo 06 meses após o estudo, de quaisquer estudos sobre medicamentos que impliquem na coleta de amostra de sangue.

#### **5.4. Fluxograma do estudo**

Seguem abaixo os procedimentos a serem realizados pelos pacientes durante as visitas do estudo:

##### **Visita de seleção (VS):**

- Coleta dos dados pessoais como data de nascimento, idade, sexo e etnia;
- Atribuição do número de seleção ao participante;
- Exame físico geral, incluindo medidas de altura e peso;
- Sinais vitais (pressão arterial, frequência cardíaca e temperatura).
- Serão agendados os exames de sangue (hemograma completo, AST, ALT, ureia, creatinina, bilirrubina total e frações, fosfatase alcalina, potássio, sódio, colesterol I total e frações (LDL, HDL) triglicérides, glicemia de jejum, B-HCG (exame de gravidez), sorologia para hepatite B, C e HIV) e exame de urina tipo I (rotina).

##### **V0 (visita de randomização):**

- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;
- Investigação da história médica e o uso prévio ou atual de outras medicações;
- Randomização do participante e atribuição do número de randomização;
- Investigação do uso de medicações concomitantes;

##### **Visita 1 (V1): 07 dias após V0**

- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;
- Avaliação de sinais vitais;
- Administração da medicação;
- Coletas seriadas das amostras de sangue, totalizando 25 coletas, sendo 5mL de cada vez, resultando em 125 mL de sangue;
- Investigação da ocorrência evento adverso (EAs);
- Investigação do uso de medicações concomitantes.



**Visita 2 (V2): 07 dias após V1**

- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;
- Avaliação de sinais vitais;
- Administração da medicação do estudo;
- Coletas seriadas das amostras de sangue, totalizando 25 coletas, sendo 5mL de cada vez, resultando em 125 mL de sangue;
- Investigação da ocorrência evento adverso (EAs);
- Investigação do uso de medicações concomitantes.

**Visita 3 (V3): 07 dias após V2**

- Exame físico geral, incluindo medidas de altura e peso;
- Avaliação de sinais vitais;
- Exame de sangue: hemograma completo, AST, ALT, ureia, creatinina, bilirrubina total e frações, fosfatase alcalina, potássio, sódio, colesterol I total e frações (LDL, HDL) triglicérides, glicemia de jejum,  $\beta$ HCG (exame de gravidez), sorologia para hepatite B, C e HIV;
- Exame de urina tipo I (rotina).
- Investigação da ocorrência evento adverso (EAs);
- Investigação do uso de medicações concomitantes.
- Os procedimentos de cada consulta estão resumidos no Quadro 1 abaixo.

**Quadro 1.** Fluxograma dos procedimentos previsto nas consultas para cada participante durante o estudo 1 (jejum) e o estudo 2 (pós-prandial).

Procedimentos	VS*	V0	V1	V2	V3*
		-7	0	0+7	0+14
Coleta de dados pessoais	X				
Atribuição do número de seleção ao participante	X				
Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)		X			
Randomização do participante e atribuição do número de randomização		X			
Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão		X	X	X	
Investigação da história médica e o uso prévio ou atual de outras medicações		X			
Exame físico geral	X				X
Realização da coleta de exames laboratoriais de segurança**	X				X
Administração da medicação do estudo e coleta de amostras biológicas			X	X	
Investigação da ocorrência de eventos adversos (EAs)			X	X	X
Investigação do uso de medicações concomitantes		X	X	X	X

\* permitido janela de visita de  $\pm 3$  dias.

\*\*Os exames laboratoriais de segurança incluem: hemograma completo, TGO/AST, TGP/ALT, sódio, potássio, ureia, creatinina, glicemia de jejum,  $\beta$ -HCG (somente para mulheres com potencial para engravidar) e cortisol sérico. A coleta sanguínea deve ocorrer entre 07:00 e 09:00h.

## 6. LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS PARTICIPANTES

Os participantes serão internados na Unidade de Pesquisa Clínica, o qual possui uma unidade com leitos e posto de enfermagem. A enfermagem dispõe de carrinho de emergência com desfibrilador, monitor, material para pequena cirurgia e medicação de emergência para eventualidades. Além disso, dispõe de uma unidade de Terapia Intensiva (UTI).

Será solicitado ao participante que se apresente no Laboratório responsável na noite anterior de cada período do estudo. Será realizada uma reunião com os participantes como intuito de esclarecer dúvidas sobre o estudo, sobre internações, sobre coletas e restrições. Os participantes receberão o TCLE para leitura. Em seguida, a enfermeira responsável lerá os TCLE para os participantes, enfatizando os pontos importantes, como por exemplo, eventos adversos que podem ocorrer, desistência por parte dos participantes e conduta dos mesmos durante o estudo. O médico responsável estará presente no momento da assinatura do TCLE caso o participante tenha dúvidas. Após isso, será realizada a verificação dos sinais vitais dos participantes e depois uma consulta médica.

No momento da entrada do participante será realizada uma vistoria dos pertences pessoais e separação dos pertences não permitidos durante a internação, com devolução ao final de cada internação. O grupo de participantes será levado para local de internação aproximadamente às 20 horas da noite anterior de cada período do estudo, devendo permanecer na Unidade de Pesquisa por 48 horas após a administração da medicação. Os participantes terão assistência e cuidados especializados durante todos os períodos de tratamento, o que incluirá uma averiguação sumária de suas condições quando de seu confinamento e no momento de alta, de forma a avaliar sua aderência aos quesitos deste protocolo.

## **7. CONDUTAS PERMITIDAS E NÃO PERMITIDAS**

- Os participantes devem jejuar pelo menos 8 horas antes da primeira coleta de sangue para as medidas laboratoriais e, pelo menos 10 horas antes de cada administração de medicamento;
- Todos os esforços físicos tais como esportes e trabalho manual que exija muito esforço 24 horas antes da primeira coleta de sangue, até o acompanhamento, devem ser evitados;

- Durante as internações devem ser considerados os períodos de jejum, incluídas as restrições de líquidos. Também não é permitida a ingestão de qualquer outro alimento (incluindo doces, pastilhas, gomas, chicletes, pastilhas para a garganta, salgadinhos ou biscoitos de qualquer tipo), além dos programados;
- É proibida a ingestão de alimentos ou bebidas contendo álcool a partir de 24 horas que antecedem a primeira administração pretendida do medicamento em estudo, até a última coleta de sangue para análise farmacocinética de cada período;
- A ingestão de produtos que contem xantina (chocolate, chá preto, chá verde, café, bebidas de coca, gomas de mascar, bebidas energéticas, etc.) não será permitida a partir de 12 horas anteriores à primeira administração pretendida do medicamento e até a última coleta de amostra de sangue para a análise farmacocinética de cada período;
- A ingestão de alimentos ou bebidas que contenham pomelo, alimentos ou bebidas que contenham semente de papoula (pães, bolos e iogurtes com semente de papoula, etc.), a ingestão de Couve de Bruxelas ou brócolis (conhecidos como inibidores e indutores de CPY450), ameixa, framboesa ou grapefruit não é permitida a partir de 7 dias antes da primeira administração pretendida do medicamento, até a última coleta de amostra de sangue do último período;
- Reitera-se a proibição quanto ao uso de droga e medicamentos, seguindo os critérios de exclusão e desligamento do estudo;
- Caso, mesmo tomadas as seguintes precauções, voluntárias do sexo feminino que suspeitarem de gravidez durante o período de estudo, deverão imediatamente comunicar o ocorrido à equipe, a qual deverá interromper sua participação. O fato deverá ficar devidamente documentado no CRF (Formulário de Relato de Caso).

A não observância destas restrições deve ser informada ao Investigador Principal, o qual permitirá se o participante permanecerá ou não no estudo. Tal fato e suas características deverão ser registrados na CRF.

### **7.1. Outras obrigações e restrições**

- Os participantes devem permanecer internados durante todo o tempo previsto (12 horas antes da administração do medicamento até 48 horas após), em cada internação.

- Os participantes devem retornar à unidade ou ao hospital nos 2 períodos de cada estudo, ou seja, realizar todas as internações.
- Participantes devem retornar ao Laboratório responsável para realização do exame físico geral, eletrocardiograma e também para a coleta de sangue para os testes laboratoriais. Esta obrigação é válida mesmo em caso de desistência do participante, já que está vinculada à avaliação de segurança do uso do medicamento;
- Os participantes devem comunicar o não cumprimento de qualquer restrição mencionada.

## **7.2. Horários de jejum e de refeição**

### **7.2.1 Estudo em jejum (Estudo I)**

Ao chegarem à Unidade de Pesquisa Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP (UPECLIN), os participantes deverão fazer sua última refeição do dia. Na noite de confinamento, será oferecida uma ceia leve padronizada às 21 horas, a qual deverá ser ingerida em até 1 hora. Os participantes deverão permanecer em jejum absoluto a partir das 22 horas da noite do confinamento (pelo menos 10 horas de jejum).

Na manhã seguinte, o medicamento será administrado com um copo de água mineral sem gás de 250 mL. Após duas horas da administração do medicamento, será fornecido 200 mL de suco de laranja natural adoçado com um sachê de 5 g de açúcar. Líquidos serão permitidos *ad libitum* após o suco.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquido) oferecida obedecerá ao mesmo padrão para todos os participantes, conforme Tabela 08. Todos os alimentos e bebidas servidos devem ser ingeridos por completo.

**Tabela 8.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
<b>22h00</b>	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
<b>8h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>12h00</b>	Almoço	<i>Ad libitum</i> permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)
<b>16h00</b>	Lanche da tarde	Permitido
<b>18h00</b>	Jantar	Permitido
<b>20h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>22h00</b>	Ceia	Permitido

**Tabela 9.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
<b>22h00</b>	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
<b>8h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>12h00</b>	Almoço	<i>Ad libitum</i> permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)
<b>16h00</b>	Lanche da tarde	Permitido
<b>18h00</b>	Jantar	Permitido
<b>22h00</b>	Ceia	Permitido

A ingestão de líquido ad libitum (à vontade) será permitida até 6 horas antes da administração do medicamento e após 2 horas da administração da medicação.

Estão especificamente programadas a ingestão de 200mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente junto com a medicação.

### **7.2.2 Estudo alimentado (Estudo II)**

Na noite de confinamento, será oferecida uma ceia leve padronizada às 21 horas, a qual deverá ser ingerida em até 1 hora. Os voluntários deverão permanecer em jejum absoluto a partir das 22 horas da noite do confinamento (pelo menos 10 horas de jejum).

Na manhã seguinte, trinta minutos antes da administração da medicação, receberá uma dieta específica hipercalórica. Após duas horas da administração do medicamento, será fornecido 200 mL de suco de laranja natural.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquido) a oferecida obedecerá ao mesmo padrão para todos os participantes, conforme Tabela 10. Todos os alimentos e bebidas servidos devem ser ingeridos por completo.

**Tabela 10.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
<b>22h00</b>	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
<b>7h30</b>	Dieta específica hipercalórica	-
<b>8h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>12h00</b>	Almoço	<i>Ad libitum</i> permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)
<b>16h00</b>	Lanche da tarde	Permitido
<b>18h00</b>	Jantar	Permitido
<b>20h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>22h00</b>	Ceia	Permitido



**Tabela 11.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
<b>22h00</b>	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
<b>7h30</b>	Dieta específica hipercalórica	-
<b>8h00</b>	Administração da medicação	250mL de água sem gás
<b>12h00</b>	Almoço	<i>Ad libitum</i> permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)
<b>16h00</b>	Lanche da tarde	Permitido
<b>18h00</b>	Jantar	Permitido
<b>22h00</b>	Ceia	Permitido

### 7.3. Dieta

#### 7.3.1 Estudo em jejum (Estudo I)

Com a finalidade de se manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) oferecida obedecerá ao mesmo padrão para todos os voluntários. Todos os alimentos e bebidas servidos devem ser ingeridos por completo e no prazo máximo de 1 hora.

