

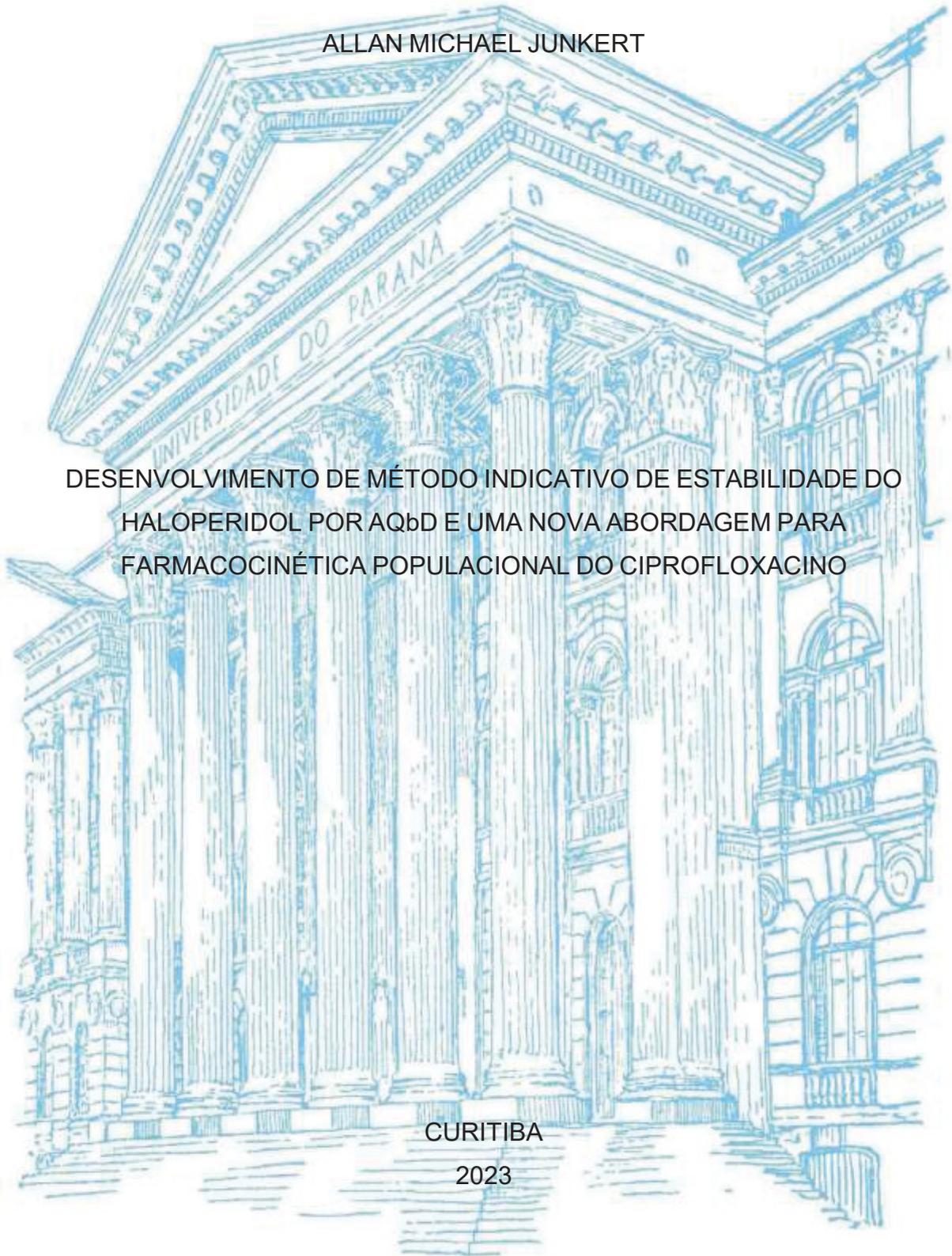
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALLAN MICHAEL JUNKERT

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO  
HALOPERIDOL POR AQBd E UMA NOVA ABORDAGEM PARA  
FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO

CURITIBA

2023



ALLAN MICHAEL JUNKERT

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO  
HALOPERIDOL POR AQBd E UMA NOVA ABORDAGEM PARA  
FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO

Tese apresentada como requisito à obtenção do grau de Doutor, no Curso de Pós-Graduação em ciências farmacêuticas, Setor de ciências da saúde, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA

2023

Junkert, Allan Michael

Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade do haloperidol por AQbD e uma nova abordagem para farmacocinética populacional do ciprofloxacino [recurso eletrônico] / Allan Michael Junkert – Curitiba, 2023.

1 recurso *online* : PDF

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Roberto Pontarolo.

1.Haloperidol. 2.AQbD. 3.Estabilidade de medicamentos. 4.Ciprofloxacino. 4.Farmacocinética populacional. 5.Revisão de escopo. I. Pontarolo, Roberto. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 615.1901

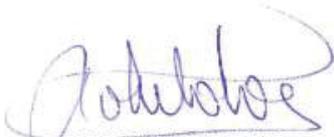


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

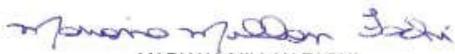
## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ALLAN MICHAEL JUNKERT** intitulada: **Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade do haloperidol por AqBd e uma nova abordagem para farmacocinética populacional do ciprofloxacino.**, sob orientação do Prof. Dr. ROBERTO PONTAROLO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 07 de Dezembro de 2023.



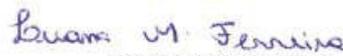
ROBERTO PONTAROLO  
Presidente da Banca Examinadora



MARIANA MILLAN FACHI  
Avaliador Externo (HOSPITAL PEQUENO PRINCIPE)

Documento assinado digitalmente  
MICHEL LEANDRO DE CAMPOS  
Data: 07/12/2023 13:36:57-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

MICHEL LEANDRO DE CAMPOS  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO)



LUANA MOTA FERREIRA  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



RAUL EDISON LUNA LAZO  
Avaliador Interno Pós-Doc (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Não é suficiente fazer seu melhor; primeiro, é preciso saber exatamente o que fazer para depois dar o seu melhor.

Joseph Juran (1904 - 2008)

Se você não sabe para onde ir, qualquer caminho serve.

Lewis Carroll (1832 - 1898)

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a todos aqueles que participaram dessa conquista. Essa jornada foi repleta de altos e baixos, sendo uma experiência fundamental na construção do meu eu profissional e pessoal. Eu sou eu graças a essa exposição constante aos desafios impostos sobre mim. Com o passar do tempo reparei que as dificuldades não diminuíram; em vez disso aprendi a lidar com elas com as ferramentas do meu vasto repertório profissional.

Sempre almejei a busca do conhecimento, seja por um senso de responsabilidade ou pela sede de poder mudar o mundo da minha maneira, mas me espantei no quanto este mundo foi capaz de me mudar. Houveram momentos de ansiedade e momentos de empolgação, porém o que mais me marcou neste trajeto foi descobrir o fascínio pela arte de ensinar, se tornando um ponto focal dos meus esforços. Me vi num vagaroso e gradativo processo de evolução e transformação para um profissional mais sensível e transigente. Onde antes eu procurava encontrar soluções pragmáticas e equacionadas para os problemas, agora procuro soluções conciliadoras e humanas dentro das lentes de alguém que preza muito pelo aprendizado e pela transferência de conhecimentos. Agora além de profissional, sou uma unidade funcional e completa, e creio que esta conscientização me ocasionou um salto tremendo em como enxergo o mundo e como vivemos nele.

Esta mensagem é para todos que de alguma maneira se sentem contemplados nesta missão e que muitas vezes se sentem ilhados ou subjugados pelas regras deste jogo no qual cada vírgula pode ser significativa na sua progressão. Todos nós somos professores, seja na sala de aula ou por meio de pequenos atos construtivos. Sintam-se abraçados, e nos encontraremos por aí!

## RESUMO

**Introdução:** A modelagem de dados vem beneficiando diversas áreas, especialmente a da química analítica e farmacologia. Este trabalho foi dividido em dois capítulos com intuito de preencher lacunas de modelagem de dados nessas duas grandes áreas. O primeiro capítulo focou em desenvolver um método analítico indicativo de estabilidade para a solução oral de haloperidol por meio da abordagem de Qualidade Analítica Baseada no Projeto (AQbD). Enquanto no segundo capítulo foi realizado conduzido modelagem de farmacocinética populacional do ciprofloxacino oral em adultos por meio de uma nova abordagem. **Metodologia:** O primeiro capítulo investigou o perfil de degradação do haloperidol submetendo a solução oral em condições de degradação forçada, como por exemplo ácido, alcalina, térmica, oxidativa e fotolítica. A partir deste perfil de degradação, desenvolveu-se um método analítico indicativo de estabilidade aplicando a abordagem AQbD, consistindo na identificação dos atributos e parâmetros críticos do método, seleção e otimização destes parâmetros, modelagem de dados, definição da região operacional e definição das estratégias de controle do método. O segundo capítulo envolveu a condução de uma revisão de escopo nas bases do PubMed e Scopus de acordo com os guias da Cochrane e JBI e reportados de acordo com PRISMA-ScR para parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em adultos. Estes dados foram empregados na simulação e individualização de pacientes, sendo posteriormente utilizados para criar modelos de farmacocinética populacional em função de suas covariáveis por meio do software Monolix. **Resultados:** Foi possível detectar dois produtos de degradação do haloperidol solução oral, um referente ao haloperidol e outro ao metilparabeno. No desenvolvimento analítico, avaliou-se as principais variáveis do método por cromatografia líquida de alta eficiência, para definir as condições normais de operação. Sendo a melhor combinação resultante do uso de uma coluna Waters Symmetry C18 (3,9 mm x 150 mm, 5 $\mu$ m) e uma fase móvel composta por tampão formiato pH 3,8 100 mM e acetonitrila, com programação em gradiente. Como parâmetros de operação definiu-se a detecção a 246 nm, injeção de 20  $\mu$ L, fluxo de 1,3 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura a 15 °C e pH a 3,8. No segundo capítulo, a busca sistemática resultou em 46 estudos de farmacocinética tradicional. A farmacocinética do ciprofloxacino oral foi afetada por diversas covariáveis, incluindo interações medicamentosas, interações com alimentos, faixa etária dos pacientes e comprometimento renal. Ao individualizar e utilizar estes dados, foi possível gerar quatro modelos de farmacocinética populacional que levavam em conta diversas covariáveis. O modelo que melhor se ajustou produziu acurácias de 96,68%, 100,11%, e 96,74% para os parâmetros  $K_a$ ,  $Cl$  e  $V_d$ , respectivamente. **Conclusão:** O método desenvolvido demonstrou-se robusto para monitoramento da estabilidade do haloperidol solução oral. Enquanto o estudo de farmacocinética populacional do ciprofloxacino representou o protótipo de uma nova abordagem de modelagem de pacientes virtuais obtidos a partir de estudos de farmacocinética. Este trabalho ilustra a importância dessas abordagens para assegurar a segurança e eficácia dos medicamentos e otimizar as estratégias de ajuste de dose na terapêutica.

**Palavras-chave:** haloperidol, AQbD, estabilidade de medicamentos, ciprofloxacino, farmacocinética populacional, revisão de escopo

## ABSTRACT

**Introduction:** Data modeling has been benefiting various areas, especially analytical chemistry and pharmacology. This work was divided into two chapters with the aim of addressing data modeling gaps in these two significant areas. The first chapter focused on developing an indicative stability analytical method for the oral solution of haloperidol using the Analytical Quality by Design (AQbD) approach. Meanwhile, the second chapter conducted population pharmacokinetic modeling of oral ciprofloxacin in adults through a novel approach. **Methodology:** The first chapter investigated the degradation profile of haloperidol by subjecting the oral solution to forced degradation conditions, such as acid, alkaline, thermal, oxidative, and photolytic conditions. Based on this degradation profile, an analytical method indicative of stability was developed using the AQbD approach, involving the identification of critical attributes and parameters of the method, selection and optimization of these parameters, data modeling, definition of the operational region, and establishment of method control strategies. The second chapter involved a scope review of PubMed and Scopus databases according to Cochrane and JBI guidelines, reported in accordance with PRISMA-ScR for ciprofloxacin pharmacokinetic parameters in adults. These data were used in patient simulation and individualization, and subsequently employed to create population pharmacokinetic models based on covariates using Monolix software. **Results:** Two degradation products of haloperidol oral solution were detected, one related to haloperidol and the other to methylparaben. In the analytical development, the main variables of the method were evaluated by high-performance liquid chromatography to define normal operating conditions. The best combination resulted from using a Waters Symmetry C18 column (3.9 mm x 150 mm, 5 $\mu$ m) and a mobile phase composed of formate buffer pH 3.8 100 mM and acetonitrile, with gradient programming. Operation parameters were set at detection at 246 nm, injection of 20  $\mu$ L, flow rate of 1.3 mL.min<sup>-1</sup>, temperature at 15 °C, and pH at 3.8. In the second chapter, the systematic search resulted in 46 traditional pharmacokinetic studies. Oral ciprofloxacin pharmacokinetics were affected by various covariates, including drug interactions, food interactions, patient age, and renal impairment. By individualizing and using these data, four population pharmacokinetic models accounting for various covariates were generated. The best-fitting model produced accuracies of 96.68%, 100.11%, and 96.74% for the parameters  $K_a$ ,  $Cl$ , and  $V_d$ , respectively. **Conclusion:** The developed method proved robust for monitoring the stability of haloperidol oral solution. Meanwhile, the population pharmacokinetic study of ciprofloxacin represented a prototype of a new approach to modeling virtual patients obtained from pharmacokinetic studies. This work illustrates the importance of these approaches in ensuring the safety and efficacy of medications and optimizing dose adjustment strategies in therapeutics.

**Keywords:** haloperidol, AQbD, drug stability, ciprofloxacin, population pharmacokinetics, scoping review

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HALOPERIDOL.....	29
FIGURA 2 - CONCEITO DE ESTABILIDADE PREDITIVA .....	35
FIGURA 3 - EXEMPLO DE UM DIAGRAMA DE ISHIKAWA .....	38
FIGURA 4 - MATRIZ DE RISCO PARA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE X PROBABILIDADE DE UMA FALHA.....	40
FIGURA 5 - DIFERENÇAS NO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE OFaT e DOE .....	41
FIGURA 6 - GENERALIZAÇÃO DE UM PROCESSO, MÉTODO OU SISTEMA .....	42
FIGURA 7 - EXEMPLO DO GRÁFICO DE SOBREPOSIÇÃO COM CRITÉRIOS DE ACEITABILIDADE PARA GERAÇÃO DA ZONA ROBUSTA	46
FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HALOPERIDOL E SUAS SUBSTÂNCIAS RELACIONADAS.....	49
FIGURA 10 - ETAPAS PARA DESENVOLVIMENTO PELA ABORDAGEM AQbD .....	55
FIGURA 11 -GRÁFICO DE SELETIVIDADE E HIDROFOBICIDADE DE COLUNAS CROMATOGRÁFICAS .....	57
FIGURA 12 -CROMATOGRAMAS EXEMPLIFICANDO O EFEITO DA SELETIVIDADE E HIDROFOBICIDADE DA COLUNA CROMATOGRÁFICA.....	57
FIGURA 13 -ESTRUTURAS MOLECULARES E IÔNICAS DE ACORDO COM OS VALORES DE PKAs DO HALOPERIDOL .....	58
FIGURA 14 -EXEMPLO DE OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA PARA INVESTIGAÇÃO DA CURVATURA DA SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	62
FIGURA 15 -GRADIENTE EXPLORATÓRIO INICIAL PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HAL .....	64
FIGURA 16 -GRADIENTE EXPLORATÓRIO REFINADO PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL...	65
FIGURA 17 - CROMATOGRAMAS DOS RESULTADOS DOS ESTUDOS DE ESTABILIDADE PRELIMINAR.....	67

FIGURA 18 - PERFIS ESPECTRAIS DO HALOPERIDOL, NIPAGIN E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO.....	68
FIGURA 19 - REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO METILPARABENO.....	69
FIGURA 20 - ENSAIOS DE MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL EM CONDIÇÃO ÁCIDA .....	70
FIGURA 21 - DIAGRAMA DE ISHIKAWA PARA OS ELEMENTOS DE QUALIDADE DO MÉTODO .....	76
FIGURA 22 - MATRIZ DE CROMATOGRAMAS DO FATORIAL COMPLETO PARA SELEÇÃO DA COLUNA, SOLVENTE ORGÂNICO E TIPO DE TAMPÃO .....	82
FIGURA 23 - CÁLCULO DE REFINAMENTO DO GRADIENTE EXPLORATÓRIO .....	85
FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO DOS DIFERENTES ÂNGULOS DE GRADIENTES AVALIADOS NO DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO .....	86
FIGURA 25 - CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO E COMBINAÇÃO DE FATORES QUE GERAM MELHOR RENDIMENTO TOTAL DO FATORIAL FRACIONÁRIO .....	89
FIGURA 26 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DA DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO .....	90
FIGURA 27 - EFEITO DO COMPRIMENTO DE ONDA NA DESEJABILIDADE .....	91
FIGURA 28 - CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO E COMBINAÇÃO DE FATORES QUE GERAM MELHOR RENDIMENTO TOTAL DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA .....	93
FIGURA 29 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DE DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA.....	94
FIGURA 30 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DE DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS SEGUNDA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA.....	96

FIGURA 31 - OPERAÇÕES EVOLUCIONÁRIAS APLICADAS NO DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO DEMONSTRANDO REGIÃO PARA CONSTRUÇÃO DO DESENHO BOX-BEHNKEN .....	97
FIGURA 32 - MAPA DE CORRELAÇÕES ENTRE CMPs E CMAs DOS EXPERIMENTOS DE BOX-BEHNKEN .....	100
FIGURA 33 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 3,8 .....	105
FIGURA 34 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 4,3 .....	106
FIGURA 35 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 3,3 .....	107
FIGURA 36 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL .....	108
FIGURA 37 - CARTAS-CONTROLE PARA OS CMAs DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL .....	113
FIGURA 38 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA INDICANDO COMBINAÇÃO DE CMPs QUE PRODUZEM O DESVIO DE QUALIDADE .....	115

## **CAPÍTULO 2**

FIGURA 39 - ESTRUTURA MOLECULAR DO CIPROFLOXACINO .....	121
FIGURA 40 - MECANISMO DE AÇÃO DO CIPROFLOXACINO .....	122
FIGURA 41 - DISPOSIÇÃO DE UM COMPOSTO FARMACÊUTICO EM UM ORGANISMO .....	125
FIGURA 42 - MODELOS DE DISTRIBUIÇÃO FARMACOCINÉTICA .....	128
FIGURA 43 - DOMÍNIOS DOS MODELOS NÃO-LINEARES DE EFEITOS MISTOS .....	132
FIGURA 44 - DETERMINAÇÃO DA INTER E INTRAVARIABILIDADE DO MODELO NÃO-LINEAR DE EFEITOS MISTOS .....	133
FIGURA 45 - ETAPAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO CAPÍTULO .....	136
FIGURA 46 - EXEMPLO DA EQUAÇÃO $T_{MÁX}$ SUBSTITUÍDA PARA ISOLAMENTO DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO .....	143

FIGURA 47 -LÓGICA APLICADA NO MÉTODO NUMÉRICO ITERATIVO LIMITADO POR ERRO ABSOLUTO PARA ESTIMAÇÃO DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO .....	144
FIGURA 48 - EXEMPLO DE GERAÇÃO DOS VETORES DE PACIENTES..	146
FIGURA 49 -INTERFACE DO PACOTE LINPK PARA GERAR PERFIL FARMACOCINÉTICO A PARTIR DOS PARÂMETROS SIMULADOS .....	147
FIGURA 50 -EXEMPLO DE PROCESSO DE CODIFICAÇÃO ONE HOT ENCODER .....	148
FIGURA 51 -EXEMPLO DA INCLUSÃO UM DE PACIENTE NO SOFTWARE MONOLIX.....	149
FIGURA 52 -INTERFACE DO SOFTWARE MONOLIX MOSTRANDO AS ETAPAS DE MODELAGEM.....	149
FIGURA 53 -FLUXOGRAMA MODIFICADO DO PRISMA 2020 PARA A REVISÃO ESCOPO DA FARMACOCINÉTICA DA CIPROFLOXACINA.....	151
FIGURA 54 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E SUAS LACUNAS DE EVIDÊNCIA DOS ESTUDOS DE FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL UTILIZANDO O CLINPK .....	155
FIGURA 55 -VIOLIN PLOT COM BOXPLOT DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES SAUDÁVEIS .....	156
FIGURA 56 -UTILIZAÇÃO DE ONE-HOT ENCODING NA VERIFICAÇÃO PREDITIVA VISUAL DAS MODELAGENS POPULACIONAIS .	176
FIGURA 57 -VERIFICAÇÃO PREDITIVA VISUAL DO MODELO FINAL DO CIPROFLOXACINO .....	181
FIGURA 58 -CORRELAÇÃO DOS DADOS PREDITOS E DADOS OBSERVADOS DO MODELO POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO .....	182

## LISTA DE QUADROS

### CAPÍTULO 1

QUADRO 1 - EXCIPIENTES DO HALDOL® SOLUÇÃO ORAL .....	30
QUADRO 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO HALOPERIDOL .....	30
QUADRO 3 - PONTUAÇÕES DA OCORRÊNCIA, SEVERIDADE E DETECÇÃO DO FMEA.....	39
QUADRO 4 - LIMIARES DE CRITICIDADE DO RPN.....	39
QUADRO 5 - PRINCIPAIS TIPOS DE DESENHOS EXPERIMENTAIS .....	43
QUADRO 6 - SIGLAS COMUMENTE UTILIZADAS NO QbD E AQbD .....	45
QUADRO 7 - COMPOSIÇÃO DOS SISTEMAS DE DEGRADAÇÃO FORÇADA .....	52
QUADRO 8 - CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO PRÉ-MÉTODO PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DE HAL .....	54
QUADRO 9 - TEMPO DE COLETA DOS ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO .....	53
QUADRO 10 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DE FATORIAL COMPLETO PARA CMPs CATEGÓRICAS.....	59
QUADRO 11 - FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO DAS CMPs .....	61
QUADRO 12 - PERFIL ANALÍTICO ALVO E SEUS ATRIBUTOS CRÍTICOS DO MÉTODO .....	73
QUADRO 13 - CONJUNTO DE CMPs PARA OS PONTOS EXPERIMENTAIS DOS PARs E NOC.....	109
QUADRO 14 - CONDIÇÕES NORMAIS DE OPERAÇÃO DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL .....	110

### CAPÍTULO 2

QUADRO 15 - CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO CIPROFLOXACINO.....	122
QUADRO 16 - DIFERENÇAS ENTRE FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL E POPULACIONAL .....	135
QUADRO 17 - INCLUSÃO DAS COVARIÁVEIS EM DIFERENTES MODELAGENS PARA OS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS POPULACIONAIS DO CIPROFLOXACINO .....	177

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

TABELA 1 -	EXEMPLO DE ANÁLISE DE MODOS DE FALHA E EFEITOS PREENCHIDA.....	40
TABELA 2 -	DIFERENÇA DA ÁREA DO HALOPERIDOL NA ESTABILIDADE PRELIMINAR.....	66
TABELA 3 -	ANÁLISE DE MODO E EFEITO ADAPTADO PARA AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CRÍTICOS DO MÉTODO.....	78
TABELA 4 -	PARÂMETROS CRÍTICO DO MÉTODO EXCLUÍDOS DA AVALIAÇÃO.....	79
TABELA 5 -	PARÂMETROS CRÍTICOS DO MÉTODO SIGNIFICATIVOS PARA O MÉTODO ANALÍTICO.....	80
TABELA 6 -	FATORIAL COMPLETO PARA CMPs CATEGÓRICAS COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs.....	83
TABELA 7 -	FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs.....	87
TABELA 8 -	SIGNIFICÂNCIA DOS EFEITOS PRINCIPAIS DOS CMPs EM RELAÇÃO OS CMAs.....	88
TABELA 9 -	QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO.....	88
TABELA 10 -	FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs.....	92
TABELA 11 -	QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA.....	92
TABELA 12 -	FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs.....	95

TABELA 13 - QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS SEGUNDA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA.....	95
TABELA 14 - DESENHO DE BOX-BEHNKEN PARA GERAÇÃO DO MODR COM OS RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs .....	98
TABELA 15 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE EFICIÊNCIA E FATOR DE CAPACIDADE.....	101
TABELA 16 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE RESOLUÇÕES .....	102
TABELA 17 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE SIMETRIA ...	103
TABELA 18 - CONFIRMAÇÃO DOS PONTOS EXPERIMENTAIS PARA VALIDAÇÃO DO MODR .....	111
TABELA 19 - COMPILAÇÃO DAS INFORMAÇÕES DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO .....	112
TABELA 20 - DADOS DE ROBUSTEZ DOS CMAs EM RELAÇÃO CMps E SEUS VALORES DE REFERÊNCIA .....	114

## **CAPÍTULO 2**

TABELA 21 - ANÁLISE DESCRITIVA DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES SAUDÁVEIS .....	157
TABELA 22 - FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO .....	169
TABELA 23 - COMPARAÇÃO DA ESTIMATIVA NUMÉRICA DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO EM RELAÇÃO AOS MODELOS MONO E BICOMPARTIMENTAIS.....	174
TABELA 24 - PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO DO MODELO POPULACIONAL FARMACOCINÉTICO DO CIPROFLOXACINO.....	178

## LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 - ESTRATÉGIA DE BUSCA COMPLETA PARA PUBMED E SCOPUS.....	205
APÊNDICE 2 - LINHA DE SCRIPT USADO PARA MANIPULAÇÃO DOS DADOS FARMACOCINÉTICOS, MÉTODO NUMÉRICO ITERATIVO PARA ESTIMAÇÃO DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO, SIMULAÇÃO DE DADOS PARA GERAR PACIENTES VIRTUAIS, GERAÇÃO DO PERFIL FARMACOCINÉTICO E SUAS OBSERVAÇÕES.....	206
APÊNDICE 3 - ARTIGOS DA REVISÃO DE ESCOPO EXCLUÍDOS E SUAS RAZÕES .....	212
APÊNDICE 4 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE – CLINPK – FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL .....	219
APÊNDICE 5 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE - CLINPK – FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL (CONTINUADA).....	221
APÊNDICE 6 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE – CLINPK – FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL.....	224
APÊNDICE 7 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE – CLINPK – FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL (CONTINUADA)....	226
APÊNDICE 8 - PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS E COVARIÁVEIS DE PACIENTES SAUDÁVEIS .....	230
APÊNDICE 9 - PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES COM CONDIÇÕES CLÍNICAS.....	237

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	– Análise de variância
Anvisa	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AQbD	– Qualidade Baseada no Projeto (para <i>Analytical Quality by Design</i> )
ASC	– Área sob a curva
ATP	– Perfil analítico alvo (para <i>Analytical Target Profile</i> )
AU	– Unidade de absorvância (mAU para mil partes)
BBD	– Box-Behnken Design
CAS	– Número do registro de identificação química (para <i>Chemical Abstract Service</i> )
CMA	– Atributos críticos do método (para <i>Critical Method Attributes</i> )
CMP	– Parâmetros críticos do método (para <i>Critical Method Parameters</i> )
CI	– Clearance ou depuração
CLAE	– Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAD	– Detector de arranjo de diôdo
DOE	– Planejamento experimental (para <i>Design of Experiment</i> )
DP	– Desvio padrão
DPR	– Desvio padrão relativo
EVOP	– Operação evolucionária (para <i>Evolutionary Evolution</i> )
FDA	– Agência dos Estados Unidos de Administração de Medicamentos e Alimentícios (para <i>American Agency of Food and Drug Administration</i> ).
FE	– Fase estacionária
FM	– Fase móvel
FMEA	– Análise de Modos de Falha e Efeitos (para <i>Failure Mode and Effect Analysis</i> )
HAL	– Haloperidol
ICH	– Conferência Internacional de Harmonização (para <i>The International Council of Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i> )
IFA	– Insumo farmacêutico ativo
Imp	– Impureza

IST	– Infecção sexualmente transmissível
Ka	– Constante de absorção
Kel	– Constante de eliminação
k'	– Fator de capacidade (para <i>system suitability</i> )
LD	– Limite de detecção
LQ	– Limite de quantificação
MeOH	– Metanol
MIE	– Método indicativo de estabilidade
MODR	– Região operacional do método (para <i>Method Operable Design Range</i> )
n	– Pratos teóricos (para eficiência da coluna)
NCA	– Análise não-compartimental (para <i>non-compartmental analysis</i> )
NIP	– Nipagin (metilparabeno)
NLME	– Modelo não-linear de efeitos mistos (para <i>Non-linear Mixed Effects</i> )
NOC	– Condições normais de operação (para <i>Normal Operating Conditions</i> )
OFaT	– Um-Fator-Por-Vez (para <i>One-Factor-at-Time</i> )
OFV	– Valor da função objetivo (para <i>Objective Function Value</i> )
OHE	– Codificação das covariáveis (para <i>One-Hot Encoding</i> )
OMS	– Organização Mundial da Saúde
PA	– Para análises
PAR	– Faixa aceitável comprovada (para <i>Proven Acceptable Range</i> )
PCDT	– Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PD	– Produto de degradação
PK/PD	– Farmacocinética/farmacodinâmica
popPK	– Farmacocinética populacional (do inglês, <i>populational pharmacokinetics</i> )
PVDF	– Membrana de fluoreto de polivinilideno (para polyvinylidene fluoride)
RDC	– Resolução da Diretoria Colegiada
RPN	– Número de prioridade de risco (para <i>Risk Priority Number</i> )
Rs	– Resolução (cromatografia)

T	– Fator caudal (para <i>tailing</i> )
$T_{1/2}$	– Meia-vida
THF	– Tetrahydrofurano
$T_r$	– Tempo de retenção
Vd	– Volume de distribuição
VP	– Paciente virtual (para <i>Virtual Patient</i> )
VPC	– Checagem visual preditiva (para <i>Visual Preditive Check</i> )
®	– Marca registrada
$\Delta$	– Variação
$\Theta$	– Parâmetro populacional (Theta)
$\eta$	– Variabilidade interindividual (Eta)
$\epsilon$	– Variabilidade intraindividual (Epsilon)
$\beta$	– Covariáveis populacionais (Beta)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2. CAPÍTULO 1 – ABORDAGEM AQbD PARA DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL SOLUÇÃO ORAL</b> .....	<b>26</b>
2.1.1. Objetivo Geral.....	28
2.1.2. Objetivos Específicos .....	28
2.2. REVISÃO DE LITERATURA .....	29
2.2.1. Haloperidol .....	29
2.2.2. Estudos de estabilidade .....	31
2.2.3. Desenvolvimento analítico.....	35
2.2.4. Estudos de estabilidade do haloperidol .....	47
2.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	50
2.3.1. Reagentes e materiais.....	50
2.3.2. Equipamentos e softwares .....	50
2.3.3. Ensaio de degradação forçada .....	51
2.3.4. Desenvolvimento do método com abordagem AQbD.....	54
2.3.4.1. Definição do perfil analítico alvo (ATP) e identificação dos atributos críticos do método (CMA) e parâmetros críticos do método (CMP) .....	55
2.3.4.2. Seleção dos parâmetros críticos do método (CMP) categóricos... ..	56
2.3.4.3. Seleção dos parâmetros críticos do método (CMP) numéricos e operação evolucionária (EVOP) .....	60
2.3.4.4. Ajuste de modelo de regressão, Região Operacional do Método (MODR) e estratégia de controle.....	62
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	64
2.4.1. Ensaio de degradação forçada .....	64
2.4.2. Desenvolvimento analítico.....	71
2.4.2.1. Definição do perfil analítico alvo (ATP) e identificação dos atributos críticos do método (CMA) e parâmetros críticos do método (CMP) .....	71
2.4.2.2. Seleção das CMPs categóricas.....	81
2.4.2.3. Seleção dos CMPs numéricos .....	85
2.4.2.4. Ajuste de modelo de regressão, Região Operacional do Método (MODR) e estratégia de controle.....	97
2.4.2.5. Melhoria contínua e Controle de processo .....	112
2.5. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	116

2.6.	CONCLUSÃO.....	117
<b>3.</b>	<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE ESCOPO E FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL <i>IN SILICO</i> DO CIPROFLOXACINO ORAL EM ADULTOS.....</b>	<b>118</b>
3.1.	Objetivo Geral.....	120
3.1.1.	Objetivos Específicos .....	120
3.2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	121
3.2.1.	Ciprofloxacino.....	121
3.2.2.	Farmacocinética .....	124
3.2.3.	Farmacocinética populacional .....	131
3.3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	136
3.3.1.	Softwares .....	137
3.3.2.	Revisão de escopo .....	137
3.3.2.1.	Pesquisa sistemática.....	138
3.3.2.2.	Crítérios de elegibilidade .....	138
3.3.2.3.	Seleção dos estudos e extração dos dados .....	139
3.3.2.4.	Avaliação da qualidade de reporte dos estudos incluídos.....	139
3.3.2.5.	Análise de dados.....	140
3.3.3.	Farmacocinética populacional <i>In Silico</i> .....	141
3.3.3.1.	Método numérico iterativo para estimativa da constante de absorção.....	142
3.3.3.2.	Simulação de dados para geração dos pacientes virtuais e conversão dos parâmetros em observações farmacocinéticas .....	145
3.3.3.3.	Modelagem de farmacocinética populacional.....	148
3.3.3.4.	Validação do modelo farmacocinético .....	150
3.4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	150
3.4.1.	Revisão de escopo .....	150
3.4.1.1.	Pesquisa sistemática.....	150
3.4.1.2.	Características dos estudos incluídos na revisão de escopo .....	151
3.4.1.3.	Avaliação da qualidade .....	153
3.4.1.4.	Estudos com pacientes saudáveis incluídos na revisão de escopo.....	156
3.4.1.5.	Estudos com pacientes não-saudáveis incluídos na revisão de escopo.....	162

3.4.1.6. Estudos de farmacocinética populacional incluídos na revisão de escopo.....	166
3.4.1.7. Estudos PK/PD incluídos na revisão de escopo.....	171
3.4.2. Farmacocinética populacional <i>In Silico</i> .....	173
3.4.2.1. Método numérico iterativo para estimativa da constante de absorção.....	173
3.4.2.2. Modelagem de farmacocinética populacional.....	174
3.5. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	183
3.6. CONCLUSÃO .....	184
<b>4. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>185</b>
<b>5. APÊNDICES .....</b>	<b>205</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a análise de dados apresentou uma evolução exponencial impulsionada pelo avanço das técnicas computacionais, matemáticas e estatísticas. A modelagem de conjuntos de dados tornou-se uma prática essencial, envolvendo a criação de modelos matemáticos que buscam explicar comportamentos e características específicas. Essa abordagem não apenas converte dados brutos em informações valiosas para a tomada de decisões, mas também desempenha um papel crucial na resolução de problemas em diversos setores, incluindo os acadêmicos, clínicos e industriais. No âmbito da saúde, ela assume um papel fundamental, especialmente nas áreas de química analítica e farmacologia (Fávero e Belfiore, 2017).

A quimiometria, uma disciplina da química analítica, tem ganhado destaque ao empregar ferramentas estatísticas e matemáticas para extrair informações de dados complexos (CRQSP, 2007). Uma das aplicações é na cromatografia com a aplicação da Qualidade Analítica Baseada no Projeto (AQbD), onde a implementação tem se mostrado eficaz, destacando-se pela ênfase na compreensão e controle dos processos analíticos, combinando ferramentas de análise de risco com modelagem multivariada, particularmente relevantes para a qualidade de produtos farmacêuticos (Beg et al., 2019).

No contexto farmacêutico, a estabilidade de um medicamento é crucial para garantir sua eficácia e segurança ao longo do tempo. A degradação de medicamentos pode comprometer sua qualidade, levando à subdose terapêutica e à formação de produtos de degradação potencialmente tóxicos ao paciente (Brasil, 2019). Por meio da abordagem AQbD, é possível desenvolver uma metodologia indicativa de estabilidade rápida, robusta e com uma visão abrangente de todo o processo, com o propósito de assegurar a qualidade do medicamento e proporcionar segurança ao paciente (ICH, 2022).

Nesse contexto, o haloperidol, um fármaco neuroléptico de primeira geração amplamente utilizado no tratamento de distúrbios psiquiátricos (Granger e Albu, 2005), surge como um candidato de interesse para o desenvolvimento de uma metodologia indicativa de estabilidade. Até o momento, os métodos disponíveis na literatura não abrangem todas as etapas necessárias para a geração de uma metodologia analítica indicativa de estabilidade com abordagem

AQbD, proporcionando uma oportunidade para preencher essa lacuna relevante na literatura (Trabelsi et al., 2002; Petkovska e Dimitrovska, 2008).

Paralelamente, a farmacologia, em particular a farmacocinética populacional, tem desempenhado um papel vital na otimização do regime posológico de fármacos como o ciprofloxacino. Este antibacteriano da classe das fluoroquinolonas, reconhecido por sua eficácia principalmente contra bactérias gram-negativas, apresenta desafios específicos relacionados ao ajuste de dose para garantir uma terapêutica eficaz e evitar resistência bacteriana (Gilbert et al., 2022).

Quando se considera a modelagem de dados no ajuste de dose, destaca-se a farmacocinética populacional, um estudo que visa identificar e quantificar as fontes de variabilidade (covariáveis e características dos pacientes) dos parâmetros farmacocinéticos para um fármaco em uma população. Essa abordagem permite esclarecer o impacto de vários fatores individuais que normalmente afetam o perfil farmacocinético, tornando-se útil para estimar os parâmetros farmacocinéticos durante o planejamento e a avaliação de novos regimes posológicos baseados nessas variáveis modeladas (Mould e Upton, 2012).

Há uma variedade de estudos de farmacocinética populacional do ciprofloxacino oral na literatura, porém a maioria dessas modelagens é realizada em ambientes hospitalares com uma população controlada, sendo as covariáveis utilizadas no modelo matemático limitadas pelo próprio estudo (Abdulla et al., 2020; Alihodzic et al., 2022; Cheng et al., 2022; Cios et al., 2017; Conil et al., 2008; Khachman et al., 2011; Li et al., 2018; Sima et al., 2021; Zarh et al., 2021). Diante desse contexto, surge a questão da possibilidade de utilizar as informações disponíveis da farmacocinética com abordagem tradicional do ciprofloxacino oral e desenvolver um modelo abrangente que considere as covariáveis descritas na literatura.

Este trabalho busca preencher lacunas na modelagem de dados nas áreas de desenvolvimento analítico e farmacocinética. Portanto, foi dividido em dois capítulos. No primeiro, aborda-se o desenvolvimento de um método analítico indicativo de estabilidade com abordagem AQbD para o monitoramento da solução oral de haloperidol, assegurando a qualidade do medicamento e proporcionando segurança e eficácia ao paciente. Enquanto o segundo capítulo

explora uma nova abordagem de farmacocinética populacional do ciprofloxacino oral em adultos por meio de dados da literatura, contribuindo para a personalização dos regimes posológicos com base nas características dos pacientes. O objetivo desta tese é utilizar a modelagem de dados para contribuir com a segurança e eficácia do uso de medicamentos e na personalização do regime posológico com base nas características dos pacientes, destacando a importância de transformar dados brutos em informações úteis em contextos farmacêuticos e clínicos.

## 2. CAPÍTULO 1 – ABORDAGEM AQbD PARA DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL SOLUÇÃO ORAL

### RESUMO CAPÍTULO 1

**Objetivo:** Desenvolver um método indicativo de estabilidade para haloperidol solução oral utilizando abordagem AQbD. **Metodologia:** O perfil de degradação do haloperidol foi investigado submetendo o medicamento a condições de degradação forçada como ácido, base, calor, oxidativo e fotolítico. Com base neste perfil, desenvolveu-se um método analítico utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência com detector por arranjo de diodos, empregando a abordagem AQbD. Dentre as etapas de desenvolvimento, constam: 1) estabelecimento do perfil analítico; 2) aplicação da análise de risco para identificação dos atributos críticos do método (CMAs) e parâmetros críticos do método (CMPS); 3) seleção das CMPS categóricas por fatorial completo; 4) seleção e otimização das CMPS numéricas por fatorial fracionário; 5) criação da superfície de resposta e ajuste do modelo de regressão com desenho experimental de Box- Behnken; 6) determinação do MODR e parâmetros para controle de processo. **Resultados:** Nos ensaios de estabilidade, foi possível identificar um produto de degradação do haloperidol e outro do metilparabeno advindos das condições ácidas e alcalinas, cujas estruturas foram sugeridas e corroboraram com a literatura. Dentre as variáveis testadas, o fluxo da fase móvel, ângulo do gradiente de eluição, temperatura do forno da coluna e pH da fase móvel se mostraram significativos no modelo matemático para nove parâmetros cromatográficos relacionados à separação dos analitos de interesse (resolução, simetria e fatores de capacidade). Foram definidas as condições normais de operação utilizando uma coluna Waters SymmetryC18 (3,9 mm x 150 mm, 5 µm) e uma fase móvel composta por tampão formiato pH 3,8 100 mM (A) e acetonitrila (B), seguindo o seguinte gradiente: 0 a 4 minutos - 10% a 50% B, 4-6 minutos - 50% B, 7 minutos - 10%, 12 minutos - 10%. A detecção foi realizada em 246 nm, e a injeção foi de 10 µL. A região operacional do método, capaz de produzir resultados com qualidade, inclui fluxos compreendidos entre 1,2 e 1,35 mL.min<sup>-1</sup> (condições normais de operação, (NOC) = 1,3 mL.min<sup>-1</sup>), um ângulo de gradiente fixado em 10% B/min, uma temperatura variando entre 8 e 20 °C (NOC = 15 °C) e variações de pH da fase móvel de 3,3 a 4,3 (NOC = 3,8). Ao final foram apresentadas estratégias de monitoramento da qualidade para o controle de processo, podendo atuar no retroativamente na investigação. **Conclusão:** O método indicativo de estabilidade foi desenvolvido para avaliar a estabilidade da solução oral de haloperidol utilizando a abordagem AQbD. A aplicação desta ferramenta foi capaz de produzir um método rápido, isento de subjetividade, robusto, com um plano de desenvolvimento bem definido e com uma região de informação que o método univariado seria incapaz de produzir. Este desenvolvimento ilustra como a abordagem estatística aliada a análise de risco pode auxiliar no aprimoramento do planejamento experimental em cromatografia, fornecendo informações relevantes na modelagem de dados cromatográficos.

Palavras-chave: haloperidol, método indicativo de estabilidade, AQbD

## ABSTRACT CHAPTER 1

**Objective:** Develop an indicative stability method for oral haloperidol solution using the AQbD approach. **Methodology:** The degradation profile of haloperidol was investigated by subjecting the drug to forced degradation conditions such as acid, base, heat, oxidative, and photolytic stress. Based on this profile, an analytical method was developed using high-performance liquid chromatography with a diode array detector, employing the AQbD approach. The development steps included: 1) establishment of the analytical profile; 2) application of risk analysis to identify critical method attributes (CMAs) and critical method parameters (CMPs); 3) selection of categorical CMPs by full factorial design; 4) selection and optimization of numerical CMPs by fractional factorial design; 5) creation of the response surface and regression model fitting using a Box-Behnken experimental design; 6) determination of the method operating design region (MODR) and process control parameters. **Results:** In the stability tests, a degradation product of haloperidol and another of methylparaben were identified under acidic and alkaline conditions, and their structures were suggested and corroborated with the literature. Among the variables tested, the mobile phase flow rate, elution gradient angle, column oven temperature, and mobile phase pH were found to be significant in the mathematical model for nine chromatographic parameters related to the separation of target analytes (resolution, symmetry, and capacity factors). Normal operating conditions were defined using a Waters Symmetry C18 column (3.9 x 150 mm, 5  $\mu$ m) and a mobile phase composed of 100 mM formate buffer at pH 3.8 (A) and acetonitrile (B), following the gradient: 0 to 4 minutes - 10% to 50% B, 4-6 minutes - 50% B, 7 minutes - 10%, 12 minutes - 10%. Detection was performed at 246 nm, and the injection volume was 10  $\mu$ L. The method's operational region capable of producing high-quality results included flow rates between 1.2 and 1.35 mL/min (normal operating conditions, NOC = 1.3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ), a fixed gradient angle of 10% B/min, a temperature range between 8 and 20  $^{\circ}$ C (NOC = 15  $^{\circ}$ C), and mobile phase pH variations from 3.3 to 4.3 (NOC = 3.8). Quality monitoring strategies for process control were presented, which could be used retrospectively in the investigation. **Conclusion:** The indicative stability method was developed to assess the stability of oral haloperidol solution using the AQbD approach. The application of this tool produced a rapid, objective, robust method with a well-defined development plan and an information zone that univariate methods would be incapable of generating. This development illustrates how statistical approaches can enhance experimental planning in chromatography, providing relevant insights into chromatographic data modeling.

Keywords: haloperidol, stability-indicating method, AQbD

### 2.1.1. Objetivo Geral

Desenvolver um método analítico indicativo de estabilidade para o haloperidol solução oral, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando abordagens de *Analytical Quality-by-Design* (AQbD).

### 2.1.2. Objetivos Específicos

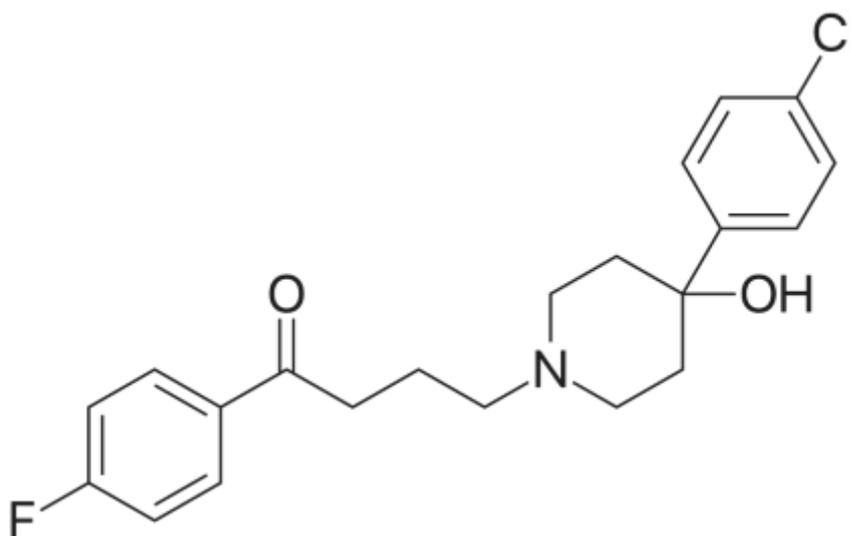
- Realizar estudos de degradação forçada em diversas condições para investigar o perfil de degradação do haloperidol em solução oral;
- Desenvolver o método cromatográfico por meio da abordagem AQbD.

## 2.2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2.1. Haloperidol

O haloperidol (HAL) (Figura 1), com a denominação química de 4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxi-1-piperidil]-1-(4-fluorofenil)-butan-1-ona e número CAS 52-86-8, é um fármaco neuroléptico do grupo das butirofenonas. Foi desenvolvido pela Janssen Farmacêutica, uma companhia belga, em 1957, e submetido ao primeiro teste clínico no mesmo ano, na Bélgica. Recebeu aprovação para uso pelo Food and Drug Administration em 12 de abril de 1967 (Granger e Albu, 2005).

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HALOPERIDOL



O uso de antipsicóticos de primeira geração, incluindo o haloperidol, é considerado altamente eficaz para o manejo dos sintomas da esquizofrenia, tais como alucinações, audição de vozes, agressão/hostilidade, fala desorganizada e agitação psicomotora. No entanto, essa classe de medicamentos apresenta limitações devido ao desenvolvimento de distúrbios do movimento, como parkinsonismo induzido por drogas, acatisia, distonia e discinesia tardia, bem como outros efeitos colaterais, como sedação, ganho de peso e alterações na prolactina. Em comparação com os antipsicóticos de primeira geração de baixa potência, como a clorpromazina, zuclopentixol, flufenazina e metotrimeprazina, o haloperidol geralmente possui a

menor incidência de efeitos colaterais dentro dessa classe, mas apresenta uma maior predisposição para causar sintomas extrapiramidais. Os medicamentos de baixa potência possuem menor afinidade pelos receptores de dopamina, exigindo doses mais altas para o tratamento eficaz dos sintomas da esquizofrenia. Além disso, eles bloqueiam vários outros receptores além do alvo primário (receptores de dopamina), como os receptores colinérgicos ou histaminérgicos, resultando em uma maior incidência de efeitos colaterais, como sedação, ganho de peso e hipotensão (Tardy et al., 2014; Dold et al., 2015; Irving et al., 2015).

