

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

MARIANA DE ALMEIDA ROSA REZENDE

**METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE VARFARINA
DE REFERÊNCIA E GENÉRICA: COMPARATIVO ENTRE AGÊNCIAS
REGULATÓRIAS**

**Governador Valadares - MG
2019**

MARIANA DE ALMEIDA ROSA REZENDE

**METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE
VARFARINA DE REFERÊNCIA E GENÉRICA: COMPARATIVO
ENTRE AGÊNCIAS REGULATÓRIAS**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo, como requisito parcial para obtenção de título de bacharel em farmácia, na Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Avançado Governador Valadares.

Orientadora: Prof.^a Dra. Regina Gendzelevski Kelmann

**Governador Valadares - MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rezende, Mariana de Almeida Rosa.

Metodologias de análise de bioequivalência entre varfarina de referência e genérica : Comparativo entre agências regulatórias / Mariana de Almeida Rosa Rezende. -- 2019.

27 p.

Orientadora: Regina Gendzelevski Kelmann

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, 2019.

1. Varfarina . 2. Bioequivalência. 3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 4. Food and Drug Administration. 5. European Medicines Agency. I. Kelmann, Regina Gendzelevski, orient. II. Título.

MARIANA DE ALMEIDA ROSA REZENDE

**METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE VARFARINA DE
REFERÊNCIA E GENÉRICA: COMPARATIVO ENTRE AGÊNCIAS
REGULATÓRIAS.**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo, como requisito parcial para obtenção de título de bacharel em farmácia, na Universidade Federal de Juiz de Fora – *Campus* Avançado Governador Valadares.

Aprovado em: 18/01/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Regina Gendzelevski Kelmann – Orientadora

Prof^ª. Dra. Carina Carvalho Silvestre

Prof^ª. Dra. Ivanildes Vasconcelos Rodrigues

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, em especial à minha mãe, Letícia, que sempre acreditou que eu seria capaz de conquistar tudo que quisesse, e me incentivou a lutar pelos meus sonhos desde pequena. Não teria conseguido sem você!

Aos meus irmãos, Raul e Emanuel, que me viram como farmacêutica desde a aprovação no vestibular, e com isso me incentivaram a me tornar uma profissional melhor.

Aos meus avós, Filipina, por ter sido exemplo de força e crescimento através dos estudos, e Zé Rosa, por ter sido resiliência durante toda sua vida. Obrigada por me acompanharem mesmo como estrelas.

Aos amigos que Governador Valadares me deu, em especial à Brisa, Ianka e Juliana, que sempre estavam dispostas a me ouvir e ajudar mesmo quando não sabia que precisava. As amigas que resistiram à distância durante os últimos cinco anos, Bia e Lê, obrigada por toda admiração e torcida. Aos colegas do Laboratório Globo, por me acolherem e emanarem energias positivas todas as vezes que pensei que não seria possível concluir este trabalho.

Ao Emanuel, por todo carinho, cuidado e atenção que comigo teve durante todos esses anos, sendo meu melhor amigo e maior incentivador.

A todos os professores que passaram por minha vida, em especial àqueles que acreditaram em meu potencial durante a graduação, representados aqui pela Priscila, Regina, Gabriella, Andréia, Ivanildes e Leonardo. Obrigada pela oportunidade de escrever um artigo, ter contato com a sabedoria dos idosos, coordenar uma liga acadêmica, conhecer a realidade e carência de um assentamento, elaborar um material de apoio para a Vigilância Sanitária e conhecer equipamentos e técnicas que nunca pensei que teria acesso. Vocês me prepararam como pessoa e como farmacêutica, e serei eternamente grata por isso.

À minha orientadora, Regina, que sempre esteve presente na minha graduação, desde a química geral ao TCC, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

À Deus, por ter colocado essas pessoas maravilhosas em meu caminho, e me ter feito soma de tudo que com elas aprendi.

*“Que os meus ideais sejam tanto mais fortes quanto maiores forem os desafios,
mesmo que precise transpor obstáculos aparentemente intransponíveis.
Porque metade de mim é feita de sonhos e a outra metade é de lutas.”*

Vladimir Maiakovski

METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE VARFARINA DE REFERÊNCIA E GENÉRICA: COMPARATIVO ENTRE AGÊNCIAS REGULATÓRIAS

Mariana de Almeida Rosa Rezende^{1*}, Regina Gendzelevski Kelmann².

¹ Graduanda em Farmácia, UFJF, Governador Valadares, MG, Brasil.

² Professora Adjunta do Departamento de Farmácia, UFJF, Governador Valadares, MG, Brasil.

*Autora Correspondente – marianaarrezende@gmail.com

Resumo: As agências reguladoras de medicamentos são responsáveis pela fiscalização da produção e comercialização de medicamentos. Para que a qualidade de um medicamento genérico seja atestada, é necessário que testes de bioequivalência sejam realizados. Estes devem comprovar que o medicamento referência e o medicamento teste possuem uma variação não muito significativa de biodisponibilidade. Os limites de variação são determinados pelas agências reguladoras, bem como as condições para que esses testes sejam realizados. A varfarina, um fármaco de baixo índice terapêutico (BIT), deve atender a requisitos mais rigorosos para ser considerada bioequivalente, a considerar os riscos que podem causar ao paciente, como hemorragias que podem levar a óbito devido a sua janela terapêutica estreita, o que faz dela um fármaco de BIT. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), agência regulatória brasileira, determina limite de bioequivalência entre 95% e 105% para fármacos de BIT; o *Food and Drug Administration* (FDA), agência regulatória estadunidense, é mais permissiva, com limites de aceitação entre 80% e 125%, mas com testes estatísticos específicos para a varfarina, induzindo a análises estatísticas mais sensíveis. A *European Medicines Agency* (EMA) utiliza a mesma análise estatística que o FDA, e limite de aceitação entre 90% e 111,11% para fármacos de BIT. Alguns estudos apontam a necessidade do FDA diminuir seu limite de aceitação, e outros apontam ainda testes que deveriam ser realizados com a varfarina para avaliação de sua biodisponibilidade, envolvendo testes *in vitro* e até farmacogenéticos.

Palavras-chave: Varfarina, Bioequivalência, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Food and Drug Administration, European Medicines Agency.

Abstract: As drug regulators are controlled by the production and marketing of drugs. For a quality of a genetic medicine to be met, bioequivalence tests must be performed. These were the reference results and the test of a not very significant series of bioavailability. Line limits are regulated by regulators, as well as the conditions for testing to be performed. Warfarin, a narrow therapeutic index (NTI) drug, should be more stringent to be considered bioequivalent, considering risks that may occur to the patient, such as bleeding that can lead to death due to its narrow therapeutic window, which makes it a BIT drug. ANVISA, the Brazilian regulatory manufacturer, determines bioequivalence between 95% and 105% for NTI drugs; the US Food and Drug Administration (FDA) is more permissive, with limits of 80% and 125%, but with the payment of statistics for a warfarin, inducing a

new update. A European Medicines Agency (EMA) uses a similar analysis to the FDA, and acceptance limits between 90% and 111.11% for NTI drugs. Some studies point to the FDA, and others also point out tests that will be performed with a warfarin to assess its bioavailability, involving in vitro tests and even pharmacogenetics.

Keywords: Warfarin, Bioequivalence, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Food and Drug Administration, European Medicines Agency.