O medicamento será administrado com 250 mL de água mineral sem gás. Após período de 2 horas a partir da ingestão da medicação, serão fornecidos 200 mL de suco de laranja natural adoçado com um sachê de 5 g de açúcar. Água e líquidos (sem cafeína ou xantinas) serão permitidos *ad libitum* após o suco.

**Tabela 12.** Composição das refeições do estudo em jejum.

<b>Refeição</b>	<b>Composição</b>
<b>Ceia</b>	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
<b>Almoço</b>	Arroz, feijão, isca de frango, batata assada, salada de alface e tomate, pudim de baunilha e suco artificial de laranja.
<b>Lanche da tarde</b>	Suco de laranja natural, torrada, bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.
<b>Jantar</b>	Arroz, feijão, carne assada, batata chips, salada de alface e tomate, suco artificial de laranja e pudim.
<b>Ceia</b>	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
<b>Café da manhã</b>	Suco de laranja natural, açúcar (sachê), bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.

Não serão servidos café, chocolate, chá-mate ou preto, ou seja, bebidas contendo xantinas.

### **7.3.2 Estudo alimentado (Estudo I)**

Com a finalidade de se manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) oferecida obedecerá ao mesmo padrão para todos os voluntários. Todos os alimentos e bebidas servidos devem ser ingeridos por completo e no prazo máximo de 1 hora.

O medicamento será administrado com 250 mL de água mineral sem gás. Após período de 2 horas a partir da ingestão da medicação, serão fornecidos 200 mL de suco de laranja natural adoçado com um sachê de 5 g de açúcar. Água e líquidos (sem cafeína ou xantinas) serão permitidos ad libitum após o suco.

**Tabela 13.** Composição das refeições do estudo alimentado.

<b>Refeição</b>	<b>Composição</b>
<b>Ceia</b>	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
<b>Dieta específica</b>	1 iogurte de morango, 1 croissant, margarina, 3 fatias de queijo prato, 2 fatias de presunto cozido com capa de gordura, 1 sachê de requeijão e 1 bolo recheado;
<b>Almoço</b>	Arroz, feijão, isca de frango, batata assada, salada de alface e tomate, pudim de baunilha e suco artificial de laranja.
<b>Lanche da tarde</b>	Suco de laranja natural, torrada, bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.
<b>Jantar</b>	Arroz, feijão, carne assada, batata chips, salada de alface e tomate, suco artificial de laranja e pudim.
<b>Ceia</b>	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
<b>Café da manhã</b>	Suco de laranja natural, açúcar (sachê), bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.

Não serão servidos café, chocolate, chá-mate ou preto, ou seja, bebidas contendo xantinas.

Adaptando a dieta proposta pelo FDA para uma dieta comum para os brasileiros e adotada rotineiramente em centros de pesquisa para este tipo de estudo, segue a seguinte composição na Tabela 14.

**Tabela 14.** Composição da dieta específica hipercalórica de pacientes alimentados.

	Quantidade	Proteína (g)	Carboidrato (g)	Lipídeo (g)
logurte de morango	180 mL	4,86	33,84	4,32
Croissant	50g	4,64	20,90	12,50
Queijo prato	60g (3 fatias)	14,64	0	16,62
Presunto cozido com capa de gordura	40g (2 fatias)	6,0	0,40	3,60
Bolo recheado de morango	40g	2,2	25,00	2,10
Requeijão	18g (1 sachê)	1,98	0,60	4,19
Margarina	10g (1 sachê)	0,06	0,04	7,57
<b>Kcal</b>		<b>139,68</b>	<b>338,16</b>	<b>462,42</b>
<b>Total Kcal</b>		<b>940,26</b>		

#### 7.4. Cronograma de coleta das amostras

A coleta das amostras de sangue será feita através de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do participante. Após a coleta de cada amostra, o cateter será lavado com 1mL de solução de heparina sódica em NaCl 0,9% estéril (10UI/mL).

Após 9 horas de jejum será realizada coleta de sangue de 5mL para controle individual e curvas padrões. A coleta pré-dose será realizada no mínimo 30 minutos antes da administração da medicação.

Após a administração da medicação serão iniciadas as coletas de sangue para as análises do fármaco. No total, serão coletadas 50 amostras de 5mL de sangue (125mL em cada período do estudo) em tubos de heparina. Um total de aproximadamente 250mL de sangue será coletado durante os dois períodos do estudo de cada participante. Os tempos de coleta estão demonstrados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Tempos de coleta de amostras de sangue para as análises farmacocinéticas em cada período do estudo.

<b>Grupo do estudo</b>	<b>Amostra</b>	<b>Tempos de coleta (horas)</b>	<b>Volume coletado (mL)</b>
<b>BZN 100mg BZN 200mg</b>	1	0,0 (pré-dose)	5,0
	2	0,25	5,0
	3	0,5	5,0
	4	1,0	5,0
	5	1,5	5,0
	6	2,0	5,0
	7	2,5	5,0
	8	3,0	5,0
	9	4,0	5,0
	10	6,0	5,0
	11	8,0	5,0
	12	10,0	5,0
	13	12,0	5,0
	14	12,5	5,0
	15	13,0	5,0
	16	13,5	5,0
	17	14,0	5,0
	18	14,5	5,0
	19	15,0	5,0
	20	16,0	5,0
	21	18,0	5,0
	22	20,0	5,0
	23	24,0	5,0
	24	36,0	5,0
	25	48,0	5,0

Será registrado na e-CRF o tempo absoluto de coleta das amostras usando-se um cronômetro com contagem iniciada no tempo 00h00 (administração da medicação). Também deverá ser registrado o tempo real absoluto da administração

da medicação, para que se compute o intervalo real de tempo existente entre a administração da medicação e as respectivas coletas. Eventuais perdas de coleta de amostras também deverão ser registradas. As amostras coletadas deverão permitir a identificação inequívoca do estudo, participante (código de identificação), período e horário da coleta.

## **8. PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO INICIAL DAS AMOSTRAS**

Logo após a coleta (máximo de 45 minutos), as amostras de sangue serão centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C. Imediatamente após a centrifugação, um mínimo de 1,5mL de plasma, para cada amostra será transferido para o primeiro tubo criogênico de polipropileno e o plasma restante será transferido para um segundo tubo criogênico de polipropileno com uma amostra em duplicata. As amostras de plasma serão armazenadas em frascos adequadamente identificados, contando a identificação do estudo, número de participante, tempo de coleta, fase e período do estudo. A temperatura de transporte e armazenagem das amostras biológicas seguirá o POP específico do Laboratório responsável.

### **8.1. Armazenamento e transporte das amostras**

Após o término do período do estudo, os frascos identificados individualmente serão embalados por participantes e por período de estudo.

O transporte das amostras para o Centro Analítico será realizado em recipiente adequado com temperatura monitorada.

Depois de completada a etapa de análise, as amostras restantes ficarão sob a responsabilidade e cuidados do Laboratório Responsável, por até 3 meses após a entrega do Relatório Final ao patrocinador. Após esse período, as amostras de *backup* deverão retornar ao Centro Analítico.

## **9. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA**

Os participantes serão monitorados durante o estudo visando a identificação de evento adversos.

Um evento adverso é qualquer ocorrência médica não desejada em um sujeito que esteja participando de uma investigação clínica e que já tenha recebido alguma das terapias vinculadas à investigação. Esta ocorrência pode ou não ter uma relação causal com a terapia. Um EA pode, portanto, ser um sinal ou sintoma desfavorável e não intencional, ou uma doença temporalmente associada à terapia, relacionada ou não a terapia.

Um Evento Adverso Sério (EAs) é um evento adverso que, independente de dose:

- Provoca a morte;
- Ameaça a vida (refere-se ao momento da ocorrência do evento adverso);
- Requer hospitalização ou prorrogação da hospitalização (admissão em um centro hospitalar, mesmo em um período inferior a 24h devido ao EA apresentado durante o estudo);
- Resulta em debilidade ou incapacidade significativa ou persistente;
- Trata-se de uma anomalia congênita ou defeito ao nascimento que não tinha sido diagnosticada.

Além da comunicação de eventos pelo participante ou simples observação, visando à identificação de Eventos Adversos, o Investigador deverá registrar e avaliar as seguintes variáveis:

- Sinais vitais dos participantes (Frequência cardíaca, pressão artéria e temperatura) obtidos durante as internações;
- Resultados dos exames laboratoriais (hematologia, bioquímica e análise de urina) e eletrocardiograma obtido ao final do estudo e avaliado de forma comparativa àqueles obtidos na fase de seleção dos participantes;
- Achados de exame físico, obtidos ao final do estudo e avaliados de forma comparativa àqueles obtidos na fase de seleção dos participantes.

### **9.1 Registro e análise dos parâmetros de segurança**

*Procedimentos durante o estudo:*

Nos dias de administração da medicação, em cada período de tratamento, os participantes permanecerão internados durante as horas subsequentes à

administração dos medicamentos e serão observados pelos profissionais de saúde durante todo o estudo, visando a identificação de EA, incluindo sinais de toxicidade.

O participante deverá estar instruído sobre os eventos adversos em potencial, bem como sobre a necessidade de comunicá-los imediatamente ao Investigador ou sua Equipe. Qualquer EA que ocorra após o período de supervisão médica direta deverão ser imediatamente comunicados à equipe, por telefone.

A pressão sanguínea e a frequência cardíaca do participante serão monitoradas devido às coletas de sangue. A temperatura também será monitorada após a administração da medicação, de acordo com a tabela de atividades do estudo (Tabela 06). Um médico da equipe estará disponível durante todo o período do estudo.

*Procedimento pós-estudo:*

Na alta da última internação, todos os participantes serão novamente avisados de que não devem doar sangue por pelo menos 4 meses ou participar de qualquer estudo clínico com medicamentos que envolva a coleta de amostra por pelo menos 6 meses.

Todos os participantes, inclusive os que desistiram da participação do estudo após a administração de pelo menos uma das doses de um dos medicamentos, deverão ser avaliados clinicamente (incluindo sinais vitais, exame físico e ECG), e por exames laboratoriais subsidiários iguais aos realizados na fase pré-estudo (excetuando-se testes sorológicos).

Esta reavaliação deverá ocorrer até 10 dias após a última coleta de sangue. Independente de alteração, todos os resultados obtidos devem ser relatados nos CRFs individuais correspondentes.

A negativa ou o não comparecimento do participante para a realização destes procedimentos deverá ser devidamente documentada.

## **9.2. Procedimentos para registrar e comunicar EA e doenças intercorrentes**

As perguntas realizadas para saber se o participante apresentou ou não algum EA deverão ser limitadas a perguntas gerais. Será solicitado aos participantes que



relatem qualquer EA e quando o fato ocorreu. Também será solicitado a notifique do Investigador, caso seja necessário uso de medicação adicional.