O HAL desde sua aprovação apresentou diversas formas farmacêuticas, variando desde comprimidos, até soluções orais com doses variadas, principalmente sob o nome comercial Haldol®. No Quadro 1 constam o conjunto de excipientes da solução oral 2 mg.mL<sup>-1</sup> que é comercializada atualmente (Janssen, 2019).

QUADRO 1 - EXCIPIENTES DO HALDOL® SOLUÇÃO ORAL

Composto	Concentração
Haloperidol	2 mg/mL
Ácido láctico	6,6%
Metilparabeno	0,2%
Água purificada	qsp

Nota: concentração dos excipientes são representadas pelas quantidades máximas permitidas no Handbook de excipientes.

Fonte: Sheskey et al., 2009; Janssen, 2019.

A solução oral de HAL está presente na concentração de 2 mg/mL, utilizando o metilparabeno (nipagin) como conservante, água como veículo e ácido láctico como agente solubilizante, uma vez que em pH ácido a molécula se encontra ionizada, conforme demonstrado no Quadro 2 (Sheskey et al., 2009).

QUADRO 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO HALOPERIDOL

Propriedade	Valor
Massa molar (Da)	375,9
Massa monoisotópica (Da)	375.1401
Solubilidade (água)	0,00446 mg.mL <sup>-1</sup>
LogP	3,9
LogS	- 4,9
pKa (Ácido mais forte)	13,96
pKa (Base mais forte)	8,05
Aceptores de hidrogênio	3
Doadores de hidrogênio	1

Fonte: Wishart et al., 2018

### 2.2.2. Estudos de estabilidade

Um estudo de estabilidade compreende uma série planejada de testes que têm como objetivo obter informações acerca da estabilidade de insumos ou produtos farmacêuticos. Essas informações são essenciais para determinar elementos como o prazo de validade, o período de utilização, a necessidade de reanálise, os requisitos de embalagem e as condições de armazenamento (Brasil, 2019, e ICH, 2003).

A estabilidade é conceituada como a habilidade do produto em manter, dentro de limites preestabelecidos, as suas propriedades e características originais ao longo do tempo de armazenamento e utilização (FDA, 2003). Tais propriedades e características podem ser impactadas por fatores ambientais, tais como temperatura, umidade e luminosidade, além das particularidades inerentes ao próprio produto, como as propriedades físicas e químicas das substâncias ativas e excipientes, a forma farmacêutica, a composição, o processo de fabricação e as propriedades dos materiais de embalagem (Brasil, 2019; ICH, 2003; Mirco e Rocha, 2015).

A avaliação da estabilidade do fármaco ou medicamento é de suma importância, pois modificações nesse contexto têm o potencial de comprometer a pureza, potência e segurança do medicamento ou do insumo farmacêutico ativo (IFA). Essas alterações podem desencadear efeitos adversos e/ou subdosagem, o que prejudica a eficácia do tratamento (ICH, 2006a, 2006b; Janzen; Selent-Stier; Muazzam, 2016).

Conforme estabelecido pela RDC 318/2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), os estudos de estabilidade para medicamentos e Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) são divididos em quatro categorias: acelerado, de longa duração, de acompanhamento e degradação forçada.

Os estudos acelerados são considerados métodos preditivos fundamentados em informações obtidas a partir de produtos armazenados em condições que aceleram potenciais alterações, que podem ocorrer no ambiente de disponibilização no mercado. Seu propósito é estabelecer um prazo de validade preliminar, sujeito a confirmação por meio do estudo de longa duração. A concessão provisória de registro do medicamento pode ser obtido nos resultados de estudos acelerados (Brasil, 2019).

Os estudos de longa duração são conduzidos em condições de armazenamento e prazo de validade propostos, validando as descobertas relativas às propriedades

físicas, químicas e biológicas do medicamento, tanto durante quanto após o prazo de validade previsto. Por meio destes estudos, é possível confirmar, ajustar ou ampliar o prazo de validade estipulado pelo estudo acelerado (Brasil, 2019).

Os estudos de acompanhamento têm o propósito de verificar se o produto farmacêutico, fabricado em lotes consecutivos, mantém suas características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas conforme demonstrado nos estudos de estabilidade de longa duração. Caso ocorra qualquer modificação no produto, é necessário realizar uma nova análise de estabilidade de longa duração (Brasil, 2019).

A degradação forçada é um estudo no qual um medicamento ou IFA é exposto a condições mais severas do que as aplicadas no estudo acelerado com o intuito de simular a ocorrência de degradação química. A finalidade da degradação forçada é detectar potenciais impurezas, produtos de degradação, compreender seus prováveis mecanismos de reação, determinar a estabilidade intrínseca do fármaco e é frequentemente realizada quando se faz desenvolvimento de procedimento analítico para estudos de estabilidade (Brasil, 2019, 2015b).

Os produtos de degradação (PD), também são conhecidos como substâncias relacionadas, são impurezas que em geral resultam de alterações químicas que surgem durante a fabricação ou armazenamento do medicamento devido a ação do tempo e/ou ação de fatores como a temperatura, umidade, pH, oxigênio e luz (Brasil, 2015a).

A temperatura é um dos principais fatores externos que desempenham um papel crucial na degradação de insumos e produtos farmacêuticos. Isso ocorre devido aos impactos que ela exerce nas reações químicas, interações moleculares e processos físicos dos compostos. O aumento da temperatura pode conferir a energia necessária para desencadear uma reação (processo endotérmico), acarretando mudanças na cinética química, no equilíbrio químico e na mobilidade molecular (Mirco e Rocha, 2015).

A aderência da água à superfície de um produto farmacêutico devido à alta umidade pode provocar alterações em seu estado físico e influenciar em sua reatividade. Isso cria uma condição que não ocorreria caso o produto estivesse em estado sólido (Mirco e Rocha, 2015). Além de influenciar a reatividade por meio da solubilidade, a alta umidade pode também favorecer a hidrólise, mecanismo mais

comum de reações de degradação. Essa reação ocorre porque a água age como um agente nucleofílico, ou seja, ela doa pares de elétrons a centros eletrofilicos da molécula, favorecendo a ruptura de ligações presentes. A reação de hidrólise geralmente envolve a quebra de uma ligação química covalente com a inserção de um átomo de hidrogênio (H) e uma hidroxila (OH) da água nos fragmentos resultantes. Entre os grupos funcionais mais suscetíveis à hidrólise estão: ésteres, ésteres cíclicos, amidas, amidas cíclicas, imidas, carbamatos, tioésteres, sulfamatos e acetais (Peruzzo e Canto, 2006).

O comportamento químico de uma molécula ao sofrer ionização, seja por protonação ou desprotonação de certos grupos funcionais aceptores ou doadores de prótons, é fortemente influenciado pelo pH. Essa variação na característica iônica da estrutura orgânica pode criar condições propícias para a ocorrência de reações químicas. Um exemplo é a reação de hidrólise mencionada anteriormente, onde a presença de uma carga formal na estrutura química pode catalisar o ataque nucleofílico. De forma geral, a alteração do pH em um produto finalizado pode ocorrer de maneira indireta, resultado de outra reação química associada a um fator de estabilidade distinto, ou como consequência de processos de degradação microbiológica (Blessy et al., 2014).

A oxidação é o processo pelo qual uma molécula perde elétrons, geralmente em resposta à presença de um agente oxidante. Simultaneamente, ocorre a redução do agente oxidante, que ganha elétrons. As reações de oxidação podem acontecer por diversos mecanismos, incluindo a quebra de ligações químicas, a formação de ligações duplas, a perda de hidrogênio e a incorporação de átomos de oxigênio. Aminas, sulfetos e fenóis são suscetíveis à transferência oxidativa, resultando em n-óxidos, hidroxilaminas, sulfonas e sulfóxidos. Grupos funcionais contendo hidrogênio lábil, como o carbono benzílico, carbono alílico e carbono terciário, são vulneráveis à oxidação, levando à formação de peróxidos, hidróxidos ou cetonas (Blessy et al., 2014).

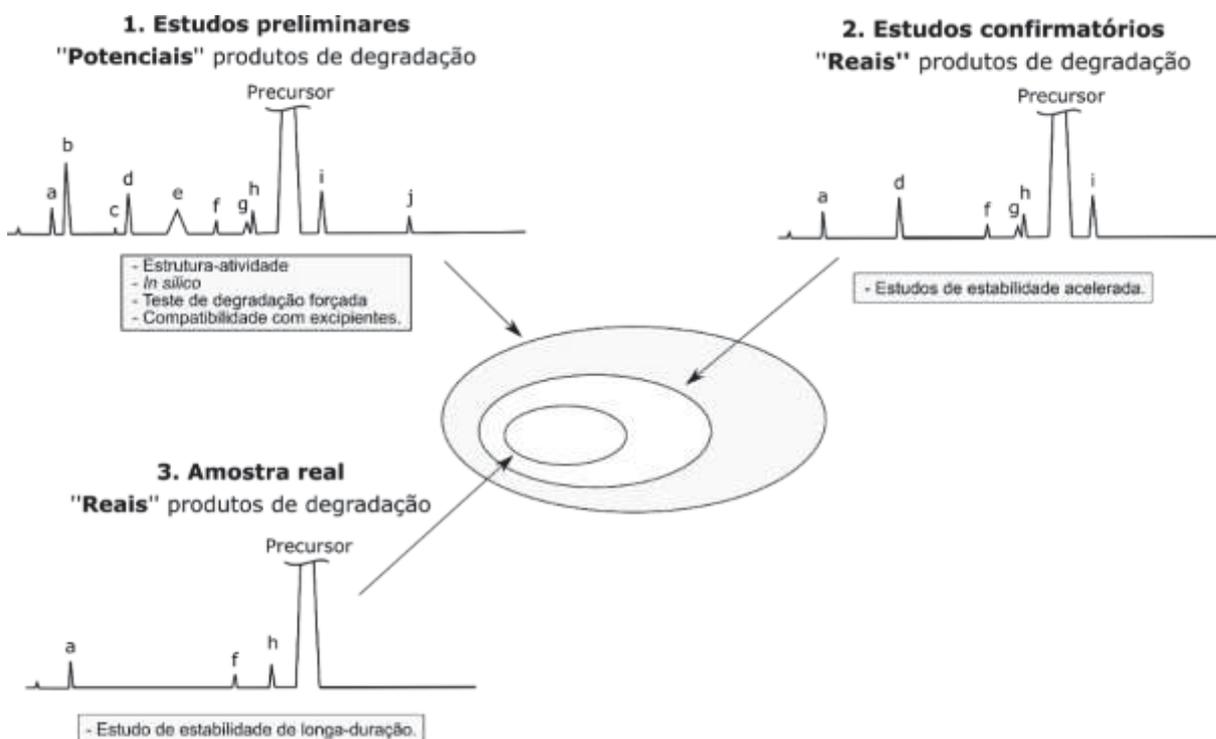
A fotólise é um processo químico no qual a absorção de luz cliva ligações nas moléculas. Esse processo ocorre quando a energia da luz é suficiente para romper as ligações químicas, levando à formação de fragmentos ou produtos de reação. Existem dois tipos principais: a fotólise homolítica, quando as ligações sofrem uma cisão

homolítica resultando em radicais livres, e a fotólise heterolítica, quando os átomos recebem energia de forma desigual, e a ligação sofre uma cisão heterolítica, formando íons radicalares (cátions e ânions). O processo mais comum é o da formação de radicais livres (elétrons desemparelhados), no qual passam por três fases: iniciação, onde são formados; propagação, onde geram mais radicais e reagem com outras moléculas; e término, onde reagem entre si ou com moléculas estáveis, encerrando as reações. Diversos grupos funcionais são propensos a essa geração de elétrons desemparelhados, uma vez que radicais livres são altamente reativos (Peruzzo e Canto, 2006; Mirco e Rocha, 2015).

Os fatores como temperatura, umidade, pH e luz, são em geral, manipulados para induzir a degradação forçada. A RDC N° 53 de 2015 e o Guia N° 4 de 2015 da Anvisa abordam de maneira mais específica como conduzir um estudo de degradação forçada. O objetivo deste estudo é obter o perfil de degradação do IFA, identificar e qualificar os produtos de degradação, e também fornecer evidências para o desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade (MIE). O MIE é um procedimento analítico validado capaz de medir com precisão e exatidão o teor da substância ativa, tanto no IFA quanto no medicamento, sem interferências de impurezas, excipientes ou produtos de degradação (Brasil, 2015a; 2015b; FDA, 2015).

O conjunto de produtos de degradação observados em um IFA ou medicamento são denominados de perfil de degradação, e sua composição varia conforme as condições às quais o produto é submetido. O perfil resultante da degradação forçada pode não coincidir qualitativa e/ou quantitativamente com o obtido nos estudos de estabilidade acelerada e de longa duração. Por essa razão, os estudos de degradação forçada são realizados em diversas condições para englobar todos os potenciais PDs, muitas vezes em quantidade adequada para que o MIE seja desenvolvido contemplando tais possibilidades. Ao final, este método poderá ser empregado posteriormente para monitoramento em outros estudos de estabilidade (Brasil, 2015b). A relação entre o perfil real dos produtos de degradação e o potencial é ilustrada na Figura 2.

FIGURA 2 – CONCEITO DE ESTABILIDADE PREDITIVA



Fonte: adaptado de Brasil, (2015b).

### 2.2.3. Desenvolvimento analítico

O desenvolvimento analítico é um processo que envolve a criação, otimização e validação de métodos analíticos para a análise qualitativa e/ou quantitativa de substâncias químicas ou compostos contidos em uma amostra. Durante o desenvolvimento analítico, são considerados vários fatores, como a seleção da técnica analítica adequada, escolha dos reagentes e solventes, ajuste das condições experimentais e definição dos parâmetros de detecção. O objetivo principal do desenvolvimento analítico é criar um método para quantificação dos analitos e robusto que possa ser aplicado consistentemente para obter resultados precisos e confiáveis na análise de amostras (Swartz, 2018).

As técnicas mais empregadas na análise de impurezas e no desenvolvimento de MIE em medicamentos incluem a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a cromatografia gasosa (CG) e a eletroforese capilar (EC). Na literatura, são encontrados diversos tipos de detectores, sendo os mais frequentes a detecção por UV-vis e a espectrometria de massas (Blessy et al., 2014; Jain, 2013; Baertschi, 2006).

Existem duas abordagens no desenvolvimento analítico para a investigação e seleção das variáveis analíticas, a univariada e a multivariada (ICH, 2005; 2022).

No desenvolvimento univariado, também conhecido como abordagem Um-Fator-Por-Vez (OFaT, *One-Factor-at-a-Time* em inglês), adota-se uma estratégia de delineamento de plano experimental que envolve a avaliação sequencial de cada fator individual dentro de um conjunto de opções. Entre as vantagens associadas à utilização da abordagem OFaT está a sua simplicidade, uma vez que não exige um profundo conhecimento em modelagem de dados. Adicionalmente é útil em cenários nos quais a coleta de dados é de baixo custo e amplamente disponível. Por outro lado, a abordagem OFaT frequentemente demanda várias iterações empíricas para análise, o que pode resultar em modificações arbitrárias por parte do pesquisador envolvido. Além disso, essa abordagem não é capaz de capturar interações de segunda ordem ou superiores entre os fatores, e mesmo quando aplicada em diversas condições, não garante a identificação da combinação otimizada de variáveis (Foster, 2009).

A Qualidade Baseada no Projeto (QbD, *Quality by Design* em inglês), é um conceito definido por Juran nos anos 70, no qual enfatiza a importância de uma abordagem sistemática para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, que começa com objetivos predefinidos e enfatiza o produto, entendimento e controle dos processos, baseado em dados científicos sólidos e gestão do risco da qualidade. Na atualidade, além de cumprir os requisitos regulatórios, também auxilia em melhorar a eficiência e eficácia do desenvolvimento e fabricação de produtos, ao mesmo tempo em que reduz o risco de falhas de qualidade. Ele se baseia em princípios estatísticos e científicos para entender como as variáveis e parâmetros afetam o produto final, permitindo que sejam definidos limites aceitáveis para essas variáveis e garantindo a qualidade consistente do produto (ICH, 2005; Beg et al., 2019).

Quando se tratando de métodos analíticos o termo passa ser chamado de Qualidade Baseada no Projeto Analítico (AQbD, *Analytical Quality by Design* do inglês), que aplica os mesmos princípios, porém com terminologias diferentes. Em resumo, tanto QbD quanto o AQbD utilizam da Análise de Risco aliada à modelagem multivariada através do Delineamento de Experimentos (DOE, *Design of Experiments* em inglês) na abordagem sistemática para o desenvolvimento de produtos e metodologias analíticas (ICH, 2022; Park et al., 2022).

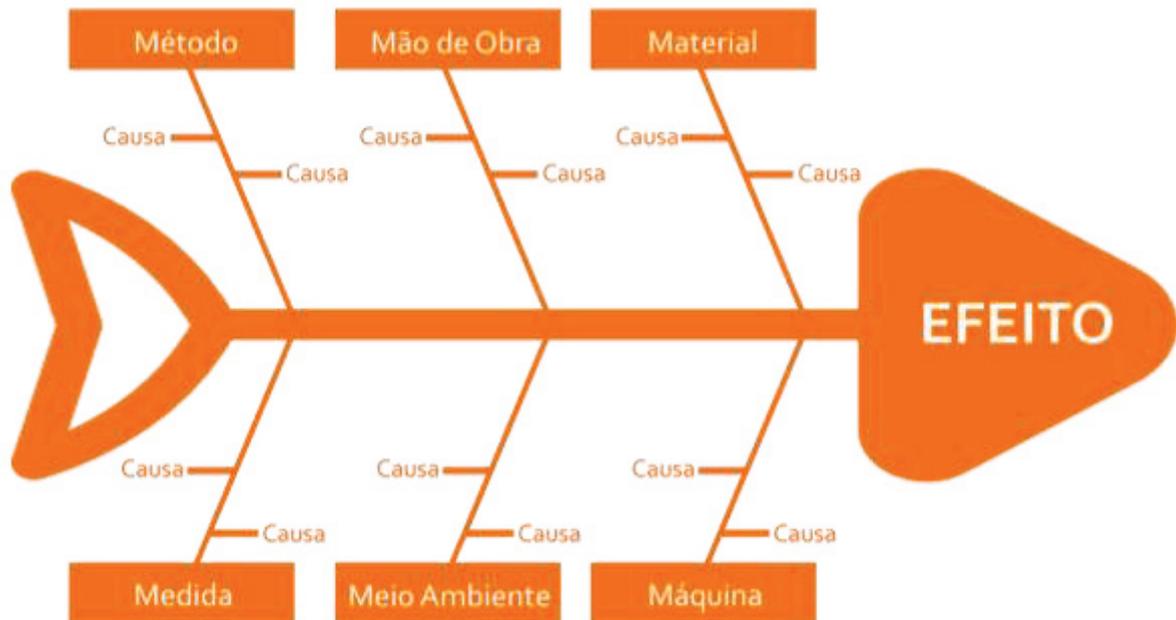
A Análise de Risco no AQbD é uma abordagem que aplica a gestão de risco de qualidade ao desenvolvimento, com o objetivo de identificar, avaliar e gerir os riscos potenciais associados ao método analítico. Sua incorporação tem como finalidade criar métodos analíticos robustos e confiáveis, capazes de produzir resultados precisos de maneira consistente. Ao identificar, gerenciar e controlar sistematicamente as possíveis fontes de erro e risco, esta abordagem resulta em uma tomada de decisão mais eficaz e uma compreensão aprofundada dos dados analíticos gerados. Em termos práticos, a análise de risco é empregada para determinar quais parâmetros de entrada (como os parâmetros cromatográficos) e de saída (os desfechos monitorados) devem ser considerados durante o desenvolvimento analítico. Isso é seguido pela formulação de planos de mitigação adequados, os quais englobam as estratégias de controle a serem estabelecidas no término do ciclo de desenvolvimento, além de atuarem como dados retrospectivos para identificar desvios nos parâmetros de entrada (Raman et al., 2015; Verch et al., 2022).

As principais ferramentas utilizadas na etapa de Análise de Risco são o diagrama de Ishikawa (também conhecido como diagrama de causa e efeito ou espinha de peixe) e a Análise de Modos de Falha e Efeitos (FMEA, *Failure Mode and Effect Analysis* do inglês) (Miguel, 2006; Mikulak et al., 2017)

O diagrama de Ishikawa é uma ferramenta gráfica usada como metodologia de análise para representar fatores de influência (causas) relacionados a um determinado problema (efeito). Essa ferramenta é empregada para identificar o problema a ser estudado (efeito); listar as possíveis causas; categorizar as causas nos "6M"; e finalmente, abordar a correção do problema. Em essência, o diagrama é resultado de um processo de *brainstorming* (tempestade de ideias), no qual os membros de um grupo de discussão compartilham ideias de forma aberta e democrática, sem restrições. A construção do diagrama é realizada conforme mostrado na Figura 3, onde o efeito em estudo é colocado na extremidade e, a partir disso, as espinhas são ramificadas em 6M (mão-de-obra, método, matéria-prima, medida e meio ambiente). A partir desse ponto, ocorre uma discussão com os envolvidos na investigação para identificar as possíveis causas em cada um dos pilares. É importante salientar que essa ferramenta é útil em elencar as possíveis causas para um efeito determinado,

porém não há distinção em prioridades ou criticidade, buscando-se outras ferramentas para tal (Miguel, 2006).

FIGURA 3 - EXEMPLO DE UM DIAGRAMA DE ISHIKAWA



Fonte: Soares, 2022.

O FMEA é uma ferramenta empregada para identificar e avaliar possíveis modos de falha em um sistema, processo ou produto, analisando os efeitos prováveis dessas falhas. O objetivo primordial do FMEA é detectar, priorizar e proativamente mitigar riscos e falhas antes que ocorram, visando aprimorar a confiabilidade, segurança e qualidade do produto ou processo em questão. Essa ferramenta leva em consideração a frequência com que a falha ocorre (Ocorrência), a severidade das consequências da falha (Severidade) e a facilidade de detecção caso ocorra (Detecção). Para a aplicação do FMEA, uma tabela é estruturada, contendo informações sobre a função do componente, o modo de falha, o efeito da falha, as medidas corretivas, a matriz OSD (Ocorrência, Severidade e Detecção) e o índice RPN (*Risk Priority Number*, em inglês). Os valores atribuídos à matriz OSD podem variar de 0 a 10, e uma sugestão de preenchimento está disponível no Quadro 3 (Silveira, 2012; Mikulak et al., 2017).

QUADRO 3 - PONTUAÇÕES PARA MATRIZ PARA RISCO RPN DO FMEA RELACIONANDO A OCORRÊNCIA, SEVERIDADE E DETECÇÃO

Valor	Ocorrência	Severidade	Deteção
1	Chance remota ( <b>50 ppm%</b> )	Nula	Todas vezes
2	1x / 5 anos ( <b>0,0005%</b> )	Baixa, leve aborrecimento	Muito alta
3	1x / 2 anos ( <b>0,005%</b> )		Alta
4	1x / 1 ano ( <b>0,05%</b> )	Moderada, insatisfação com perda de desempenho	Moderadamente alta
5	1x / semestre ( <b>0,25%</b> )		Moderada
6	1x / mês ( <b>1,25%</b> )		Baixa
7	1x / semana ( <b>5%</b> )	Alta, insatisfação elevada	Muito baixa
8	Algumas vezes / semana ( <b>12,5%</b> )		Remota
9	1x / dia ( <b>33%</b> )		Muita alta, risco de segurança e problemas de não-conformidade
10	Várias vezes / dia ( <b>50%</b> )		Impossível

Fonte: Silveira, 2012

O RPN é calculado multiplicando os três fatores: ocorrência, severidade e deteção. Com base na pontuação resultante, os efeitos podem ser organizados em ordem decrescente para priorização, ou há a aplicação dos limiares de criticidade que podem ser aplicados para reorganizar as falhas em categorias, no qual é comum a utilização de cores para visualização dos dados. Embora os valores numéricos para esses níveis sejam amplamente discutidos e possam variar de acordo com a literatura, no Quadro 4, apresenta-se uma sugestão de categorias em relação ao seu índice RPN. A partir dessa categorização, o avaliador pode escolher quais categorias abordar e em que ordem (Melanson e Nadeau, 2019).

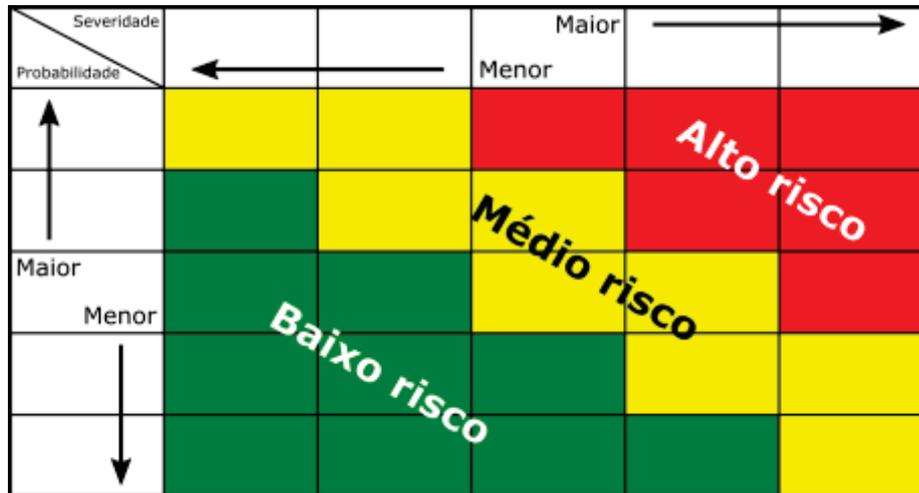
QUADRO 4 - LIMIARES DE CRITICIDADE DO RPN

RPN	Criticidade
> 225	Alto risco
175 – 224	Médio risco
125 – 174	Avaliar necessidade
50 - 124	Aceitável
5 - 49	Negligenciável

Fonte: Adaptado de Melanson e Nadeau, 2019

Além de estabelecer os limiares de criticidade conforme sugerido anteriormente, também é viável a utilização alternativa de uma matriz de risco. Nesse método, uma matriz é gerada considerando as variáveis de ocorrência (probabilidade) e severidade, sem incluir a variável de deteção. A combinação desses parâmetros determinará em qual categoria de risco a falha se enquadra (Figura 4) (FAA, 2006).

FIGURA 4 - MATRIZ DE RISCO PARA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE X PROBABILIDADE DE UMA FALHA



Fonte: adaptado de FAA, 2006.

Na Tabela 1, é exibido um exemplo de preenchimento do FMEA, acompanhado da representação do nível de criticidade.

TABELA 1 - EXEMPLO DE ANÁLISE DE MODOS DE FALHA E EFEITOS PREENCHIDA

Componente	Função	Modo de falha	Efeito da falha	O	S	D	Risco RPN	Ação corretiva
Motor elétrico	Bombear água para caixa d'água central	Falha de isolamento	Perda de fluxo	1	3	5	15	-
		Rolamento danificado	Perda de fluxo	4	4	6	96	Realizar inspeção
		Rotor queimado	Perda de fluxo	5	8	5	200	Realizar termografia
		Vibração excessiva	Perda de fluxo	5	6	5	150	Realizar análise de vibração
		Rolamento travado	Perda de fluxo	6	8	6	288	Realizar inspeção no rolamento

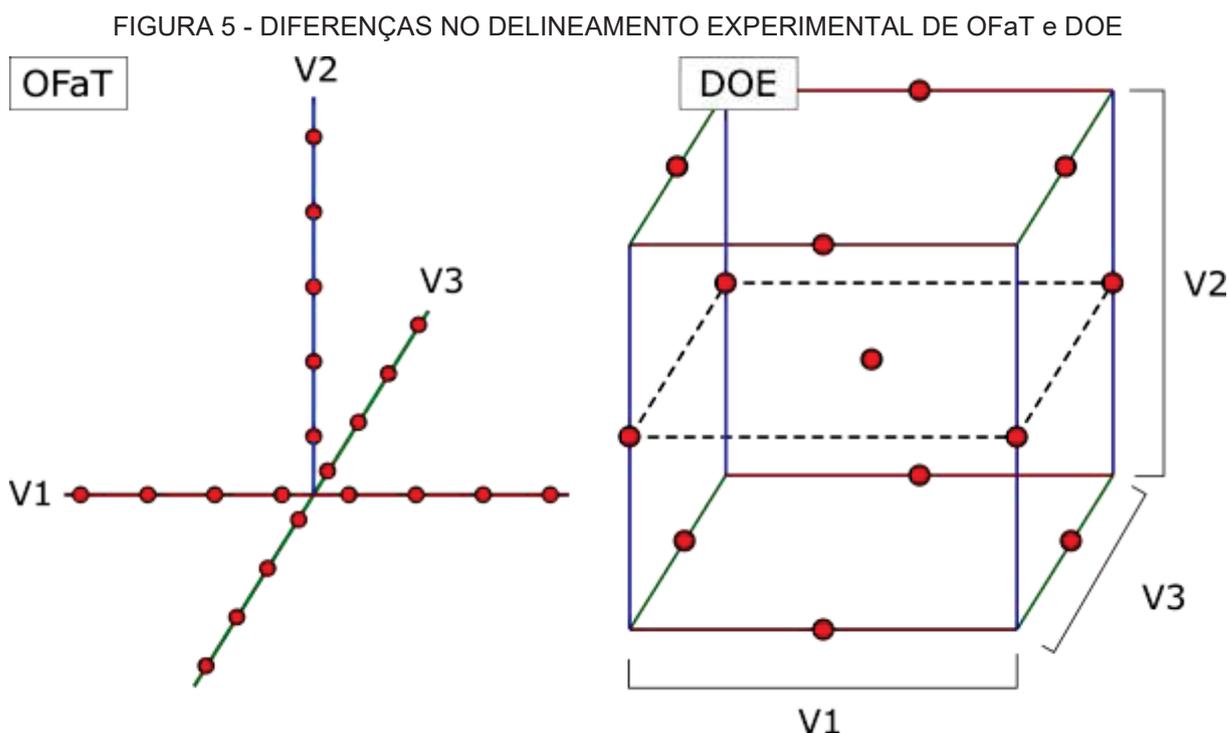
Nota: O - ocorrência, S - severidade; D - detecção; RPN - risk priority number calculado pela multiplicação O\*S\*D

Fonte: Silveira, 2012

A análise de risco é uma parte fundamental da abordagem AqBd para elencar quais parâmetros devem ser avaliados durante o desenvolvimento, porém, por si só, não é suficiente para alcançar uma compreensão completa dos processos envolvidos no desenvolvimento analítico. Para esse fim, emprega-se o DOE, que é definido como o ramo da estatística que adota uma abordagem sistemática e estatística para o planejamento, condução e análise eficiente e eficaz de experimentos científicos ou

industriais. O principal objetivo do DOE é otimizar processos, aprimorar produtos e métodos, compreendendo as relações entre as variáveis envolvidas em um experimento (MONTGOMERY, 2017). Ao contrário do método OFaT, que envolve a realização de testes individuais para cada fator, o DOE busca analisar vários fatores simultaneamente, permitindo a identificação de interações complexas entre as variáveis com um tamanho experimental reduzido (Neto et al., 2010; Jacyna et al., 2018).

A Figura 5 ilustra as diferenças no delineamento experimental entre OFaT e DOE. Enquanto as sequências experimentais do OFaT são unidirecionais e sua sequência é definida de forma empírica, o DOE abrange um espectro mais amplo. Dentro dessa área demarcada, é viável realizar uma regressão polinomial que procura elucidar o comportamento dos dados neste espaço experimental.

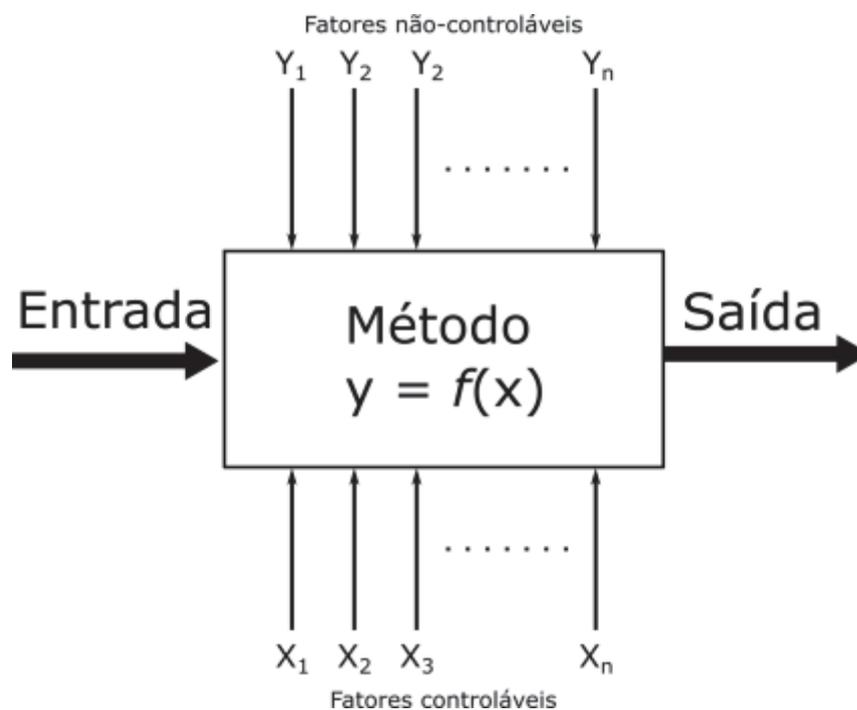


Fonte: O Autor (2023)

No contexto do DOE, os experimentos são estruturados e organizados para elucidar a relação entre os fatores (variáveis independentes) que podem impactar uma ou mais respostas (variáveis dependentes) de um processo ou experimento, por meio da construção de um modelo matemático (Figura 6). Os fatores são deliberadamente

ajustados ou manipulados, visando determinar o impacto das suas variações nas respostas (efeito de primeira ordem) e suas interações com outros fatores (efeito de segunda ordem ou superior). Dessa forma, compreender integralmente a influência de todos os fatores, combinada com os erros aleatórios (não-controláveis) no processo, possibilita a estimação da variável resposta com base na combinação desses fatores. Além disso, auxilia na determinação da combinação que produz o resultado otimizado e permite exercer controle sobre o processo (Montgomery, 2017).

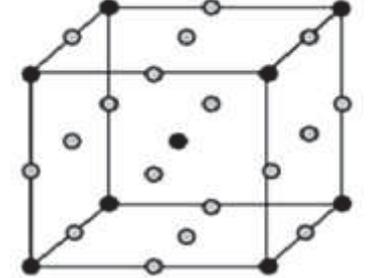
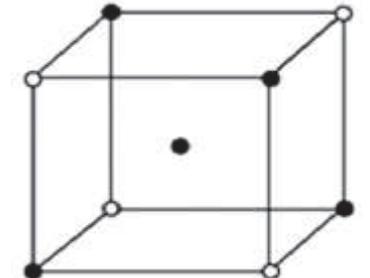
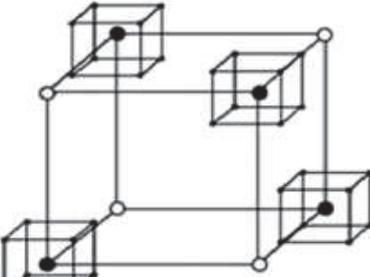
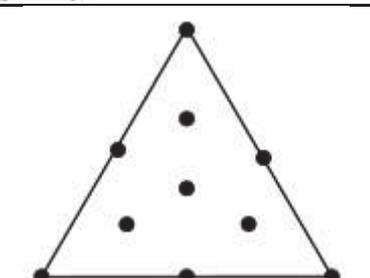
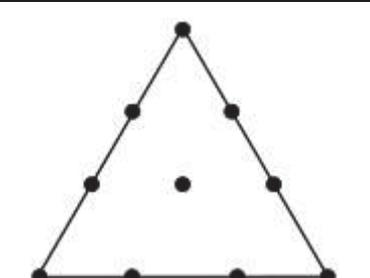
FIGURA 6 - GENERALIZAÇÃO DE UM PROCESSO, MÉTODO OU SISTEMA

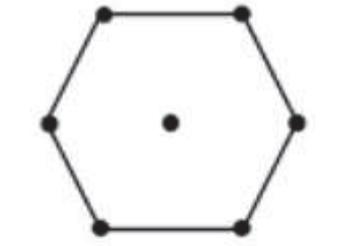
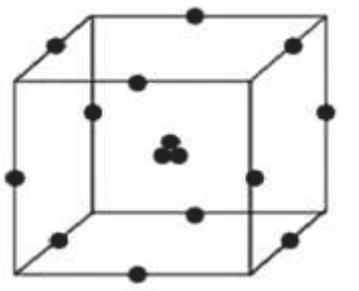
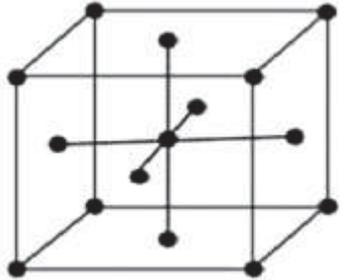
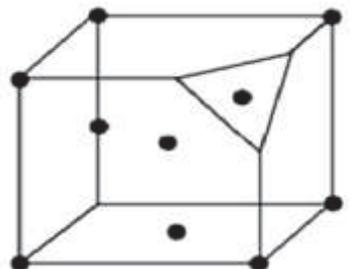


Fonte: adaptado de Montgomery, 2017.

Existem diferentes tipos de planos experimentais, como os planejamentos para triagem, para otimização de misturas, para superfície de resposta, entre outros. Cada tipo de plano experimental tem suas próprias características e objetivos específicos. O uso adequado do DOE pode economizar tempo, recursos e fornecer um melhor entendimento para melhorar processos, produtos ou sistemas. No Quadro 5 constam os principais desenhos utilizados na triagem de parâmetros e otimização de experimentos (Bhoop et al., 2013; Sahu et al., 2018).

QUADRO 5 - PRINCIPAIS TIPOS DE DESENHOS EXPERIMENTAIS

Desenho experimental	Função	Desenho
Fatorial completo	Avaliação do efeito e Triagem de parâmetros	
Fatorial fracionário	Avaliação do efeito e Triagem de parâmetros	
Taguchi	Avaliação do efeito e Triagem de parâmetros	
Simplex centróide	Otimização de misturas	
Simplex lattice	Otimização de misturas	

Doehlert	Otimização de experimentos	
Box-Behnken	Otimização de experimentos	
Central composto	Otimização de experimentos	
D-optimal	Otimização de experimentos com restrições	

Fonte: Adaptado de Bhoop et al., 2013 e Sahu et al., 2018

O QbD e o AQbD representam a integração das ferramentas de Análise de Risco e DOE no planejamento e racionalização das variáveis de entrada em relação às variáveis de saída. A análise de risco tem como objetivo listar, filtrar e priorizar as variáveis que podem afetar o método, enquanto o DOE busca planejar e testar de maneira sistemática essas variáveis, a fim de avaliar a magnitude dos efeitos, selecionar as variáveis significativas, otimizar o intervalo experimental e criar modelos matemáticos para explicar os dados e estimar os valores de saída. As terminologias diferem entre QbD e AQbD, mas desempenham a mesma função, como ilustrado no Quadro 6 (Verch et al., 2022).

QUADRO 6 - SIGLAS COMUMENTE UTILIZADAS NO QbD E AQbD

<b>Quality-by-Design</b>	<b>Analytical Quality-by-Design</b>
Perfil de Qualidade Alvo do Produto ( <b>QTPP</b> , <i>Quality Target Product profile</i> )	Perfil Analítico Alvo ( <b>ATP</b> , <i>Analytical Target Profile</i> )
Atributos Críticos de Qualidade/Material ( <b>CQA</b> , <i>CMA Critical Quality/Material Attributes</i> )	Atributos Críticos do Método ( <b>CMA</b> , <i>Critical Method Attributes</i> )
Parâmetros Críticos do Processo/Produto ( <b>CPP</b> , <i>Critical Process/Product Parameters</i> )	Parâmetros Críticos do Método ( <b>CMP</b> , <i>Critical Method Parameters</i> )
Região Operacional ( <b>DS</b> , <i>Design Space</i> )	Região Operacional do Método ( <b>MODR</b> , <i>Method Operable Design Range</i> )

Fonte: adaptado de Verch et al., 2022

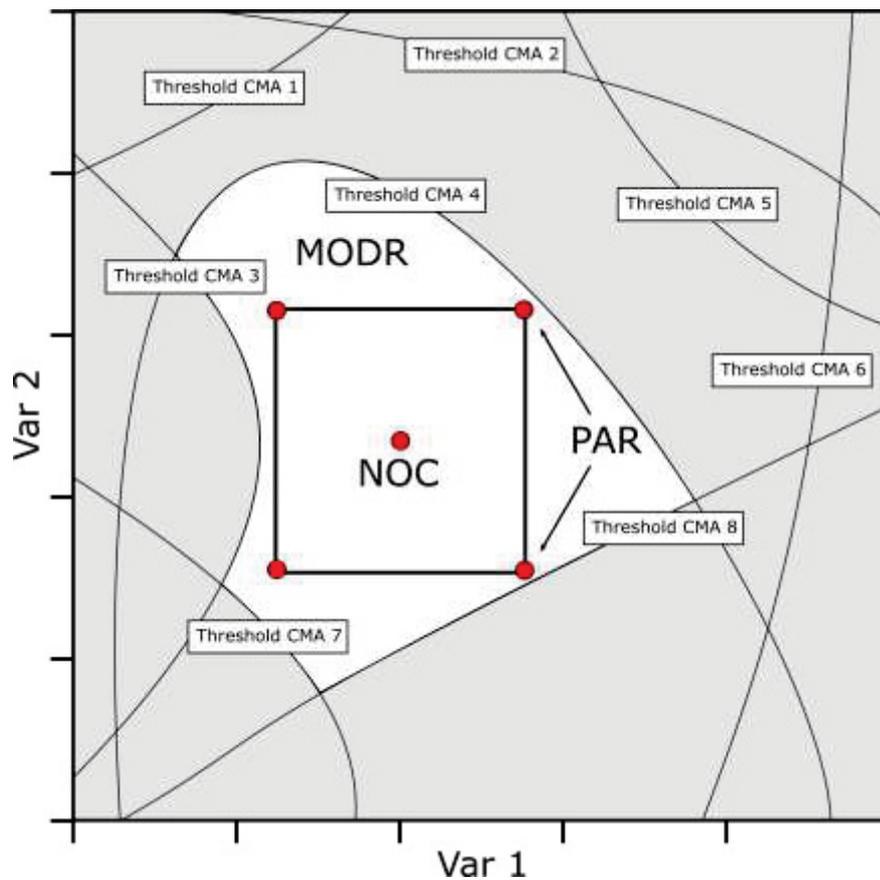
O perfil analítico alvo (ATP) consiste na descrição do perfil analítico desejado, englobando detalhes apropriados dos atributos necessários no processo ou metodologia analítica. Geralmente, essa descrição está vinculada aos atributos críticos do método (CMA), que são os critérios de desempenho do método a serem medidos e/ou avaliados (variáveis de saída) para assegurar a conformidade do ATP. A descrição do ATP pode abordar elementos característicos, como o tipo de amostra, técnica de separação, detecção e outras condições, ou de desempenho, nos quais são listados os CMAs que possuem relação direta com o perfil desejado. Por exemplo, se o ATP prevê a separação dos picos cromatográficos como um parâmetro de qualidade, é possível considerar a resolução dos picos e a pureza do pico como CMAs para este propósito. A falta de cumprimento desses elementos característicos ou de desempenho resulta em desvios de qualidade (Raman et al., 2015; ICH, 2022; Szoleczsky et al., 2022).

Os parâmetros críticos do método (CMP) são os parâmetros do método analítico que podem impactar a metodologia analítica e, por conseguinte, a qualidade do método. Durante a análise de risco, esses parâmetros são identificados, investigados e avaliados em relação à sua capacidade de influenciar um ou mais CMAs. Alguns exemplos de CMPs para cromatografia líquida incluem a fase estacionária, o modificador orgânico da fase móvel, a temperatura do forno da coluna e o comprimento de onda de detecção, entre outros (Deidda et al., 2018).

A região operacional do método (MODR) compreende o intervalo operacional em que a combinação de duas ou mais variáveis demonstra que o procedimento analítico é apropriado para o uso pretendido, conforme os CMAs estabelecidos (Figura 7). Cada linha no gráfico de sobreposição ou *overlay plot* representa um limite (também

conhecido como *threshold*) que separa um modelo de regressão de um CMA em resultados acima e abaixo do valor estipulado nos critérios de aceitação. Após a sobreposição de todos os critérios, as regiões em cinza destacam as regiões em que o resultado não atende pelo menos um dos critérios, enquanto a região branca produz resultados dentro dos limites especificados (Deidda et al., 2018).

FIGURA 7 - EXEMPLO DO GRÁFICO DE SOBREPOSIÇÃO COM CRITÉRIOS DE ACEITABILIDADE PARA GERAÇÃO DA ZONA ROBUSTA



Nota: Cinza – resultado não-conforme; Branco – resultado conforme; PAR – faixa aceitável comprovada; NOC - condições normais de operação; MODR – zona robusta.

Fonte: o autor (2023)

Essa faixa operacional pode ser considerada a "zona robusta" do método, indicando que, ao longo de sua extensão, o método assegura sua qualidade com alta probabilidade, permitindo ajustes dentro desses limites. Uma das maneiras de avaliar a qualidade dessa região é por meio da utilização da faixa aceitável comprovada (PAR, *proven acceptable range* em inglês), que envolve a análise univariada dos pontos experimentais para verificar sua concordância com a regressão. O ponto

central do PAR testado é chamado de condições normais de operação (NOC, *normal operating conditions* em inglês) ou condições estabelecidas (EC, *established conditions* em inglês) (ICH, 2022).

As etapas de implementação do AQbD consistem no estabelecimento do ATP por meio da compreensão do processo analítico; na listagem do conjunto de CMAs e sua relação com o ATP; na aplicação da análise de risco para identificar e filtrar os CMPs que podem impactar nos CMAs; na utilização de DOE para a seleção de fatores e a otimização experimental; na definição do MODR e sua subsequente confirmação; e na implementação de estratégias de controle e melhoria contínua (Beg, 2019; ICH, 2022).

A estratégia de controle é definida como um conjunto planejado de medidas que asseguram o desempenho do processo e a qualidade do método durante a rotina de análises. Essa estratégia é incorporada aos métodos analíticos de forma dinâmica para a constante avaliação da variabilidade dos resultados. O uso de gráficos de carta-controle com as regras de Westgard nos parâmetros de adequação do sistema (*system suitability*) é amplamente empregado para verificar e garantir o desempenho contínuo do método analítico (Deidda et al., 2018; ICH, 2022).

Além disso, após o desenvolvimento do método, ainda é possível coletar dados de forma retroativa que podem fornecer informações importantes para o refinamento dos modelos matemáticos, adaptando-se a efeitos existentes e potencialmente novos, sendo útil para melhoria do método analítico. Essa etapa é conhecida como melhoria contínua, e ela gera um ciclo gerencial que permite a expansão do método desenvolvido, bem como revisão ou adaptação de novos critérios de qualidade para metodologia (Deidda et al., 2018; ICH, 2022).

