



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Protocolo del Estudio Fase I en Voluntarios
Sanos para Evaluar la Seguridad y
Farmacocinética de PCO-02, cuyo Principio
Activo es BPC-157

Tesis para Obtener el Grado de
Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta
Hermelinda de la Cruz Durán

Tijuana, Baja California
Enero de 2016

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 157
Tijuana, B. C., a 7 de diciembre de 2015

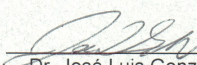
C. Hermelinda de la Cruz Durán
Pasante de: Maestro en Ciencias de la Salud
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por el C. Dr. José Manuel Cornejo Bravo.

Quien será el responsable de la calidad de trabajo que usted presente, referido al
tema Protocolo del Estudio Fase I en Voluntarios Sanos para Evaluar la
Seguridad y Farmacocinética de PCO-02, cuyo principio Activo es BPC-157
el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

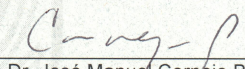
- I.- ANTECEDENTES
- II.- JUSTIFICACION
- III.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO
- IV.- DISEÑO DEL ESTUDIO
- V.- ANALISIS FARMACOCINETICO DE BEPECIN (BPC-157)
- VI.- BIBLIOGRAFIA
- VII.- ANEXOS

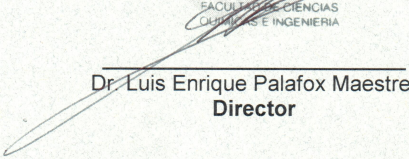

Dr. José Luis González Vázquez
Sub-Director Secretario

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Director de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

Información Confidencial

Este documento contiene información confidencial propiedad de Pharmacotherapia d.o.o. El contenido no debe ser comentado a ninguna otra persona u organización sin la autorización escrita de Pharmacotherapia d.o.o., excepto para obtener la aprobación de los comités de bioética e investigación correspondientes o en caso de requerirlo las autoridades sanitarias de México.

Contenido

No. Página

I	Antecedentes	7
1.1	Propiedades Físicas y Químicas	7
1.2	Estudios Pre-clínicos	8
1.2.1	Farmacocinética.....	8
1.2.2	Toxicología.....	9
1.2.3	Estudios Clínicos	9
II	Justificación	11
2.1	Fundamento para el Diseño del Estudio	11
2.2	Riesgos Potenciales y Beneficios Esperados	11
2.2.1	Riesgos Potenciales	11
2.2.2	Beneficios Esperados	12
III	Objetivos del Estudio	13
3.1	Objetivo General	13
	Objetivo Primario:	13
	Objetivo Secundario:.....	13
3.2	Medidas de Desenlace	13
	Desenlaces Primarios Sobre Seguridad:	13
	Desenlaces secundarios sobre farmacocinética:.....	13
IV	Diseño del Estudio	14
4.1	Medicamento a Administrar	14
4.2	Intervención	14
4.2.1	Fase Ia.	14
4.2.2	Fase Ib.	15
V	Reclutamiento y Retiro del Estudio	17
5.1	Criterios de Inclusión	17
5.2	Criterios de Exclusión	17
5.3	Procedimiento para la Asignación de la Intervención	18
5.3.1	Procedimiento para la Aleatorización	18
5.3.2	Procedimientos para Asegurar el Enmascaramiento.....	19
5.3.3	Razones de Retiro	19
5.3.4	Manejo de los Sujetos Retirados del Estudio	20
5.3.5	Terminación del Estudio	20
VI	Intervención Bajo Estudio	21
6.1	Descripción del Medicamento	21
6.1.1	Adquisición.....	21
6.1.2	Formulación, Empaquetamiento y Etiquetado	21
6.1.3	Almacenamiento y Conservación	21
6.2	Dosis, Preparación y Administración del Producto Bajo Investigación	22
6.3	Criterios para Incrementar Dosis de BPC-157 ó Placebo.....	22
6.4	Medicación Concomitante.....	22
VII	Cronograma del Estudio	23
7.1	Identificación de los Sujetos y Reclutamiento.....	23

7.2 Tamizaje Inicial (día -30 a el día -1).....	23
7.3 Fase Ia	24
7.3.1 Intervención (día 0)	24
7.3.2 Seguimiento (día 1 a día 7).....	24
7.3.3 Intervención con Alimentos (día 0 al día 7).....	25
7.4 Fase Ib	25
7.4.1 Intervención (día 0)	25
7.4.2 Seguimiento (día 7).....	26
7.4.3 Evaluación Intermedia (día 14)	27
7.4.4 Evaluación Final (día 42 ± 2)	27
7.5 Visita para Interrumpir el Estudio	28
7.6 Visita No Programada	28
VIII Procedimientos y Evaluaciones que Integran el Estudio	30
8.1 Evaluaciones Clínicas	30
8.2 Evaluaciones de Laboratorio	30
8.2.1 Estudios para Evaluar Seguridad	30
8.2.2 Estudios de Farmacocinética	31
8.3 Evaluaciones de Gabinete	31
IX Evaluación de la Seguridad	32
9.1 Métodos y Tiempos para Evaluar los Indicadores de Seguridad.....	32
9.2 Definición de Evento Adverso (EA).....	32
9.3 Definición de Evento Adverso Severo (EAS).....	34
9.4 Procedimientos para el Manejo de EA.....	35
9.4.1 Registro de EA en el Formato de Reporte de Casos (FRC).....	36
9.4.2 Evento Adverso Severo	37
9.5 Duración y Forma de Seguimiento de los Sujetos con EA	38
9.6 Situaciones para Suspender el Estudio	38
X Análisis Farmacocinético de Bepecin (BPC-157)	40
10.1 Parámetros Farmacocinéticos	40
10.2 Metodología Analítica para la Cuantificación de Bepecin	40
10.3 Manejo de las Muestras Biológicas	41
10.3.1 Obtención y Manejo de Muestras Plasmáticas.....	41
10.3.2 Obtención y Manejo de Muestras Urinarias.....	41
XI Consideraciones Estadísticas	43
11.1 Hipótesis del Estudio	43
11.2 Tamaño de Muestra	44
11.3 Análisis Intermedios	45
11.4 Análisis Final.....	45
XII Manejo de Documentos	46
XIII Control de Calidad	47
XIV Aspectos Éticos	48
14.1 Estándares Éticos	48
14.2 Comité de Ética del Hospital Ángeles de Tijuana	48
14.3 Consentimiento Informado	48
14.4 Confidencialidad	49

14.5 Terminación Prematura del Estudio.....	49
14.6 Manejo de Especímenes Residuales.....	49
14.7 Manejo de los Datos y Registros	49
14.8 Responsabilidad en el Registro de Datos	50
14.9 Reportes	50
14.10 Retención de los Registros del Estudio	50
14.11 Desviaciones al Protocolo.....	51
XV Monitoreo Clínico	52
15.1 Plan de Monitoreo.....	52
XVI Política de Publicación	53
XVII Bibliografía	54
XVIII Anexos	59
Anexo I: Programación de Procedimientos.....	59
Anexo II: Etiqueta del Producto PCO-02	60
Anexo III: Formato para Obtención de Historia Clínica.....	61
Anexo IV: Formato para Notas Médicas	67
Anexo V: Formato para Recopilar Eventos Adversos.....	69
Anexo VI: Formato para Recopilar Eventos Adversos Severos	70
Anexo VII: Formato FA01 de Recolección de Muestras de Sangre y Orina	71
Anexo VIII: Consentimiento Informado (CI) para Participar en la Fase de Escrutinio.....	72
Anexo IX: Consentimiento Informado para Participar en el Estudio.	74
Anexo X: Validación del Método Analítico Para Cuantificar Bepecin en Plasma	84
Anexo XI: Validación del Método Analítico Para Cuantificar Bepecin en Orina.....	95

I Antecedentes

Bepecin es el nombre genérico de la molécula farmacológicamente activa BPC-157, un penta-deca-péptido inicialmente desarrollado por la empresa Pliva, Inc., en Croacia y que ha sido estudiado bajo los códigos PL-14736, PLD-116, PL-10, PL-10.1 y PCO-01.

Consiste en un fragmento de 15 aminoácidos de una proteína que encontramos de manera natural y aislada inicialmente del jugo gástrico humano. El péptido ha demostrado poseer actividad protectora contra lesiones inducidas de manera experimental.¹⁻³

En estudios previos, tanto *in-vitro* como *in-vivo*, en diferentes modelos inflamatorios se ha demostrado la capacidad protectora y restauradora de esta novedosa entidad biológica, principalmente a nivel del tubo digestivo. Con potencial por su efecto anti-inflamatorio de utilidad clínica en la enfermedad inflamatoria intestinal crónica y otras condiciones inflamatorias gastrointestinales.⁴⁻²⁹

Además de sus efectos protectores y restauradores en el tubo digestivo, BPC-157 ha demostrado tener actividad protectora contra una amplia variedad de lesiones inducidas de manera experimental en varios órganos y tejidos, incluyendo el sistema nervioso central³⁰⁻³⁹ y los nervios periféricos.⁴⁰ Se le ha reconocido un efecto neuroprotector debido a sus efectos sobre el tejido conectivo, procesos de reparación de músculo⁴¹⁻⁴³ y sistema nervioso, y modulación del sistema de óxido nítrico.^{44,45} BPC-157 interacciona con el sistema óxido nítrico dando como resultado la protección del endotelio y angiogénesis, induciendo así la reparación de lesiones fuera del sistema digestivo como en el caso de lesiones del tejido conectivo; tales como lesiones en el tendón de Aquiles,⁴⁶⁻⁴⁸ ligamentos,^{49,50} pseudoartrosis,^{50,51} periodontitis y hueso alveolar,⁵² mismas que habitualmente serían de muy difícil reparación.

La capacidad neuroprotectora de BPC-157 ha sido documentada a través de varios estudios experimentales, donde se confirma el efecto benéfico de esta molécula en la reparación de heridas traumáticas de nervios periféricos,^{30,40} cerebro y medula espinal³⁰. Existe además evidencia que apoya la utilidad benéfica de Bepecin en condiciones que afectan la unidad tendón-músculo,^{46,53} músculo liso,^{7,12,14,15,17} y diversas encefalopatías.^{8,9,31}

1.1 Propiedades Físicas y Químicas

Nombre: Bepecin

Código de Sustancia: BPC-157

Nombre Químico: Glicil-L-glutamil-L-prolil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-alanil-aspartil-L-aspartil-L-alanil-gliceril-L-leucil-L-valina

Fórmula Molecular: C₆₂H₉₈N₁₆O₂₂

Peso Molecular: 1419.55 gr/mol

Fórmula Estructural: Ver figura 1 (secuencias principales)

Características Químicas: El BPC-157 sintético es un compuesto amorfo sólido de color blanco, libremente soluble en agua. La solución en agua es transparente, clara e incolora. Es moderadamente soluble en metanol y etanol; además, ligeramente soluble en dimetilsulfóxido. Es insoluble en hidrocarburos clorados, hidrocarburos y éter.

El péptido es moderadamente higroscópico. Usualmente se le encuentra en forma de acetato o sal disódica. Ambos tipos de sales tienen la misma actividad biológica, pero la sal disódica tiene una estabilidad considerablemente mejor y es la forma preferida. En la formulación actual (PCO-02), la sal disódica de BPC-157 ha sido estabilizada adicionalmente con manitol.

Solubilidad (agua): 20%

pH (disódico 1%): 6.7

Fórmula (disódica): $C_{62}H_{96}N_{16}Na_2O_{22}$

Peso Molecular: 1463.5 gr/mol

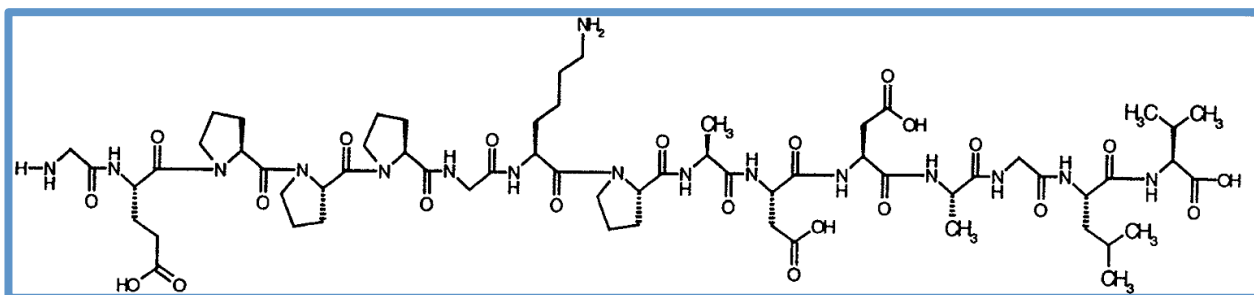


Figura 1. Secuencia de amino-ácidos de BPC-157

1.2 Estudios Pre-clínicos

1.2.1 Farmacocinética

Las propiedades farmacocinéticas del péptido BPC-157 fueron evaluadas inicialmente de manera experimental a nivel del tubo digestivo y cerebro, utilizando anticuerpos policlonales de conejo.⁵⁴⁻⁵⁶ En estudios de autorradiografía después de la administración de moléculas marcadas con radioisótopos por vía intracolónica (C^{14} -PL14736) y oral (H^3 -PL14736) a ratas, las concentraciones más altas de radioactividad se encontraron en el tubo digestivo hasta 8 horas después de la administración. Específicamente, una hora después de la administración por vía oral se encontró la mayor intensidad radioactiva en la pared del estómago, intestino y vejiga urinaria; aunque también se encontró actividad en pulmones, médula ósea (vértebras) y

aracnoides (sistema nervioso central).⁵⁴⁻⁵⁶ Se demostró que se absorbe rápidamente en tubo digestivo. Los niveles plasmáticos de radioactividad entre las 0.5 y 16 horas postadministración por vía oral permanecen casi sin cambio a una concentración de aproximadamente 10 µg/mL. Se elimina entre las 24 y 168 horas, con una vida media de 68 horas. La distribución es equivalente entre el plasma y glóbulos rojos. La excreción ocurre principalmente a través de la vía urinaria (aproximadamente 30%) y en menor grado (aproximadamente 12%) por vía fecal. Los niveles tisulares de radioactividad a las 168 horas corresponden a aproximadamente 20-25% de la dosis. Una hora después de la administración se encontraron concentraciones mayores (aproximadamente 2-3 veces los niveles plasmáticos) en el estómago e intestino delgado y en menor grado en pulmones y páncreas. Los niveles de radioactividad fueron similares a los plasmáticos en el resto de tejidos.⁵⁴⁻⁵⁶

1.2.2 Toxicología

En general, BPC-157 tiene un perfil de seguridad adecuado. Estudios de toxicidad en dosis única en ratones por vía oral e intravenosa, demostraron que la dosis letal media (LD₅₀) del BPC-157 fue mayor de 2000 mg/kg. Ningún ratón murió durante los estudios y sólo se encontró que la dosis de 2000 mg/kg produjo sedación transitoria en los ratones tratados. De igual manera, en un estudio con dosis intravenosas repetidas durante 4 semanas en ratas y perros, no se encontraron alteraciones morfológicas relacionadas con la administración de BPC-157.⁵⁷⁻⁵⁹

Por otro lado, exámenes macroscópicos e histológicos de órganos y tejidos posterior a la administración intracolónica repetida durante 14 días en ratas y perros no reveló cambios atribuibles al tratamiento con BPC-157, en dosis de hasta 25 mg/kg.⁶⁰⁻⁶¹ No se observó efectos sobre la fertilidad y el desarrollo embrionario temprano.⁶²⁻⁶⁴ Los estudios de hipersensibilidad e irritabilidad/corrosión en ojos también resultaron negativos;⁶⁵ al igual los estudios sobre aberraciones cromosómicas en cultivo de linfocitos humanos y mutagenicidad.⁶⁶⁻⁶⁷ La administración en dosis múltiples por vía intravenosa de 10-30 µg/kg/día en ratones no indujo inducción de enzimas hepáticas microsomales.⁵⁸ Además, la seguridad de BPC-157 fue evaluada en perros, mediante la administración intraduodenal de 10 y 100 µg/kg, sin efectos adversos significativos a nivel de los sistemas cardiovascular y respiratorio.⁶⁸

1.2.3 Estudios Clínicos

Se realizó un estudio fase I con BPC-157 y un placebo para evaluar seguridad, tolerabilidad y farmacocinética en 32 voluntarios sanos, sexo masculino. Después de la administración de un enema, en cuatro dosis diferentes: 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg y 2 mg/kg, se encontró que la administración en dosis única o dosis múltiples fueron muy bien toleradas. Los efectos adversos más frecuentes fueron cefalea y flatulencia, y ocurrieron sin diferencia entre la sustancia activa y el placebo. Se encontró pobre absorción sistémica posterior a la administración rectal de BPC-157.⁶⁹

En otro estudio, en este caso de Fase II, multicéntrico, controlado con placebo, a doble ciego se evaluó su efecto en pacientes con colitis ulcerativa crónica. Se administró vía rectal una dosis de 80 mg durante 14 días; lo que dio por resultado una mejoría significativa de los síntomas de colitis ulcerativa, evaluados por el Índice de Actividad de Colitis Ulcerosa (DAI, por sus siglas en inglés), en comparación con el grupo placebo; aunque no alcanzó significancia estadística, tal vez debido al tamaño tan pequeño de la muestra estudiada (26 vs 27 sujetos). Las dosis repetidas de 80 mg de BPC-157 durante 14 días fueron bien toleradas. En total, 10 sujetos (38.5%) del grupo BPC-157 y 12 sujetos (44.4%) del grupo placebo reportaron eventos adversos durante la fase de tratamiento. Los eventos adversos más frecuentemente reportados fueron de tipo gastrointestinal y obligaron a la terminación prematura del estudio en un total de 4 sujetos (2 en cada grupo).⁷⁰

II Justificación

2.1 Fundamento para el Diseño del Estudio

Los estudios pre-clínicos y clínicos realizados hasta ahora han demostrado un adecuado perfil de seguridad para el empleo de BPC-157 en animales y en humanos y sugieren un potencial efecto benéfico en una amplia gama de padecimientos inflamatorios sistémicos. Sin embargo, al momento actual no se ha estudiado el perfil de seguridad y la farmacocinética de la administración por vía oral en humanos. El presente estudio será la primera evaluación de seguridad y farmacocinética de PCO-02, cuyo principio activo es BPC-157 administrado por vía oral en voluntarios sanos.

2.2 Riesgos Potenciales y Beneficios Esperados

A continuación se señalan los principales riesgos potenciales y los beneficios esperados.

2.2.1 Riesgos Potenciales

Como se ha señalado previamente, los estudios sobre la seguridad farmacológica y toxicidad del péptido BPC-157 realizados hasta ahora no han revelado efectos indeseables significativos. Los estudios de Fase I y Fase II que emplearon la vía intracolónica para la administración de BPC-157 en sujetos sanos y portadores de colitis ulcerativa respectivamente han demostrado la casi ausencia de efectos indeseables.⁶⁹⁻⁷⁰ En estos estudios, los eventos adversos más comúnmente reportados fueron cefalea y flatulencia, que ocurrieron sin diferencia entre los sujetos que recibieron BPC-157 o los que recibieron placebo. No existieron eventos adversos serios o graves. Los riesgos asociados al estudio, se pueden dividir en los riesgos relacionados a la administración oral de las tabletas de PCO-02 conteniendo el péptido BPC-157, o a la obtención de muestras seriadas de sangre venosa para el estudio de farmacocinética.

En general, los riesgos que se pudieran anticipar por la administración oral del PCO-02 o del placebo son mínimos, de escasa magnitud y de fácil resolución. Las dosis que se emplearán se encuentran dentro del Nivel sin Efectos Adversos Observables (NOAEL, por sus siglas en inglés) y muy por debajo de la DL_{50} en animales; que se ha estimado se encuentra por arriba de los 2000 mg/kg de peso.⁵⁷

Para la toma de muestras seriadas de sangre venosa se colocará un catéter en una vena periférica del brazo, manteniéndose obturado y abriéndose solo cuando se requiera la toma de la muestra, para evitar la venopunción múltiple. Los riesgos se consideran mínimos, y están en relación a que pueda existir sangrado excesivo en el sitio de punción, formación de hematoma, infección, o que se requieran de punciones múltiples para asegurar el catéter o que éste funcione adecuadamente. Algunas personas pueden generar una reacción vaso vagal y eventualmente sufrir de un síncope o desmayo relacionado al estrés desencadenado por la toma de muestras de sangre. La cantidad total de sangre que se obtendrá en cada sujeto durante todo el estudio será igual o menor a 160 mL. Para las pruebas de tamizaje será de

aproximadamente 10 mL; para las pruebas de farmacocinética será de 65 mL (55 mL durante las primeras 24 horas de la Fase I a y 10 mL más durante la Fase I b); además de requerirse 30 mL adicionales de sangre para pruebas de seguridad, que se harán al completarse los 7 días de la Fase I a y a los 7 y 14 días de la Fase I b. En 10 sujetos se realizará una segunda etapa de estudios de farmacocinética posteriores a la ingesta de alimentos, por lo que se les requerirán 55 mL adicionales.

2.2.2 Beneficios Esperados

La investigación realizada en animales con BPC-157 es bastante amplia y prometedora. Se ha aplicado el producto de estudio en una extensa gama de condiciones inflamatorias, metabólicas y traumáticas en modelos animales con resultados muy alentadores. La posibilidad de que el producto bajo investigación ayude a mejorar diversas condiciones en el humano se debe explorar. Por este motivo, se plantea este primer estudio para evaluar la farmacocinética y la seguridad de la administración oral en humanos del compuesto bajo estudio.

III Objetivos del Estudio

3.1 Objetivo General

Evaluar la farmacocinética y seguridad de Bepecin (BPC-157) después de su administración vía oral en voluntarios sanos.

Objetivo Primario:

Documentar los Eventos Adversos (EA) observados después de la administración oral de Bepecin.

Objetivo Secundario:

Documentar la farmacocinética de BPC-157 después de su administración por vía oral.

3.2 Medidas de Desenlace

Desenlaces Primarios Sobre Seguridad:

- a) Eventos adversos. EA reportados durante el seguimiento (ver definiciones en sección 9.2)
- b) Eventos adversos severos. EAS reportados durante el seguimiento (ver definiciones en sección 9.3)

Desenlaces secundarios sobre farmacocinética:

- a) $t_{\max}$; tiempo para observar la máxima concentración sérica de BPC-157 después de su administración oral.
- b) $C_{p\max}$; concentración plasmática máxima de BPC-157 después de su administración oral.
- c) $t_{1/2}$; tiempo de vida media de eliminación de BPC-157 después de su administración oral.
- d) $ABC_{0-\infty}$; área bajo la curva de concentración-tiempo.
- e) $C_{p\min}^{EE}$; concentración mínima al estado estacionario después de la administración vía oral de 3 mg de BPC-157 cada 8 horas por 14 días.

IV Diseño del Estudio

Estudio de Fase I, unicéntrico, que se llevará a cabo en el Hospital Ángeles de Tijuana (HAT), doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, en el que se busca evaluar la seguridad y farmacocinética de la administración oral del péptido BPC-157 en voluntarios sanos.

La población blanco está representada por sujetos jóvenes, sanos, de ambos sexos, y mayores de edad (de 18 hasta 35 años). La selección de sujetos jóvenes sanos se basa en que en este grupo de edad; la digestión, absorción y metabolismo de las proteínas (y los péptidos) se encontraría sin alteraciones, lo que disminuirá el riesgo potencial de eventos adversos ante la administración de estos elementos, incrementando la seguridad del estudio y disminuyendo el riesgo de los sujetos expuestos a la intervención, además de facilitar el estudio de la farmacocinética del principio activo.