Qualquer EA deverá ser registrado em detalhes nas folhas apropriadas para relatos de EAs, integrante do CRF. Os detalhes incluem a descrição do evento utilizando a terminologia médica, informação sobre o início, duração e ações médicas tomadas para minimizar o EA, bem como informações de desfecho e qualquer outro dado adicional que a critério de Investigador seja pertinente.

Devem ser empreendidos todos os esforços pelo Investigador Principal para explicar cada experiência adversa e avaliar sua relação, se houver, com o medicamento do estudo.

O Investigador Principal é responsável por documentar todos EA que ocorrem durante o estudo, comunicar esses EAs ao Patrocinador e por notificar os Eventos Adversos Sérios à pessoa indicada pelo patrocinador para tomar conta dos relatórios de Eventos Adversos Sérios.

### **9.3. Acompanhamento dos participantes após o EA**

O Investigador Principal tem a responsabilidade de garantir que os participantes envolvidos recebam um tratamento definitivo para qualquer evento adverso, se necessário. Os eventos adversos deverão ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais (quando indicado) até que os parâmetros voltem ao normal ou até que o quadro se estabilize. Estas atividades podem permanecer mesmo após o estudo ter sido completado/encerrado.

A equipe da Unidade Clínica deverá monitorar a segurança dos participantes desde a ocorrência de um EA até a recuperação satisfatória. Portanto, podem ser necessárias visitas de retorno e exames laboratoriais, mesmo depois que o estudo seja completado e que tenha ocorrido a alta da Unidade Clínica.

Em caso de emergência, a unidade de internação tem local próprio, equipado com desfibrilador, monitor, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência, além da Unidade de Terapia Intensiva (UTI).

#### *Medidas em caso de EAs*

EAS devem ser documentados em detalhes no formulário de EA, além da documentação na CRF.

O centro de pesquisa deverá fornecer relatórios de EAS ao Patrocinador dentro das 24 horas após registrado.

O CEP deve ser informado sobre a ocorrência de um EAS em até 48 horas após registrado.

Uma notificação de EAS deverá ser enviada aos setores de Farmacovigilância – Unidade de Farmacovigilância - NUVIG/ANVISA e a Coordenação de Inspeção em Centros de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência – CIBIO/GGMED/ANVISA no prazo de 48 horas após o registro do EAS.

EAS que possam ser causados pela medicação em estudo, requerem avaliação médica imediata. A decisão de finalização do estudo completo será tomada na base desta avaliação e segundo o *ICH Guideline for Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting* e pelos requisitos legais dos países envolvidos.

O Comitê de Ética em Pesquisa deverá ser informado caso o EAS seja:

- Sério e relacionado; ou
- Inesperado e possam prejudicar a segurança dos participantes ou a condução do estudo.

O Patrocinador deve expedir relatórios de todos os EAS, suspeitos ou inesperados a todos os Investigadores/Instituições relacionados e às autoridades regulatórias. O envio de relatórios deve obedecer aos requerimentos regulatórios descritos pela ANVISA.

#### **9.4. Procedimento para monitorar a adesão do participante ao protocolo**

##### *Adesão a Terapia:*

Os medicamentos sob investigação serão administrados na presença de um médico responsável. O administrador deverá examinar a boca de cada participante após a ingestão do medicamento.

##### *Adesão a outras condições/restrições:*

A adesão às restrições quanto ao uso de medicamentos, limitações dietéticas e demais restrições definidas no Protocolo serão investigadas inicialmente através

de questionamento ou observação direta por parte do Investigador Principal e equipe no momento da internação ou antes da administração do medicamento, além da observação direta durante o período de internação.

Será especificamente investigado (primeira e demais internações) se o participante:

- Fez uso de medicação durante os 14 dias que precederam a internação ou o intervalo durante as internações;
- Foi hospitalizado dentro de 8 semanas que antecederam o estudo;
- Doou ou perdeu sangue dentro dos 4 meses anteriores ao estudo;
- Suspeita de gravidez;
- Estar amamentando;
- Fez uso de cafeína ou produtos que contenham xantina (chocolate, chá, café, cola, etc) nas 12 horas anteriores a administração pretendida da medicação até a última coleta de sangue;
- Fez uso de álcool nas 24 horas anteriores a administração pretendida da medicação até a última coleta de sangue;
- Fez uso de drogas psicotrópicas durante os 14 dias anteriores à internação e durante o intervalo das internações;
- Fez algum exercício intenso nas 24 horas anteriores a primeira coleta de sangue até o acompanhamento;
- Deixou de cumprir as restrições de jejum estabelecidas.

Se houver qualquer dúvida sobre o uso de álcool, poderá ser realizado teste para detecção de álcool, a juízo do Investigador.

## **10. RISCOS RELACIONANDOS COM A PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO**

### **10.1 Riscos relativos ao procedimento**

O uso interno de uma cânula para fins de amostragem de sangue pode ser acompanhado por leve contusão e também, em raros casos, por inflamação passageira da parede da veia. Após a irritação inicial, a presença de uma cânula interna é, em geral, indolor, e praticamente não é notada. O mesmo se aplica à punctura da veia para amostragem de sangue posterior.

O volume total de sangue retirado durante todo o estudo será de aproximadamente 260mL (5mL para exames pré-estudo + 5mL para exames pós-estudo + 125mL de pool de cada período) dentro de aproximadamente 14 dias. Não é esperado nenhum risco relativo a segurança, devido a essa retirada de sangue.

## **10.2 Riscos relativos ao medicamento de investigação**

O fármaco BZN não deve ser ingerido juntamente com álcool, pois pode haver acúmulo de acetaldeído, anticoagulantes devido aos efeitos serem potencializados pela inibição do metabolismo enzimático. Além disso, benzonidazol não deve ser administrado juntamente com ácido acetilsalicílico, pois há a possibilidade de sangramento (VIOTTI et al., 1994).

Em caso de emergência, procedimentos padrão de emergência serão empregados. O Investigador Principal deverá ser imediatamente consultado e informado.

O Investigador Principal providenciará todo o equipamento de emergência necessário e pessoal treinado para lidar com efeitos de emergência durante este estudo.

Todos os casos de emergência devem ser relatados imediatamente ao Patrocinador e inseridas na e-CRF.

## **11. IDENTIFICAÇÃO DOS DADOS A SEREM REGISTRADOS NO CRF**

Os seguintes dados serão registrados diretamente na e-CRF:

- Dados do participante;
- Exame físico, incluindo a histórica médica;
- Dados antropométricos;
- Sinais vitais;
- Resultados de exames laboratoriais;
- Uso de medicamentos pré-tratamento ou concomitante ao tratamento;
- Administração dos produtos sob investigação e respectivos horários;
- Controle dietético e ingestão de líquidos;
- Horários de coleta de amostras de sangue;
- Registros de Eventos Adversos e Eventos Adversos Sérios.

No CRF, cada participante será identificado com a inicial do primeiro nome, inicial do sobrenome, data de nascimento seguindo de F (feminino) ou M (masculino). Esta identificação deverá constar em cada página da e-CRF do respectivo participante.

### **11.1 Tratamento da documentação de dados clínicos**

A inserção de dados clínicos nos documentos fontes deve ser feita com caneta esferográfica de tinta preta e devem ser legíveis. Não serão usados lápis e líquidos para correção. Caso sejam necessárias correções, elas serão inseridas por um participante da equipe de estudo da seguinte maneira:

- A informação será riscada, devendo, no entanto, permanecer legível;
- A informação correta deverá ser colocada no campo de correções (se aplicável) ou ao lado da informação incorreta;
- As correções deverão ser rubricadas e datadas;
- Para correções relativas a EAs ou a uma variação primária, deverá ser fornecida uma razão;
- Para os propósitos de controle de qualidade, o IP fará um controle dos dados no arquivo de dados fonte para correção formal, completitude e entendimento das entradas, além de verificar os documentos fontes quanto à exatidão formal, integralidade e legibilidade das inserções. Em seguida, o documento fonte em português será bloqueado, de modo que inserções e/ou correções subsequentes possam ser identificadas.

## **12. ÉTICA**

### **12.1 Comitê de ética em pesquisa**

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento serão submetidos ao CEP da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu – credenciado pelo CONEP (Conselho Nacional de Saúde/MS).

O ensaio não será iniciado antes que exista um Protocolo escrito e aprovado pelo Comitê de Ética. O Investigador Principal será responsável por obter aprovação do Protocolo de Estudo pelo Comitê de Ética. Uma cópia da aprovação deverá ser enviada ao Patrocinador, antes do início do estudo.

Se eventuais emendas ao Protocolo alterarem o risco potencial de segurança dos participantes (tais como mudança no regime de dosagem, amostras adicionais de sangue), será necessário submetê-las a aprovação escrita pelo Comitê. As emendas só poderão ser implementadas após sua aprovação pelo CEP, o que poderá implicar interrupção temporária do estudo. Deverá ser fornecida ao Patrocinador uma cópia da carta de aprovação cobrindo tais alterações.

### **12.2. Conduta do estudo**

O estudo será conduzido de acordo com ICH GCP – Guideline (CPMP/ICH/135/96) e de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset West (1996), Edinburgh (2000), Tóquio (2004) e Seul (2008), assim como as regulamentações locais (Resolução CNS Nº 466, de 12 de dezembro de 2012 e Resolução nº 251, de 07 de agosto de 1997 do CNS-MS)

Os investigadores são responsáveis pela condução do estudo em estrita observância ao Protocolo aprovado.

### **12.3. Termo de consentimento livre e esclarecido**

Os participantes receberam uma explanação dos objetivos e procedimentos do estudo. Será enfatizado que o estudo tem a finalidade de pesquisa e que o participante não deve esperar qualquer efeito terapêutico. Além disso, será frisado que o participante poderá abandonar o estudo a qualquer momento sem dizer a razão de fazê-lo, entretanto, entrar em contato com o centro avisando a sua saída do estudo e retirando o termo de consentimento para participação no estudo.

O TCLE deverá ser elaborado pelo pesquisador responsável e pré-aprovado pelo CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) juntamente com o projeto de pesquisa e toda a documentação inerente ao projeto, antes do início do estudo. O TCLE é um documento que informa o indivíduo a respeito do seu envolvimento na pesquisa

científica, para que possa decidir com autonomia sobre sua participação na mesma. Objetiva igualmente assegurar a manutenção da confidencialidade das informações pessoais, a defesa dos sujeitos em sua vulnerabilidade e a proteção contra possíveis riscos e danos causados pela pesquisa.

O TCLE será elaborado em duas vias originais, uma via ficando com o Investigador Principal e a outra ficando com o participante do estudo. O processo da assinatura do Termo de Consentimento pelo participante, ou seja, o processo de consentimento, será realizado por profissional qualificado, o qual possua amplo conhecimento do protocolo e das ICH-GCP.

Caso haja emendas ao Protocolo que altere substancialmente o desenho do estudo ou o risco que os participantes estão submetidos, os participantes serão informados e deverão assinar a nova versão do consentimento relativo a decisão de continuar ou não do estudo.

#### **12.4 Confidencialidade**

Os resultados do exame médico e laboratoriais serão registrados na e-CRF de cada participante. Toda a informação obtida no estudo referente ao estado de saúde do participante estará disponível aos médicos da unidade de internação, cuja obrigatoriedade de manutenção do sigilo é inerente a sua função.

Uma cópia dos exames laboratoriais realizados no pré e pós-estudo será fornecida aos participantes, caso seja solicitado.

