

## **RESOLUÇÃO - RE Nº 397, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2004.**

O Adjunto da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição, que lhe confere a Portaria n.º 13, de 16 de janeiro de 2004, considerando o disposto no art.111, inciso II, alínea "a" § 3º do Regimento Interno aprovado pela Portaria n.º 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada, que a aprovou em reunião realizada em 8 de novembro de 2004, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação do "Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência" anexo.

Art. 2º Fica revogada a Resolução RE no 896, de 29 de maio de 2003.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DAVI RUMEL

ANEXO

### **GUIA PARA PROVAS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS**

Os estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência deverão contemplar três etapas: clínica, analítica e estatística, e devem ser planejados e apresentados conforme o GUIA PARA ELABORAÇÃO DE PROTOCOLO DE ESTUDO DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA e o GUIA PARA ELABORAÇÃO DE RELATÓRIO TÉCNICO DE ESTUDO DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA, respectivamente.

#### **1. Etapa clínica**

a) os medicamentos teste e referência a serem submetidos ao estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência deverão, inicialmente, ser analisados segundo sua monografia inscrita na Farmacopéia Brasileira e, na falta desta, em outros códigos autorizados pela legislação vigente, seguindo GUIA PARA REALIZAÇÃO DO ESTUDO E ELABORAÇÃO DO RELATÓRIO DE EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA E PERFIL DE DISSOLUÇÃO. A diferença de teor do fármaco entre os medicamentos teste e referência não deve ser superior a 5% (cinco por cento).

b) o estudo é realizado por meio da quantificação do fármaco e/ou do metabólito ativo na circulação (sangue, plasma ou soro) ou através de sua quantificação na urina, quando justificado. Alternativamente, o estudo poderá ser realizado comparando medidas farmacodinâmicas.

c) estudos que envolvem medida de efeito farmacodinâmico são indicados nos casos em que não é possível quantificar o fármaco na circulação de forma precisa e exata, pois a concentração do mesmo é muita baixa (por exemplo: suspensões oftálmicas, inalatórios de ação local, etc).

d) em geral, a bioequivalência deve ser baseada no fármaco inalterado. A não quantificação do fármaco inalterado só será aceita nos casos em que sua concentração não puder ser adequadamente determinada por limitações analíticas ou devido à rápida biotransformação. Nesses casos, uma justificativa científica apropriada para ausência dos dados do fármaco inalterado deve ser enviada. Quando houver metabólito ativo (equipotente ou mais ativo que o inalterado), formado por metabolismo pré-sistêmico, que contribua para a eficácia e segurança do produto e não haja informações na literatura científica, ou esta indique a necessidade da quantificação do fármaco inalterado e do metabólito, o protocolo de estudo poderá ser submetido para avaliação prévia da Anvisa. No protocolo deverá ser definido em qual analito a bioequivalência será estabelecida. A substância escolhida para esse fim deverá cumprir os critérios estabelecidos para determinação da bioequivalência.

e) o estudo convencional é do tipo aberto, aleatório, cruzado. Os voluntários recebem os medicamentos teste e referência em ocasiões separadas (períodos), em esquema de dose simples ou múltipla. Pode ser utilizado desenho paralelo, quando se fizer necessário.

f) os medicamentos devem ser administrados aos voluntários com volume de líquido padronizado (geralmente 200 mL de água).

g) o número de períodos e de seqüências do estudo será determinado em função do número de medicamentos em análise, de forma a assegurar a validade estatística, conforme GUIA PARA PLANEJAMENTO E REALIZAÇÃO DA ETAPA ESTATÍSTICA DE ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA. O intervalo entre os períodos deverá ser de, no mínimo, sete meias-vidas de eliminação do fármaco e/ou metabólito.

h) o cronograma de coleta das amostras deverá contemplar um tempo igual ou superior a 3-5 vezes a meia-vida de eliminação do fármaco ou metabólito.