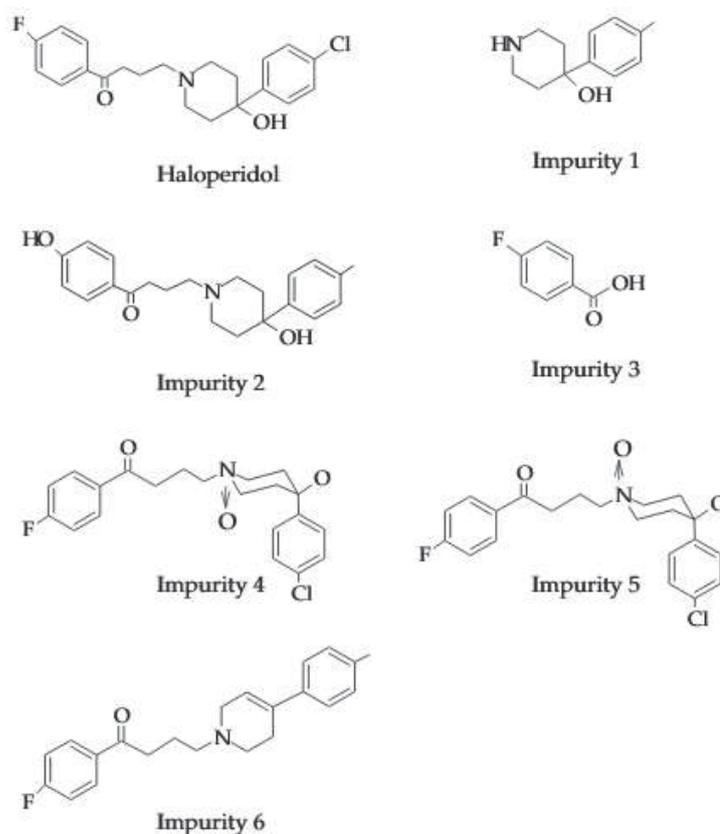
#### 2.2.4. Estudos de estabilidade do haloperidol

Foram realizados estudos sobre a estabilidade do HAL, com destaque para as pesquisas conduzidas por Trabelsi et al. (2002) e Petkovska e Dimitrovska (2008). No estudo de Trabelsi et al. (2002), propuseram o desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade por CLAE-DAD para analisar tanto o HAL quanto suas substâncias relacionadas na matéria-prima. O estudo submeteu o HAL a condições

de estresse, incluindo hidrólise ácida (1N), hidrólise alcalina (1N) em refluxo 70 °C por 5 h e exposição a peróxido de hidrogênio a 30%. No entanto, devido às diferenças no contexto legislativo em relação ao atual, algumas lacunas de informação não foram preenchidas. Por exemplo, a estratégia de desenvolvimento analítico não considerou o conjunto de excipientes da matriz medicamentosa. Além disso, a avaliação da estabilidade abordou somente condições hidrolíticas e oxidativas, deixando de fora outros possíveis fatores. Também é relevante mencionar que o estudo empregou ensaios univariados durante o desenvolvimento analítico.

Um estudo notável foi conduzido por Petkovska e Dimitrovska (2008), no qual as autoras realizaram o desenvolvimento de um método multivariado para a quantificação do HAL e suas substâncias relacionadas. As estruturas do HAL e suas substâncias relacionadas utilizadas neste desenvolvimento analítico estão ilustradas na Figura 9. Para a otimização dos parâmetros cromatográficos, foram avaliados o fluxo da fase móvel, ângulo do gradiente e variação da fase orgânica, foi empregado um desenho fatorial completo  $2^3$ , sendo a resolução dos picos a variável resposta otimizada. Embora o desenho fatorial completo seja empregado para algumas otimizações, existem desenhos experimentais mais apropriados para tal finalidade, tais como o Box-Behnken (BBD) e o Central Composto (CCD) (Sahu et al., 2018).

FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HALOPERIDOL E SUAS SUBSTÂNCIAS RELACIONADAS



Nota: Impurezas 2, 4, 5 e 6 são impurezas de síntese, enquanto impurezas 1 e 3 são potenciais produtos de degradação advindas da hidrólise do HAL

Fonte: Petkovska e Dimitrovska, 2008

Portanto, os métodos mencionados desenvolveram um MIE aplicando a abordagem univariada ou uma rotina de desenvolvimento multivariado sem a aplicação de todas as etapas exigidas no desenvolvimento por AQbD. Levando essa informação em consideração, há uma oportunidade para o desenvolvimento de um MIE com abordagem AQbD para o monitoramento da estabilidade para haloperidol solução oral, com o propósito de assegurar a qualidade do medicamento e proporcionar segurança e eficácia para o paciente.

## 2.3. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.3.1. Reagentes e materiais

O padrão analítico do Haloperidol, substância química de referência (SQR) da Farmacopéia Brasileira Lote 1058, com o grau de pureza >99%, foi adquirido do Instituto Nacional de Controle de em Saúde (INCQS). Metilparabeno (nipagin), ácido clorídrico e hidróxido de sódio da marca Dinâmica (São Paulo, Brasil). Acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e tetrahidrofurano (THF) (grau CLAE) da marca Tedia (Ohio, EUA). Ácido fórmico e formiato de amônio ambos Merck(Milford, EUA). Acetato de amônio, ácido acético, fosfato potássio monobásico e peróxido de hidrogênio 30% da marca LabSynth (São Paulo, Brasil).

Colunas cromatográficas, utilizadas no desenvolvimento analítico, foram das marcas: Agilent Zorbax Eclipse XDB-Fenil (4,6 x 150 mm, 5 µm); Waters Spherisorb ODS2 (4,6 x 150 mm, 5 µm); Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm). A água ultra purificada foi obtida no sistema de purificação Milli-Q<sup>®</sup> Gradient A10 — Millipore (Milford, EUA).

### 2.3.2. Equipamentos e softwares

- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência acoplado a detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD), marca Agilent (Califórnia, EUA) série 1100. Degasser G1379A, QuatPump G1311A, ALSTherm G1330B, ColCom G1329A e DAD G1315B;

- Chemstation versão B.04.03[16], Copyright© Agilent Technologies, Inc. (Califórnia, EUA), 2001-2010;

- Prisma versão 6.01, Copyright© GraphPad Software, Inc. (Califórnia, EUA) 1992-2012;

- Minitab versão 17.1.0, Copyright© LEAD Technologies, Inc. (Carolina do Norte, EUA), 1991-2004;

- Chems sketch versão C50E41, Copyright© ACD/Labs, Inc. (Toronto, Canadá), 1994-2018;

- MarvinSketch versão 18.25.0, Copyright© ChemAxon, Inc. (Budapeste, Hungria), 1998-2018.
- Inkscape versão 0.97.4, Copyright© Free Software Foundation, Inc (Massachusetts, EUA) 2007-2019.
- Design Expert 11, Copyright© Stat-ease, Inc. (Minneapolis, EUA). 2018.

### 2.3.3. Ensaios de degradação forçada

Os ensaios de degradação visando a obtenção do perfil e dos possíveis produtos de degradação do HAL em solução oral foram conduzidos de acordo com as diretrizes da Anvisa presentes no guia nº 04/2015, intitulado “Guia para Obtenção do Perfil de Degradação, Identificação e Qualificação de Produtos de Degradação em Medicamentos”, bem como as normas RDC 53/2015 da Anvisa, que abordam os “Limites de Notificação, Identificação e Qualificação de Produtos de Degradação”, e a RDC 318/2019 da Anvisa, referente aos “Estudos de Estabilidade de Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos”. Além disso, as diretrizes internacionais do Conselho Internacional para Harmonização (ICH, *International Conference of Harmonization*, do inglês) foram seguidas, incluindo o guia Q1A, intitulado “*Stability Testing Guidelines: Stability Testing of New Drug Substances and Products*”, e o guia Q1B, que trata do “*Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products*” (Brasil, 2015a, 2015b; ICH, 1996, 2003).

O fármaco haloperidol foi submetido a condições de estresse ácido, alcalino, oxidativo, fotolítico e térmico em vial de vidro âmbar de 1,5 mL (transparente para condição fotolítica). As amostras foram preparadas dissolvendo o HAL SQR em água acidificada com ácido láctico e metilparabeno (NIP), para alcançar a concentração de 2 mg.mL<sup>-1</sup>, mimetizando as concentrações do Haldol® solução oral (Janssen, 2019). Os agentes de degradação (ácido, base ou oxidante) foram adicionados para atingir as concentrações desejadas para o ensaio de degradação, sendo apresentadas no Quadro 7.

QUADRO 7 – COMPOSIÇÃO DOS SISTEMAS DE DEGRADAÇÃO FORÇADA

Condição	Aditivo	Temperatura (°C)
Ácido	HCl 2 M	80
Base	NaOH 2 M	80
Calor úmido	H <sub>2</sub> O	80
Fotolítico	H <sub>2</sub> O	Ambiente
Oxidativo	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 20% v/v	Ambiente

Nota: HAL contido na solução degradante suficiente para atingir a concentração de 2 mg.mL<sup>-1</sup>

Fonte: adaptado de Blessy et al., 2014

A degradação fotolítica foi conduzida em uma câmara contendo uma lâmpada fluorescente branca fria e uma lâmpada fluorescente ultravioleta com emissão de radiação na faixa de 320 a 400 nm, conforme recomendam as diretrizes para fotodegradação (ICH, 1996).

Os ensaios de degradação foram conduzidos de maneira semelhante para o produto formulado, matriz isenta (placebo) e para o fármaco isolado em água, com objetivo de investigar a influência dos excipientes no perfil de degradação e investigação da origem de cada um dos produtos de degradação (PD).

A área do pico cromatográfico do HAL e a presença de PD foram determinadas por CLAE-DAD no momento inicial (T0) e no quarto dia de degradação (T4 - 96 horas). Essa fase foi denominada de ensaio preliminar de estabilidade. Os cromatogramas das amostras nesses intervalos de tempo foram comparados, e o HAL foi considerado resistente à condição de estresse quando não ocorreu o surgimento de novos picos cromatográficos e não houve redução na área do pico do HAL, confirmado por meio do teste t de *Student* pareado e a porcentagem de decaimento. Essa etapa foi realizada para evitar análises desnecessárias de condições em que, independentemente do tempo e da concentração do agente degradante, o HAL não seria suscetível à degradação.

Quando o fármaco se mostrou sensível a uma condição específica de estresse, essa condição foi incorporada ao ensaio de monitoramento, no qual foram realizadas avaliações diárias ao longo de cinco dias. Esses ensaios têm a finalidade de assegurar que os PDs identificados no final do período de monitoramento originem-se de reações primárias e não de reações secundárias de degradação (degradação excessiva). Caso as concentrações dos agentes degradação apresentem um impacto significativo e a taxa de degradação seja excessivamente rápida para fins de monitoramento, as

concentrações desses agentes foram diminuídas para atenuar e ajustar a velocidade de decaimento.

Os períodos de monitoramento estão apresentados no Quadro 8. Todos os ensaios de degradação foram conduzidos em triplicata em momentos distintos para verificar se os produtos de degradação eram reproduzíveis ou artefatos isolados.

QUADRO 8 – TEMPO DE COLETA DOS ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO

Coleta	Ensaio preliminar	Ensaio de monitoramento
	Tempo (dias)	Tempo (dias)
T0	0	0
T1	-	1
T2	-	2
T3	-	3
T4	4	4

Nota: T - tempo  
Fonte: o autor (2023)

Com base nos dados dos ensaios de monitoramento, foi possível identificar o dia em que ocorreu a maior quantidade de PDs com no mínimo 10% de degradação, sem que os analitos de interesse sejam consumidos em reações secundárias. Esse dia foi designado como o "endpoint" de degradação, e esse protocolo foi adotado sempre que houve a demanda por produção de um novo lote de degradação.

As análises em todas as etapas dos estudos de estabilidade foram conduzidas por CLAE-DAD. As amostras das diferentes condições de degradação em solução foram preparadas para análise coletando-se 100 µL da solução de degradação, neutralizadas quando necessário e em seguida diluídas com a fase móvel, para uma solução de concentração esperada de 100 µg.mL<sup>-1</sup>. Essas amostras foram submetidas a ultrassom por 5 minutos, filtradas através de filtro sering das PVDF 0,45 µm e posteriormente analisadas.

Para monitorar a formação de PD e/ou alteração na intensidade do pico de HAL, um pré-método foi desenvolvido utilizando a coluna Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm), sendo a fase móvel constituída por tampão acetato 20 mM pH 4,8 (faixa escolhida em virtude do pKa do HAL) e acetonitrila. O gradiente exploratório foi estabelecido com o auxílio de uma calculadora de gradientes, e suas condições,

juntamente com os parâmetros cromatográficos, que estão detalhados no Quadro 9 (Dolan, 2013).

QUADRO 9 - CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO PRÉ-MÉTODO PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DE HAL

<b>Fase estacionária</b>	Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm)
<b>Tipo de eluição</b>	Gradiente
<b>Fase aquosa</b>	Tampão acetato pH 4,8 – 20 mM
<b>Fase orgânica</b>	Acetonitrila
<b>Gradiente</b>	0 min – 10%B; 19 min – 100%B; 24 min – 100%B
<b>Fluxo</b>	2 mL.min <sup>-1</sup>
<b>Temperatura</b>	25 °C
<b>Volume de injeção</b>	20 µL
<b>Comprimento de onda</b>	246 nm
<b>Concentração de análise</b>	100 µg.mL <sup>-1</sup>

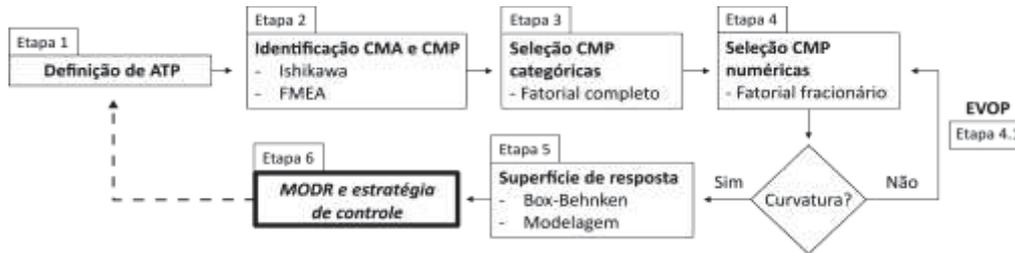
Fonte: o autor (2023)

#### 2.3.4. Desenvolvimento do método com abordagem AQBd

Uma solução contendo a mistura de HAL e os PD obtidos das diferentes condições de estresse foram empregados no desenvolvimento do método indicativo de estabilidade. As soluções de degradação foram combinadas em proporções equivalentes após a neutralização dos agentes de degradação, quando aplicável, e então filtradas em filtro de seringa de PVDF hidrofílico de 0,45 µm.

O desenvolvimento analítico foi dividido em várias etapas, conforme ilustrado na Figura 10. Essas etapas incluíram a definição dos objetivos (ATP) (1), a aplicação da análise de risco para identificar CMAs e CMPs (2), a seleção das CMPs categóricas (3), a escolha das CMPs numéricas (4), a operação evolucionária (4.1), a criação da superfície de resposta e o ajuste do modelo de regressão (5), a determinação do MODR e dos parâmetros de controle do processo (6). Para a geração e avaliação dos modelos multivariados, foi utilizado o software Design Expert 11®.

FIGURA 9 - ETAPAS PARA DESENVOLVIMENTO PELA ABORDAGEM AQbD



Nota: ATP – perfil analítico alvo; CMA – atributos críticos do método; CMP – parâmetros críticos do método; EVOP – operação evolucionária

Fonte: O autor (2023)

#### 2.3.4.1. Definição do perfil analítico alvo (ATP) e identificação dos atributos críticos do método (CMA) e parâmetros críticos do método (CMP)

O ATP do método foi delineado de modo a incorporar elementos característicos, como a técnica de separação, a técnica de detecção, o tipo de amostra e quaisquer outros fatores que permaneçam constantes durante o desenvolvimento e validação, bem como elementos de desempenho, como quantificação, separação, sensibilidade, entre outros. Tanto os elementos de qualidade identificados quanto os intervalos correspondentes foram justificados em relação às suas escolhas e organizados em uma tabela para uma visualização mais clara.

Para identificar as possíveis CMPs que afetam os CMAs, utilizou-se das ferramentas de análise de risco, iniciando-se com diagrama de Ishikawa, no qual os potenciais fatores foram categorizados em quatro principais grupos (método, material, medida e ambiente). Posteriormente, a Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA, *Failure Mode and Effect Analysis* do inglês) foi empregada para calcular as prioridades dos CMPs associados aos elementos do diagrama. Cada parâmetro recebeu uma pontuação com base na ocorrência (O), na severidade (S) e na detecção (D), os quais foram utilizados para calcular a prioridade de risco (RPN, *Risk Priority Number* do inglês) (multiplicação entre O, S e D), que por sua vez indica uma pontuação e a ordem de prioridade desses parâmetros. Valores numéricos de 1 a 10 foram atribuídos a cada fator em relação à ocorrência, severidade e detecção. Os RPNs situados entre 1 e 49 foram classificados como "negligenciáveis"; entre 50 e 124 como "aceitáveis"; entre 125 e 174 como "avaliar necessidade"; entre 175 e 224 como "médio risco"; e acima de 225 como "alto risco". (Melanson e Nadeau, 2019).

As CMPs com RPNs que se enquadraram nas categorias de "alto risco" e "médio risco" em relação ao cumprimento do ATP foram selecionadas para avançar para o desenvolvimento analítico. As variáveis na categoria "avaliar necessidade" foram discutidas com a equipe para considerar sua inclusão, enquanto as variáveis nas outras categorias foram excluídas do desenvolvimento analítico. Com base nas variáveis significativas, uma lista foi elaborada para separar os CMPs em categóricos e numéricos.

#### 2.3.4.2. Seleção dos parâmetros críticos do método (CMP) categóricos

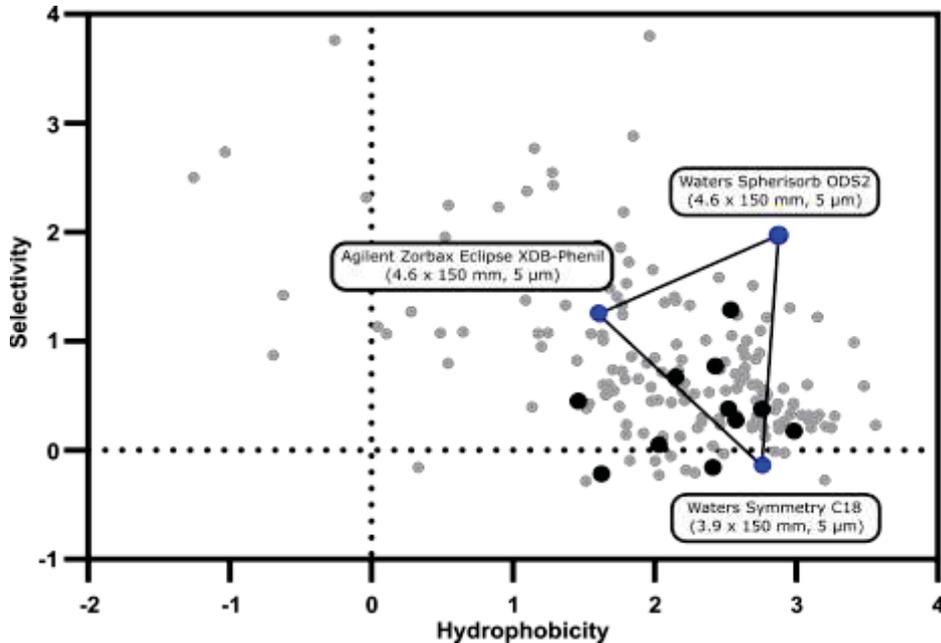
A seleção inicial dos CMPs categóricos foi conduzida de forma a mantê-los constantes durante o processo de otimização dos CMPs numéricos. Isso se deve ao fato de que incluir esses parâmetros nas próximas etapas resultaria em um aumento substancial do tamanho experimental em comparação com um desenho sem sua inclusão.

Os CMPs categóricos avaliados compreenderam a fase estacionária, a fase orgânica e o tipo de tampão. A seleção das colunas cromatográficas baseou-se na seletividade e hidrofobicidade, visando explorar diferentes interações entre o analito e a fase estacionária, a fim de enriquecer a análise. A Figura 11 ilustra as colunas organizadas por afinidade: os pontos em cinza indicam colunas disponíveis no mercado, os em preto correspondem às colunas presentes no laboratório e os em azul foram escolhidos para avaliação. As colunas selecionadas possuíam comprimentos e tamanhos de partículas similares, a fim de facilitar a comparação. Foram selecionadas as colunas Agilent Zorbax Eclipse XDB-Fenil (4,6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), Waters Spherisorb ODS2 (4,6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) e Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) para o desenvolvimento analítico. Embora tanto a ODS2 quanto a C18 tenham recheios similares, a distinção reside na tecnologia de ligação, no tamanho do poro (80 Å na ODS2 e 100 Å na C18), na área de superfície (220  $\text{cm}^2$  na ODS2 e 335  $\text{cm}^2$  na C18), e no *carbon load* (11% na ODS2 e 19% na C18).

A Figura 12 ilustra o efeito da seletividade e hidrofobicidade na separação cromatográfica, no qual a seletividade ocasiona a inversão da ordem de eluição,

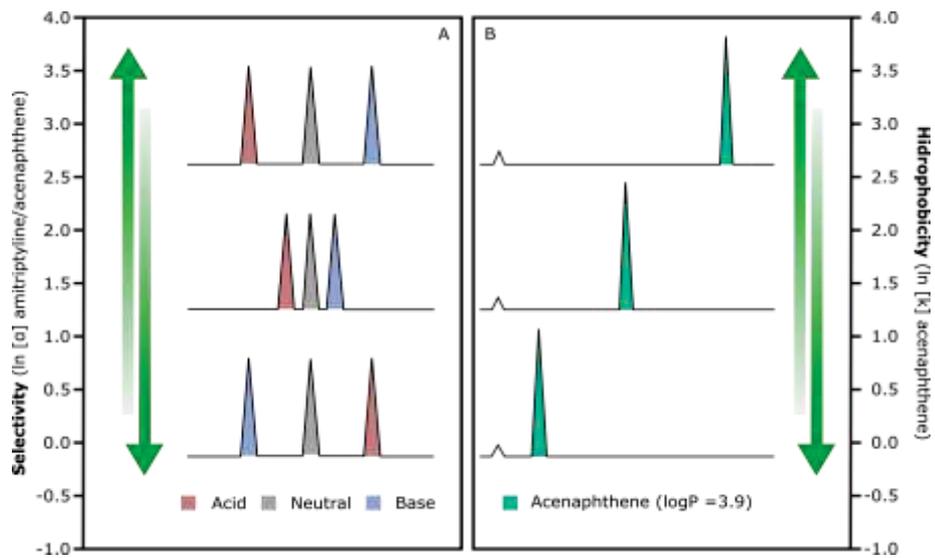
enquanto a hidrofobicidade está relacionado com a afinidade da fase estacionária com moléculas orgânicas (Waters, 2022).

FIGURA 10 - GRÁFICO DE SELETIVIDADE E HIDROFOBICIDADE DE COLUNAS CROMATOGRÁFICAS



Nota: Pontos azuis – colunas selecionadas; pontos pretos – colunas disponíveis no laboratório; pontos cinzas – colunas indisponíveis no laboratório  
 Fonte: adaptado de Waters, 2022

FIGURA 11 - CROMATOGRAMAS EXEMPLIFICANDO O EFEITO DA SELETIVIDADE E HIDROFOBICIDADE DA COLUNA CROMATOGRÁFICA

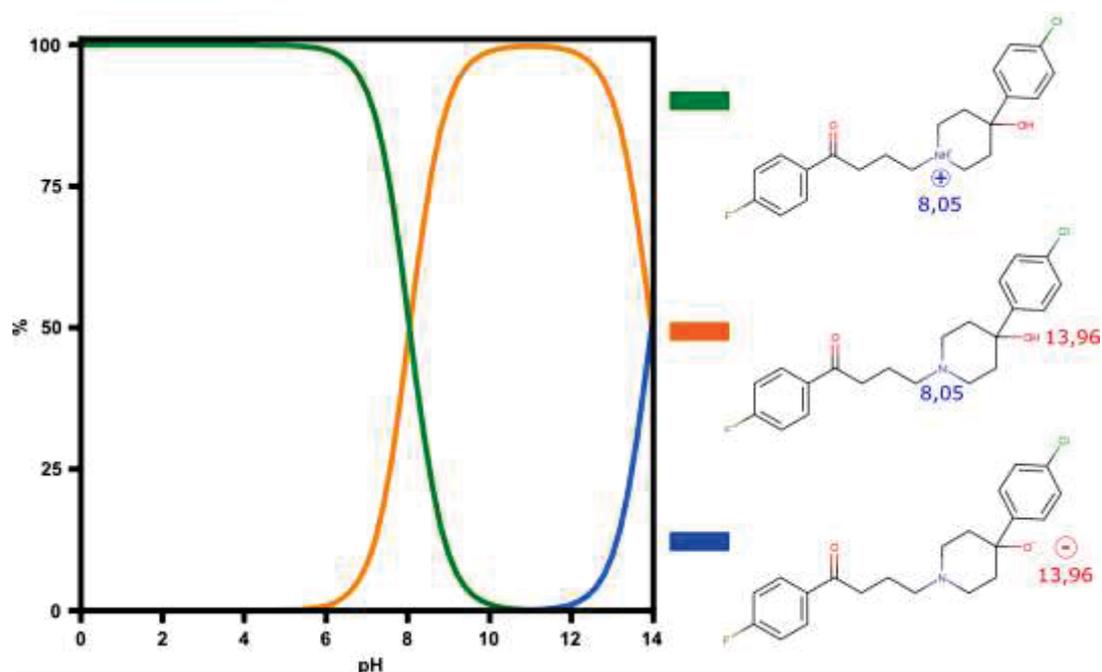


A – gráfico de seletividade de  $\ln [\alpha]$  amitriptilina/acetafeno; B – gráfico de hidrofobicidade de  $\ln [k]$  acetafeno.

Fonte: Adaptado de Waters, 2022

Idealmente, os intervalos de pH da fase móvel são avaliados levando em conta os valores de pH nos quais ocorre a formação das estruturas moleculares e iônicas, os quais são dependentes da constante de dissociação ácida do HAL (pKa 8,05) (Figura 13) (Chemaxon, 2014). Originalmente, teria sido proposta a avaliação dos valores de pH 7, 8 e 9. No entanto, devido à incompatibilidade das colunas cromatográficas selecionadas com pH acima de 8, a análise do intervalo de pH foi substituída pela avaliação de diferentes tampões (fosfato pKa 7,2; acetato pKa 4,8; formiato pKa 3,8), os quais proporcionam a estrutura catiônica do HAL. Para a fase móvel orgânica, foram selecionados a acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e tetrahydrofurano (THF), uma vez que são solventes frequentemente empregados em cromatografia de fase reversa (Collins, et al., 2006).

FIGURA 12 - ESTRUTURAS MOLECULARES E IÔNICAS DE ACORDO COM OS VALORES DE PKAs DO HALOPERIDOL



Nota: Laranja – estrutura neutra; verde – estrutura catiônica; azul – estrutura aniônica

Fonte: Chemaxon, 2014

Os CMPs categóricos foram selecionados utilizando um fatorial completo ( $3^3$ ), totalizando 27 experimentos (Quadro 10). A fase estacionária, o tipo de tampão e o solvente orgânico foram analisados a fim de determinar a melhor combinação de fatores que resultasse em uma maior quantidade de picos cromatográficos válidos

(indicando ausência de coeluição), separação adequada entre os picos ( $R_s > 1,5$ ), maior número de picos cromatográficos com um fator caudal apropriado ( $T < 1,5$ ) e uma abordagem cromatográfica rápida (menor  $k'$  para o último analito) (USP, 2019). Para evitar possíveis equívocos na avaliação, uma análise de branco foi conduzida para eliminar artefatos. Foi elaborada uma matriz de cromatogramas visando facilitar a visualização, sendo o método cromatográfico empregado o mesmo utilizado nos segmentos dos ensaios de estabilidade. As combinações dos CMPs categóricos que geraram os resultados mais promissores foram definidas e foram adotadas nas avaliações subsequentes do desenvolvimento analítico.

QUADRO 10 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DE FATORIAL COMPLETO PARA CMPs CATEGÓRICAS

N	Fase estacionária	Tampão	Solvente orgânico
1	Fenil	PO <sub>4</sub>	ACN
2	Fenil	PO <sub>4</sub>	MeOH
3	Fenil	PO <sub>4</sub>	THF
4	Fenil	ACO	ACN
5	Fenil	ACO	MeOH
6	Fenil	ACO	THF
7	Fenil	AFO	ACN
8	Fenil	AFO	MeOH
9	Fenil	AFO	THF
10	ODS2	PO <sub>4</sub>	ACN
11	ODS2	PO <sub>4</sub>	MeOH
12	ODS2	PO <sub>4</sub>	THF
13	ODS2	ACO	ACN
14	ODS2	ACO	MeOH
15	ODS2	ACO	THF
16	ODS2	AFO	ACN
17	ODS2	AFO	MeOH
18	ODS2	AFO	THF
19	C18	PO <sub>4</sub>	ACN
20	C18	PO <sub>4</sub>	MeOH
21	C18	PO <sub>4</sub>	THF
22	C18	ACO	ACN
23	C18	ACO	MeOH
24	C18	ACO	THF
25	C18	AFO	ACN
26	C18	AFO	MeOH
27	C18	AFO	THF

Nota: Fenil - Agilent Zorbax Eclipse XDB-Phenyl (4,6 x 150 mm, 5 µm); ODS2 - Waters Spherisorb ODS2 (4,6 x 150 mm, 5 µm); C18 - Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm); PO<sub>4</sub> - fosfato pH 7,2; ACO - acetato pH 4,8; AFO - formiato pH 3,8; ACN - acetonitrila; MeOH - metanol; THF – tetrahidrofurano

Fonte: o autor (2023)

Após a identificação da combinação mais adequada, o método foi refinado de acordo com as exigências, como a possibilidade de reduzir o tempo de análise, ajustar o ângulo do gradiente linear para distanciar ou aproximar os picos cromatográficos e/ou modificar a proporção inicial da fase orgânica para otimizar o aproveitamento da parte inicial do cromatograma. A regra dos 25/40% foi empregada a partir do gradiente exploratório para escolher o modo de eluição (isocrático ou gradiente): se a diferença entre o primeiro e o último pico cromatográfico representar menos de 25% do tempo total do cromatograma, define-se o método em isocrático; se representar mais de 40%, o método deve ser obrigatoriamente em gradiente (Dolan, 2013). As etapas subsequentes foram conduzidas com base neste método refinado.

#### 2.3.4.3. Seleção dos parâmetros críticos do método (CMP) numéricos e operação evolucionária (EVOP)

Os CMPs numéricos foram avaliados por meio de um planejamento fatorial fracionário ( $2^{5-1}$ ) de resolução V, com o objetivo de examinar os efeitos de primeira e segunda ordem para a sua seleção (Quadro 11). Os CMPs avaliados englobaram o fluxo da fase móvel (1,3 e 1,7 mL.min<sup>-1</sup>), o ângulo do gradiente ( $X*0,8$  e  $X*1,2$ , sendo X representado pela variação da fase móvel orgânica por minuto, valor este advindo do refinamento do método na etapa anterior), a temperatura do forno da coluna (15 e 35 °C), o comprimento de onda (240 e 246 nm, correspondendo às regiões de absorvidade do HAL) e o pH ( $Y-0,5$  e  $Y+0,5$ , onde Y é o valor do pKa do tampão selecionado na etapa de seleção dos CMPs categóricos).

QUADRO 11 - FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO DAS CMPs

Nível I	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Ângulo do gradiente	Temperatura (°C)	Comprimento de onda (nm)	pH
-1	1,3	X*0,8	15	240	Y-0,5
0	1,5	X	25	243	X
1	1,7	X*1,2	35	246	Y+0,5
N	Fluxo (mL/min)	Ângulo do gradiente	Temperatura (°C)	Comprimento de onda (nm)	pH
1	1,3	X*0,8	15	240	Y+0,5
2	1,7	X*0,8	15	240	Y-0,5
3	1,3	X*1,2	15	240	Y-0,5
4	1,7	X*1,2	15	240	Y+0,5
5	1,3	X*0,8	35	240	Y-0,5
6	1,7	X*0,8	35	240	Y+0,5
7	1,3	X*1,2	35	240	Y+0,5
8	1,7	X*1,2	35	240	Y-0,5
9	1,3	X*0,8	15	246	Y-0,5
10	1,7	X*0,8	15	246	Y+0,5
11	1,3	X*1,2	15	246	Y+0,5
12	1,7	X*1,2	15	246	Y-0,5
13	1,3	X*0,8	35	246	Y+0,5
14	1,7	X*0,8	35	246	Y-0,5
15	1,3	X*1,2	35	246	Y-0,5
16	1,7	X*1,2	35	246	Y+0,5
17	1,5	X	25	243	Y
18	1,5	X	25	243	Y
19	1,5	X	25	243	Y

Nota: X - %B.min<sup>-1</sup> definido na etapa de refinamento do método; Y - valor do pKa do tampão selecionado na etapa de seleção de CMP categóricos.

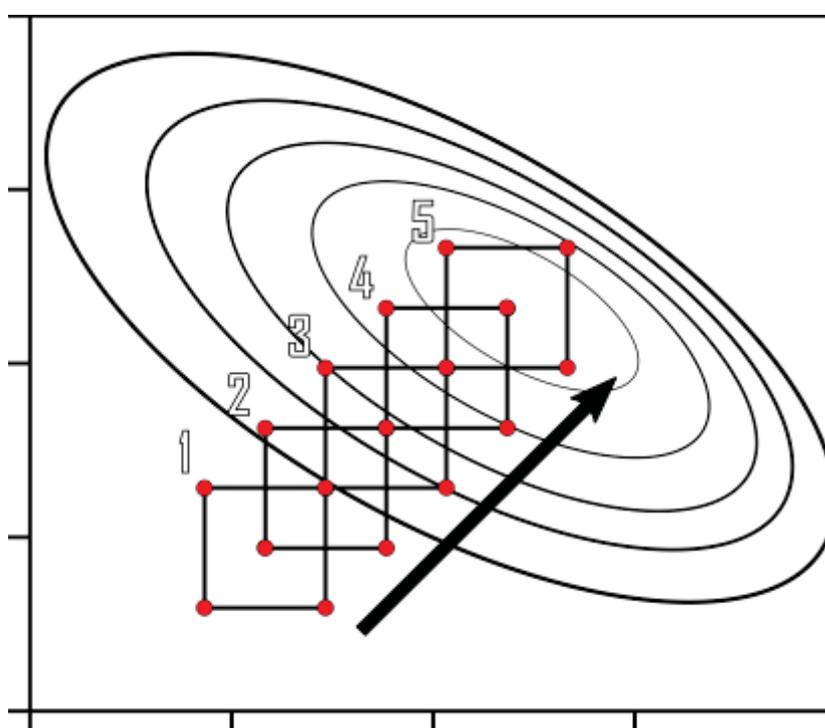
Fonte: o autor (2023)

Os CMAs avaliados estavam relacionados a maximizar a área do HAL, aproximar para 1,5 de resolução para o pico do HAL, aproximar para 1,5 resolução do pico pós-HAL, obter aproximadamente 2000 pratos teóricos para o primeiro pico cromatográfico, atingir um fator de capacidade do primeiro pico cromatográfico próximo a 3, minimizar o fator de capacidade do último pico cromatográfico e chegar a uma simetria do HAL próxima a 1. Finalmente, minimizar o fator de capacidade do último pico que ainda esteja superior a 2 implica em um tempo de análise reduzido (FDA, 1994).

Os efeitos de primeira e segunda ordem foram avaliados por meio dos diagramas de Pareto, e gráficos de perturbação dos fatores na desejabilidade, sendo os parâmetros com efeitos não significativos excluídos das etapas subsequentes. A significância do parâmetro de curvatura foi verificada (p-valor < 0,05), assim como a plotagem da superfície de resposta da função de desejabilidade foi investigada. Essa

avaliação foi conduzida para verificar a possibilidade de que a área de maior rendimento dos CMAs (zona quente da superfície de resposta) estivesse fora do intervalo experimental estipulado, o que poderia demandar a aplicação de uma operação evolucionária (EVOP, *evolutionary operation* do inglês). Para isso, foi determinada a direção na qual a superfície apresentava os melhores rendimentos nos CMAs e o intervalo experimental foi ajustado para abranger a zona adjacente. Esse processo foi repetido até encontrar a zona que exibisse curvatura não-significativa ou até que o parâmetro apresentasse restrições para a realização da EVOP (Figura 14).

FIGURA 13 - EXEMPLO DE OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA PARA INVESTIGAÇÃO DA CURVATURA DA SUPERFÍCIE DE RESPOSTA



Fonte: Adaptado de Box e Draper, 1969

#### 2.3.4.4. Ajuste de modelo de regressão, Região Operacional do Método (MODR) e estratégia de controle

Com base nos CMPs identificados e na região que oferece o melhor rendimento para os CMAs, a superfície de resposta foi elaborada por meio do planejamento experimental BBD. Esse procedimento gerou as combinações de experimentos (27

análises) destinados a ajustar um modelo de regressão que explicasse o comportamento dos CMAs em relação aos CMPs aplicados.

Os CMAs incluídos nessa etapa englobaram a área dos picos, a resolução dos picos, as simetrias dos picos, os pratos teóricos do primeiro pico, o fator de capacidade do primeiro pico e do último pico. Para cada CMA, foi desenvolvido um modelo de regressão e avaliado utilizando-se a ANOVA. Durante esse procedimento, foram analisadas inclusões e exclusões de diferentes coeficientes (CMPs e suas combinações) com o intuito de otimizar o ajuste do modelo polinomial. A avaliação do modelo foi conduzida considerando a significância do modelo de regressão ( $p$ -valor  $< 0,05$ ), a ausência de falta de ajuste ( $p$ -valor  $> 0,05$ ), o aumento nos coeficientes de determinação ( $R^2$ ),  $R^2$ -ajustado,  $R^2$ -predito e sinal/ruído. Além disso, gráficos como o normal plot, resíduo vs predito, Box-Cox plot e a distância de Cook auxiliaram na identificação de outliers e verificação da necessidade de transformação dos dados para realização de um novo ajuste de modelo.

Após a realização do ajuste do modelo para todos os CMAs monitorados, os critérios de aceitabilidade para cada um deles foram estabelecidos para a criação do MODR. Diferentes critérios de aceitabilidade foram avaliados, incluindo resolução dos picos acima de 1,5, simetria compreendida entre 0,5 e 1,5, número de pratos teóricos do primeiro pico acima de 2000, fator de capacidade do primeiro pico acima de 2 e fator de capacidade do último pico abaixo do terceiro intervalo interquartil (USP, 2019).

Com base no gráfico de sobreposição ou *overlay plot* (que representa a combinação de todas as superfícies de resposta), foram estabelecidos os critérios de aceitação (CMAs) que delimitam diferentes áreas no gráfico de acordo com sua conformidade. Dentro das regiões aderentes aos CMAs, pontos experimentais foram selecionados, sendo representados por formas retangulares com pontos centrais e abrangendo múltiplos planos. Estes pontos foram posteriormente submetidos a testes em triplicatas para verificar a capacidade do modelo matemático de reproduzir os resultados experimentais na região considerada robusta. Essa avaliação foi conduzida por meio da análise da concordância, expressa em porcentagem, entre os dados obtidos experimentalmente e os valores estimados pelo modelo matemático.

Após a validação do modelo matemático, torna-se necessário listar e propor estratégias de controle, a fim de minimizar erros que possam afetar a qualidade do

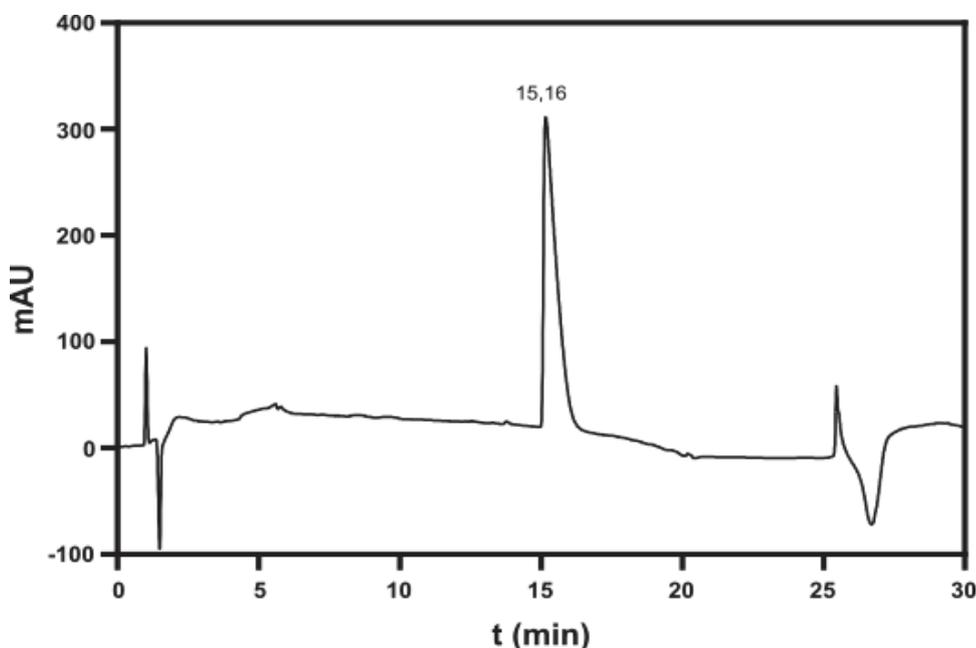
método desenvolvido. Foi elaborada uma tabela no qual inclui intervalos de limites CMPs com informações sobre a região de conhecimento e limites do MODR. Além disso, como parte dos planos de medidas de controle, foi proposta a criação de cartas-controlado utilizando os parâmetros de adequação do sistema obtidos a partir do NOC para auxiliar no processo de monitoramento de tendências.

## 2.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 2.4.1. Ensaio de degradação forçada

Um método preliminar foi elaborado para acompanhar os testes de estabilidade do HAL, utilizando um gradiente exploratório. A configuração cromatográfica do gradiente exploratório foi: 0 min – 10% B, 19 min – 100% B, 24 min – 100%, 25 min – 10% B, 30 min – 10% B; conforme ilustrado na Figura 15. O tempo de retenção medido para o HAL foi de 15,16 minutos.

FIGURA 14 - GRADIENTE EXPLORATÓRIO INICIAL PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HAL

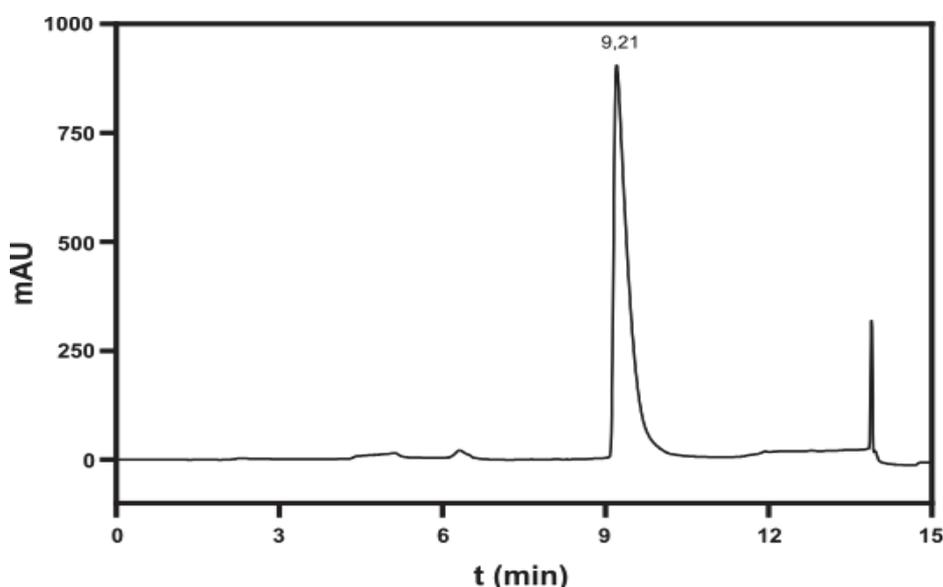


Nota: Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu$ m); fase móvel Acetato 10 mM pH 4,8 (A):ACN (B); 0 min – 10% B, 19 min – 100% B, 24 min – 100%, 25 min – 10% B, 30 min – 10% B; fluxo de 2 mL/min; volume de injeção de 20  $\mu$ L e comprimento de onda de detecção de 246 nm. Concentração de 100  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> do HAL.

Fonte: o autor (2023)

O fluxo da fase móvel foi ajustado para  $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  devido à aproximação da pressão do sistema a 300 bar, o que poderia causar vazamentos. Para acompanhar esta alteração, o gradiente foi modificado da seguinte forma: 0 min - 10% B, 10 min - 100% B, 12 min - 100% B, 15 min - 10% B, 20 min - 10% B. Essas mudanças resultaram na redução da retenção do composto de 15,16 min ( $k' = 15,94$ ) para 9,21 min ( $k' = 6,63$ ), além de ainda manter uma margem adjacente ao pico principal para a detecção dos possíveis produtos de degradação do HAL (Figura 16). A concentração do tampão acetato pH 4,8 10 mM foi aumentada para 100 mM, com o objetivo de suportar variações mais significativas de pH provenientes da amostra, dado o desafio em neutralizar completamente as soluções de degradações ácidas e alcalinas. A última modificação realizada no procedimento preliminar foi o aumento da concentração de HAL na análise, de  $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  para  $500 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Essa alteração se justifica pelo fato de que os produtos de degradação surgem em menor quantidade em comparação com o pico principal. Portanto, quantidades maiores de HAL resultarão em um rendimento mais elevado do produto da reação.

FIGURA 15 - GRADIENTE EXPLORATÓRIO REFINADO PARA MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL



Nota: Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); fase móvel Acetato 100 mM pH 4,8:ACN; 0 min – 10% B, 10 min – 100% B, 12 min – 100%, 15 min – 10% B, 20 min – 10% B; fluxo de  $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$  e comprimento de onda de detecção de 246 nm. Concentração de  $500 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  do HAL.

Fonte: o autor (2023)

Ao conduzir os estudos de estabilidade preliminares, foi observado que ocorreram alterações ao longo de um período de 5 dias (Tabela 2). Os p-valores indicam uma diminuição estatisticamente significativa da área do HAL na condição ácida, enquanto permaneceram estáveis nas demais condições.

TABELA 2 - DIFERENÇA DA ÁREA DO HALOPERIDOL NA ESTABILIDADE PRELIMINAR

Condição	Aditivo	T0	T4	p-valor*
<b>Controle</b>	-	13373,60 ± 308,29	13863,80 ± 704,96	0,3317
<b>Ácido</b>	HCl 2M, 80 °C	11898,36 ± 241,76	8911,45 ± 469,32	<b>0,0047</b>
<b>Base</b>	NaOH 2M, 80 °C	6619,32 ± 780,01	5201,98 ± 689,45	0,0778
<b>Calor</b>	80 °C	11693,33 ± 1091,12	11031,14 ± 1273,65	0,6756
<b>Oxidativo</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 20%	11074,30 ± 775,88	11881,30 ± 70,84	0,1941
<b>Fotolítico</b>	-	16013,13 ± 2130,71	12002,10 ± 1704,68	0,2109

Nota: Dados demonstrados através de média e desvio padrão; \*p-valor do teste t de Student pareado. T0 referente ao dia do preparo e T4 ao quinto dia de degradação. Em negrito comparações significativas. n = 3 para cada condição.

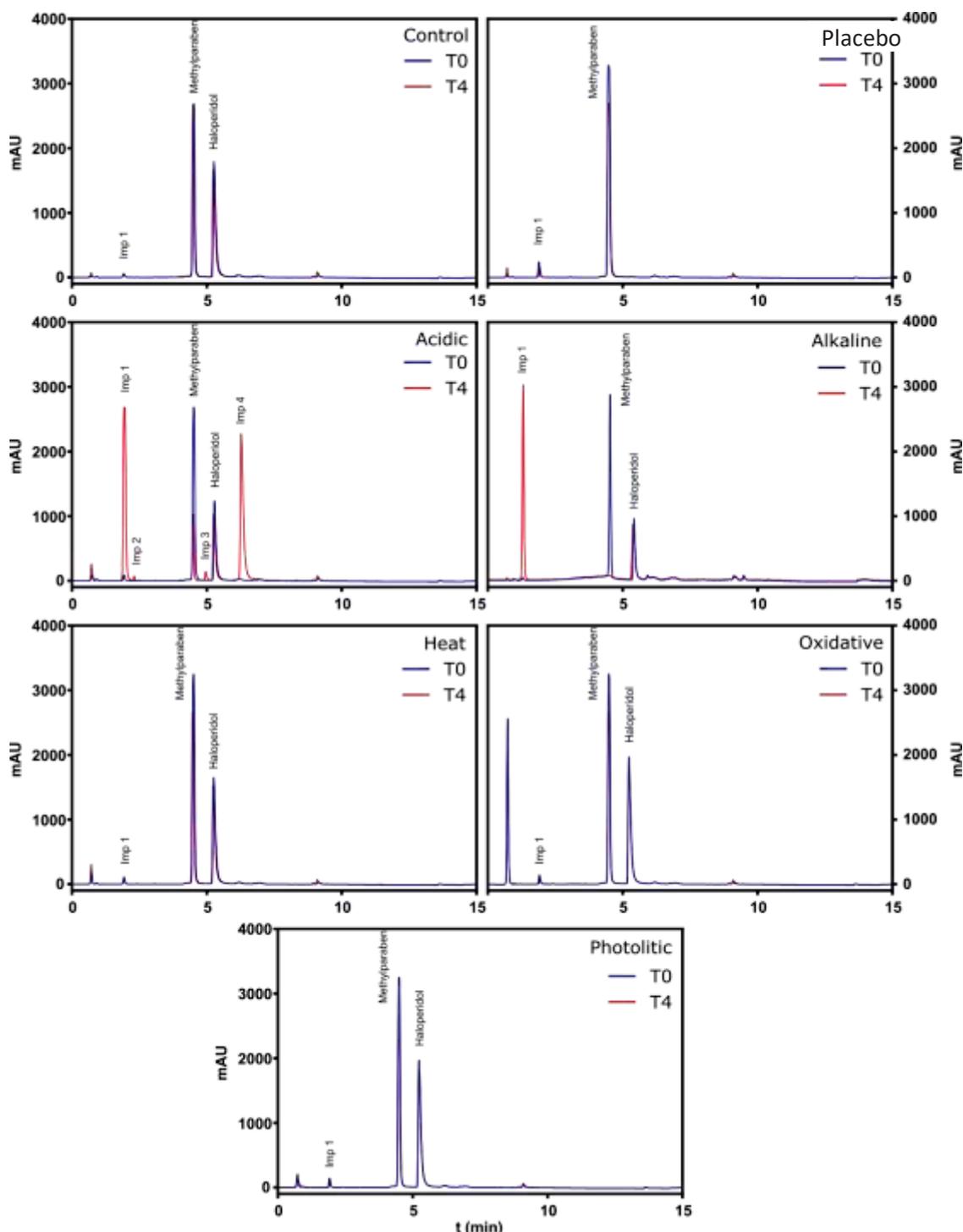
Fonte: o autor (2023)

Na Figura 17, é possível visualizar a comparação dos cromatogramas entre T0 e T4 para todas as condições de degradação. Para confirmar se os PDs mais proeminentes (imp 1 e imp 4) gerados na condição ácida eram oriundos do HAL ou do NIP, procedeu-se à análise de estabilidade utilizando o placebo e o IFA isolados. Como resultado, foi identificada a presença de imp 1 nos ensaios de degradação forçada do placebo e de imp 4 nos ensaios de degradação forçada com IFA. Sugerindo que ambos os compostos são sensíveis à condição ácida.