#### **12.5 Ressarcimento**

Os participantes serão ressarcidos com os valores referentes às despesas durante o estudo, podendo ser vales de transporte, alimentação e, se necessário, hospedagem. A dispensa ou desistência do participante antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito ao ressarcimento. Caso o participante desista em uma das internações e/ou não compareça as coletas externas, será excluído do estudo e o ressarcimento não será efetuado. Caso o participante seja dispensado antes do estudo ser finalizado, receberá no final do estudo, o valor proporcional ao tempo dispendido. O ressarcimento será efetuado após a consulta de alta. Caso o participante não compareça no dia de alta, serão realizados três (3)

contatos. Se o mesmo não comparecer nas datas agendadas, o processo será finalizado, e o ressarcimento cancelado.

A participação do participante no processo de seleção, independente de aprovação ou concordância em participação, não será ressarcida.

## **12.6 Financiamento e seguro**

Durante um período de seis (06) meses, a partir da data de estudo clínico, os participantes estarão sob cobertura do Seguro de Vida, para caso de morte, invalidez permanente e acidentes relacionados ou não ao ensaio clínico.

Os acordos financeiros relativos ao estudo serão fornecidos em separado.

## **12.7 Manuseio dos dados e manutenção dos registros**

O investigador deve manter todos os documentos relacionados com este estudo pelo tempo definido nas diretrizes da ICH-GCP. Todos os dados e documentos devem estar disponíveis caso seja solicitado pelo Patrocinador ou autoridades. Os documentos serão mantidos por um período mínimo de quinze anos.

Antes da remoção ou destruição dos documentos deste estudo, o Investigador deve informar ao Patrocinador, por escrito, suas intenções. Somente após obter uma permissão por escrito é que o Investigador poderá remover ou destruir os documentos do estudo.

O Patrocinador também deverá manter todos os documentos relacionados ao estudo por um período mínimo de quinze anos.

# **13. ETAPA ANALÍTICA E AVALIAÇÃO DE FARMACOCINÉTICA**

## **13.1 Avaliação do perfil farmacocinético**

Os parâmetros farmacocinéticos relacionados à velocidade e extensão de absorção são a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), tempo para atingir a  $C_{max}$  ( $t_{max}$ ) e a área sob a curva (ASC).



Para fins de avaliação de perfil farmacocinético, além da quantificação da concentração plasmática do fármaco inalterado, durante os períodos de tratamento, será realizado o registro do intervalo de tempo entre a coleta das amostras e a administração do fármaco ao participante. Deverão ser registrados para cada participante os horários reais de administração dos medicamentos, os horários de coleta de amostra, o tempo de atraso ou adiantamento entre as coletas se houver e a identificação dos períodos de estudo a que se refere.

### **13.2. Métodos de obtenção e registro do material para quantificação do fármaco**

A definição do número e intervalo de obtenção das amostras para construção das curvas de concentração *versus* tempo, é função do perfil farmacocinético do fármaco, com base na informação da literatura, visando permitir o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos estipulados deste protocolo. Para tanto, o tempo de coleta das amostras deverá estender-se por um prazo mínimo de três (3) a cinco (5) vezes superior a  $t_{1/2}$  do fármaco.

## **14. MÉTODO BIOANALÍTICO E VALIDAÇÃO**

As concentrações plasmáticas de benzonidazol serão quantificadas por método bioanalítico específico e revalidado, utilizando LC-MS/MS previamente validado conforme legislação vigente. O relatório de validação do método, bem como sua descrição serão fornecidos por ocasião da conclusão do estudo.

Os critérios adotados pela Unidade Analítica para considerar um método como validado estão definidos nos POPs do Laboratório responsável. A validação de método sempre é realizada com o POP em vigor na data de sua realização, e este sempre atenderá aos requisitos regulamentares.

A implantação do método bioanalítico segue as diretrizes da Resolução RDC nº 27, de 17 de maio de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), segundo a qual são realizados ensaios de seletividade, efeito residual (*carry over*), efeito de matriz, curva de calibração, ensaios de precisão e exatidão e estabilidade, conforme brevemente descrito nas seções subsequentes.

## **14.1. Validação pré-estudo**

### **Seletividade**

O teste de seletividade será realizado através da análise de amostras branco de plasma humano obtidas de seis fontes diferentes, sendo quatro amostras normais, uma lipêmica e uma hemolisada. Os resultados são comparados com os obtidos nas amostras processados do LIQ (limite inferior de quantificação). As respostas de picos interferentes próximo ao tempo de retenção do analito devem ser inferiores a 20% (vinte por cento) da resposta do analito nas amostras do LIQ. As respostas de picos interferentes próximos ao tempo de retenção do PI (padrão interno) devem ser inferiores a 5% (cinco por cento) da resposta do PI.

### **Efeito residual**

O efeito residual será testado através de, no mínimo, três injeções da mesma amostra branco, sendo uma antes e duas logo após a injeção de uma ou mais amostras processadas do limite superior de quantificação (LSQ) e os resultados são comparados com aqueles obtidos de amostras processadas de LIQ. As respostas de picos interferentes no tempo de retenção do analito devem ser inferiores a 20% da resposta do analito nas amostras processadas do LIQ. As respostas de picos interferentes no tempo de retenção do PI devem ser inferiores a 5% da resposta do PI.

### **Efeito matriz**

Para se testar o efeito de matriz serão analisadas amostras de matrizes biológicas processadas e posteriormente adicionadas de analito e PI, de oito fontes distintas (quatro normais, duas lipêmicas e duas hemolisadas), nas mesmas concentrações de CQB e CQA.

Neste estudo, deverão ser analisadas seis amostras de fontes distintas. Em estudos conduzidos em pacientes que apresentem alguma alteração nas características da matriz biológica, deve-se empregar esta matriz específica neste ensaio.

Para cada amostra deve ser obtido o fator de matriz normalizado por PI (FMN), conforme a fórmula a seguir:

$$\text{FMN} = \frac{\text{Resposta do analito em matriz/Resposta do PI em matriz}}{\text{Resposta do analito em solução/Resposta do PI em solução}}$$

O Coeficiente de variação (CV) dos FMNs relativos a todas as amostras deverá ser inferior a 15%.

### **Curva de Calibração**

As curvas de calibração deverão ser construídas e avaliadas, no mínimo, com três curvas e que incluam a análise da amostra branco, da amostra zero e de, no mínimo, seis amostras de diferentes concentrações do padrão do analito adicionadas de PI, sempre na mesma matriz proposta para o estudo.

Os padrões de calibração estarão aprovados quando atenderem aos seguintes critérios:

I - Desvio menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal para os padrões do LIQ;

II - Desvio menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para os outros padrões de calibração.

A curva de calibração deverá atender aos seguintes critérios para ser aprovada:

I - No mínimo 75% dos padrões de calibração aprovados conforme os critérios anteriores; e

II - No mínimo seis padrões de calibração de concentrações diferentes, incluindo o LIQ e o LSQ, aprovados conforme os critérios anteriores.

### **Precisão e exatidão intra e intercorridas**

A precisão e exatidão serão determinadas em uma mesma corrida analítica (intracorrída) e em, no mínimo, três corridas analíticas diferentes (intercorridas). Serão analisadas, no mínimo, cinco réplicas de cinco concentrações distintas (LIQ, CQB, CQM, CQA e CQD). Para análise intercorridas, o ensaio deverá abranger corridas em dias distintos.

A precisão expressa por CV e exatidão expressa por erro relativo padrão (EPR) intracorrida e intercorridas são calculadas segundo as equações abaixo. Não serão admitidos valores superiores a 15%, exceto para o LIQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%:

$$CV (\%) = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Concentração Média Experimental}} \times 100$$
$$EPR (\%) = \frac{(\text{Concentração Média Experimental} - \text{Valor Nominal})}{\text{Valor Nominal}} \times 100$$

Tanto o CV quanto EPR intracorrida e intercorridas serão calculados com base em todos os valores obtidos. Caso o CV ou o EPR não atendam aos limites dispostos, o ensaio deverá ser repetido.

### **Estabilidade do analito em matriz biológica e solução**

Os estudos de estabilidade utilizarão um conjunto de amostras de matriz biológica adicionadas de soluções do analito e PI, no mesmo anticoagulante utilizado nas amostras em estudo. A estabilidade será demonstrada através dos seguintes ensaios:

- I - estabilidade após ciclos de congelamento e degelo;
- II - estabilidade de curta duração;
- III- estabilidade de longa duração;
- IV- estabilidade pós-processamento;
- V - estabilidade em solução.

Serão empregadas no mínimo três amostras de CQB e CQA, analisadas imediatamente após sua preparação e após serem submetidas às condições de ensaio aplicáveis. São empregadas apenas amostras cujo resultado da análise imediatamente após sua preparação estiver dentro de  $\pm 15\%$  do valor nominal.

A concentração das amostras deverá ser determinada por meio de uma curva de calibração recém-preparada. A estabilidade será demonstrada quando não se observar desvio superior a 15% da média das concentrações obtidas com relação ao valor nominal. Todas as concentrações obtidas deverão ser incluídas no cálculo da média.

Também será demonstrada a estabilidade do analito e do PI em, no mínimo, 3 amostras da solução primária de maior concentração e da solução de trabalho de menor concentração por tempo superior ao período de uso ou armazenamento das mesmas. As soluções deverão ser analisadas após serem mantidas sob as mesmas condições a que serão submetidas durante seu uso e armazenamento.

A estabilidade das soluções primária e de trabalho será analisada por meio de uma diluição apropriada levando-se em consideração a faixa de medição do detector. A média das respostas instrumentais provenientes das soluções em estudo deverá ser comparada com a média daquelas obtidas utilizando-se soluções recém-preparadas do analito e do PI. Caso seja empregado um isótopo estável como PI, não é necessária a realização do estudo de estabilidade em solução do mesmo, desde que comprovada a ausência de reações de troca de isótopos nas condições do estudo de estabilidade.

As soluções serão consideradas estáveis quando não se observar desvio superior a 10% de suas respostas em comparação com as respostas das soluções recém-preparadas e todas as respostas instrumentais obtidas devem ser incluídas no cálculo da média.

#### **14.2. Controle de qualidade durante a análise de rotina e curvas de calibração**

Será gerada uma curva de calibração para o analito e um número suficiente de pontos será usado para definir adequadamente a relação entre concentração e resposta. O número de pontos usados na construção da curva de calibração será uma função das faixas dos valores analíticos e da natureza da relação resposta-analito. As concentrações para cada ponto deverão ser escolhidas baseada na faixa de concentração esperada do estudo. A curva de calibração deverá constituir uma amostra de branco, amostra zero, amostra de 6 a 8 pontos que cubram a faixa esperada. As curvas serão determinadas separadamente para cada lote de amostras e pertencerão exclusivamente a esta corrida.

Amostras do Controle de Qualidade deverão ser incorporadas a cada corrida, sendo três concentrações: uma amostra CQ de concentração baixa, uma amostra na faixa de concentração média e uma na concentração alta.

### **14.3. Análise das amostras do estudo**

Durante as medições analíticas, os dados do tratamento dispensado aos participantes serão mascarados para os analistas desta etapa, bem como o acesso à lista de aleatorização dos mesmos.

As amostras serão analisadas como medições individuais. Após a análise de 10 amostras de participantes, deverão ser incluídos controles de qualidades a fim de se certificar da precisão e exatidão do método. Amostras com concentrações acima do LSQ serão reanalisadas.

As observações relativas a amostras hemolisadas ou lipêmicas serão documentadas e relacionadas no relatório analítico.