i) o número de voluntários sadios 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 (ver GUIA PARA PLANEJAMENTO E REALIZAÇÃO DA ETAPA ESTATÍSTICA DE ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/ BIOEQUIVALÊNCIA), não sendo permitida utilização de número inferior a 12. Na falta de dados relativos ao coeficiente de variação do fármaco, o pesquisador responsável pelo estudo pode optar por utilizar um número mínimo de 24 voluntários. O protocolo do estudo deve estabelecer número suficiente de voluntários prevendo possíveis "dropouts".

j) de acordo com o medicamento, os estudos poderão ser conduzidos em voluntários com idade entre 18 e 50 anos e capazes de fornecer seu consentimento livre e esclarecido, do sexo masculino, feminino ou ambos, sendo que neste último caso, o número de homens e de mulheres deverá ser igual e distribuído igualmente entre as seqüências.

k) o peso dos voluntários deverá estar em um limite de  $\pm 15\%$  do peso considerado normal para homens e mulheres, levando-se em consideração altura e estrutura física.

l) deve-se evitar indivíduos fumantes e com histórico de abuso de álcool ou drogas. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem estar identificados.

m) no caso de estudos que necessitem de voluntários com características diferentes das citadas anteriormente, a inclusão dos mesmos deverá ser justificada cientificamente.

n) medicamentos citotóxicos devem ser testados em pacientes voluntários, portadores da patologia para a qual o medicamento é indicado, com seu consentimento livre e esclarecido ou de seu representante legal, em caso de impossibilidade do mesmo.

o) no caso de fármacos que apresentam meia-vida de eliminação longa (superior a 24 horas), poderá ser utilizado um cronograma de coletas alternativo, até 72 horas, que possibilite a determinação da área sob a curva truncada (ASC0-72), ou um estudo paralelo.

p) estudos de doses múltiplas não são, geralmente, recomendados, uma vez que estudos de dose única são mais sensíveis a diferenças nas formulações. Entretanto, os estudos de dose múltipla podem ser utilizados nos casos em que, reconhecidamente, os mesmos reduzam a variabilidade inter-individual no processo de absorção do fármaco.

q) devem ser realizados estudos com alimentação nos seguintes casos:

q.1. formas de liberação prolongada ou controlada (adicionalmente ao estudo em jejum);

q.2. formas de liberação retardada, que apresentam revestimento gastro-resistente, quando houver indicação na Lista 1- Forma de Administração (acessível no portal da Anvisa). Caso o fármaco não conste na lista, deve ser realizada uma consulta prévia à Anvisa para verificação da necessidade do estudo com alimentos;

q.3. formas de liberação imediata cujos fármacos tenham a absorção influenciada pela presença de alimentos, resultando em alterações clinicamente significativas e na indicação de administração do medicamento com alimentos. Deve ser verificada a Lista 1- Forma de Administração (acessível no portal da Anvisa) e, caso o fármaco não conste na lista, deve ser realizada uma consulta prévia à Anvisa para verificação da necessidade do estudo com alimentos.

Nos casos de dúvida, o protocolo de estudo poderá ser submetido à avaliação prévia da Anvisa.

r) o investigador deve preencher um formulário de registro de eventos adversos e relacionar os procedimentos adotados para controle ou tratamento dos mesmos.

s) o projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido devem ser submetidos e aprovados por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) credenciado no Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde/MS. Deverá constar no título do projeto o nome do fármaco, a dose por unidade, a forma farmacêutica e nome do fabricante dos medicamentos teste e de referência. Esse título também deverá constar no protocolo experimental, no termo de consentimento livre e esclarecido, bem como no parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.

t) os voluntários participantes dos estudos clínicos, que necessitem de confinamento, deverão permanecer em local apropriado que atenda às Boas Práticas de Clínica (BPC), sob a responsabilidade de profissional médico.

u) nos casos em que seja necessário transportar as amostras biológicas (plasma, soro ou urina) deve-se seguir o procedimento de Boas Práticas de Laboratório (BPL) para preservar as características do material a ser analisado. Utilizar embalagem apropriada (certificada) de acondicionamento e transporte. A temperatura da amostra biológica deverá ser registrada com aparelho calibrado para garantir a manutenção da estabilidade durante o período de transporte.

v) devem ser relatados e justificados todos os desvios de protocolo.