INTRODUÇÃO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), oficialmente regulamentada em 1999, é a autoridade regulatória brasileira responsável pela fiscalização e registro de medicamentos em território nacional. Dispõe de diversas legislações e guias sobre os processos de registro e produção de medicamentos, sejam eles de referência, genéricos ou similares. Tem por finalidade institucional promover a proteção da saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção e consumo de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados [1].

O Food and Drug Administration (FDA) é o órgão regulatório estadunidense, responsável pela aprovação e registro de medicamentos, alimentos e cosméticos nos Estados Unidos. Por pertencer ao maior mercado farmacêutico mundial, o FDA é tido como modelo, principalmente quanto às suas metodologias empregadas para garantir a fabricação e comercialização de medicamentos seguros, eficazes e com qualidade [2].

O sistema regulador europeu de medicamentos é composto por uma rede de cerca de 50 autoridades reguladoras dos 31 países do Espaço Econômico Europeu, a Comissão Europeia e a *European Medicines Agency* (EMA). A EMA, criada em 1995, conta com a cooperação dos Estados-Membros no compartilhamento de conhecimentos especializados na avaliação de medicamentos e informações de segurança. A EMA atua trabalhando nas notificações de efeitos adversos, na supervisão de ensaios clínicos, na realização de inspeções de fabricantes, na conformidade nas boas práticas clínicas, nas boas práticas de fabricação, nas boas práticas de distribuição e nas boas práticas em farmacovigilância [3].

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu no ano de 1999, os objetivos e responsabilidades das agências regulatórias com intuito de fornecer uma estrutura de regulamentação dos medicamentos por meio de uma autoridade nacional, de modo a garantir que a promoção e comercialização de medicamentos estejam de acordo com as informações do produto aprovado, cumprindo os requisitos de conformidade até o momento do uso / consumo. Um sistema de administração e fiscalização para garantir que todos os medicamentos estejam com padrões aceitáveis de qualidade, segurança e eficácia [4, 5].

Esses padrões são alcançados ao realizarem, principalmente, estudos farmacocinéticos, avaliando desde a administração (absorção) do fármaco, até sua excreção, o que possibilita determinar

o efeito terapêutico em função do tempo, sua duração e a concentração máxima atingida no organismo. A biodisponibilidade descreve a velocidade e extensão pela qual um fármaco é absorvido da forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação. Esta velocidade e a extensão da absorção dependem de fatores como insumos e operações unitárias utilizadas no processo de fabricação, esses fatores são as variáveis encontradas entre medicamentos referência e medicamentos genéricos ou similares, cujas principais exigências são possuir o mesmo princípio ativo, forma farmacêutica e concentração que o medicamento de referência [6-8].

Assim, são necessários testes de bioequivalência, que são a comprovação de que a biodisponibilidade de um produto-teste não difere do produto-referência além dos limites aceitáveis, abordando a biodisponibilidade relativa, que é a comparação da biodisponibilidade de dois medicamentos que contêm o mesmo fármaco administrados por via extravascular [8]. Esses estudos avaliam e comparam a biodisponibilidade entre dois medicamentos com mesmo fármaco e a dimensão com a qual as duas formulações se assemelham, possibilitando a comercialização de ambas como bioequivalentes, e conseqüentemente intercambiáveis [6, 8].

A varfarina é um anticoagulante oral de baixo índice terapêutico, estabelecida há mais de meio século para uma variedade de condições em trabalhos experimentais e ensaios clínicos, sendo hoje de uso universal. Antagonista da vitamina K, a varfarina é utilizada principalmente pela sua capacidade de reduzir consideravelmente a mortalidade associada à fibrilação atrial, o tromboembolismo arterial e venoso e as cardiomiopatias com fatores de risco para doenças tromboembólicas [9, 10]. A ação excessiva como anticoagulante da varfarina vem sendo destacada, apontando os riscos aos quais os pacientes são expostos em casos onde as concentrações plasmáticas elevadas do fármaco levam a complicações, muitas das vezes silenciosas, mas que podem ser fatais [11].

Intercorrências relacionadas ao uso da varfarina podem ser previstas através do cálculo da razão normatizada internacional (RNI) do paciente, capaz de determinar um intervalo terapêutico que equilibra o efeito benéfico de redução isquêmica, risco de derrame e o risco de hemorragia maior. No entanto, em estudo realizado por Santos et al [12], no Brasil, parte dos pacientes apresentaram hematoma, epistaxe, equimose e hematúria com RNI em níveis considerados normais, o que indica que os efeitos de concentrações elevadas de varfarina no organismo não necessariamente são facilmente detectáveis a ponto de evitar seus efeitos. Em estudo realizado nos Estados Unidos por McDowell et al [13], é possível observar ainda que, apesar de existir limites de segurança quanto ao uso da varfarina calculados a partir na RNI, ainda é possível observar complicações como Acidente Vascular Cerebral (AVC) isquêmico, hemorragia intracraniana e até óbitos, o que torna a varfarina um fármaco com grande necessidade de cuidados, principalmente no que diz respeito a variações de biodisponibilidade entre medicamentos.

Existem diferentes metodologias e diversas legislações empregadas pelo FDA, EMA e ANVISA quanto aos estudos de bioequivalência para os medicamentos genéricos com fármacos de baixo índice terapêutico. Esses fármacos necessitam de uma maior atenção para a sua

bioequivalência, pois as intensidades dos efeitos farmacodinâmicos e toxicológicos são estreitamente correlacionadas com as doses administradas e a concentração plasmática.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é comparar as diferentes metodologias de bioequivalência das agências regulatórias do Brasil, Estados Unidos e Europa para a varfarina, um fármaco de baixo índice terapêutico, muito utilizado na profilaxia e tratamento de diversas doenças tromboembólicas e suas complicações.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma análise documental das recomendações preconizadas pelas autoridades regulatórias do Brasil (ANVISA), Estados Unidos (FDA) e países que integram a Europa (EMA) (aproximadamente 31 países) sobre os estudos de bioequivalência para a varfarina. Nesse contexto, foram comparadas as definições de medicamentos genéricos e de referência; cálculos de parâmetros de bioequivalência, como área sob a curva do gráfico concentração *versus* tempo, C_{max} e os limites de aceitação de bioequivalência.

Para a realização da revisão, foram feitas buscas portais eletrônicos de informação da ANVISA [14], FDA [15] e EMA [16] quanto às legislações, resoluções e guias oficiais vigentes preconizados que conceituam e expõem as metodologias e abordagens empregadas em estudos de bioequivalência para fármacos de baixo índice terapêutico e, conseqüentemente para a varfarina. Foram selecionados materiais a partir da busca pelos termos “biodisponibilidade”, “bioequivalência”, “genérico”, “baixo índice terapêutico”, “varfarina”, em português e inglês até dezembro de 2018, excluindo matérias cujo conteúdo abordasse biossimilares e fármacos em forma farmacêutica que não fosse sólidos de administração oral.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados nos portais eletrônicos de informação das agências regulatórias legislações, guias, manuais, livros e publicações informativas. Os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 1.

ANVISA

As ações sanitárias no Brasil estão presentes desde o período colonial, com diversos exemplos de resistência a programas de prevenção e combate a doenças, tendo como um dos maiores exemplos de resistência a Revolta da vacina, em meados de 1904, em meio a um surto de varíola. Este episódio deixa claro como a população brasileira associa ações sanitárias a interesses políticos e econômicos. A ANVISA foi criada com a publicação da Lei nº 9.782, de 1999, que dá à agência, dentre outras atribuições, a de fiscalizar a produção e venda de medicamentos em todo o território nacional [1]. Por regular um setor de grande visibilidade, que envolve diretamente a saúde da

população suas atividades possuem grande impacto social como a aprovação ou retirada do mercado de um medicamento.