### **14.4. Outliers e repetição de análise**

Amostras com valores discrepantes que possam ser atribuídos a erros de processamento ou falha de equipamento, assim como procedimentos totais com Controle de Qualidade fora dos valores pré-definidos, serão reanalisados.

Se algum resultado exceder o mais alto nível da curva de calibração, a amostra será reanalisada após diluição com a matriz (branco), empregando-se um procedimento validado. Os resultados iniciais serão documentados, mas não relatados.

Os resultados analíticos serão revistos pelo Investigador Principal e decidirá por reanálises, baseando-se em dados farmacocinéticos. Porém, quando a causa for devido a ocorrência da etapa analítica, caberá ao Responsável desta etapa decidir sobre a reanálise.

### **14.5. Quantificação das amostras**

A quantificação das amostras será precedida por uma validação pré-estudo, cuja abrangência varia em função do tempo transcorrido entre a validação do método em si e sua utilização. Os procedimentos operacionais para execução desta validação, bem como da realização e aprovação das quantificações, encontram-se descritos em POP específico.

Sempre que possível, em função das características do estudo, a quantificação é feita às cegas, no que tange à randomização, evitando-se assim tendência na análise de bioequivalência, observando-se, no entanto, a correlação entre os dados dos voluntários e análise de todas as amostras de um mesmo voluntário na mesma corrida analítica, salvo as eventuais necessidades de repetição.

Os resultados (concentrações plasmáticas) obtidos, assim como as demais informações relacionadas ao procedimento serão objeto do relatório analítico a ser elaborado por ocasião da conclusão do estudo.

A quantificação do fármaco será feita por um método em LC-MS/MS previamente validado segundo as recomendações da RDC nº 27/2012 em laboratório analítico.

### **Critérios para aplicação do método validado**

O método bioanalítico aplicado à análise das amostras em estudo será o mesmo método validado, incluindo a utilização do mesmo anticoagulante, técnica de extração e condições analíticas.

Cada corrida analítica das amostras em estudo conterá:

- I - curva de calibração;
- II - amostras de CQB, CQM e CQA; e
- III - amostras em estudo de um ou mais voluntários do estudo.

Todas as amostras serão processadas como um único lote. Em estudos de bioequivalência/biodisponibilidade relativa, todas as amostras de um mesmo participante deverão ser analisadas numa mesma corrida, com exceção das amostras de reanálise.

O número de amostras de CQB, CQM e CQA incorporados em cada corrida analítica não deverá ser inferior a 5% do número de amostras em estudo e não inferior a seis CQs, sendo uma duplicata de cada concentração.

No caso de corridas de reanálise com amostras diluídas, serão incluídas amostras de CQD. As amostras de CQB, CQM, CQA e CQD devem ser distribuídas entre as amostras em estudo de forma balanceada na corrida analítica, sempre em igual número de replicatas de cada concentração. Caso a curva de calibração contemple uma faixa de concentração muito ampla em comparação com a

concentração de todas as amostras dos voluntários, um controle de qualidade adicional será incluído na corrida analítica dos voluntários, para que pelo menos dois CQs estejam dentro da faixa de concentrações medidas.

Serão consideradas apenas as concentrações quantificadas entre o LIQ e o LSQ. Amostras de concentrações superiores ao LSQ serão diluídas e reanalisadas. Concentrações abaixo do LIQ serão reportadas como <LIQ.

Para aprovação da corrida analítica, no mínimo 67% do total de CQs e no mínimo 50% dos CQs de cada concentração deverão apresentar desvio menor ou igual a 15% em relação aos seus respectivos valores nominais. A exatidão média e a precisão dos CQs de todas as corridas aprovadas (exatidão e precisão intercorridas) deverão ser calculadas para cada nível de concentração. Caso a exatidão média ou a precisão intercorridas extrapole 15%, as causas deverão ser investigadas e justificadas, podendo acarretar rejeição dos dados.

Serão aprovados no mínimo 6 (seis) padrões de calibração de concentrações diferentes, conforme os critérios estabelecidos, incluindo LIQ e LSQ.

### **Quantificação das amostras - Reanálise de amostras em estudo**

As amostras em estudo deverão ser reanalisadas quando:

I - Apresentarem concentração acima do LSQ;

II - Apresentarem problemas analíticos que impossibilitem ou invalidem a quantificação; ou

III - apresentarem resposta do analito acima do LIQ em amostras do tempo pré-dose, amostras de grupo placebo e amostras de grupo controle.

Em estudos de bioequivalência/biodisponibilidade relativa, não devem ser realizadas reanálises por motivos farmacocinéticos e reanálises de padrões de calibração e CQs.

Os procedimentos relativos à reanálise estarão pré-estabelecidos no POP do laboratório responsável.

### **14.6. Tratamento e documentação de dados bioanalíticos**

Todos os valores medidos serão inseridos em planilhas EXCEL e documentados de forma impressa e em arquivos eletrônicos de dados. Os dados



brutos das medições analíticas serão documentados sob a forma de arquivos eletrônicos de modo a permitir a identificação retrospectiva dos valores individuais medidos e a identificação dos valores integrados automática e manualmente, respectivamente. Quando for realizada reintegração manual para determinação dos valores analíticos, os valores originais obtidos por integração automática serão ser documentados em arquivos em forma de PDF.

As concentrações plasmáticas atingidas, assim como as demais informações relacionadas ao procedimento, serão objetos de relatório analítico a ser elaborado na conclusão do estudo.

## **15. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA**

Serão apresentadas as seguintes análises:

- Para cada participante, um gráfico da concentração versus tempo, em escala linear, para cada formulação e os respectivos parâmetros farmacocinéticos;
- Para o conjunto de participantes, gráfico da concentração versus tempo, em escala linear, para cada formulação, juntamente com as seguintes estatísticas: média aritmética, desvio padrão (ou mediana e amplitude, conforme apropriado). Outras estatísticas poderão ser apresentadas, se necessário.

Para a análise farmacocinética serão utilizados os softwares próprios do centro que irá realizar a parte estatística.

### **15.1. Parâmetros farmacocinéticos**

Os seguintes parâmetros serão determinados utilizando modelos não compartimentais conforme a Tabela 16.

**Tabela 16.** Parâmetros determinados utilizando modelos não compartimentais.

Parâmetro	Descrição
ASC <sub>[0-48]</sub>	Área sob a curva de zero ao último tempo quantificável. Calculado pelo método dos trapézios.
ASC <sub>[0-∞]</sub>	Área sob a curva de zero extrapolado ao infinito. Calculado pelo método dos trapézios.
K <sub>e</sub>	Constante de eliminação de primeira ordem, estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados, no logaritmo natural da concentração versus tempo para os últimos.
C <sub>max</sub>	Maior concentração alcançada, com base nos dados experimentais, obtida diretamente na curva de concentração versus tempo.
t <sub>1/2</sub>	meia-vida de eliminação, calculada como Ln2/K <sub>e</sub> .
t <sub>max</sub>	Tempo no qual ocorre o C <sub>max</sub> .
MAT	Tempo médio de absorção. Calculado pela estatística dos momentos.
MRT	Tempo de residência médio. Calculado pela estatística dos momentos.
C <sub>p</sub> médio	Concentração plasmática média. Calculada pela ASC/tempo.
t <sub>1/2a</sub>	Meia vida de absorção, calculada como LN2/k <sub>a</sub> .
K <sub>a</sub>	Constante de absorção, estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados após tratamento dos dados pelo método dos resíduos.

## 15.2. Descrições dos critérios e métodos estatísticos

Na análise estatística será realizada a comparação entre as formulações por teste t pareado ou não pareado dependendo se a comparação for intra ou intergrupos.

Para o tratamento dos dados, a  $ASC_{0-t}$  deverá corresponder a 80% ou mais da  $ASC_{0-\infty}$  para que os parâmetros obtidos através da curva de concentração plasmática vs tempo sejam confiáveis. Serão tabelados todos os resultados individuais dos participantes e calculado média aritmética e geométrica, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e intervalo de confiança (IC 90%) para cada conjunto de dados. Os valores de ASC e  $C_{max}$  serão transformados em logaritmo natural (Ln) para tratamento estatístico. O parâmetro  $t_{max}$  será considerado para verificar a diferença na liberação e absorção do fármaco entre as duas formulações e entre os estados de jejum e alimentado. Na ocorrência de *outliers* (valores atípicos), os mesmos serão justificados e os resultados globais serão apresentados com e sem os valores individuais.

Para a interpretação dos resultados serão comparados os seguintes pares: referência-jejum vs teste-jejum, referência-alimentado vs teste-alimentado.

O formato de relatório estatístico e a planilha de dados será de acordo com a Norma técnica 04/2015.

### **15.3. Seleção dos participantes a serem incluídos na análise**

Inicialmente serão incluídos na análise todos os participantes que vierem completar os dois períodos do estudo.

Além disso, o participante deve possuir todos os critérios de inclusão e não possuir nenhum critério de exclusão, critério de retirada ou descontinuação, segundo os itens 4.4, 4.5, 4.6. e 4.7.

## **16. CONTROLE DE QUALIDADE E GARANTIA DE QUALIDADE**

O controle de qualidade inclui todas as atividades realizadas durante e após a realização do estudo. As atividades e técnicas empregadas estarão de acordo com os procedimentos definidos pelas instituições envolvidas em cada etapa (clínica, analítica e estatística), de comum acordo com o Patrocinador.

O LTM será responsável pela produção do lote de comprimidos que serão utilizados no estudo e pela realização dos ensaios de controle de qualidade com apresentação do laudo referente ao lote.

Qualquer desvio do plano deste Protocolo será descrito e justificado, submetido à aprovação do CEP e apresentado no relatório final.

## **17. ACESSO DIRETO AOS DOCUMENTOS/DADOS FONTE**

O Investigador Principal e as Instituições envolvidas se comprometem a permitir a realização de atividades de monitorização por parte do patrocinador ou seu preposto, auditorias fiscais, revisão por parte do Comitê de Ética e inspeção pelos Órgãos Governamentais envolvidos, proporcionando acesso aos dados brutos, se necessário, única e exclusivamente para fins relacionado ao estudo. Este direito de acesso implica na anuência dos envolvidos aos aspectos de confidencialidade de dados. As informações assim obtidas somente poderão ser utilizadas para os fins diretos das atividades que estiverem sendo exercidas, mantendo-se o sigilo quanto a identidade dos participantes.

## **18. POLÍTICA DE PUBLICAÇÃO DE DADOS**

Toda a informação não publicada relacionada a este Protocolo é de propriedade da Profa. Dra. Rosangela Gonçalves Peccinini (UNESP) e do Prof. Dr. Pedro Rolim (LTM). Nenhuma informação não publicada pode ser divulgada sem a aprovação dos mesmos.

## **19. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE DESVIO DE PROTOCOLO**

Todos os procedimentos referentes ao estudo serão checados pela Unidade de Garantia da Qualidade da UPECLIN e da Unidade de Análise das Amostras de forma que sejam cumpridos de acordo com este Protocolo. Caso haja algum desvio de Protocolo, este será julgado pelo Investigador Principal que decidirá se o impacto deste desvio é significativo ou não para o Protocolo. Todos os desvios serão devidamente registrados nos relatórios pertinentes.

## **20. RELATÓRIOS**

O Relatório Clínico será enviado com os Formulários de Relato de Caso (CRFs), enquanto que o Relatórios Analítico, Estatístico e Final serão fornecidos de acordo com os contratos firmados entre as partes envolvidas.