Apesar de a condição alcalina não ter causado mudanças significativas na área do HAL, é possível observar uma alteração na área do NIP, que está completamente ausente no T4, e ocorre uma transição do pico para o início do cromatograma. Dado que o método visa quantificar tanto o HAL quanto o NIP no medicamento, essa alteração foi levada em consideração durante o processo de tomada de decisão.

A condição ácida no T4 produziu uma degradação de 89,5% para Imp1, 45,05% para Imp4.

FIGURA 16 - CROMATOGRAMAS DOS RESULTADOS DOS ESTUDOS DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

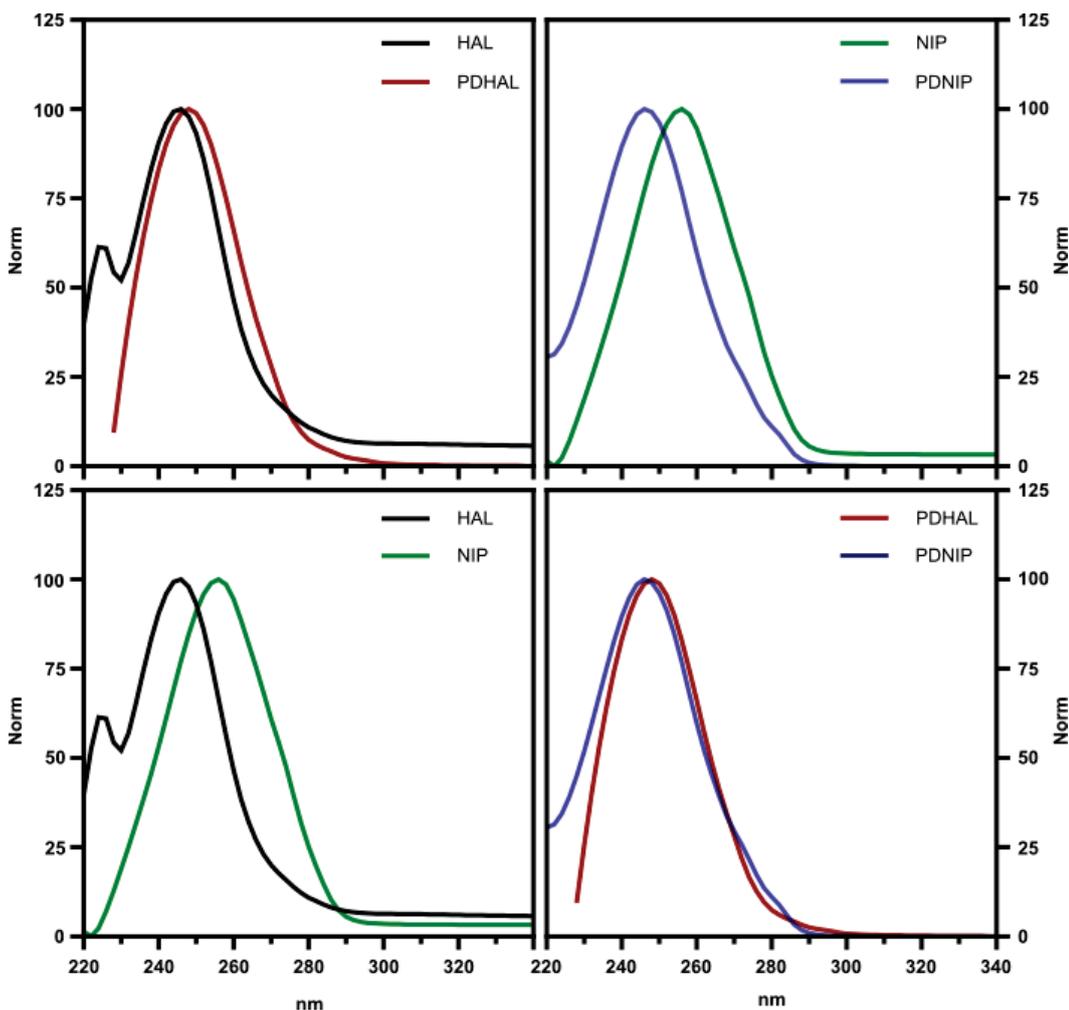


Nota: Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu$ m); fase móvel Acetato 20 mM pH 4,8:ACN; 0 min – 10% B, 10 min – 100% B, 12 min – 100%, 13 min – 10% B, 18 min – 10% B; fluxo de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>; volume de injeção de 20  $\mu$ L e comprimento de onda de detecção de 246 nm. Concentração de 500  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> do HAL no dia zero (T0) e dia quatro (T4) das condições: Ácida (HCl 2 M); alcalina (NaOH 2 M); oxidativo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15%, 2°C); termal úmida (80°C) e fotolítica. Pico morto da condição oxidativa referente ao conservante do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Fonte: o autor (2023)

O PD originado do NIP surgiu tanto nas condições ácida quanto alcalina. Para verificar se ambos se referem ao mesmo produto de hidrólise, uma biblioteca espectral foi elaborada (Figura 18), contendo informações sobre o perfil de absorção de todos os analitos e seus respectivos PDs e comparada quanto à sua similaridade.

FIGURA 17 - PERFIS ESPECTRAIS DO HALOPERIDOL, NIPAGIN E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO



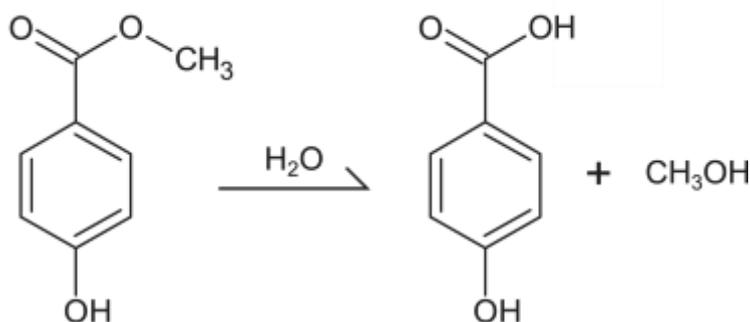
Nota: HAL – haloperidol; NIP – metilparabeno; PDHAL – produto de degradação do haloperidol; PDNIP – produto de degradação do metilparabeno.

Fonte: o autor (2023)

Utilizando a ferramenta pureza espectral do ChemStation, foi obtida uma similaridade espectral de 99,98% entre os dois picos analisados. Esses resultados sugerem que ambos os PDs possuem estruturas similares, o que aponta para a possibilidade de serem produtos da hidrólise do NIP. Os parabenos são geralmente

estáveis em um intervalo de pH entre 4 e 8. No entanto, quando expostos a meios ácidos ou alcalinos com valores fora desse intervalo, os ésteres dos parabenos sofrem hidrólise com a formação do ácido p-hidroxibenzoico, que é o composto de degradação, juntamente com o álcool correspondente (Figura 19) (Oliveira e Lima, 2005).

FIGURA 18 - REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO METILPARABENO



Fonte: Oliveira e Lima, 2005.

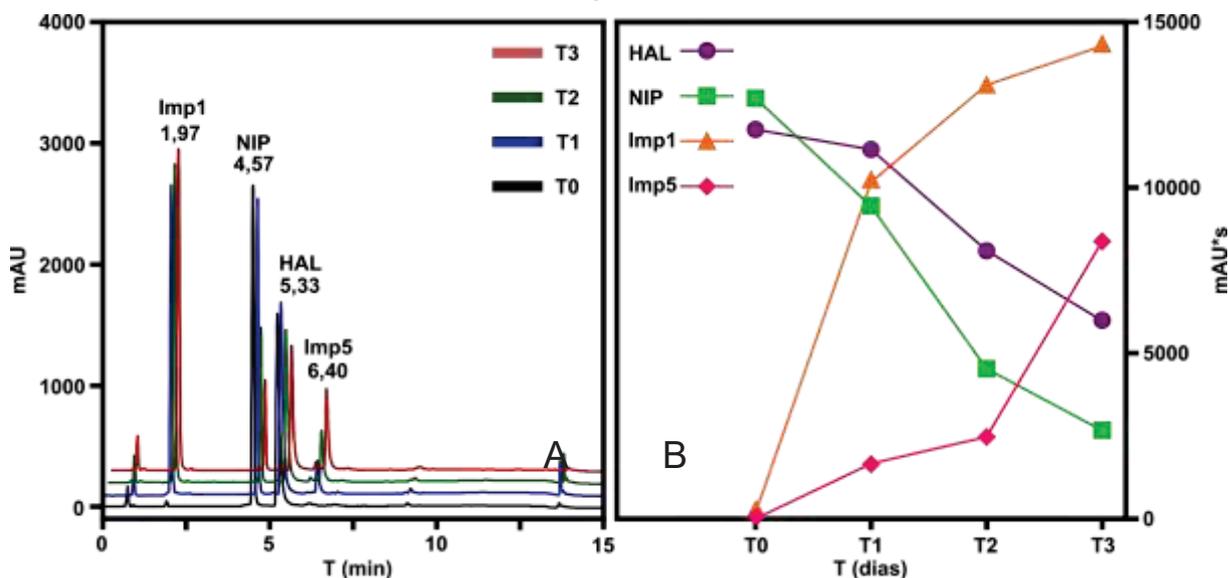
Em relação ao PD do HAL, a hidrólise do fármaco gera as estruturas proposta por Petkovska e Dimitrovska (2008). No entanto, para sua confirmação é requerido a aplicação de técnicas de identificação, como a espectrometria de massas e/ou ressonância magnética nuclear.

Após avaliar os resultados da estabilidade preliminar, o monitoramento diário concentrou-se na solução de degradação ácida. O objetivo era analisar a diminuição do HAL e NIP ao longo do tempo, observar a velocidade de formação dos PDs e identificar o dia em que os analitos de interesse atingiam um rendimento satisfatório, sem a ocorrência de degradação secundária indesejada. Nos experimentos iniciais, o monitoramento foi realizado em solução de ácido clorídrico 2M. No entanto, tanto o HAL quanto o NIP apresentaram um decaimento significativo já no primeiro dia, inviabilizando qualquer tentativa de monitorar as áreas dos picos cromatográficos no decorrer do experimento. Ao reduzir a concentração do ácido para 1M, foi possível acompanhar a diminuição dos analitos de interesse e a formação dos PDs.

Como ilustrado na Figura 20, torna-se claro que o produto de hidrólise do NIP, denominado Imp1, surge em quantidades consideráveis a partir do segundo dia de acompanhamento (T1), representando degradação de 80,0%. Isso está em

concordância com a sensibilidade da função éster em ambientes ácidos. O produto de hidrólise do HAL também foi identificável no segundo dia de monitoramento (degradação de 15,44%), exibindo um aumento gradual em sua área ao longo dos dias, com um aumento significativo no quarto dia (T3) (degradação de 37,80%). O teste de ANOVA de amostra repetidas indicam que há diferença estatísticas entre os dias avaliados ( $p$ -valor = 0,0089). Como foi evidenciado na fase de estabilidade preliminar, o quinto dia apresenta um aumento nas áreas dos produtos de degradação de interesse, porém também marca o surgimento de produtos resultantes de reações secundárias (Imp2 e Imp3). Esses produtos não são proeminentes nos três primeiros dias de degradação. O ponto final foi estabelecido como T3, correspondendo ao quarto dia de degradação, e isto foi considerado para orientar a produção dos produtos de degradação nas próximas etapas.

FIGURA 19 - ENSAIOS DE MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL EM CONDIÇÃO ÁCIDA



Nota: A - Cromatogramas da condição ácida 1M; B - Áreas dos picos cromatográficos; HAL - haloperidol; NIP - metilparabeno; T0 - dia 1; T1 - dia 2; T2 - dia 3; T3 - dia 4. Coluna Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu$ m); fase móvel Acetato 20 mM pH 4,8:ACN; 0 min - 10% B, 10 min - 100% B, 12 min - 100%, 13 min - 10% B, 18 min - 10% B; fluxo de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>; volume de injeção de 20  $\mu$ L e comprimento de onda de detecção de 246 nm.

Fonte: o autor (2023)

## 2.4.2. Desenvolvimento analítico

### 2.4.2.1. Definição do perfil analítico alvo (ATP) e identificação dos atributos críticos do método (CMA) e parâmetros críticos do método (CMP)

O perfil analítico alvo foi definido como o “Desenvolvimento de um método por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa acoplada a um detector de arranjo de diodo, capaz de detectar, separar e quantificar com alta exatidão, precisão e sensibilidade o HAL e o NIP em meio aos seus produtos de degradação, sem interferentes na solução oral medicamentosa”. A partir desta descrição, é possível identificar palavras-chave como a técnica, o tipo de detecção, tipo de amostra, a separação e a quantificação. Para facilitar a identificação de possíveis CMAs relacionados com essas palavras-chave, os CMAs foram categorizados em elementos característicos e de desempenho (Quadro 12).

Quanto aos elementos característicos, foram estabelecidos os atributos que são definidos previamente à análise com base no delineamento experimental e que, uma vez estabelecidos, devem ser mantidos para garantir a qualidade. Entre esses elementos, incluem-se a técnica de separação, o tipo de separação, a técnica de detecção, a amostra e a aplicação.

No que diz respeito aos elementos de desempenho, estes podem ser mensurados e estão sujeitos a variações durante a rotina analítica, de acordo com as diversas combinações de fatores aplicadas ao método. Assim sendo, o objetivo do desenvolvimento foi aprimorar esses CMAs relacionados ao desempenho.

Dentro da proposta do ATP, foi possível identificar CMAs que refletissem a conformidade com os elementos de separação e quantificação. No que diz respeito aos elementos de separação, foram propostos diversos CMAs que influenciam a qualidade da separação metodológica. Isso inclui número de picos, resolução dos picos, fator de caudal, pratos teóricos e fator de capacidade (DONG, et al., 2001). Nos elementos de quantificação, foram propostos CMAs que englobam parâmetros de validação analítica. Por exemplo, exatidão, repetibilidade e a precisão intermediária (Brasil, 2017).

Foram propostos diversos CMAs no Quadro 12 como uma maneira de apresentar as opções de medidas possíveis. No entanto, nem todos foram considerados no desenvolvimento analítico, como é o caso dos parâmetros de validação, como por exemplo a exatidão, precisão, entre outros. Isso se deve à complexidade da inclusão desses CMAs nos planos experimentais, uma vez que sua determinação requer múltiplas réplicas em cada ponto experimental, o que inviabiliza a execução dos experimentos.

QUADRO 12 - PERFIL ANALÍTICO ALVO E SEUS ATRIBUTOS CRÍTICOS DO MÉTODO

<b>Propósito pretendido</b>	
Desenvolvimento de um método de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa acoplada a um detector de arranjo de dióxido, capaz de detectar, separar e quantificar com alta exatidão, precisão e sensibilidade o HAL em meio aos seus produtos de degradação, sem interferentes na solução oral medicamentosa	
<b>Elemento</b>	<b>Critério de aceitabilidade (CMA)</b>
<b>Justificativa</b>	
<b>Elementos característicos</b>	
<b>Técnica de separação</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>Tipo de separação</b>	Fase reversa
<b>Técnica de detecção</b>	Detector de arranjo de dióxido
<b>Amostra</b>	Solução oral
<b>Aplicação</b>	Quantificação do HAL e monitoramento da estabilidade do fármaco
<b>Elementos de performance</b>	
<b>Separação</b>	Maximizar número de picos
	Rs do pico do HAL > 1,5
	Rs do pico anterior ao HAL > 1,5
	T do HAL < 1,5
	N do HAL > 2000

Elemento	Critério de aceitabilidade	Justificativa
<b>Separação</b>	Maximizar número de picos com $R_s > 1,5$	Apesar de não ser mandatório que todos picos cromatográficos possuam resolução superior a 1,5 e fator caudal inferior a 1,5 como HAL, é indicado maximizar essa quantidade de picos para uma eficiência cromatográfica
	Maximizar número de picos com $T < 1,5$	
	Minimizar o $k'$ do último analito	Quanto menor for o fator de capacidade do último analito, menor o tempo de corrida
	Maximizar número de picos com pureza espectral $> 95\%$	Uma pureza espectral baixa pode indicar uma coeluição de dois compostos diferentes no mesmo tempo de retenção
	Minimizar área do pico do tempo morto	Quanto maior a área do pico do tempo morto, implica que parte dos picos de interesses não interagiram com a fase estacionária, fazendo com que os analitos se encontrem no tempo morto.
	Exatidão entre 98-102%	Estes parâmetros são regidos principalmente pelos parâmetros de validação analítica, sendo que os mesmos estão diretamente relacionados com a capacidade do método em fornecer quantificações confiáveis
	Repetibilidade $DPR < 2\%$	
Precisão intermediária Teste F p-valor $> 0,05$		
Ausência de efeito matriz	Por mais que os PDs não serão diretamente quantificados, é importante conhecer a área ocupada por esses compostos para evitar coeluição de picos cromatográficos	
<b>Quantificação</b>	Maximizar área do pico dos PDs	Os CMAs envolvidos no elemento de qualidade de sensibilidade estão principalmente envolvidos na capacidade de o método produzir sinais e dizer com confiabilidade que os picos podem ser detectados e quantificados. Um método que não consegue detectar seus PDs não pode ser considerado um método indicativo de estabilidade e quanto melhor as razões sinais/ruídos e menor LD e LQ, mais sensível a técnica é considerada
	Maximizar picos com $S/N > 10$	
	Maximizar a intensidade de sinal dos picos cromatográficos	
	Minimizar concentração do limite de detecção do HAL	
Minimizar concentração do limite de quantificação do HAL		

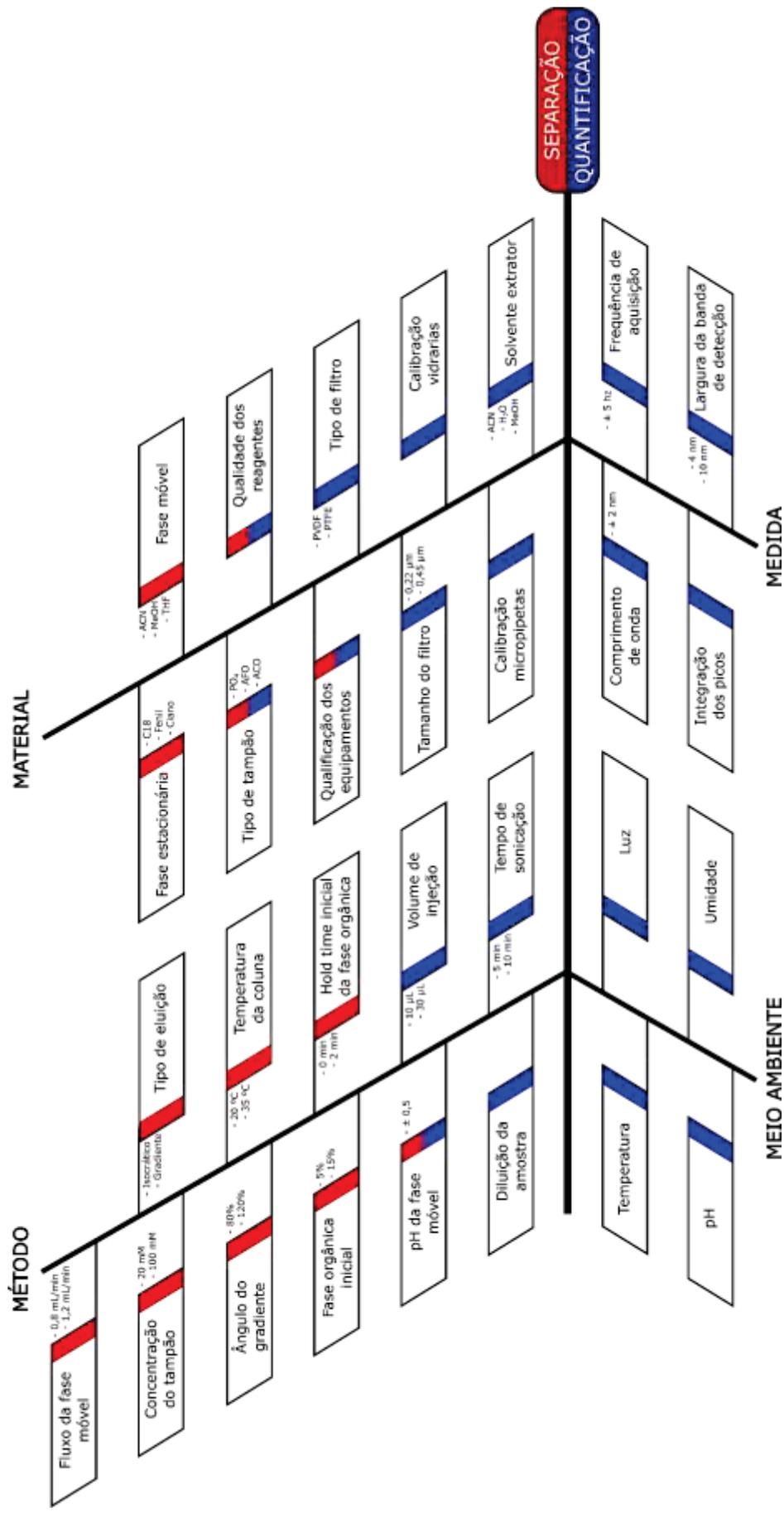
Nota: HAL – haloperído; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; PD – produto de degradação; CMA – atributos críticos do método;  $R_s$  – resolução; T – fator caudal; N – número de pratos teóricos;  $k'$  – fator de retenção; DPR – desvio padrão relativo; S/N – razão sinal-ruído.

Fonte: o autor (2023)

A partir dos CMAs do perfil analítico alvo, um diagrama de Ishikawa foi construído para identificar possíveis parâmetros que potencialmente podem possuir impacto nas métricas de qualidade. Os elementos do ATP foram fixados na extremidade da “causa” do diagrama, visando resumir os diferentes CMAs em dois atributos de qualidade: separação e quantificação. Enquanto os CMPs foram identificados na porção de “efeitos”, sendo relacionados em diferentes braços.

Com o intuito de simplificar a elaboração e a compreensão do diagrama de Ishikawa, foram efetuadas adaptações nos ramos do método 6M para incorporar de forma mais concisa os CMPs. Além disso, visando evitar eventuais questões associadas à mão-de-obra, todos os participantes do projeto passaram por treinamento relacionado à rotina analítica (Figura 21).

FIGURA 20 - DIAGRAMA DE ISHIKAWA PARA OS ELEMENTOS DE QUALIDADE DO MÉTODO



Nota: Etiqueta vermelha – efeito na separação; etiqueta azul – efeito na quantificação; ao lado dos quadros o possível intervalo numérico ou categórico a ser testado; ACN – acetonitrila; MeOH – metanol; PO<sub>4</sub> – tampão fosfato; AFO – tampão formiato; ACO – tampão acetato; THF – tetrahidrofurano; PVDF – fluoreto de polivinilideno; PTFE - politetrafluoretileno  
 Fonte: o autor (2023)

Juntamente com os membros do projeto, foi conduzido um processo de *brainstorming* para identificar as possíveis CMPs presentes em cada segmento do diagrama que possam impactar a separação e quantificação. O segmento "método" proporcionou maior quantidade de parâmetros que poderiam ser avaliados durante o desenvolvimento analítico. Entre as CMPs propostas a serem analisadas, incluem variações no fluxo da fase móvel, concentração do tampão, ângulo do gradiente, porcentagem da fase móvel orgânica inicial, pH da fase móvel, diluição da amostra, tipo de eluição, temperatura da coluna, tempo inicial da fase orgânica (*holdtime*), volume de injeção e tempo de sonicação da amostra. Todas essas CMPs nesse segmento estão relacionadas a operações ou parâmetros numéricos que são inseridos no equipamento para a execução da análise cromatográfica.

As CMPs no segmento "material" referem-se a consumíveis, reagentes ou acessórios utilizados na rotina analítica. Exemplos incluem a fase estacionária, solvente orgânico, tipo de tampão utilizado, qualidade do reagente, tipo de filtro seringa e tamanho do filtro seringa. Alguns parâmetros também abrangem a conformidade dos acessórios, como a qualificação dos equipamentos e micropipetas.

Os parâmetros relacionados à "medição" agrupam CMPs como comprimento de onda de detecção, frequência de aquisição, largura da banda de detecção e integração dos picos. No segmento "ambiente" compreendem fatores externos que podem interferir no equipamento analítico ou na amostra de alguma forma. Exemplos incluem temperatura da sala, umidade e luz.

Após a criação do diagrama, os CMPs identificados foram incorporados ao FMEA para avaliar a criticidade dos parâmetros no desenvolvimento analítico (Tabela 3). Para essa avaliação, cada CMP presente nos diferentes segmentos do diagrama foi registrado em uma tabela, onde se descreveu seu potencial efeito de falha e se atribuiu uma pontuação para sua ocorrência, severidade e detecção, a fim de calcular o RPN. No processo de preenchimento da tabela, a ocorrência foi considerada como a probabilidade de a falha acontecer. Ao atribuir a pontuação para a ocorrência, também foram levadas em conta as flutuações naturais e inerentes do parâmetro, que não estão sob o controle direto do analista. A severidade foi definida com base na magnitude do impacto nos resultados de qualidade, enquanto a detecção refere-se à dificuldade de identificar tais alterações (quanto maior o valor, maior dificuldade). O

RPN foi destacado com cores para simplificar a identificação da categoria na qual aquele CMP se enquadra, podendo ser classificado como "Negligenciável" (branco), "Aceitável" (verde), "Avaliar necessidade" (amarelo), "Médio risco" (laranja) ou "Alto risco" (vermelho).

TABELA 3 - ANÁLISE DE MODO E EFEITO ADAPTADO PARA AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CRÍTICOS DO MÉTODO

Elemento	Ishikawa	CMP	Efeito	O	S	D	RPN
Separação	Material	Fase estacionária	Alteração da interação do analito com FE	3	10	5	150
	Material	Fase orgânica	Alteração da interação do analito com FM	3	10	5	150
	Método	Fluxo da fase móvel	Mudança da retenção de picos	8	9	8	576
	Método	Concentração do tampão	Alteração do potencial elétrico da fase móvel	5	3	7	105
	Método	Tipo de eluição	Mudança da retenção de picos	1	10	1	10
	Método	Ângulo do gradiente	Mudança da retenção de picos	4	9	5	180
	Método	Temperatura da coluna	Alteração da interação intermolecular	7	7	7	343
	Método	Concentração inicial da fase orgânica	Mudança da retenção de picos	4	6	7	168
	Método	Hold time inicial da fase orgânica	Mudança da retenção de picos	3	6	4	72
Separ./Quant.	Material	Tipo de tampão	Variação do pH da fase móvel	3	7	8	168
	Material	Qualidade de reagentes	Impacto direto no desenvolvimento analítico	2	5	8	80
	Material	Qualificação dos equipamentos	Fornecer resultados não confiáveis	4	8	7	224
	Método	pH da fase móvel	Mudança da espécie química do analito	6	8	7	336
Quantificação	Material	Tipo de filtro	Afeta no rendimento do processo extrativo	1	3	1	3
	Material	Tamanho do filtro	Afeta no rendimento do processo extrativo	1	4	1	4
	Material	Calibração vidrarias	Fornecer resultados não confiáveis	4	7	5	140
	Material	Calibração micropipetas	Fornecer resultados não confiáveis	4	7	5	140
	Material	Solvente extrator	Impacto na solubilização dos analitos de interesse	3	9	7	189
	Medida	Comprimento de onda de detecção	Alteração da intensidade de sinal	5	6	5	150
	Medida	Frequência de aquisição	Alteração do ruído e formato do pico	3	4	4	48
	Medida	Largura da banda de detecção	Alteração do ruído e intensidade de sinal	3	5	4	50
	Medida	Integração dos picos cromatográficos	Alteração na área do pico cromatográfico	2	2	2	8

Método	Volume de injeção	Alteração da intensidade de sinal e largura do pico	6	7	8	336
Método	Diluição da amostra	Impacto na solubilização dos analitos de interesse	4	7	6	168
Método	Tempo de sonicação	Impacto na solubilização dos analitos de interesse	3	7	4	84
Meio ambiente	Luz	Afeta estabilidade no armazenamento	4	5	3	60
Meio ambiente	Umidade relativa	Afeta estabilidade no armazenamento	4	5	3	60
Meio ambiente	pH	Afeta estabilidade no armazenamento	4	5	4	80
Meio ambiente	Temperatura	Afeta estabilidade no armazenamento	6	5	3	90

Nota: Vermelho – Alto risco; Laranja – Médio risco; Amarelo – Avaliar necessidade; Verde – Aceitável e Branco – Negligenciável

Fonte: o autor (2023)

Os CMPs que obtiveram RPNs inferiores a 150 pontos foram tabelados e racionalizados acerca de sua exclusão (Tabela 4).

TABELA 4 - PARÂMETROS CRÍTICO DO MÉTODO EXCLUÍDOS DA AVALIAÇÃO

CMP	Efeito	RPN	Racional
Concentração do tampão	Alteração do potencial elétrico da fase móvel	105	Efeito baixo na separação e quantificação
Temperatura	Afeta estabilidade no armazenamento	90	Parâmetro controlado com refrigeração da amostra
Tempo de sonicação	Impacto na solubilização dos analitos de interesse	84	Estudo em solução
Qualidade de reagentes	Impacto direto no desenvolvimento analítico	80	Qualidade controlada com a seleção e compra dos reagentes
Hold time inicial da fase orgânica	Mudança da retenção de picos	72	Parâmetro avaliado no gradiente exploratório
Luz	Afeta estabilidade no armazenamento	60	Parâmetro controlado com armazenamento da amostra
Umidade relativa	Afeta estabilidade no armazenamento	60	Parâmetro controlado com armazenamento da amostra
Largura da banda de detecção	Alteração do ruído e intensidade de sinal	50	Comumente definido em 4 nm de janela
Frequência de aquisição	Alteração do ruído e formato do pico	48	Baixo impacto na separação e quantificação de picos com boa resolução
Tipo de eluição	Mudança da retenção de picos	10	Parâmetro avaliado no gradiente exploratório
Integração dos picos cromatográficos	Alteração na área do pico cromatográfico	8	Método de integração definido no início das aquisições
Tamanho do filtro	Afeta no rendimento do processo extrativo	4	Tamanho definido com o volume da amostra
Tipo de filtro	Afeta no rendimento do processo extrativo	3	Tipo de filtro definido de acordo com tipo de amostra

Fonte: o autor (2023)

Os parâmetros compreendidos nas categorias de “avaliar necessidade”, “médio risco” e “alto risco” foram tabelados, sendo justificados quanto sua inclusão ou exclusão do desenvolvimento analítico (Tabela 5).

TABELA 5 - PARÂMETROS CRÍTICOS DO MÉTODO SIGNIFICATIVOS PARA O MÉTODO ANALÍTICO

CMP	RPN	C ou N	Proposta	Justificativa
Fluxo da fase móvel	576	N	<b>Avaliar durante desenvolvimento</b>	-
Temperatura da coluna	343	N		
pH da fase móvel	336	C e N		
Ângulo do gradiente/proporção FM	180	N		
Fase estacionária	150	C		
Fase orgânica	150	C		
Comprimento de onda de detecção	150	N		
Volume de injeção	336	N		
Qualificação dos equipamentos	224	-	Qualificar os equipamentos	Necessário para fornecer resultados confiáveis
Solvente extrator	189	C	Fixar protocolo de preparo de amostra	Amostras não-complexas possuem preparo simples
Diluição da amostra	168	N	Fixar protocolo de preparo de amostra	Protocolo utilizado em todo experimento
Concentração inicial da fase orgânica	168	N	Fixar valor prévio ao desenvolvimento	Foi utilizado um gradiente exploratório
Tipo de tampão	168	C	Fixar tampão prévio ao desenvolvimento	Escolha é dependente do pKa do HAL
Calibração vidrarias	140	-	Verificar e calibrar vidrarias	Necessário para fornecer resultados confiáveis
Calibração micropipetas	140	-	Verificar e calibrar micropipetas	Necessário para fornecer resultados confiáveis

Nota: C – variável categórica; N – variável numérica

Fonte: o autor (2023)

Os CMPs selecionados para a próxima etapa de avaliação no desenvolvimento do método indicativo de estabilidade do HAL com abordagem AqBd incluem: fase estacionária, fase orgânica, tampão, pH da fase móvel, fluxo da fase móvel, ângulo do gradiente, temperatura da coluna e comprimento de onda de detecção. Recomenda-se que o volume de injeção seja mantido em até 2% do volume total da coluna cromatográfica (com um volume total de 1,75 mL e um volume máximo de injeção de 35 µL). Devido à possibilidade de saturação da coluna, foi estabelecido um intervalo de trabalho entre 10 e 20 µL (Chiralizer, 2010).

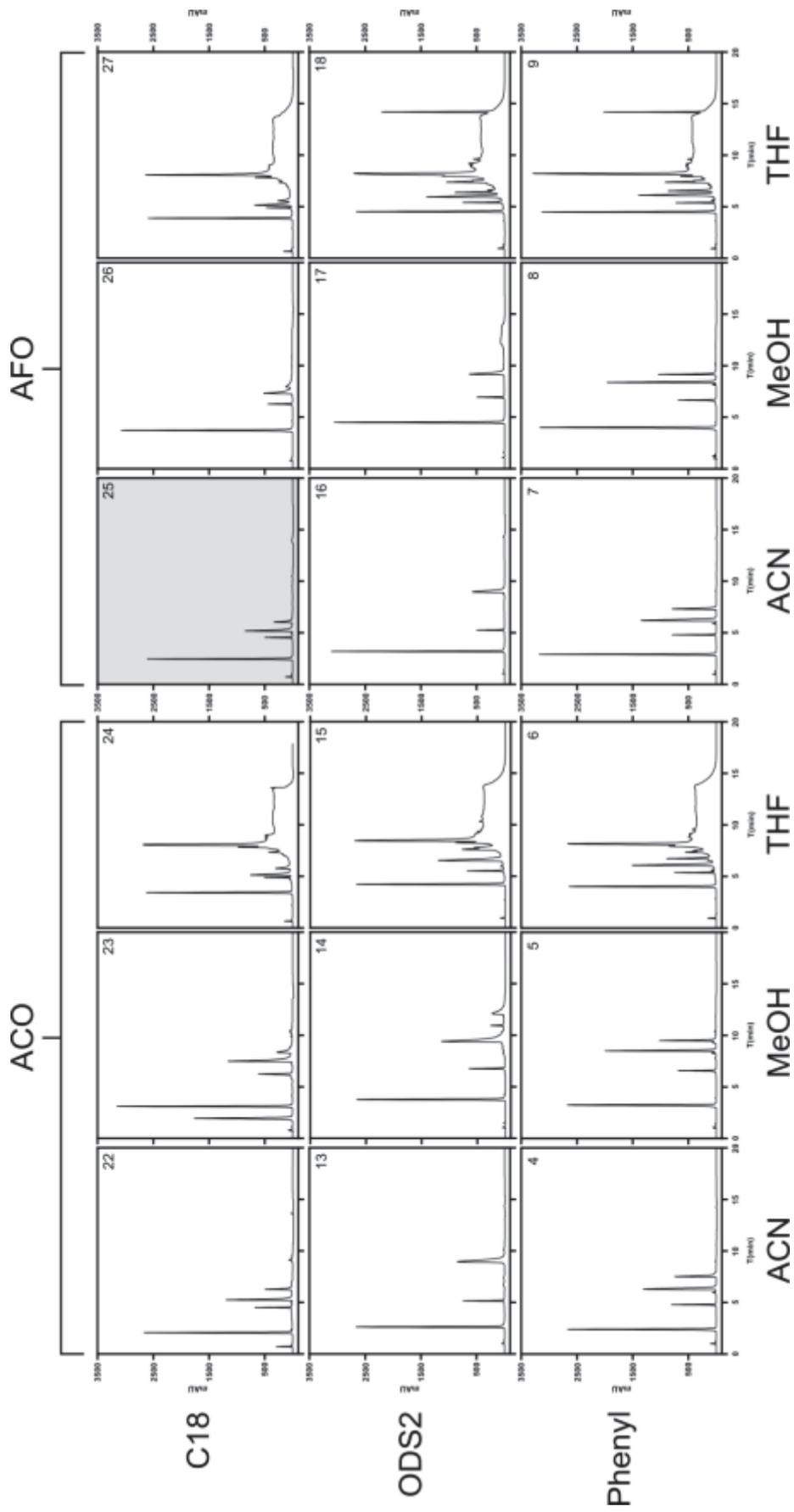
Embora a variável "solvente extrator" seja considerada relevante para o desenvolvimento analítico, ela não foi avaliada neste estudo. Isso se deve ao fato de que amostras não complexas requerem apenas filtração por meio de um filtro seringa PVDF de 0,45 µm para remover quaisquer partículas indesejadas. Além disso, a definição da diluição da amostra foi estabelecida no início do projeto.

#### 2.4.2.2. Seleção das CMPs categóricas

Os CMPs categóricos selecionados para avaliação utilizando um planejamento experimental de fatorial completo ( $3^3$ ) foram fase estacionária (Agilent Zorbax Eclipse XDB-Fenil, Waters Spherisorb ODS2 e Waters Symmetry C18), solvente orgânico (ACN, MeOH e THF) e tipo de tampão (ACO pH 4,8, AFO pH 3,8 e PO<sub>4</sub> pH 7,2) (Figura 22). Nesta figura não foram disponibilizados os cromatogramas referentes aos experimentos que envolviam a avaliação do tampão PO<sub>4</sub> pH 7,2. Isso ocorreu porque, durante os experimentos, observou-se um entupimento da bomba nesta condição. Ao investigar a questão, verificou-se que independentemente do solvente orgânico e ângulo do gradiente, ocorria precipitação do tampão fosfato nesses filtros. Após essa constatação, todos os experimentos que envolviam o tampão foram descartados.

Na Tabela 6 estão listados os CMAs extraídos dos cromatogramas obtidos para auxiliar na decisão da melhor combinação.

FIGURA 21 - MATRIZ DE CROMATOGRAMAS DO FATORIAL COMPLETO PARA SELEÇÃO DA COLUNA, SOLVENTE ORGÂNICO E TIPO DE TAMPÃO



Nota: Cinza - combinação selecionada. Phenyl - Agilent Zorbax Eclipse XDB-Phenyl (4,6 x 150 mm, 5  $\mu$ m); ODS2 - Waters Spherisorb ODS2 (4,6 x 150 mm, 5  $\mu$ m); C18 - Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5  $\mu$ m); ACO - tampão acetato pH 4,8; AFO - tampão formiato pH 3,8; ACN - acetonitrila; MeOH - metanol; THF - tetrahydrofurano. 0 min - 10% B, 10 min - 100% B, 12 min - 100%, 13 min - 10% B, 18 min - 10% B, 18 min - 10% B; fluxo de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>; volume de injeção de 20  $\mu$ L e comprimento de onda de detecção de 246 nm.

Fonte: o autor (2023)

TABELA 6 - FATORIAL COMPLETO PARA CMPs CATEGÓRICAS COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs

N	FE	Tampão	FM orgânica	Picos	Rs PDNIP	Rs NIP	Rs HAL	Rs PDHAL	N HAL	N primeiro pico	k' último pico
1	Fenil	PO <sub>4</sub>	ACN	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Fenil	PO <sub>4</sub>	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Fenil	PO <sub>4</sub>	THF	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Fenil	ACO	ACN	4	10,29	19,54	22,96	5,61	9942	4145	3,72
5	Fenil	ACO	MeOH	4	12,34	23,44	24,02	11,63	43942	5446	4,72
6	Fenil	ACO	THF	4	22,02	10,18	7,35	6,03	11580	9616	3,07
7	Fenil	AFO	ACN	4	14,07	16,84	13,84	5,32	10220	7899	3,40
8	Fenil	AFO	MeOH	4	18,07	19,36	33,00	5,29	38787	9562	4,52
9	Fenil	AFO	THF	4	22,03	7,33	7,29	9,83	36995	16071	2,94
10	ODS2	PO <sub>4</sub>	ACN	-	-	-	-	-	-	-	-
11	ODS2	PO <sub>4</sub>	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-
12	ODS2	PO <sub>4</sub>	THF	-	-	-	-	-	-	-	-
13	ODS2	ACO	ACN	3	12,92	19,62	15,30	-	8389	4719	4,39
14	ODS2	ACO	MeOH	4	17,53	19,41	11,28	6,69	11990	6746	6,29
15	ODS2	ACO	THF	4	23,95	9,34	11,96	3,64	8204	10016	2,94
16	ODS2	AFO	ACN	3	14,60	18,08	17,52	-	12712	10744	4,39
17	ODS2	AFO	MeOH	3	25,95	14,28	11,17	-	16367	13757	4,52
18	ODS2	AFO	THF	4	16,68	7,11	2,47	2,27	10417	14547	2,84
19	C18	PO <sub>4</sub>	ACN	-	-	-	-	-	-	-	-
20	C18	PO <sub>4</sub>	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-
21	C18	PO <sub>4</sub>	THF	-	-	-	-	-	-	-	-
22	C18	ACO	ACN	4	11,06	20,03	5,53	15,74	15834	3296	2,78
23	C18	ACO	MeOH	4	6,16	6,76	19,46	6,34	18023	1699	4,02
24	C18	ACO	THF	4	23,12	3,09	1,56	3,06	8571	8426	2,48
25	C18	AFO	ACN	4	15,37	18,40	4,66	5,11	14009	5958	2,64
26	C18	AFO	MeOH	4	18,81	20,49	5,76	1,66	13365	11446	3,79
27	C18	AFO	THF	4	28,84	8,43	1,47	1,82	7265	12873	2,35

Nota: Níveis dos fatores no plano experimental demonstrados através de cores. Branco: nível -1; cinza claro: nível 0; cinza escuro: nível +1. Em negrito - combinação selecionada. HAL - haloperidol, Rs - resolução (em relação ao pico cromatográfico anterior); Fenil - Agilent Zorbax Eclipse XDB-Phenyl; ODS2 - Waters Spherisorb ODS2; C18 - Waters Symmetry C18; PO<sub>4</sub> - tampão fosfato pH 7,2; ACO - tampão acetato pH 4,8; AFO - tampão formiato pH 3,8; ACN - acetonitrila; MeOH - metanol; THF - tetrahydrofurano. Fonte: o autor (2023)

Para evitar equívocos na comparação dos cromatogramas, foram empregadas amostras em branco com o propósito de assegurar que os picos observados fizessem parte da preparação medicamentosa. Após a confirmação dos picos na amostra em branco, as combinações que incluíam THF (combinações 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27) foram excluídas devido à presença excessiva de picos, o que poderia potencialmente interferir no desenvolvimento analítico.

As combinações 13, 16 e 17 apresentaram a coeluição de picos cromatográficos de interesse (CMA número de picos cromatográficos válidos), o que justificou a exclusão delas da seleção. Ao analisar o CMA de resolução dos picos, somente a combinação 27 não atendeu aos parâmetros de resolução. Em relação aos pratos teóricos, tanto para o HAL quanto para o primeiro pico, todas as combinações produziram resultados acima de 2000. Portanto, esse parâmetro não influenciou na exclusão das combinações experimentais. Com esses parâmetros de separação sendo satisfeitos, o critério de desempenho utilizado foi o menor valor do fator de capacidade do último pico cromatográfico que não pertencesse às combinações excluídas mencionadas anteriormente. Dentro desses critérios, a combinação selecionada foi a de número 25, a qual envolve a utilização da coluna Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm), do tampão formiato pH 3,8 e da ACN. Essas variáveis foram fixadas para a avaliação das CMPs numéricas.

O gradiente exploratório foi refinado para encurtar ou eliminar espaços inutilizados do cromatograma antes das próximas etapas. A regra dos 25/40 foi utilizada para determinar o tipo de eluição. O primeiro pico apresentou um tempo de retenção de 1,97 minutos, enquanto o último pico foi retido foi de 6,4 minutos. A diferença entre esses picos correspondeu a 44,3% do gradiente exploratório de 10 minutos. Quando um valor ultrapassa o intervalo de 25 a 40, a eluição deve ser realizada por gradiente. A calculadora de gradiente disponibilizada por Dolan (2013) visa fazer estes reparos, maximizando o potencial do gradiente. Como é possível ver na Figura 23, a recomendação condiz com a regra dos 25/40.

FIGURA 22 - CÁLCULO DE REFINAMENTO DO GRADIENTE EXPLORATÓRIO

<b>Column:</b> Length: 150.0 mm Diameter: 3.9 mm	<b>Instrument</b> Dwell Vol: 1.8 mL Flow: 1.5 mL/min	<b>Gradient</b> initial %B: 10% final %B: 100% Time: 10 min
<b>Retention</b> First Peak: 2.4 min Last Peak: 6.0 min	<b>Suggested Isocratic</b> %B: 20%	<b>Suggested Gradient</b> initial %B: 9% final %B: 46% Time: 4 min
<b>Recommendation:</b> GRADIENT		

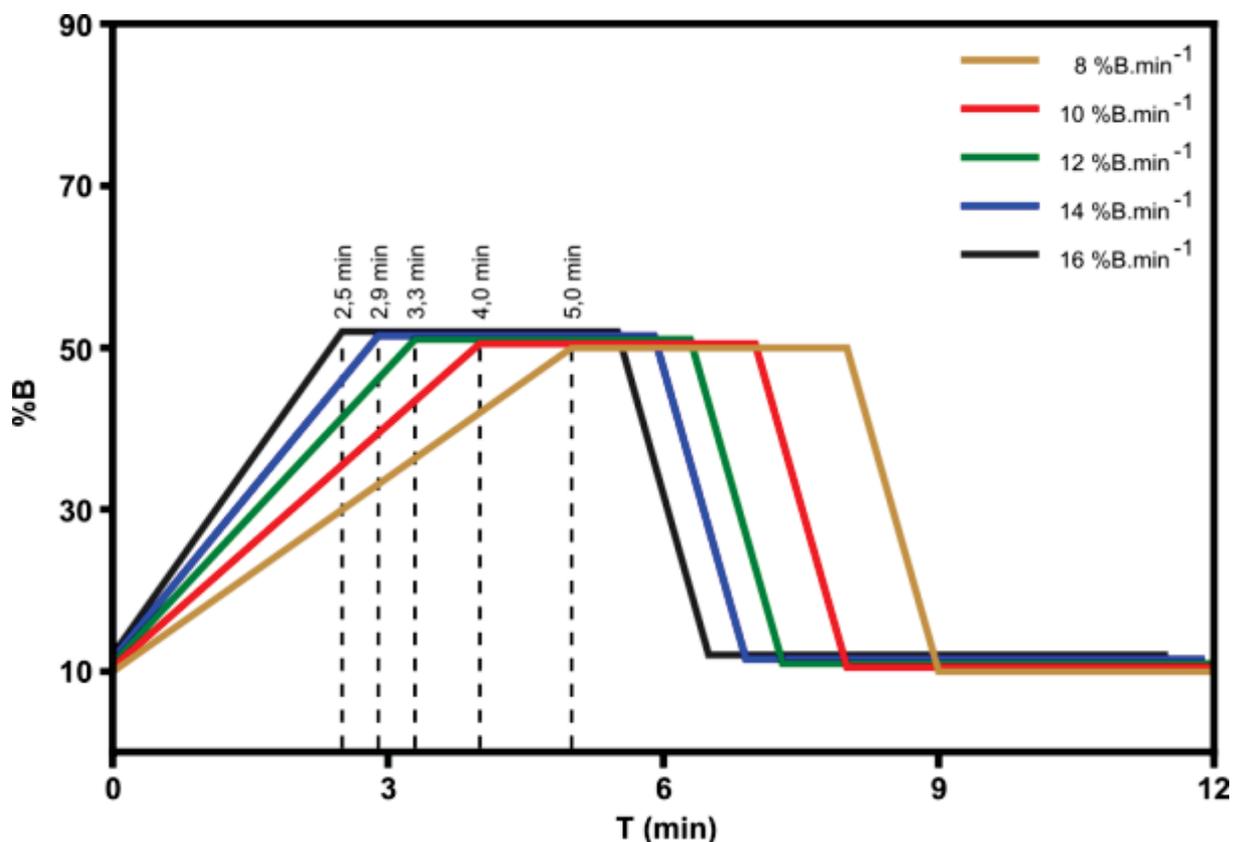
Fonte: Dolan, 2013.