No portal da ANVISA, foi encontrado um marco histórico para saúde pública do país, a lei nº 9.787, de 1999, conhecida popularmente como a “lei dos genéricos”. Essa lei dispõe sobre o, estabelecimento do medicamento genérico no Brasil sendo o principal agente da política nacional de medicamentos [17]. Além disso, foram encontrados manuais de boas práticas em biodisponibilidade / bioequivalência, onde o volume 1 abrange as etapas clínica, analítica e estatística [23] e o volume 2 abrange as condições para realização das análises, abordando micropipetas, água para análises químicas e instrumentação analítica [24].

Outro importante documento é a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 134, de 2003, que dispõe sobre a adequação de medicamentos similares já registrados determinando um calendário de 10 anos para a adaptação e a apresentação de testes de biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica [18]. No ano de 2014 esse prazo expirou sendo descritas as medidas de intercambialidade de medicamentos similares com os medicamentos de referência por meio da RDC nº 56/2014 [17].

Com a publicação da RDC nº 58/2014 atualmente existe a possibilidade de intercambiar os medicamentos de referência por similares ou por genéricos, garantindo maior acesso ao tratamento com segurança e eficácia. No entanto, apesar de estar presente no mercado brasileiro há quase vinte anos, os genéricos e similares ainda são discriminados quando há a possibilidade de realizar a intercambialidade de medicamentos com baixo índice terapêutico [23].

A Resolução (RE) nº 1.170, de 2006 também é um importante resultado, pois estabelece no Brasil o guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos [24] e a RE nº 898, de 2003, que aborda as análises estatísticas a serem contempladas no estudo de bioequivalência [18]. Além da RDC nº 56, de 2014, que dispõe sobre a certificação de boas práticas para realização de estudos de biodisponibilidade/bioequivalência de medicamentos [19].

FDA

Nos Estados Unidos, o histórico de preocupações com o conteúdo e segurança de alimentos e medicamentos comercializados antecede a criação do FDA. Em 1862 surgiu o *Bureau of Chemistry*, um departamento químico de análises voltadas à agricultura, esse departamento se aprimorou e cresceu, abrangendo sua responsabilidade de controle e investigações também de outras áreas, além da agricultura, até que foi reorganizada em duas entidades separadas, onde as funções regulatórias se concentrariam na entidade de Administração de Alimentos, Medicamentos e Inseticidas, e as pesquisas não regulatórias passaram a se concentrar no Departamento de Química e Solos. Em 1930, o nome *Food and Drug Administration* é dado à parte regulatória [2].

Para a regulamentação estadunidense foi encontrado o guia industrial de estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos administrados por via oral [18]; o livro contendo a história da regulamentação de medicamentos nos Estados Unidos [2]; o *Code of Federal*

Regulations (Código de Regulamentos Federais – CFR), título 21, seção 320.24, que aborda os procedimentos para determinar a biodisponibilidade ou bioequivalência de medicamentos, cuja última atualização foi publicada em abril de 2018 [19]; o comumente denominado “*The Orange Book*”, que descreve os produtos farmacêuticos aprovados com avaliação da equivalência terapêutica preparada para servir como informação pública e assessoria aos órgãos estaduais de saúde, prescritores e farmacêuticos para promover a educação pública do uso de medicamentos e para promover a contenção dos custos dos cuidados com a saúde [19]. Outros documentos importantes encontrados no portal do FDA são recomendações para análise da bioequivalência da varfarina disponível no *Draft Guidance on Warfarin Sodium* [36] e o livro *FDA Bioequivalence Standards* que abrange os fundamentos, bem como os dados atualizados dos padrões de bioequivalência, necessários para o desenvolvimento e regulamentação de medicamentos genéricos [9].

O FDA, por ser uma das agências mais antigas, serve de modelo para muitas agências mais novas. Com o início de sua ascensão em 1930, teve seu maior reconhecimento ao não autorizar a Talidomida no país, evitando seus efeitos teratogênicos que foram observados em todo o mundo. A tecnologia e capacidade de desenvolvimento de metodologias eficazes e cada vez mais seguras e sem vieses também colabora para que esta seja uma das maiores agências reguladoras em todo o mundo [2].

EMA

Em diversos países da Europa, as determinações para avaliação farmacocinética, essencial para realização de testes de bioequivalência, antecederam a fundação da EMA, que mantém ainda hoje as definições publicadas em 1987 na *Directive 75/318/EEC* [29]. A EMA disponibiliza ainda legislações que conceituam os medicamentos genéricos de uso humano, como a *Directive 2001/83/EC* [30] e recomendações relacionadas à realização de testes clínicos, como o *Structure and Content of Clinical Study Reports* [35]. Em 2010 surgiu o *Guideline on the investigation of bioequivalence*, do *Committee for medicinal products for human use (CHMP)*, especificando os testes de bioequivalência em humanos [26], aprimorado em 2011 através do *Guideline on the Investigation on Bioequivalence*, que é um guia para realização de testes de biodisponibilidade e avaliação da bioequivalência entre fármacos [31]. Orientações quanto a avaliação específica para determinados fármacos também foram consultadas no *Concept paper on the development of product-specific guidance on demonstration of bioequivalence* [33]. A aplicação de testes específicos para alguns medicamentos foi discutida entre diversos especialistas, de todos os países onde a EMA alcança, tendo seu relatório publicado em 2010 no *Overview of comments received on draft guideline on the investigation of bioequivalence*, com as justificativas para a realização desses testes complementares [34].

Em meio à situação que destacou o papel do FDA foi quando as agências europeias viram a necessidade de aprimorar suas metodologias de modo a garantir maior segurança e eficácia a seus pacientes. Passaram-se anos até que a EMA fosse criada, atualmente com aproximadamente o mesmo tempo de atuação que a ANVISA, a EMA é considerada uma agência de referência por contar com

colaboradores e especialistas de toda a Europa, com bagagens das agências de cunho nacional, que ainda atuam ativamente, mas, através de um consenso comum, de forma a obedecer às determinações da EMA.

MEDICAMENTOS GENÉRICOS

A lei dos genéricos no Brasil foi criada no mesmo ano que a ANVISA, em 1999 [17], e desde então foi possível acompanhar uma revolução no setor farmacêutico, onde os medicamentos genéricos ganharam destaque em função dos preços que possibilitou maior acesso da população a tratamentos de saúde.

Medicamentos genéricos e similares devem conter o mesmo princípio ativo, forma farmacêutica e concentração quando comparados aos medicamentos de referência, e para que essas exigências sejam cumpridas, algumas avaliações devem ser realizadas [17]. A avaliação da bioequivalência farmacêutica passou a ser exigida pela ANVISA a partir do ano de 2003, quando a RDC nº 134/2003 abriu um período de adaptação das indústrias farmacêuticas para que os testes fossem realizados em medicamentos similares [18]. A resolução nº 1.170, de 19 de abril de 2006, determina como os procedimentos para avaliação de biodisponibilidade e bioequivalência devem ser executados, através do Guia para provas de biodisponibilidade relativa/ bioequivalência de medicamentos (anexo à resolução). Os testes devem ser divididos em três etapas, sendo elas a etapa clínica, a analítica e a estatística [24].