## **21. APÊNDICES**

Apêndice I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Apêndice II – Dieta/Refeições

Apêndice III – Texto de divulgação do estudo

Apêndice IV – Termo de recrutamento

**APÊNDICE I**  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Título do estudo: Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol em participantes sadios de ambos os sexos.

**Identificação do Protocolo:** EC01-2017

**Versão:** 1.0 de 01 de Setembro de 2017

**Produto(s):** Benzonidazol

**Patrocinador:** X

**Investigador Principal:** X

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa “Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol em participantes sadios de ambos os sexos”.

A sua participação é voluntária e você só deverá tomar uma decisão depois de ler, entender e tirar todas as suas dúvidas em relação às informações contidas neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido descreve o estudo e seu papel nele. Peça ao médico ou a algum membro da equipe do estudo para explicar quaisquer palavras ou informações que você não entender claramente. Você deve ler este termo com atenção e fazer qualquer pergunta sobre as informações que ele contém. É importante que você compreenda o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo, bem como os tratamentos alternativos disponíveis para você e o seu direito de se retirar do estudo a qualquer momento.

Se preferir, você pode levar uma cópia não assinada deste termo para pensar ou discutir com a família ou amigos antes de tomar sua decisão.

**Qual a finalidade/objetivo deste estudo?**

O motivo que nos leva a estudar o medicamento benzonidazol é devido ao fato

de este ser o único medicamento disponível (utilizado) para o tratamento da doença de Chagas, no Brasil e em outros países, há anos. O medicamento está disponível na dosagem de 100mg de liberação imediata, entretanto, foi desenvolvido recentemente o medicamento na dosagem de 200mg de liberação prolongada. Nosso objetivo neste estudo é testar a dosagem de 200mg contra a dosagem de 100mg, já comercializada, a fim de confirmar a melhora na aceitação do paciente e maior adesão ao tratamento dos doentes.

O principal aspecto a ser avaliado neste estudo é a concentração do benzonidazol no sangue após a administração das duas diferentes formulações durante um dia, e se a administração em jejum vai resultar em absorção diferente do produto se ele for administrado depois da alimentação. Esta investigação é importante para saber se o comprimido de 200 mg administrado uma só vez ao dia poderá substituir o comprimido de 100 mg que deve ser administrado a cada doze horas e se, no caso de substituição, se o paciente deverá ingeri-lo em jejum ou após alimentar-se.

#### **Qual o uso do medicamento?**

O benzonidazol (BNZ) é um medicamento antiparasitário utilizado para tratamento da doença de Chagas.

#### **Quantas pessoas participarão do estudo?**

Serão selecionados 29 participantes saudáveis, entretanto 24 participantes terão que concluir o estudo, sendo 12 homens e 12 mulheres.

#### **Quanto tempo eu permanecerei no estudo?**

O período total da sua participação no estudo será 14 dias, com intervalo de 5 dias. Durante esse período, você passará por 02 consultas, nas quais serão solicitados alguns exames e 02 realizações da coleta de exames laboratoriais (antes do início do estudo e depois da finalização do estudo).

#### **Quem poderá participar do estudo?**

- Indivíduos sadios do sexo masculino e feminino de 18 a 50 anos que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9 Kg/m<sup>2</sup>;
- Mulheres não grávidas e/ou que não estejam amamentando;

- Fumantes e não fumantes. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem ser identificados;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a critério de um profissional legalmente habilitado, de acordo com as regras previstas neste Protocolo, e avaliações a que foi submetido: histórica clínica, sequencial de história médica, medidas antropométricas, sinais vitais, exame físico, ECG e exames laboratoriais complementares;
- Capaz de compreender a natureza do estudo e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o Investigador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

#### **Quem não poderá participar do estudo?**

- O participante tenha sabidamente hipersensibilidade ao medicamento, à composto quimicamente relacionados ou à algum componente da formulação;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer medicamento, excetuando-se anticoncepcionais;
- História de infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
- História ou presença de doença hepática ou gastrointestinal ou outra condição que interfira com absorção, distribuição, excreção ou metabolismo da droga;
- História de doença renal, pulmonar, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica;
- Eletrocardiograma com resultados não recomendados a critério médico;
- Participante com história de abuso de drogas ou consumo expressivo de álcool;
- Participantes que estejam em dieta que possa afetar a farmacocinética da droga;
- Participante que faz uso de aspirina (possibilidade de sangramento);
- Uso de qualquer medicação dentro de uma semana, excetuando-se anticoncepcionais por via oral. O uso eventual de qualquer medicamento, que a critério do médico interfira na farmacocinética da medicação;
- Tratamento dentro dos 03 meses prévios ao tratamento com qualquer medicamento que seja considerado tóxico;



- Internação por qualquer motivo entre 08 semanas antes do início do primeiro período de tratamento deste estudo e da data de avaliação;
- Participação anterior em estudo experimental ou ingestão de medicamento experimental dentro dos 06 meses que antecedem o início deste estudo e a data da avaliação;
- Doação ou perda de 450mL de sangue dentro dos 04 meses anteriores ao estudo ou doação de mais de 1500mL dentro dos 12 meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação;
- Teste positivo para gravidez para as mulheres;
- Resultados dos exames laboratoriais de seleção com alterações clinicamente significantes (hemograma completo, TGO/AST, TGP/ALT, sódio, potássio, ureia, creatinina, glicemia de jejum, urina tipo I e  $\beta$ HCG para mulheres), que a critério médico possa comprometer a participação do paciente no estudo;
- Doença ou condição grave que a critério médico possa comprometer a participação do participante no estudo.

### **O que será feito com meu sangue coletado?**

Todo o material biológico coletado (amostras de sangue) será utilizado exclusivamente para as análises necessárias para o estudo e para o acompanhamento de sua saúde. Após as análises e, se necessário reanálise, o material será descartado.

### **Posso tomar outros medicamentos?**

Caso você precise usar algum medicamento durante a sua participação no estudo, que não seja a medicação do estudo, entre em contato primeiramente com o médico do estudo.

### **Quais as minhas responsabilidades como participante do estudo?**

Como participante você é responsável por seguir as instruções do estudo e aquelas fornecidas pelo médico do estudo. Isso inclui comparecer a todas as consultas do estudo, relatar qualquer mudança nos medicamentos que você usa relatar qualquer dose que você não tomou da medicação do estudo e relatar ao médico do estudo qualquer alteração na sua saúde.

**Quais são os possíveis riscos deste estudo?**

Como todos os medicamentos, os medicamentos utilizados neste estudo podem causar efeitos indesejáveis. As reações adversas podem ser mais frequentes no início das administrações e geralmente desaparecem com a continuidade do uso. As pesquisas com os medicamentos em estudo indicaram eficácia e segurança aceitáveis, entretanto podem ocorrer eventos adversos imprevisíveis ou desconhecidos. As seguintes reações adversas podem ocorrer durante o tratamento com as medicações do estudo:

- Manifestações de hipersensibilidade (20% dos casos), como dermatite, edema periorbital (inchaço do tecido que cerca os olhos) e linfadenopatia (nódulos linfáticos inchados);
  - Dores musculares;
  - Febre;
  - Distúrbios gastrintestinais, principalmente náuseas, podem ocorrer na fase inicial do tratamento;
- Depressão da medula óssea (casos raros), como neutropenia (nível muito baixo dos neutrófilos), agranulocitose (diminuição ou desaparecimento dos leucócitos polimorfonucleares) e púrpura trombocitopênica (diminuição do número das plaquetas no sangue); polineuropatia periférica (condição comum que afeta os nervos periféricos) em 7% dos casos, como parestesias (formigamento temporário) e polineurite (processo inflamatório que ataca os nervos).

**Irei obter benefício/compensação deste estudo?**

A participação neste estudo não tem como objetivo o tratamento terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo traga qualquer benefício em função do tratamento.

**Qual será o custo de participação neste estudo?**

Você não terá nenhum custo pela participação neste estudo. Os medicamentos em estudo, exames e consultas serão fornecidos sem custos a você.

**Serei pago pela participação neste estudo?**

Você não receberá nenhum pagamento para participar desse estudo. Suas despesas com alimentação e transporte (residência - hospital/clínica ou ambulatório - residência) para todas as visitas médicas relacionadas ao estudo serão pagas pelo patrocinador do estudo, por meio do médico do estudo.

### **O que acontecerá se eu sofrer alguma lesão por participar do estudo?**

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o Patrocinador do estudo pagará por quaisquer lesões ou doenças que você possa sofrer resultado da medicação do estudo ou de procedimentos realizados neste estudo.

### **Os meus dados pessoais serão mantidos em segredo?**

Todas as informações do estudo sobre você, seu nome e sua identidade serão mantidas em segredo. Caso sejam publicados os resultados do estudo numa revista médica ou em artigo científico, você não será identificado de forma alguma. No entanto, ao concordar em participar deste estudo, através da assinatura deste Termo de consentimento Livre e Esclarecido você irá autorizar os médicos e outros profissionais de saúde, o patrocinador do estudo, o Comitê de Ética em Pesquisa e autoridade reguladora a rever os dados obtidos a partir de registros do estudo e/ou de seus registros médicos, a fim de verificar as informações do estudo ou procedimentos ocorridos durante o estudo. Suas informações pessoais serão registradas através de um código, processadas e analisadas pelo patrocinador ou pelo seu representante, com o objetivo de determinar os resultados do estudo e permanecendo confidenciais, ou seja, não serão disponibilizados ao público.

Serão coletadas apenas as informações necessárias para o estudo de pesquisa. Todas as exigências legais locais em relação à proteção dos dados serão atendidas. Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo e protegidos de acordo com as leis atuais aplicáveis no Brasil. Você tem o direito de acessar seus registros médicos e os resultados dos seus exames a qualquer momento durante a sua participação neste estudo de pesquisa.

### **Quais são os meus direitos como participante do estudo?**

A sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você pode se recusar a participar, ou se decidir participar, poderá sair do estudo a qualquer momento e por qualquer motivo, sem comprometer seu tratamento médico contínuo no

hospital/clínica ou ambulatório. No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) ou seu médico do estudo poderão interromper a condução do Estudo clínico, se necessário. Porém, se isso ocorrer, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) responsável será informado e serão apresentadas a você pelo seu médico do estudo as devidas justificativas e orientações para a continuidade do seu tratamento, caso seja indicado. Seu médico do estudo poderá retirá-lo do estudo a qualquer momento, se ele decidir que é o melhor para você.

### **Quais os procedimentos para saída prematura do estudo?**

Caso seja necessário o encerramento de sua participação a qualquer momento, será solicitado que você seja submetido aos procedimentos e exames finais (explicada neste termo) e o seu médico do estudo te dará as orientações necessárias ao seguimento do seu tratamento, caso seja indicado.

### **Serei comunicado se houver novas informações sobre o medicamento em estudo?**

Você será informado sobre quaisquer informações novas, como riscos, que possam afetar sua decisão de continuar neste estudo.

### **O que acontecerá comigo neste estudo?**

Este estudo irá comparar o medicamento em estudo (benzonidazol de 200mg) com o medicamento referência (benzonidazol 100mg), ou seja, haverá dois grupos de tratamento, enquanto um grupo receber o medicamento benzonidazol 100mg, o outro grupo irá receber benzonidazol de 200mg.

Serão realizados 2 estudos: no Estudo I os participantes estarão em jejum de pelo menos 10 horas antes da administração da medicação, enquanto que no Estudo II, os participantes receberão alimentação específica ½ hora antes da administração da medicação.