4.1 Medicamento a Administrar

La especialidad farmacéutica a administrar tiene por nombre PCO-02, cuya sustancia activa es Bepecin (BPC-157). Consiste en una formulación en tabletas con 1 mg de principio activo. Dicho medicamento se elabora por los laboratorios Extractum Pharma en Budapest, Hungría.

4.2 Intervención

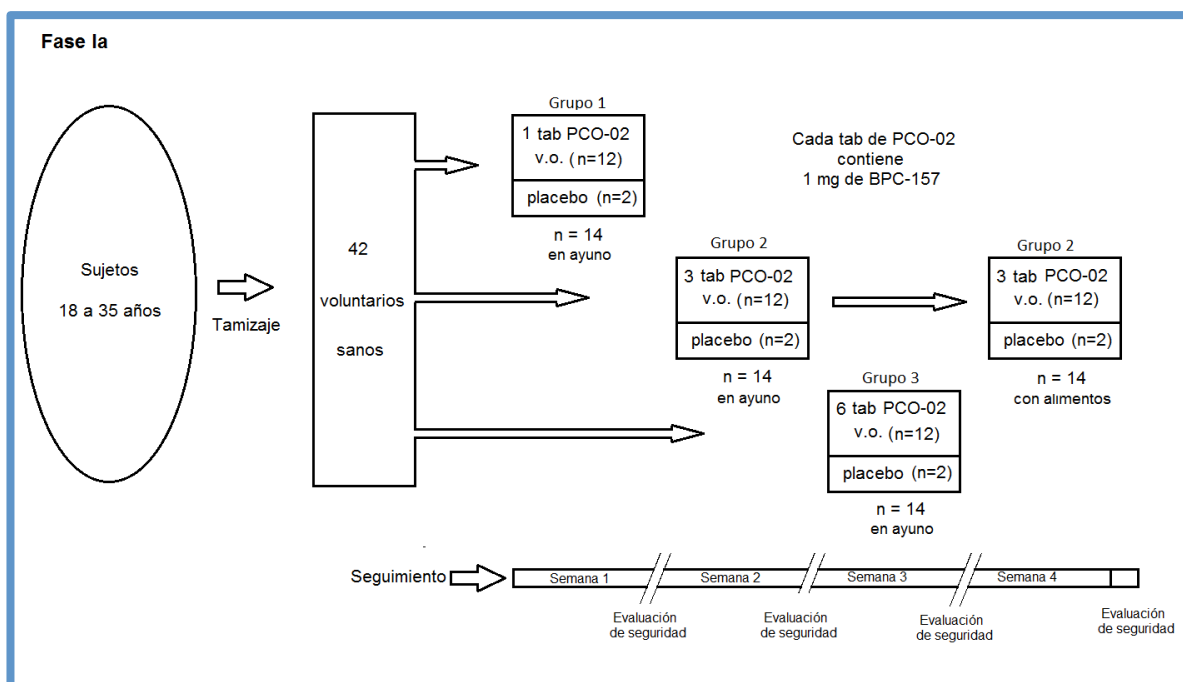
La muestra bajo estudio estará conformada por 42 sujetos, quienes serán sometidos a dos formas distintas de intervención, que se han denominado Fase Ia y Fase Ib. En ambas fases se estudia la administración oral de PCO-02, pero a diferentes dosis y tiempo de exposición en cada una, siendo ambas controladas con un grupo pequeño de sujetos que recibe placebo y que servirán de comparación, tanto en la evaluación de seguridad como en la evaluación farmacocinética. A continuación se describen por separado las dos fases del estudio.

4.2.1 Fase Ia.

Esta fase está diseñada para administrar a los voluntarios una dosis única de 1, 3 y 6 mg de Bepecin (BPC-157), que corresponden a 1, 3 y 6 tabletas de PCO-02, respectivamente. Además, se asignará al azar entre estos voluntarios la administración de un placebo.

Los 42 sujetos serán divididos en tres grupos o cohortes de 14 sujetos cada uno; cada cohorte la integrarán 7 hombres y 7 mujeres. En cada cohorte, 12 sujetos recibirán una dosis única, ya sea de 1, 3 o 6 tabletas de PCO-02 por vía oral y 2 sujetos recibirán una dosis de placebo (razón PCO-02: placebo de 6:1 en cada cohorte). La asignación a PCO-02 o placebo, será aleatoria y se mantendrá una condición de doble ciego durante todo el estudio. Todos los sujetos serán hospitalizados por 13 horas para recibir la administración oral correspondiente, vigilar EA y para la toma de muestras seriadas de sangre y orina para el estudio de farmacocinética. Los sujetos se encontrarán en condición de ayuno de al menos 8 horas previas a la administración oral del péptido BPC-157 o del placebo, y continuarán en ayuno

Una vez que las tres cohortes hayan terminado sus evaluaciones y el seguimiento correspondiente, la cohorte que recibió la dosis de 3 tabletas de PCO-02 (3 mg de Bepecin), incluidos los dos sujetos que recibieron placebo en este grupo, serán nuevamente hospitalizados por un día, para recibir una segunda dosis de 3 tabletas de PCO-02 o placebo, después de haber ingerido un desayuno completo. Se tomarán las muestras de sangre y orina correspondientes y se vigilarán EA. Se egresarán después de 13 horas para continuar vigilancia ambulatoria y a la semana repetir su evaluación clínica y exámenes generales de laboratorio y ECG para corroborar seguridad, también se tomarán muestras de sangre y orina para el estudio de farmacocinética.



Esta fase corresponde a la administración oral de 3 tabletas de PCO-02 (3 mg de Bepecin) o placebo cada 8 horas durante dos semanas y se iniciará una vez que los resultados sobre seguridad de la Fase Ia hayan sido analizados en un análisis intermedio y se demuestre la ausencia de EA relacionados a la intervención. Se anticipa que se requerirán al menos 4 semanas para iniciar la Fase Ib, una vez concluida la Fase Ia por todos los grupos.

Los 42 sujetos del estudio que participaron en la Fase Ia serán los mismos sujetos que participarán en la Fase Ib. A los que recibieron PCO-02 en sus diferentes dosis de 1, 3 o 6 tabletas se les pedirá que sigan tomando una dosis estándar de 3 tabletas de PCO-02 cada 8 horas durante dos semanas. A los que recibieron placebo en la primera fase se les pedirá que sigan tomando una dosis similar de placebo (3 tabletas) cada 8 horas durante las 2 semanas. Lo anterior bajo condiciones de doble cegamiento como antes se señaló. Se vigilará pasivamente la presencia de EA durante las dos semanas de administración de las dosis seriadas y por cuatro semanas más para un total de 6 semanas de seguimiento, y se realizarán evaluaciones activas de seguridad, exámenes básicos de laboratorio y ECG a los 7, 14 y 42 días. También se tomarán muestras de sangre y orina para cuantificar las concentraciones de principio activo en esas mismas fechas.

Los desenlaces que se buscarán son 1) seguridad y 2) farmacocinética.

La evaluación de la seguridad de la intervención se hará documentando todos los EA que los sujetos mencionen durante el estudio. La identificación de EA se hará en todo momento a lo largo del estudio, solicitando al sujeto que reporte por vía telefónica, al equipo de investigación cualquier EA que ocurra durante el seguimiento, sean o no relativos a la intervención (ver definiciones de la sección 9.2 y 9.3). También se buscarán EA de forma sistemática cada vez que el sujeto se presente a evaluación.

El perfil farmacocinético ($C_{p_{max}}$, t_{max} , $t_{1/2}$, AUC, $C_{p_{min}}^{EE}$) del producto en investigación se realizarán usando los resultados de las concentraciones del principio activo (Bepecin) en plasma, obtenido de las muestras de sangre seriadas en la Fase Ia. El día 0 del estudio (hospitalización) se tomarán muestras de sangre a los 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, y 120 min y a las 4, 8, y 12 horas) y el día 7 como ambulatorio una más de seguimiento (toma de sangre a las 168 horas postadministración). Así mismo, el día 0 se recolectará la orina en tres intervalos de muestreo; de 0-1, 1-6 y 6-12 horas postadministración, y el día 7 una muestra más para seguimiento.

V Reclutamiento y Retiro del Estudio

Se hará una invitación abierta a través de anuncios en el periódico local y difusión en redes sociales, de tal manera que los candidatos potenciales procedan de entre la población general.

Para la selección, se les realizarán estudios de laboratorio que incluyan biometría hemática completa (BHC), química sanguínea (QS), perfil hepático (PFH), electrolitos séricos (ES) y examen general de orina (EGO). También se les realizará un electrocardiograma (ECG), y una radiografía de tórax. Las mujeres deberán contar con una prueba de embarazo en orina negativa. Además, por cuestiones de seguridad se les realizará a todos los sujetos pruebas de VIH y hepatitis C.

Los sujetos serán elegibles para el estudio de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

5.1 Criterios de Inclusión

- Hombres o mujeres con edad entre 18 años y 35 años.
- Dispuestos y capaces de proporcionar su consentimiento informado.
- IMC de 18.5 a 24.9 (normal).
- Resultados de laboratorio normales, de acuerdo a los siguientes criterios: Leucocitos >3,000; Plaquetas >100,000; Hemoglobina > 10.0 g/dL; AST, ALT y Bilirrubinas < 2.0 veces el LSN; Creatinina < 2.0 veces el LSN.
- ECG y radiografía de tórax normales según criterio del cardiólogo y del radiólogo respectivamente.
- Prueba de embarazo en orina negativa (mujeres).
- Disponibilidad para acudir a las evaluaciones necesarias del estudio.

5.2 Criterios de Exclusión

Serán criterios para considerar a los sujetos como no elegibles los siguientes:

- Historia de patología psiquiátrica.
- Mujeres embarazadas o lactando.
- Anormalidades con significancia clínica en electrocardiograma.
- Presencia de condiciones médicas o sociales que, en opinión del investigador, obstaculicen la adecuada participación del sujeto en el estudio o la evaluación de los objetivos del mismo.
- Sujetos con una infección generalizada activa.
- Sujetos que se encuentren recibiendo tratamiento médico para cualquier condición médica, aguda o crónica.
- Sujetos sometidos a una cirugía mayor en los últimos 6 meses.
- Antecedente en el último año de alcoholismo o drogadicción.

5.3 Procedimiento para la Asignación de la Intervención

El estudio se apegará a una asignación aleatoria para recibir PCO-02 o placebo.

5.3.1 Procedimiento para la Aleatorización

La aleatorización será generada por el patrocinador, quien proporcionará los frascos conteniendo las tabletas, ya sea de PCO-02 o de placebo, en la cantidad correspondiente para cada fase y para cada sujeto. Esta asignación se mantendrá tanto en la Fase Ia como en la Fase Ib. El patrocinador enviará una lista conteniendo la información privilegiada sobre el medicamento asignado a cada sujeto a uno de los miembros del equipo de investigación; quien conservará la información enmascarada para el resto de los investigadores. La información que deberá proporcionarse será similar a la que a continuación se presenta:

Cohorte	No. Progresivo.	Sexo	ID	Medicamento*
1	01	Hombre	C1-H1	PCO-02
1	02	Hombre	C1-H2	PCO-02
1	03	Hombre	C1-H3	Placebo
1	04	Hombre	C1-H4	PCO-02
1	05	Hombre	C1-H5	PCO-02
1	06	Hombre	C1-H6	PCO-02
1	07	Hombre	C1-H7	PCO-02
1	08	Mujer	C1-M1	Placebo
1	09	Mujer	C1-M2	PCO-02
1	10	Mujer	C1-M3	PCO-02
1	11	Mujer	C1-M4	PCO-02
1	12	Mujer	C1-M5	PCO-02
1	13	Mujer	C1-M6	PCO-02
1	14	Mujer	C1-M7	PCO-02
2	15	Hombre	C2-H1	PCO-02
2	16	Hombre	C2-H2	Placebo
2	17	Hombre	C2-H3	PCO-02
2	18	Hombre	C2-H4	PCO-02
2	19	Hombre	C2-H5	PCO-02
2	20	Hombre	C2-H6	PCO-02
2	21	Hombre	C2-H7	PCO-02
2	22	Mujer	C2-M1	PCO-02
2	23	Mujer	C2-M2	PCO-02
2	24	Mujer	C2-M3	PCO-02
2	25	Mujer	C2-M4	Placebo

2	26	Mujer	C2-M5	PCO-02
2	27	Mujer	C2-M6	PCO-02
2	28	Mujer	C2-M7	PCO-02
3	29	Hombre	C3-H1	PCO-02
3	30	Hombre	C3-H2	PCO-02
3	31	Hombre	C3-H3	PCO-02
3	32	Hombre	C3-H4	PCO-02
3	33	Hombre	C3-H5	PCO-02
3	34	Hombre	C3-H6	Placebo
3	35	Hombre	C3-H7	PCO-02
3	36	Mujer	C3-M1	PCO-02
3	37	Mujer	C3-M2	PCO-02
3	38	Mujer	C3-M3	PCO-02
3	39	Mujer	C3-M4	Placebo
3	40	Mujer	C3-M5	PCO-02
3	41	Mujer	C3-M6	PCO-02
3	42	Mujer	C3-M7	PCO-02
* Aleatorización simple, efectuada por el patrocinador, en cada grupo de 7 sujetos, uno será asignado a placebo.				

5.3.2 Procedimientos para Asegurar el Enmascaramiento

Los frascos tendrán etiquetas similares, de tal manera que no exista información sobre el tipo de tabletas que contienen. Deberá aparecer el número progresivo o identificación en clave del sujeto y la cantidad correspondiente de tabletas, de acuerdo al grupo al que se integrarán. Para cada sujeto se proporcionarán tres frascos de tabletas, un frasco conteniendo 1, 3, 6 tabletas de PCO-02 o placebo para la Fase Ia y dos frascos conteniendo 63 tabletas de PCO-02 o placebo para la Fase Ib. Dado que la cohorte que recibirá 3 tabletas tendrá una segunda exposición habiendo ingerido alimentos, esta cohorte dispondrá de un frasco más conteniendo 3 tabletas de PCO-02 o placebo. En el Anexo II se presenta una muestra de la etiqueta que aparecerá en el frasco conteniendo el medicamento.

En el equipo de investigación solo una persona conocerá la asignación de cada sujeto y la mantendrá enmascarada para el resto del equipo. Al final del estudio se les notificará a los sujetos la asignación a que fueron expuestos.

5.3.3 Razones de Retiro

Los sujetos podrán dejar el estudio en cualquier momento, notificando las razones de su decisión al investigador principal.

La ocurrencia de cualquier EA, anormalidad de laboratorio, enfermedad intercurrente, o alguna otra condición médica o situación tal que la participación del sujeto en el estudio le sea contraria a su bienestar podrá motivar la eliminación del sujeto del estudio. También lo será si durante el seguimiento ocurriera el desarrollo de cualquiera de los criterios de exclusión. En ambos casos, la razón de retiro del sujeto debe ser suficientemente aclarada por el investigador principal.

5.3.4 Manejo de los Sujetos Retirados del Estudio

Todo sujeto que deje de acudir a sus evaluaciones será contactado por vía telefónica, o personalmente en su domicilio, por miembros del equipo de investigación para conocer su estado clínico y la posibilidad de EA y EAS. Se tratará de convencerle de finalizar su seguimiento preestablecido. En caso de no aceptar, por lo menos se tratará de garantizar la evaluación de los desenlaces finales en una visita programada para este fin (visita de interrupción), ofreciéndole al sujeto las facilidades necesarias para colaborar en sus evaluaciones según se requiera. La razón por la que deja el estudio deberá ser suficientemente aclarada con el investigador principal.

Si el sujeto no completara el seguimiento mínimo de 13 horas en hospitalización en la Fase Ia, o las seis semanas de seguimiento en la Fase Ib será retirado del análisis del estudio y podrá ser reemplazado por otro.

5.3.5 Terminación del Estudio

La identificación de cualquier EAS relacionado a la intervención motivará la suspensión inmediata del estudio, temporal o permanente. En caso de EAS se procederá con la inmediata notificación al patrocinador, al Comité de Ética (CE) y a la Centro Nacional de Farmacovigilancia (CNF) tal como se estipula en la NOM-220-SSA1-2002.

La evaluación intermedia de seguridad programada entre la Fase Ia y la Fase Ib, también podrá derivar en la interrupción del estudio, si a juicio del investigador principal, el patrocinador y el monitor médico, existieran elementos para considerar que el estudio representa riesgos mayores a los esperados para los sujetos bajo investigación.

El estudio también podrá ser suspendido en cualquier momento por el patrocinador, sin importar las razones que tuviera para hacerlo.

VI Intervención Bajo Estudio

6.1 Descripción del Medicamento

6.1.1 Adquisición

El medicamento bajo investigación PCO-02 y el placebo serán proporcionados por el patrocinador Pharmacotherapia d.o.o. El producto es manufacturado por Extractum Pharma en Budapest, Hungría siguiendo los estándares internacionales de calidad y seguridad (CGMP y CMC, FDA). Las tabletas necesarias para el estudio, serán suministradas sin restricción en cantidad, por parte del patrocinador Pharmacotherapia d.o.o. a solicitud de los investigadores, y de acuerdo con las necesidades del protocolo.

6.1.2 Formulación, Empaquetamiento y Etiquetado

La sustancia farmacéutica activa es el penta-deca-péptido BPC-157 en la forma de sal disódica, estabilizada con manitol. Está constituida por la siguiente secuencia de aminoácidos glicil-L-glutamil-L-prolil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-alanil-aspartil-L-aspartil-L-alanil-gliceril-L-leucil-L-valina. Su nombre genérico es Bepecin. El compuesto sintético se obtiene en forma de un compuesto sólido, amorfo, soluble en agua. La solución en agua del compuesto es clara e incolora.

Se ha formulado para su uso clínico en tabletas blancas, redondas con un peso de 100 mg, con 0.5 o 1 mg de BPC-157. Están etiquetadas con el código PCO-02. Otros ingredientes que se encuentran en dicha tableta son manitol, celulosa, almidón de maíz, bicarbonato de sodio, dióxido de silicio coloidal y estearato de magnesio como excipientes. El placebo contiene los mismos elementos y la misma forma de presentación de las tabletas, pero carece del elemento activo. Para el estudio solo se dispondrá de tabletas de 1 mg de PCO-02 o su similar de placebo. Se presentará en frascos que contengan 1, 3, 6 o 63 tabletas, ya sea de PCO-02 o PCO-03 (placebo), en cuyas etiquetas, redactadas en idioma español, aparezca lo siguiente:

- Número de identificación del protocolo.
- Razón social y domicilio del fabricante.
- Número de lote, código de identificación y forma farmacéutica.
- Fecha de caducidad.
- Condiciones de almacenamiento.
- Deberá contener las siguientes leyendas: “Prohibida su venta”; “Uso permitido solo para investigación”; “Consérvese lejos del alcance de los niños”.

En el Anexo II se presenta una muestra de la etiqueta que aparecerá en cada frasco del producto.

6.1.3 Almacenamiento y Conservación

El producto activo es estable a temperatura ambiente y con humedad de hasta 65%, hasta por lo menos durante un año. Si se diluye en agua, la solución resultante es estable a temperatura

ambiental hasta por 24 horas. La conservación de las tabletas, tanto de las que tienen el ingrediente activo como las que contienen placebo quedará a cargo del químico y se mantendrán en frascos cerrados, en lugar fresco y seco y aseguradas bajo llave.

6.2 Dosis, Preparación y Administración del Producto Bajo Investigación

La preparación de dotaciones específicas para la administración en la Fase Ia y en la Fase Ib, tanto del producto activo como del placebo, será responsabilidad del patrocinador y se hará con anticipación a la participación de los sujetos de estudio.

Fase Ia.

La primera cohorte de 14 sujetos recibirá una sola tableta para ser deglutida, la segunda cohorte recibirá 3 tabletas, mientras que la tercera recibirá 6 tabletas. La asignación a PCO-02 o placebo será aleatoria y realizada por el patrocinador.

Fase Ib.

A los sujetos se les proporcionará una dotación de 63 tabletas, conteniendo PCO-02 o placebo, según sea el caso. Se les instruirá para tomar tres tabletas juntas cada 8 horas durante 7 días. A los 7 días deberán acudir a evaluación y por una nueva dotación para los siguientes 7 días. El sujeto desconocerá el tipo de tratamiento que recibe.

6.3 Criterios para Incrementar Dosis de BPC-157 ó Placebo

La dosis que recibirán los 14 sujetos de la primera cohorte de la Fase Ia será de una tableta de PCO-02 (1 mg de BPC-157) o una tableta de placebo, mientras que la segunda cohorte recibirá 3 tabletas y la última recibirá 6 tabletas, de PCO-02 o placebo según corresponda. Este incremento entre los grupos se hará de manera sistemática, a menos que existan EA severos en alguno de los grupos que justifiquen la terminación temporal o permanente del estudio y la necesidad de interrumpir el cegamiento. La dosis en la Fase Ib se mantendrá de manera uniforme en 3 tabletas de PCO-02 o de placebo cada 8 horas durante dos semanas en todos los sujetos.

6.4 Medicación Concomitante

No se permitirá la administración de medicamentos concomitantes con la administración del producto en investigación (o el placebo). El sujeto deberá omitir la ingesta de bebidas alcohólicas durante la duración del estudio.

VII Cronograma del Estudio

En esta sección se mencionan los tiempos programados para la completa realización del estudio. En el Anexo I se presenta la programación de procedimientos y el cronograma del estudio respectivamente.

7.1 Identificación de los Sujetos y Reclutamiento

La invitación se hará a través de anuncios en el periódico local y en redes sociales, buscando sujetos jóvenes, sanos, que sean voluntarios para participar en el estudio. Se les indicará que deben solicitar cita para evaluación en el sitio sede con el equipo de investigación para establecer criterios de selección y posible elegibilidad. Al solicitar su cita se les asignará una clave de tamizaje, misma con la cual se les identificará a lo largo de toda su participación en la investigación. Dicha clave consistirá en un número consecutivo y la letra “A” o “B” (por ejemplo: 1A, 1B, 2A, 2B, etc.)

7.2 Tamizaje Inicial (día -30 a el día -1)

Los sujetos que sean identificados como candidatos potenciales y que acepten participar en el estudio, deberán contar con una evaluación inicial tanto clínica, como de laboratorio y gabinete para verificar los criterios de inclusión y exclusión (tamizaje inicial). La fase de tamizaje comprenderá de dos a tres sesiones que el sujeto tendrá que cumplir para cubrir los requisitos de selección. Para la realización del tamizaje se requiere que el sujeto firme una carta de consentimiento para participar en la fase de tamizaje (ver anexo VIII). Las evaluaciones que deberán integrarse en esta fase están encaminadas a identificar a los sujetos participantes.

1. Evaluación clínica. Realizada por un médico certificado, esta evaluación clínica inicial incluye la realización de:
 - a. Historia clínica completa.
 - b. Exploración física completa y toma de signos vitales.
 - c. Peso y talla.
2. Medicación previa y concomitante. El sujeto deberá notificar los medicamentos que ha tomado durante los catorce días previos a la evaluación que se está realizando.
3. Laboratorio. El sujeto será enviado al Laboratorio Clínico del HAT para la realización de exámenes de laboratorio, que incluyan: BHC, plaquetas, QS, PFH, ES, VIH, HC y EGO. Las mujeres deberán realizarse además una prueba de embarazo en orina.
4. Gabinete. El sujeto deberá contar con radiografía simple de tórax y un ECG. Serán enviados al gabinete de imagenología del HAT para la realización de las radiografías y en el Departamento de Urgencias y Medicina Ambulatoria del mismo nosocomio para la realización del ECG.

5. Con estas evaluaciones se podrá efectuar la selección de los sujetos en el estudio, quienes firmarán el consentimiento informado para participar en el estudio (ver anexo IX).