Os testes de bioequivalência realizados no Brasil devem obedecer às determinações preconizadas pelo Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência [23]. A etapa clínica deve ser realizada em centros específicos, devidamente habilitados pela ANVISA. Os voluntários devem permanecer em jejum antes da administração dos medicamentos, quando é realizada a coleta basal. Em seguida, o medicamento deve ser administrado seguindo o protocolo de pesquisa e as características farmacocinéticas do mesmo. Os medicamentos teste e de referência devem ser administrados em ocasiões separadas, e as amostras para análise devem ser coletadas em um período de tempo que contemple o perfil plasmático do medicamento, sendo igual ou superior a 3-5 vezes a meia vida de eliminação [23].

Os estudos de fármacos de baixo índice terapêutico se diferenciam dos demais por exigir que o intervalo de confiança (IC) entre o medicamento de referência e o medicamento estudado seja de 95%, sendo que os demais medicamentos são de 90%. Como há um risco para a população voluntária, vários testes são feitos em animais antes de serem realizados em humanos, de modo a evitar que efeitos tóxicos graves ocorram [23].

A etapa analítica se inicia através da escolha da metodologia para análise do fármaco, considerando, neste caso, o fato de ser um medicamento de baixo índice terapêutico, devendo avaliar os possíveis riscos ao plano amostral em caso de exposição a esse medicamento em determinadas concentrações. O método de análise utilizado pode ser realizado segundo metodologia descrita em

literatura científica, principalmente a farmacopeia e outros compêndios oficiais. Caso não exista método para o produto analisado, o centro de pesquisa deverá desenvolver um método [23].

A análise de bioequivalência é feita através da avaliação das áreas sob a curva (ASC) dos dois medicamentos, concentração máxima e tempo para atingi-la. É sabido que o fato de duas ASC serem de mesmo valor não garante que a concentração estará dentro da janela terapêutica, os medicamentos podem ter perfis diferentes. Visando isso, a análise feita é da razão entre dose letal mínima e dose terapêutica mínima, o chamado intervalo de confiança [36].

A análise estatística deve ser a primeira a ser definida, pois através dela que é possível determinar o número amostral e com qual prioridade os medicamentos teste e de referência serão administrados. O simples cálculo da área sob a curva do gráfico concentração *versus* tempo e a concentração máxima e seu tempo não são suficientes para eliminar os vieses que este tipo de estudo proporciona, como um falso perfil gráfico resultante da capacidade do fármaco em variar seu perfil de concentração *versus* tempo em um mesmo indivíduo e em mesmas condições de administração. Para que essas situações sejam evitadas, é preconizado que seja realizado o estudo em modelo *crossover* 2x2, onde o medicamento teste e referência são administrados em dois momentos no mesmo indivíduo, o que garante que seja realizada uma avaliação entre os dois medicamentos em um mesmo organismo [19, 20].

Já nos Estados Unidos, as regulamentações voltadas à produção e comercialização dos genéricos teve início em 1984, quando houve a aceleração da disponibilidade de medicamentos genéricos menos dispendiosos. O FDA criou mecanismos de proteções para os desenvolvedores de fármacos, em termos de patente e exclusividade de mercado, a fim de incentivar o desenvolvimento de novos medicamentos. Assim, foi permitido que os produtores de produtos genéricos idênticos solicitassem sua aprovação pelo FDA sem repetir os testes clínicos do desenvolvedor original. Em alguns casos, a lei também destinava um período de exclusividade de mercado para a primeira versão genérica de um medicamento de marca para contestar uma patente, incentivando assim as companhias farmacêuticas de genéricos a desafiar as patentes inovadoras. Contudo, nem todos os medicamentos são elegíveis para competição por genéricos devido a patentes inovadoras ou concessões de exclusividades de mercado [2].

As empresas farmacêuticas produtoras de genéricos não precisam repetir os dispendiosos testes clínicos de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) uma vez que, já foram realizados para os medicamentos de referência, mas devem comprovar ao FDA que seus medicamentos são bioequivalentes aos medicamentos de referência por meio dos testes de biodisponibilidade relativa. Ou seja, os medicamentos genéricos devem possuir velocidade e extensão de absorção semelhantes aos medicamentos de referência [2].

Segundo o FDA, a seleção do método usado para atender a uma exigência de testes *in vivo* depende da finalidade do estudo, dos métodos analíticos disponíveis e da natureza do medicamento. Os candidatos devem realizar testes de biodisponibilidade e bioequivalência usando os dados mais precisos, e uma abordagem reprodutível disponível na 21CFR 320.24 [25].

Testes *in vivo* incluem a seleção de um grupo amostral e avaliações da concentração do fármaco na corrente sanguínea ou como produto de excreção, desde a sua administração até sua eliminação. Esta avaliação necessita de um monitoramento para que seja quantificada a concentração do metabólito ativo (ou seu produto de excreção) desde o tempo zero (coleta basal), onde é feita sua administração, passando pela ascensão da concentração até atingir a concentração máxima ($C_{m\acute{a}x}$) e finalizar com a concentração mínima detectável na amostra. Com esses dados é possível, além de determinar a $C_{m\acute{a}x}$, a ASC, que dá a dimensão para que um medicamento seja comparado ao seu medicamento de referência. Os limites aceitáveis para essa avaliação, no caso de fármacos de baixo índice terapêutico como a Varfarina, é entre 80% e 125% de semelhança da ASC dos os dois medicamentos avaliados [25, 27].

A permissividade das análises de fármacos de baixo índice terapêutico, com mesma faixa de bioequivalência relativa aceitável que fármacos que não apresentam uma janela terapêutica estreita foi muito questionada a partir dos anos 2000. No entanto, ao invés de estreitar a faixa limite para um valor definido pela razão entre sua concentração máxima e o tempo em que a concentração máxima foi obtida, foi implementado uma metodologia de análise complementar, voltada para a avaliação específica da variação da concentração durante todo o tempo em que o fármaco está presente no organismo [9].

Dessa maneira, o guia industrial do FDA (*Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products*) recomenda que os laboratórios farmacêuticos considerem a realização de testes específicos com os genéricos de baixo índice terapêutico para garantir a qualidade desses medicamentos, abordando diferentes metodologias estatísticas [27].

Essa abordagem é projetada para fornecer maior segurança para os medicamentos com essa particularidade em sua janela terapêutica, tendo seus resultados persistindo sobre os resultados das análises que consideram a faixa de bioequivalência como a mesma que a utilizada para fármacos que não tenham baixo índice terapêutico [25, 27].

A EMA define medicamentos genéricos como aqueles que são desenvolvidos para serem capazes de equivaler aos medicamentos de referência, contendo a mesma substância ativa, utilizado nas mesmas doses para tratar as mesmas doenças que o medicamento de referência. No entanto, o nome do medicamento, sua aparência (como cor ou forma) e sua embalagem podem ser diferentes [29, 30].

Vale destacar, que para serem comercializados é necessário que sejam realizados testes para demonstrar que esses medicamentos são comparáveis ao medicamento de referência. Na maioria dos casos, é necessário fornecer dados de estudos de bioequivalência mostrando que o medicamento genérico produz os mesmos níveis da substância ativa no organismo como medicamento de referência. Os estudos de bioequivalência devem demonstrar que os dois medicamentos avaliados possuem um comportamento farmacocinético do fármaco semelhante, com variações restritas aos limites determinados pela agência reguladora [31].

A análise da bioequivalência entre diferentes medicamentos é abordada no *Guideline on the investigation of bioequivalence*, onde os limites de aceitação para fármacos bioequivalentes são avaliados através da realização de um estudo do tipo *crossover 2x2*, considerando um intervalo onde o fármaco administrado anteriormente tenha concentração abaixo do limite inferior de quantificação bioanalítica. São avaliados ASC, $C_{\text{máx}}$ e o tempo onde a $C_{\text{máx}}$ foi atingida. Os resultados avaliados devem estar entre 80% e 125%, com 90% de intervalo de confiança [31, 32].