## 2. Etapa analítica

Todas as etapas do estudo deverão ser realizadas de acordo com as normas internacionais de Boas Práticas de Laboratório (BPL) e conforme o GUIA PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E BIOANALÍTICOS.

a) o método bioanalítico, cromatográfico ou outro, empregado para quantificação do fármaco em líquido biológico, deve ser descrito detalhadamente na forma de protocolo ou procedimento operacional padrão (POP) e deve ser validado para sua aplicação. É recomendável o uso de métodos cromatográficos;

c) a relação entre a concentração do analito e a resposta proveniente do método bioanalítico deve apresentar reprodutibilidade e ser definida adequadamente, empregando-se número suficiente de padrões para a construção da curva de calibração;

d) devem ser realizados estudos de estabilidade do analito (fármaco ou metabólito) nos líquidos biológicos;

e) o protocolo analítico deverá conter os critérios para reanálise das amostras; não mais do que 20% das amostras poderão ser reanalisadas;

f) deve-se justificar qualquer perda de amostra;

g) a análise das amostras poderá ser efetuada nas seguintes condições: sem réplica, em duplicata ou triplicata. Para análise de amostras em duplicata ou triplicata, os critérios de aceitação dos resultados devem ser descritos no POP;

h) todas as determinações com valores menores do que o Limite Inferior de Quantificação (LIQ), deverão ser consideradas iguais a zero, para os cálculos estatísticos;

i) o protocolo analítico deverá conter os critérios de reintegração de dados da amostra;

j) devem ser relatados e justificados todos os desvios de protocolo.

## 3. Etapa estatística

### 3.1. Metodologia geral

3.1.1. os parâmetros farmacocinéticos serão obtidos das curvas de concentração sanguínea do fármaco versus tempo, e analisados estatisticamente para determinação da bioequivalência.

3.1.2. os seguintes parâmetros farmacocinéticos devem ser determinados:

3.1.2.1. a área sob a curva de concentração sanguínea versus tempo, calculada pelo método dos trapezóides, do tempo zero ao tempo  $t$  ( $ASC0-t$ ), onde  $t$  é o tempo relativo à última concentração do fármaco determinada experimentalmente (acima do limite de quantificação);

3.1.2.2. a área sob a curva de concentração sanguínea versus tempo, calculada do tempo zero ao tempo infinito ( $ASC0-inf$ ), onde  $ASC0-inf = ASC0-t + C_t/k$ , onde  $C_t$  é a última concentração do fármaco determinada experimentalmente (acima do limite de quantificação) e  $k$  é a constante de eliminação da fase terminal. A  $ASC0-t$  deve ser igual ou superior a 80% da  $ASC0-inf$ , exceto nos casos em que se utiliza  $ASC$  truncada;

3.1.2.3. o pico de concentração máxima ( $C_{max}$ ) do fármaco e/ou metabólito e o tempo para atingir este pico ( $T_{max}$ ) devem ser obtidos diretamente, sem interpolação dos dados;

3.1.2.4. a meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) do fármaco e/ou metabólito também deve ser determinada, embora não haja necessidade de tratamento estatístico;

3.1.2.5. para estudos que empregam doses múltiplas devem ser determinados os seguintes parâmetros:

a)  $ASC0-t$  calculado no intervalo de dose ( $\tau$ ) no estado de equilíbrio;

b)  $C_{max}$  e  $T_{max}$ , obtidos sem interpolação de dados; concentração mínima do fármaco ( $C_{min}$ ), determinada no final de cada intervalo de dose do estado de equilíbrio;

c) concentração média do fármaco no estado de equilíbrio ( $C^* = ASC0-t / \tau$ );

d) grau de flutuação no estado de equilíbrio;