A escolha do tratamento que cada participante irá receber e qual estudo irá realizar dependerá de um sorteio realizado por um sistema eletrônico e a chance de receber um dos dois tratamentos é exatamente igual. Assim, a decisão sobre a qual grupo de tratamento você irá participar não será sua e nem do médico responsável pelo estudo.

**Procedimentos a serem realizados:****Visita de seleção (VS):**

Você realizará uma visita de seleção para determinar se você poderá participar deste estudo. Se você concordar em participar, você deverá assinar e datar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de realizar qualquer procedimento do estudo.

O médico do estudo analisará seu passado médico, as medicações que você está usando e qualquer outra condição que, eventualmente, você possa apresentar. Além disso, os seguintes procedimentos serão realizados:

- Coleta dos dados pessoais como data de nascimento, idade, sexo e etnia;
- Exame físico geral, incluindo medidas de altura e peso;
- Sinais vitais (pressão arterial, frequência cardíaca e temperatura).

O médico solicitará a realização dos seguintes exames:

- Exames de sangue: hemograma completo, AST, ALT, ureia, creatinina, bilirrubina total e frações, fosfatase alcalina, potássio, sódio, colesterol total e frações (LDL, HDL) triglicérides, glicemia de jejum, B-HCG (exame de gravidez), sorologia para hepatite B, C e HIV;
- Exame de urina tipo I (rotina).

A coleta sanguínea deverá ocorrer entre 07:00 e 09:00h no local agendado.

**V0 (visita de randomização):**

Nessa visita serão avaliados os resultados dos seus exames. Caso o médico conclua que você poderá participar do estudo, você será sorteado para um dos dois grupos de tratamento e receberá os medicamentos nos dois períodos do estudo (28 dias). Seja qual for o grupo de tratamento, você deverá seguir as orientações já citadas.

Os seguintes procedimentos serão realizados:

- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- Atribuição do número de seleção ao participante;
- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;

- Investigação da história médica e o uso prévio ou atual de outras medicações;

- Exame físico geral;
- Randomização do participante e atribuição do número de randomização;
- Investigação do uso de medicações concomitantes.

Será agendada a Visita 1 (primeira internação para administração do medicamento) após 7 dias da V0. Serão informados adequadamente o local e horário a V1.

### **Visita 1 (V1):**

Esta visita ocorrerá após 07 dias da V0 (randomização).

Os seguintes procedimentos serão realizados:

- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;
- Avaliação de sinais vitais;
- Será inserido em seu braço um escalpe para coleta seriada de sangue (dispositivo agulhado em forma de borboleta);
  - Administração da medicação do estudo com 200mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente. Somente após 2 horas o consumo de água será permitido;
  - Coletas seriadas das amostras de sangue, totalizando 25 coletas, sendo 5mL de cada vez, resultando em 125 mL de sangue. Os horários de coletas são previamente determinados e, ao final de doze horas, o escalpe (dispositivo agulhado) será retirado e serão feitas mais cinco punções nos tempos de 16, 18, 20, 24, 36 e 48 horas após a administração do fármaco;
    - Investigação da ocorrência evento adverso (EAs);
    - Investigação do uso de medicações concomitantes.

O médico do estudo irá avaliar se você continuará o estudo. Caso você não continue no estudo, independente do motivo, será solicitado que você realize a visita de descontinuação do estudo que terá os mesmos procedimentos descritos na Visita 3.

Será agendada uma nova visita após 07 dias.

**Visita 2 (V2):**

Esta visita ocorrerá após 07 dias da V1.

Os seguintes procedimentos serão realizados:

- Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão;
- Avaliação de sinais vitais;
- Administração da medicação do estudo com 200mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente. Somente após 2 horas o consumo de água será permitido;
- Coletas seriadas das amostras de sangue, totalizando 25 coletas, sendo 5mL de cada vez, resultando em 125 mL de sangue. Os horários de coletas são previamente determinados e, ao final de doze horas, o escalpe (dispositivo agulhado) será retirado e serão feitas mais cinco punções nos tempos de 16, 18, 20, 24, 36 e 48 horas após a administração do fármaco;
- Investigação da ocorrência de eventos adversos (EAs);
- Investigação do uso de medicações concomitantes.

Será agendada uma nova visita após 07 dias.

**Visita 3 (V3):**

Esta visita ocorrerá após 07 dias da V2, sendo a última visita do estudo.

Os seguintes procedimentos serão realizados:

- Exame físico geral, incluindo medidas de altura e peso;
- Sinais vitais (pressão arterial, frequência cardíaca e temperatura);
- Exames de sangue: hemograma completo, AST, ALT, ureia, creatinina, bilirrubina total e frações, fosfatase alcalina, potássio, sódio, colesterol total e frações (LDL, HDL) triglicérides, glicemia de jejum, B-HCG (exame de gravidez), sorologia para hepatite B, C e HIV;
- Exame de urina tipo I (rotina);
- Investigação da ocorrência de eventos adversos (EAs);
- Investigação do uso de medicações concomitantes.

A coleta sanguínea deverá ocorrer entre 07:00 e 09:00h no local agendado.

**Responsabilidades dos voluntários**

É condição indispensável para sua participação no estudo, que você esteja em boas condições de saúde e, portanto, não esteja em tratamento médico ou fazendo uso de drogas ou medicações. Não são permitidas as seguintes atitudes:

- Você não poderá ter doado sangue nos 04 meses anteriores ao estudo;
- Você não poderá ter participado de outro estudo clínico que envolva medicamento pelo menos nos últimos 06 meses anteriores a este estudo;
- Você não poderá consumir bebida alcoólica em 24 horas que antecedem a administração pretendida da droga até a última coleta de amostra;
- Você não poderá usar drogas e medicamentos não permitidos;
- Você não poderá ter praticado exercícios muito intensos em 24 horas que antecedem a primeira coleta até o exame de acompanhamento;
- Você não poderá tomar bebidas contendo cafeína e xantinas, como por exemplo, café, chá, refrigerante tipo coca-cola e chocolate em 12 horas que antecedem a administração da medicação até a última coleta de sangue.

É de sua responsabilidade em relação sua participação no ensaio clínico:

- Comparecer ao estudo nos horários e datas marcadas;
- Tomar toda medicação prevista;
- Ingerir toda alimentação e líquidos previstos;
- Retornar à unidade na data e horário informados para realização da consulta e exames de alta, independentemente de ter havido interrupção em sua participação no estudo.

Caso você seja mulher, é condição essencial para sua participação que você não esteja grávida. Isto será comprovado pelo exame de  $\beta$ HCG. Sua participação não será permitida caso você engravide após a realização dos exames clínico-laboratoriais; se estiver amamentando; ou se estiver tentando engravidar neste período. Caso suspeite de gravidez, deverá comunicar imediatamente o fato à equipe e deverá interromper sua participação sem prejuízo dos seus direitos.

### **Responsabilidades do Laboratório Responsável**

É de responsabilidade do médico do estudo garantir que você receba um tratamento definitivo para qualquer evento adverso (eventos não programados que venham a ocorrer afetando sua saúde), se necessário. Os eventos adversos deverão



ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais, caso seja necessário. Estas atividades podem permanecer mesmo após a finalização do estudo.

A nossa equipe irá monitorar a sua segurança clínica desde a ocorrência de um evento adverso até a recuperação satisfatória.

Em casos de emergência, o Hospital de internação dará o suporte que você precisar.

### **E seu eu tiver dúvidas?**

Se houver qualquer dúvida ou problema de saúde que você apresente durante sua participação no estudo, entre em contato com o médico responsável Dr. X no endereço ou telefone abaixo:

Instituição: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Endereço: Av. Prof. Montenegro, s/n - Jardim São Jose, Botucatu – FMB - UNESP

CEP 18618-686, Botucatu/SP.

Número de Telefone: 55 (14) 3880-1691

Em caso de emergência, você poderá ligar para o seguinte telefone (24 horas):

Dr. X

Fone: 55 (14) X

Este estudo clínico foi analisado por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). O CEP é um órgão que tem por objetivo proteger o bem-estar dos indivíduos pesquisados. Ele é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, visando assegurar a dignidade, os direitos, a segurança e o bem-estar do sujeito de pesquisa.

Se você tiver alguma dúvida e/ou consideração sobre a ética da pesquisa, sobre seus direitos como participante deste estudo, ou se estiver insatisfeito com a maneira como o estudo está sendo realizado, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNESP – FMB. O Comitê de Ética em Pesquisa funciona de segunda a sexta-feira das 8h00 às 11h30 e 14h00 às 17h00, através dos telefones (14) 3880-1608 ou (14) 3880-1609 ou pelo endereço Chacára Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo - CEP: 18618-970 (Próximo a FAMESP).

### **Consentimento pós-informação**

Você receberá uma via original do termo de consentimento livre e esclarecido assinado e datado para guardar com você e a outra via original assinada e datada será guardada no arquivo do médico.

Assinando abaixo, reconheço que:

1. Li e entendi todas as informações deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
2. Tive oportunidade de ter todas as minhas dúvidas esclarecidas;
3. Concordo voluntariamente em participar deste estudo de pesquisa;
4. Compreendo que minha participação é voluntária e que tenho liberdade de sair do estudo em qualquer momento, independente do motivo e sem que isso interfira no meu atendimento médico e nos meus direitos legais;
5. Receberei uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devidamente assinado e datado.

<hr style="border: none; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> Nome do participante	<hr style="border: none; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> Responsável pela obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<hr style="border: none; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> Assinatura do participante Data:	<hr style="border: none; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> Assinatura do Responsável pela obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Data:

## **APÊNDICE II**

### **DIETA/REFEIÇÕES**

**Título do estudo:** Estudo clínico para avaliação de biodisponibilidade comparativa entre formulação de liberação imediata de 100mg e formulação de liberação prolongada de 200mg de benzonidazol em participantes saudáveis de ambos os sexos.

**Identificação do Protocolo:** EC01-2017

**Versão:** 1.0 de 01 de Setembro de 2017

**Produto(s):** Benzonidazol

De acordo com a Resolução - RE nº 1.170/2006, como se trata de uma formulação de liberação prolongada, serão necessários dois estudos independentes: o estudo 1, os participantes estarão em jejum e no estudo 2, os participantes estarão alimentados.

#### **1. ESTUDO EM JEJUM**

Os participantes deverão permanecer em jejum absoluto a partir das 22 horas da noite do confinamento, pelo menos 10 horas de jejum antes da administração da medicação, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Horário das refeições para participantes do estudo em jejum.

<b>Dia</b>	<b>Refeição</b>	<b>Horário</b>
1	Café da manhã	-
1	Almoço	4 horas após administração do medicamento
1	Lanche da tarde	8 horas após administração do medicamento
1	Jantar	10 horas após administração do medicamento
1	Ceia	14 horas após administração do medicamento
2	Café da manhã	24 horas após administração do medicamento

**Tabela 2.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
22h00	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
8h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
12h00	Almoço	<i>Ad libitum permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)</i>
16h00	Lanche da tarde	Permitido
18h00	Jantar	Permitido
20h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
22h00	Ceia	Permitido

**Tabela 3.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão de líquidos para participantes em jejum do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeição</b>	<b>Líquidos</b>
22h00	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
8h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
12h00	Almoço	<i>Ad libitum permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)</i>
16h00	Lanche da tarde	Permitido
18h00	Jantar	Permitido
22h00	Ceia	Permitido

**Tabela 4.** Composição das refeições do estudo em jejum.

<b>Refeição</b>	<b>Composição</b>
Ceia	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
Almoço	Arroz, feijão, isca de frango, batata assada, salada de alface e tomate, pudim de baunilha e suco artificial de laranja.
Lanche da tarde	Suco de laranja natural, torrada, bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.
Jantar	Arroz, feijão, carne assada, batata chips, salada de alface e tomate, suco artificial de laranja e pudim.
Ceia	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
Café da manhã	Suco de laranja natural, açúcar (sachê), bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.