Em casos específicos de produtos de baixo índice terapêutico, o intervalo de aceitação passa a ser 90,00% a 111,11%, onde a $C_{\text{máx}}$ é de particular importância para a segurança e eficácia do fármaco monitorado, o intervalo de confiança permanece em 90%. Apesar de não possuir um intervalo de aceitação para análise de bioequivalência tão estreito como preconizado pela ANVISA e não possuir estudos específicos para a varfarina, a metodologia estatística empregada na Europa é a mesma exigida pelo FDA, onde é considerada a variação dos dados do gráfico concentração *versus* tempo em um mesmo indivíduo, tendo em vista que os fármacos de baixo índice terapêutico são considerados como altamente variáveis desta forma, um estudo com maiores cruzamentos no *crossover* são feitos, como de 3 ou 4 períodos [34].

Desta forma, apesar de possuir limites de aceitação da bioequivalência mais permissivos que os limites brasileiros, ainda que mais exigentes que os limites estabelecidos pelo FDA, seus testes estatísticos garantem maior segurança ao resultado do estudo, abrangendo um maior número de resultados com um mesmo número amostral, sendo capaz de identificar variações intra-pessoais. Como a varfarina é um fármaco muito usado em todo o mundo, a tendência é que a EMA realize consultas públicas voltadas para análise deste fármaco futuramente, seguindo o exemplo dos Estados Unidos [34].

MEDICAMENTOS DE BAIXO ÍNDICE TERAPÊUTICO: VARFARINA

No Brasil, metodologias disponibilizadas pela ANVISA direcionadas para avaliação da bioequivalência da varfarina não foram encontradas. Os limites de aceitação são os únicos parâmetros adaptados a fármacos de baixo índice terapêutico. Assim, o que difere a avaliação dos medicamentos de baixo índice terapêutico dos demais é a exigência com que os resultados são tratados. Medicamentos que possibilitam uma maior janela terapêutica devem possuir razão entre sua concentração máxima e o tempo em que a concentração máxima foi obtida de até 10%. Já medicamentos que possuem uma menor janela terapêutica devem obter resultado igual ou inferior a 5%, garantindo uma maior significância estatística [23].

O FDA considera a varfarina um fármaco de baixo índice terapêutico por existir um intervalo estreito entre as doses terapêuticas e tóxicas. Os efeitos tóxicos são considerados graves, assintomáticos e irreversíveis e as concentrações subterapêuticas podem levar a complicações graves e potencialmente fatais. Assim, esse fármaco está sujeito a monitorização terapêutica baseada em marcadores farmacodinâmicos, por isso devem seguir testes específicos para que suas versões genéricas sejam comercializadas [26].

Além disso, a varfarina possui uma longa meia-vida de eliminação, o que faz com que o FDA limite o teste a uma avaliação da concentração por 72 horas, e não até uma determinada concentração ou até limite de detecção. Testes que abordam as doses de 1 a 7,5mg podem ser dispensadas caso já se tenha resultados (satisfatórios) para testes com dose administrada de 10mg. A utilização desse teste para comprovação da segurança da administração pode ser considerada pelo FDA caso as formulações sejam semelhantes e os testes de dissolução *in vitro* sejam aceitáveis. Para que o teste seja realizado é necessário que este seja conduzido seguindo as recomendações de dissolução do FDA de acordo com o fármaco avaliado, presentes na farmacopeia norte-americana (USP) [26].

Após a realização da dissolução do medicamento, é necessário que seja feito um teste de dissolução comparativa entre 12 amostras, garantindo que a administração será realizada uniformemente entre os indivíduos selecionados para o grupo amostral populacional. A avaliação deve ser em replicata para que seja totalmente extrapolável aos medicamentos de referência, evitando resultados falsos e que podem colocar a vida da população em risco [26].

O grande diferencial deste teste complementar está na análise estatística empregada, denominada *Reference-Scaled Average Bioequivalence Approach* (RSABE), que considera que o fármaco analisado é altamente variável. Ou seja, o mesmo fármaco, se administrado em duas situações diferentes, no mesmo indivíduo e sob as mesmas condições, apresentam taxa e extensão de absorção diferentes em até 30% entre as ocasiões, o que faz com que a abordagem média da bioequivalência não apresente resultados bioequivalentes devido à variabilidade de resultados em um mesmo indivíduo, o que acaba por exigir que tenha um maior número amostral durante o estudo [26].

O FDA exige que os indivíduos participantes do estudo recebam o medicamento de referência mais de uma vez, por exemplo, replicados em 3 períodos ou projetos de cruzamento de 4 períodos (TRTR ou RTRT), onde R representa o medicamento de referência e T representa o medicamento em teste, de modo que a análise de BE possa ser responsável pela variabilidade intra-indivíduo. Devido à necessidade de maior especificidade dentro desta análise de dados, os valores encontrados intra-indivíduo não podem ter variação maior que 10% e, com média inter-indivíduo devendo obedecer ao limite de 80% a 125%, quando comparado ao de referência [26].

O FDA considera a varfarina como um fármaco de baixo índice terapêutico, assim como o Brasil, e por isso ambos reconhecem a necessidade de requerer maior sensibilidade nos testes que visam avaliar a bioequivalência. A forma como cada uma dessas agências exige maior sensibilidade é que difere a ANVISA do FDA, onde a ANVISA mantém a metodologia das análises clínicas, analíticas e estatísticas, diferindo apenas nos limites aceitáveis de variação da biodisponibilidade para fármacos de baixo índice terapêutico, de uma forma geral. Já o FDA, apesar de alterar o limite de aceitação da variação da biodisponibilidade entre os dois medicamentos avaliados, ainda mantém uma faixa maior de aceitação que os limites praticados no Brasil. No entanto, grande parte dos fármacos de baixo índice terapêutico possuem especificações, principalmente relacionadas à análise estatística empregada, que faz com que o intervalo de confiança seja maior e os resultados obtidos partam da administração do fármaco mais de uma vez, podendo ser intercalada ou não entre o medicamento

referência e o medicamento em teste, o que permite coletar um maior número de dados, e com isso obtém-se resultados mais sensíveis que os brasileiros, independentes dos limites de aceitação.

As avaliações realizadas pela EMA muito se assemelham às metodologias empregadas pelo FDA. Apesar de também considerar a varfarina como um fármaco de baixo índice terapêutico, a EMA não possui testes específicos para o fármaco avaliado por este estudo. As avaliações específicas por fármaco passaram a ser estudadas em 2013, sendo preconizadas pela agência apenas para 16 substâncias ativas, sendo elas capecitabina; ácido carglúmico; dasatinib; emtricitabina / tenofovir disproxil; erlotinib; imatinibe; memantina; miglustat; oseltamivir; posaconazol; repaglinida; sirolimus; sorafenib; tadalafil; telitromicina e voriconazol. A considerar a variação étnica dos países que integram a EMA, testes específicos devem ser muito bem elaborados, tendo em vista que diferentes etnias podem ter diferentes respostas terapêuticas ao mesmo fármaco. Esse fato exige que a EMA desenvolva, principalmente, metodologias estatísticas que façam com que o grupo amostral seja representativo para todo o continente [33].