7.3 Fase Ia

7.3.1 Intervención (día 0)

Los sujetos que reúnan los criterios de selección y acepten a participar en el estudio de intervención serán hospitalizados para la realización de la Fase Ia. Antes de administrar el producto bajo estudio, se requiere de evaluaciones complementarias, tales como:

1. Ratificación de la selección. El investigador principal o un médico certificado designado por él, deberá corroborar los criterios de inclusión y exclusión encontrados en el sujeto para ratificar la selección como participante.
2. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar síntomas que el sujeto pudiera referir. También se corroborarán los signos vitales y peso.
3. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo o haya recibido al momento de la intervención o los días previos.
4. Corroboración de ayuno. El sujeto debe encontrarse en condiciones de ayuno por lo menos de 8 horas previas a la administración del producto bajo investigación (o placebo)
5. Intervención. Se realiza el procedimiento de administración del producto en investigación (o placebo) según lo estipulado.
6. Toma seriada de muestra de sangre y orina. Para verificar el perfil farmacocinético del producto en investigación, se realizará la toma seriada de muestras de laboratorio.
 - a. Muestras de sangre: Se tomarán 5 mL de sangre total inmediatamente antes de recibir la dosis oral correspondiente, es decir al momento 0, luego a los 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120 minutos, y a las 4, 8, y 12 horas después de la administración oral de la dosis única de 1, 3 o 6 tabletas de PCO-02 o placebo.
 - b. Muestras de orina: Se le pedirá al sujeto que proporcione una muestra de 10 mL de orina a las 1, 6 y 12 horas después de la administración oral de la dosis única de 1, 3 o 6 tabletas de PCO-02 o placebo.
7. Búsqueda sistemática de EA. Mientras el sujeto se encuentre bajo observación y durante el seguimiento se vigilarán posibles EA. Se egresa del medio hospitalario si no existen EA, para continuar vigilancia como externo.

7.3.2 Seguimiento (día 1 a día 7)

Día 1 a Día 6

Una vez egresado del medio hospitalario el sujeto se mantendrá bajo vigilancia pasiva, pidiéndole que reporte vía telefónica al equipo de investigación cualquier EA que pudiera presentar:

Día 7

Se le solicitará al sujeto que acuda en condiciones de ayuno a la Unidad de Investigación en HAT para evaluaciones complementarias. Las evaluaciones que se realizarán el día 7 después de la intervención son las siguientes:

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
3. Eventos adversos. Se vigilará y mantendrá el registro de EA
4. Toma de muestras de sangre y orina. Las tomas de sangre y orina serán para la realización de BHC, plaquetas, QS, PFH, ES y EGO para evaluar seguridad. También se tomarán muestras de sangre y orina para medir concentración del principio activo.
5. ECG.

7.3.3 Intervención con Alimentos (día 0 al día 7)

Los sujetos de la segunda cohorte, que recibieron 3 tabletas de PCO-02 (o su dosis similar de placebo) recibirán una segunda administración de la misma dosis en una segunda ocasión, pero en esta, habiendo ingerido alimentos. La administración del medicamento y la tomas seriadas de sangre y orina se realizarán cuando el sujeto ha recibido un desayuno estándar, consistente en dos huevos fritos, dos porciones de tocino, una porción de frijoles, un vaso de leche, un vaso de jugo de naranja, y pan con mantequilla o tortillas. Se le dejará que coma su desayuno completo en un periodo de 30 minutos, a los cinco de terminados sus alimentos se le administrará el medicamento en cuestión con 200 mL de agua y se procederá a la toma seriada de sangre. Las evaluaciones y el seguimiento serán iguales a lo mencionado para la Fase Ia.

7.4 Fase Ib

7.4.1 Intervención (día 0)

Los 42 sujetos que participaron en la Fase Ia serán invitados a formar parte de la Fase Ib. Esta fase consiste en la administración oral de una dosis de 3 tabletas de PCO-02 cada 8 horas (o placebo) durante 14 días. Las evaluaciones se realizarán de forma ambulatoria. Las evaluaciones y procedimientos que se realizarán el día 0 serán las siguientes:

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.

2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
3. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.
4. Exámenes de laboratorio y gabinete: Se tomarán en cuenta los exámenes y estudios de gabinete realizados en la visita del día 7 de la Fase Ia como evaluación basal de esta fase.
5. Dotación de medicamento. Se le dotará al sujeto con 63 tabletas de PCO-02 (o placebo) para que inicie la toma seriada del producto en investigación a razón de 3 tabletas cada 8 horas, durante los 7 días siguientes. La primera toma se efectuará en presencia de un miembro del equipo de investigación.
6. Programación de recordatorio. Se programará la alarma de su teléfono celular para recordarle las siguientes tomas de medicamento, que serán cada 8 horas.
7. Se le cita a evaluación y nueva dotación. Se le citará a los 7 días, en condiciones de ayuno, para realizar evaluación clínica, exámenes de laboratorio BHC, plaquetas, QS, PFH, ES, EGO y ECG y muestra de sangre para estudio de farmacocinética, además de otorgársele nueva dotación de medicamento.

Además se le notificará al sujeto la necesidad de mantenerse en contacto con el investigador principal o algún otro miembro del equipo de investigación para el reporte de posibles EA.

7.4.2 Seguimiento (día 7)

Los sujetos serán evaluados en condiciones de ayuno y de manera ambulatoria, al completar 7 días de la administración oral del medicamento en cuestión. Serán sometidos a las siguientes evaluaciones y procedimientos.

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
3. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.
4. Exámenes de laboratorio y gabinete: Se tomarán muestras de sangre y orina para BHC, plaquetas, QS, PFH, ES y EGO. También se tomará una muestra de sangre y de orina durante las dos horas previas a la siguiente dosis programada de medicamento para determinar concentraciones del principio activo.
5. Conteo de tabletas. Se cuantificará el número de tabletas como indicador de cumplimiento.
6. Dotación de medicamento. Se le dotará al sujeto con 63 tabletas de PCO-02 (o placebo) para que continúe la toma seriada del producto en investigación a razón de 3 tabletas cada 8 horas, durante los siguientes 7 días.

7. Programación de recordatorio. Se verificará la programación de la alarma en su teléfono celular para recordarle las siguientes tomas de medicamento, que serán cada 8 horas.
8. Se le cita a siguiente evaluación. Se le citará a los 7 días, en condiciones de ayuno, para realizar evaluación clínica, exámenes de laboratorio BHC, plaquetas, QS, PFH, ES, EGO, ECG y teleplaca de tórax así como toma de muestra de sangre para estudio de farmacocinética.

Además se le recordará al sujeto la necesidad de mantenerse en contacto con el investigador principal o algún otro miembro del equipo de investigación para el reporte de posibles EA.

7.4.3 Evaluación Intermedia (día 14)

Los sujetos serán evaluados en condiciones de ayuno y de manera ambulatoria, al completar los 14 días de la administración oral del medicamento en cuestión. Serán sometidos a las siguientes evaluaciones y procedimientos.

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
3. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.
4. Conteo de tabletas. Se cuantificará el número de tabletas como indicador de cumplimiento.
5. Exámenes de laboratorio y gabinete: Se tomarán muestras de sangre y orina para BHC, plaquetas, QS, PFH, ES y EGO. También se tomará una muestra de sangre y de orina durante las dos horas previas a la siguiente dosis programada de medicamento para medir concentraciones del principio activo. Se realizará ECG y tele de tórax.

Además se le recordará al sujeto la necesidad de mantenerse en contacto con el investigador principal o algún otro miembro del equipo de investigación para el reporte de posibles EA.

7.4.4 Evaluación Final (día 42 ± 2)

Los sujetos serán evaluados en condiciones de ayuno y de manera ambulatoria, al completar los 42 días del inicio de la Fase Ib. Serán sometidos a las siguientes evaluaciones y procedimientos.

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
3. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.

4. Exámenes de laboratorio y gabinete: Se tomarán muestras de sangre y orina para BHC, plaquetas, QS, PFH, ES y EGO. También se tomará una muestra de sangre y de orina para medir concentraciones del principio activo. Se realizará ECG y tele de tórax.

Además se le recordará al sujeto la necesidad de mantenerse en contacto con el investigador principal o algún otro miembro del equipo de investigación para el reporte de posibles EA.

7.5 Visita para Interrumpir el Estudio

En caso que durante el seguimiento el sujeto decida interrumpir su participación, deberá acudir con el investigador principal o con otra persona asignada por él, para evaluación complementaria. Esta visita deberá ser programada por vía telefónica, mensaje de texto o correo electrónico con el equipo de investigación. En esta entrevista se debe incluir las siguientes evaluaciones:

1. Razones para terminar el estudio. Se deberá indagar cuáles son las razones principales que el sujeto tiene para suspender su participación y anotarlas en el formato apropiado. Es de capital importancia establecer si la deserción tiene que ver con posibles EA experimentados por el sujeto.
2. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
3. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.
4. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.
5. Exámenes de laboratorio y gabinete: Se tomarán muestras de sangre y orina para BHC, plaquetas, QS, PFH y EGO. Se realizará ECG y tele de tórax. También se tomará una muestra de sangre y orina para medir concentraciones del principio activo.

7.6 Visita No Programada

Los participantes del estudio pueden acudir a evaluaciones no programadas en caso de sentir EA o tener inquietudes acerca del estudio, previa notificación al investigador principal o al equipo de investigación para concertar la cita. Los sujetos dispondrán de comunicación abierta y directa con el investigador principal a través de llamadas telefónicas, mensajes de texto o correo electrónico para esta finalidad. En toda visita no programada se deberá evaluar:

1. Nota médica y examen físico dirigido. El sujeto será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar los posibles síntomas del sujeto.
2. Historia de medicación concomitante. Se debe considerar todo medicamento que el sujeto esté recibiendo.

3. Eventos adversos. Se mantendrá el registro de EA.

VIII Procedimientos y Evaluaciones que Integran el Estudio

A continuación se describen las evaluaciones que se realizarán en los sujetos durante las distintas fases del estudio.

8.1 Evaluaciones Clínicas

- Historia clínica completa. Es la narración escrita, ordenada, clara, precisa y detallada, de todos los datos relativos a un enfermo, tanto anteriores como actuales, personales y familiares, que sirven de juicio definitivo de la enfermedad actual. Se utilizarán los formatos de historia clínica del HAT para este estudio (ver anexo III: Formato para Obtención de Historia Clínica).
- Nota médica. Es la narración evolutiva de un síntoma o padecimiento. Forma parte del expediente médico. Se utilizarán los formatos de notas médicas del HAT para este estudio (ver anexo IV: Formato para Notas Médicas).
- Examen físico completo. Forma parte de la historia clínica.
- Examen físico dirigido. Forma parte de la nota médica.
- Signos vitales. Se registrará temperatura, tensión arterial, frecuencia cardíaca. Esta información forma parte de la historia clínica y de la nota médica.
- Peso y talla. Todo sujeto será pesado en Kg y medido en metros para calcular el IMC. Esta información se incluye en la historia clínica del sujeto.
- Medicación concomitante. Se investigará todo medicamento que el sujeto esté o haya estado tomando en los últimos treinta días previos a la intervención. La información se recabará en cada visita que el sujeto realice.
- Eventos adversos. Los EA, incluyendo los severos, se investigarán en todas las visitas que ocurran después de la intervención. Las definiciones de EA se presentan en la sección 9.2 y 9.3. Los FRC para recabar esta información se presentan en el Anexo V y VI.

8.2 Evaluaciones de Laboratorio

8.2.1 Estudios para Evaluar Seguridad

Los participantes deberán efectuarse exámenes de sangre y orina al momento del tamizaje inicial para la selección, al final de la primera semana en la Fase Ia y a los 7, 14 y 42 días en la Fase Ib como una medida para evaluar seguridad de la intervención. Los estudios de laboratorio incluyen:

- Biometría hemática completa. Debe contar al menos con hemoglobina, hematocrito, células rojas, células blancas, diferencial de células blancas y número de plaquetas.
- Química sanguínea. Debe contar con cuantificación de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, y electrolitos séricos.
- Pruebas funcionales hepáticas. Bilirrubinas totales, ALT, AST y GGT.

- Examen general de orina.
- Prueba de embarazo en orina (solo mujeres).

8.2.2 Estudios de Farmacocinética

Se tomarán muestras de sangre y de orina de manera seriada en ambas fases del estudio en todos los sujetos participantes para las determinaciones de farmacocinética.

- Muestras de sangre. En la fase Ia se tomará una muestra de 5 mL de sangre total al momento 0, esto es, inmediatamente antes de la ingesta oral del medicamento, a los 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120 minutos, y a las 4, 8, y 12 horas después de la ingesta oral de la dosis única respectiva de medicamento, en el medio hospitalario. También se tomará una muestra de sangre y orina a los 7 días como ambulatorio. Con estas mediciones se trazará el perfil farmacocinético del principio activo.
En la Fase Ib se tomará una muestra de 5 mL de sangre total los días día 7, 14 y 42. Esta muestra se obtendrá preferentemente durante las dos horas previas a la administración de la siguiente dosis (pre-dosis). Estas muestras serán solo exploratorias para identificar posibles efectos de la dosificación múltiple en la concentración del principio activo.
- Muestras de orina. En la fase Ia se le pedirá al sujeto que proporcione una muestra de 10 mL de orina a la 1, 6 y 12 horas después de la ingesta oral de la dosis única respectiva de medicamento, así como a los 7 días. En la Fase Ib se tomará una muestra de 10 mL de orina los días 7, 14 y 42. Esta muestra se obtendrá preferentemente durante las dos horas previas a la administración de la siguiente dosis (pre-dosis).

8.3 Evaluaciones de Gabinete

Las evaluaciones de gabinete se realizarán como parte del tamizaje inicial para selección de los sujetos, así como al completar la semana en la Fase Ia, y a los 14 y 42 días en la Fase Ib. Se realizan como parte de la evaluación de seguridad del estudio.

- Radiografía de tórax. Se solicitarán radiografías simples de tórax en proyección postero-anterior (tele de tórax) tanto para la selección como en para evaluación final.
- ECG. Se realizará ECG como parte del tamizaje inicial para la selección de los sujetos, así como en cada visita programada a lo largo del estudio.

IX Evaluación de la Seguridad

La evaluación de la seguridad por la intervención se hará documentando todos los EA que los sujetos mencionen durante el estudio.

9.1 Métodos y Tiempos para Evaluar los Indicadores de Seguridad

La identificación de EA se hará en todo momento a lo largo del estudio, solicitando al sujeto que reporte por vía telefónica, al equipo de investigación cualquier EA que ocurra durante el seguimiento del estudio, sean o no relativos a la intervención. También se buscarán EA de forma sistemática en la revisión clínica, de laboratorio y gabinete que se efectuará cada vez que el sujeto acuda a evaluación de seguimiento. Se realizará una evaluación intermedia de seguridad, al completarse el seguimiento de por lo menos una semana en los sujetos que completaron la Fase Ia. Esta evaluación se realizará de manera conjunta por el investigador principal, el representante del patrocinador, y el monitor médico.

9.2 Definición de Evento Adverso (EA)

El ICH-E6 define a un EA como cualquier respuesta nociva en un sujeto o paciente de una investigación clínica que recibe un producto farmacéutico no obstante su relación causal con el tratamiento del estudio. Por lo tanto, un EA puede ser cualquier signo desfavorable o no intencional (incluido un hallazgo anormal en los análisis), síntoma o enfermedad vinculada temporalmente con el uso del producto de investigación. El personal del estudio puede identificar la reacción adversa durante las consultas y entrevistas del sujeto que acude en busca de atención médica o cuando un supervisor del estudio lo revisa.

Todo EA, incluidas las reacciones locales y generalizadas que no llenan los criterios de “eventos adversos graves” se deben anotar en la hoja correspondiente de recolección de datos. La información que se debe obtener incluye la descripción de la reacción, la hora de inicio, la evaluación médica de la magnitud, su relación con el producto del estudio (que puede ser evaluada únicamente por aquellos con entrenamiento y autoridad para establecer un diagnóstico, lo que incluye al médico general o enfermeras recibidas) en el momento de la resolución/estabilización de la reacción. Todo EA que ocurre durante el estudio debe ser anotada tengan o no relación. Todo EA deberá ser vigilado hasta que se resuelva.

Cualquier enfermedad que el sujeto padece durante la consulta de selección, se debe considerar parte de la basal y no un EA. Los sujetos con condiciones pre-existentes no serán elegibles para el estudio.

Magnitud de la reacción: el médico evaluará los EA utilizando el sistema siguiente para clasificar la severidad:

- Leve: reacciones que requieren de un tratamiento mínimo o nulo y que no interfieren con las actividades diarias del sujeto.
- Moderada: reacciones que provocan inconvenientes o inquietudes leves con las medidas terapéuticas. Las reacciones moderadas pueden interferir un poco con el funcionamiento.
- Severos: la reacción interrumpe las actividades diarias del sujeto y requiere de la administración de medicamentos por vía general o de algún otro tratamiento. Por lo general son incapacitantes.
- Que ponen en peligro la vida: cualquier reacción adversa que, según el criterio del investigador, amenaza de inmediato la vida del sujeto; sin incluir la reacción que, de haber ocurrido en forma más grave, pudo haber causado la muerte.

Los cambios en la magnitud de un EA se anotan para poder valorar la duración de cada reacción según su magnitud. Cuando una reacción adversa se considera intermitente, se anota la hora de inicio y la duración de cada episodio.

Relación con los productos del estudio: La evaluación que realiza el médico de la relación que tiene un EA con el producto de investigación forma parte del proceso de documentación, pero no constituye un factor importante para establecer lo que se reporta o no en el estudio. Cuando existe duda sobre una observación clínica que sea un EA o no, la reacción se reportará. En todo EA se debe establecer su relación con el producto de investigación. En un estudio clínico, siempre se debe sospechar del producto de la investigación. Para ayudar a esta evaluación, se utilizan las normas siguientes:

- Definitiva (claramente vinculada con el producto) –existe una relación temporal posible entre el comienzo del EA y la administración del producto de investigación y el EA no se puede explicar fácilmente por el estado clínico previo del sujeto, las enfermedades concomitantes o tratamientos simultáneos; y el EA tiene un patrón conocido de respuesta al producto de investigación; y/o el EA se resuelve al suspender el producto de investigación y, si es aplicable, reaparece al administrarlo de nuevo.
- Probable (probablemente vinculado con el producto de investigación) –existe una secuencia temporal razonable con la administración del producto de investigación y que es poco probable que se pueda atribuir a la enfermedad concomitante o a otros fármacos o sustancias químicas, que además tiene una respuesta clínica razonable al suspender el producto. Para satisfacer esta definición no es necesario administrar de nuevo el producto.
- Posible (quizá está vinculada con el producto de investigación) –existe una secuencia temporal razonable con la administración del producto de investigación, pero que también se puede explicar por la enfermedad u otros medicamentos o sustancias químicas concomitantes. No siempre existe o es clara la información sobre la supresión del fármaco.

- Poco probable (su relación con el producto de investigación es dudosa) –la secuencia temporal con la administración del producto de investigación hace que la relación causal sea poco probable y que otros fármacos, sustancias químicas o enfermedades de fondo ofrezcan explicaciones posibles.
- Independiente (claramente no tiene relación con el producto de la investigación) – existe evidencia sólida de que el EA es secundario a otro fenómeno independiente del producto de investigación (p. ej., una enfermedad previa, enfermedad de fondo, enfermedad concomitante o medicamento concomitante); y/o el EA no tiene relación temporal con la administración del producto de investigación (p. ej., cáncer diagnosticado dos días después del tratamiento).

9.3 Definición de Evento Adverso Severo (EAS)

Un EAS es un EA que tiene alguno de los resultados siguientes:

- Muerte (es decir, el EA provoca la muerte o conduce hacia ella).
- Un acontecimiento que pone en peligro la vida (es decir, el EA, según el investigador, pone en peligro inmediato de muerte al sujeto).
- Requiere de hospitalización o prolonga la hospitalización.
- Provoca discapacidad/incapacidad persistente o grave (es decir, el EA altera considerablemente la capacidad del sujeto para realizar las funciones normales de la vida).
- Una anomalía congénita/defecto congénito en un neonato/recién nacido hijo de una mujer que tuvo contacto con el producto de la investigación.
- Cualquier otro acontecimiento médico importante que no provoque la muerte, sea peligroso o requiera de hospitalización se puede considerar una reacción adversa cuando, según el criterio médico, el acontecimiento pone en peligro al sujeto y requiere de alguna acción médica o quirúrgica para prevenir alguno de los resultados antes mencionados. Algunos ejemplos de estos acontecimientos médicos son broncoespasmo alérgico que requiere de tratamiento intensivo en urgencias o el hogar, discrasias sanguíneas o convulsiones que no provocan la hospitalización del sujeto.

Los términos “intensidad” y “severidad” no son sinónimos. La intensidad se refiere a la magnitud de un EA (p. ej., dolor leve, moderado o intenso); la reacción misma no siempre es importante desde el punto de vista médico (p. ej., una cefalea intensa). El término “severo” es una definición normativa y se basa en los resultados del sujeto o la reacción o en criterios de acción que suelen vincularse con acontecimientos que ponen en peligro la vida o las funciones vitales del sujeto. La severidad (no la intensidad) sirve como guía para definir las obligaciones en cuanto a la notificación.

Al anotar los EA y EAS en los Formatos para Registro de Casos (FRC), es importante considerar independientemente la intensidad y severidad.

9.4 Procedimientos para el Manejo de EA

El investigador es el encargado de cerciorarse que todos los EA y EAS (según se definen en la sección 9.2 y 9.3) se anoten en el FRC y se notifiquen al patrocinador, al CE y al CNF de acuerdo con las instrucciones del protocolo. Para cada EAS observado, el investigador deberá obtener toda la información disponible sobre el acontecimiento, incluido, más no limitados: diagnóstico a la alta hospitalaria, nota de la alta hospitalaria, certificado de defunción, resultados de los análisis correspondientes (incluidos resultados de autopsias y biopsias), exámenes médicos (incluidos exámenes radiográficos y consultas médicas).

El periodo del estudio durante el cual es necesario notificar cualquier EA o EAS empieza después de la primera administración del producto del estudio y termina al final del estudio o cuando se suspende o interrumpe el estudio, lo que suceda primero. Después de este periodo los investigadores deberán notificar únicamente los EAS que se atribuyen al tratamiento del estudio.

Los EA que se observan o notifican antes de iniciado el tratamiento del estudio se anotan como reacciones independientes del tratamiento y las que aparecen después se anotan como reacciones que surgen durante el tratamiento, estén o no relacionados con la intervención.

Los investigadores buscarán información sobre los EA y EAS cada vez que tengan contacto con el sujeto haciendo preguntas específicas y, según corresponda, explorándolo. Los EA y EAS, ya sea que las manifieste espontáneamente el sujeto o las observe el personal autorizado para el estudio, se anotarán en el expediente médico del sujeto y en el FRC correspondiente.

Cada EA o EAS se describirá según su duración (es decir, fechas de inicio y terminación), magnitud, criterios para clasificar la gravedad cuando aplican, relación probable con el producto de investigación y acciones que se llevan a cabo (ver Anexo V y VI).

Nota: la evaluación que realiza el investigador sobre la relación causal de cada EA, forma parte del proceso de documentación del estudio. Ya sea que encuentre o no una relación causal de cada EA, el patrocinador evaluará de inmediato todas los EAS frente a la experiencia acumulada del producto para identificar y comunicar lo más pronto posible cualquier hallazgo nuevo en cuanto a la inocuidad a los investigadores y autoridades correspondientes. La atribución de las EAS se revisará continuamente y puede cambiar conforme surjan nuevos datos clínicos (p. ej., reversibilidad del EA, datos clínicos nuevos en el sujeto con el EA, efectos de un nuevo tratamiento, EA en otros sujetos).