## 2. ESTUDO ALIMENTADO

**Tabela 5.** Horário das refeições para participantes do estudo alimentado.

<b>Dia</b>	<b>Refeição</b>	<b>Horário</b>
1	Café da manhã	½ hora antes da administração do medicamento
1	Almoço	4 horas após administração do medicamento
1	Lanche da tarde	8 horas após administração do medicamento
1	Jantar	10 horas após administração do medicamento
1	Ceia	14 horas após administração do medicamento
2	Café da manhã	24 horas após administração do medicamento

**Tabela 6.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação imediata de benzonidazol de 100mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeições</b>	<b>Líquidos</b>
22h00	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
7h30	Dieta específica hipercalórica	-
8h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
12h00	Almoço	<i>Ad libitum permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)</i>
16h00	Lanche da tarde	Permitido
18h00	Jantar	Permitido
20h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
22h00	Ceia	Permitido

**Tabela 7.** Horários de administração de medicação, refeições e ingestão líquidos para participantes alimentados do braço que receberem a formulação de liberação prolongada de benzonidazol de 200mg.

<b>Período 1 e 2</b>		
<b>Horários</b>	<b>Refeições</b>	<b>Líquidos</b>
22h00	Ceia leve	<i>Ad libitum até as 2h00</i>
7h30	Dieta específica hipercalórica	-
8h00	Administração da medicação	250mL de água sem gás
12h00	Almoço	<i>Ad libitum permitido somente 2 horas após a ingestão da medicação)</i>
16h00	Lanche da tarde	Permitido
18h00	Jantar	Permitido
22h00	Ceia	Permitido

Os participantes que estiverem no braço do estudo da tomada da formulação imediata de benzonidazol de 100mg irão ingerir o segundo comprimido 12 horas após a ingestão do primeiro, logo, às 20h00 do mesmo dia.



**Tabela 8.** Composição das refeições do estudo alimentado.

<b>Refeição</b>	<b>Composição</b>
Ceia	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
Dieta específica	1 iogurte de morango, 1 croissant, margarina, 3 fatias de queijo prato, 2 fatias de presunto cozido com capa de gordura, 1 sachê de requeijão e 1 bolo recheado;
Almoço	Arroz, feijão, isca de frango, batata assada, salada de alface e tomate, pudim de baunilha e suco artificial de laranja.
Lanche da tarde	Suco de laranja natural, torrada, bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.
Jantar	Arroz, feijão, carne assada, batata chips, salada de alface e tomate, suco artificial de laranja e pudim.
Ceia	Suco de laranja natural, torrada, pão francês, bolacha doce, margarina, geleia e açúcar.
Café da manhã	Suco de laranja natural, açúcar (sachê), bolacha doce, margarina, geleia e pão francês.

**Tabela 9.** Composição da dieta específica hipercalórica de pacientes alimentados.

	Quantidade	Proteína (g)	Carboidrato (g)	Lípido (g)
logurte de morango	180 mL	4,86	33,84	4,32
Croissant	50g	4,64	20,90	12,50
Queijo prato	60g (3 fatias)	14,64	0	16,62
Presunto cozido com capa de gordura	40g (2 fatias)	6,0	0,40	3,60
Bolo recheado de morango	40g	2,2	25,00	2,10
Requeijão	18g (1 sachê)	1,98	0,60	4,19
Margarina	10g (1 sachê)	0,06	0,04	7,57
<b>Kcal</b>		<b>139,68</b>	<b>338,16</b>	<b>462,42</b>
<b>Total Kcal</b>	<b>940,26</b>			

**APÊNDICE III**  
**TEXTO DE DIVULGAÇÃO DO ESTUDO**

**VOLUNTÁRIO, SUA PARTICIPAÇÃO É MUITO IMPORTANTE**  
**ESTAMOS CONVOCANDO**

**Homens e mulheres saudáveis, com idade entre 18 e 50 anos para a**  
**participação em estudo clínico.**

**APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA –**  
**UNESP/BOTUCATU**

Somente com sua participação nas pesquisas clínicas será possível o desenvolvimento de medicamentos novos, genéricos e similares.

**DIREITOS DOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA**

- 1 - Sua saúde sempre em primeiro lugar;
- 2 - Sigilo e privacidade de seus dados;
- 3 - Ressarcimento pela participação no estudo;
- 4 - Informações sobre o andamento e resultado do estudo;
- 5 - Liberdade para decidir se participará ou não do estudo;
- 6 - A qualquer momento poderá desistir do estudo;
- 7 - Sem prejuízo em casos de desistência ou não participação;
- 8 - Acesso ao investigador principal;
- 9 - Indenização por possíveis danos relacionados ao estudo;
- 10 - Esclarecimento de todas as suas dúvidas.

**Os interessados devem entrar em contato pelo número/endereço:**

55 (14) 3880-1691

Endereço: Av. Prof. Montenegro, s/n - Jardim São José, Botucatu/SP – FMB -  
UNESP – CEP:18618-686

## APÊNDICE IV

### TERMO DE RECRUTAMENTO

Você está sendo convidado a participar de um processo de recrutamento de voluntários para um estudo de pesquisa clínica. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade.

A sua participação neste processo de recrutamento tem como objetivo avaliar suas condições de saúde para possível participação em um projeto de pesquisa clínica.

Você participará de uma reunião e terá uma pré-consulta com uma enfermeira para verificação de alguns dados (temperatura, peso, altura, massa corporal, pulso, pressão arterial e alguns questionamentos). Em seguida terá uma consulta com um médico, o qual realizará um exame físico e clínico.

Após a consulta serão agendadas as coletas dos seguintes exames laboratoriais: exames de sangue (hemograma completo; bioquímica sanguínea, glicose no sangue, proteínas totais, albumina, bilirrubina total, fosfatase alcalina, transaminases oxalacética e pirúvica, gamaglutamil transferase, creatinina, ureia, ácido úrico, colesterol e triglicerídeos); exame de urina,  $\beta$ HCG em mulheres e exame para avaliar a atividade elétrica do coração (eletrocardiograma - ECG).

Seus exames serão avaliados pelo médico e se estiverem dentro dos limites aceitáveis, serão realizados os exames para a hepatite (B e C) e para AIDS (HIV) no sangue e teste de gravidez ( $\beta$ HCG), para as mulheres.

Serão realizados exames para a detecção de drogas de abuso e de álcool (bafômetro), se necessário.

Você possui a liberdade de desistir ou interromper a participação no estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação. Esta desistência não implicará em qualquer penalidade.

Os resultados obtidos durante o estudo serão mantidos em sigilo e a UPECLIN não identificará o voluntário por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos. Você receberá todas as informações sobre os resultados dos exames e orientações sobre qualquer anormalidade.

Caso esteja sob tratamento médico no momento, ou esteja fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações, ou ainda tenha participado em outro estudo clínico no período de 180 dias (6 meses) antes da assinatura deste termo de seleção prévia,

você não poderá ser recrutado.

Caso tenha doado ou perdido 450 mL ou mais sangue dentro dos três meses, ou tenha doado mais de 1500 mL dentro dos 12 meses antes da data de avaliação, você não poderá ser recrutado.

Caso seja selecionado para participar do estudo, você fará uma nova entrevista antes da internação e nesta serão fornecidos os dados do estudo. Neste caso, você deverá assinar outro termo denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da administração da medicação.

Eu, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG nº \_\_\_\_\_, após ter recebido as orientações e lido o documento acima, declaro que é de livre e espontânea vontade que estou participando como voluntário de um processo de recrutamento para um projeto de pesquisa clínica na UPECLIN, sob responsabilidade do médico/pesquisadores XXX.

Botucatu, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do profissional responsável

## APÊNDICE B

### Planejamento Financeiro

Campinas, 27 de Julho de 2017.

<b>ORÇAMENTO:</b>	240.01.17R1	<b>DATA DE SOLICITAÇÃO:</b>	27/07/16
<b>CONTATO:</b>	Carolina Peres	<b>VALIDADE DE PROPOSTA:</b>	Agosto/17
<b>TELEFONE:</b>	(19) 9 97700205	<b>E-MAIL:</b>	carol_peres88@hotmail.com

**Orçamento:**

Princípio Ativo: Benzonidazol 100mg x benzonidazol 200mg (teste)

Lista 1 – Forma de Administração: Jejum / Alimentado\*\*

Lista 2 – Analito para estabelecimento de BD/BE: Inalterado\*

\*Não Conta na Lista 1 e 2 da ANVISA

Participantes de Pesquisa: 24 Participantes de Pesquisa\*\*

Desenho: Estudo 2x2, Cross - Over

Total de coletas: 15 por período / 30 por estudo\*\*

Número total de amostras: 720 amostras biológicas de Benzonidazol\*\*

\*\* Solicitado pelo patrocinador

<b>Orçamento</b>	<b>Jejum</b>	<b>Alimentado</b>
Etapa Clínica	R\$ 91.200,00	R\$ 91.200,00
Etapa Analítica	R\$ 46.800,00	R\$ 46.800,00
Etapa Estatística	R\$ 6.000,00	R\$ 6.000,00
<b>Total</b>	<b>R\$ 144.000,00 (Cento e Quarenta e Quatro Mil Reais)</b>	<b>R\$ 144.000,00 (Cento e Quarenta e Quatro Mil Reais)</b>

<b>Valores Adicionais</b>	
<b>Padrões Analíticos</b>	
<b>Total do Estudo</b>	<b>R\$ 12.800,00</b>



CAEP - Centro Avançado de Estudos e Pesquisas Ltda.  
Rua José Geraldo Cerebino Christóforo, 245  
Faz. Santa Cândida - Campinas/SP - CEP 13087-567  
Fone: 19 3756.6893 - Fax: 19 3756.6899  
E-mail: contato@caepcampinas.com.br  
www.caepcampinas.com.br

**Quantidade de amostras:**

Aproximadamente 60 comprimidos do medicamento TESTE + 60 comprimidos do medicamento REFERÊNCIA

**Previsões:**

- Início: 02 semanas após entrega de amostras, laudo de Equivalência Farmacêutica e aprovação do protocolo no Comitê de Ética.
- Conclusão: 3 semanas após entrega das concentrações da Etapa Analítica.

Atenciosamente,

**Thiago Augusto Muterle de Paula**  
**Centro Avançado de Estudos e Pesquisas - CAEP**  
**Rua José G. C. Christóforo, 245 - Faz. Sta. Cândida**  
**13087-567 - Campinas/SP**  
**Tel: (19) 3756-6873**



CAEP - Centro Avançado de Estudos e Pesquisas Ltda.  
Rua José Geraldo Cerebino Christóforo, 245  
Faz. Santa Cândida - Campinas/SP - CEP 13087-567  
Fone: 19 3756.6893 - Fax: 19 3756.6899  
E-mail: contato@caepcampinas.com.br  
www.caepcampinas.com.br