Com base nas dimensões da coluna e no fluxo, foi proposta uma alteração na programação do gradiente, iniciando com 9% da fase orgânica e chegando a 46% em 4 minutos. No entanto, por razões de praticidade e arredondamento, o método foi estabelecido da seguinte forma: 0 minutos - 10% B, 4 minutos - 50% B, 7 minutos - 50% B, 8 minutos - 10%, 13 minutos - 10% B. Esse programa de gradiente resulta em uma taxa de variação de 10% B por minuto, um parâmetro que é otimizado nas CMPs numéricas.

#### 2.4.2.3. Seleção dos CMPs numéricos

Os CMPs numéricos selecionados para avaliação, utilizando um planejamento experimental de fatorial fracionado com ponto central ( $2^{5-1}$ ), foram os seguintes: fluxo da fase móvel (1,3 a 1,7 mL.min<sup>-1</sup>), ângulo do gradiente através da taxa de variação da fase orgânica (8 a 12 %B.min<sup>-1</sup>), temperatura da coluna (15 a 35 °C), comprimento de onda de absorção (240 a 246 nm) e pH (3,3 a 4,3). O ângulo do gradiente foi manipulado alterando o tempo no qual a rampa linear se altera (de 10% até 50% da fase orgânica), conforme Figura 24.

FIGURA 23 - REPRESENTAÇÃO DOS DIFERENTES ÂNGULOS DE GRADIENTES AVALIADOS NO DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO



Fonte: o autor (2023)

Foram avaliados os CMAs relacionados ao HAL (área, resolução adjacente e simetria), bem como atributos ligados à eficiência (pratos teóricos do primeiro pico) e aos fatores de capacidade do primeiro e último pico. Nesta etapa, foram analisados os efeitos das CMPs, bem como foi feita uma avaliação da necessidade de aplicar a EVOP com base na significância da curvatura. Uma vez identificada, o planejamento experimental poderia ser projetado e deslocado para uma região que demonstrasse um rendimento superior. Os desenhos experimentais, juntamente com os resultados dos CMAs extraídos, estão apresentados no Tabela 7.

TABELA 7 - FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAS

N	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Angulo do gradiente		Temperatura (°C)	Comp. de onda (nm)	pH	Área HAL		Rs HAL	Rs PDHAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
		(%B.min <sup>-1</sup> )	(%B.min <sup>-1</sup> )											
1	1,3	8	8	15	240	4,3	1481,0	7,48	7,98	24174	5,12	7,42	0,4	
2	1,7	8	8	15	240	3,3	4381,0	6,54	7,3	15912	2,5	6,95	0,32	
3	1,3	12	12	15	240	3,3	5552,3	2,46	5,88	19056	2,31	4,8	0,36	
4	1,7	12	12	15	240	4,3	2958,2	5,33	7,28	15215	2,68	6,91	0,44	
5	1,3	8	8	35	240	3,3	3882,0	8,19	7,53	14174	2,13	6,24	0,4	
6	1,7	8	8	35	240	4,3	3001,8	10,97	9,08	9232	2,15	8,69	0,42	
7	1,3	12	12	35	240	4,3	4603,1	5,75	7,17	11724	2,02	5,64	0,43	
8	1,7	12	12	35	240	3,3	5650,9	6,16	6,54	11178	1,85	5,15	0,43	
9	1,3	8	8	15	246	3,3	6493,4	4,83	6,37	13380	2,58	6,22	0,3	
10	1,7	8	8	15	246	4,3	3723,1	8,17	8,21	10633	2,91	8,99	0,39	
11	1,3	12	12	15	246	4,3	4277,6	3,86	7,26	13486	2,52	5,97	0,42	
12	1,7	12	12	15	246	3,3	4667,1	3,74	5,87	11903	2,26	5,65	0,37	
13	1,3	8	8	35	246	4,3	4481,6	8,9	8	8485	2,11	7,25	0,41	
14	1,7	8	8	35	246	3,3	3986,0	9,79	8,03	9181	1,98	7,47	0,4	
15	1,3	12	12	35	246	3,3	4634,2	5,08	6,19	11997	1,96	4,76	0,43	
16	1,7	12	12	35	246	4,3	3419,1	7,4	7,24	37808	2,08	6,62	0,45	
17	1,5	10	10	25	243	3,8	5836,3	5,41	6,2	13065	2,41	6,2	0,32	
18	1,5	10	10	25	243	3,8	5802,6	5,41	6,12	13338	2,42	6,23	0,32	
19	1,5	10	10	25	243	3,8	5920,7	5,49	6,15	13065	2,36	6,14	0,32	

Nota: Níveis dos fatores no plano experimental demonstrados através de cores. Branco: nível -1; cinza claro: ponto central; cinza escuro: nível +1. Rs PDHAL equivalente à resolução do pico pós-HAL. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

A ampla maioria dos CMPs demonstrou significância em relação aos CMAs apresentados. Para simplificar a visualização dos diagramas de Pareto e evitar redundância nas representações gráficas, foi elaborada a Tabela 8 com as respectivas significâncias dos efeitos principais. Valores significativos indicam que a inclusão desta CMP (como coeficiente) possui impacto significativo nos valores do CMA.

TABELA 8 - SIGNIFICÂNCIA DOS EFEITOS PRINCIPAIS DOS CMPs EM RELAÇÃO OS CMAs

CMP	Área HAL	Rs HAL	Rs PD-HAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
Fluxo (mL/min)	0,0004	0,0001	0,0001	<b>0,6805</b>	0,0030	0,0001	0,0003
Ângulo do gradiente (%B.min <sup>-1</sup> )	0,0002	0,0001	0,0001	<b>0,0742</b>	0,0011	0,0001	0,0001
Temperatura (°C)	<b>0,7194</b>	0,0001	0,0001	<b>0,3957</b>	0,0004	0,0018	0,0001
Comp. de onda (nm)	0,0002	0,0307	0,0001	<b>0,7322</b>	0,0030	0,0015	0,0117
pH	0,0001	0,0001	0,0001	<b>0,0981</b>	0,0010	0,0001	0,0001

Nota: significâncias demonstradas em p-valor obtidas do ANOVA de regressão. Negrito - não significativo; HAL – haloperidol; PDHAL – produto de degradação do haloperidol; Rs – resolução; n – pratos teóricos; k' – fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

Na Tabela 9, foram apresentados os parâmetros de qualidade de ajuste do modelo. Nesse contexto, o R<sup>2</sup> indica a proporção da variância dos dados capturada pelo modelo, o R<sup>2</sup>-ajustado considera o impacto dos coeficientes sem o risco de *overfitting*, o R<sup>2</sup>-predito avalia o poder de predição aos dados do modelo e a curvatura. Valores significativos (p-valor < 0,05) para o parâmetro da curvatura indicam que a vértice da regressão está localizado fora do intervalo de calibração do modelo, sugerindo a possível necessidade da aplicação da EVOP a fim de explorar a região com rendimento superior. É possível verificar que nesta primeira etapa da avaliação, todos os modelos obtiveram um parâmetro de R<sup>2</sup> superiores a 0,99, com o valor do R<sup>2</sup>-ajustado apresentando boa proximidade em relação a este valor.

TABELA 9 - QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO

Parâmetro	Área HAL	Rs HAL	Rs PD-HAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
R <sup>2</sup>	0,9988	0,9996	0,9996	0,9761	0,9998	0,9998	0,9993
R <sup>2</sup> -ajustado	0,9948	0,9985	0,9986	0,8646	0,9980	0,9990	0,9976
R <sup>2</sup> -predito	0,9425	0,9807	0,9952	NA	NA	0,9963	0,9800
Curvatura	0,0001	0,0001	0,0001	<b>0,3652</b>	0,0017	0,0001	0,0001

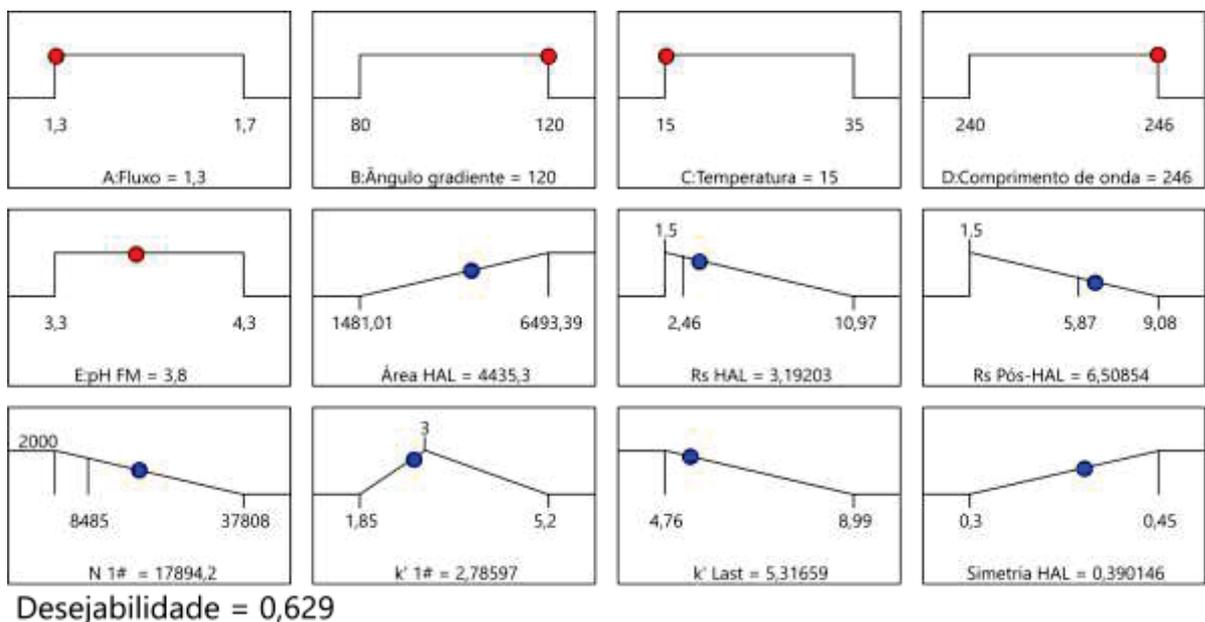
Nota: significâncias demonstradas em p-valor obtidas do ANOVA de regressão. Negrito – curvatura não-significativa

Fonte: o autor (2023)

Para facilitar a tomada de decisão quanto às significâncias da curvatura e à necessidade de EVOP sem avaliá-las individualmente, as superfícies de resposta para todos os CMAs foram combinadas, juntamente com os limites e critérios de qualidade, resultando no gráfico da função de desejabilidade. A necessidade do EVOP foi definida a partir desta função, que indica a qualidade geral em relação a múltiplos objetivos, buscando encontrar um conjunto de condições experimentais que atendam da melhor maneira possível a todas essas metas ao mesmo tempo. Essa função pode admitir valores compreendidos entre 0 e 1, permitindo a avaliação de quão bem os objetivos são atendidos e em qual direção e intervalo de parâmetros o rendimento da desejabilidade aumenta.

A Figura 25 ilustra a combinação dos CMPs responsáveis pelos critérios de qualidade que produzem o maior rendimento comum (desejabilidade) para todos os CMAs. Esses critérios incluem a maximização da área do HAL, uma resolução do HAL de 1,5, uma resolução do PDHAL também de 1,5, 2000 pratos teóricos para o primeiro pico, um fator de capacidade 3 para o primeiro pico, a minimização do fator de capacidade do último pico e a simetria do pico do HAL com valor 1.

FIGURA 24 - CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO E COMBINAÇÃO DE FATORES QUE GERAM MELHOR RENDIMENTO TOTAL DO FATORIAL FRACIONÁRIO

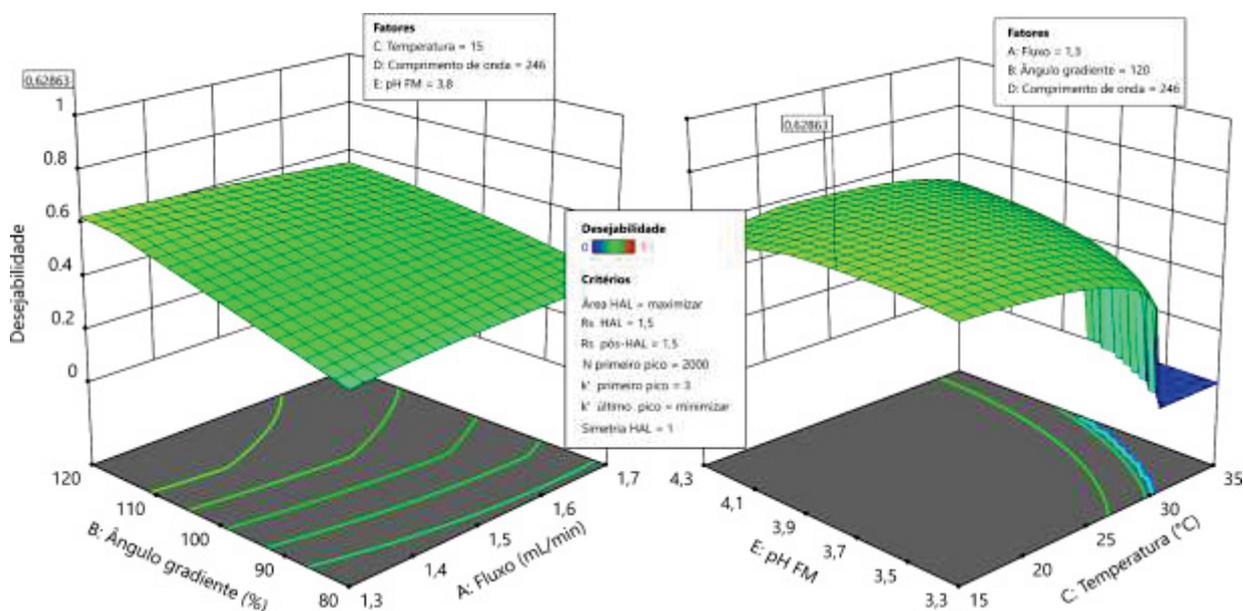


Nota: Fluxo demonstrado em mL.min<sup>-1</sup>; ângulo do gradiente em porcentagem, sendo 100% representado pelo 10 %B.min<sup>-1</sup>; temperatura em °C; comprimento de onda em nm. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

No exemplo acima, a função indica que os melhores resultados dentro deste intervalo experimental são obtidos com a aplicação de um fluxo de  $1,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , um ângulo de gradiente de  $12 \text{ \%B}\cdot\text{min}^{-1}$ , uma temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ , um comprimento de onda de  $246 \text{ nm}$  e um pH da fase móvel de  $3,8$ . Isso resulta em uma área do HAL estimada em  $4435,3 \text{ mAU}$ ,  $R_s$  HAL de  $3,19$ ,  $R_s$  PDHAL de  $6,51$ , número de pratos teóricos do primeiro pico de  $17894$ , um fator de capacidade do primeiro pico de  $2,78$  e  $5,31$  para o último pico, além de uma simetria do HAL de  $0,39$ . Esses resultados otimizados correspondem a  $0,629$  da função de desejabilidade, ou seja,  $62,9\%$  dos critérios foram atendidos nesta combinação. Com exceção do pH, que já apresenta uma curvatura em seu modelo matemático, os outros parâmetros demonstram curvatura ou um maior rendimento fora dos intervalos testados, o que indica a necessidade do EVOP para fluxos abaixo de  $1,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , ângulos de gradiente superiores a  $12 \text{ \%B}\cdot\text{min}^{-1}$  e temperaturas abaixo de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ , como evidenciado na superfície de resposta da função de desejabilidade. (Figura 26).

FIGURA 25 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DA DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO

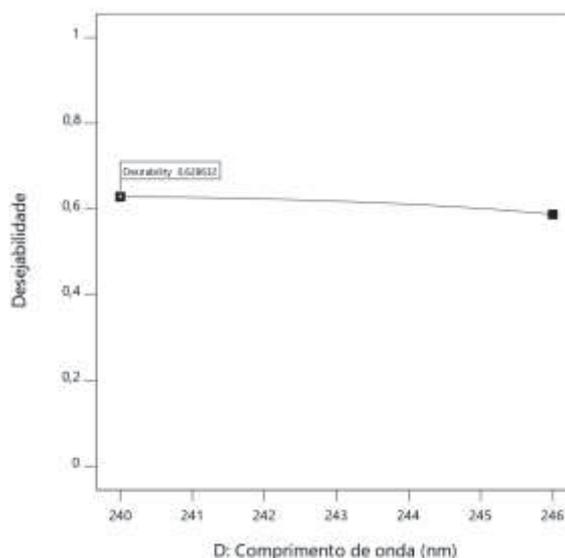


Nota: Fluxo demonstrado em  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; ângulo do gradiente em porcentagem, sendo  $100\%$  representado pelo  $10 \text{ \%B}\cdot\text{min}^{-1}$ ; temperatura em  $^\circ\text{C}$ ; comprimento de onda em  $\text{nm}$ .  $R_s$  - resolução;  $n$  - número de pratos teóricos;  $k'$  - fator de capacidade.

Fonte: O autor (2023)

Por meio do gráfico de efeito em relação à função de desejabilidade (Figura 27), foi possível observar que o CMP comprimento de onda teve pouco impacto na desejabilidade. Portanto, como uma forma de reduzir o tamanho do experimento nas próximas etapas, o comprimento de onda foi fixado em 246 nm, no qual produz a maior absorvidade do HAL.

FIGURA 26 - EFEITO DO COMPRIMENTO DE ONDA NA DESEJABILIDADE



Fonte: o autor (2023)

Tendo em vista esses resultados, foi realizado um EVOP com o objetivo de ajustar o intervalo experimental do fatorial fracionário para abranger a região que oferece os melhores rendimentos de função de desejabilidade. Este novo intervalo incluiu o fluxo da fase móvel variando de 1,1 a 1,5 mL.min<sup>-1</sup>, o ângulo do gradiente entre 10% e 14 %B.min<sup>-1</sup>, a temperatura variando de 5 a 25 °C, enquanto o intervalo de pH foi mantido entre 3,3 e 4,3. O plano experimental e os resultados dos CMAs obtidos estão apresentados na Tabela 10.

A qualidade do ajuste do modelo está demonstrada na Tabela 11, na qual é possível verificar R<sup>2</sup>-ajustados e R<sup>2</sup>-preditos superiores a 0,9, com exceção dos CMA "n do primeiro pico" e "k' último pico", os quais apresentaram desafios na modelagem dos dados. Mesmo que essas duas regressões não tenham atingido os valores desejados, os experimentos prosseguiram no novo intervalo, uma vez que se trata da exploração dos dados e da possibilidade de o novo conjunto de dados proporcionar uma modelagem adequada.

TABELA 10 - FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAS

N	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Ângulo do gradiente (%B.min <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	pH	Área HAL	Rs Hal	Rs PDHAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
1	1,1	10	5	3,3	4694,1	1,65	6,78	15176	2,37	4,86	0,35
2	1,5	10	5	4,3	4736,8	5,72	6,57	55996	2,16	5,72	0,33
3	1,1	14	5	4,3	6296,8	1,67	6,86	16700	2,34	4,77	0,3
4	1,5	14	5	3,3	5509,3	3,56	7,49	10365	2,39	5,53	0,33
5	1,1	10	25	4,3	5520,5	3,55	7,59	10729	2,4	5,54	0,33
6	1,5	10	25	3,3	6555,4	1,53	8,05	16997	2,47	5,34	0,34
7	1,1	14	25	3,3	4860,0	5,1	8,04	56349	2,16	5,84	0,44
8	1,5	14	25	4,3	6654,9	5,51	8,38	71821	2,14	5,79	0,37
9	1,3	12	15	3,8	5495,6	3,57	7,67	10324	2,38	5,52	0,33
10	1,3	12	15	3,8	4731,3	4,8	8,37	10500	2,96	7,53	0,38
11	1,3	12	15	3,8	6432,8	2,36	6,27	10561	1,81	4,49	0,32

Nota: Níveis dos fatores no plano experimental demonstrados através de cores. Branco: nível -1; cinza claro: nível 0; cinza escuro: nível +1. Rs PDHAL equivalente à resolução do pico pós-HAL. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

TABELA 11 - QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA

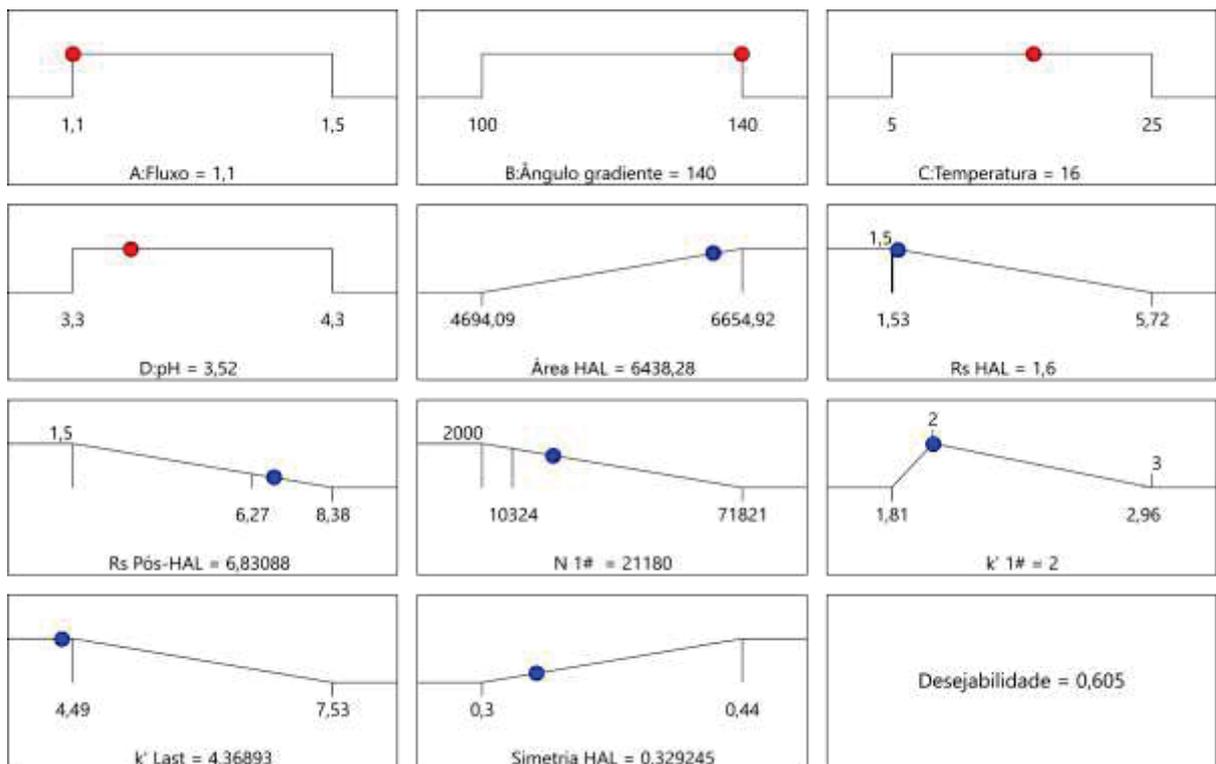
Parâmetro	Área HAL	Rs HAL	Rs PDHAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
R <sup>2</sup>	0,9998	0,9995	0,9929	0,9455	0,9934	0,9636	0,9991
R <sup>2</sup> -ajustado	0,9996	0,9986	0,9872	0,8775	0,9851	0,9181	0,9972
R <sup>2</sup> -predito	0,9977	0,9714	0,9642	0,1289	0,8979	0,4177	0,9393
Curvatura	0,0006	0,0088	0,0362	0,0154	0,0215	<b>0,9424</b>	0,0004

Nota: significâncias demonstradas em p-valor obtidas do ANOVA de regressão. Negrito - não-significativo

Fonte: o autor (2023)

Ao avaliar as significâncias das curvaturas individualmente, o fator de capacidade do último pico demonstrou uma curvatura ( $p\text{-valor} > 0,05$ ), porém a decisão quanto ao EVOP foi tomada similarmente às etapas anteriores, através da superfície de resposta da função de desejabilidade. Seguindo esta lógica, foram aplicados os mesmos limites e metas dos CMAs da etapa anterior, com a exceção do fator de capacidade do primeiro pico (Figura 28). Isso se deve ao fato de que foi observado que em todas as combinações foram obtidos valores inferiores a 3, permitindo assim a flexibilização desse critério para um fator de capacidade alvo de 2, valor este que ainda é sugerido como mínimo adequado para o CMA (FDA, 1994).

FIGURA 27 - CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO E COMBINAÇÃO DE FATORES QUE GERAM MELHOR RENDIMENTO TOTAL DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA

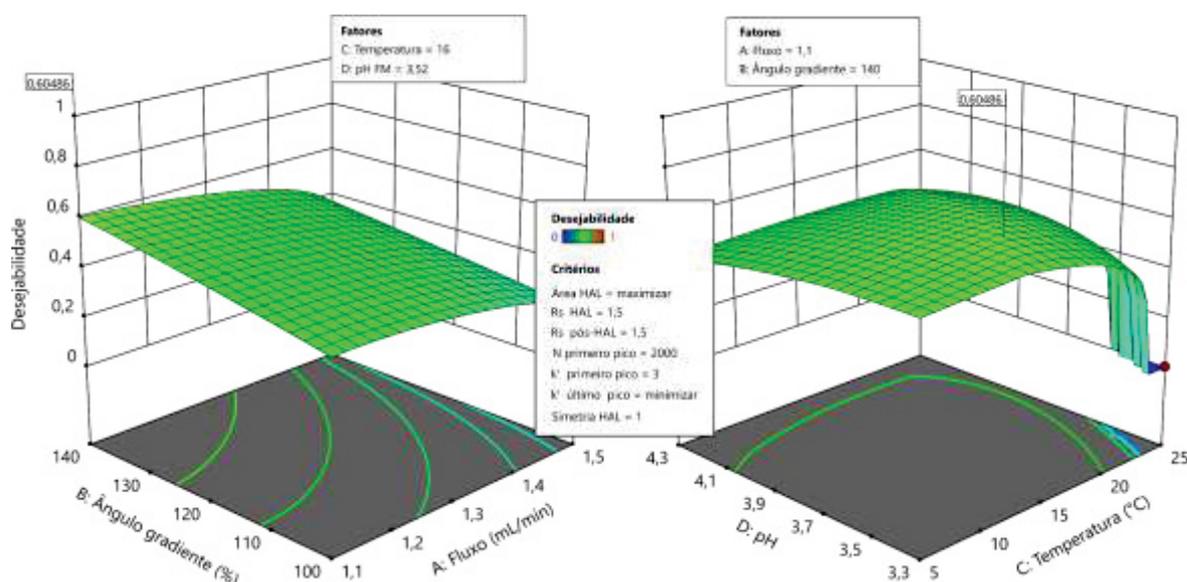


Nota: Fluxo demonstrado em  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; ângulo do gradiente em porcentagem, sendo 100% representado pelo 10  $\text{B}\cdot\text{min}^{-1}$ ; temperatura em  $^{\circ}\text{C}$ ; comprimento de onda em nm. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

Os melhores resultados dentro deste intervalo experimental são obtidos com a aplicação de um fluxo de  $1,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , um ângulo de gradiente de  $14 \text{ B}\cdot\text{min}^{-1}$ , uma

temperatura de 16 °C e um pH da fase móvel de 3,52. Isso resulta em uma área do HAL estimada em 6438,28 mAU, Rs HAL de 1,6, Rs PDHAL de 6,83, número de pratos teóricos do primeiro pico de 21180, um fator de capacidade do primeiro pico de 2 e 4,37 para o último pico, além de uma simetria do HAL de 0,32. Esses resultados otimizados correspondem a 0,605 da função de desejabilidade. A Figura 29 apresenta a superfície de resposta da função de desejabilidade do fatorial fracionário após a primeira EVOP, e é possível observar que a temperatura e o pH alcançam seu rendimento máximo dentro do intervalo testado. Por outro lado, o fluxo da fase móvel ainda indica um aumento do rendimento para fluxos abaixo de 1,1 mL.min<sup>-1</sup> e ângulos de gradiente superiores a 1,4 %B.min<sup>-1</sup>.

FIGURA 28 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DE DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA



Nota: Fluxo demonstrado em mL.min<sup>-1</sup>; ângulo do gradiente em porcentagem, sendo 100% representado pelo 10 %B.min<sup>-1</sup>; temperatura em °C; comprimento de onda em nm. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

A fim de explorar os intervalos com melhores rendimentos, foi conduzido uma segunda EVOP mantendo os intervalos de pH e temperatura inalterados, no qual já apresentavam curvatura da desejabilidade, enquanto ajustando o ângulo do gradiente para variar de 12% a 16% B.min<sup>-1</sup> e o fluxo da fase móvel de 0,9 a 1,3 mL.min<sup>-1</sup>.

A combinação de fatores deste EVOP, juntamente com seus CMAs, está apresentada na Tabela 12, e a qualidade do ajuste do modelo está refletida na Tabela 13.

TABELA 12 - FATORIAL FRACIONÁRIO PARA SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS CMPs NUMÉRICAS APÓS PRIMEIRA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA COM RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAS

N	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Ângulo do gradiente (%)	Temperatura (°C)	pH	Área HAL	Rs Hal	Rs pós-HAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
1	0,9	120	5	3,3	0*	0,49	7,02	22675	2,116	4,072	0*
2	1,3	120	5	4,3	6411,49	4,14	6,72	13590	1,946	4,538	0,38
3	0,9	160	5	4,3	0*	0*	7,67	25175	2,014	3,803	0*
4	1,3	160	5	3,3	7531,52	1,88	6,98	17164	1,892	4,034	0,34
5	0,9	120	25	4,3	7458,41	1,88	6,96	17299	1,898	4,039	0,34
6	1,3	120	25	3,3	0*	0*	6,84	20579	1,721	3,738	0*
7	0,9	160	25	3,3	6127,5	3,46	7,7	8988	1,63	4,22	0,41
8	1,3	160	25	4,3	8414,29	3,23	8,23	10765	1,58	3,976	0,37
9	1,1	140	15	3,8	7474,88	1,89	6,98	17257	1,886	4,027	0,34
10	1,1	140	15	3,8	6277,68	2,54	7,97	15516	2,13	5,066	0,34
11	1,1	140	15	3,8	9463,02	1,23	6,72	21326	1,621	3,22	0,37

Nota: Níveis dos fatores no plano experimental demonstrados através de cores. Branco: nível -1; cinza claro: nível 0; cinza escuro: nível +1. Rs PDHAL equivalente à resolução do pico pós-HAL. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade. \* Pico cromatográfico do HAL coeluiu com o do NIP

Fonte: o autor (2023)

TABELA 13 - QUALIDADE DO AJUSTE DE MODELO DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS SEGUNDA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA

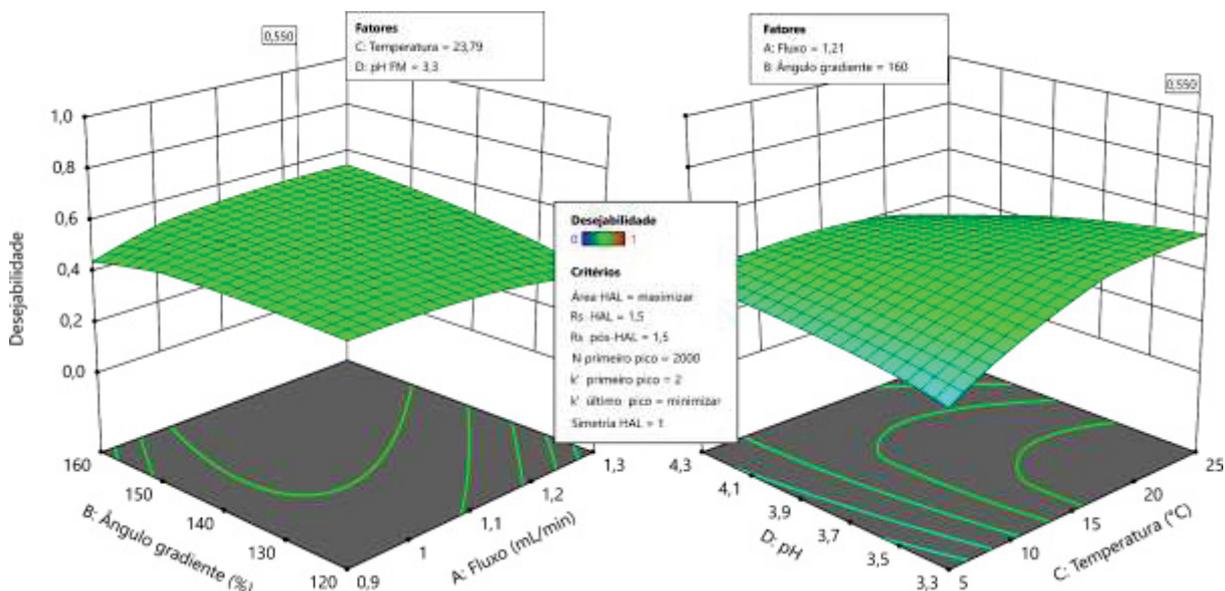
Parâmetro	Área HAL	Rs HAL	Rs PDHAL	N primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL
R <sup>2</sup>	0,8157	0,9999	0,9498	0,9999	0,9995	0,9999	0,6685
R <sup>2</sup> -ajustado	0,7235	0,9998	0,8494	0,9999	0,9984	0,9997	0,6271
R <sup>2</sup> -predito	0,2627	0,9950	NA	0,9999	0,9778	0,9986	0,4107
Curvatura	<b>0,0586</b>	<b>0,8630</b>	<b>0,0702</b>	0,0001	0,0034	0,0011	<b>0,1724</b>

Nota: significâncias demonstradas em p-valor obtidas do ANOVA de regressão. Negrito - não-significativo

Fonte: o autor (2023)

A Figura 30 apresenta a superfície de resposta da função de desejabilidade. Com esta última EVOP, foi possível detectar defeitos cromatográficos, como a coeluição de picos cromatográficos, incluindo valores “zero” no conjunto de dados. Esses defeitos podem causar problemas na modelagem dos dados, resultando em inconsistências nos modelos matemáticos gerados e, conseqüentemente, afetando a precisão da superfície de resposta.

FIGURA 29 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA FUNÇÃO DE DESEJABILIDADE DO FATORIAL FRACIONÁRIO APÓS SEGUNDA OPERAÇÃO EVOLUCIONÁRIA



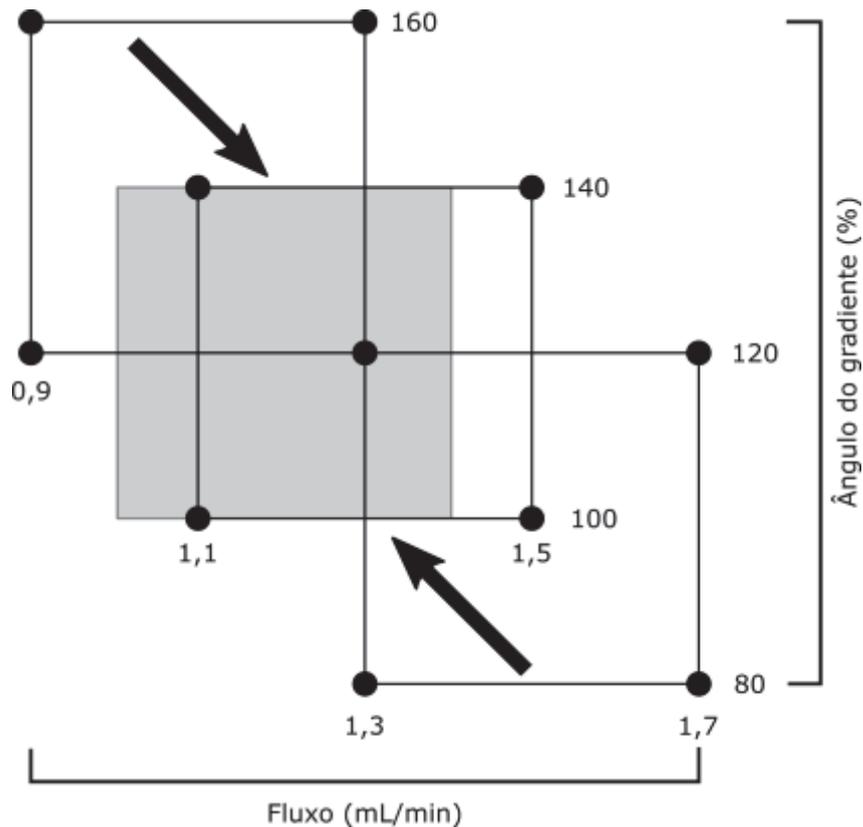
Nota: Fluxo demonstrado em mL.min<sup>-1</sup>; ângulo do gradiente em porcentagem, sendo 140% representado pelo 14 %B.min<sup>-1</sup>; temperatura em °C; comprimento de onda em nm. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

Tendo em vista esses resultados, foi decidido retornar ao intervalo de CMPs do experimento de EVOP anterior, com o objetivo de evitar intervalos que incluam defeitos cromatográficos e possam comprometer a modelagem de dados. Na Figura 31, há um desenho esquemático representando o histórico de EVOPs executados neste desenvolvimento analítico. Inicialmente, o fluxo da fase móvel variou de 0,9 mL.min<sup>-1</sup> para 1,7 mL.min<sup>-1</sup>, definindo o BBD no intervalo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup> até 1,4 mL.min<sup>-1</sup>. O ângulo do gradiente foi explorado de 8 %B.min<sup>-1</sup> até 16 %B.min<sup>-1</sup> (80 até 160%), sendo definido no intervalo do BBD de 10 %B.min<sup>-1</sup> até 14 %B.min<sup>-1</sup>. E,

finalmente, a temperatura do forno da coluna cromatográfica não foi representada na figura, uma vez que a inclusão de um terceiro eixo poderia dificultar a visualização da progressão dos intervalos. No entanto, a temperatura foi investigada nos intervalos de 35 °C até 5 °C, sendo fixada em 5 °C e 25 °C para o BBD.

FIGURA 30 - OPERAÇÕES EVOLUCIONÁRIAS APLICADAS NO DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO DEMONSTRANDO REGIÃO PARA CONSTRUÇÃO DO DESENHO BOX-BEHNKEN



Nota: em cinza - região definida para construção do desenho Box-Behnken

Fonte: o autor (2023)

#### 2.4.2.4. Ajuste de modelo de regressão, Região Operacional do Método (MODR) e estratégia de controle

Os intervalos de CMPs definidos através da exploração do EVOP foram testados, sendo mostrados na Tabela 14 em conjunto com seus respectivos resultados de CMAs. Estes dados foram utilizados para definir um modelo matemático para cada um dos CMAs, podendo contemplar diferentes funções polinomiais.

TABELA 14 - DESENHO DE BOX-BEHINKEN PARA GERAÇÃO DO MODR COM OS RESPECTIVOS RESULTADOS DOS CMAs

N	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Ângulo do gradiente (%B.min <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	pH	Rs PDNIP	Rs NIP	Rs HAL	Rs PDHAL	N primeiro pico	K' primeiro pico	k' último pico	Simetria HAL	Simetria NIP	Simetria PDHAL	Simetria PD NIP
1	1,0	10	15	3,8	22,09	18,21	3,62	8,27	15949	2,01	4,52	0,38	0,89	0,38	1,17
2	1,4	10	15	3,8	20,19	18,77	5,59	8	11215	2,24	5,59	0,41	0,97	0,56	1,21
3	1,0	14	15	3,8	21,94	15,54	2,01	7,89	19846	1,83	3,84	0,39	0,95	0,41	1,04
4	1,4	14	15	3,8	20,24	16,78	3,48	7,79	14098	2,05	4,64	0,44	0,86	0,53	1,11
5	1,2	12	5	3,3	23,25	16,53	1,7	7,35	19238	2,22	4,47	0,4	1,03	0,48	1,02
6	1,2	12	25	3,3	18,23	15,82	3,85	6,79	10451	1,89	4,31	0,39	0,87	0,48	1,33
7	1,2	12	5	4,3	17,37	18,53	2,33	7,98	16441	2,04	4,74	0,36	1,08	0,49	1,1
8	1,2	12	25	4,3	13,8	18,05	4,59	7,83	8560	1,69	4,57	0,39	0,89	0,48	1,38
9	1,0	12	15	3,3	22,13	15,89	1,89	7,3	18490	1,94	3,95	0,37	1,03	0,38	1,06
10	1,4	12	15	3,3	20,1	16,69	3,69	7,08	12900	2,17	4,85	0,39	0,93	0,49	1,16
11	1,0	12	15	4,3	15,65	17,86	2,71	7,84	15264	1,77	4,21	0,36	0,93	0,43	1,14
12	1,4	12	15	4,3	16,82	18,94	4,4	7,8	10573	1,95	5,1	0,39	0,96	0,51	1,19
13	1,2	10	5	3,8	24,47	18,8	3,33	8,1	17802	2,35	5,18	0,39	0,95	0,54	1,07
14	1,2	14	5	3,8	23,66	16,21	1,63	7,93	21429	2,09	4,33	0,41	0,99	0,43	1
15	1,2	10	25	3,8	18,03	17,71	5,85	7,75	8700	1,93	4,97	0,4	0,91	0,51	1,4
16	1,2	14	25	3,8	18,39	15,88	3,73	7,57	11512	1,79	4,15	0,43	0,87	0,51	1,25
17	1,0	12	5	3,8	24,24	16,58	1,42	8	23395	2,04	4,17	0,39	1,02	0,44	1,01
18	1,4	12	5	3,8	22,63	17,61	3,07	8,04	17019	2,31	5,09	0,41	0,92	0,54	1,06
19	1,0	12	25	3,8	19,29	16,19	3,54	7,8	12680	1,76	4,02	0,43	0,87	0,5	1,29
20	1,4	12	25	3,8	17,17	17,01	5,4	7,59	8792	1,93	4,89	0,45	0,91	0,55	1,35
21	1,2	10	15	3,3	21,21	17,64	4,04	7,17	13193	2,18	4,92	0,36	0,94	0,45	1,21
22	1,2	14	15	3,3	21,1	15,54	2,18	7,07	16409	1,98	4,1	0,39	0,92	0,47	1,06
23	1,2	10	15	4,3	15,85	19,99	4,75	8	10982	1,96	5,16	0,36	0,95	0,5	1,24
24	1,2	14	15	4,3	15,72	17,63	2,86	7,7	13822	1,81	4,35	0,38	0,89	0,5	1,12
25	1,2	12	15	3,8	21,33	17,33	3,44	7,87	15051	2,01	4,54	0,39	0,89	0,51	1,13
26	1,2	12	15	3,8	21,2	17,31	3,45	7,98	15001	2,02	4,54	0,41	0,88	0,51	1,13
27	1,2	12	15	3,8	21,37	17,33	3,44	7,91	15111	2,02	4,54	0,41	0,88	0,5	1,12

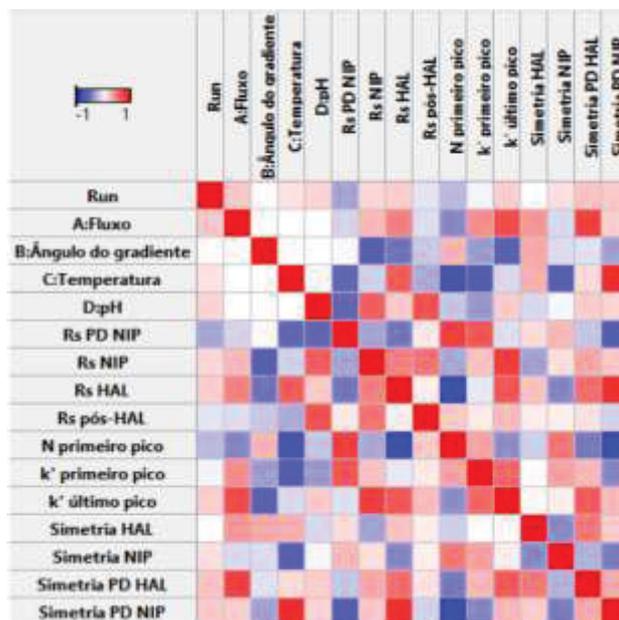
Nota: Níveis dos fatores no plano experimental demonstrados através de cores. Branco: nível -1; cinza claro: nível 0; cinza escuro: nível +1. Rs PDHAL equivalente à resolução do pico pós-HAL. Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; K' - fator de capacidade.

Fonte: o autor (2023)

Na avaliação do BBD, foram incluídos os CMAs relacionados às resoluções e simetrias do NIP e PDs. Por outro lado, as áreas dos picos cromatográficos foram excluídas. Isso ocorre porque, na etapa de definição do MODR, o critério de qualidade não visa maximizar a área do pico, mas sim estabelecer o intervalo que define uma linha de corte para criar uma zona operacional do método. Durante as etapas anteriores do EVOP, buscaram-se valores otimizados para a área do HAL, presumindo-se que nesta região operacional se encontram os melhores valores dessa variável. Além disso, a definição do valor limite para a área se torna um desafio, uma vez que estabelecer um valor de corte seria baseado em um critério arbitrário que não necessariamente representaria um desvio de qualidade. Sendo assim, os CMAs avaliados foram  $R_s$  PDNIP,  $R_s$  NIP,  $R_s$  HAL,  $R_s$  PDHAL,  $n$  do primeiro pico,  $k'$  do primeiro pico,  $k'$  do último pico, simetria PDNIP, simetria NIP, simetria HAL e simetria PDHAL.

Em relação aos resultados obtidos, foi possível verificar a correlação entre os CMPs e CMAs (Figura 32). Dentre os valores, destacam-se as seguintes correlações: a temperatura com a simetria do PDNIP (0,861), a simetria do PDHAL (0,759) e o número do primeiro pico (-0,793). Isso indica um forte efeito de primeira ordem desse CMP com esses CMAs, ou seja, aumentos na temperatura estão associados ao aumento da simetria dos picos do PDNIP e PDHAL, enquanto diminui o número de pratos teóricos do primeiro pico. Ao observar as correlações entre as próprias CMAs, destacam-se a correlação entre  $R_s$  HAL com a simetria do PDNIP (0,846) e o número do primeiro pico (-0,899). Isso também indica que quando  $R_s$  HAL aumenta devido aos CMPs aplicados, a simetria do PDNIP aumenta com uma forte correlação.

FIGURA 31 - MAPA DE CORRELAÇÕES ENTRE CMPs E CMAs DOS EXPERIMENTOS DE BOX-BEHNKEN.



Nota: vermelho - correlações positivas; azul - correlações negativas

Fonte: o autor (2023)

Foram empregadas diferentes ordens de modelagem, bem como transformações nos dados, a fim de otimizar os valores da qualidade de ajuste. Os modelos, juntamente com seus respectivos coeficientes, foram selecionados com base nos parâmetros de significância do modelo, na ausência de falta de ajuste (*lack-of-fit*), no  $R^2$ , no  $R^2$ -ajustado, no  $R^2$ -predito e na razão sinal/ruído. Nas Tabelas 15, 16 e 17, pôde-se verificar que todos os CMA's apresentaram comportamento em modelos quadráticos ( $n = 2$ ), cúbicos ( $n = 7$ ) e quárticos ( $n = 2$ ). Em todas as regressões, a significância do modelo foi inferior a 0,0001, com falta-de-ajuste superior a 0,05, indicando a adequação da ordem do modelo. Além disso, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram superiores a 0,9, o que indica que o modelo conseguiu capturar a variância dos dados.