9.4.1 Registro de EA en el Formato de Reporte de Casos (FRC).

Los investigadores utilizarán los términos o conceptos médicos correctos al registrar los EA o EAS en el FRC. Deben evitarse los términos coloquiales y las abreviaturas.

Por cada EAS observado, el investigador debe reportar el evento que inició ese episodio particular de enfermedad, como el evento primario.

En el FRC para EA y para EAS se anotará únicamente un concepto médico en este campo. A continuación se mencionan algunas situaciones acerca del registro.

- **Diagnóstico frente a signos y síntomas.** Cuando se conoce, se anotará el diagnóstico en el FRC en lugar de los signos y síntomas (es decir, se anota insuficiencia hepática o hepatitis en lugar de ictericia, asterixis y transaminasas elevadas). Sin embargo, cuando una constelación de signos y síntomas no se puede clasificar desde el punto de vista médico como un solo diagnóstico o síndrome en el momento del registro, cada evento se anotará como EA o EAS en el FRC. Si más adelante se establece el diagnóstico, se anota como información de seguimiento.
- **Reacciones adversas secundarias a otros acontecimientos.** En general, en los EA que son secundarios a otros acontecimientos (p. ej., secuencia de acontecimientos o secuelas clínicas) se debe identificar la causa primaria. Por ejemplo, se sabe que la diarrea abundante provoca deshidratación y basta con anotar diarrea como EA o EAS en el FRC. Sin embargo, los EA importantes desde el punto de vista médico que son secundarios a un acontecimiento primario y que ocurren en momentos distintos, se anotarán como acontecimientos independientes en el RFC. Por ejemplo, cuando una hemorragia digestiva abundante provoca insuficiencia renal, ambos acontecimientos se anotan por separado en el FRC.
- **Reacciones adversas persistentes o recurrentes.** Un EA persistente es aquel que se extiende continuamente, sin resolverse entre las evaluaciones del sujeto. Estas reacciones se anotarán una sola vez en el FRC a menos que su magnitud o gravedad aumente. Cuando se agrava un EA persistente, se anotará de nuevo en un FRC para EA o EAS. Un EA recurrente es aquel que ocurre y se resuelve entre dos evaluaciones del sujeto y posteriormente recurre. Los EA recurrentes se anotan en un FRC para EA o EAS.
- **Valores anormales de laboratorio.** La información que se obtiene del laboratorio se limita a los parámetros que son pertinentes a la seguridad, las medidas del resultado del estudio y/o el resultado clínico. Únicamente las anormalidades de laboratorio que son importantes desde el punto de vista clínico y que necesitan tratamiento activo se anotarán como EA o EAS en el FRC (es decir, anormalidades que requieren consultas más frecuentes de seguimiento, una mayor investigación diagnóstica, etc). Cuando el investigador desconoce si debe reportar determinada información de laboratorio, deberá consultar con el supervisor médico del estudio (monitor médico). Cuando la

anormalidad del laboratorio, importante desde el punto de vista clínico o constituye un signo de una enfermedad o síndrome (p. ej., fosfatasa alcalina y bilirrubina cinco veces mayor que el límite superior normal que el de la colecistitis) únicamente es necesario anotar el diagnóstico (p. ej., colecistitis) en el FRC para EA o EAS. Si la anormalidad del laboratorio importante desde el punto de vista clínico no es un signo de una enfermedad o síndrome, la anormalidad misma se anotará como EA o EAS en el FRC. Si la anormalidad se puede describir por medio de un término clínico preciso, se anotará este término como EA o EAS. Por ejemplo, el potasio sérico elevado de 7.0 mEq/L se anotará como “hiperpotasemia”. Cuando se observa una misma anormalidad de laboratorio importante desde el punto de vista clínico en varias consultas no se anota en repetidas ocasiones como EA o EAS en el FRC a menos que cambie su intensidad, gravedad o causa.

- **Muertes.** Para cualquier muerte que ocurra durante el estudio, no obstante su atribución, el investigador la notificará de inmediato al supervisor médico del estudio al número telefónico proporcionado en la portada de este protocolo y anotará la muerte en el FRC para EAS correspondientes. Al registrar una muerte, también se debe anotar el acontecimiento o enfermedad que la causó o contribuyó como concepto médico único en el FRC para EAS. Cuando se desconoce la causa de la muerte y no es posible establecerla en el momento del registro, se anotará “muerte inexplicable” en el FRC para EAS.
- **Enfermedades preexistentes.** Una enfermedad preexistente es aquella que ya existe cuando empieza el estudio. Este término abarca a cualquier hallazgo anormal en la exploración física detectado durante el proceso de selección. Estas enfermedades se anotan en la historia clínica médica y quirúrgica. Las enfermedades preexistentes se evalúan de nuevo durante el estudio clínico y se registran como EA o EAS únicamente cuando su frecuencia, gravedad o naturaleza empeora durante el estudio. Al registrar este tipo de acontecimientos en el FRC para EA o EAS, es importante expresar el concepto de que la enfermedad preexistente ha cambiado y describirla en forma correspondiente (p. ej., cefaleas “más frecuentes”).
- **Hospitalización, hospitalización prolongada o cirugía.** Únicamente los EA que provocan la hospitalización u hospitalización prolongada del sujeto se anotarán y registrarán como EAS a menos que se instruya lo contrario en este protocolo. Cualquier enfermedad que provoca una cirugía se anotará como EA siempre y cuando el problema satisfaga la definición de un EA. Las cirugías no se anotarán como EAS o EA.

9.4.2 Evento Adverso Severo

En caso de presentarse un EAS, el sujeto será canalizado con un médico independiente del estudio inmediatamente para que reciba atención especializada ambulatoria u hospitalaria, según se requiera, hasta estabilizar o resolver su problema en el HAT.

Cualquier EA que alcance los criterios para ser definido como severo debe ser inmediatamente reportado (dentro de las primeras 24 horas a su identificación) en el formato correspondiente a la COFEPRIS y al Centro Nacional de Farmacovigilancia, a la siguiente dirección y teléfono:

COFEPRIS y Centro Nacional de Farmacovigilancia
Monterrey No. 33, Col. Roma, Delegación Cuauhtémoc.
C.P. 06700
México D.F.
Tel 01 (55) 0805200

<http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Farmacovigilancia/Farmacovigilancia.aspx>

Además se deberá notificar al patrocinador, al MM y al CE en el mismo tiempo límite.

9.5 Duración y Forma de Seguimiento de los Sujetos con EA

El investigador debe dar seguimiento a los EA y EAS que surgen durante el estudio hasta que se solucionan, estabilizan, el sujeto ya no vuelve al seguimiento o se ha determinado que el tratamiento del estudio o la participación en el mismo no constituyen la causa del EA o EAS. La resolución de los EA o EAS (junto con sus fechas) se anotan en el FRC correspondiente para EA y EAS así como en el expediente médico del sujeto para facilitar la verificación de la información.

Para algunos EAS, el patrocinador o su representante, llevarán a cabo el seguimiento por vía telefónica, por fax, correo electrónico y/o una consulta para obtener detalles adicionales del caso que consideren necesarios para evaluar de manera completa la notificación de EAS (p. ej., resumen de la alta hospitalaria, nota de otro médico que realiza una interconsulta o nota de la autopsia).

9.6 Situaciones para Suspender el Estudio

La identificación de un solo EAS relacionado directamente a la intervención, será motivo suficiente para detener temporal o definitivamente el estudio. También si la tasa de EA relacionados a la intervención se considera muy alta. Lo anterior será determinado por el IP, el MM y el patrocinador. En algunas situaciones se podrá continuar con la investigación con mayor cuidado, y posiblemente investigando una dosis menor, mientras que en otras se deberá suspender definitivamente el estudio.

El CNF de COFEPRIS también puede suspender el estudio si a través de su evaluación de reportes y/o auditoría del estudio se considerara que los EA y EAS ponen en peligro la integridad y el bienestar de los sujetos.

X Análisis Farmacocinético de Bepecin (BPC-157)

10.1 Parámetros Farmacocinéticos

El análisis farmacocinético se realizará con el programa NONMEM[®] 7.3 por medio del cual se calcularán los parámetros farmacocinéticos mencionados y que a continuación se describen.

Concentraciones de Bepecin en Plasma.

A partir del perfil de concentraciones plasmáticas *vs* tiempo se calculará K_d , K_a , $t_{1/2}$, t_{max} , $C_{p_{max}}$ y $ABC_{0-\infty}$. Se elaborará la gráfica para cada voluntario y de cada intervención en dosis única con programa excel.

Concentraciones de Bepecin en Orina.

A partir de las concentraciones en las muestras urinarias se calculará la Aex^t , Aex^∞ . Se elaborarán las gráficas de Aex_{0-t} *vs* t .

10.2 Metodología Analítica para la Cuantificación de Bepecin

Originalmente el método analítico para cuantificar BPC-157 fue desarrollado y validado para cuantificar este compuesto en plasma y orina de ratas. La cuantificación de Bepecin en las muestras biológicas tomadas en los voluntarios participantes en este estudio se llevara a cabo por la empresa Micro-Constants Inc., quienes han realizado el escalamiento de este método para hacer la cuantificación en muestras biológicas de humanos.

El método analítico para la cuantificación de BPC-157 (Bepecin) en muestras biológicas de plasma y orina es por cromatografía de líquidos de alta resolución con detección por espectroscopia de masas (HPLC/MS/MS), utilizando BPC-157¹³C⁶N₂ como estándar interno. El intervalo de la curva es de concentraciones de 0.500 a 500 ng/mL para plasma y de 5.00 a 1,000 ng/mL para orina. El volumen que se utiliza en el análisis es de 50 μ l y 100 μ l, para plasma y orina, respectivamente.

La validación del método se realizo siguiendo la Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos para la Industria, USFDA de mayo del 2001; y consiste en determinar lo siguiente:

- a) Precisión y exactitud intradía
- b) Precisión y exactitud interdía.
- c) Recobro.
- d) Precisión y exactitud intradía en plasma hemolizado.
- e) Especificidad y efecto de la matriz.
- f) Integridad de la dilución.
- g) Integridad de la reinyección.
- h) Especificidad de la matriz.
- i) Precisión y exactitud del límite mínimo de cuantificación.
- j) Estabilidad congelación/descongelación.

- k) Estabilidad de la muestra descongelada.
- l) Estabilidad de la muestra congelada por un mes a -70°C y a -20°C .

10.3 Manejo de las Muestras Biológicas

Las muestras de sangre serán trasladadas al laboratorio de referencia Micro-Constants Inc. para el análisis de farmacocinética en San Diego CA, US. Las determinaciones plasmáticas y urinarias de BPC-157 se realizarán utilizando el método validado previamente, mediante análisis de muestras con el empleo de HPLC/MS/MS.

10.3.1 Obtención y Manejo de Muestras Plasmáticas

Las muestras de sangre deberán recolectarse en todos los sujetos voluntarios de acuerdo a los tiempos de muestreo establecidos. Se procederá de acuerdo a lo siguiente:

1. Para cada tiempo de muestreo se obtendrán 5 mL de sangre en el tubo recolector heparinizado, para asegurar la mezcla con el anticoagulante es conveniente invertir el tubo unas 10 ocasiones, suavemente.
2. Se colocará el tubo con la sangre en baño de hielo mientras lo centrifuga.
3. Para la separación del plasma centrifugar a $1,000 \times g$ por 10 a 15 minutos a 5°C ; la separación del plasma tiene que llevar antes de que transcurran 20 minutos post extracción de la muestra de sangre.
4. Anotar el día y la hora exacta del tiempo de muestreo de cada muestra obtenida en el formato FA01 de recolección de muestras de sangre y orina (ver anexo VII).
5. Después de centrifugada la muestra, usando una micropipeta de 1000 mcl, tomar una alícuota de 500 mcl (0.5 mL) de plasma y dispensarlos en un criotubo con 50 mcl de ácido fosfórico como estabilizador. Hacer por duplicado este procedimiento, de tal manera que de cada tiempo se enviarán al laboratorio dos alícuotas (A y B). Sin agitar fuertemente, invertir los criotubos en 10 ocasiones para mezclar con el agente estabilizante.
6. Guardar las muestras de plasma en congelación a -20°C dentro de los 60 minutos post extracción. En todo momento las muestras de plasma deben mantenerse en hielo mientras se transfieren al congelador.

10.3.2 Obtención y Manejo de Muestras Urinarias

Las muestras de orina deben recolectarse en todos los sujetos voluntarios de acuerdo a los intervalos de muestreo establecidos. Se procederá de acuerdo a lo siguiente:

1. Justo antes de la administración del medicamento, el voluntario debe vaciar completamente su vejiga; esta orina se desecha.
2. En cada tiempo de muestreo el voluntario debe vaciar completamente su vejiga.

3. Medir el volumen total de orina en cada intervalo de tiempo, y tomar una alícuota de 10 mL.
4. La orina deberá ser recolectada, mezclada y almacenada a temperatura de 5 a 8 °C (refrigerada) durante cada intervalo de muestreo (por ejemplo día 0, 0 – 1 hora, 1 – 4 horas, etc.).
5. El contenedor urinario se deberá mantener en hielo o refrigerado durante los intervalos de muestreo.
6. Después de cada intervalo de muestreo, mezclar la orina agitando el contenedor, medir el volumen total de orina en una probeta de 500 mL y/o 100 mL, y anotar el volumen total en el contenedor y en el formato FA01 de recolección de muestras de sangre y orina (ver anexo VII).
7. Con la pipeta transfer, tomar una alícuota aproximada de 10 mL de orina y dispensarlos en la botella correspondiente al número de muestra. Cerrar la botella con su tapa y colocarla en la bolsa correspondiente para su conservación y transporte. Hacer por duplicado este procedimiento, de tal manera que para cada intervalo de muestreo se enviarán al laboratorio dos alícuotas (A y B).
8. Conservar las muestras de orina en congelación a -20 °C.

XI Consideraciones Estadísticas

Este estudio es puramente descriptivo. Se investigará la seguridad y la farmacocinética de la intervención bajo estudio.

11.1 Hipótesis del Estudio

No hay hipótesis en el presente estudio al ser un estudio puramente descriptivo.

Como indicador de seguridad se considerará:

- La ausencia de EAS relacionados con la intervención durante el tiempo de seguimiento.
- La totalidad de EA relacionados con la intervención deberán ser considerados de severidad leve o moderada y resolverse sin secuelas.

Los EA serán clasificados con base en las especificaciones del Medical Dictionary for Regulatory Activities de la ICH. Las tasas de incidencia serán presentadas por órgano-sistema, términos de preferencia y severidad para cada EA. Cada sujeto será contado solo una vez dentro de la clasificación de órgano-sistema o el término de preferencia usando el EA con la mayor severidad dentro de cada categoría.

La seguridad será evaluada a través de tabulación de EA y presentada con estadísticos descriptivos en frecuencias absolutas y relativas para antes de la intervención y en cada cita subsecuente de evaluación. Los resultados serán organizados de acuerdo a la cohorte y al grupo de intervención. De esta manera se podrá comparar la frecuencia de síntomas entre cada una de las cohortes que recibieron diferentes dosis del tratamiento y el grupo que recibió placebo.

Toda la información pertinente a EA detectados durante el estudio será enlistada por sujeto, detallando la información, el término de preferencia, el órgano-sistema en cuestión, fecha de inicio, fecha de resolución, severidad y su relación con el procedimiento. El inicio del EA también será descrito en términos del tiempo relativo en días desde que se aplicó el tratamiento. Una tabla con los EAS también será integrada para todo el grupo, siguiendo los mismos términos.

De esta manera se podrá comparar la frecuencia de EA entre los 36 sujetos que recibieron el tratamiento activo contra los 6 sujetos que recibieron el placebo, tanto para la Fase Ia, como para la Fase Ib.

La comparación de grupos se hará solo en base a frecuencias absolutas y relativas de síntomas descritos. No se harán pruebas de significancia estadística. El grupo que recibe placebo sirve para monitorizar la validez interna del estudio, principalmente de las mediciones de EA y de farmacocinética.

El perfil farmacocinético ($C_{\max}$, $T_{\max}$, $t_{1/2}$, $ABC_{0-\infty}$) del producto en investigación se realizará usando los resultados de las concentraciones de Bepecin en plasma, de las muestras de sangre seriadas en la Fase Ia, el primer día en el medio hospitalario (tomas de sangre a los 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, y 120 min y a las 4, 8, y 12 horas) y el día 7 como ambulatorio (toma de sangre a las 168 horas aproximadamente).

Las muestras de sangre tomadas los días 7, 14 y 42 de la Fase Ib, permitirán explorar las concentraciones de Bepecin alcanzadas por efecto de las dosis múltiples seriadas. Los resultados obtenidos de concentraciones en esta Fase no serán utilizadas en el análisis de farmacocinética.

Las cuantificaciones de Bepecin en orina, tanto en la Fase Ia como en la Fase Ib, son solo exploratorias, permitiendo una aproximación preliminar de la excreción urinaria.

El plan de análisis de los datos es puramente descriptivo.

11.2 Tamaño de Muestra

Para la Fase Ia del estudio enfocada a estimar la concentración de Bepecin en los sujetos de estudio, se estableció una muestra de 12 sujetos para cada dosis evaluada de BPC-157. Este tamaño de muestra ha sido propuesto como el mínimo aceptable⁷¹ para estudios piloto, donde la varianza del desenlace de interés es aún desconocida, como en el presente estudio, dado que se trata del primer estudio en humanos en el que se administra el producto PCO-02 por la vía oral. El incluir a 12 sujetos en cada cohorte para el estudio de farmacocinética proporcionará una precisión aceptable acerca de la estimación de la media y de la varianza.⁷¹

Para la Fase Ib se consideró por una parte el tamaño de muestra para estimar la concentración media del péptido y por otra parte para estimar la proporción de eventos adversos severos, que se presume es inferior al 5%.

Para el estudio de farmacocinética ya se ha mencionado que un mínimo de 12 sujetos puede dar suficiente precisión para la estimación de la media y de la varianza. En la Fase Ib, se tendrán 36 sujetos recibiendo una dosis fija de BPC-157, cumpliendo con el requerimiento de 12 como mínimo.

Para el análisis de EA en los sujetos que se encuentren recibiendo el tratamiento bajo estudio, el tamaño de muestra fue calculado en 19 sujetos. La fórmula utilizada⁷² fue:

$$n = \frac{Z^2_{1-\frac{\alpha}{2}} * p * q}{d^2}$$

donde, al despejar, con una seguridad 95% ($Z^2_{1-\alpha/2} = 3.8416$) y una precisión del 10% ($d^2=0.01$), y la proporción esperada de eventos adversos severos igual al 5% ($p = 0.05$, $q = 0.95$) se obtiene un tamaño de muestra de 19 sujetos. En este estudio se incluirán 36 sujetos en tratamiento con BPC-157 y 6 en tratamiento con placebo.

11.3 Análisis Intermedios

En la Fase Ia, cada vez que una cohorte termine su seguimiento a una semana, se realizará evaluación de seguridad. Solo en caso de no existir EAS en la cohorte previa se procederá a incrementar la dosis en la siguiente cohorte. Una vez que la Fase Ia haya concluido en los 42 sujetos (incluyendo la segunda evaluación de farmacocinética después de alimentos realizada en el grupo con 3 tabletas de PCO-02) se realizará un análisis intermedio de los datos sobre seguridad. En este análisis se incluirán a todos los sujetos de estudio. Si la evaluación resulta satisfactoria a criterio del IP, el representante del patrocinador, y el MM, el estudio continuará con la Fase Ib según lo estipulado en la sección 6.2. Se deberá notificar al CEI del HAT los resultados de esta evaluación intermedia, quien avalará la progresión a la Fase Ib. Si esta evaluación intermedia, revelara una alta proporción de EA o al menos un EAS a juicio de los evaluadores mencionados, el estudio se suspenderá parcial o totalmente. Si se considera una suspensión parcial para hacer enmiendas o correcciones seguridad, estas deberán ser aprobadas por el CE antes de implementarse en el resto de los sujetos.

11.4 Análisis Final

El análisis de los desenlaces sobre farmacocinética ($t_{\max}$, $C_{p\max}$, $t_{1/2}$ y $ABC_{0-\infty}$) se realizarán por separado en cada cohorte (12 sujetos). El análisis sobre desenlaces de seguridad se realizará en toda la muestra (36 sujetos en tratamiento activo y 6 en tratamiento placebo).

XII Manejo de Documentos

Se integrará una carpeta que incluya los documentos médicos, de laboratorio, gabinete y los FRC para cada uno de los sujetos y se mantendrán en el lugar donde se lleva a cabo la investigación en un sitio designado específicamente para este fin. Tendrán acceso a esta carpeta solo el equipo de investigación responsable, representante del patrocinador, el MM, el CE o los representantes de las autoridades sanitarias. Los consentimientos informados se integrarán en una carpeta diferente, que deberá asegurarse bajo llave y para la cual solo el IP y el representante del patrocinador tendrán acceso. La revisión de los consentimientos informados por otra persona se realizará solo ante la presencia del IP y/o del representante del patrocinador.

El patrocinador, o su representante autorizado, podrán acudir en cualquier momento al lugar correspondiente para inspeccionar el desarrollo del estudio, la información recabada, los expedientes médicos y los FRC. El investigador principal permitirá a los supervisores, representantes o colaboradores del patrocinador y las autoridades sanitarias tanto nacionales como locales para que inspeccionen y registren la información pertinente a este estudio, de acuerdo con las normas de BPC del ICH. Cuando alguna autoridad sanitaria nacional notifique al investigador sobre una auditoría relacionada con el estudio, el investigador deberá a su vez notificar al patrocinador de inmediato.

El IP y el MM del estudio verificarán continuamente los datos originales para confirmar que los datos críticos del protocolo (es decir, los datos originales) transcritos en los FRC por el personal autorizado son exactos, completos y verificables con los documentos originales. Todos los documentos originales serán también archivados en formato digital PDF.

Los documentos originales son aquellos donde se anota la información del sujeto por primera vez. Comprenden, pero no se limitan a, los expedientes del hospital, el expediente médico y del consultorio, las notas de laboratorio, recordatorios, diarios del sujeto o listas para la evaluación, registro de la farmacia, datos obtenidos con instrumentos automatizados, copias de transcripciones que son certificados después de verificar su precisión e integridad, microfichas, negativos fotográficos, micropelículas o medios magnéticos, imágenes de resonancias magnéticas, archivos del sujeto y registros mantenidos en la farmacia, laboratorios y departamentos médico-técnicos que participan en el estudio clínico.

Los documentos originales que se necesitan para verificar la validez e integridad de la información transcrita en los FRC no se deben borrar ni destruir.

Para facilitar la verificación de los datos, el IP ofrecerá al patrocinador, al MM y al CE acceso directo a los documentos originales y los reportes necesarios para la supervisión del estudio clínico. Asimismo el lugar donde se lleva a cabo la investigación permitirá la inspección que realicen las autoridades sanitarias competentes.

XIII Control de Calidad

Para asegurar que la atención de los sujetos, la recolección de la información y los procedimientos realizados reúnen criterios de calidad, se deberá cumplir, antes de iniciarse el estudio con los siguientes requisitos:

- **MEO.** Manual estandarizado de operaciones. Cada uno de los procedimientos, intervenciones, entrevistas, o actividades inherentes a la realización de esta investigación, deberán describirse de manera clara y completa en el MEO.
- **Adiestramiento del equipo.** El equipo de investigación recibirá adiestramiento de cada una de las fases del estudio, los procedimientos, los tipos de FRC, el llenado de los mismos, las responsabilidades de cada uno y los indicadores de seguridad que deberán vigilar. Este adiestramiento estará dirigido por el patrocinador y el IP o por alguna otra persona previamente capacitada y contratada por el patrocinador para este fin.
- **Prueba piloto.** Se deberá realizar un simulacro de las entrevistas, las evaluaciones y mediciones clínicas que serán necesario recabar durante el estudio. También un simulacro de los procedimientos para el manejo, cuidado y preparación del producto bajo estudio. Estas actividades serán dirigidas por el patrocinador y el IP, o alguna otra persona que haya sido capacitada y contratada por el patrocinador para este fin.