Ao avaliar diferentes metodologias para análise da varfarina abordadas por três das maiores agências reguladoras de medicamentos do mundo é possível observar que pequenas variações no delineamento dos estudos são capazes de fornecer dados mais ou menos sensíveis, fazendo com que a busca pela confiabilidade dos dados compilados possa ser maior e, conseqüentemente, se tenha um estudo que garanta resultados cada vez mais representativos. A implementação de análises específicas por fármaco, aplicada pelo FDA, é a que garante resultados mais representativos, apesar dos limites de aceitação serem os mais amplos, mas que são respaldados por uma análise estatística muito bem delineada, capaz de detectar pequenas variações. A EMA, com sua maior exigência para os dados de bioequivalência, quando comparada ao FDA, somada ao uso da metodologia estatística abordada pelo FDA, garante uma confiabilidade de dados, mesmo não havendo estudos específicos para direcionamento da análise da varfarina.

No Brasil, apesar da ANVISA manter a maior exigência para os resultados dos testes de bioequivalência de fármacos de baixo índice terapêutico, a utilização do método *crossover 2x2* faz com que variações intra-pessoais não sejam avaliadas claramente, tendo em vista que a administração do medicamento teste antes do medicamento referência (ou vice-versa) pode afetar os dados das administrações subsequentes e, com *crossover* realizado em mais períodos, os dados obtidos se tornam mais representativos, por haver a possibilidade de intercalar entre administração do medicamento teste, referência e placebo, criando diferentes formas de exposição e, conseqüentemente, um compilado de resultados.

Em trabalho realizado por Zhang et al. [37], o estudo da bioequivalência da varfarina foi abordado de modo a questionar os limites de aceitação da bioequivalência atualmente empregados pelo FDA, neste estudo a exposição dos comprimidos à temperatura e umidade fora do especificado são abordadas como causas de variações de concentração em função do tempo no momento que o fármaco é administrado ao paciente, sugerindo o uso de ferramentas de modelagem para simulação dessas variações, o que pode ser uma alternativa não só para o FDA, mas também para a ANVISA e

EMA, com utilização de recursos computacionais ou *in vitro*, diminuindo a exposição de organismos vivos a testes de bioequivalência, caso o medicamento testado seja reprovado em etapa *in vitro* ou computacional.

Li et al. [38] avaliou ainda um viés não abordado por nenhuma das três agências estudadas, o polimorfismo dos genes *CYP2C9* e *VKORC1*, que pode resultar em variações no perfil farmacocinético da varfarina e, conseqüentemente, modificar o perfil da biodisponibilidade do medicamento avaliado. No caso de especificações de análise de bioequivalência por fármaco, como já implementado pelo FDA e em fase de implementação pela EMA, a avaliação do polimorfismo genético do grupo amostral pode ser levada em consideração. A implementação de especificação por fármaco no Brasil com avaliação deste polimorfismo se torna ainda mais necessária, tendo em vista o grande número populacional encontrado no Brasil e sua grande diversidade étnica.

Apesar de haver vários estudos que incentivem a implementação de análises específicas para a varfarina, seguindo o modelo do FDA, Hottinger e Liang [39] abordaram a necessidade do FDA diminuir o intervalo de aceitação da bioequivalência de fármacos de baixo índice terapêutico, mostrando que a análise ideal da farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência desses fármacos não deve se restringir apenas a testes complementares, se esses possuem limites de aceitação muito permissivos.

CONCLUSÕES

A análise da bioequivalência de fármacos de baixo índice terapêutico é tratada pelas três agências reguladoras avaliadas com ponderação, considerando os riscos, principalmente toxicológicos, que esses fármacos podem causar.

Estudos específicos para a Varfarina foram encontrados apenas no FDA. A inclusão de estudos específicos para fármacos de baixo índice terapêutico tem grande importância, por possibilitar que avaliações específicas sejam realizadas, como estudos do fármaco de acordo com polimorfismos genéticos capazes de afetar sua farmacocinética. Esses estudos são uma tendência que a EMA já começou a seguir e pode ser adquirida também pela ANVISA.

O delineamento estatístico do FDA e da EMA pode ser usado como exemplo para a ANVISA, que não especifica sua avaliação estatística para fármacos de baixo índice terapêutico. Apesar de não abordar diferentes avaliações estatísticas para diferentes fármacos ou grupo de fármacos, a ANVISA é a agência que possui a menor faixa permitida para variação da bioequivalência de fármacos de baixo índice terapêutico, o que pode ser considerado um padrão de referência a ser seguido.

Com os estudos encontrados, é possível afirmar que as três agências podem melhorar suas metodologias, de forma até a poupar testes em humanos, assegurando a segurança e eficácia da varfarina e os demais fármacos de baixo índice terapêutico.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Concepção do estudo e delineamento: M. A. R. R., R. G. K.

Aquisição de dados: M. A. R. R.

Análise e interpretação de dados: M. A. R. R., R. G. K.

Redação do manuscrito: M. A. R. R., R. G. K.

Revisão crítica do conteúdo intelectual: M. A. R. R., R. G. K.

LITERATURA CITADA

- 1- BRASIL, Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial, 27 jan. 1999.
- 2- FDA. The History of Drug Regulation in the United States. Centennial Edition. 2006.
- 3- EMA. European Medicines Agency. The European regulatory system for medicines. A consistent approach to medicines regulation across the European Union. 2016.
- 4 – WHO. World Health Organization. Technical Report Series. Annex 8. National drug regulatory legislation: guiding principles for small drug regulatory authorities. nº 855, 1999.
- 5- WHO Technical Report Series, No. 1003: Annex 6 - republication of Multisource (Generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability, 2017.
- 6- STORPIRTIS, Silvia, GAI, María Nella, CAMPOS, Daniel de, GONÇALVES, José Eduardo. Farmacocinética Básica e Aplicada. Guanabara Koogan, 07/2011.
- 7- CRISTOFOLETTI, R.; ROWLAND, M.; LESKO, L. J.; BLUME, H.; ROSTAMI-HODJEGAN, A.; DRESSMAN, J. B. Past, Present and Future of Bioequivalence: Improving Assessment and Extrapolation of Therapeutic Equivalence for Oral Drug Products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. (2018) 1-12.
- 8- VIEIRA, F. P.; REDIGUIERI, C. F.; REDIGUIERI, C. F. A regulação de medicamentos no Brasil. Porto Alegre : Artmed, 2013. p 672.
- 9- YU, L. X.; LI, B. V. FDA Bioequivalence Standards. AAPS - Advances in the Pharmaceutical Sciences Series 13. Springer-Verlag New York. 2014.
- 10- RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. *Farmacologia*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- 11- SANTOS, F. C.; MAFFEI, F. H. A.; CARVALHO, L. R.; TOMAZINI-SANTOS, I. A.; GIANINI, M.; SOBREIRA, M. L.; ARBEX, P. E.; MÓRBIO, A. P. Complicações da terapia anticoagulante com warfarina em pacientes com doença vascular periférica: estudo coorte prospectivo. *J. Vasc. Bras*. 2006.