A observação dos valores das significâncias dos coeficientes revela que alguns fatores apresentaram valores acima de 0,05. A inclusão destes fatores no modelo foi justificada pelo parâmetro de  $R^2$ -ajustado, que demonstrou aumento sempre que um coeficiente foi adicionado. A interpretação está relacionada ao fato de que o valor de  $R^2$  tende a aumentar quando um preditor é adicionado, mesmo quando não há uma melhoria significativa no modelo. Por outro lado, o valor de  $R^2$ -ajustado indica a

variação na resposta que é explicada pelo modelo, ajustada para o número de preditores em relação ao número de observações. Isso sugere que a inclusão de um preditor que aumente o valor de R<sup>2</sup>-ajustado pode de fato melhorar o modelo, mesmo que esse coeficiente não possua significância.

Em situações em que o R<sup>2</sup> aumenta com a adição de um coeficiente, enquanto o R<sup>2</sup>-ajustado não mostra aumento, isso pode indicar a ocorrência de sobreajuste (overfitting). Em outras palavras, o modelo se ajusta tão bem aos dados de treinamento que começa a capturar o ruído presente nos dados em vez de aprender os padrões subjacentes. Esse fenômeno pode resultar em um desempenho deficiente na capacidade do modelo de generalizar para novos dados.

TABELA 15 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE EFICIÊNCIA E FATOR DE CAPACIDADE

n do primeiro pico			k' do primeiro pico			k' do último pico		
Cúbico reduzido			Cúbico reduzido			Cúbico reduzido		
Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor
A	-191290	< 0,0001	A	0,37	< 0,0001	A	7,96	< 0,0001
B	-255,09	< 0,0001	B	-0,02	< 0,0001	B	0,006	< 0,0001
C	-5002,29	< 0,0001	C	0,07	< 0,0001	C	-0,003	< 0,0001
D	17661,0	< 0,0001	D	0,36	< 0,0001	D	0,79	< 0,0001
AB	-63,37	0,0022	AC	-0,10	< 0,0001	AB	-0,08	< 0,0001
AC	3722,00	< 0,0001	AD	1,21	0,0005	AC	-0,006	0,0082
AD	26547,5	0,0049	BC	0,0003	< 0,0001	B <sup>2</sup>	-0,00003	< 0,0001
BC	34,24	0,0088	BD	0,001	0,0005	D <sup>2</sup>	-0,07	< 0,0001
CD	45,30	0,0047	CD	-0,03	0,0652	AB <sup>2</sup>	0,0002	0,0012
A <sup>2</sup>	71984,0	< 0,0001	A <sup>2</sup>	-0,69	0,0275	B <sup>2</sup> C	1,41.10 <sup>-7</sup>	0,0254
B <sup>2</sup>	1,78	0,0076	B <sup>2</sup>	0,00005	< 0,0001	Intercepto	-0,43	
D <sup>2</sup>	-4998,55	< 0,0001	C <sup>2</sup>	0,0005	0,8444			
A <sup>2</sup> C	-1421,25	< 0,0001	D <sup>2</sup>	-0,07	< 0,0001			
A <sup>2</sup> D	-10125,0	0,0256	A <sup>2</sup> C	0,04	0,0016			
B <sup>2</sup> C	-0,15	< 0,0001	AD <sup>2</sup>	-0,18	0,0150			
Intercepto	100694		BC <sup>2</sup>	-5,00.10 <sup>-6</sup>	0,0075			
			CD <sup>2</sup>	0,004	0,0157			
			Intercepto	1,77				
<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001	
<b>Lack-of-Fit</b>	0,1425		<b>Lack-of-Fit</b>	0,7493		<b>Lack-of-Fit</b>	0,2498	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9995		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9997		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9998	
<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9989		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9992		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9996	
<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9969		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9963		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9992	
<b>S/R</b>	150,08		<b>S/R</b>	169,50		<b>S/R</b>	332,34	

Nota: A - fluxo da fase móvel; B - ângulo do gradiente; C - temperatura; D - pH; S/R - sinal/ruído; p-valor - significância por ANOVA de regressão  
Fonte: o autor (2023)

TABELA 16 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE RESOLUÇÕES

Rs PDNIP			Rs NIP			Rs HAL			Rs PDHAL		
Cúbico reduzido			Quártico reduzido			Cúbico reduzido			Quadrático reduzido		
Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor
A	201,58	< 0,0001	A	-14,69	< 0,0001	A	10,05	< 0,0001	A	-0,33	0,0064
B	-0,03	0,2997	B	-0,17	< 0,0001	B	-0,11	< 0,0001	B	-0,005	< 0,0001
C	5,10	< 0,0001	C	-0,73	< 0,0001	C	0,26	< 0,0001	C	-0,07	< 0,0001
D	230,38	< 0,0001	D	-2,92	< 0,0001	D	8,54	< 0,0001	D	13,20	< 0,0001
AC	-2,01	0,2488	AB	0,21	< 0,0001	AB	-0,03	< 0,0001	CD	0,02	0,0136
AD	-98,59	< 0,0001	AC	-0,03	0,0033	AC	0,03	0,0001	C <sup>2</sup>	-0,0007	0,0343
BC	0,0015	0,0166	AD	0,7	0,0007	AD	-0,27	0,0097	D <sup>2</sup>	-1,68	< 0,0001
CD	-2,30	0,0048	BC	0,007	< 0,0001	BC	-0,003	< 0,0001	Intercepto	-16,78	
A <sup>2</sup>	-13,78	0,4713	BD	-0,07	0,0010	CD	0,02	0,0097			
C <sup>2</sup>	-0,003	0,0037	CD	0,16	0,0020	A <sup>2</sup>	-0,54	0,0159			
D <sup>2</sup>	-32,39	< 0,0001	A <sup>2</sup>	2,92	< 0,0001	B <sup>2</sup>	0,0005	< 0,0001			
A <sup>2</sup> C	0,81	0,0495	B <sup>2</sup>	-0,0001	< 0,0001	C <sup>2</sup>	0,001	< 0,0001			
AD <sup>2</sup>	14,02	0,0001	C <sup>2</sup>	-0,003	< 0,0001	D <sup>2</sup>	-1,00	< 0,0001			
CD <sup>2</sup>	0,31	0,0002	D <sup>2</sup>	1,14	< 0,0001	B <sup>2</sup> C	0,0001	0,0012			
Intercepto	-395,16		A <sup>2</sup> B	-0,05	0,0073	B <sup>2</sup> D	-3,72.10 <sup>-6</sup>	0,0168			
			B <sup>2</sup> C	-0,00003	0,0004	C <sup>2</sup> D	-0,0004	0,0084			
			B <sup>2</sup> D	0,0003	0,0082	Intercepto	-14,91				
			CD <sup>2</sup>	-0,02	0,0217						
			A <sup>2</sup> B <sup>2</sup>	-0,00008	0,1255						
			Intercepto	41,76							
<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001	
<b>Lack-of-Fit</b>	0,1402		<b>Lack-of-Fit</b>	0,1565		<b>Lack-of-Fit</b>	0,0864		<b>Lack-of-Fit</b>	0,3952	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9976		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9999		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9999		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9687	
<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9947		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9996		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9998		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9572	
<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9741		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9976		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9992		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9248	
<b>S/R</b>	66,33		<b>S/R</b>	214,54		<b>S/R</b>	321,55		<b>S/R</b>	32,79	

Nota: A - fluxo da fase móvel; B - ângulo do gradiente; C - temperatura; D - pH; S/R - sinal/ruído; p-valor - significância por ANOVA de regressão

Fonte: o autor (2023)

TABELA 17 - MODELOS DE REGRESSÃO PARA CMAs DE SIMETRIA

Simetria PDNIP			Simetria NIP			Simetria HAL			Simetria PDHAL		
Quadrático reduzido			Cúbico reduzido			Cúbico reduzido			Quártico reduzido		
Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor	Fator	Coef.	p-valor
A	0,03	< 0,0001	A	0,12	0,0883	A	0,06	< 0,0001	A	1,31	< 0,0001
B	-0,06	< 0,0001	B	0,01	0,1113	B	0,0006	0,0001	C	-0,05	< 0,0001
C	0,15	< 0,0001	C	-0,03	0,0001	C	-0,01	0,0445	D	0,92	< 0,0001
D	0,03	< 0,0001	AB	-0,01	0,015	D	0,84	0,0485	AB	0,001	0,0011
BC	-0,02	0,0700	AC	0,02	0,0063	CD	0,002	0,0250	AC	0,009	0,0039
C <sup>2</sup>	0,05	< 0,0001	AD	0,05	0,0100	C <sup>2</sup>	0,0001	0,0078	AD	-0,08	0,0517
D <sup>2</sup>	0,02	0,0004	A <sup>2</sup>	0,27	0,0241	D <sup>2</sup>	-0,12	< 0,0001	BC	0,0004	< 0,0001
Intercepto	1,13		C <sup>2</sup>	0,00002	0,0033	A <sup>2</sup> C	0,0004	0,0133	A <sup>2</sup>	-0,27	< 0,0001
			D <sup>2</sup>	-0,003	0,0001	Intercepto	-1,25		D <sup>2</sup>	-0,10	< 0,0001
			CD <sup>2</sup>	-0,0002	0,0031				AB <sup>2</sup>	-0,00002	0,0001
			Intercepto	0,41					AC <sup>2</sup>	0,001	0,0642
									BC <sup>2</sup>	-8,14.10 <sup>-6</sup>	< 0,0001
									C <sup>2</sup> D	0,0001	0,0027
									CD <sup>2</sup>	-0,0006	0,0016
									A <sup>2</sup> C <sup>2</sup>	-0,0008	< 0,0001
									Intercepto	-2,25	
<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001		<b>Modelo</b>	< 0,0001	
<b>Lack-of-Fit</b>	0,1581		<b>Lack-of-Fit</b>	0,0574		<b>Lack-of-Fit</b>	0,8648		<b>Lack-of-Fit</b>	0,4606	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9902		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9077		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9189		<b>R<sup>2</sup></b>	0,9912	
<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9866		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,8500		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,8829		<b>R<sup>2</sup>-ajust.</b>	0,9793	
<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9807		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,7116		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,8031		<b>R<sup>2</sup>-pred.</b>	0,9379	
<b>S/R</b>	56,92		<b>S/R</b>	14,52		<b>S/R</b>	19,49		<b>S/R</b>	34,57	

Nota: A - fluxo da fase móvel; B - ângulo do gradiente; C - temperatura; D - pH; S/R - sinal/ruído; p-valor - significância por ANOVA de regressão  
 Fonte: o autor (2023)

O  $R^2$ -predito é calculado através de uma fórmula que equivale à remoção sistemática de cada observação do conjunto de dados, estimando a equação de regressão e avaliando se o modelo consegue manter uma boa previsão da observação retirada. Um  $R^2$ -predito significativamente menor que o  $R^2$  pode sugerir que o modelo está sofrendo de *overfitting*. Além disso, os valores de Sinal/Ruído do modelo têm como objetivo identificar se os efeitos observados representam verdadeiros efeitos ou simplesmente flutuações naturais nos dados, considerando valores acima de 4 S/R como indicativos de efeito real.

A partir dos modelos de regressão, foi desenvolvido um *overlay plot* para definir a zona robusta do método. Para isso, foram utilizados os seguintes CMAs (e seus valores de corte) na geração do MODR através do BBD:

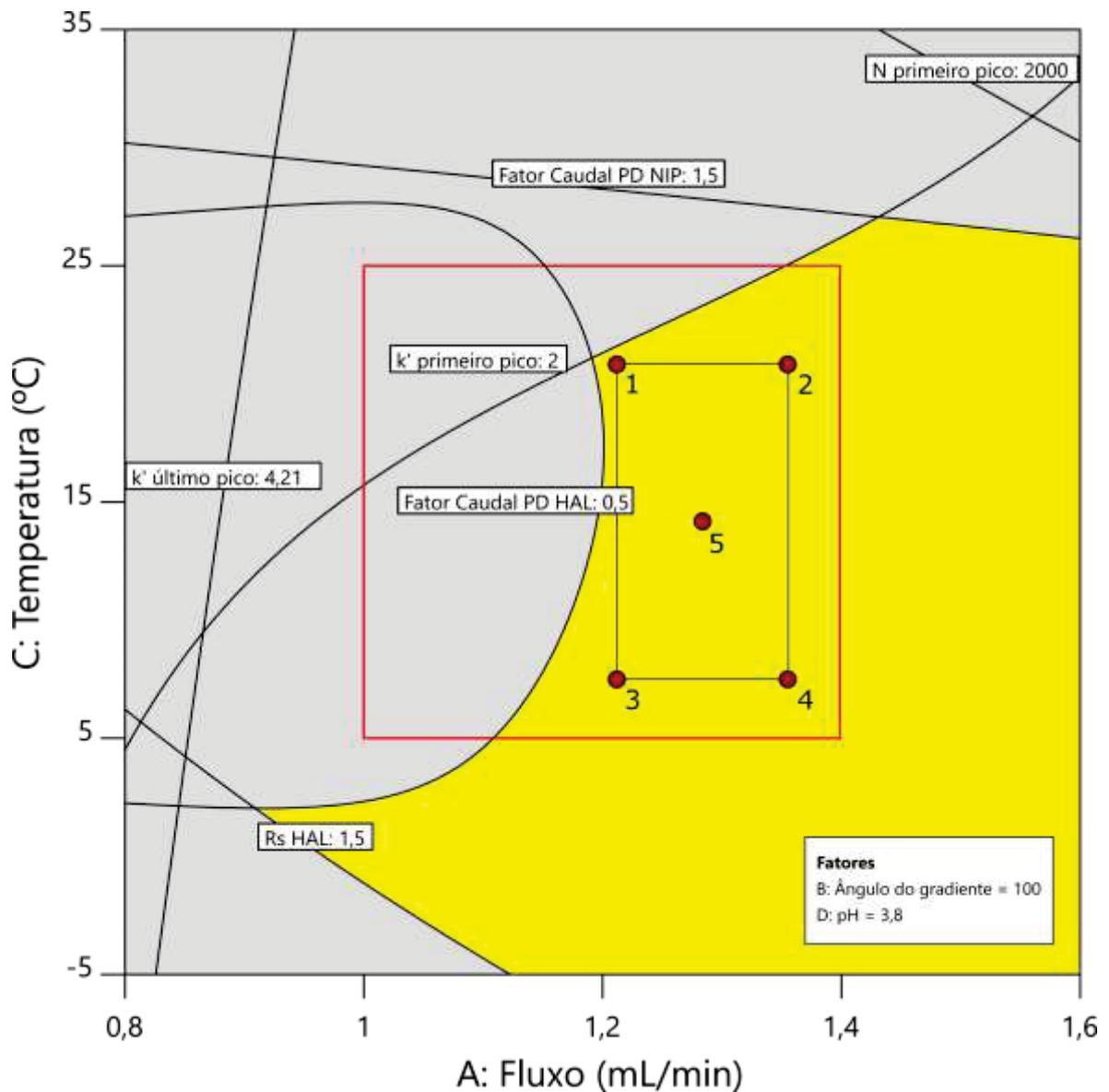
- Rs PDNIP superior a 1,5;
- Rs NIP superior a 1,5;
- Rs HAL superior a 1,5;
- Rs PDHAL superior a 1,5;
- n do primeiro pico superior a 2000;
- k' do primeiro pico superior a 2;
- k' do último pico superior a 4,21, valor representado pelo primeiro quartil dos dados;
- PDNIP entre 0,5 e 1,5;
- simetria do NIP entre 0,5 e 1,5;
- simetria do PDHAL entre 0,5 e 1,5.

A simetria do HAL foi excluída da geração do MODR, uma vez que, mesmo durante o EVOP, este parâmetro demonstrou dificuldades em atingir valores acima de 0,5. Mesmo dentro deste intervalo experimental, todos os valores permaneceram distantes da simetria 1,0.

Estes limites de CMAs dividem o *overlay plot* em duas partes: na região cinza configuram-se os intervalos em que a qualidade não é atendida, enquanto na região amarela o parâmetro é contemplado. Nas Figuras 33, 34 e 35, demonstra-se o *overlay plot* com seus respectivos limites de CMAs e a região do MODR delimitada por um retângulo preto. Além disso, os pontos experimentais de NOC e PAR são representados em vermelho para a validação do desenho experimental. O quadro

vermelho indica a região experimental avaliada no BBD, enquanto a região fora do quadrado vermelho corresponde às predições dos modelos de regressão fora do plano experimental. Os eixos foram definidos como o fluxo da fase móvel, temperatura e pH, por serem parâmetros de fácil controle na metodologia analítica, enquanto o parâmetro de ângulo do gradiente foi mantido fixo.

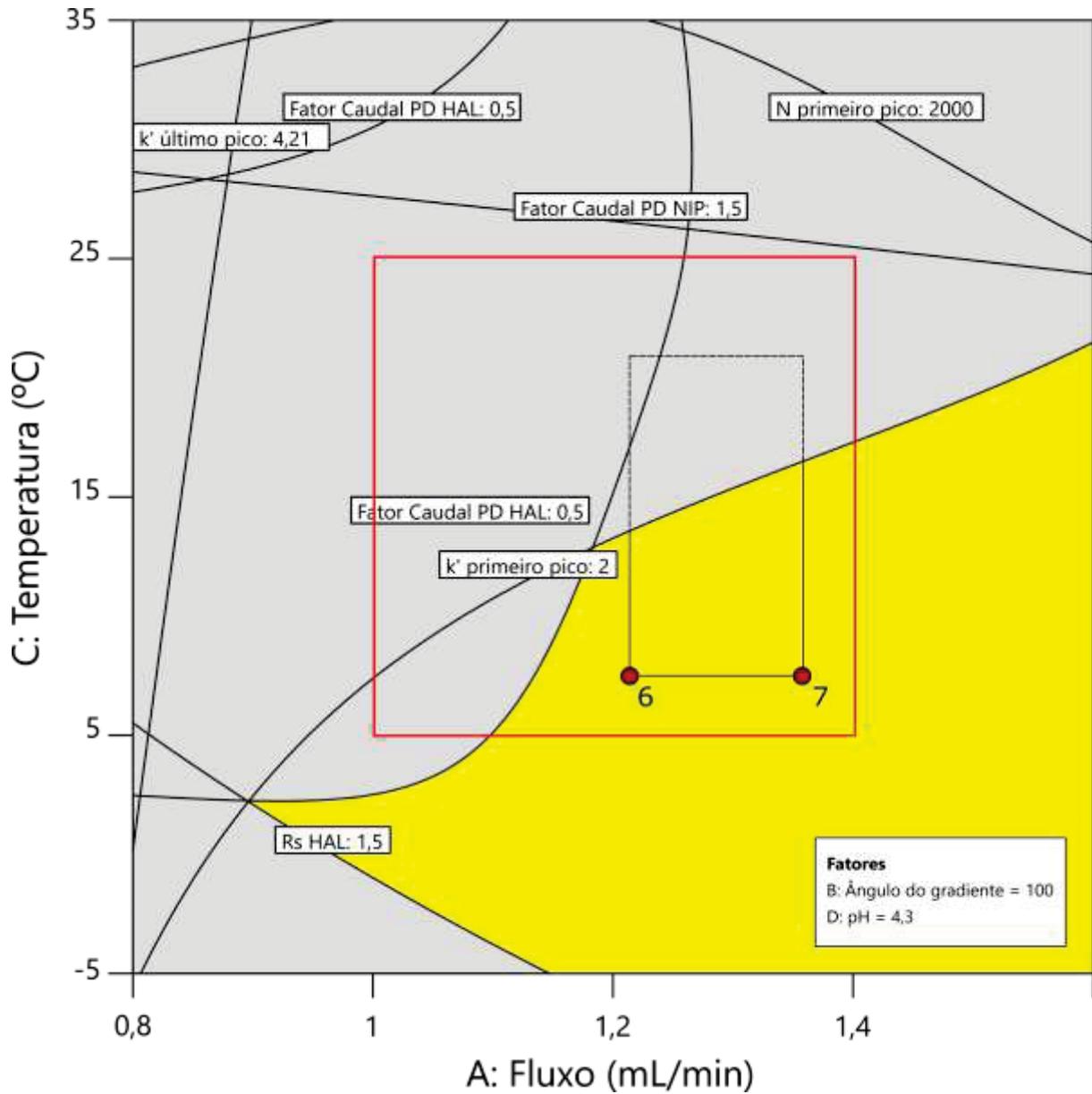
FIGURA 32 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 3,8



Nota: retângulo preto - MODR (intervalo operacional do método); quadrado vermelho - intervalo experimental do Box-Behnken design; 1, 2, 3 e 4 representam PAR (pontos experimentais provados como aceitáveis) e 5 representa o NOC (condições normais de operação)

Fonte: O autor (2023)

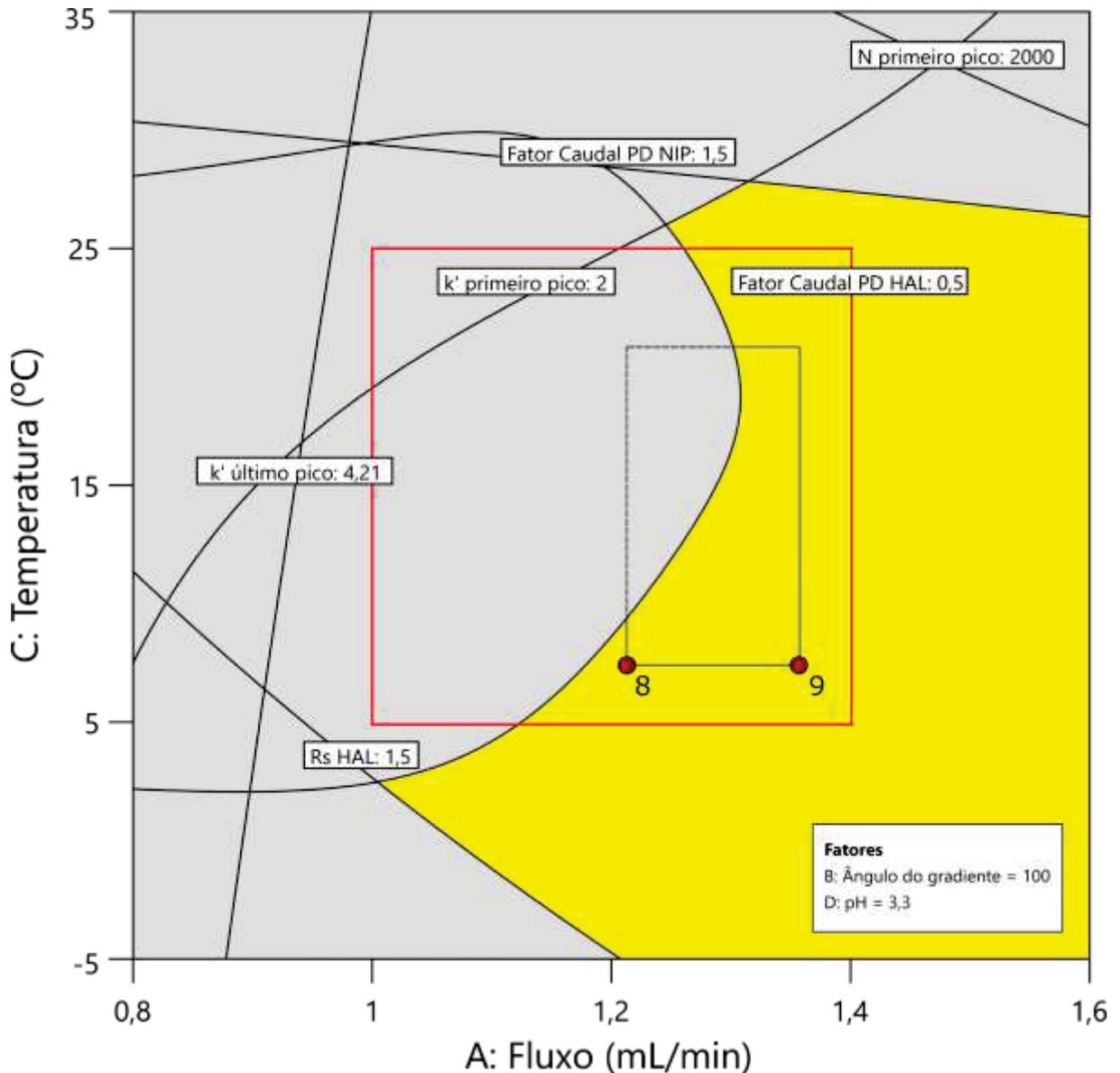
FIGURA 33 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 4,3



Nota: retângulo preto - MODR (intervalo operacional do método); quadrado vermelho - intervalo experimental do Box-Behnken design; 6 e 7 representam PAR (pontos experimentais provados como aceitáveis).

Fonte: o autor (2023)

FIGURA 34 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO PARA pH 3,3



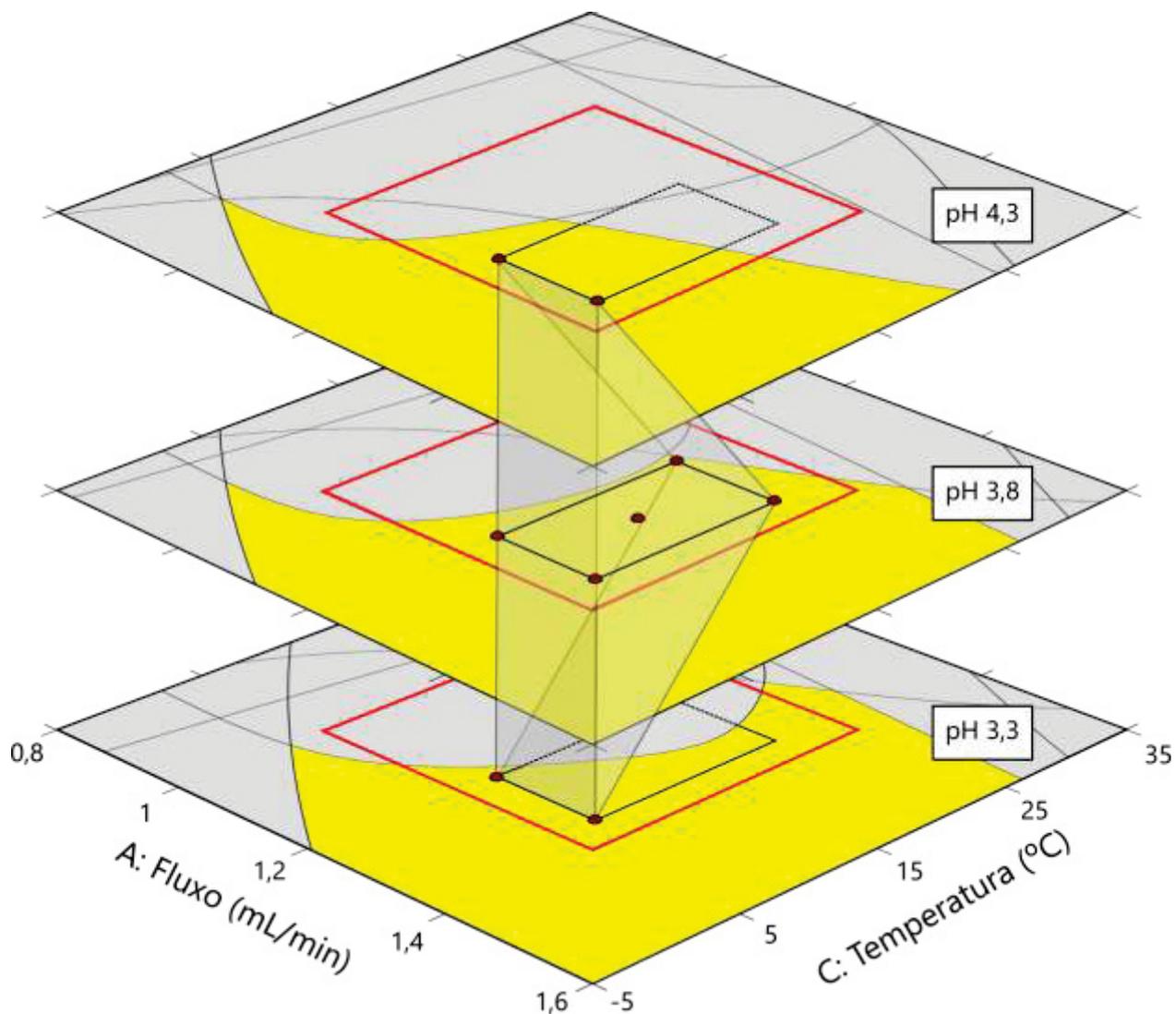
Nota: retângulo preto - MODR (intervalo operacional do método); quadrado vermelho - intervalo experimental do Box-Behnken design; 8 e 9 representam PAR (pontos experimentais provados como aceitáveis).

Fonte: o autor (2023)

Para facilitar a visualização, as três figuras foram sobrepostas para ilustrar uma região operacional em três dimensões. Na Figura 36, é possível indicar a MODR do método para as variáveis simultaneamente. O ângulo do gradiente permaneceu fixo, uma vez que, garantido a conformidade do equipamento, o programa do gradiente é o parâmetro que sofre menos flutuações aleatórias, proporcionando, portanto, um

maior controle sobre ele. Além disso, a inclusão desse parâmetro dificultaria a visualização da MODR em um quarto eixo.

FIGURA 35 - OVERLAY PLOT CONTENDO O INTERVALO OPERACIONAL DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL



Nota: retângulo preto - MODR (intervalo operacional do método); quadrado vermelho - intervalo experimental do Box-Behnken design; pontos vermelhos representam PAR (pontos experimentais provados como aceitáveis) e o NOC (condições normais de operação)

Fonte: o autor (2023)

Após a definição dos PARs e NOC (Quadro 13), esses pontos foram testados univariadamente para verificar se o modelo de regressão fornece boas previsões dos CMAs modelados de forma concordante.

QUADRO 13 - CONJUNTO DE CMPs PARA OS PONTOS EXPERIMENTAIS DOS PARs E NOC

Ponto experimental	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	pH
NOC 5	1,3	15	3,8
PAR 1	1,2	20	3,8
PAR 2	1,35	20	3,8
PAR 3	1,2	8	3,8
PAR 4	1,35	8	3,8
PAR 6	1,2	8	4,3
PAR 7	1,35	8	4,3
PAR 8	1,2	8	3,3
PAR 9	1,35	8	3,3

Nota: ângulo do gradiente fixado em 10 %B.min<sup>-1</sup> para todos experimentos; Fluxo e temperatura do NOC definidos nestes valores por questão de arredondamento.

Fonte: o autor (2023)

As confirmações foram conduzidas em triplicatas para cada ponto experimental, e a avaliação foi realizada comparando a exatidão do valor estimado pelo modelo com o valor obtido na confirmação experimental para os pontos de PAR e NOC. A determinação da exatidão foi calculada como a média das porcentagens de concordância tanto para os pontos experimentais quanto para os CMAs.

Ao analisar os resultados apresentados na Tabela 18, é possível verificar que as acurácias médias para todos os pontos experimentais estão compreendidas entre 100,3% e 103,7%, enquanto as acurácias dos CMAs variam de 94,2% a 111,4%. É importante ressaltar que o modelo matemático foi incapaz de prever o número de pratos teóricos do primeiro pico cromatográfico, apresentando um desvio significativo em relação à previsão, com valores de acurácia próximos de 50%. Portanto, esse CMA foi excluído da avaliação final. Para todos os outros CMAs, o modelo matemático foi considerado capaz de produzir resultados próximos aos fornecidos pelos experimentos com boa acurácia.

Uma vez que esses dados foram comprovados, o método indicativo de estabilidade desenvolvido por meio da abordagem AQbD foi considerado adequado e eficaz para seu propósito. Durante o curso deste estudo, as análises sistemáticas permitiram uma avaliação abrangente do processo, identificando os fatores que impactam no mesmo e fornecendo informações úteis para o seu controle. Isso solidificou a evidência, a robustez e a confiança no método desenvolvido, sendo as condições normais de operação demonstradas no Quadro 14.

QUADRO 14 - CONDIÇÕES NORMAIS DE OPERAÇÃO DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL

<b>Fase estacionária</b>	Waters Symmetry C18 (3,9 x 150 mm, 5 µm)
<b>Tipo de eluição</b>	Gradiente
<b>Fase aquosa</b>	Tampão formiato pH 3,8 – 100 mM
<b>Fase orgânica</b>	Acetonitrila
<b>Gradiente</b>	0 min – 10%B; 4 min – 50%B; 6 min – 50%; 7 min - 10%B; 12 min - 10%B
<b>Fluxo</b>	1,3 mL.min <sup>-1</sup>
<b>Temperatura</b>	15 °C
<b>Volume de injeção</b>	20 µL
<b>Comprimento de onda</b>	246 nm
<b>Concentração de análise central</b>	200 µg.mL <sup>-1</sup>

Fonte: o autor (2023)

O desenvolvimento analítico com abordagem AQbD se mostrou superior ao desenvolvimento univariado. Desde a concepção do projeto, é possível estimar todo o plano experimental para avaliar sistematicamente os parâmetros envolvidos no processo de separação cromatográfica, economizando o número de análises e solvente, além de eliminar o desenvolvimento por tentativa e erro. Adicionalmente, no desenvolvimento multivariado procura-se entender o processo por completo, gerando informações de robustez e identificando o que poderia impactar na metodologia analítica e usar essas informações para controlar o processo. Esses aspectos não são avaliados de forma simultânea na abordagem univariada.

O desenvolvimento realizado totalizou cerca de 25 horas de corrida cromatográfica. No entanto, compará-lo diretamente com um desenvolvimento univariado é um desafio, uma vez que não se sabe quantas análises são necessárias no OFaT, nem quando se atingiram os valores otimizados, e também o fato de que esta abordagem não explora as regiões fora dos pontos experimentais.

Em questões legislativas, os órgãos reguladores já reconhecem a abordagem AQbD como uma ferramenta poderosa no desenvolvimento de métodos analíticos de qualidade. Apesar de ainda ser uma abordagem opcional, estamos caminhando para um futuro no qual o desenvolvimento univariado poderá cair em desuso, tornando-se necessária a publicação de estudos com protocolos detalhados sobre como executar a abordagem.

TABELA 18 - CONFIRMAÇÃO DOS PONTOS EXPERIMENTAIS PARA VALIDAÇÃO DO MODR

Ponto	Rs PDNIP	Rs NIP	Rs HAL	Rs PDHAL	n primeiro pico	k' primeiro pico	k' último pico	Simetria PDNIP	Simetria NIP	Simetria PDHAL	Média acurácias para cada ponto*
Predição	20,9	18,7	5,1	8,0	12183	2,18	5,33	1,20	0,92	0,53	
NOC 5 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	21,6±0,01	19,2±0,01	5,3±0,01	8,5±0,06	12657±5	2,18±0,01	5,32±0,01	1,00±0,01	0,90±0,01	0,55±0,01	
Acurácia	<b>103,4</b>	<b>102,7</b>	<b>103,9</b>	<b>105,4</b>	<b>103,9</b>	<b>99,9</b>	<b>99,8</b>	<b>83,4</b>	<b>118,1</b>	<b>102,2</b>	<b>102,1±8,9</b>
Predição	19,7	18,2	5,3	7,9	10952	2,03	5,01	1,28	0,89	0,50	
PAR 1 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	21,7±0,1	19,7±0,01	5,5±0,01	8,5±0,09	13151±181,7	2,02±0,01	5,0±0,01	0,96±0,01	1,04±0,01	0,53±0,01	
Acurácia	<b>110,2</b>	<b>108,1</b>	<b>104,4</b>	<b>106,8</b>	<b>120,1</b>	<b>99,7</b>	<b>99,6</b>	<b>74,8</b>	<b>116,7</b>	<b>105,7</b>	<b>102,9±11,8</b>
Predição	19,0	18,4	6,0	7,9	9550	2,10	5,41	1,30	0,93	0,55	
PAR 2 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	20,8±0,1	19,8±0,03	6,1±0,1	8,4±0,1	11685±95	2,11±0,03	5,41±0,01	0,94±0,04	1,01±0,03	0,54±0,02	
Acurácia	<b>109,6</b>	<b>107,4</b>	<b>101,6</b>	<b>106,0</b>	<b>122,4</b>	<b>100,6</b>	<b>100,0</b>	<b>72,0</b>	<b>108,2</b>	<b>97,5</b>	<b>100,3±11,4</b>
Predição	23,5	18,8	3,7	8,1	16413	2,28	5,13	1,09	0,94	0,52	
PAR 3 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	22,5±0,4	17,9±0,2	3,9±0,05	8,6±0,07	13984±656	2,25±0,02	5,11±0,02	1,05±0,02	1,09±0,02	0,55±0,01	
Acurácia	<b>96,1</b>	<b>94,9</b>	<b>103,9</b>	<b>105,7</b>	<b>85,2</b>	<b>98,7</b>	<b>99,5</b>	<b>95,3</b>	<b>115,6</b>	<b>105,1</b>	<b>101,6±6,7</b>
Predição	22,7	19,0	4,4	8,1	14835	2,37	5,54	1,12	0,96	0,58	
PAR 4 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	22,3±0,1	18,1±0,1	4,7±0,02	8,6±0,08	12837±1448	2,36±0,01	5,50±0,01	1,05±0,02	1,11±0,01	0,57±0,01	
Acurácia	<b>98,4</b>	<b>95,4</b>	<b>102,8</b>	<b>106,1</b>	<b>86,5</b>	<b>99,5</b>	<b>99,2</b>	<b>93,3</b>	<b>115,3</b>	<b>97,7</b>	<b>100,9±6,6</b>
Predição	17,4	20,2	3,8	8,0	13819	2,11	5,24	1,15	1,02	0,53	
PAR 6 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	12,9±0,2	17,1±0,3	4,4±0,01	8,7±0,04	7763±467	2,07±0,01	5,23±0,01	1,80±0,07	1,04±0,01	0,49±0,01	
Acurácia	<b>74,3</b>	<b>84,9</b>	<b>115,4</b>	<b>108,9</b>	<b>56,2</b>	<b>98,0</b>	<b>99,8</b>	<b>157,1</b>	<b>101,5</b>	<b>93,0</b>	<b>103,7±23,5</b>
Predição	17,7	20,4	4,47	7,95	12296	2,18	5,64	1,17	1,06	0,58	
PAR 7 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	15,0±0,1	24,2±0,2	5,5±0,01	8,8±0,05	7093±48	2,1±0,01	5,6±0,01	1,1±0,05	1,07±0,05	0,52±0,01	
Acurácia	<b>84,6</b>	<b>118,5</b>	<b>122,5</b>	<b>110,7</b>	<b>57,7</b>	<b>98,0</b>	<b>99,0</b>	<b>101,6</b>	<b>101,0</b>	<b>88,9</b>	<b>102,8±12,6</b>
Predição	23,0	17,9	3,2	7,4	16507	2,32	4,98	1,09	1,02	0,50	
PAR 8 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	19,4±0,5	15,3±0,2	3,9±0,01	8,5±0,03	9989±485	2,33±0,01	5,13±0,21	0,88±0,31	1,06±0,01	0,55±0,05	
Acurácia	<b>84,4</b>	<b>85,2</b>	<b>125,6</b>	<b>114,6</b>	<b>60,5</b>	<b>100,1</b>	<b>103,0</b>	<b>86,5</b>	<b>103,8</b>	<b>108,8</b>	<b>101,3±14,2</b>
Predição	22,1	18,1	3,9	7,4	14875	2,41	5,39	1,11	1,01	0,57	
PAR 9 Observado ( $\bar{X} \pm DP$ )	19,0±0,1	15,5±0,02	4,8±0,03	8,4±0,1	9003±26	2,43±0,01	5,41±0,01	1,02±0,01	1,06±0,01	0,60±0,02	
Acurácia	<b>85,6</b>	<b>86,0</b>	<b>122,3</b>	<b>114,3</b>	<b>60,5</b>	<b>100,7</b>	<b>100,3</b>	<b>100,2</b>	<b>104,8</b>	<b>104,4</b>	<b>102,1±11,7</b>
<b>Média acurácias para cada parâmetro</b>	<b>94,2±12,5</b>	<b>98,1±11,9</b>	<b>111,4±9,9</b>	<b>108,7±3,7</b>	<b>83,7±26,8</b>	<b>99,5±1,0</b>	<b>100,0±1,2</b>	<b>96,0±25,2</b>	<b>109,45±6,9</b>	<b>100,4±6,6</b>	

Nota: NOC - condições normais de operação; PAR - intervalo provados como adequados;  $\bar{X}$  - média; DP - desvio padrão; Rs - resolução; n - número de pratos teóricos; k' - fator de capacidade \*CMA "n primeiro pico" excluído do cálculo da média  
 Fonte: o autor (2023)

#### 2.4.2.5. Melhoria contínua e Controle de processo

Após o desenvolvimento do método analítico, torna-se necessário enumerar estratégias de controle como meio de verificar a manutenção da qualidade pretendida durante a sua aplicação ao longo da rotina de uso. Adicionalmente, é fundamental aproveitar informações retroativas para aprimorar a base de conhecimento do método e aplicá-lo de maneira contínua. Na Tabela 19, encontram-se os detalhes da área operacional comprovada do método, com a possibilidade de expansão e refinamento contínuo. Um exemplo desse aprimoramento é a reintrodução dos dados de confirmação na modelagem, a fim de aperfeiçoar o entendimento do erro residual do modelo matemático. Outras opções incluem a incorporação de dados para corrigir o modelo anterior, como a substituição dos dados referentes a 'n do primeiro pico' que o modelo não conseguiu prever, mas que poderiam ser incluídos para retreinamento nesta nova região desconhecida. Ao mudar-se o escopo do método inicial, há a possibilidade de iniciar um novo ciclo que segue as mesmas etapas a partir da definição do ATP da técnica analítica. Isso permite a utilização do conhecimento prévio já gerado no ciclo anterior como uma maneira de acelerar o desenvolvimento.

TABELA 19 - COMPILAÇÃO DAS INFORMAÇÕES DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO

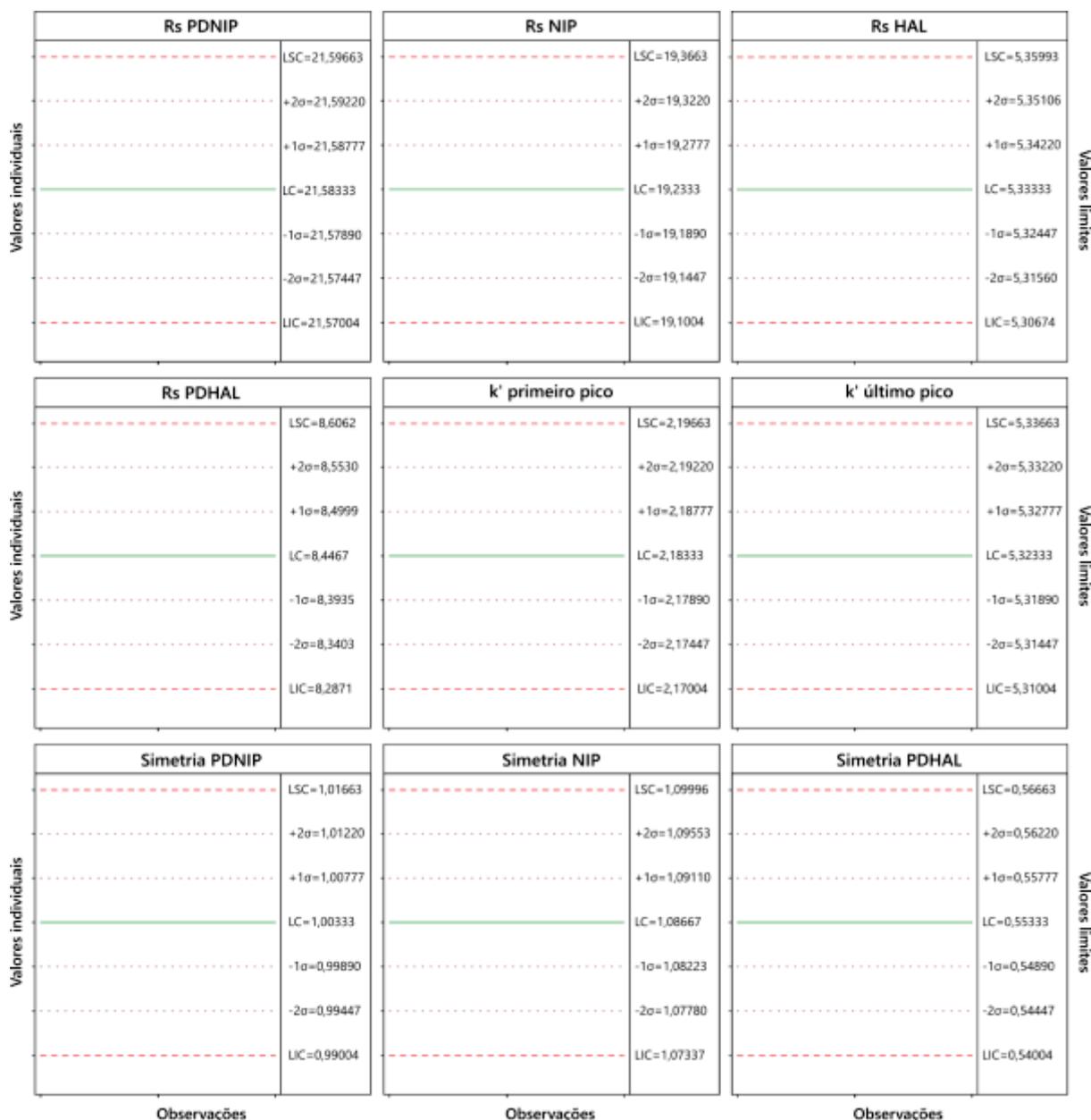
<b>CMA</b>	<b>Informação disponível</b>	<b>Superfície disponível</b>	<b>MODR</b>
Temperatura da coluna (°C)	5 - 35	5 - 25	8 - 20
Curvatura do gradiente (%B.min <sup>-1</sup> )	8 - 16	10 - 14	10
Fluxo da fase móvel (mL.min <sup>-1</sup> )	0,9 - 1,7	1,0 - 1,4	1,2 - 1,35
pH	3,3 - 4,3	3,3 - 4,3	3,3 - 4,3

Nota: CMA – Atributos críticos do método; MODR – Intervalo operacional do método

Fonte: o autor (2023)

Quando se tratando do controle de processo, uma das propostas para o monitoramento da metodologia analítica considera a aplicação de cartas-controle dos CMAs com o objetivo de detectar tendências e desvios nos resultados. Na Figura 37, é possível visualizar o modelo de construção das cartas-controle para cada CMA. Durante o uso de rotina, os valores de SST da análise de controle são constantemente monitorados e plotados, permitindo a detecção de violações de quaisquer regras de Westgard no decorrer dos dias. Essa avaliação possibilita a tomada de decisões em relação à investigação de possíveis problemas na metodologia ou à rejeição e interrupção da operação do processo como um todo.

FIGURA 36 - CARTAS-CONTROLE PARA OS CMAs DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE DO HALOPERIDOL



Nota: HAL – haloperidol; NIP – nipagin; PDHAL – produto de degradação do haloperidol; PDNIP – produto de degradação do nipagin; Rs – resolução; k' – fator de capacidade; LSC - limite superior controle; LC - limite central; LIC - limite inferior controle;  $\sigma$  - desvio padrão

Fonte: o autor (2023)

Existem várias regras de Westgard que podem ser violadas, gerando um alerta para investigação. Um exemplo disso é quando um valor individual atinge os valores de LSC e LIC ou quando isso ocorre em dois dias consecutivos em  $2\sigma$ . Nesse caso,

é necessário interromper a rotina analítica e iniciar a investigação para identificar a possível origem do defeito (Westgard, 2020). Uma vez que o erro é detectado, é possível retornar aos dados de robustez do método e investigar os possíveis CMPs que influenciam o desvio. Todas as relações entre os CMPs estão listadas na Tabela 20.