XIV Aspectos Éticos

En esta sección se presentan los aspectos éticos que dan respaldo a esta investigación y cuyo estricto cumplimiento será vigilado a lo largo del estudio.

14.1 Estándares Éticos

El IP se asegurará de que en todo momento este estudio de investigación sea conducido en completa conformidad con los principios éticos incluidos en la Declaración de Helsinki, en las Guías Éticas Internacionales para Investigación Biomédica que involucre sujetos humanos, en la ICH, en los lineamientos de BPC de COFEPRIS para la investigación en salud, y la Ley General de Salud para los Estados Unidos Mexicanos.

14.2 Comité de Ética del Hospital Ángeles de Tijuana

El estudio deberá ser revisado y aprobado por el CE del HAT antes de iniciar su implementación. Esta revisión incluye, mas no está limitada, al protocolo, la carta de Consentimiento Informado, los FRC, el MEO, las declaraciones sobre conflictos de interés por parte de los participantes, y otros documentos probatorios que el CE considere pertinentes. La totalidad de las cartas de CI deberán estar debidamente autorizadas mediante firma o sello, por el CE del HAT. Al menos una copia de los FRC deberán ser sellados o firmados por el CE como prueba de su autorización. Cualquier enmienda al protocolo, que incluya cambios a las especificaciones mencionadas en el mismo, deberá ser primero aprobada por el CE, antes de ser implementadas en el estudio. Las enmiendas deberán presentarse por escrito y deberán ser firmadas y selladas por el CE, agregándose al protocolo original.

14.3 Consentimiento Informado

El Consentimiento Informado es un proceso que se inicia antes de la aceptación del sujeto a participar en el estudio y se continúa a lo largo del estudio. Al sujeto y a su familia se le deberá proporcionar información extensa sobre los riesgos y posibles beneficios de la intervención bajo investigación. El Consentimiento Informado describe en detalle la intervención en estudio, los procedimientos que se realizarán, los riesgos inherentes conocidos o potenciales, y la firma escrita del sujeto en este documento será requisito ineludible para incluirlo en el estudio. Los formatos o cartas de Consentimiento Informado deberán ser aprobados y autorizados por el CE pidiéndosele al sujeto que lo lea en su totalidad. Una vez que lo haya leído, el IP explicará al sujeto los objetivos del estudio y contestará cualquier duda que el sujeto pudiera tener. Una vez se haya aclarado toda la información pertinente y necesaria, se le pedirá al sujeto que firme la carta de Consentimiento Informado si estuviera de acuerdo en participar en el estudio. El sujeto podrá disponer del tiempo que considere necesario para discutir las implicaciones de su participación con sus familiares y allegados, o con las personas que considere conveniente. El sujeto puede retirar su consentimiento en

cualquier momento del estudio. Una copia del Consentimiento Informado se le proporcionará al sujeto. Los derechos y privilegios del sujeto serán protegidos enfatizándose que la calidad de la atención médica de que pudiera disponer no se verá afectada de forma alguna si decide no participar o retirarse del estudio. Para el presente estudio se solicitará la firma de dos formatos de Consentimiento Informado, el primero para la fase de selección en el que el sujeto autorice la realización de estudios clínicos, de laboratorio y gabinete y el uso de la información por los investigadores, aclarándose que para esta fase de tamizaje no habrá compensación económica alguna. El segundo consentimiento es para autorizar su participación en el estudio clínico descrito en este protocolo.

14.4 Confidencialidad

La confidencialidad del sujeto y su información sobre el estado de salud será estrictamente garantizada por el IP, el patrocinador, el equipo de investigación, o cualquier otra persona involucrada en la investigación.

El protocolo del estudio, los documentos, datos y toda la información que derive de este estudio, será mantenida bajo estrictas reglas de confidencialidad. Ninguna información concerniente al estudio será liberada a terceras personas sin la autorización escrita del patrocinador.

El MM y el CE pueden tener acceso y revisar cualquiera de los documentos de la investigación, documentos que el IP debe conservar bajo su custodia.

14.5 Terminación Prematura del Estudio

En caso de existir necesidad de interrumpir el estudio por cuestiones de seguridad, los sujetos que hayan recibido la intervención deberán mantenerse bajo vigilancia médica hasta por lo menos dos años para evaluar la posible presencia de EA tardíos relacionados con la intervención. El seguro de indemnización de los sujetos facilitado por el patrocinador deberá incluir una cláusula de protección para estos casos.

14.6 Manejo de Especímenes Residuales

Los remanentes que pudieran quedar de sangre y orina en los tubos de recolección una vez realizada la toma de muestras, serán desechados como RPBI's a través del sistema de disposición de materiales de desecho que tiene el HAT.

14.7 Manejo de los Datos y Registros

El investigador es responsable de asegurar la precisión, el llenado completo, la legibilidad y cronología de las evaluaciones y los reportes. Todos los documentos para obtener datos deben ser completados de manera nítida y legible para asegurar la adecuada claridad de la

información. Se requiere de tinta negra para hacer registros en los FRC. En caso de correcciones, se deberá cruzar una sola línea sobre el escrito original y anotarse las iniciales de quien hace la corrección y la fecha. No se permitirá borrar, sobrescribir o usar líquidos o cintas correctoras.

Las copias electrónicas de los FRC pueden aportar facilidad en el manejo de la información, pero no deberán remplazar al registro en papel. Las copias electrónicas deberán tener registrada la misma información que la del original. Las discrepancias deberán ser aclaradas al IP, al patrocinador, y al MM por el personal que efectúa los registros.

14.8 Responsabilidad en el Registro de Datos

Todo documento que sirva de fuente de información, como los resultados de laboratorio o gabinete, deberán ser valorados por el IP o un médico certificado asignado para esta finalidad, y asegurarse que la información registrada en los FRC sea la correcta. Los EA solo deben ser evaluados y registrados en los FRC correspondientes por el IP o por un médico que haya sido capacitado y asignado específicamente para esta tarea.

La recolección y captura de datos es responsabilidad del equipo de investigación. Durante el estudio, es responsabilidad del IP mantener la documentación completa y exacta.

14.9 Reportes

El IP se compromete a presentar un reporte preliminar de seguridad al patrocinador y al CE al completarse el análisis intermedio programado. Otros reportes podrán requerirse en caso de EAS relacionados con la intervención, a solicitud del patrocinador o del CE. El reporte final será entregado por el IP al patrocinador en un término no mayor a dos meses después de haber concluido el seguimiento del último sujeto.

14.10 Retención de los Registros del Estudio

Las normas del ICH para asegurar las BPC en investigación en humanos advierte que los expedientes y documentos relacionados con la realización de este estudio y la distribución del fármaco de investigación, incluidas los FRC, hojas de consentimiento, resultados de los análisis e inventarios de medicamentos deberán ser retenidas por el IP durante dos años después de la aprobación de la última solicitud para comercialización o cuando menos durante dos años después de la suspensión formal del desarrollo clínico del producto de la investigación. También aplican todas las leyes estatales y locales para retener los expedientes.

Ningún registro se desechará sin aprobación escrita del patrocinador. En caso de transferir cualquier registro a otra persona o trasladarlas a otra ubicación, será necesario notificar por escrito al patrocinador.

14.11 Desviaciones al Protocolo

Una desviación al protocolo es toda aquella actividad que no cumple con las especificaciones señaladas en el protocolo, en las guías de BPC o en el MEO. El incumplimiento puede ser por parte del sujeto de estudio, el investigador, o el equipo de investigación. Como resultado de estas desviaciones, se deben desarrollar acciones correctivas en la sede del estudio y aplicarse de manera pronta.

Es responsabilidad del IP, del equipo de investigación, y del MM, la continua vigilancia para identificar y reportar posibles desviaciones al protocolo. Estas desviaciones deberán ser notificadas al patrocinador y al CE en un lapso no mayor a cinco días. Las propuestas de corrección o enmiendas deberán ser aprobadas por el CE y el patrocinador antes de ser implementadas en el estudio. En caso que las enmiendas sean menores y no afecten lo estipulado en este protocolo, se podrá proceder con la inclusión de las mismas de manera inmediata a juicio y bajo la responsabilidad del IP. Sin embargo las enmiendas mayores, que sean claramente diferentes a lo estipulado en este protocolo, deberán ser aprobadas primero por el CE y el patrocinador antes de ser implementadas en el estudio.

XV Monitoreo Clínico

El estudio estará sujeto a la supervisión por el monitor médico (MM), que tendrá la responsabilidad de vigilar la selección de los sujetos, los procedimientos del estudio, incluyendo la intervención, la seguridad de los mismos, y la recolección adecuada de los datos. El MM podrá sugerir al investigador principal y al patrocinador algunas enmiendas a los procedimientos para mejorar la seguridad y calidad de los mismos. En caso que las enmiendas sean menores y no afecten lo estipulado en este protocolo, se podrá proceder con la inclusión de las mismas de manera inmediata. Sin embargo las enmiendas mayores, que sean claramente diferentes a lo estipulado en este protocolo, deberán ser aprobadas primero por el CE y el patrocinador antes de ser implementadas en el estudio.

15.1 Plan de Monitoreo

A continuación se describen las actividades a ser llevadas por el MM para asegurar la adecuada conducción del estudio.

- **Monitoreo del proceso de selección.** El MM vigilará que los sujetos reclutados para el estudio cuenten con todas las evaluaciones necesarias y llenen los criterios de inclusión y exclusión.
- **Monitoreo de la intervención.** El MM deberá estar presente, al menos, en los primeros cinco procedimientos realizados para la administración de la primera dosis oral de PCO-02, para vigilar el desarrollo del procedimiento, la seguridad del mismo, y la adecuada recolección de la información que aplica para este momento del estudio.
- **Monitoreo de la seguridad.** El MM supervisará la manera de recolectar y registrar la información sobre seguridad en los FRC y en los expedientes de los sujetos del estudio. Vigilará periódicamente estos registros para identificar posibles omisiones en el reporte de EA y EAS.
- **Monitoreo de la calidad de la información.** El MM vigilará que la información obtenida de los sujetos de estudio sea la necesaria, que se llenen la totalidad de FRC para cada momento del estudio y que los FRC hayan sido debidamente llenados.

XVI Política de Publicación

Una vez completado el estudio se espera que el IP publique los resultados de este estudio, independientemente del sentido que pudieran tener estos resultados sobre la intervención.

XVII Bibliografija

1. Sikiric P. The pharmacological properties of the novel peptide BPC 157 (PL-10). *Inflammopharmacology*. 1999;7(1):1-14.
2. Sikiric P., Petek M, Rucman R, et al. A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC. *J Physiol Paris*. 1993;87(5):313-327.
3. Sikiric P, Petek M, Rucman R, et al. The significance of the gastroprotective effect of body protection compound (BPC): modulation by different procedures. *Acta Physiol Hung*. 1992;80(1-4):89-98.
4. Cesarec V, Becejac T, Misic M, et al. Pentadecapeptide BPC 157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy. *Eur J Pharmacol*. 2013;701(1-3):203-212.
5. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, et al. Focus on ulcerative colitis: stable gastric pentadecapeptide BPC 157. *Curr Med Chem*. 2012;19(1):126-132.
6. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157: novel therapy in gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des*. 2011;17(16):1612-1632.
7. Petrovic I, Dobric I, Drmic D, et al. BPC 157 therapy to detriment sphincters failure-esophagitis-pancreatitis in rat and acute pancreatitis patients low sphincters pressure. *J Physiol Pharmacol*. Oct 2011;62(5):527-534.
8. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, et al. Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly, gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats. *Eur J Pharmacol*. 2011;667(1-3):322-329.
9. Ilic S, Drmic D, Franjic S, et al. Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions. *Life Sci*. 2011;88(11-12):535-542.
10. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, et al. Revised Robert's cytoprotection and adaptive cytoprotection and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Possible significance and implications for novel mediator. *Curr Pharm Des*. 2010;16(10):1224-1234.
11. Skorjanec S, Dolovski Z, Kocman I, et al. Therapy for unhealed gastrocutaneous fistulas in rats as a model for analogous healing of persistent skin wounds and persistent gastric ulcers: stable gastric pentadecapeptide BPC 157, atropine, ranitidine, and omeprazole. *Dig Dis Sci*. 2009;54(1):46-56.
12. Sever M, Klicek R, Radic B, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 and short bowel syndrome in rats. *Dig Dis Sci*. 2009;54(10):2070-2083.
13. Klicek R, Sever M, Radic B, et al. Pentadecapeptide BPC 157, in clinical trials as a therapy for inflammatory bowel disease (PL14736), is effective in the healing of colcutaneous fistulas in rats: role of the nitric oxide-system. *J Pharmacol Sci*. 2008;108(1):7-17.

14. Vuksic T, Zoricic I, Brcic L, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL14736, Pliva, Croatia) heals ileoileal anastomosis in the rat. *Surg Today*. 2007;37(9):768-777.
15. Dobric I, Drvis P, Petrovic I, et al. Prolonged esophagitis after primary dysfunction of the pyloric sphincter in the rat and therapeutic potential of the gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Pharmacol Sci*. 2007;104(1):7-18.
16. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL 14736, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. *Inflammopharmacology*. 2006;14(5-6):214-221.
17. Petrovic I, Dobric I, Drvis P, et al. An experimental model of prolonged esophagitis with sphincter failure in the rat and the therapeutic potential of gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Pharmacol Sci*. 2006;102(3):269-277.
18. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. Cysteamine-colon and cysteamine-duodenum lesions in rats. Attenuation by gastric pentadecapeptide BPC 157, cimetidine, ranitidine, atropine, omeprazole, sulphasalazine and methylprednisolone. *J Physiol Paris*. 2001;95(1-6):261-270.
19. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, et al. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent, attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. *J Physiol Paris*. 2001;95(1-6):295-301.
20. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, et al. Pentadecapeptide BPC 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns*. 2001;27(8):817-827.
21. Bilic I, Zoricic I, Anic T, et al. Haloperidol-stomach lesions attenuation by pentadecapeptide BPC 157, omeprazole, bromocriptine, but not atropine, lansoprazole, pantoprazole, ranitidine, cimetidine and misoprostol in mice. *Life Sci*. 2001;68(16):1905-1912.
22. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, et al. Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157. *J Physiol Paris*. 2000;94(2):105-110.
23. Sikiric P, Jadrijevic S, Seiwerth S, et al. Long-lasting cytoprotection after pentadecapeptide BPC 157, ranitidine, sucralfate or cholestyramine application in reflux oesophagitis in rats. *J Physiol Paris*. 1999;93(6):467-477.
24. Petek M, Sikiric P, Anic T, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates gastric lesions induced by alloxan in rats and mice. *J Physiol Paris*. 1999;93(6):501-504.
25. Sikiric P, Mikus D, Seiwerth S, et al. Pentadecapeptide BPC 157, cimetidine, ranitidine, bromocriptine, and atropine effect in cysteamine lesions in totally gastrectomized rats: a model for cytoprotective studies. *Dig Dis Sci*. 1997;42(5):1029-1037.
26. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. Salutary and prophylactic effect of pentadecapeptide BPC 157 on acute pancreatitis and concomitant gastroduodenal lesions in rats. *Dig Dis Sci*. 1996;41(7):1518-1526.

27. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. Beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin, and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci*. 1996;41(8):1604-1614.
28. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. The beneficial effect of BPC 157, a 15 amino acid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesions induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H2 receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci*. 1994;54(5):PL63-68.
29. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, et al. Hepatoprotective effect of BPC 157, a 15-amino acid peptide, on liver lesions induced by either restraint stress or bile duct and hepatic artery ligation or CCl4 administration. A comparative study with dopamine agonists and somatostatin. *Life Sci*. 1993;53(18):PL291-296.
30. Tudor M, Jandric I, Marovic A, et al. Traumatic brain injury in mice and pentadecapeptide BPC 157 effect. *Regul Pept*. 2010;160(1-3):26-32.
31. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, et al. High hepatotoxic dose of paracetamol produces generalized convulsions and brain damage in rats. A counteraction with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736). *J Physiol Pharmacol*. 2010;61(2):241-250.
32. Boban Blagaic A, Turcic P, Blagaic V, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 counteracts morphine-induced analgesia in mice. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60 Suppl 7:177-181.
33. Blagaic AB, Blagaic V, Romic Z, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. *Eur J Pharmacol*. 2004;499(3):285-290.
34. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances. *Acta Pharmacol Sin*. 2002;23(5):412-422.
35. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, et al. Anxiolytic effect of BPC-157, a gastric pentadecapeptide: shock probe/burying test and light/dark test. *Acta Pharmacol Sin*. 2001;22(3):225-230.
36. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, et al. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Physiol Paris*. 1999;93(6):505-512.
37. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, et al. The effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on development of tolerance and physical dependence following repeated administration of diazepam. *Chin J Physiol*. 1999;42(3):171-179.
38. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *Eur J Pharmacol*. 1999;379(1):19-31.
39. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, et al. A novel pentadecapeptide, BPC 157, blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. *Biol Psychiatry*. 1998;43(7):511-519.

40. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, et al. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. *Regul Pept.* 2010;160(1-3):33-41.
41. Brcic L, Brcic I, Staresinic M, Novinscak T, Sikiric P, Seiwerth S. Modulatory effect of gastric pentadecapeptide BPC 157 on angiogenesis in muscle and tendon healing. *J Physiol Pharmacol.* 2009;60 Suppl 7:191-196.
42. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, et al. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: Gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Orthop Res.* 2006;24(5):1109-1117.
43. Novinscak T, Brcic L, Staresinic M, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 as an effective therapy for muscle crush injury in the rat. *Surg Today.* 2008;38(8):716-725.
44. Barisic I, Balenovic D, Klicek R, et al. Mortal hyperkalemia disturbances in rats are NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC 157. *Regul Pept.* 2013;181:50-66.
45. Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, et al. Inhibition of methyl digoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC 157: a relation with NO-system. *Regul Pept.* 2009;156(1-3):83-89.
46. Staresinic M, Sebecic B, Patrlj L, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 accelerates healing of transected rat Achilles tendon and in vitro stimulates tendocytes growth. *J Orthop Res.* 2003;21(6):976-983.
47. Krivic A, Anic T, Seiwerth S, Huljev D, Sikiric P. Achilles detachment in rat and stable gastric pentadecapeptide BPC 157: Promoted tendon-to-bone healing and opposed corticosteroid aggravation. *J Orthop Res.* 2006;24(5):982-989.
48. Krivic A, Majerovic M, Jelic I, Seiwerth S, Sikiric P. Modulation of early functional recovery of Achilles tendon to bone unit after transection by BPC 157 and methylprednisolone. *Inflamm Res.* 2008;57(5):205-210.
49. Cerovecki T, Bojanic I, Brcic L, et al. Pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736) improves ligament healing in the rat. *J Orthop Res.* 2010;28(9):1155-1161.
50. Chang CH, Tsai WC, Lin MS, Hsu YH, Pang JH. The promoting effect of pentadecapeptide BPC 157 on tendon healing involves tendon outgrowth, cell survival, and cell migration. *J Appl Physiol.* 2011;110(3):774-780.
51. Sebecic B, Nikolic V, Sikiric P, et al. Osteogenic effect of a gastric pentadecapeptide, BPC-157, on the healing of segmental bone defect in rabbits: a comparison with bone marrow and autologous cortical bone implantation. *Bone.* 1999;24(3):195-202.
52. Keremi B, Lohinai Z, Komora P, et al. Antiinflammatory effect of BPC 157 on experimental periodontitis in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2009;60 Suppl 7:115-122.
53. Pevec D, Novinscak T, Brcic L, et al. Impact of pentadecapeptide BPC 157 on muscle healing impaired by systemic corticosteroid application. *Med Sci Monit.* 2010;16(3):BR81-88.
54. 41-PL-10.1.AK-15. Whole-body autoradiography in the rat after single oral administration: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; 1996.
55. Whole body autoradiography study with 14Q-PL-10.1 in male Wistar rats. : TNO Pharma. Project number 41075, PL-16: Report number V2647;2000.

56. 3H-PL-10.1.AK-15. Pharmacokinetics in the rat after single intravenous administration: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; May 03 1996.
57. PL 10.1.AK-15-3. Single dose toxicity study in mice treated by intravenous route: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; Apr 7 1995.
58. PL 10.1.AK.15-4. 4-week intravenous toxicity study in rats followed by 4 weeks recovery: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; Apr 7 1995.
59. PL 10.1.AK.15-5. 4-week intravenous toxicity in dogs: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; Jul 9 1996.
60. Sub-acute (14 days) intracolonic toxicity study with PL 10.1 in Wistar rats: TNO Pharma; Mar 2003.
61. Sub-acute (14 days) intracolonic toxicity study with PL 10.1 in Beagle dogs: TNO Pharma; Jul 2002.
62. The effect of PL 14736 on female fertility and early embryonal development after intravenous administration to rats: TNO Pharma; Feb 10 2005.
63. The effect of PL 14736 on male fertility after intravenous administration in rats: TNO Pharma; Feb 10 2005.
64. The effect on embryo-fetal development after intravenous administration with PL 14736 to rats (including toxicokinetics in pregnant animals and placental transfer): TNO Pharma; May 30 2005.
65. Acute eye irritation/corrosion study with PL 14736 in carbopol gel in albino rabbits: TNO Pharma; July 8 2004.
66. PL 10.1.AK.15-3. Chromosome aberrations in human lymphocytes cultured "in vitro": Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; Jul 11 1995.
67. PL 10.1.AK.15-3. Ames test: Istituto di Riccerche Biomediche "Antoine Marxer", RBM; Oct 16 1995.
68. PL-10.1 AK15. Evaluation of effects on cardiovascular and respiratory systems in the anaesthetized dog: Huntington Life Sciences, Ltd; Jan 15 1997.
69. Veljaca M, Pavic-Sladoljev D, Mildner B, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of PL 14736, a novel agent for treatment of ulcerative colitis, in healthy male volunteers. *Gut*. 2003;51(Suppl III):A309.
70. Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, Oreskovic K, Peterson J. Ulcerative Colitis Study Group. A multicenter double-blind, placebo-controlled phase II study of PL 14736 enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2005;128:A584.
71. Julious SA. Sample size of 12 per group rule of thumb for a pilot study. *Pharmaceut Statist*. 2005;4:287-291.
72. Pita-Fernández S. Determinación del tamaño muestral. *Cad Aten Primaria*. 1996;3:138-141.

XVIII Anexos

Anexo I: Programación de Procedimientos

PCO-02 Farmacocinética y seguridad.															
Fases del estudio		Fase I a							Fase I b				Ambas		
Citas		Día -30, día -1	Día 0	Día 1-6	Día 7	Día 0'	Día 1' - 6'	Día 7'	Día 0	Día 7	Día 14	Día 42	No programada	Interrupción	
Procedimientos															
Consentimiento tamizaje		X													
Historia clínica completa		X													
Nota médica de evolución			X		X	X		X	X	X	X	X	X	X	
Examen físico	Completo	X													
	Dirigido		X		X	X		X	X	X	X	X	X	X	
	S Vitales	X	X		X	X		X	X	X	X	X	X	X	
Laboratorio	BHC	X			X			X		X	X	X		X	
	QS-PFH-EGO	X			X			X		X	X	X		X	
Gabinete	Rx tórax	X									X	X		X	
	ECG	X			X			X		X	X	X		X	
Consentimiento estudio		X													
Hospitalización			X			X									
Intervención*			X			X			X						
Muestras de sangre**			X			X				X	X	X		X	
Muestras de orina***			X			X				X	X	X		X	
Eventos adversos****			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Dotación de medicamento									X	X					
Sujetos		Todos				Solo gpo. 3mg			Todos						
* En Fase I a, administración oral de dosis única de 1, 3, 6 tabletas de PCO-02 o placebo. En la Fase I b, administración de 3 tabletas de PCO-02 o placebo cada 8 horas por 14 días. ** En Fase I a, a los 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120 min y a las 4, 8 y 12 horas. En Fase I b, o en cita de interrupción, una sola muestra pre-dosis, esto es, dentro de las dos horas previas a la siguiente toma de PCO-02 o placebo. *** En Fase I a, a 1, 6 y 12 horas. En Fase I b, o en cita de interrupción, una sola muestra pre-dosis, esto es, dentro de las dos horas previas a la siguiente toma de PCO-02 o placebo. **** Se observarán durante todo el seguimiento de manera pasiva y en cada revisión clínica de manera activa.															