- 12- JAAKKOLA, S.; NUOTIO, I.; KIVINIEMI, T. O.; VIRTANEN, R.; VIRTANEN, A.; JUHANI AIRAKSINEN, K. E. Clinical manifestations and outcomes of severe warfarin overanticoagulation: from the EWA study, *Annals of Medicine*, 50:2, 164-171, 2018.
- 13- McDOWELL, T-Y.; LAWRENCE, J.; FLORIAN, J.; SOUTHWORTH, M. R.; GRANT, S.; STOCKBRIDGE, N. Relationship between International Normalized Ratio and Outcomes in Modern Trials with Warfarin Controls. *Pharmacotherapy*. v. 38, n 9. 2018.
- 14- BRASIL. ANVISA. Regularização de Produtos – Medicamentos. Bioequivalência e Biodisponibilidade. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/medicamentos/produtos/bioequivalencia-e-biodisponibilidade?inheritRedirect=true>> Acesso em: 03 jan. 2019.
- 15- FDA. Drugs. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/>> Acesso em 03 de jan. 2019.
- 16- EMA. Investigation of bioequivalence. Disponível em: < <https://www.ema.europa.eu/en/investigation-bioequivalence>> Acesso em 03 de jan. 2019.
- 17- BRASIL. Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 10 fev. 1999.
- 18- BRASIL. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 134, de 02 de março de 2003.
- 19- BRASIL. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 56, de 09 de outubro de 2014.
- 20- BRASIL. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 898, de 29 de maio de 2003.
- 21- BRASIL. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 58, de 10 de outubro de 2014.
- 22- BRASIL. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 1.170, de 19 de abril de 2006.
- 23- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência. Gerência-Geral de Inspeção e Controle de Medicamentos e Produtos. v 1 . Brasília: ANVISA, 2002.
- 24- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência. Gerência-Geral de Inspeção e Controle de Medicamentos e Produtos. v 2 . Brasília: ANVISA, 2002.
- 25- FDA. Procedures for Determining the Bioavailability or Bioequivalence of Drug Products. 21 C.F.R. §320.24. 2018.
- 26- FDA. Individual product bioequivalence recommendations—warfarin sodium. Contains Nonbinding Recommendations. Draft Guidance on Warfarin Sodium. 2012.

- 27- FDA. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Rev. 1. March, 2003.
- 28- FDA. Approved Drug Products with therapeutic equivalence evaluations. 38^o ed. 2018.
- 29- EEC. Directive 75/318/EEC. Pharmacokinetic Studies in Man. 1987.
- 30- EC. DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use (OJ L 311, 28.11.2001).
- 31- EMA. European Medicines Agency. Guideline on the investigation of bioequivalence. Committee for medicinal products for human use (CHMP). London, 20 January 2010.
- 32- EMA. European Medicines Agency. Appendix IV of the Guideline on the Investigation on Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1): Presentation of Biopharmaceutical and Bioanalytical Data in Module 2.7.1. 17 November 2011.
- 33- EMA. European Medicines Agency. Concept paper on the development of product-specific guidance on demonstration of bioequivalence. 25 July 2013.
- 34- EMA. European Medicines Agency. OVERVIEW OF COMMENTS RECEIVED ON RAFT GUIDELINE ON THE INVESTIGATION OF BIOEQUIVALENCE MP/EWP/QWP/1401/98 REV. 1. London, 20 January, 2010.
- 35- EMA. European Medicines Agency. ICH. Topic E 3: Structure and Content of Clinical Study Reports. Step 5. NOTE FOR GUIDANCE ON STRUCTURE AND CONTENT OF CLINICAL STUDY REPORTS (CPMP/ICH/137/95. July, 1996).
- 36- STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILLANOVA, C. M. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. Brasília: ANVISA; 2004.
- 37- ZHANG, X.; WEN, H.; FAN, J.; VINCE, B.; LI, T.; GAO, W.; KINJO, M.; ROWN, J.; SOL, W.; JIANG, W.; LIONBERGER, R. Integrating *In Vitro*, Modeling, and *In Vivo* Approaches to Investigate Warfarin Bioequivalence. *CPT Pharmacometrics & Syst Pharmacol*. Aug. 2017.
- 38- LI, W.; BU, F.; LI, R.; WANG, B.; SHAIKH, A. S.; ZHANG, Y.; GUO, R.; ZHANG, R. Bioequivalence Study of Warfarin in Healthy Chinese Volunteers With a Validated High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Method. *The American College of Clinical Pharmacology*. 2017.
- 39- HOTTINGER, M.; LIANG, B. A. Deficiencies of the FDA in evaluating generic formulations: addressing narrow therapeutic index drugs. *Am. J. Law Med*. 2012.

Tabela 1: Literatura pesquisada

AGÊNCIA REGULATÓRIA	TIPO DE LITERATURA	TOTAL ENCONTRADO	TOTAL UTILIZADO	DOCUMENTOS
ANVISA	LEGISLAÇÃO	11	07	BRASIL. Lei nº 9.782 de 1999 [1]; BRASIL. Lei nº 9.787 de 1999 [17]; BRASIL. RDC nº 134 de 2003 [18]; BRASIL. RE nº 898 de 2003 [19]; BRASIL. RE nº 1.170 de 2006 [20]; BRASIL. RDC nº 56 de 2014 [21]; BRASIL. RDC nº 158 de 2014 [22].
	GUIA	01	01	Guia para provas de biodisponibilidade relativa ; bioequivalência de medicamentos. 2006 [19].
	MANUAIS	02	02	Manual de boas práticas em biodisponibilidade : bioequivalência (vol 1 e 2). 2002 [23; 24].
FDA	LEGISLAÇÃO	01	01	21 CFR 320.24. 2018 [25].
	GUIAS	02	02	<i>Draft Guidance on Warfarin Sodium</i> . 2012 [26]. <i>Guidance of Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products</i> . 2003 [27].
	LIVROS	02	02	YU, L.; LI, B. V. <i>FDA Bioequivalence Standards</i> . 2014 [9]; FDA. <i>Approved Drug Products with therapeutic equivalence evaluations</i> . 2018 [28].
EMA	LEGISLAÇÕES	02	02	EEC. <i>Directive 75 318</i> . 1987 [29]; EC. <i>Directive 2001 83</i> . 2001 [30].
	GUIAS	03	02	<i>Guideline on the investigation of bioequivalence</i> . 2010 [31]; <i>Appendix IV of the Guideline on the Investigation on Bioequivalence</i> . 2011 [32].
	PUBLICAÇÕES INFORMATIVAS	09	04	EMA. <i>The European regulatory system for medicines</i> . 2016 [3]; EMA. <i>Investigation of bioequivalence</i> . 2019 [16]; EMA. <i>Concept paper on the development of product-specific guidance on demonstration of bioequivalence</i> . 2013 [33]; EMA. <i>Overview of comments received on raft guideline on the investigation of bioequivalence</i> . 2010 [34].

ANEXO 1

Anexo 1. Guia para autores do Journal of Applied Pharmaceutical Science (JAPHAC).
<http://japhac.wixsite.com/japhac/instructions>



INSTRUCTIONS

In submitting an article to JAPHAC, the corresponding author, on behalf of the authors:

- a) Certifies that he/she is authorized by the co-authors to enter into these arrangements, and that the group of researchers comprise the sole authors of the manuscript, and that no part of it nor any work based on substantially similar data has been submitted to another publication.
- b) Certifies that the manuscript is original, and that the authors have taken due care to ensure the integrity of it. Also, the manuscript has not been published in any other peer-reviewed journal or under consideration by any other journal, either completely or in parts, and does not infringe any existing copyright;
- c) Agrees that the article, if accepted for publication, shall be licensed under the Creative Commons Attribution License 4.0. and data included in the article shall be made available under the Creative Commons 1.0 Public Domain Dedication waiver, unless otherwise stated.