TABELA 20 - DADOS DE ROBUSTEZ DOS CMAs EM RELAÇÃO CMPs E SEUS VALORES DE REFERÊNCIA

CMA	ROBUSTEZ CMPs*				Valor de referência NOC	LIC - LSC
	Temperatura (A)	Ângulo do gradiente (B)	Fluxo da fase móvel (C)	pH (D)		
Rs PDNIP	A, AD, A <sup>2</sup> C, AD <sup>2</sup>	BC	C, BC, CD, C <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> C, CD <sup>2</sup>	D, AD, CD, D <sup>2</sup> , AD <sup>2</sup> , CD <sup>2</sup>	21,58	21,57 - 21,59
Rs NIP	A, AB, AC, AD, A <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> B	B, AB, BC, BD, B <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> B, B <sup>2</sup> C, B <sup>2</sup> D	C, AC, BC, CD, C <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> C, CD <sup>2</sup>	D, AD, BD, CD, D <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> D, CD <sup>2</sup>	19,23	19,10 - 19,37
Rs HAL	A, AB, AC, AD, A <sup>2</sup>	B, AB, BC, B <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> C, B <sup>2</sup> D	C, AC, BC, CD, C <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> C, C <sup>2</sup> D	D, AD, CD, D <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> D, C <sup>2</sup> D	5,33	5,31 - 5,36
Rs PDHAL	A	B	C, CD, C <sup>2</sup>	D, CD, D <sup>2</sup>	8,5	8,29 - 8,61
k' primeiro pico	A, Ac, AD, A <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> C, AD <sup>2</sup>	B, BC, BD, B <sup>2</sup> , BC <sup>2</sup>	C, AC, BC, CD, C <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> C, BC <sup>2</sup> , CD <sup>2</sup>	D, AD, BD, CD, D <sup>2</sup> , AD <sup>2</sup> , CD <sup>2</sup>	2,18	2,17 - 2,19
k' último pico	A, AB, AC, AB <sup>2</sup>	B, AB, B <sup>2</sup> , AB <sup>2</sup> , B <sup>2</sup> C	C, AC, B <sup>2</sup> C	D, D <sup>2</sup>	5,33	5,31 - 5,36
Simetria PDNIP	A	B, BC	C, BC, C <sup>2</sup>	D, D <sup>2</sup>	1,00	0,99 - 1,01
Simetria NIP	A, AB, AC, AD, A <sup>2</sup>	B, AB	C, AC, C <sup>2</sup> , CD <sup>2</sup>	AD, D <sup>2</sup> , CD <sup>2</sup>	1,08	1,07 - 1,09
Simetria PDHAL	A, AB, AC, AD, A <sup>2</sup> , AB <sup>2</sup> , AC <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> C <sup>2</sup>	AB, BC, AB <sup>2</sup> , BC <sup>2</sup>	C, AC, BC, AC <sup>2</sup> , BC <sup>2</sup> , C <sup>2</sup> D, CD <sup>2</sup> , A <sup>2</sup> C <sup>2</sup>	D, AD, D <sup>2</sup> , C <sup>2</sup> D, CD <sup>2</sup>	0,55	0,54 - 0,57

Nota: CMA - atributos críticos do método; CMP - parâmetro crítico do método; NOC - condições normais de operação; LIC - limite inferior de controle; LSC - limite superior de controle; \*Apenas efeitos significativos foram descritos

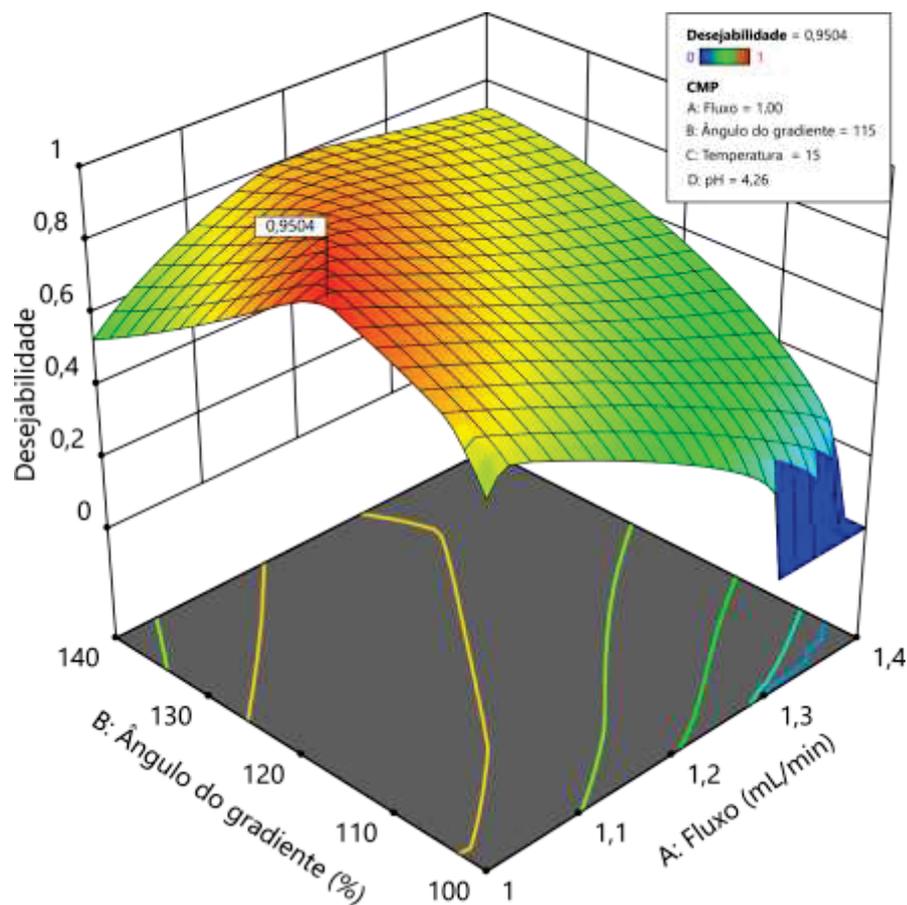
Fonte: o autor (2023)

Além de entender quais CMPs possuem efeitos principais e de interação, é possível averiguar a superfície de resposta relacionada àquele conjunto de CMAs extraídos e verificar qual combinação de CMPs é capaz de produzir aquele desfecho observado.

Para isso, um exemplo de aplicação em que o operador conduz as análises de rotina. Ao conferir os valores individuais dos CMAs, diversas regras de Westgard foram violadas, exigindo uma investigação para identificar a origem do problema. Ao

extrair os valores dos CMAs referentes ao cromatograma do NOC, observamos os seguintes atributos:  $R_s$  PDNIP de 16,  $R_s$  NIP de 18,  $R_s$  HAL de 3,  $R_s$  PDHAL de 8,  $k'$  do primeiro pico de 1,8,  $k'$  do último pico de 4,3, simetria NIP de 0,9, simetria PDHAL de 0,4 e simetria PDNIP de 1,15. Ao introduzir esses parâmetros no modelo matemático, é possível identificar a combinação de fatores que pode estar contribuindo para os resultados observados. A superfície da função de desejabilidade indicou que tais desfechos são encontrados a partir da combinação de um fluxo da fase móvel de  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , um ângulo do gradiente de  $1,15 \text{ \%B}\cdot\text{min}^{-1}$ , uma temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  e um pH de 4,26 (Figura 38). Essa abordagem se torna uma boa ferramenta no controle do processo e na utilização do modelo matemático para investigação retroativa dos dados, norteador o operador na possível origem do erro.

FIGURA 37 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA INDICANDO COMBINAÇÃO DE CMPS QUE PRODUZEM O DESVIO DE QUALIDADE



Fonte: o autor (2023)

É importante ressaltar que, após a validação analítica no MODR, é possível indicar que alterações dentro desta região não são consideradas como alterações. Portanto, os parâmetros de validação são preservados dentro desta região (ICH, 2022). No entanto, mesmo com essa afirmação, propõe-se a avaliação dos CMAs de quantificação na região operacional, incluindo a acurácia e precisão, para assegurar que eles permaneçam adequados ao assumir a qualidade para quantificação. Esses parâmetros não foram considerados CMAs monitorados durante o desenvolvimento pelo fato de aumentar o volume experimental substancialmente.

## 2.5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como etapas a serem concluídas, inclui-se a validação analítica conforme descrito na metodologia. Nessa validação, serão avaliados parâmetros como seletividade, linearidade, exatidão, precisão, limite de quantificação e limite de detecção. Além disso, propõe-se a avaliação da adequabilidade dos parâmetros de validação na extensão do MODR. Essa avaliação ocorrerá por meio da utilização da curva de calibração desenvolvida no NOC e comparada com a acurácia obtida nos PARs. Similarmente, a precisão será determinada por meio de triplicatas nos PARs e comparadas com os resultados obtidos na validação analítica.

Uma abordagem a ser explorada é a utilização de simulação de Monte-Carlo para determinação da incerteza dos parâmetros dos modelos matemáticos e estimar a probabilidade de contemplar os CMAs, gerando uma zona robusta irregular.

Propõe-se a elucidação estrutural dos produtos de degradação do haloperidol e nipagin, utilizando LC-QToF-MS, além da determinação da cinética de degradação do haloperidol e do metilparabeno em seus respectivos produtos de degradação. Essa definição poderá ser conduzida utilizando modelos multivariados para gerar um modelo matemático, no qual os coeficientes da equação serão os próprios fatores utilizados na degradação, como a concentração inicial do fármaco, a força do agente degradante, a temperatura e o tempo. Ao utilizar essa equação, será possível estimar a concentração final do analito de interesse como parte do planejamento do *endpoint* de degradação para outros experimentos por meio desse plano experimental.

## 2.6. CONCLUSÃO

A estabilidade da solução oral de haloperidol foi investigada, mostrando ser susceptível a degradação em condições ácidas e alcalinas. Foram identificados, em concentrações significativas (> 10%), um produto de degradação do haloperidol e um do metilparabeno.

Com base no perfil de degradação, foi desenvolvido um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detector por arranjo de diodos usando a abordagem *Analytical Quality-by-Design*. Foram definidas as condições normais de operação utilizando uma coluna Waters Symmetry C18 (3,9 mm x 150 mm, 5 µm) e uma fase móvel composta por tampão formiato pH 3,8 100 mM e acetonitrila, seguindo o seguinte gradiente: 0 minutos - 10% B, 4 minutos - 50% B, 6 minutos - 50% B, 7 minutos - 10%, 12 minutos - 10%. A detecção foi realizada em 246 nm, e a injeção foi feita com um volume de 10 µL. A região operacional do método, capaz de assegurar resultados com qualidade, inclui fluxos entre 1,2 e 1,35 mL.min<sup>-1</sup> (NOC = 1,3 mL.min<sup>-1</sup>), um ângulo de gradiente fixado em 10 %B.min<sup>-1</sup>, uma temperatura variando entre 8 e 20 °C (NOC = 15 °C) e variações de pH da fase móvel de 3,3 a 4,3 (NOC = 3,8).

Em conclusão, o método desenvolvido para avaliar a estabilidade da solução oral de haloperidol utilizando a abordagem AQbD, demonstrou ser uma ferramenta cientificamente rigorosa, reduzindo a subjetividade e a empiria no desenvolvimento analítico, enquanto maximiza os resultados. Esse estudo de desenvolvimento exemplifica como a abordagem estatística aliado a análise de risco pode melhorar o plano experimental em cromatografia e servirá como orientação para futuros projetos envolvendo a modelagem de dados cromatográficos por meio da abordagem AQbD. Esta metodologia se mostra promissora para ser sugerida como parte da monografia do haloperidol solução oral da farmacopeia brasileira.

### 3. CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE ESCOPO E FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL *IN SILICO* DO CIPROFLOXACINO ORAL EM ADULTOS

#### RESUMO CAPÍTULO 2

**Objetivo:** Conduzir uma revisão de escopo para mapear os parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em adultos e utilizar destes dados para modelagem de farmacocinética populacional *in silico*. **Método:** Foi realizada uma busca sistemática da literatura de acordo com os guias da Cochrane e JBI para revisões de escopos, utilizando das bases de dados PubMed e Scopus combinando palavras-chave relacionadas a farmacocinética e ciprofloxacino. Após o processo de triagem, elegibilidade e extração, os dados foram analisados para indicar tendências nos parâmetros em função de suas covariáveis. Esses dados foram utilizados na sequência em uma simulação para geração de vetores numéricos representados pela distribuição dos parâmetros farmacocinéticos dos estudos incluídos e posteriormente convertidos em observações farmacocinéticas com o pacote do R *linpk*. Estas simulações foram utilizadas na modelagem de farmacocinética populacional utilizando o software Monolix. **Resultados:** A busca sistemática resultou em 55 estudos relevantes (46 farmacocinéticas tradicionais e 9 populacionais). Nos estudos de farmacocinética tradicional, foram examinados 86 perfis (72 envolvendo pacientes saudáveis e 14 com várias condições clínicas). A farmacocinética do ciprofloxacino oral foi influenciada por covariáveis como interações medicamentosas (íons férricos, carbonato de cálcio, diclofenaco e itraconazol), interações com alimentos (alimentos ricos em cálcio), populações idosas e comprometimento renal. A constante de absorção foi estimada utilizando método numérico iterativo, obtendo uma acurácia de 123,75% para modelos monocompartimentais e 91,51% para modelos bicompartimentais. As simulações em conjunto com a conversão em observações farmacocinéticas foram conduzidas com sucesso, ilustrando o poder da computação na automatização de processos com grande volume de dados. Com base nos modelos desenvolvidos, foi obtido um modelo com acurácias de 96,68%, 100,11%, e 96,74% para os parâmetros  $K_a$ ,  $Cl$  e  $V_d$ , respectivamente. **Conclusão:** Esse protótipo representa um significativo avanço para o refinamento de futuras modelagens, abrindo precedentes para a utilização de dados da literatura na modelagem de pacientes virtuais. Esses resultados marcam o início de um projeto que visa inovar as abordagens de modelagem populacional *in silico*, contribuindo para o progresso na clínica e terapêutica de medicamentos para além do ciprofloxacino.

Palavras-chave: revisão de escopo, ciprofloxacino, *in silico*, farmacocinética populacional

## ABSTRACT CHAPTER 2

**Objective:** The objective is to conduct a scoping review to map the pharmacokinetic parameters of oral ciprofloxacin in adults and utilize this data for in silico population pharmacokinetic modeling. **Methods:** A systematic literature search was performed, and relevant articles were obtained from the PubMed and Scopus databases using keywords related to pharmacokinetics and ciprofloxacin. After the screening and extraction process, the data were analyzed to identify trends in the parameters based on their covariates. These data were subsequently used in a simulation to generate numerical vectors represented by the distribution of pharmacokinetic parameters from the included studies and were then converted into pharmacokinetic observations using the R linpk package. These simulations were employed in population pharmacokinetic modeling using the Monolix software. **Results:** The systematic search resulted in 55 relevant studies (46 traditional pharmacokinetic studies and 9 population pharmacokinetic studies). In traditional pharmacokinetic studies, 86 profiles were examined, with 72 involving healthy patients and 14 with various clinical conditions. The pharmacokinetics of oral ciprofloxacin were influenced by covariates such as drug interactions (ferrous ions, calcium carbonate, diclofenac, and itraconazole), food interactions (calcium-rich foods), elderly populations, and renal impairment. The absorption constant was estimated using iterative numerical methods, achieving an accuracy of 123.75% for single-compartment models and 91.51% for two-compartment models. The simulations, along with the conversion into pharmacokinetic observations, were successfully conducted, illustrating the power of computation in automating processes with a large volume of data. Based on the developed models, accuracy levels of 96.68%, 100.11%, and 96.74% were achieved for the parameters  $K_a$ ,  $Cl$ , and  $V_d$ , respectively. **Conclusion:** In conclusion, this initial prototype represents a significant advancement in refining future models, paving the way for using literature data in modeling entirely virtual patients. These results mark the beginning of a project aimed at innovating in silico population modeling approaches, contributing to progress in clinical therapeutics beyond ciprofloxacin.

Keywords: scoping review, ciprofloxacin, in silico, population pharmacokinetics

### 3.1. Objetivo Geral

Conduzir modelagem de farmacocinética populacional *in silico* a partir de dados da literatura para o ciprofloxacino oral em adultos

#### 3.1.1. Objetivos Específicos

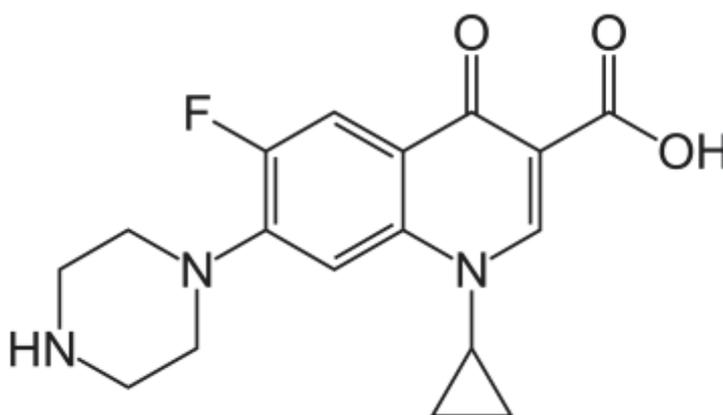
- Conduzir uma revisão de escopo para mapear os parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em adultos;
- Estimar a constante de absorção farmacocinética dos dados extraídos;
- Simular e individualizar pacientes virtuais dos dados da literatura;
- Realizar farmacocinética populacional a partir dos pacientes virtuais levando em consideração suas covariáveis.

## 3.2. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.2.1. Ciprofloxacino

O ciprofloxacino, também conhecido como ácido 1-ciclopropil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-chinolincarboxílico (Figura 39) (Quadro 15), é um antibacteriano descoberto pela farmacêutica Bayer em 1981 e recebeu seu primeiro registro em 1987, estando disponível em várias formas farmacêuticas (FDA, 1987a; 1987b; 1987c; 1987d; 1987e). O ciprofloxacino pertence à segunda geração de fluoroquinolonas, sendo considerado de amplo espectro e eficaz principalmente contra bactérias gram-negativas (Pietsch et al., 2017). Suas principais aplicações incluem o tratamento de infecções do trato urinário, além de ser empregado no combate a infecções bacterianas entéricas, biliares, IST e na profilaxia. Além disso, estudos demonstraram que o ciprofloxacino e seus derivados possuem atividades citotóxicas em várias linhagens cancerígenas, aumentando o interesse no fármaco pela comunidade científica (Jozwiak et al., 2020). Devido à sua ampla utilização, gerou cerca de 55 milhões de reais em vendas no Brasil em 2016 e movimentou mais de 5 milhões de prescrições anuais nos Estados Unidos (FEBRAFAR, 2016; CLINICALC, 2020).

FIGURA 38 - ESTRUTURA MOLECULAR DO CIPROFLOXACINO



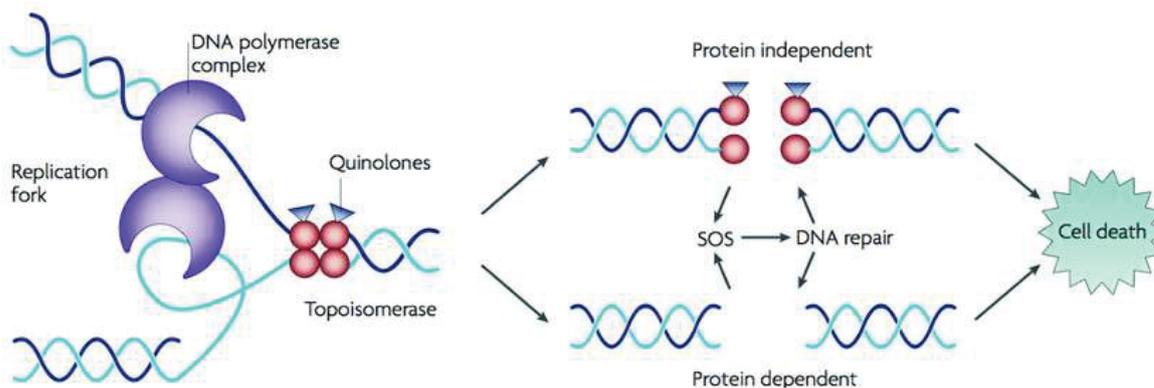
QUADRO 15 - CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO CIPROFLOXACINO

Nome	Ciprofloxacino
CAS	85721-33-1
Fórmula química	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$
Massa molecular	331,33 g.mol <sup>-1</sup>
Solubilidade (água)	1,35 mg.mL <sup>-1</sup>
Ponto de fusão	313 - 315 °C
Coefficiente de partição (logP)	-0,86
pKa do ácido mais forte	5,56
pKa da base mais forte	8,77
Superfície polar	72,88 Å <sup>2</sup>
Refratividade	87,94 m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup>
Aceptores de hidrogênio	6
Doadores de hidrogênio	2

Fonte: Wishart et al., 2018.

Como uma fluoroquinolona, o ciprofloxacino atua pela inibição das topoisomerasas bacterianas do tipo II (topoisomerase II e topoisomerase IV). A topoisomerase II, também conhecida como DNA-girase, é uma enzima que permite a transcrição e replicação do DNA, induzindo a super-helicoidização negativa do mesmo. Quando essa enzima é inibida, ocorre o relaxamento do DNA superespiralado bacteriano e, como resultado, a quebra da fita de DNA, tornando impossível a sua replicação. A inibição da topoisomerase IV, por sua vez, resulta na perda da estabilização dos cromossomos durante a divisão celular (Figura 40) (FDA, 1987a).

FIGURA 39 - MECANISMO DE AÇÃO DO CIPROFLOXACINO



Fonte: Verchère, 2014.

O ciprofloxacino é bem absorvido por via oral, apresentando uma biodisponibilidade de 60-80%, com os níveis séricos atingindo o pico em cerca de 1 a 4 horas. A distribuição do medicamento ocorre com ligação a proteínas plasmáticas,

variando de 10% a 40%, alcançando todos os fluídos e tecidos corporais. Ele se concentra principalmente na urina, rins, próstata, pulmões, ossos, macrófagos e neutrófilos, sendo que a concentração nos tecidos mencionados é maior do que a sérica (FDA, 1987a).

O ciprofloxacino é metabolizado pela enzima CYP1A2 e CYP3A4, com seus principais metabólitos sendo a oxociprofloxacina e sulociprofloxacina, representando cada um cerca de 3-8% da dose total. Além disso, o ciprofloxacino é convertido em quantidades menores em desetileno ciprofloxacina e formilciprofloxacina. A excreção ocorre principalmente pelos rins, tornando necessário o ajuste da dose em pacientes com disfunção renal (FDA, 1987e).

O ciprofloxacino na forma oral é indicado para o tratamento de diversas infecções bacterianas, com a posologia podendo variar de acordo com o local da infecção (FDA, 1987c). Apesar das indicações estabelecidas, a prática hospitalar pode implementar protocolos de tratamento adaptados à realidade da instituição. Uma das abordagens envolve o tratamento do paciente com base nos resultados do antibiograma, que expressa a sensibilidade e resistência dos microrganismos a diferentes antibióticos. No entanto, em casos mais comuns, é possível sugerir protocolos de tratamento de primeira e segunda linha para infecções (Oliveira e Armond, 2006).

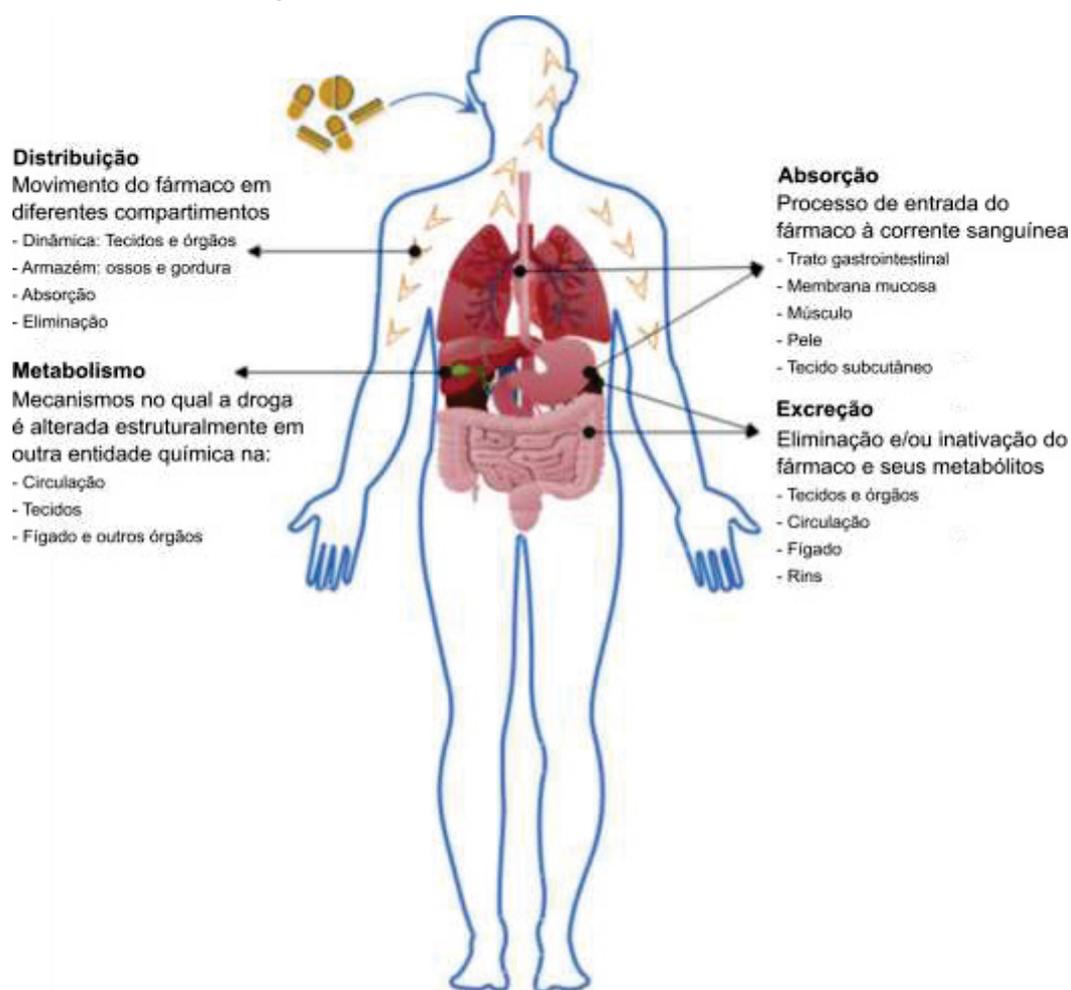
Um guia amplamente utilizado para a elaboração de protocolos de tratamento é o Guia de Sanford para Terapia Antimicrobiana. Nesse guia, é possível identificar o ciprofloxacino como terapia de primeira linha para infecções bacterianas relacionadas a condições como osteomielite, meningite, otite, mastoidite, conjuntivite, pé diabético, colecistite, prostatite, endocardite, pericardite, cistite, pielonefrite, antraz, infecções relacionadas à fibrose cística, peritonite, pileflebite, pós-cirúrgico e infecções pós-transplantes. Já para condições como ceratite, gastroenterite, diverticulite, cancro mole, granuloma inguinal, artrite séptica, tularemia, peste negra, brucelose e tromboflebite, o ciprofloxacino é considerado terapia de segunda linha. As indicações não se limitam apenas ao local da infecção, podendo variar de acordo com as bactérias envolvidas (Gilbert et al., 2022).

### 3.2.2. Farmacocinética

Devido à ampla utilização do ciprofloxacino em ambiente hospitalar e à sua variedade de indicações, torna-se imprescindível o monitoramento terapêutico das concentrações plasmáticas do fármaco. Isso é necessário devido à possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibacterianos. Embora seu uso não seja indiscriminado nesse ambiente, é crucial dar atenção especial ao ajuste de dose, uma vez que os pacientes podem apresentar comorbidades ou complicações que afetam diretamente os perfis farmacocinéticos dos antibacterianos. Mudanças no perfil farmacocinético do paciente podem resultar em concentrações plasmáticas tóxicas ou subdoses terapêuticas, sendo este último um fator contribuinte para o desenvolvimento da resistência bacteriana (Lima; Benjamin; Santos, 2017).

A farmacocinética é a área da farmacologia que se dedica ao estudo da cinética de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) de fármacos, com o objetivo de prever sua variação na concentração plasmática ao longo do tempo, bem como suas respostas farmacológicas, terapêuticas e tóxicas em humanos e animais (Figura 41). Suas aplicações incluem a determinação da biodisponibilidade, o ajuste de doses para diferentes condições patológicas, a avaliação dos efeitos fisiopatológicos na distribuição e absorção do fármaco, a correlação entre a resposta farmacológica e a dose administrada, a análise de interações medicamentosas e a individualização do regime terapêutico (Breen e Jambhekar, 2009). A farmacocinética clínica é a disciplina que utiliza os conceitos e princípios da farmacocinética para personalizar o regime de tratamento de um paciente, visando otimizar a resposta terapêutica e reduzir o risco de eventos adversos (Spruill et al., 2014).

FIGURA 40 - DISPOSIÇÃO DE UM COMPOSTO FARMACÊUTICO EM UM ORGANISMO



Fonte: adaptado de Chandrasekaran et al., 2018

Quando um fármaco é administrado de forma extravascular (por exemplo, oralmente, intramuscular ou por meio de adesivo transdérmico na pele), a absorção deve ocorrer por meio de várias barreiras fisiológicas para que o fármaco alcance a circulação sistêmica e se torne biodisponível. No caso de um medicamento administrado por via oral, a forma farmacêutica deve liberar as moléculas do fármaco através da desintegração do medicamento, da desagregação e da dissolução do fármaco. Existem várias formas farmacêuticas obtidas por diferentes tecnologias farmacêuticas capazes de modificar esse perfil de liberação (Aulton e Taylor, 2016). Uma vez dissolvido, o fármaco é absorvido pelas membranas do trato gastrointestinal de acordo com suas características físico-químicas, tornando-se biodisponível na corrente sanguínea. A absorção é definida pela constante de absorção ( $k_a$ ), que descreve a velocidade de entrada do fármaco. Com base nesse parâmetro, é possível

estimar a concentração plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) e o tempo necessário para atingi-la ( $T_{m\acute{a}x}$ ) (Jambhekar e Breen, 2009).

A biodisponibilidade ( $F$ ) é a fração do medicamento originalmente administrado que atinge a circulação sistêmica e se torna disponível. Ela depende das propriedades da substância e da via de administração, estando diretamente relacionada à absorção do fármaco. Fármacos com baixa absorção apresentam menor biodisponibilidade. Por exemplo, quando um medicamento é administrado via intravenosa, 100% dele chega à circulação quase que instantaneamente, resultando em uma biodisponibilidade de 100%. Os diferentes modos de administração, que estão relacionados às características individuais dos pacientes, podem levar a diversos perfis farmacocinéticos. A área sob a curva (ASC), que representa a concentração plasmática ao longo do tempo, é usada para calcular a biodisponibilidade do medicamento. A biodisponibilidade absoluta é determinada pela razão entre o ASC do medicamento administrado via oral e o ASC obtido com a administração intravenosa (Starkey e Sammons, 2015).

A distribuição descreve como uma substância se dissemina por vários tecidos e órgãos, variando de acordo com as propriedades bioquímicas do fármaco e a fisiologia do indivíduo. Isso pode resultar, em alguns casos, em distribuições heterogêneas nos tecidos. Para que o fármaco possa produzir um efeito terapêutico, ele deve atingir o tecido-alvo em concentrações eficazes, podendo ser transportado de diversas maneiras. As moléculas de um fármaco podem viajar no sangue de três formas: dissolvidas no plasma, ligadas às proteínas plasmáticas ou associadas às células sanguíneas. A ligação à albumina é a mais comum e significativa, capturando tanto fármacos ácidos quanto básicos por meio de ligações iônicas e, ocasionalmente, ligações covalentes. O fármaco dissolvido no sangue migra dos capilares para os tecidos, seguindo o gradiente de concentração, o que depende das características do fármaco, como o tamanho da molécula, lipossolubilidade e grau de ionização. Um fármaco altamente lipossolúvel terá fácil acesso a órgãos bem irrigados, como o cérebro, coração, fígado ou rins, enquanto um fármaco menos lipossolúvel penetrará eficientemente em tecidos com capilares ricos em fendas intercelulares, como os sinusóides hepáticos, que permitem a passagem de substâncias de elevado peso molecular (Breen e Jambhekar, 2009).

O organismo humano é composto por diversos compartimentos fisiológicos. No entanto, do ponto de vista farmacocinético, reconhecem-se modelos matemáticos que incluem até três compartimentos (Rang et al., 2016):

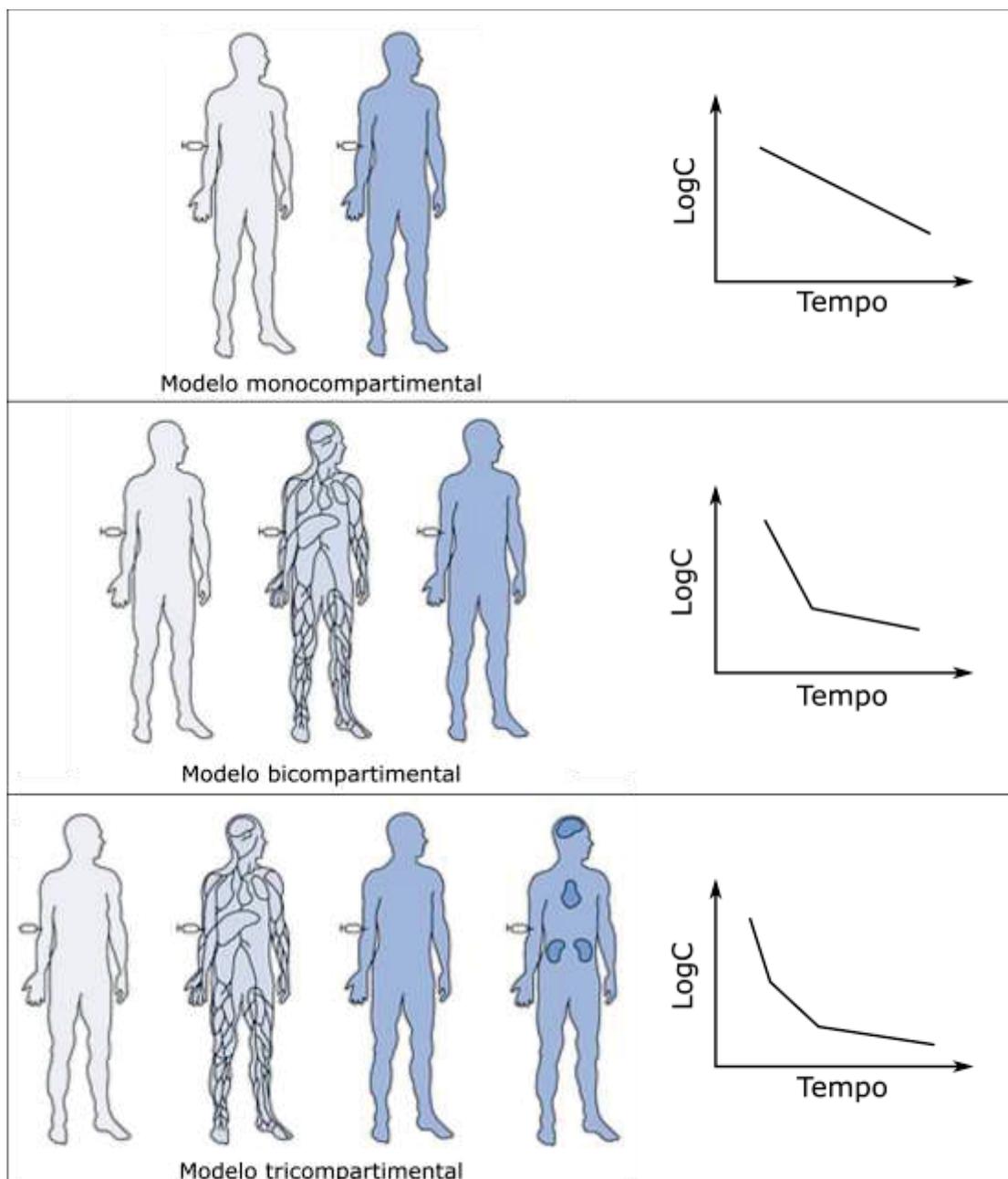
a) Compartimento central: engloba o plasma sanguíneo, tecidos altamente perfundidos e água presente nos tecidos orgânicos bem vascularizados, como o coração, o cérebro, os rins, o fígado e os pulmões.

b) Compartimento periférico superficial: inclui tecidos menos perfundidos pelo sangue, como a pele, o tecido subcutâneo, músculos esqueléticos, tendões, ossos e cartilagens.

c) Compartimento periférico profundo: abrange tecidos menos perfundidos, como o tecido adiposo e outros tecidos com baixa vascularização.

Diferentes modelos matemáticos consideram os compartimentos no processo de distribuição e eliminação do fármaco (Figura 42). Um modelo monocompartimental estima que o fármaco se distribui no compartimento central, com a velocidade de eliminação sendo proporcional à quantidade de fármaco presente neste compartimento. Isso pode ser visualizado de forma linear quando aplicado à função logarítmica. No modelo bicompartimental, o fármaco é administrado e distribuído no compartimento central, para depois se difundir para os compartimentos periféricos superficiais. Neste modelo, é possível observar que a eliminação ocorre em duas fases: uma do compartimento central e outra do periférico superficial. Conforme o fármaco é eliminado do compartimento central, ocorre a transferência do fármaco do compartimento periférico para equalizar o gradiente de concentração, o que permite observar uma segunda velocidade de eliminação. O mesmo princípio se aplica a modelos tricompartmentais, que incluem a acumulação em órgãos específicos onde o fármaco se deposita com maior facilidade (Menegotto e Barros, 2011).

FIGURA 41 - MODELOS DE DISTRIBUIÇÃO FARMACOCINÉTICA



Fonte: adaptado de Menegotto e Barros, 2011.

Além dos modelos mencionados anteriormente, é possível utilizar modelos não compartimentais, que são mais simples e diretos. Uma das principais vantagens dos modelos não compartimentais é que eles não exigem a premissa de que a distribuição da substância no corpo segue um modelo matemático específico, ao contrário dos modelos compartimentais. Isso significa que esses modelos podem ser usados em situações em que não há um conhecimento preciso sobre a farmacocinética da

substância ou quando o modelo compartimental não é adequado para descrever a farmacocinética do composto. No entanto, é importante lembrar que os modelos não compartimentais têm algumas limitações. Eles não são capazes de descrever a distribuição da substância em diferentes tecidos ou órgãos do corpo, e não podem ser usados para avaliar a farmacocinética de substâncias que passam por metabolismo significativo antes de atingir a circulação sistêmica. Nesses casos, o modelo compartimental ainda é o método mais apropriado para analisar a farmacocinética da substância em questão (Gabrielsson e Weiner, 2012).

O volume de distribuição ( $V_d$  ou  $V$ ) é um dos parâmetros utilizados para descrever o processo de distribuição do fármaco nos diferentes tecidos. Ele é definido como a quantidade de fármaco presente no organismo dividida pela concentração plasmática do fármaco. É importante lembrar que o corpo é constituído por vários compartimentos de fluidos teóricos, e o volume de distribuição tenta representar a concentração homogênea fictícia do fármaco em um desses compartimentos teóricos. Quando um fármaco possui alto peso molecular, é carregada ou principalmente se liga a proteínas na circulação, como o antagonista de hormônio regulador de gonadotrofina cetorelix ( $V_d = 0,39 \text{ L.kg}^{-1}$ ), ela permanece intravascular e incapaz de se difundir, o que resulta em um  $V_d$  baixo. Enquanto uma fármaco lipofílica e de baixo peso molecular, como a cloroquina ( $V_d = 140 \text{ L.kg}^{-1}$ ), possui um  $V_d$  grande, pois pode se distribuir nas células e nos tecidos adiposos (Zhivkova; Mandova; Doytchinova, 2015).

O conhecimento do volume de distribuição é um fator crucial para compreender os esquemas de dosagem. Por exemplo, um indivíduo com uma infecção avançada pode necessitar de uma dose inicial elevada de vancomicina ( $V_d \cong 1,0 \text{ L.kg}^{-1}$ ) para atingir as concentrações mínimas desejadas rapidamente. Uma dose de ataque, esta representada pela administração de uma dose mais elevada para que as concentrações plasmáticas alcancem níveis plasmáticos de forma mais rápida, em vez de precisarem se acumular gradualmente para se tornarem eficazes. O cálculo da dose de ataque está diretamente relacionado ao volume de distribuição e é determinado multiplicando o volume de distribuição pela concentração plasmática desejada e, em seguida, dividindo pelo fator de biodisponibilidade (Mei et al., 2019).

O metabolismo é a conversão química de um fármaco, geralmente mediada enzimaticamente, em outra entidade química chamada de metabólito. Essa conversão ocorre frequentemente para tornar o fármaco mais hidrossolúvel, o que facilita a sua eliminação pelos rins. Em alguns casos, como o da codeína, que é um pró-fármaco, essa conversão é necessária para que o medicamento se torne ativo (Gray; Adhikary; Janicki, 2018). O metabolismo de fármacos pode ocorrer em várias áreas do corpo, como o trato gastrointestinal, a pele, o plasma, os rins e os pulmões. No entanto, a maior parte do metabolismo ocorre no fígado através das reações de fase I e fase II. Na fase I, as substâncias são transformadas em metabólitos mais polares por meio de oxidação, aminação ou adição de sulfidril. Isso permite que na fase II ocorra a conjugação, que inclui processos como glicuronidação, acetilação, conjugação com glutathione, sulfatação ou metilação. Em sua maioria, esses processos têm a função de bioinativar o fármaco e convertê-lo em um metabólito mais hidrofílico para facilitar sua excreção através da urina ou da bile (Starkey e Sammons, 2015).

A eliminação é o processo pelo qual o fármaco é retirado do corpo ou inativado, seja através da excreção ou do metabolismo, respectivamente. Os rins são os principais responsáveis pela excreção, embora em alguns casos a eliminação possa ocorrer pelos pulmões, pele ou trato gastrointestinal. Nos rins, os fármacos são excretados por filtração passiva nos glomérulos ou nos túbulos proximais e distais. O parâmetro que descreve a eliminação é chamado de clearance (Cl), geralmente expresso como o clearance total, que é a soma de todos os diferentes clearances pelos quais o fármaco passa para ser eliminado. Também é possível analisar clearances específicos, como o clearance renal ou o clearance metabólico (Breen e Jambhekar, 2009). O clearance total é frequentemente definido pela divisão da dose e a área sob a curva, é comumente expresso em litros de sangue filtrado por hora. Compreender o clearance pode auxiliar no cálculo da dose e no ajuste posológico do paciente, uma vez que a manutenção da janela terapêutica está relacionada à rapidez com que um fármaco é eliminado do organismo. As funções renais e hepáticas têm uma influência direta sobre o fluxo de eliminação do fármaco por meio da excreção e metabolização (Westervelt; Cho; Bright, 2014).

A meia-vida ( $t_{1/2}$ ) é o tempo necessário para que a concentração plasmática do fármaco diminua pela metade. Sua equação é definida pela divisão de 0,693 pela

constante de eliminação. A meia-vida dos fármacos pode ser alterada por mudanças no clearance, que podem resultar de alterações patológicas, idade ou qualquer outro parâmetro que afete a eliminação (Nancarrow e Mather, 1983).

As cinéticas dos fármacos são descritas por modelos de ordem zero e de primeira ordem. A cinética de ordem zero apresenta uma taxa constante de eliminação, independente da concentração do fármaco. Em contraste, a cinética de primeira ordem depende da proporção da concentração plasmática do fármaco e é o modelo de eliminação predominante para a maioria dos fármacos. Esses modelos cinéticos são úteis para estimar estados de equilíbrio e a eliminação completa de medicamentos. O estado de equilíbrio, também conhecido como *steady-state*, ocorre quando a taxa de absorção de um fármaco e sua taxa de eliminação estão em equilíbrio, resultando em uma concentração plasmática que permanece constante ao longo do tempo. Em circunstâncias ideais de tratamento, esse estado de equilíbrio é alcançado após quatro a cinco meias-vidas de tratamento (Rang et al., 2015).

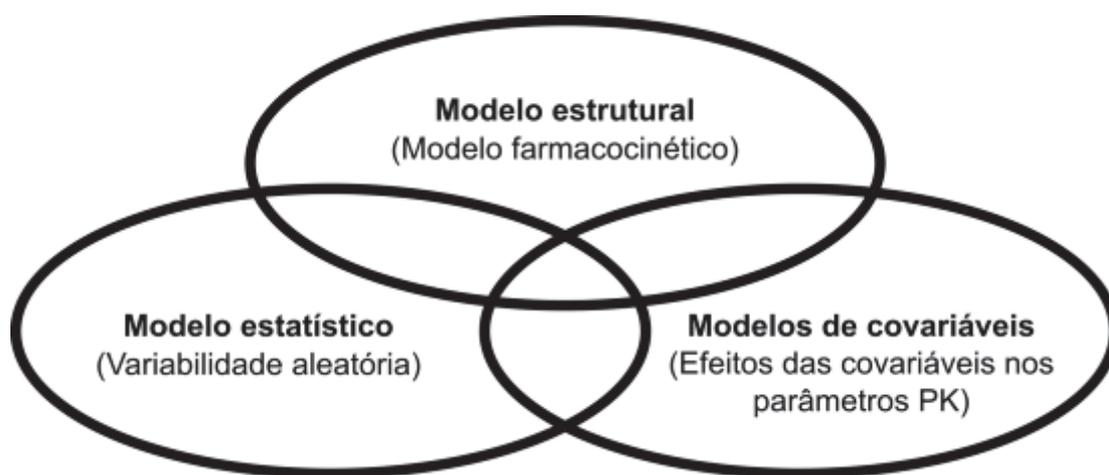
### 3.2.3. Farmacocinética populacional

A Farmacocinética Populacional (popPK) é o estudo que visa identificar e quantificar as fontes de variabilidade de um fármaco em uma população. Ela leva em consideração as diferenças nas características dos indivíduos que podem influenciar a absorção, distribuição, metabolismo e eliminação do fármaco, tais como idade, peso corporal, comorbidades, interações medicamentosas, entre outras. O uso da popPK permite esclarecer o impacto de vários fatores individuais que normalmente afetam o perfil farmacocinético, tornando-se particularmente útil ao estimar os parâmetros farmacocinéticos durante o planejamento e a avaliação de novos regimes posológicos baseados nesses fatores modelados (Mould e Upton, 2012).

Na modelagem de Farmacocinética Populacional (popPK), os parâmetros farmacocinéticos são estimados juntamente com suas dispersões. Para que isso seja possível, são utilizados modelos matemáticos, sendo o modelo mais comum o modelo não-linear de efeitos mistos (NLME) (Aarons e Ogungbenro, 2010). A estrutura geral de um NLME é representada na Figura 43. O modelo estrutural é responsável por descrever o perfil de concentração em função do tempo em uma população,

representado pelo número de compartimentos, modelo de eliminação, modelo de absorção, entre outros. O modelo estatístico, também conhecido como modelo estocástico, determina a variabilidade ou efeitos aleatórios dos dados observados (variabilidade interindividual e residual), enquanto o modelo de covariáveis identifica e quantifica o efeito das covariáveis nos parâmetros farmacocinéticos (Bon et al., 2017).