Anexo II: Etiqueta del Producto PCO-02

Protocolo # SPK-1A/B-1.3

Contenido: x botes sellados con 100 Tabletas de 1mg de PCO-02 o PCO-03

Identificación del sujeto: xx-xx

Modo de empleo: Tomar según indicaciones señaladas en el protocolo de investigación.

Lote No.: 0011012 o 0021012 Caducidad: 31 Diciembre 2016

Almacenamiento: Guardar en lugar fresco y seco a temperatura de 20° – 25°C. Protegerse de la luz.

Precaución: Solo para uso en investigación. Prohibida su venta.

Mantenerse fuera del alcance de los niños.

Patrocinador: Pharmacotherapia d.o.o., Split, Croatia Tel. No. (599) 222 0511
Manufacturado por: ExtractumPharma, Budapest, Hungary, Tel. No. (361) 233 0661

.....continua anexo III

1.3 INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS.

Marque con una ☒ el número del dato positivo y describalo abajo identificandolo con el mismo número.
Tache con una X el dato negativo. (Deje sin marcar lo no interrogado).

1.3.1. Cabeza y órganos de los sentidos.

(1) Cráneo (2) Ojos (3) Nariz (4) Oídos (5) Boca (6) Faringe (7) Laringe (8) Otro(s)

1.3.2 Cardiológico y respiratorio.

(1) Dolor torácico (2) Disnea (3) Palpitaciones (4) Taquicardia (5) Mareos (6) Tos (7) Cianosis (8) Eructos
(9) Edema (horario y localización) (10) Otro(s)

1.3.3 Digestivo.

(1) Disfagia (2) Odinofagia (3) Masticación (4) Salivación (5) Pirosis (6) Agruras (7) Acedias (8) Eructos
(9) Regurgitación (10) Hipo (11) Náusea (12) Vómito (13) Dolor Abdominal (14) Meteorismo (15) Ictericia
(16) Vaciamiento intestinal [estreñimiento, diarrea, melena] (17) Tenesmo (18) Pujo (19) Hemorroides.
(20) Prurito anal (21) Otro(s)

1.3.4 Urinario.

(1) Micción (No. Veces al día y noche) (2) Cantidad Aprox. 24 Hrs. (3) Dolor (4) Disuria (5) Características de la orina (Sangre, Pus, Color) (6) Nicturia (7) Polaquiuria (8) Urgencia (9) Incontinencia (10) Fuerza y calibre del chorro (11) Goteo terminal (12) Pujo y tenesmo vesical (13) Otro (s)

1.3.5 Genital Masculino.

(1) Libido (2) Erección (3) Eyaculación (4) Pene (5) Secreción Uretral (6) Testículos (7) Pérdida de vello pubiano (8) Otro(s)

1.3.6 Genital Femenino.

(1) Flujo (2) Dolor (3) Prurito (4) Otro(s)

continua anexo III

1.5. RESULTADOS DE ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GABINETE PREVIOS

1.6. TERAPÉUTICA EMPLEADA Y RESULTADOS OBTENIDOS.

1.7. ANTECEDENTES PERSONALES.

1.7.1. No patológicos.

(1) Alimentación (2) Actividad Física (3) Ejercicio [Deportes: horas por semana] (4) Tabaquismo (5) Alcoholismo (6) Inmunizaciones (7) Otro(s)

1.7.2. Patológicos.

(1) Malformaciones congénitas (2) Enfermedades de la infancia (3) Ojos (4) ORL (5) Cardiovascular y Respiratorio (6) Digestivo (7) Renal (8) Urinario (9) Reproductor (10) Endocrino (11) Nervioso Conectivo (17) Músculo esquelético (18) Neoplasias (19) Dermatológicos (20) Transfusionales (21) Traumatológicos (22) Internamientos e intervenciones quirúrgicas (23) Otro(s)

1.8. ANTECEDENTES FAMILIARES.

(1) Cardiopatía (2) Hipertensión arterial (3) Diabetes Mellitus (4) Hiperlipidemia (5) Neoplasias (6) Padecimientos neurológicos (7) Psiquiátricos (8) Litiásicos (9) Hematológicos (10) Alcoholismo (11) Padecimientos respiratorios (12) Tuberculosis (13) Otro(s)

1.9. ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS.

(1) Menarca (2) Ritmo habitual (3) Inicio de vida sexual activa (4) Gestaciones (5) Partos (6) Cesáreas (7) Abortos (8) Complicaciones obstétricas (9) Fecha de última menstruación (10) Climaterio/menopausia (11) Fecha de última citología vaginal y resultado (12) Otro(s).

1.3 7. Musculoesquelético.

(1) Dolor (2) Rigidez articular (3) Tumefacción (4) Rubicundez (5) Deformidad e inmovilidad (6) Cambios sensitivos y sensoriales (7) Otro(s)

1.3 8. Vascular Periférico.

(1) Dolor (2) Calambres (3) Claudicación Intermitente (4) Frialidad en las extremidades (5) Acrocianosis (6) Otro(s)

1.3 9 Endocrinológico.

(1) Intolerancia al frío o al calor (2) Polidipsia (3) Polifagia (4) Poliuria (5) Bochornos (6) Caracteres sex. primarios y secundarios (7) Otro(s).

1.3 10 Piel.

(1) Textura (2) Sudor (3) Acné (4) Pigmentación (5) Prurito (6) Lesiones [morfología y topografía] (7) Pelo y Vello (8) Uñas (9) Equimosis (10) Otro(s)

1.3 11 Sistema Nervioso.

(1) Cefalea (2) Dolor (3) Trastornos motores (4) Trastornos sensitivos (5) Alteraciones sensoriales (6) Cambios del nivel de consciencia (7) Otro (s).

1.3 12 Esfera Psíquica.

(1) Ansiedad (2) Depresión (3) Irritabilidad (4) Euforia (5) Insomnio (6) Hipersomnia (7) Fobias (8) Ideas Obsesivas y delirantes (9) Compulsión (10) Alucinaciones (11) Errores de conducta (12) Otro (s)

1.4 SÍNTOMAS GENERALES.

(1) Apetito (2) Sueño (3) Pérdida o aumento de peso (4) Fiebre (5) Astenia (6) Hipodinamia (7) Adinamia (8) Otro(s).

1.10 HISTORIA SEXUAL.

- (1) Parejas permanentes (2) Ocasionales (3) Duración (4) Promiscuidad (5) Medidas profilácticas
(6) Homosexualidad (7) Otro(s).
-
-

2.0. EXPLORACIÓN FÍSICA.

2.1. Habitus Exterior: Sexo _____ Edad aparente _____ Raza _____ Facies _____
Constitución _____ Conformación _____ Edo. de Nutrición _____
Edo. de Conciencia _____ Edo. Emocional _____
Posición o Actitud _____ Marcha _____ Movimientos _____
Colaboración con el médico si ☐ no ☐

2.2. Signos vitales y Antropometría. F. Cardíaca _____ F. Respiratoria _____ Temperatura _____ Peso _____
Peso ideal _____ Talla _____ Sup. Corp. _____ T.A. en decúbito: BD _____ / _____ BI _____ / _____ Taortostática:
BD _____ / _____ BI _____ / _____ dificultad respiratoria si ☐ no ☐ Cianosis si ☐ no ☐ Palidez si ☐ no ☐
Marque con una ✓ el número del dato positivo explorado y describalo abajo con el mismo número.
Tache con una X el dato negativo. Deje sin marcar lo no explorado.

2.3. Cabeza.

- (1) Cráneo (2) Cara (3) Ojos [Pupilas, simetría, reflejos, fondo de ojo] movimientos oculares (4) Oídos (5) Naríz
(6) Boca (7) Orofaringe (8) Otro(s)
-
-
-
-

2.4 Cuello.

- (1) Pulso Carotídeo (2) Ingurgitación Yugular (3) Soplos (4) Tiroides (5) Tráquea (6) Ganglios (ubicación,
Tamaño, consistencia, dolor) (7) Tono muscular (8) Otro(s).
-
-
-

2.5. Tórax.

- (1) Patrón respiratorio (2) Movs. Respiratorios (3) Tiros (4) Tórax óseo (5) Musculatura (6) Transmisión de voz
(7) Ruidos respiratorios y agregados (8) Percusión (9) Apex (10) Movs. Precordiales (11) Ruidos cardíacos y
Fenómenos agregados (12) Otro(s).
-
-
-
-

2.6. Mamas.

- (1) Piel (2) Forma (3) Volumen (4) Simetría (5) Pezones y areólas (6) Secreción (7) Consistencia (8) Nódulos
(9) Otro(s).
-
-
-

Continúa anexo III

2.7. Abdomen.

(1) Forma (2) Cicatrices (3) Red venosa (4) Piel (5) Panículo adiposo (6) Reflejos (7) Resistencia (8) Sensibilidad (9) Rebote (10) Ascitis (11) Hernias (12) Masas (13) Visceromegalias (14) Auscultación (15) Otro(s).

2.8. Genital Masculino.

(1) Distribución vello pubiano (2) Pene (3) Prepucio (4) Meato (5) Escroto (6) Testículos (7) Epidídimo (8) Masas (9) Otro(s).

2.9. Genital Femenino.

(1) Vello pubiano (2) Periné y vulva [Protuberancias, masas, ulceraciones, verrugas] (3) Cuello y cuerpo Uterinos (4) Anexos (5) Otro(s).

2.10. Tacto Rectal.

(1) Piel (2) Esfínter (3) Hemorroides (4) Fisuras (5) Próstata (6) Otro(s).

2.11. Extremidades.

(1) Piel (2) Deformidades (3) Trofismo y fuerza muscular (4) Articulaciones (5) Pulsos (6) Ganglios (7) Várices (8) Ulceras (9) Pigmentaciones (10) Edema (11) Reflejos (12) Otro(s).

2.12. Sistema Nervioso.

(1) Funciones mentales (2) Pares craneales (3) Sensibilidad (4) Tono y fuerza musculares (5) Reflejos Normales y patológicos (6) Marcha y pruebas cerebelosas (7) Otro(s).

3.0. DIAGNÓSTICOS O PROBLEMAS CLÍNICOS.

	Nombre y Firma	Lugar	Fecha	Hora
Elaborado por: Dr. (a)				
Revisado por: Dr. (a)				

MÉDICO RESPONSABLE: _____

Anexo IV: Formato para Notas Médicas

BPC-157 Seguridad y Farmacocinética

Marzo 23, 2015

NOTA MÉDICA

Asegure consistencia y documentación de cada visita en el expediente clínico.

Título del Protocolo:	Estudio piloto (Fase I) en voluntarios sanos para evaluar la seguridad y farmacocinética de PCO-02, cuyo ingrediente farmacológico activo es BPC-157, un penta-deca-péptido de origen gástrico.
Protocolo #:	SPK-1A/B-1.3
Investigador Principal:	Dr. Rufino Menchaca-Díaz
Patrocinador:	Pharmacotherapy d.o.o.

ID: _____ Edad: _____ Sexo : _____

Fecha: _____ Hora: _____

Nota médica	
1. Pulso: _____ T/A: _____ FC: _____ FR: _____ Temp: _____	
2. Resumen del interrogatorio:	
3. Exploración física:	
4. Laboratorio y gabinete:	
5. Diagnóstico:	
6. Plan de manejo:	
7. Pronóstico:	
8. Nombre completo, cédula profesional y firma del médico:	

SPK-1A/B-1.3
Versión 1.3

BPC-157 Seguridad y Farmacocinética

Marzo 23, 2015

NOTAS:

Firma: _____

SPK-1A/B-1.3
Versión 1.3

Anexo V: Formato para Recopilar Eventos Adversos

EVENTOS ADVERSOS.									
PCO-02 Farmacocinética y seguridad.									
¿Ha tenido el participante algún Evento Adverso (EA) durante el estudio?									
Respuesta: No ☐ Si ☐ (Si respondió Si, llenar abajo)									
Identificación del sujeto: _____					Fecha: ____ / ____ / ____ (dd/mm/aa)				
Severidad	Relación con la intervención	Acción tomada acerca de la intervención	Resolución del Evento Adverso	Esperado	Severo				
1. Leve 2. Moderado 3. Severo	1. Definitivamente 2. Posiblemente 3. No relacionado	1. Ninguna 2. Se reduce la dosis 3. Se suspende el estudio	1. Resuelto sin secuelas 2. EA aún presente, sin trat 3. EA aún presente, con trat 4. Secuelas residuales, sin necesidad de tratamiento 5. Secuelas residuales, con necesidad de tratamiento 6. Muerte 7. Se desconoce	1. Si 2. No	1. Si 2. No (Si respondió Si, llenar el formato de EAS)				
Evento adverso	Fecha Inicio	Fecha Término	Severidad	Relación con la intervención	Acción tomada	Resolución	Esperado	Severo	Iniciales
1.									
2.									
3.									
4.									
5.									
Firma: _____					Fecha: _____				

Número de protocolo: SPK-1A/B-1.3
75
Versión 1.3

Anexo VI: Formato para Recopilar Eventos Adversos Severos

EVENTOS ADVERSOS SEVEROS	
PCO-02 Farmacocinética y seguridad.	
Identificación del participante: _____	Fecha: __/__/__ (dd/mm/aa)
1. Fecha en que se presentó el EAS	Fecha: __/__/__ (dd/mm/aa)
2. Fecha en que cesó el EAS	Fecha: __/__/__ (dd/mm/aa)
3. Localización del EAS	
4. ¿Fue un evento esperado?	Si ☐ No ☐
5. Breve descripción del sujeto (mantener anonimato)	Sexo: _____ Edad: _____
6. Breve descripción de la naturaleza del EAS (agregar otras notas si es necesario)	
7. Categoría del EAS	Fecha de fallecimiento: __/__/__ (dd/mm/aa) ☐ Puso en riesgo la vida. ☐ Hospitalización ☐ Incapacidad/discapacidad ☐ Requiere intervención para prevenir daño residual ☐ Otra: _____

76

Número de protocolo: SPK-1A/B-1.3
Versión 1.3

PCO-02 Seguridad y farmacocinética.	
Marzo 23, 2015	
8. Tipo de intervención	☐ Medicamento o suplemento nutricional ☐ Artefacto ☐ Cirugía ☐ Conducta, estilo de vida Especificar: _____
9. Relación del EAS con la intervención	☐ No relacionado ☐ Posiblemente ☐ Definitivamente
10. Fue el estudio suspendido debido al EAS	Si ☐ No ☐
11. ¿Qué medicamentos u otros pasos se tomaron para tratar ese EAS?	
12. Mencione los datos clínicos, estudios de laboratorio, gabinete que sean pertinentes.	
13. Tipo de reporte	☐ Inicial ☐ Seguimiento ☐ Final

Firma del IP: _____

77

Número de protocolo: SPK-1A/B-1.3
Versión 1.3

Anexo VII: Formato FA01 de Recolección de Muestras de Sangre y Orina

mcaresearchg			Numero de Protocolo:		SPK-1A/B-1.3 V1.3
Formato para Recolección de Muestras de Plasma y Orina			Medicamento en Investigación:		PCO-02
			Numero de Voluntario:		
Numero de Muestra (cotejar recolección de alícuotas)	Día de Muestreo	Tiempo de Muestreo	Muestra de PLASMA		
			Fecha de Muestreo	Hora (formato de 24 hr)	Comentarios u Observaciones
PK1 ☐ A ☐ B	Día 0	Tiempo 0			
PCO-2 Administración					
PK2 ☐ A ☐ B		5 minutos			
PK3 ☐ A ☐ B		10 minutos			
PK4 ☐ A ☐ B		15 minutos			
PK5 ☐ A ☐ B		20 minutos			
PK6 ☐ A ☐ B		40 minutos			
PK7 ☐ A ☐ B		60 minutos			
PK8 ☐ A ☐ B		90 minutos			
PK9 ☐ A ☐ B		120 minutos			
PK10 ☐ A ☐ B		4 horas			
PK11 ☐ A ☐ B		8 horas			
PK12 ☐ A ☐ B	12 horas				
PK13 ☐ A ☐ B	Día 7	Post-dosis			
Numero de Muestra (cotejar recolección de alícuotas)	Día de Muestreo	Intervalo de Muestreo	Muestra de ORINA		
			Fecha de Muestreo	Volumen Total	Comentarios u Observaciones
U1 ☐ A ☐ B	Día 0	0 - 1 hora			
U2 ☐ A ☐ B		1 - 6 horas			
U3 ☐ A ☐ B		6 - 12 horas			
U4 ☐ A ☐ B	Día 7	Post-dosis			

Anexo VIII: Consentimiento Informado (CI) para Participar en la Fase de Escrutinio.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN LA FASE DE ESCRUTINIO DE LOS SUJETOS PARA SELECCIÓN.

Título del estudio:

Estudio clínico (Fase I) en voluntarios sanos para evaluar la farmacocinética y seguridad de PCO-02, cuyo ingrediente farmacológico activo es BPC-157, un penta-deca-péptido de origen gástrico.

Usted ha sido invitado(a) a participar en la fase de escrutinio para la selección de participantes de un estudio clínico que será conducido por el Dr. Rufino Menchaca Díaz, en el Hospital Ángeles de Tijuana. El propósito del estudio es documentar la farmacocinética y la seguridad del medicamento PCO-02, cuyo ingrediente farmacológico activo es el péptido BPC-157, un penta-deca-péptido estable de origen gástrico. Usted debe ser mayor de edad para poder participar.

¿Que se le pedirá que Usted haga en la fase de escrutinio para la selección?

Si Usted decide participar en el estudio, primero deberá realizarse diversas evaluaciones clínicas, de laboratorio y gabinete para comprobar que Usted reúne los criterios de selección para el estudio. La principal condición que se busca es que la persona esté sana, que no padezca de alguna enfermedad o condición que contraindique su participación en el estudio.

Para ello deberá realizarse una evaluación clínica completa, que incluye realización de:

- Historia clínica,
- Exploración física,
- Medición de peso y talla,
- Exámenes de sangre y orina,
- Radiografía de tórax y
- Electrocardiograma.

Todo ello permitirá a los investigadores asegurarse que Usted sea una persona sana y pueda participar en el estudio.

¿Existen riesgo para Usted si participa en el escrutinio para la selección?

Existe la posibilidad que se le hagan preguntas médicas que resulten incómodas para Usted, como algunos antecedentes de su familia, antecedentes de enfermedades que ha padecido, sus hábitos, costumbres, posibles adicciones o enfermedades que actualmente padezca.

También existirán molestias a la hora de tomarse muestras de sangre y pueden ocurrir algunas complicaciones menores como sangrado, formación de un hematoma, infección o inflamación en el sitio de punción. Algunas personas pueden sentirse mal después de la toma de sangre e incluso se pueden llegar a desmayar.

Además tendrá Usted que acudir en dos o tres ocasiones a la Unidad de Investigación para poder llevar a cabo todas las evaluaciones y obtener un dictamen sobre su posible participación en el estudio clínico.

¿Recibirá algún beneficio por participar en la fase de escrutinio para la selección?

A Usted se le realizarán estudios generales de sangre y orina, radiografía de tórax y electrocardiograma sin costo alguno. Su estado de salud será evaluado por médicos certificados y Usted conocerá el resultado de estas evaluaciones. Sus estudios le serán entregados en copia digital para que Usted los conserve y los pueda utilizar en otra atención médica.

¿Tendrá Usted alguna compensación por participar en la fase de escrutinio para la selección?

Usted no recibirá compensación alguna por participar en esta fase de escrutinio para la selección. Solamente si es aceptado para formar parte del estudio clínico podrá empezar a recibir la compensación y el seguro médico que cubre contra posibles riesgos relacionados a la intervención del estudio clínico.

¿Se mantendrá confidencial la información que Usted proporcione o sus resultados?

La información que Usted proporcione será utilizada exclusivamente para los fines propios de la investigación. Toda su información se mantendrá confidencial. Su nombre no aparecerá en ninguno de los documentos usados en la investigación, solo se utilizará su número o código de identificación. La lista con los nombres de los participantes y otra información personal se mantendrá asegurada bajo llave por el investigador, y solo tendrá acceso a ella el equipo de investigación, las autoridades sanitarias locales, y el comité de ética e investigación del Hospital Ángeles, cuando lo requieran. Todos los archivos de la investigación serán guardados por un periodo de dos años, después de lo cual serán destruidos. Su información también será incluida en el expediente médico que se llevará de manera paralela al expediente de investigación en el Hospital Ángeles y se guardará en el archivo médico una vez que haya concluido su participación.

¿Tiene forzosamente que participar en el estudio clínico si Usted es seleccionado?

Su participación es totalmente voluntaria. Usted puede retirarse del estudio en cualquier momento, tanto en la fase de escrutinio para la selección, como en la fase del estudio clínico. Antes de ser considerado como candidato para el estudio clínico deberá firmar otro consentimiento como este, donde se le explicarán los pormenores del estudio clínico. La compensación económica que ha sido designada para los participantes del estudio clínico se otorgará en parcialidades a partir de la firma del segundo consentimiento informado.

Información de contacto:

En caso de tener alguna pregunta sobre estudio, sus procedimientos, la seguridad, el proceso de consentimiento informado o sobre sus derechos como participante de la investigación comuníquese alguno de los miembros del equipo de investigación:

Dr. Rufino Menchaca Díaz (664)6285796

Dra. Blanca Acosta Gallo (664) 1882482.

QFB Hermelinda de la Cruz Durán (664)6244955

Lic. Beatriz Alfaro Trujillo (664)3310069

De igual manera, Usted puede comunicarse con el Comité de Ética del Hospital Ángeles Tijuana, instancia que aprobó los criterios bioéticos de la presente investigación clínica. El Presidente del Comité es el Dr. Miguel E. Beltrán Gámez, teléfono (664) 635 1824.

Su firma en el espacio de abajo indica que Usted ha recibido y entendido completamente la información mencionada en este documento, y que está de acuerdo en participar en la fase de escrutinio solamente. Usted recibirá una copia de este formato.

Nombre y firma de consentimiento.

Fecha

Nombre y firma del médico.

Fecha

Anexo IX: Consentimiento Informado para Participar en el Estudio.

PCO-02 Farmacocinética y seguridad.
Junio 01, 2013.

CI para estudio clínico.
Versión 01.

Tijuana, Baja California a ____ de _____ de 2013.

Título de la investigación:

Estudio clínico (Fase I) en voluntarios sanos, para evaluar la farmacocinética y seguridad de PCO-02, cuyo ingrediente farmacológico activo es BPC-157, un penta-deca-péptido de origen gástrico.

Este es un estudio de investigación clínica. El médico responsable es el Dr. Rufino Menchaca Díaz, tanto él como otros miembros del equipo de investigación le explicarán a Usted los propósitos de este estudio.

Los estudios de investigación médica solo incluyen a personas que deciden formar parte de ellos. Tómese su tiempo para decidir su posible participación. Usted puede comentar su decisión con sus familiares, amigos y con su médico de confianza. Si Usted tiene cualquier duda, por favor pregunte al personal médico responsable del estudio.