3.1.2.6. para avaliação da bioequivalência devem ser empregados os parâmetros  $ASC0-t$ ,  $C_{max}$  e  $T_{max}$ ;

3.1.2.7. no caso de estudos com doses múltiplas deve-se comprovar que o estado de equilíbrio foi alcançado após a administração dos medicamentos teste e referência;

3.1.3. não será permitida a exclusão de mais de 5% dos voluntários que participaram do estudo até a sua conclusão ou a falta de mais de 10% dos valores das concentrações sanguíneas do fármaco provenientes da administração de cada medicamento por voluntário.

3.2. Análise estatística (ver GUIA PARA PLANEJAMENTO E EXECUÇÃO DA ETAPA ESTATÍSTICA DE ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/ BIOEQUIVALÊNCIA)

a) deve-se apresentar tabela contendo valores individuais, médias (aritmética e geométrica), desvio padrão e coeficiente de variação de todos os parâmetros farmacocinéticos relacionados à administração dos medicamentos teste e referência;

b) recomenda-se que os parâmetros ASC<sub>0-t</sub> e C<sub>max</sub> sejam transformados em logaritmo natural, uma vez que, em geral, a distribuição dos dados transformados se aproxima mais a uma distribuição normal em relação aos dados originais. Deve-se apresentar justificativas nos casos em que se optar por realizar a análise estatística nos dados em escala original;

c) deve-se realizar análise de variância (ANOVA) dos parâmetros farmacocinéticos ASC<sub>0-t</sub> e C<sub>max</sub> transformados para avaliar os efeitos de seqüência, de voluntário dentro da seqüência, período e tratamento. Além disso, deve-se apresentar tabela de ANOVA contendo fonte, grau de liberdade, soma dos quadrados, quadrado médio, estatística F, valor de p e os coeficientes de variação intra e inter individuais;

d) deve-se construir um intervalo de confiança (IC) de 90% para a diferença das médias dos dados transformados dos medicamentos teste e referência, para os parâmetros ASC<sub>0-t</sub> e C<sub>max</sub>. O antilogaritmo do IC obtido constitui o IC de 90% para a razão das médias geométricas dos parâmetros:

$$(ASC_{0-t} \text{ teste} / ASC_{0-t} \text{ referência e } C_{\text{máx}} \text{ teste} / C_{\text{máx}} \text{ referência})$$

A construção desse IC deve ser baseada no quadrado médio residual da ANOVA obtida conforme item c;

e) T<sub>max</sub> será analisado como diferença individual (= teste - referência), construindo-se IC de 90%, utilizando-se teste não paramétrico;

f) dois medicamentos serão considerados bioequivalentes se os valores extremos do intervalo de confiança de 90% da razão das médias geométricas (ASC<sub>0-t</sub> teste/ASC<sub>0-t</sub> referência e C<sub>max</sub> teste/C<sub>max</sub> referência) forem maiores que 0,8 e menores que 1,25. Outros limites de IC de 90% para C<sub>max</sub>, previamente estabelecidos no protocolo, poderão ser aceitos mediante justificativas científicas. Quando clinicamente relevante, T<sub>max</sub> deverá também ser considerado;

g) esse método baseado em IC é equivalente ao procedimento de dois testes unicaudais correspondentes com a hipótese nula de bioinequivalência, com nível de significância de 5% (alfa=0,05);

h) programas estatísticos validados devem ser utilizados;

i) quando necessário, modelos estatísticos apropriados, dependendo do tipo de estudo (por exemplo, de doses múltiplas) devem ser empregados;

j) no caso de voluntários que apresentem comportamento discrepante nos parâmetros farmacocinéticos, em relação aos demais voluntários, sua exclusão do estudo deverá ser justificada. Deverão ser apresentados os resultados do estudo com e sem a inclusão de seus dados.

k) informar os programas (softwares) usados para a análise estatística dos dados.