JAPHAC accepts papers in Portuguese and English. We encourage authors to submit manuscripts in English (preference for American English), in order to increase the number of potential readers and citation. JAPHAC offers translation and Proof-reading services for recently submitted manuscripts or for papers already in editorial process of judgment. Authors should contact the Editorial Office to request pricing information at japhacjournal@gmail.com

Manuscripts are reviewed with the understanding that they are original, are not under consideration by any other publisher, have not been previously published in whole or in part, have not been previously accepted for publication, will not be submitted elsewhere until a decision is reached by JAPHAC Editorial Board.

The manuscript should be submitted in TIMES font size 11, 1.5 space line and margins of 2.5 cm in doc or docx formats. Files in pdf or txt format will be rejected.

A title page in the same file must indicate the title, authors full name and affiliation and the data of the corresponding author, marked with *, including written correspondence and higher academic degree obtained or in course. These data should not be repeated in the text.

The title should be concise and should not exceed 15 words.

A cover letter must be prepared. It must state that the material is original research, has not been previously published or submitted for publication elsewhere while under consideration, and a brief overview of the topic should be presented. The covering letter must also indicate any conflict of interest.

Plagiarism detection: To ensure ethics in publication, JAPHAC uses different plagiarism detection softwares to prevent improper content. In cases of suspected plagiarism, our tools are available to the editors to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts.

References are presented in the order they appear in the text and must be prepared in Vancouver format. They are not included in the word count. From edition 4(2) on (*Ex nunc*), citations in the text must be written numerically in square brackets, such as [2] or [2, 3-6]. **Author-date citation standards are not accepted.**

Figures must be good quality (300 DPI or higher) and the tables and charts should be prepared in specific software such as Microsoft Excel, and submitted in separated XLS or XLSX archives. The text of tables and graphs will not be included in the word count of the manuscript.

Authors should conform to nomenclature, symbols, abbreviations and procedures adopted. SI units are preferred; if more commonly used units are adopted, conversion factors should be given at their first occurrence. All abbreviations should be defined the first time they are used.

JAPHAC requires that the conditions under which human and animal experiments are performed are consistent with recognized standards. Authors must make it clear that the procedures they used were as humane as possible and complied with the guidelines for animal care of their institutions or with national/international guidelines. Studies involving human subjects must be carried out with the formal approval of the relevant Ethical Committee, and evidence of such approval must be provided on request (***.jpeg digital copy of the approval protocol**). Secondary data such as prescriptions, formularies and databases researches are also submitted to this rule.

The Editor in Chief, members of the Editorial Board and independent experts will review the submitted manuscripts. However, the Editor in Chief reserves the right to reject a manuscript without conducting a review if the manuscript does not meet the criteria of acceptance for publication.

The corresponding author is notified by e-mail when the editor decides to send the manuscript for review. By policy, referees are not identified to the authors, except at the request of the referee. Conceptually similar manuscripts are held to the same editorial standards as far as possible, and so they are often sent to the same referees.

How to organize your Manuscript:

JAPHAC adopts the following sections for manuscript preparation: *Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusion, Acknowledgements, and Contribution of the Authors*. Below we provide some tips on how to prepare each section.

Abstract: An abstract is a concise summary of the whole manuscript, not just the conclusions. The abstract should be no more than 250 words and convey the following:

1. An introduction to the work. This should be accessible by scientists in any field and express the necessity of the experiments executed
2. Some scientific detail regarding the background to the problem
3. A summary of the main result
4. The implications of the result
5. A broader perspective of the results, once again understandable across scientific disciplines

In Review and Original Articles, the abstract should be prepared in a non-structured way, with a limit of 250 words. Abstracts should not be prepared for Communications and Perspectives articles. It is crucial that the abstract convey the importance of the work and be understandable without reference to the rest of the manuscript to a multidisciplinary audience. Abstracts should not contain any citation to other published works. Please include at least 3 key words for your manuscript. **Manuscripts submitted in English should not have abstract in Portuguese.**

Introduction: The purpose and scope of the investigation should be indicated, and relevant findings of previous works on the subject should be briefly presented.

Materials and Methods: The experiments should be described in sufficient detail to enable other workers to use the given techniques.

Results and Discussion: Results should be concisely presented, preferably in tables or graphs. The use of both tables and figures based on the same data is not permitted. Tables and figures must be incorporated into the main text. For the discussion section, the results obtained should be considered critically, both on their own and in relation to the findings of others. Care must be taken to avoid repeating information already presented in the Introduction or Results sections. Results and Discussion are presented as a single section from edition 4(2) on.

Conclusion: Summarize the main findings of your work and their relevance. Limitations of the work should be discussed.

Acknowledgements: In this section, you can acknowledge and thank the contribution of collaborators that does not meet the criteria of authorship.

Contribution of the Authors: Authors should be identified only by the initial of their names as provided on the manuscript indicating their contribution to the paper, regardless of the type (original, review, etc). All the items below must be detailed in this section, however, other items, when applicable, might be included:

- a) Study conception and design;
- b) Acquisition of data (this section can be detailed accordingly to the methods of the paper, especially when two or more authors contributed equally for the work);
- c) Analysis and interpretation of data;
- d) Statistical analyses;
- e) Provision of reagents/resources;
- e) Drafting of manuscript;
- f) Critical revision of the intellectual content;

Types of Articles:

Original Articles are complete research manuscripts that fit within the scope of the journal. Preferably, manuscripts should not exceed 10.000 words of text and a total of 10 figures and/or tables, with at least 25 references. Authors are asked to write their manuscripts in a clear and concise manner and to include only data crucial to arriving at their final conclusions.

Short Communications are significant and original experimental and/or theoretical results that fit within the scope of the journal, but are not enough for the preparation of full manuscripts. Authors are asked to write their manuscripts in a clear concise and non-structured manner, and to include only data crucial for arriving at their conclusions. Preferably, manuscripts should not exceed 2000 words of text and a total of 4 figures and/or tables, and should not exceed 15 references. Case reports should be submitted as Short Communications, however, depending on the subject, they may be submitted as Original Articles as well.

Perspectives (by invitation only) articles summarize the viewpoints of distinguished scientists regarding the current status and future direction of a field. Perspectives are similar in length Communications, and may be submitted only by invitation.

Reviews are theoretical papers on a particular topic, with updated and unbiased approach, providing the latest advancements of the field and sufficient evidence to support the points raised. It must contain at least 30 references, with up to 15 figures and/or tables. Translations into Portuguese should be prepared as reviews, and will be welcome provided an authorization letter from the corresponding author, mentioning the permission of all authors to reproduce the article. The journal will not accept translations without this document.

Letters to the Editor must not contain more than 5 references. Articles in this category will be subject to screening for scientific accuracy but will not undergo traditional peer review models, they require no accompanying abstract. Letters to the editor reflect the views of the authors and are not necessarily the views of the JAPHAC or of the institutions with which the authors are affiliated. The Journal reserves the right to reject or accept letters for publication and to edit letters for clarity and conciseness.

Submit your paper by sending it to japhacjournal@gmail.com

CALL

Campus - JK - Health and Human Development
Faculty
Av. Osmane Barbosa, 937 JK
Montes Claros MG
CEP.:39404-006 PABX: 38 3690-3690

Campus - SHOPPING - Clinical Pharmacology
Specialist Degree, Post Graduation Program
Av. Donato Quintino, 90 - Cidade Nova
Montes Claros MG
CEP.: 39400-546, PABX: 38 3224-7900

Este trabalho está licenciado sob uma Licença Creative Commons Atribuição-SemDerivações 4.0 Internacional.
Para ver uma cópia desta licença, visite:

This work is under a Attribution-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-ND 4.0) licence. To see a copy of this licence, visit:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nd/4.0/>.

Contact

japhacjournal@gmail.com