A Usted se le ha invitado a formar parte de este estudio porque cuenta con la condición de ser un sujeto que al parecer reúne los requisitos de la investigación, que es, principalmente el estar sano. A continuación se aclaran algunos puntos importantes sobre este estudio.

1. ¿Por qué se realiza este estudio?

El propósito de este estudio es evaluar la farmacocinética¹ y la seguridad de la administración por vía oral del péptido² PCO-02 en sujetos voluntarios sanos. Queremos investigar qué pasa con el péptido BPC-157 una vez que es tomado por vía oral, qué tanto pasa a la sangre y que tiempo tarda en eliminarse. También queremos investigar las posibles molestias o síntomas que Usted pudiera presentar después de tomarlo, esto es los posibles efectos indeseables que se pudieran presentar.

Pensamos que los datos de este estudio proporcionarán la información necesaria para seleccionar las dosis adecuadas y seguras del producto PCO-02 para tratar a personas con ciertos padecimientos. Por lo tanto, existe la posibilidad de utilizar posteriormente los resultados de esta investigación como base para los temas de regulación en México y Estados Unidos entre otras regiones del mundo.

2. ¿Quién cubre los costos de este estudio?

Pharmacotherapia, d.o.o. es el patrocinador de este estudio. Se trata de una empresa farmacéutica con sede en Croacia, que ha adquirido la patente del péptido BPC-157 y busca comprobar su utilización como tratamiento para ciertas enfermedades en humanos.

¹ Ciencia que describe cuantitativamente el ingreso de medicamentos al organismo, su biotransformación, distribución, metabolismo y eliminación. Se consideran tanto las cantidades como las concentraciones en tejidos y órganos.

² Son un tipo de moléculas formadas por la unión de varios aminoácidos mediante enlaces peptídicos.

Su domicilio y teléfonos son los siguientes:

Pharmacotherapia d.o.o.
Put Radoševca 52
21000 Split, Croacia
Tel. 021/779523

Pharmacotherapia cubrirá los gastos generados por todo lo relacionado al estudio, entre otras cosas la estancia hospitalaria, los análisis de laboratorio y estudios de gabinete así como el costo del producto en investigación. También será responsable de cualquier gasto generado por alguna complicación directamente relacionada con el tratamiento o el estudio.

Los honorarios del equipo de investigación serán también cubiertos por Pharmacotherapia, d.o.o.

3. ¿Cuántas personas tomarán parte en este estudio?

Se planea que 30 personas mayores de edad (de 18 hasta 80 años) participen como sujetos de estudio. Deberán estar sanos como requisito principal para participar. El estudio consta de dos Fases. La primera Fase, denominada Fase I a, consiste en la toma de una dosis oral de 1, 3, 6 tabletas de PCO-02 o cantidad similar de tabletas de placebo³ por los sujetos; la segunda Fase denominada Fase I b, consistirá en la toma de 3 tabletas de PCO-02 o placebo cada 8 horas durante dos semanas. Todos los sujetos participarán en ambas Fases. En la Fase I a, se dividirán los 30 sujetos en tres grupos, de 10 sujetos cada uno, para que 8 de ellos reciban la dosis correspondiente de PCO-02 (1, 3 o 6 tabletas) y 2 reciban una dosis similar de placebo, de la siguiente forma:

Fase I a

Grupos	Sujetos por grupo	Sujetos en PCO-02	Sujetos en placebo	Dosis que recibirán
1	10	8	2	1 tableta
2	10	8	2	3 tabletas
3	10	8	2	6 tabletas
Total	30	24	6	(PCO-02 o placebo)

En la Fase 1 b, los 24 sujetos que recibieron PCO-02, recibirán ahora 3 tabletas de PCO-02 cada 8 horas durante dos semanas. Los 6 sujetos que recibieron placebo seguirán con una dosis similar de placebo, de la siguiente forma:

³ Placebo es una sustancia que no tiene efecto en el cuerpo. En el presente estudio se trata de una pastilla que tiene un aspecto exactamente igual a la sustancia que se está investigando pero que no contiene el péptido BPC-157 y sirve para comparar efectos.

Fase I a

Grupo	Sujetos por grupo	Sujetos en PCO-02	Sujetos en placebo	Dosis que recibirán
Todos	30	24	6	3 tabletas cada 8 horas durante dos semanas. (PCO-02 o placebo)

La asignación a recibir PCO-02, en cualquiera de sus dosis, o placebo, será totalmente al azar. Usted puede preguntar al personal médico responsable del estudio qué dosis recibirá. Cada tableta de PCO-02 contiene 1 mg del producto farmacológico activo BPC-157.

4. ¿Qué pasará si tomo parte de este estudio de investigación?

Previo a su ingreso formal al estudio, Usted deberá realizarse las siguientes pruebas de laboratorio y exámenes físicos para saber si cumple con las condiciones necesarias para participar. Si los resultados clínicos, de laboratorio y de gabinete son satisfactorios, Usted será incluido como participante. Al término del proceso de la investigación, Usted deberá realizarse de nuevo las mismas evaluaciones para comprobar que no existieron cambios en ellas.

Evaluaciones clínicas

- ✓ Historia clínica completa.
- ✓ Exploración física habitual, incluidos signos vitales, peso y talla.
- ✓ Medicación previa y actual.

Evaluaciones por medio de laboratorio:

- ✓ Biometría hemática completa. Debe contar al menos con hemoglobina, hematocrito, células rojas, células blancas, diferencial de células blancas y número de plaquetas.
- ✓ Química sanguínea. Debe contar con cuantificación de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, electrolitos séricos.
- ✓ Pruebas funcionales hepáticas. Bilirrubinas totales, ALT, AST, GGT.
- ✓ Examen general de orina.
- ✓ Examen de embarazo.
- ✓ Prueba para VIH, Hepatitis B y C.

Evaluaciones de gabinete:

- ✓ Radiografía de tórax. Se solicitarán radiografías simples de tórax en proyección posterior-anterior (tele de tórax).
- ✓ Electrocardiograma (ECG).

Durante el desarrollo de este estudio, si las pruebas de laboratorio y exámenes físicos muestran que Usted es candidato/a para ser parte de este estudio, y además, Usted decide participar en él, entonces seguirá el siguiente procedimiento:

Intervención.

A continuación se explica de manera más detallada los procedimientos para las distintas etapas del estudio.

Fase 1a

- ✓ Usted será hospitalizado para la primera administración del producto (o placebo) bajo estudio. La hospitalización durará un periodo de 24 horas aproximadamente.
- ✓ Una vez hospitalizado, Usted será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar síntomas que Usted pudiera referir. También se corroborarán sus signos vitales y se realizará ECG.
- ✓ Se registrará todo medicamento que Usted esté recibiendo o haya recibido al momento de la intervención o los días previos.
- ✓ Usted deberá encontrarse en condiciones de ayuno por lo menos de 8 horas previas a la administración del producto bajo investigación (o placebo).
- ✓ A continuación, se realiza el procedimiento de administración del producto en investigación (o placebo).
- ✓ Previo y posterior a la ingesta del producto en investigación (o placebo), a Usted se le realizarán una serie de tomas de sangre. Se tomarán 5 ml de sangre total inmediatamente antes de recibir la dosis oral correspondiente, es decir al momento 0, luego a los 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 minutos, y a las 4, 8, y 12 horas después de la administración.
- ✓ Usted egresará del medio hospitalario si no existen EA, para continuar vigilancia como externo.
- ✓ Una vez egresado del medio hospitalario, Usted se mantendrá bajo vigilancia pasiva pidiéndosele que reporte por vía telefónica al equipo de investigación, cualquier EA que pudiera presentar.
- ✓ Siete días posteriores a la administración del producto en investigación (o placebo), a Usted se le solicitará que acuda a la Unidad de Investigación del Hospital Ángeles Tijuana para evaluaciones complementarias en condiciones de ayuno. Dichas evaluaciones serán las mismas que le realizaron previas a su hospitalización, con excepción de las siguientes pruebas: embarazo, ELISA para VIH, Hepatitis B, C y Rx tele de tórax.
- ✓ Si Usted fue seleccionado para formar parte del grupo 2 (3 tabletas de PCO-02 o placebo), una vez que haya concluido la semana de seguimiento con evaluación clínica, de laboratorio y gabinete, se le solicitará que participe en una segunda toma de la misma dosis que recibió, pero después de haber ingerido un desayuno estándar. Esto requerirá de una segunda hospitalización por 24 horas. Las evaluaciones y el seguimiento serán iguales a lo mencionado anteriormente.

Fase 1b

- ✓ Si Usted concluyó satisfactoriamente la Fase 1a, se incluirá en la siguiente Fase del estudio. Esta segunda fase es totalmente ambulatoria, no se requiere de hospitalización.
- ✓ Usted será evaluado clínicamente por el investigador principal u otro médico certificado que hubiera sido designado para este fin, realizándose un examen físico dirigido a evaluar síntomas que Usted pudiera tener. También se corroborarán sus signos vitales y se realizará ECG.
- ✓ Se registrará todo medicamento que Usted esté recibiendo o haya recibido al momento de la intervención o los días previos.
- ✓ Se mantendrá el registro de EA que Usted pudiera llegar a experimentar.
- ✓ Se tomarán en cuenta sus exámenes de laboratorio y estudios de gabinete realizados en la visita del día 7 de la Fase 1a como evaluación basal de esta fase.
- ✓ A Usted se le dotará con 63 tabletas de PCO-02 (o placebo) para que inicie la toma seriada del producto en investigación a razón de 3 tabletas cada 8 horas, durante los 7 días siguientes. La primera toma se efectuará en presencia de un miembro del equipo de investigación.
- ✓ Se programará la alarma de su teléfono celular para recordarle las siguientes tomas de medicamento, que serán cada 8 horas. Además, se le pedirá que se tome una foto con su teléfono celular al momento de estar ingiriendo el producto en investigación y la envíe al equipo de investigación.
- ✓ A Usted se le citará al séptimo día en condiciones de ayuno para realizarle las evaluaciones clínicas, de laboratorio y de gabinete necesarias para verificar seguridad y para medir concentración de BPC-157. También se le proporcionará una segunda dotación de PCO-02 (o placebo), para continuar el mismo esquema de administración, durante los 7 días siguientes.
- ✓ Nuevamente, se programará la alarma de su teléfono celular para recordarle las siguientes tomas de medicamento. De igual manera, se le pedirá el registro fotográfico de cada toma del producto en investigación.
- ✓ A Usted se le notificará sobre la necesidad de mantenerse en contacto con el investigador principal o algún otro miembro del equipo de investigación para el reporte de posibles EA.
- ✓ A Usted se le citará de nuevo al séptimo día en condiciones de ayuno para realizarle las evaluaciones clínicas, de laboratorio y de gabinete necesarias para verificar seguridad y para medir concentración de BPC-157.

Evaluaciones.

Usted será evaluado y monitorizado clínicamente antes, durante y después de la intervención como ya se mencionó en las secciones anteriores. Adicionalmente, algunos sujetos serán evaluados aleatoriamente durante la Fase 1 b, para verificar cumplimiento de las tomas de medicamento. En esta evaluación se incluirá:

- ✓ Historia de medicación.
- ✓ Registro de EA.

- ✓ Conteo de tabletas restantes.
- ✓ Verificación de fotografías de las tomas.
- ✓ Registro de la hora de la última dosis administrada.

5. ¿Cuánto tiempo estaré en el Estudio?

Su participación será requerida por un periodo de 1 a 2 semanas en la Fase I a y 2 semanas en la Fase I b, para dar un periodo total de 3 a 4 semanas de participación. Este periodo de participación no es continuo, ya que se dejarán de una a tres semanas entre la Fase I a y la Fase I b, dependiendo del grupo al que sea asignado. El equipo de investigación podrá informarle con más detalle las fechas en las que se le requerirá durante el desarrollo del estudio.

6. ¿Puedo dejar de participar en el Estudio?

Si. Usted puede decidir dejar de participar en cualquier momento. Comunique al médico responsable del estudio si Usted está pensando detener su participación o decide dejar el estudio. Él le dirá cómo interrumpir su participación de forma segura para Usted. De igual manera, el personal médico del estudio puede suspender su participación en la investigación en cualquier momento por varias razones, por ejemplo, si aparecen efectos adversos inaceptables durante el estudio, si aparece una enfermedad o complicación independiente, si el médico considera que Usted necesita otro tipo de tratamiento, si el personal decide que le conviene a usted retirarse de la investigación.

Así mismo, los investigadores podrán darlo de baja del estudio si Usted no cumple con los requisitos inherentes a la investigación, o se corrobora que no está cumpliendo con las tomas seriadas del producto tal como se le solicitaron. Si Usted y/o algún miembro del personal deciden que es mejor que se retire de la investigación, se le pedirá que llene una serie de pruebas idénticas a las que se realizaron durante el estudio. Estas pruebas se harán el día que Usted se retire o un poco después. Si Usted elige abandonar el estudio no se modificará su relación futura con el personal de la investigación ni la calidad de la atención médica que Usted reciba en el futuro.

7. ¿Qué efectos secundarios o riesgos puedo esperar al participar en este estudio?

Los riesgos asociados al estudio, se pueden dividir en los riesgos relacionados a la administración oral del medicamento, o a la obtención de muestras seriadas de sangre venosa para el estudio de farmacocinética.

En general, los riesgos que se pudieran anticipar por la administración oral del PCO-02 o del placebo son mínimos, de escasa magnitud y de fácil resolución. En un estudio realizado en sujetos voluntarios, se administró el producto bajo estudio por vía rectal, encontrándose como efectos adversos solo flatulencia y cefalea, siendo similar la frecuencia de observación en estos síntomas entre los que recibieron BPC-157 o quienes recibieron placebo. Las dosis que se emplearán en este estudio se encuentran muy por debajo de la dosis letal media estimadas en animales (ratas y perros), que se ha estimado en más de 2000 mg de BPC-157 por cada kilo de peso.

Para la toma de muestras seriadas de sangre venosa de la Fase I a, se le colocará un catéter en una vena periférica del brazo, manteniéndose obturado y abriéndose solo cuando se requiera de la toma de la muestra, para evitar la venopunción múltiple mientras Usted se encuentre en el hospital. Las demás tomas se harán directamente por venopunción. Los riesgos se consideran mínimos, y están en relación a que pueda existir sangrado excesivo

en el sitio de punción, formación de hematoma, infección, o que se requieran de punciones múltiples para asegurar el catéter o funcione adecuadamente. Algunos pacientes pueden generar una reacción vasovagal y eventualmente sufrir de un síncope o desmayo debido al estrés psicológico del pinchazo de la aguja.

La cantidad total de sangre que se obtendrá en cada sujeto durante todo el estudio será igual o menor a 160 ml. Para las pruebas de tamizaje será de aproximadamente 10 ml; para las pruebas de farmacocinética será de 65 ml (55 ml durante las primeras 24 horas de la Fase I a y 10 ml más durante la Fase I b); además de requerirse 30 ml adicionales de sangre para pruebas de seguridad, que se harán al completarse los 7 días de la Fase I a y a los 7 y 14 días de la Fase Ib. En 10 sujetos se realizará una segunda etapa de estudios de farmacocinética posteriores a la ingesta de alimentos, por lo que se les requerirán 55 ml adicionales.

Usted no debe donar sangre ni productos hematológicos durante este estudio.

Si durante el estudio, aparece información nueva sobre los posibles peligros o efectos adversos, el personal del estudio le notificará de inmediato y discutirán el tratamiento ulterior y la conducta a seguir.

Cualquier efecto colateral que experimente durante el tratamiento, o después del mismo deberá ser notificado de inmediato al equipo de investigación, al personal médico de la clínica o a su médico. Si aparece un efecto adverso durante su participación en el estudio, es posible que se lleven a cabo otros estudios de tipo diagnóstico.

8. ¿Hay beneficios por participar en este Estudio?

La investigación realizada en animales con PCO-02 es bastante amplia y prometedora. Se ha aplicado el producto de estudio en una extensa gama de condiciones inflamatorias, metabólicas y traumáticas en modelos animales con resultados muy alentadores. La posibilidad de que el producto bajo investigación ayude a mejorar diversas condiciones en el humano se debe explorar y su participación hace posible que esto suceda.

Los resultados de sus estudios de laboratorio y gabinete le serán proporcionados a Usted gratuitamente y en su totalidad, en copia digital.

9. ¿Mi información médica se mantendrá privada?

Haremos todo lo posible por conservar su privacidad. Su información será lo más confidencial posible en la medida que lo permitan las leyes y normas aplicables y no se hará pública. Sus representantes y los agentes de regulación correspondientes podrán revisar su información para verificar su autenticidad e integridad. Si Usted firma este consentimiento, está permitiendo que los investigadores del estudio o sus apoderados y los agentes de regulación revisen su expediente médico. Los artículos o publicaciones sobre el estudio, o sobre cualquier otra investigación, no incluirán su nombre ni su descripción. La información que Usted proporcione será utilizada exclusivamente para fines de investigación.

Como ya se mencionó, su participación en este estudio es voluntaria y puede retirarse en cualquier momento, si lo solicita al médico encargado del estudio. Si Usted desea suspender su participación en este estudio, conviene en notificar al médico encargado a la brevedad posible. Si así lo hace, su participación terminará y el personal del estudio dejará de recolectar su información. Para cumplir con las obligaciones legales y conservar la integridad

Continúa anexo IX

PCO-02 Farmacocinética y seguridad.
Junio 01, 2013.

CI para estudio clínico.
Versión 01.

científica del estudio, el médico encargado en ocasiones deberá conservar y utilizar los resultados de la investigación que ya se ha obtenido.

Usted tiene derecho a consultar su información médica durante el estudio y a corregir cualquier error de los datos sobre Usted que posean los investigadores del estudio.

10. ¿Cuáles son los costos por participar en este Estudio?

No se le cobrará por cualquiera de las actividades ó procedimientos contemplados en el estudio.

11. ¿Me pagarán por participar en este Estudio?

Usted recibirá una compensación económica por las molestias que el estudio pudiera ocasionarle y para solventar sus gastos de traslados a la Unidad de Investigación cada vez que se le requiera. Usted recibirá al menos 7,000.00 (siete mil pesos, m.n.) que le serán proporcionados de manera fraccionada a lo largo del estudio. Habrá personas que recibirán 2,000.00 pesos más, además de los 7,000.00 mencionados, dado que se les solicitará que se hospitalicen en una segunda ocasión. Para que Usted reciba el monto de compensación respectivo a cada etapa, deberá completar la totalidad de requerimientos correspondientes a esa etapa. Si Usted decide retirarse del estudio, solo recibirá las cantidades correspondientes a las etapas que concluyó en su totalidad. La participación inconclusa de una etapa no estará sujeta a compensación alguna.

	Selección	Fase I a		Fase I b			Total
		Día 0	Día 7	Día 0	Día 7	Día 14	
Momento	Al firmar CI	Al egresar del hospital	Al terminar evaluación	Al terminar evaluación	Al terminar evaluación	Al terminar evaluación	
Cantidad	500.00	1,000.00	1,000.00	500.00	1,000.00	3,000.00	7,000.00

12. ¿Qué pasa si me lesiono porque he participado en este Estudio?

En caso de una lesión imprevista generada por la aplicación del tratamiento, se le enviará a revisión por un médico independiente del estudio, quien se encargará de su tratamiento. Los gastos generados serán cubiertos por el patrocinador, quien dispondrá de un sistema de financiamiento o seguro médico para cubrir estas eventualidades. No se cubrirá la atención por lesiones o reacciones que sean ajenas al producto de investigación o al estudio.

Si Usted considera en algún momento, que pudiera haber sufrido una lesión o reacción relativa al medicamento bajo estudio o a los procedimientos a los que fue sometido, deberá comunicarse de inmediato con el Dr. Rufino Menchaca Díaz, responsable de la investigación al teléfono celular (664) 6285796 o con la Dra. Blanca Acosta al Teléfono celular (664)1882482 responsable del seguimiento de eventos adversos en el estudio.

13. ¿Cuáles son mis derechos si tomo parte de este Estudio?

Continúa anexo IX

PCO-02 Farmacocinética y seguridad.
Junio 01, 2013.

CI para estudio clínico.
Versión 01.

Tomar parte de este Estudio es su decisión. Usted puede elegir entre participar o no participar. Si Usted decide participar en este Estudio, puede retirarse en cualquier momento. No importa cuál sea la decisión que tome, no habrá penalización para Usted y no perderá ninguno de sus beneficios o derechos regulares.

14. ¿Quién puede contestar mis preguntas acerca de este Estudio?

Los miembros del equipo de investigación pueden resolver sus posibles dudas antes, durante y después del estudio.

En caso de lesión, de tener alguna pregunta sobre estudio, sus procedimientos, la seguridad, el proceso de consentimiento informado o sobre sus derechos como participante de la investigación comuníquese alguno de los miembros del equipo de investigación:

Dr. Rufino Menchaca Díaz (664)6285796

Dra. Blanca Acosta Gallo (664) 1882482.

QFB Hermelinda de la Cruz Durán (664)6244955

Lic. Beatriz Alfaro (664)3310069

De igual manera, Usted puede comunicarse con el Comité de Ética del Hospital Ángeles Tijuana, instancia que aprobó los criterios bioéticos de la presente investigación clínica. El Presidente del Comité es el Dr. Miguel E. Beltrán Gámez, teléfono (664) 635 1824.

CONSENTIMIENTO

Mi participación en este estudio es totalmente voluntaria y puedo negarme a participar o bien retirarme del estudio en cualquier momento, sin perjuicio ni pérdida de los beneficios a que tengo derecho. A discreción de los investigadores del estudio que se llevará a cabo en el Hospital Ángeles de Tijuana, se me puede pedir que firme una hoja más de consentimiento informado si la información cambia o se agregan datos nuevos al estudio.

Me han aclarado todas mis dudas y respondido a todas mis preguntas satisfactoriamente.

He recibido una copia de este consentimiento y sé que el investigador principal conservará otra copia en el archivo.

He podido revisar el contenido de este formato de consentimiento informado y lo comprendo. Entiendo los riesgos a los que me veré expuesto si decido participar. Al firmarlo, confirmo con precisión mis deseos de participar de manera voluntaria, libre de coerción y en completo entendimiento de los pormenores del estudio.

Voluntario participante

Nombre	Firma (o huella digital)	Fecha:
_____	_____	__ / __ / __

Médico Responsable

Nombre	Firma	Fecha:
_____	_____	__ / __ / __

Testigo

Nombre	Firma	Fecha:
_____	_____	__ / __ / __

Firma o sello de autorización del Comité de Ética e Investigación del Hospital Ángeles Tijuana.

Número aleatorio:

Anexo X: Validación del Método Analítico Para Cuantificar Bepecin en Plasma



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 1 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

Method Validation Report

Validation of a Method for the Determination of PCO-02 in Human Plasma using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection

Prepared For:
PharmaCoTherapia d.o.o.
Put Radosevca 52
Split, Croatia 21000

Prepared By: MicroConstants, Inc. 9050 Camino Santa Fe San Diego, CA 92121
--

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 3 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

ANALYST ACKNOWLEDGEMENT

We, the undersigned, acknowledge that the laboratory work performed on this project was executed in accordance with all applicable USFDA, OECD, MHLW and EMA regulations, MicroConstants' SOPs, the validation protocol and the Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001.

Matt Onorato

Matthew Onorato
Senior Analytical Scientist
MicroConstants, Inc.

02/24/14

Date

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 4 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

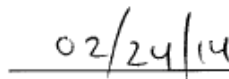
COMPLIANCE STATEMENT

We, the undersigned, declare that this laboratory work was performed under our guidance and supervision and was conducted and reported in compliance with all applicable USFDA, OECD, MHLW and EMA regulations, MicroConstants' SOPs, the validation protocol and the Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001. The method has been successfully validated and is suitable for sample analysis.

The information contained in this report presents a true, unaltered and accurate record of the results.

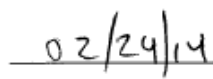


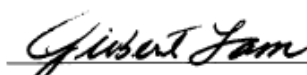
Adrienne Griffith
Study Director
MicroConstants, Inc.


Date

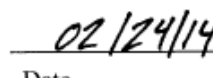


David F. Beyerlein
Vice President, Global Operations
MicroConstants, Inc.


Date



Gilbert N. Lam, Ph.D.
President/CSO
MicroConstants, Inc.


Date

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 5 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

TABLE OF CONTENTS

	<u>Page</u>
1.0 INTRODUCTION	8
2.0 EXPERIMENTAL	8
2.1 Principles of the Method	8
2.2 Validation Protocol	8
2.3 Reference Standard	8
2.4 Calculations	8
3.0 RESULTS	9
4.0 CONCLUSIONS	11
5.0 DATA RETENTION	11
6.0 TERMS AND DEFINITIONS	11
7.0 REFERENCES	12
<u>Tables</u>	
1 Calibration Curve Parameters for PCO-02 in Human Plasma.....	13
2 Back-Calculated Calibration Standard Data and Statistics for PCO-02 in Human Plasma.....	14
3 Interday QC Sample Data and Statistics for PCO-02 in Human Plasma.....	15
4 Intraday QC Sample Data and Statistics for PCO-02 in Human Plasma.....	16
5 Extraction Recovery Data for PCO-02 in Human Plasma.....	18
6 Extraction Recovery Data for the I.S. in Human Plasma.....	19
7 Specificity Data for PCO-02 in Human Plasma.....	20
8 Matrix Effect Data for PCO-02 in Human Plasma.....	21
9 Hemolysis Effect Data for PCO-02 in Human Plasma.....	23
10 Dilution Integrity for PCO-02 QC Samples Diluted with Blank Human Plasma.....	24
11 HPLC Carry-Over Evaluation for PCO-02 in Human Plasma.....	25

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 6 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

TABLE OF CONTENTS (Continued)

Tables	Page
12 Reinjection Integrity of PCO-02 in Processed Extracts Stored Refrigerated at 5°C for 91 Hours	26
13 Stability Results of PCO-02 in Processed Extracts Stored Refrigerated at 5°C for 70 Hours	28
14 Stability Results for PCO-02 in Human Plasma QC Samples After 4 Freeze/Thaw Cycles	29
15 Stability Results for PCO-02 in Human Plasma QC Samples After Storage On Ice for 25 Hours	30
16 Stability Results for PCO-02 in Human Plasma QC Samples After Frozen Storage (-20°C and -70°C) for 36 Days	31
17 Stability Results for PCO-02 in Human Whole Blood After Storage (Room Temperature and Ice Bath) for 1 Hour	32
18 Solution Stability Results for PCO-02 in 1% Acetic Acid in Water:Acetonitrile (80:20, v/v) After Storage (5°C) for 44 and 41 Days	33
19 Solution Stability Results for PCO-02 in 1% Acetic Acid in Water:Acetonitrile (80:20, v/v) After Storage (Room Temperature) for 6 Hours	34
Figures	
1 Chromatograms of an LLOQ Standard (0.500 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	35
2 Chromatograms of a ULOQ Standard (500 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	36
3 Calibration Curve (0.500 to 500 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	37
4 Chromatograms of an LLOQ QC Sample (0.500 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	38
5 Chromatograms of a Low QC Sample (1.50 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	39
6 Chromatograms of an Intermediate QC Sample (25.0 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	40
7 Chromatograms of a High QC Sample (400 ng/mL) for PCO-02 in Human Plasma	41

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 7 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

TABLE OF CONTENTS (Continued)

<u>Figures</u>	<u>Page</u>
8 Chromatograms of a Human Plasma Blank for PCO-02	42
<u>Appendix</u>	
A Validation Protocol VP13098	A1
B Analytical Method MN13080	B1



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 8 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

1.0 INTRODUCTION

The Bioanalytical Chemistry department at the San Diego facility of MicroConstants, Inc. has developed and validated a method for the determination of PCO-02 concentrations in human plasma containing sodium heparin as the anticoagulant using HPLC with MS/MS detection. The method is applicable for measuring concentrations of PCO-02 ranging from 0.500 to 500 ng/mL using 55.0 μ L of preserved human plasma for extraction. The project was initiated on October 21, 2013 and completed on January 7, 2014. The validation was conducted according to MicroConstants' SOPs for method validation and the validation protocol, VP13098. The results of the validation are summarized in this report.

2.0 EXPERIMENTAL

2.1 Principles of the Method

Human plasma samples containing PCO-02, PCO-02- $^{13}\text{C}_6^{15}\text{N}_2$ as the I.S., sodium heparin as the anticoagulant and phosphoric acid as a preservative were processed by a combination of protein precipitation and solid phase extraction. The extracts were analyzed by reversed-phase HPLC using a Waters Atlantis d C18 column. The mobile phase was nebulized using heated nitrogen in a Z-spray source/interface and the ionized compounds were detected in positive mode using MS/MS. Details of the method can be found in MicroConstants' analytical method MN13080, which can be found in Appendix B.

2.2 Validation Protocol

The validation protocol and amendments can be found in Appendix A.

2.3 Reference Standard

PCO-02 (Orpegen Peptide Chemicals) was used to prepare the stock standard and working standard solutions. An overall correction factor, shown in the following table, was used to adjust for purity and water and salt content. PCO-02- $^{13}\text{C}_6^{15}\text{N}_2$ (BioSynthesis) was used as the internal standard.

Reference Standard	Lot #	Retest Date	Overall Correction
PCO-02	142012	06/20/14	0.879

2.4 Calculations

The peak heights of PCO-02 and the I.S. were acquired using MassLynx v. 4.1 (Waters, Milford, MA). The calibration curves were obtained by fitting the log-transformed peak height ratios of PCO-02/I.S. and the log-transformed standard concentrations to a linear equation using MassLynx. The equations of the calibration curves were then used to interpolate the concentrations of PCO-02 in the samples using their

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 9 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

log-transformed peak height ratios. The peak heights and peak height ratios used for the calculations were not rounded. Any peak heights presented in the report tables were unrounded values (reported to the ones place) from MassLynx.

All concentration values and statistical calculations were reported to three significant digits. All numerical values 5 - 9 in the fourth digit place resulted in rounding up the third significant digit while all numerical values 0 - 4 in the fourth digit place were dropped (rounded down). All values used in statistical calculations were rounded to three significant figures with the exception of %CV, which used the unrounded mean and standard deviation of the rounded concentration values.

3.0 RESULTS

Calibration	Description	Concentration Range	Table
Curve Regression	log-transformed linear	0.500 to 500 ng/mL	1
Standards	Prepared fresh daily	10 levels	2

Validation Parameter	Acceptance Criteria	N	Results	Pass/Fail	Table
Interday Precision	≤15.0 %CV	30	2.85% to 5.51%	Pass	3
Interday Accuracy	≤±15.0 %DEV	30	-4.40% to 2.00%	Pass	
Intraday Precision	≤15.0 %CV	6	1.73% to 9.20%	Pass	4
Intraday Accuracy	≤±15.0 %DEV	6	-5.60% to 2.00%	Pass	
LLOQ QC Interday Precision	≤20.0 %CV	30	9.65%	Pass	3
LLOQ QC Interday Accuracy	≤±20.0 %DEV	30	0.400%	Pass	
LLOQ QC Intraday Precision	≤20.0 %CV	6	7.23% to 11.0%	Pass	4
LLOQ QC Intraday Accuracy	≤±20.0 %DEV	6	-4.00% to 7.20%	Pass	
Analyte % Recovery	N/A	18	78.8%	-	5
I.S. % Recovery	N/A	18	82.0%	-	6
Analyte Specificity	80.0% of lots tested	6	83.3%	Pass	7
I.S. Specificity	80.0% of lots tested	6	100%	Pass	
Matrix Effect	80.0% of lots tested	6	100%	Pass	8
Hemolysis Effect					
Precision	≤15.0 %CV	6	2.47% to 5.38%	Pass	9
Accuracy	≤±15.0 %DEV	6	-5.33% to 1.00%	Pass	

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 10 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

Validation Parameter	Acceptance Criteria	N	Results	Pass/ Fail	Table
Hemolysis Effect					
LLOQ Precision	$\leq 20.0\% \text{ CV}$	6	15.9%	Pass	9
LLOQ Accuracy	$\leq \pm 20.0\% \text{ DEV}$	6	-8.80%	Pass	
10X Single Dilution					
Precision	$\leq 15.0\% \text{ CV}$	6	6.42%	Pass	10
Accuracy	$\leq \pm 15.0\% \text{ DEV}$	6	4.00%	Pass	
100X Serial Dilution					
Precision	$\leq 15.0\% \text{ CV}$	6	6.86%	Pass	10
Accuracy	$\leq \pm 15.0\% \text{ DEV}$	6	0.00%	Pass	
Analyte Carry-Over	$\leq 20.0\%$ of LLOQ peak height	6	0.00%	Pass	11
Stability	Conditions	N	Duration	Pass/ Fail	Table
Reinjection Integrity	5°C	-	91 hours	Pass	12
Processed Sample	5°C	6	70 hours	Pass	13
Freeze/Thaw	-70°C/On Ice	3	4 cycles	Pass	14
Thawed	On Ice	3	25 hours	Pass	15
Frozen	-20°C	3	36 days	Pass	16
	-70°C	3	36 days	Pass	
Whole Blood	RT	6	1 hour	Fail	17
	On Ice	6	1 hour	Pass	
Stock Standard	5°C	3	44 days	Pass	18
Working Standard	5°C	3	41 days	Pass	
Stock Standard	RT	3	6 hours	Pass	19
Working Standard	RT	3	6 hours	Pass	
Validation Parameter	Analytical Run		Sample Count	Pass/ Fail	
Batch Size Determination	AR02		120	Pass	

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 11 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

4.0 CONCLUSIONS

Based on the results of the analysis, MicroConstants' analytical method MN13080 has been validated according to the criteria specified in the validation protocol, VP13098 and in MicroConstants' SOPs. The method has a calibration range from 0.500 to 500 ng/mL. The method is reproducible and rugged with no significant matrix interference in the lots of human plasma tested. The method is acceptable for the determination of PCO-02 in human plasma samples.

5.0 DATA RETENTION

All raw data, including chromatograms, and an original signed copy of the final report will be retained in the archives of MicroConstants following the signing of the final report in accordance with MicroConstants' SOPs.

6.0 TERMS AND DEFINITIONS

%CV: Percent Coefficient of Variation (Relative Standard Deviation)

%DEV: Percent Deviation of a Value from Theoretical

CSO: Chief Scientific Officer

EMA: European Medicines Agency

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

I.S.: Internal Standard

LLOQ: Lower Limit of Quantitation

MHLW: (Japanese) Ministry of Health, Labor and Welfare

MS/MS: Tandem Quadrupole Mass Spectrometer

N: Number of Observations

N/A: Not Applicable

OECD: Organization for Economic Cooperation and Development

QA: Quality Assurance

QC: Quality Control

RT: Room Temperature

SOPs: Standard Operating Procedures

ULOQ: Upper Limit of Quantitation

USFDA: United States Food and Drug Administration

Continua anexo X:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0152	Report Number: MC13B-0152	Page: 12 of 42
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: February 24, 2014

7.0 REFERENCES

MN13080

Method for the Determination of PCO-02 in Human Plasma using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection, MicroConstants, Inc., San Diego, CA.

VP13098

Validation of a Method for the Determination of PCO-02 in Preserved Human Plasma using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection, MicroConstants, Inc., San Diego, CA.

Anexo XI: Validación del Método Analítico Para Cuantificar Bepecin en Orina



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 1 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

Method Validation Report

Validation of a Method for the Determination of PCO-02 in Human Urine using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection

Prepared For:
PharmaCoTherapia d.o.o.
Put Radosevca 52
Split, Croatia 21000

Prepared By:
MicroConstants, Inc.
9050 Camino Santa Fe
San Diego, CA 92121

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 2 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

QUALITY ASSURANCE STATEMENT

It is the objective of MicroConstants, Inc. that all studies conducted by our facility shall be of the highest quality and meet or exceed the criteria set forth by applicable USFDA, OECD, MHLW and EMA regulations to ensure the quality and integrity of the data generated.

The QA department has audited method validation report MC13B-0153 for accuracy and compliance with MicroConstants' SOPs, VP13099 and all applicable regulations. Any deviations from these requirements have been fully documented.

The audit findings were submitted to the analyst, CSO and MicroConstants' study director on the following dates:

Study Phase	Auditor	Audit Date(s)	Date Reported to Analyst and CSO	Date Reported to Study Director
Reporting	ZK	03/06-07/14	03/07/14	03/24/14

Based on the audit findings, the report, raw data and records were found to be an accurate reflection of the study.

During the conduct of this study there were no deviations from the USFDA Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001 and the EMA Guideline on Bioanalytical Method Validation, 2012, which affected the quality or integrity of the study.

All corrective actions have been appropriately addressed by the analyst and acknowledged by MicroConstants' QA department.

Zenith Khan
Senior Quality Assurance Auditor
MicroConstants, Inc.

Date

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 3 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

ANALYST ACKNOWLEDGEMENT

I, the undersigned, acknowledge that the laboratory work performed on this project was executed in accordance with all applicable USFDA, OECD, MHLW and EMA regulations, MicroConstants' SOPs, the validation protocol and the Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001.

D J B D for

Ghezal Purnul
Senior Analytical Scientist
MicroConstants, Inc.

03/26/14

Date

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 4 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

COMPLIANCE STATEMENT

We, the undersigned, declare that this laboratory work was performed under our guidance and supervision and was conducted and reported in compliance with all applicable USFDA, OECD, MHLW and EMA regulations, MicroConstants' SOPs, the validation protocol and the Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, May 2001. The method has been successfully validated and is suitable for use in sample analysis.

The information contained in this report presents a true, unaltered and accurate record of the results.

David F. Beyerlein
Study Director/Vice President, Global Operations
MicroConstants, Inc.

Date

Gilbert N. Lam, Ph.D.
President/CSO
MicroConstants, Inc.

Date

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 5 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

TABLE OF CONTENTS

	<u>Page</u>
1.0 INTRODUCTION	7
2.0 EXPERIMENTAL	7
2.1 Principles of the Method	7
2.2 Validation Protocol	7
2.3 Reference Standard	7
2.4 Calculations	7
3.0 RESULTS	8
4.0 CONCLUSIONS	9
5.0 DATA RETENTION	9
6.0 TERMS AND DEFINITIONS	10
7.0 REFERENCES	10
Tables	
1 Calibration Curve Parameters for PCO-02 in Human Urine	11
2 Back-Calculated Calibration Standard Data and Statistics for PCO-02 in Human Urine	12
3 Interday QC Sample Data and Statistics for PCO-02 in Human Urine	13
4 Intraday QC Sample Data and Statistics for PCO-02 in Human Urine	15
5 Extraction Recovery Data for PCO-02 in Human Urine	17
6 Extraction Recovery Data for the I.S. in Human Urine	18
7 Specificity Data for PCO-02 in Human Urine	19
8 Matrix Effect Data for PCO-02 in Human Urine	20
9 Dilution Integrity for PCO-02 QC Samples Diluted with Blank Human Urine	22
10 HPLC Carry-Over Evaluation for PCO-02 in Human Urine	23
11 Reinjection Integrity of PCO-02 in Processed Extracts Stored Refrigerated at 5°C for 6 Days	24

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 6 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

TABLE OF CONTENTS (Continued)

<u>Tables</u>	<u>Page</u>
12 Stability Results for PCO-02 in Processed Extracts Stored Refrigerated at 5°C for 70 Hours.....	26
13 Stability Results for PCO-02 in Human Urine QC Samples after 4 Freeze/Thaw Cycles.....	27
14 Stability Results for PCO-02 in Human Urine QC Samples after Storage on Ice for 25 Hours	28
15 Stability Results for PCO-02 in Human Urine QC Samples after Frozen Storage (-20°C and -70°C) for 39 Days.....	29
<u>Figures</u>	
1 Chromatograms of an LLOQ Standard (5.00 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	30
2 Chromatograms of a ULOQ Standard (5,000 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	31
3 Calibration Curve (5.00 ng/mL to 5,000 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	32
4 Chromatograms of an LLOQ QC Sample (5.00 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	33
5 Chromatograms of a Low QC Sample (15.0 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	34
6 Chromatograms of an Intermediate QC Sample (250 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	35
7 Chromatograms of a High QC Sample (4,000 ng/mL) for PCO-02 in Human Urine.....	36
8 Chromatograms of a Human Urine Blank for PCO-02	37
<u>Appendix</u>	
A Validation Protocol VP13099.....	A1
B Analytical Method MN13095.....	B1



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 7 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

1.0 INTRODUCTION

The Bioanalytical Chemistry department at the San Diego facility of MicroConstants, Inc. has developed and validated a method for the determination of PCO-02 concentrations in human urine using HPLC with MS/MS detection. The method is applicable for measuring concentrations of PCO-02 ranging from 5.00 ng/mL to 5,000 ng/mL using 25.0 μ L of human urine for extraction. The project was initiated on October 17, 2013 and completed on February 17, 2014. The validation was conducted according to MicroConstants' SOPs for method validation and the validation protocol, VP13099. The results of the validation are summarized in this report.

2.0 EXPERIMENTAL

2.1 Principles of the Method

Human urine samples containing PCO-02 and PCO-02- $^{13}\text{C}_6$ - $^{15}\text{N}_2$, as the I.S., were combined with an aliquot of preserved human plasma and were then prepared by a combination of protein precipitation and solid phase extraction. The extracts were analyzed by reversed-phase HPLC using a Waters Atlantis d C18 column. The mobile phase was nebulized using heated nitrogen in a Z-spray source/interface and the ionized compounds were detected in positive mode using MS/MS. Details of the method can be found in MicroConstants' analytical method MN13095, which can be found in Appendix B.

2.2 Validation Protocol

The validation protocol and amendment can be found in Appendix A.

2.3 Reference Standard

PCO-02 (Orpegen Peptide Chemicals) was used to prepare the stock standard and working standard solutions. An overall correction factor, shown in the following table, was used to adjust for purity, water and salt content. PCO-02- $^{13}\text{C}_6$ - $^{15}\text{N}_2$ (BioSynthesis) was used as the I.S.

Reference Standard	Lot #	Retest Date	Overall Correction
PCO-02	142012	06/20/14	0.879

2.4 Calculations

The peak heights of PCO-02 and the I.S. were acquired using MassLynx v. 4.1 (Waters, Milford, MA). The calibration curves were obtained by fitting the log-transformed peak height ratios of PCO-02/I.S. and the log-transformed standard concentrations to a linear equation using MassLynx. The equations of the calibration curves were then used to interpolate the concentrations of PCO-02 in the samples using their



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 8 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

log-transformed peak height ratios. The peak heights and peak height ratios used for the calculations were not rounded. Any peak heights presented in the report tables were unrounded values (reported to the ones place) from MassLynx.

All concentration values and statistical calculations were reported to three significant digits. All numerical values 5 - 9 in the fourth digit place resulted in rounding up the third significant digit while all numerical values 0 - 4 in the fourth digit place were dropped (rounded down). All values used in statistical calculations were rounded to three significant figures with the exception of %CV, which used the unrounded mean and standard deviation of the rounded concentration values.

3.0 RESULTS

Calibration	Description	Concentration Range	Table
Curve Regression	log-transformed linear	5.00 to 5,000 ng/mL	1
Standards	Prepared fresh daily	10 levels	2

Validation Parameter	Acceptance Criteria	N	Results	Pass/Fail	Table
Interday Precision	≤15.0 %CV	30	2.93% to 4.17%	Pass	3
Interday Accuracy	≤±15.0 %DEV	30	-2.67% to -2.00%	Pass	
Intraday Precision	≤15.0 %CV	6	0.806% to 3.25%	Pass	4
Intraday Accuracy	≤±15.0 %DEV	6	-7.33% to 2.00%	Pass	
LLOQ QC Interday Precision	≤20.0 %CV	30	6.00%	Pass	3
LLOQ QC Interday Accuracy	≤±20.0 %DEV	30	-2.80%	Pass	
LLOQ QC Intraday Precision	≤20.0 %CV	6	3.23% to 7.65%	Pass	4
LLOQ QC Intraday Accuracy	≤±20.0 %DEV	6	-6.60% to 0.200%	Pass	
Analyte % Recovery	N/A	18	89.1%	-	5
I.S. % Recovery	N/A	18	91.7%	-	6
Analyte Specificity	80.0% of lots tested	6	100%	Pass	7
I.S. Specificity	80.0% of lots tested	6	100%	Pass	
Matrix Effect	80.0% of lots tested	6	100%	Pass	8
10X Single Dilution					
Precision	≤15.0 %CV	6	2.04%	Pass	9
Accuracy	≤±15.0 %DEV	6	-1.20%	Pass	

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 9 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

Validation Parameter	Acceptance Criteria	N	Results	Pass/ Fail	Table
100X Serial Dilution					
Precision	$\leq 15.0\% \text{ CV}$	6	1.86 %	Pass	9
Accuracy	$\leq \pm 15.0\% \text{ DEV}$	6	-0.800 %	Pass	
Analyte Carry-Over	$\leq 20.0\%$ of LLOQ peak height	6	13.6%	Pass	10
Stability	Conditions	N	Duration	Pass/ Fail	Table
Reinjection Integrity	5°C	-	6 days	Pass	11
Processed Sample	5°C	6	70 hours	Pass	12
Freeze/Thaw	-70°C/On Ice	3	4 cycles	Pass	13
Thawed	On Ice	3	25 hours	Pass	14
Frozen	-20°C	3	39 days	Pass	15
	-70°C	3	39 days	Pass	
Validation Parameter	Analytical Run	Sample Count		Pass/ Fail	
Batch Size Determination	AR04	120		Pass	

4.0 CONCLUSIONS

Based on the results of the analysis, MicroConstants' analytical method MN13095 has been validated according to the criteria specified in the validation protocol, VP13099 and in MicroConstants' SOPs. The method has a calibration range from 5.00 to 5,000 ng/mL. The method is reproducible and rugged with no significant matrix interference in the lots of human urine tested. The method is acceptable for the determination of PCO-02 in human urine samples.

5.0 DATA RETENTION

All raw data, including chromatograms, and an original signed copy of the final report will be retained in the archives of MicroConstants following the signing of the final report in accordance with MicroConstants' SOPs.

Continua anexo XI:



MicroConstants Project File Number: PF13B-0153	Report Number: MC13B-0153	Page: 10 of 37
Sponsor Protocol Number: N/A	Status: FINAL	Date of Report: March 26, 2014

6.0 TERMS AND DEFINITIONS

%CV: Percent Coefficient of Variation (Relative Standard Deviation)

%DEV: Percent Deviation of a Value from Theoretical

CSO: Chief Scientific Officer

EMA: European Medicines Agency

GLP: Good Laboratory Practice

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

I.S.: Internal Standard

LLOQ: Lower Limit of Quantitation

MHLW: (Japanese) Ministry of Health, Labor and Welfare

MS/MS: Tandem Quadrupole Mass Spectrometer

N: Number of Observations

N/A: Not Applicable

OECD: Organization for Economic Cooperation and Development

OTC: Over-the-Curve

QA: Quality Assurance

QC: Quality Control

SOPs: Standard Operating Procedures

ULOQ: Upper Limit of Quantitation

USFDA: United States Food and Drug Administration

7.0 REFERENCES

MN13095

Method for the Determination of PCO-02 in Human Urine using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection, MicroConstants, Inc., San Diego, CA.

VP13099

Validation of a Method for the Determination of PCO-02 in Human Urine using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection, MicroConstants, Inc., San Diego, CA.