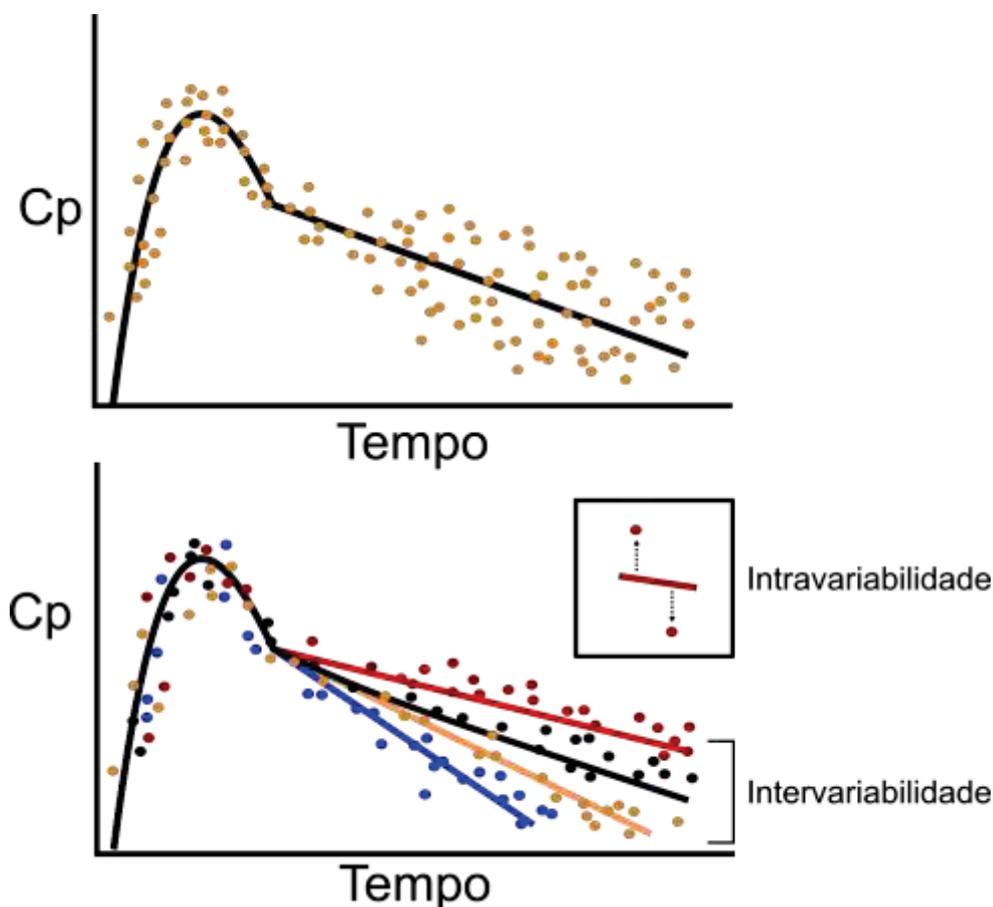
FIGURA 42 - DOMÍNIOS DOS MODELOS NÃO-LINEARES DE EFEITOS MISTOS



Fonte: adaptado de Bon et al., 2017

Na análise de modelos NLME, a não-linearidade se refere ao fato de que a variável dependente não está relacionada de maneira linear com os parâmetros do modelo e suas variáveis independentes. Os efeitos mistos abordam a parametrização do modelo, que inclui os efeitos fixos, que descrevem o tamanho do impacto das variáveis descritivas (como idade, peso e gênero) nos desfechos farmacocinéticos, e os efeitos aleatórios, que representam a variabilidade não explicada do modelo, incluindo variabilidade entre indivíduos, entre ocasiões e residual (FDA, 2022). A Figura 44 ilustra as fontes de variabilidade, onde, dentro da coleta de dados da população modelada (Figura 44a), é possível atribuir efeito de cada covariável/indivíduo no perfil farmacocinético de forma identificar seu comportamento, neste exemplo representado por diferentes cores (efeitos fixos). Por outro lado, os efeitos aleatórios são determinados através do erro residual das observações da mesma covariável/indivíduo (Figura 44b) (Owen e Fiedler-Kelly, 2015).

FIGURA 43 - DETERMINAÇÃO DA INTER E INTRAVARIABILIDADE DO MODELO NÃO-LINEAR DE EFEITOS MISTOS



Nota: CP - concentração plasmática

Fonte: adaptado de Owen e Fiedler-Kelly, 2015

Em questões de predições, a PopPK é baseada em descrever o perfil de concentração-tempo de cada sujeito com um modelo matemático. Portanto, ao estimar o parâmetro farmacocinético de um paciente específico, seu valor individual é uma função do valor típico do parâmetro populacional ( $\theta$ ), do efeito aleatório da variância individual em relação a esse valor típico, também conhecido como variância interindividual ( $\eta$ ), e do erro residual do modelo ou variância intraindividual ( $\epsilon$ ) (Equação 1). O modelo considera parâmetros farmacocinéticos como efeitos fixos e a variabilidade entre indivíduos como efeitos aleatórios, tornando-o um modelo de efeitos mistos (CERTARA, 2020; Mould e Upton, 2012). Tanto a influência do erro residual quanto da covariável no parâmetro pode ser estimada como uma função (linear, aditiva, exponencial, combinada) que melhor descreva os dados (Carter; Rosenbaum; Dudley, 1995).

$$C(t) = f(\theta, t, \eta) + \varepsilon \quad (\text{Eq. 1})$$

O modelo base é composto pelo modelo estrutural e o modelo estatístico, que incorpora as variabilidades interindividual e interocasional, bem como o erro residual. A modelagem pode ser ampliada pela inclusão de coeficientes adicionais, chamados de covariáveis, a fim de reduzir a variabilidade não explicada entre as estimativas que afetam os parâmetros farmacocinéticos individuais. A incorporação de covariáveis ( $\beta$ ) em relação aos parâmetros farmacocinéticos típicos pode indicar o tamanho do efeito e a ordem em que esse fator impacta o parâmetro individual. Estas covariáveis podem representar características demográficas (gênero, idade, altura, peso, raça), laboratoriais (creatinina sérica, bilirrubina, fenótipos e genótipos), comorbidade (etiologia, severidade, duração), terapia relacionada (medicamento, intervenção, pré-tratamento) e ambientais (fumo, álcool, comida, dieta), indicando diferentes potenciais efeitos nos parâmetros individuais. Compreender as fontes de variabilidade farmacocinética é de vital importância porque a segurança e a eficácia do medicamento podem variar com as alterações na farmacocinética. Usando as informações fornecidas pelo modelo popPK, as dosagens apropriadas podem ser selecionadas para uma determinada população ou subgrupo (Alsultan et al., 2020; CERTARA, 2020).

A modelagem popPK contrasta com os métodos de análise farmacocinética tradicionais, em que a variabilidade dos parâmetros entre os indivíduos é frequentemente minimizada pelo uso de uma população homogênea. Entre as vantagens do uso da modelagem popPK, destaca-se a capacidade de utilizar dados adquiridos em situações clínicas reais, onde muitas vezes os dados disponíveis são escassos ou esparsos, mas oriundos de um grande número de indivíduos. Essa abordagem possibilita a realização de investigações farmacocinéticas em populações especiais, como neonatos, idosos, pacientes com HIV, pacientes críticos, pacientes com câncer e nas fases II e III de desenvolvimento de fármacos, onde o número de amostras obtidas por indivíduos é limitado por questões éticas ou médicas, além de reduzir custos (Ette e Williams, 2004). As diferenças entre a modelagem tradicional e populacional estão representadas no Quadro 16.

QUADRO 16 - DIFERENÇAS ENTRE FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL E POPULACIONAL

	Farmacocinética tradicional	Farmacocinética populacional
População	Populações controladas	População alvo (idosos, saudáveis, pediátricos, etc)
Amostragem	Intensiva (12 a 15 amostras por paciente)	Espaçadas (1 a 3 amostra por paciente)
Complexidade	Moderada	Computacionalmente intenso e que consome muito tempo
Abordagem analítica	Duas etapas: regressão não-linear seguido de estatística descritiva	Modelagem com todos dados usando o modelo não-linear de efeitos mistos
Variabilidade	Minimizada pelo desenho ou critério de seleção	Mais representativo da população real

Fonte: Alsultan et al., 2020.

### 3.3. MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo propõe a modelagem da farmacocinética populacional do ciprofloxacino a partir de dados simulados provenientes da literatura. Para isso, o processo foi dividido em várias etapas (Figura 45), que incluem:

(1) pesquisa sistemática, extração, imputação de dados e descrição dos artigos da literatura para a produção de uma revisão de escopo dos parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral;

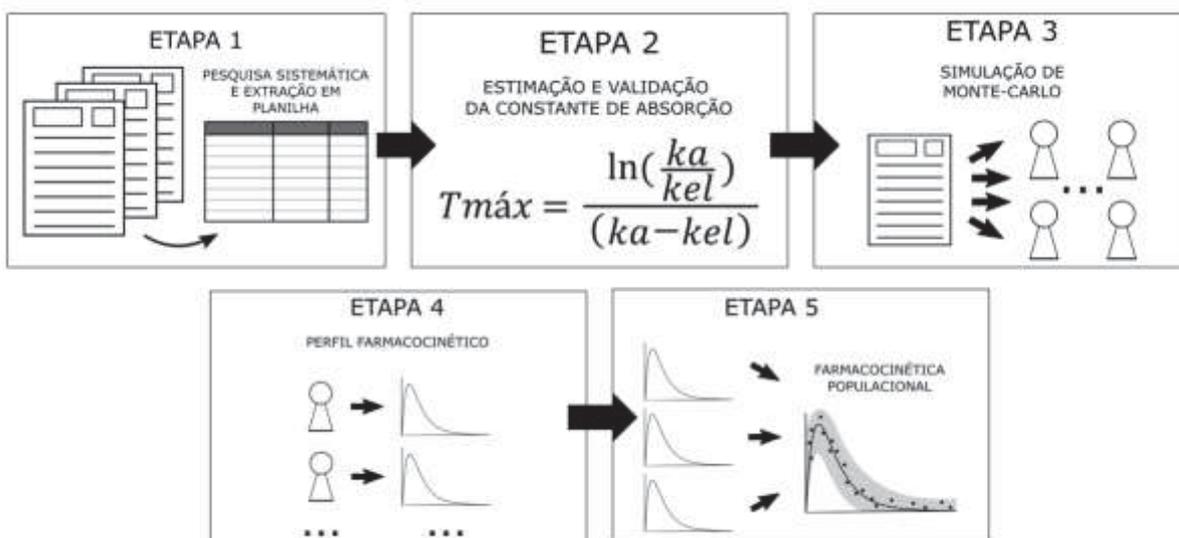
(2) Realizou-se a estimação e validação da constante de absorção por meio de um método numérico iterativo para os dados extraídos;

(3) Os parâmetros foram posteriormente submetidos a simulações computacionais para individualização dos pacientes (pacientes virtuais) e aumento amostral com base nos intervalos dos artigos incluídos;

(4) Os vetores obtidos foram então utilizados na obtenção do perfil farmacocinético utilizando o pacote do R *linpk*;

(5) Por fim, a modelagem da farmacocinética populacional foi realizada com base nos dados simulados, considerando as covariáveis fornecidas nos dados da literatura.

FIGURA 44 - ETAPAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO CAPÍTULO



Fonte: O autor (2023)

A Etapa 1 resgatou e sintetizou as informações acerca dos parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em diferentes populações, procurando indicar tendências nestes parâmetros e agregando informações pertinentes para a tomada de decisão do profissional da saúde na rotina clínica. Estes achados foram publicados na forma de artigo científico (DOI:10.1111/bcp.15933), sendo estes dados utilizados nas etapas subsequentes desta tese.

### 3.3.1. Softwares

- Prisma versão 6.01, Copyright© GraphPad Software, Inc. (Califórnia, EUA) 1992-2012;
- Inkscape versão 0.97.4, Copyright© Free Software Foundation, Inc (Massachusetts, EUA) 2007-2019.
- R versão 4.3.1., Copyright© R core team (Vienna, Austria) 2020.
- Monolix, Lixoft 2021R2 (Antony, France) 2021.

### 3.3.2. Revisão de escopo

A fim de levantar as informações acerca dos parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em diversas condições clínicas, uma revisão de escopo foi proposta, seguindo as diretrizes da Cochrane (Higgins et al., 2022) e Joanna Briggs (Peters et al., 2020). Essa revisão seguiu as diretrizes de reporte PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) para revisões de escopo (Tricco et al., 2018) e o protocolo do estudo está registrado no Open Science Framework (OSF), podendo ser acessado no site [osf.io/qgj62](https://osf.io/qgj62).

O acrônimo PCC (População, Conceito e Contexto) foi utilizado no delineamento da pesquisa. A população foi definida como adultos com diferentes condições clínicas em uso de ciprofloxacino, o conceito envolveu possíveis desfechos relacionados à farmacocinética, e o contexto abordou estudos farmacocinéticos conduzidos em qualquer país.

### 3.3.2.1. Pesquisa sistemática

A estratégia de busca sistemática foi realizada nas bases de dados eletrônicas do PubMed e Scopus para obter artigos relacionados a estudos de farmacocinética do ciprofloxacino administrado por via oral. Além disso, investigações manuais também foram realizadas no Google Scholar, na base de dados do Portal de Periódicos CAPES/MEC e nas listas de referências dos artigos incluídos. Foram utilizadas palavras-chave relacionadas à farmacocinética, popPK, ciprofloxacino e seus sinônimos, sendo esses elementos combinados utilizando operadores booleanos. As estratégias de busca completas estão disponíveis no Apêndice 1. Não foram usados filtros de período de tempo, sendo a última atualização da busca realizada em setembro de 2023.

### 3.3.2.2. Critérios de elegibilidade

Foram incluídos estudos que relatassem resultados da farmacocinética tradicional do ciprofloxacino administrado por via oral em seres humanos, tanto saudáveis como não saudáveis, com idade superior a 18 anos, e que reportassem, no mínimo, os seguintes parâmetros: área sob a curva (ASC), meia-vida ( $t_{1/2}$ ), concentração máxima ( $C_{máx}$ ) e tempo da concentração máxima ( $t_{máx}$ ). Além disso, estudos popPK e suas respectivas avaliações PK/PD que envolvessem a administração intravenosa foram considerados para identificar covariáveis significativas que pudessem apoiar e enriquecer a discussão dos achados dos dados de farmacocinética tradicional. Foram excluídos registros escritos em caracteres não-romanos, resumos de conferências, comentários, estudos com parâmetros farmacocinéticos ajustados que dificultassem a imputação dos valores originais, como parâmetros ajustados com base na área de superfície corporal, e estudos que relatassem resultados de farmacocinética de formulações de liberação controlada, liberação lenta ou liberação prolongada.

### 3.3.2.3. Seleção dos estudos e extração dos dados

Os registros obtidos das bases de dados foram examinados, lendo os títulos e resumos através da plataforma Rayyan (Ouzzani, et al., 2016). Os artigos incluídos na fase de triagem foram lidos na íntegra, e aqueles que atendiam aos critérios de inclusão foram selecionados para a extração de dados. Os seguintes metadados foram extraídos dos artigos elegíveis: autor, ano, número de pacientes, doses, parâmetros farmacocinéticos, incluindo taxa de absorção ( $k_a$ ), taxa de eliminação ( $k_{el}$ ), volume de distribuição ( $V_d$ ), concentração máxima ( $C_{máx}$ ), tempo de concentração máxima ( $t_{máx}$ ), área sob a curva (ASC) ( $0-\infty$  ou  $0-t$ , se o primeiro não estivesse disponível), clearance (Cl), volume de distribuição ( $V_d$ ) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ). Adicionalmente, foram coletadas covariáveis categóricas, como condição de saúde dos pacientes, interações medicamentosas, interação alimentar ou estado alimentar, categoria de idade e nacionalidade/etnia; se a covariável não fosse explicitamente indicada nos estudos, foram consideradas como dado ausente. Para estudos popPK, os parâmetros extraídos incluem o autor, ano, número de sujeitos, condições de saúde da população modelada, covariáveis significativas modeladas, a equação do modelo final, estimativas de parâmetros, variabilidade interindividual (efeito aleatório  $\eta$ ) e variabilidade intraindividual (erro residual  $\epsilon$ ). Todas as etapas da revisão (triagem de títulos e resumos, avaliação de texto completo e extração de dados) foram realizadas de forma independente por dois revisores, e um terceiro revisor foi consultado em caso de discrepâncias.

### 3.3.2.4. Avaliação da qualidade de reporte dos estudos incluídos

Os estudos elegíveis foram avaliados quanto à qualidade do relatório usando o questionário ClinPK, uma lista de verificação com 24 itens desenvolvida para estabelecer os critérios mínimos de relato na farmacocinética clínica (Kanji et al., 2015). As questões 12, 14, 17, 20 e 21 não foram incluídas na avaliação da farmacocinética tradicional, uma vez que não se aplicavam a esses estudos. Por outro lado, as questões 13, 14, 20 e 21 foram excluídas da avaliação popPK. Os resultados foram categorizados da seguinte forma: (0 - vermelho), indicando que o estudo não

cumpriu os critérios da questão; (1 - amarelo), mostrando que o estudo atendeu parcialmente aos requisitos do item; e (2 - verde), indicando que o estudo atendeu aos critérios do item. Esses resultados foram então agrupados de acordo com sua frequência e visualizados em um Mapa de Lacunas de Evidência (EGM, do inglês *Evidence Gap Map*), um método sistemático para resumir a evidência existente e destacar áreas onde a evidência de pesquisa está faltando ou existem lacunas de conhecimento (Campbell et al., 2023). Da mesma forma que na etapa anterior, dois revisores independentes realizaram a avaliação de qualidade dos estudos incluídos.

### 3.3.2.5. Análise de dados

Para que os dados pudessem ser interpretados e utilizados nas próximas etapas do capítulo, foi necessário calcular e imputar os parâmetros farmacocinéticos ausentes com base nos dados fornecidos nos artigos. Para essa finalidade, utilizamos as Equações 2 a 6 para diferentes parâmetros farmacocinéticos (UFL, 2013).

$$Vd = \frac{T_{1/2} \cdot Cl}{0,693} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$Cl = \frac{F \cdot dose}{ASC_{0-t}} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$Cl = \frac{0,693 \cdot VD}{T_{1/2}} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{K_{el}} \quad (\text{Eq. 5})$$

$$DP = SEM \cdot \sqrt{n} \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde:

Vd = volume de distribuição;

T<sub>1/2</sub> = meia-vida;

Cl = clearance;

F = biodisponibilidade;

ASC<sub>0-t</sub> = Área sob a curva (tempo zero até última observação);

DP = desvio padrão;

SEM = somatória dos erros médios;

n = tamanho amostral.

Os parâmetros da farmacocinética tradicional foram estratificados em subgrupos com base nas condições de saúde (saudáveis e condições clínicas). Realizou-se uma análise descritiva dos dados de pacientes saudáveis, representados por gráficos de violino e box plots. Esses gráficos apresentaram os valores individuais, mínimos, máximos, intervalo interquartil e mediana dos parâmetros do subgrupo. Além das representações gráficas, os valores da análise descritiva para os sujeitos saudáveis e clinicamente afetados foram organizados em tabelas, que incluíam média, média ponderada, desvio padrão e coeficiente de variação para cada parâmetro. A avaliação popPK compreendeu uma análise das estimativas de parâmetros, dos coeficientes de covariáveis na equação do modelo final e um resumo dos achados de PK/PD desses estudos.

### 3.3.3. Farmacocinética populacional *In Silico*

Os dados da farmacocinética tradicional, extraídos durante a revisão de escopo, foram empregados para gerar simulações computacionais e, posteriormente, para a modelagem. Nesta etapa, não foram utilizados os dados de farmacocinética populacional e PK/PD obtidos na revisão de escopo. Essa abordagem *in silico* visa inovar ao possibilitar a simulação de cenários virtuais a partir de dados de diversas fontes. Isso permite a criação de um modelo de farmacocinética populacional, que, com base nele, estima como os parâmetros do ciprofloxacino se comportam em diferentes populações e estados de saúde, simplificando o processo de ajuste de dose na rotina clínica.

### 3.3.3.1. Método numérico iterativo para estimativa da constante de absorção

A constante de absorção ( $k_a$ ) é um parâmetro essencial na construção do perfil farmacocinético de pacientes em que os medicamentos são administrados por via oral. No entanto, muitos estudos não relatam esse parâmetro, já que a maioria deles emprega a análise não-compartimental (NCA, do inglês *non-compartmental analysis*), que não fornece essa constante em sua modelagem farmacocinética. A importância do  $k_a$  se destaca ao estimar as flutuações na concentração no estado de equilíbrio, contribuindo para a estimativa dos valores máximos ( $C_{máx}$ ) e mínimos ( $C_{mín}$ ) nesse estado. Além disso, no contexto deste capítulo, o  $k_a$  é necessário para construir o perfil farmacocinético virtual, o que levou à imputação dos dados utilizando as equações 6 e 7 (UFL, 2013).

$$T_{máx} = \frac{\ln\left(\frac{k_a}{k_{el}}\right)}{(k_a - k_{el})} \quad (\text{Eq. 7})$$

$$T_{máx} = \frac{\ln\left(\frac{k_a}{\alpha}\right)}{(k_a - \alpha)} \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde:

$K_a$  = constante de absorção;

$K_{el}$  = constante de eliminação;

$T_{máx}$  = tempo para concentração máxima;

$\alpha$  = constante de distribuição.

A Equação 7 é usada para estimar o  $T_{máx}$  em modelos mono-compartimentais, enquanto a Equação 8 para modelos bi-compartimentos, sendo que ambas incluem o termo  $k_a$ . Em ambos os casos, a determinação do  $k_a$  se mostra desafiador devido à presença do logaritmo neperiano ( $\ln$ ), o que impossibilita seu isolamento por completo, como demonstrado na Figura 46.

FIGURA 45 - EXEMPLO DA EQUAÇÃO  $T_{m\acute{a}x}$  SUBSTITUÍDA PARA ISOLAMENTO DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO

$$4 = \frac{\ln\left(\frac{ka}{0,05}\right)}{(ka - 0,05)}$$
$$4ka - 0,2 = \ln ka - \ln 0,05$$
$$4ka = \ln ka - 3,19$$
$$\ln ka = ka - 0,22$$

Nota: Exemplo utilizando  $T_{m\acute{a}x}$  de 4 h e  $k_{el}$  de 0,05.

Fonte: o autor (2023)

A fim de superar esta dificuldade, optou-se por utilizar uma rotina básica de cálculo numérico, que emprega procedimentos iterativos limitados por erro absoluto utilizando algoritmos computacionais para convergir e solucionar problemas de natureza numérica complexa, ou seja, que não podem ser resolvidos de forma analítica. Para maior clareza, uma solução analítica fornece um resultado "exato", enquanto uma solução numérica busca a convergência por meio de iterações sucessivas para um valor "aproximado" da solução exata. Dessa forma, é possível estimar o valor de  $k_a$  a partir de outros parâmetros farmacocinéticos previamente extraídos da literatura. A abordagem numérica (Figura 47) baseia-se na utilização das informações de  $k_{el}$  e  $t_{m\acute{a}x}$  do artigo da literatura. O valor de  $t_{m\acute{a}x}$  é convertido em uma incógnita e substitui-se gradualmente o valor de  $k_a$  e o valor que mais se aproximar do valor original de  $t_{m\acute{a}x}$  no artigo é considerado como o valor de  $k_a$ .

FIGURA 46 - LÓGICA APLICADA NO MÉTODO NUMÉRICO ITERATIVO LIMITADO POR ERRO ABSOLUTO PARA ESTIMAÇÃO DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO

```
(1) kaest = kel
(2) Loop (SE o "Erro" for > 0,0001)
(3)   kaest = kaest + 0,0001
(4)   Tmáxest = (ln(kaest) - ln(kel)) / (kaest - kel)
(5)   Erro = |Tmáxest - Tmáxreal|
(6)   kafinal = kaest
```

Nota: esta lógica não representa a linha de script do R.

Fonte: o autor (2023)

O processo iterativo começa com a definição do valor de  $k_{a_{est}}$  igual ao valor de  $k_{el}$  (linha 1). Isso ocorre porque valores de  $k_{el}$  superiores a  $k_a$  resultariam em uma cinética "flip-flop", o que não é representativo deste caso. Após essa definição, as variáveis  $k_{el}$  e  $k_a$  são incorporadas à Equação 7 (linha 4) para calcular o valor estimado de  $T_{máx}$  ( $T_{máx_{est}}$ ). Esse valor estimado de  $T_{máx_{est}}$  é então comparado com o valor  $T_{máx}$  real obtido no artigo científico, resultando em um erro absoluto (linha 5). Esse erro é usado como critério condicional para a iteração (linha 2). Se o erro for superior ao limite estipulado, o valor de  $k_{a_{est}}$  é incrementado e reintroduzido na Equação 7, gerando uma nova iteração (linhas 4 e 5). Caso o erro seja inferior ao limite estipulado na condição, o processo de iteração é encerrado, e o valor de  $k_a$  é registrado em uma planilha (linha 6). Portanto, o  $k_a$  estimado é determinado como o primeiro ponto de inflexão mais próximo de zero do erro absoluto, sendo superior ao valor de  $k_{el}$ . Esse procedimento foi automatizado para todos os artigos incluídos no estudo, utilizando o software R 4.2.2.

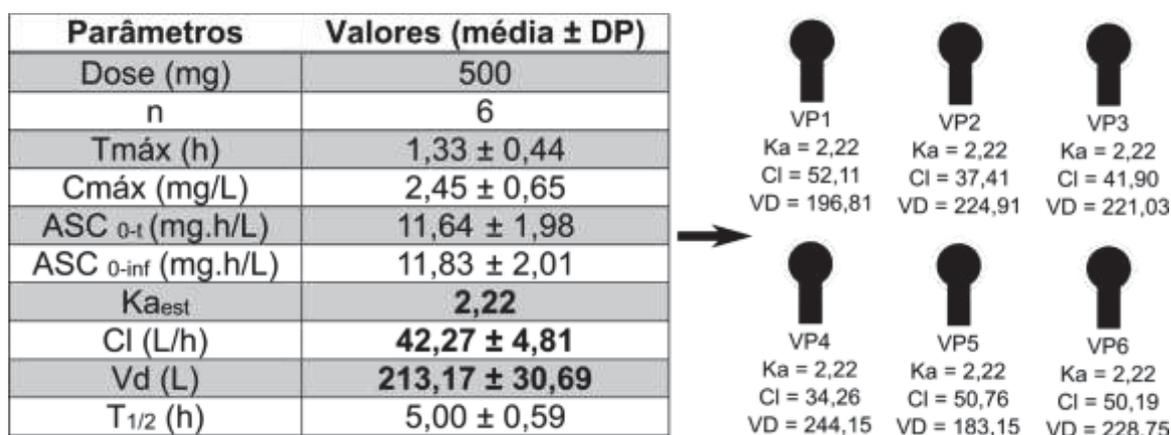
Para validar essa estimativa, foram utilizados dados farmacocinéticos de cinco indivíduos de um estudo desenvolvido pelo grupo de pesquisa no qual foi desenvolvido um método bioanalítico para determinação da metformina e canagliflozina (Dias et al., 2019). Os parâmetros obtidos desses dados foram aplicados na lógica mencionada acima e comparados com o  $k_a$  obtido por modelagem compartimental calculado pelo software Lixoft PKanalix 2021R2 (Antony, França). Essa comparação foi realizada avaliando a acurácia e utilizando o teste t de Student para dados com distribuição normal, bem como o teste de Mann-Whitney para dados não gaussianos, com um nível de significância de p-valor de 0,05.

### 3.3.3.2. Simulação de dados para geração dos pacientes virtuais e conversão dos parâmetros em observações farmacocinéticas

Os softwares de modelagem farmacocinética usam dados na forma de observações farmacocinéticas, ou seja, a concentração plasmática do fármaco ao longo do tempo. No entanto, os artigos científicos geralmente fornecem apenas os parâmetros farmacocinéticos modelados na forma de médias e desvios padrão. Para utilizar esses dados obtidos da literatura, é necessário transformá-los em pacientes modeláveis. Isso implica na individualização dos parâmetros farmacocinéticos e, em seguida, na transformação deles em perfis farmacocinéticos, incluindo as respectivas observações farmacocinéticas. Para obter os parâmetros farmacocinéticos desses intervalos, foi aplicado uma simulação de dados para amostragem em larga escala para obter resultados numéricos ou vetoriais a partir de uma distribuição conhecida.

Cada artigo incluído apresenta valores correspondentes aos seus parâmetros de farmacocinética tradicional. A simulação foi aplicada a esses dados para geração de um vetor de pacientes (VP) contendo três parâmetros ( $k_a$ ,  $Cl$  e  $VD$ ), sendo este vetor considerado uma unidade de "paciente virtual". O valor de  $k_a$  utilizado em cada VP foi definido no processo iterativo para a estimativa da constante de absorção na etapa anterior, sendo que cada artigo possui seu  $k_a$  estimado (2.3.3.1). Já os parâmetros  $Cl$  e  $VD$  foram amostrados de acordo com uma distribuição lognormal dentro do intervalo fornecido no estudo em questão (Figura 49). A quantidade de VPs gerados por cada artigo foi manipulada conforme necessário, sendo que, como teste inicial, o número total de VPs simulados foi estabelecido como sendo 10 vezes o número de pacientes do artigo original. Portanto, em um cenário com 6 pacientes no artigo, foram simulados 60 pacientes virtuais com base nesses dados. Essas simulações foram conduzidas para todos os artigos incluídos, e ao final os VPs foram armazenados em uma planilha do Excel, juntamente com suas respectivas covariáveis preditoras e doses, para avaliação da acurácia. Este processo foi automatizado utilizando o software R.

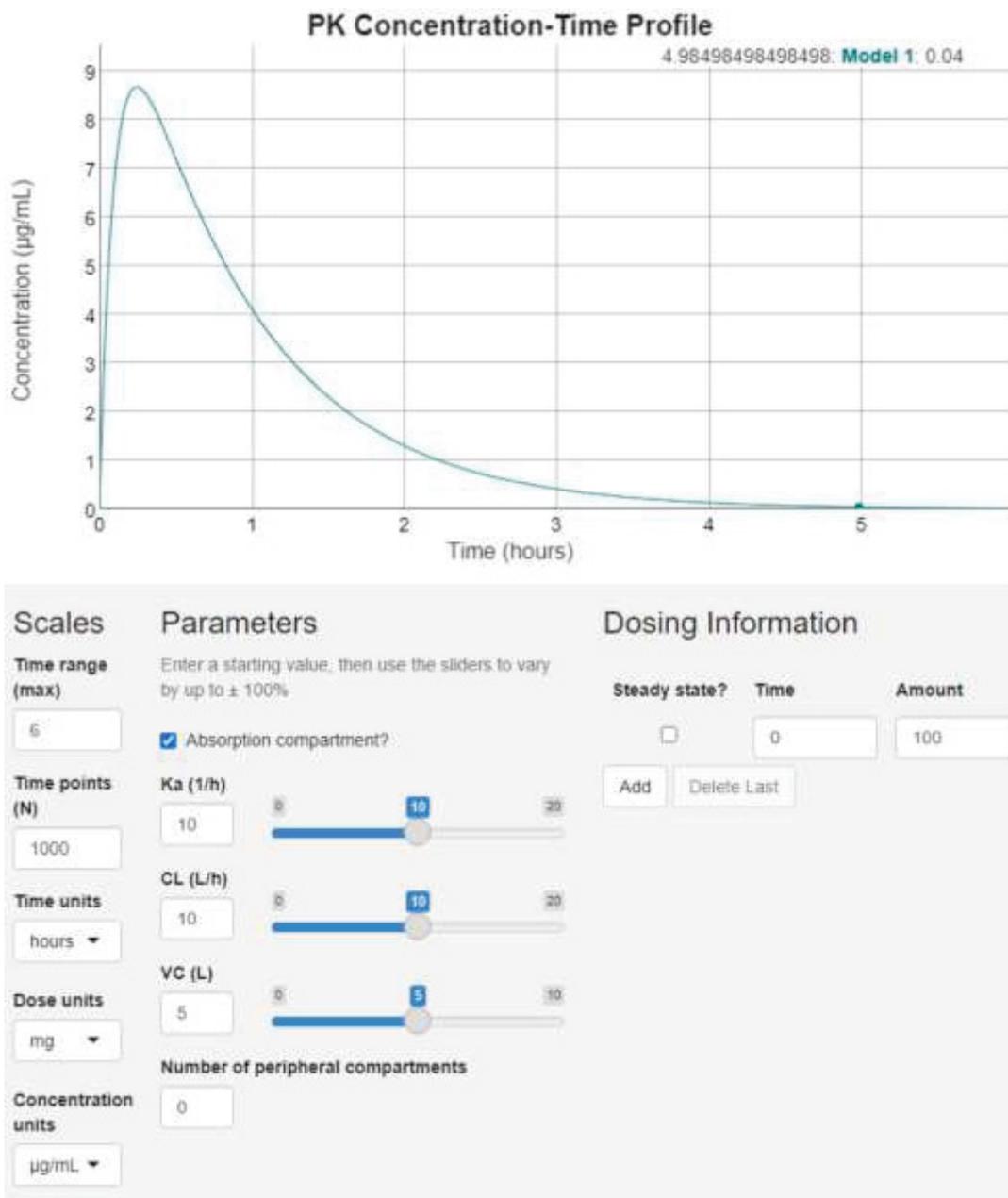
FIGURA 47 - EXEMPLO DE GERAÇÃO DOS VETORES DE PACIENTES



Fonte: O Autor (2023).

Uma vez gerado o conjunto de VPs para todos os artigos incluídos, as observações farmacocinéticas foram obtidas utilizando o pacote linpk do R. A Figura 49 representa a interface do linpk quando usado no Shiny (um pacote que permite criar uma aplicação visual das funções), que fornece campos para a inserção dos parâmetros farmacocinéticos para gerar o perfil do paciente. Os dados das concentrações plasmáticas foram gerados para os tempos: 0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24 e 48 horas para cada VP. Para otimizar o processo, foi automatizada a geração de observações para todos os VPs, utilizando uma função em loop, e os resultados foram armazenados em uma planilha de Excel padronizada. Para obter mais detalhes sobre as linhas de código, consultar o Apêndice 2.

FIGURA 48 - INTERFACE DO PACOTE LINPK PARA GERAR PERFIL FARMACOCINÉTICO A PARTIR DOS PARÂMETROS SIMULADOS



Fonte: o autor (2023)

Após a geração dos VPs com seus respectivos parâmetros farmacocinéticos, eles foram combinados com as variáveis categóricas relacionadas a cada um dos pacientes simulados. Para realizar essa união, as variáveis categóricas foram submetidas ao processo de codificação *One-Hot Encoder* (OHE), que consiste na transformação das categorias em vetores binários contendo valores 0 e 1 (Figura 50)

(Zhu et al., 2022). Essa codificação é usada para segregar as covariáveis categóricas em diversas variáveis, preservando a sua importância e contribuindo para melhores resultados nos modelos através da possibilidade da inclusão ou exclusão de covariáveis de forma individual, em vez de uma categoria completa.

FIGURA 49 - EXEMPLO DE PROCESSO DE CODIFICAÇÃO ONE HOT ENCODER

	Saúde		Saudável	Fibrose cística	Insuficiência renal
1	Saudável	OHE →	1	0	0
2	Fibrose cística		0	1	0
3	Insuficiência renal		0	0	1

Nota: As colunas estão relacionadas a covariáveis, e as linhas estão relacionadas aos pacientes.

Fonte: o autor (2023)

### 3.3.3.3. Modelagem de farmacocinética populacional

A análise de farmacocinética populacional foi realizada utilizando o software Lixoft Monolix 2019 R2. Modelos não lineares de efeitos mistos (NLME) foram empregados para ajustar os dados do fármaco a modelos mono-compartimentais. As covariáveis categóricas preditoras (codificadas em OHE) foram inseridas no software, juntamente com informações de dose, tempo e concentração plasmática do ciprofloxacino, conforme ilustrado na Figura 51.

FIGURA 50 - EXEMPLO DA INCLUSÃO UM DE PACIENTE NO SOFTWARE MONOLIX

LINE NUMBER	Paciente_ID_j	CovSa_de_Cytic_fibrosis	CovSa_de_Healthy	CovSa_de_Renal_impairment	Dose	Tempo_t_obs	Concentra_o_PerfilPaciente_conc
1	1	0	1	0	750	0	0
2	1	0	1	0	-	0.5	2.33499452130744
3	1	0	1	0	-	1	3.09218903780128
4	1	0	1	0	-	2	3.04798103951651
5	1	0	1	0	-	4	2.06144502996869
6	1	0	1	0	-	6	1.32605930408367
7	1	0	1	0	-	8	0.853451154860387
8	1	0	1	0	-	12	0.35258870230048
9	1	0	1	0	-	18	0.0934736938151375
10	1	0	1	0	-	24	0.0247966831178284
11	1	0	1	0	-	36	0.00174802625720574
12	1	0	1	0	-	48	0.000122803385592652

Fonte: o autor (2023)

Após a inserção dos dados, o modelo estrutural do software foi configurado para representar a administração oral, sem atraso, absorção de primeira ordem, modelo monocompartimental e eliminação linear. Essa configuração possibilitou a estimativa dos parâmetros populacionais para  $k_a$ ,  $V_d$  e  $Cl$  a partir das observações simuladas. O modelo foi desenvolvido seguindo o fluxo de trabalho fornecida pelo software (Figura 52).

FIGURA 51 - INTERFACE DO SOFTWARE MONOLIX MOSTRANDO AS ETAPAS DE MODELAGEM



Fonte: adaptado de Lixoft, 2021

As etapas mencionadas acima foram ilustradas para exemplificar a rotina de modelagem no software Monolix, incluindo a avaliação da significância das covariáveis (1), a estimação dos parâmetros populacionais (2), a estimação dos parâmetros individuais (3), a determinação da incerteza dos parâmetros individuais ( $\eta$ , ou variabilidade interindividual) (4), a determinação da incerteza dos parâmetros populacionais (5), a determinação da máxima verossimilhança do modelo, OFV, AIC

e BIC no qual são úteis para avaliar qualidade de modelagem (6) e a geração das figuras, como por exemplo a verificação preditiva visual (VPC, do inglês *Visual Predictive Check*), modelagens individuais e populacionais, gráficos de dispersão, distribuição residual e observação vs predição (7).

#### 3.3.3.4. Validação do modelo farmacocinético

Para validar o modelo farmacocinético populacional, foram utilizadas as estimativas individuais fornecidas pelo Monolix e comparadas com os parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir dos vetores numéricos gerados na simulação dos VPs, antes da conversão em observações farmacocinéticas. A precisão e a exatidão dos resultados foram expressas em termos de porcentagem e desvio padrão para avaliar a qualidade das previsões. Além disso, a função OFV foi considerada, sendo que valores menores indicam modelos de maior qualidade.

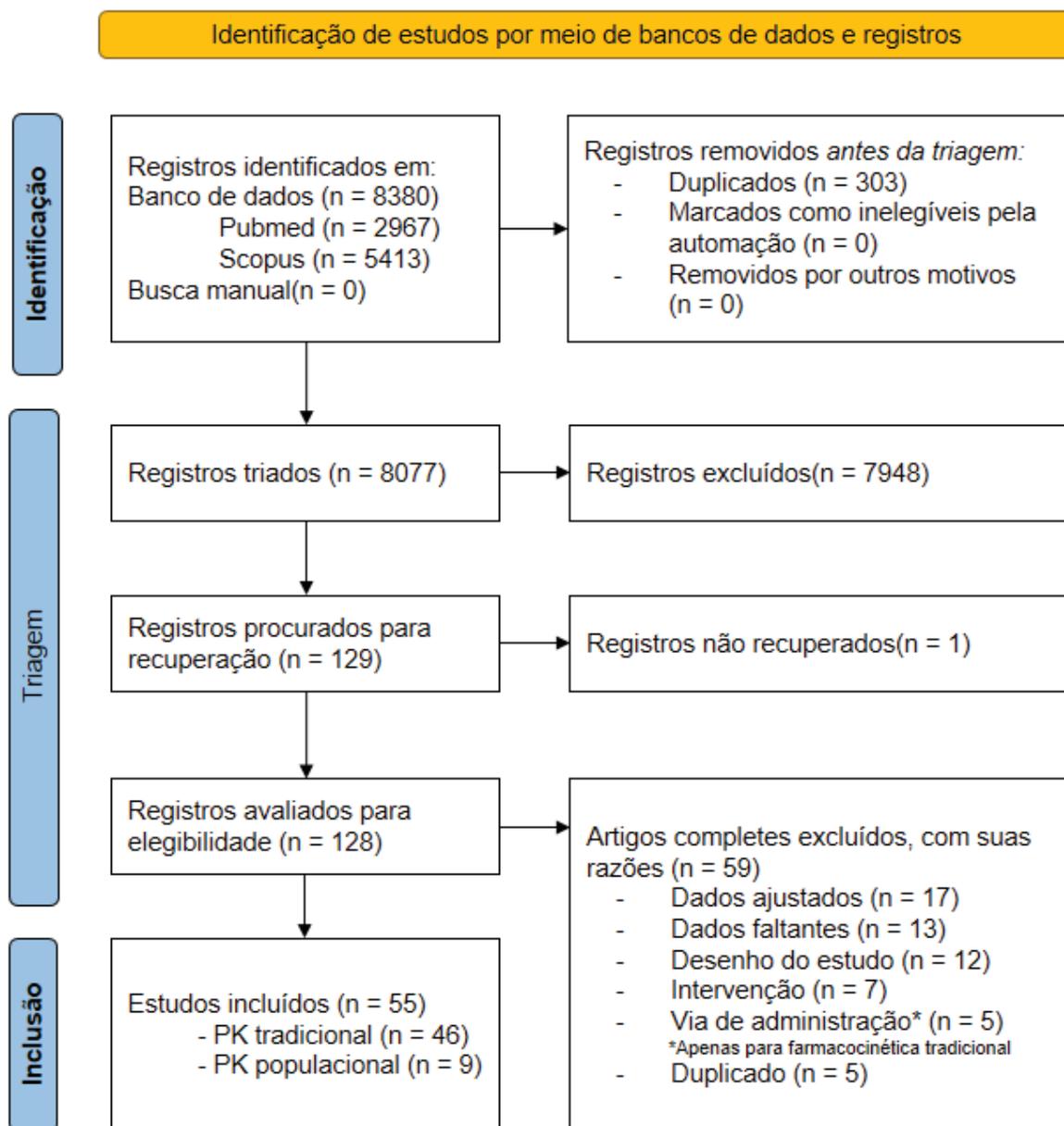
### 3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.4.1. Revisão de escopo

##### 3.4.1.1. Pesquisa sistemática

Um total de 8380 registros foram inicialmente obtidos das bases de dados bibliográficas, com 2967 artigos do PubMed e 5413 do Scopus. Após a eliminação de duplicatas, 8077 artigos foram considerados relevantes para o processo de triagem, dos quais 129 foram selecionados para avaliação do texto completo. Finalmente, 55 estudos atenderam aos critérios de elegibilidade, compreendendo 46 estudos tradicionais de farmacocinética (PK) e 9 estudos de PK populacional (popPK), todos incluídos para extração de dados e análise subsequente (Figura 53).

FIGURA 52 - FLUXOGRAMA MODIFICADO DO PRISMA 2020 PARA A REVISÃO ESCOPO DA FARMACOCINÉTICA DA CIPROFLOXACINA



Fonte: adaptado de Page et al., 2021

### 3.4.1.2. Características dos estudos incluídos na revisão de escopo

No total, foram extraídos 86 perfis de farmacocinética tradicional de 46 estudos. Entre esses estudos, 72 perfis (83,7%) correspondiam a pacientes saudáveis, enquanto os 14 restantes se referiam a pacientes com diversas condições clínicas. As condições clínicas representadas neste subgrupo incluíam fibrose cística (n = 7,

8,1%), insuficiência renal (n = 4, 4,6%), e estudos individuais (1,2% cada) com cirrose, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e pacientes febris.

Em relação às covariáveis, 12 perfis relataram explicitamente a faixa etária dos pacientes. Dentre esses perfis, 6 classificaram os pacientes como idosos (6,9%), representando indivíduos com mais de 60 anos, enquanto os outros 6 os classificaram como jovens (6,9%), representando pacientes com idades entre 20 e 30 anos.

A proporção de gênero no estudo é frequentemente relatada, embora muitos envolvam populações mistas para os sexos. Entre os estudos analisados, 18 perfis (20,9%) avaliaram especificamente pessoas do sexo masculino, enquanto 2 (2,3%) se concentraram exclusivamente em populações femininas. Vale ressaltar que um estudo teve como principal objetivo comparar o impacto do gênero nos parâmetros farmacocinéticos (Gallicano e Shahai, 1996).

Em relação à alimentação, entre os estudos incluídos, 13 perfis (15,1%) afirmaram explicitamente que os sujeitos estavam em jejum, enquanto dois perfis (2,3%) indicaram que os sujeitos haviam se alimentado antes da determinação farmacocinética. Dois estudos, especificamente os conduzidos por Hoogkamer, et al. (1995) e Neuvonen, et al. (1991), examinaram o efeito do iogurte e leite nos perfis farmacocinéticos. Um estudo de Frost, et al. (1989) também investigou o perfil farmacocinético de pacientes alimentados com uma dieta rica em gordura e cálcio.

Diversos estudos investigaram o impacto das interações medicamentosas nos parâmetros farmacocinéticos. No total, houveram 13 perfis diferentes (15,1%) que avaliaram várias interações medicamentosas, incluindo hidróxido de alumínio, subsalicilato de bismuto, carbonato de cálcio, dieta rica em cálcio, clindamicina, diclofenaco, gluconato ferroso, sulfato ferroso, itraconazol, omeprazol, multivitaminas, rifampicina e sucralfato.

Por fim, é importante considerar que a nacionalidade e etnia podem potencialmente afetar os parâmetros farmacocinéticos; no entanto, apenas um número limitado de estudos avaliou diretamente essa covariável. Entre os estudos obtidos, 3 (3,5%) foram conduzidos exclusivamente com a população mexicana, enquanto 1 (1,2%) se concentrou apenas na população paquistanesa. É importante observar que a covariável da etnia possui dados limitados disponíveis devido à presença de populações mistas nesses estudos. Embora o país de origem seja

indicado, não se pode assumir que todos os sujeitos incluídos compartilham a mesma etnia, já que muitas vezes há representação de uma população mista.

Os parâmetros de dose, AUC (0- $\infty$  ou 0-t), t<sub>max</sub>, c<sub>max</sub> e T<sub>1/2</sub> foram relatados em todos os estudos incluídos. Os parâmetros V<sub>d</sub>, Cl e Kel foram relatados com menor frequência, necessitando sua imputação. Por fim, o parâmetro menos comumente relatado foi Ka (n = 11, 12,8%), uma vez que a maioria dos modelos farmacocinéticos utiliza análise não compartimental (NCA), no qual não é gerado este parâmetro.

Ao estratificar os estudos incluídos de acordo com o ano de publicação, 41,3% (19 estudos) foram publicados nos anos 80, 41,3% (19 estudos) nos anos 90 e 17,4% (8 estudos) eram dos anos 2000 em diante. A proporção de parâmetros farmacocinéticos faltantes foi semelhante, com 19,1% ausente nos anos 80, 26,4% nos anos 90 e 21,9% nos anos 2000. Não houve redução cronológica dos parâmetros faltantes ao longo das décadas observadas nos estudos incluídos.

Um total de 9 estudos de PK populacional (popPK) foram elegíveis para inclusão nesta revisão, abrangendo o período de 2008 a 2022. Esses estudos envolveram 420 pacientes, sendo a maioria hospitalizada em condições críticas (n = 376, 89,5%). A maioria desses estudos considerou o modelo de dois compartimentos mais significativo na modelagem dos dados. Esses estudos forneceram modelos para Cl, Kel, Volume de distribuição do compartimento principal (V<sub>dc</sub>), volume de distribuição do compartimento periférico (V<sub>dp</sub>) e clearance intercompartimental (Q). Além das estimativas de parâmetros, 7 dos 9 estudos relataram efeitos aleatórios ( $\eta$ ) e erros residuais ( $\epsilon$ ) (77,8%), destacando que a maioria dos estudos explorou a variabilidade populacional.

A extração completa se encontra nos apêndices 8 e 9, enquanto os artigos excluídos com seus respectivos motivos demonstrados no apêndice 3.

#### 3.4.1.3. Avaliação da qualidade

Com base na aplicação da lista de verificação ClinPK (Figura 54), a maioria dos estudos demonstrou conformidade na reportagem dos aspectos metodológicos, incluindo perguntas sobre coadministração de medicamentos ou alimentos (81,4%), regime posológico (88,4%) e coleta e armazenamento de amostras (93,0%). Os resultados indicaram a necessidade de mais informações em relação à variabilidade

inter e intra-sujeitos modelados, com 81,4% de variáveis incompletas ou ausentes entre as covariáveis e os parâmetros observados. Além disso, os estudos apresentaram deficiências em outras áreas, como a falta de identificação de possíveis vieses ou a descrição de limitações do estudo (41,7% não relataram), falta de clareza na discussão da aplicabilidade ou validade externa dos resultados (65,1% não foram claros) e negligência na divulgação de conflitos de interesse (53,5% não relataram).

A lista de verificação ClinPK também foi aplicada a estudos de popPK e, ao contrário dos estudos tradicionais de PK, os reportes nesses estudos foram mais positivos. Os únicos aspectos que chamaram atenção foram a divulgação das perdas de acompanhamento, que careciam de clareza em 8 estudos (88,9%), e a descrição da coadministração de medicamentos, que pode levar a potenciais interações com o ciprofloxacino, não sendo divulgada em 7 estudos (77,8%). Essas informações são essenciais, uma vez que a maioria dos pacientes incluídos nos estudos encontravam-se em leito de UTI e neste ambiente há uma probabilidade de o paciente ser polimedicado, aumentando as chances de interação medicamentosa.

A avaliação completa da qualidade dos estudos de farmacocinética tradicional dos estudos incluídos nesta revisão pode ser encontrada no Apêndice 4 para frequências e 5 para avaliação da qualidade individual, enquanto a avaliação da qualidade de popPK é fornecida no Apêndice 6 e 7.

FIGURA 53 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E SUAS LACUNAS DE EVIDÊNCIA DOS ESTUDOS DE FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL UTILIZANDO O CLINPK

Questão Título/Resumo		Evidence Gap Map		
1	O título declara o fármaco e população estudada			
2	O resumo inclui minimamente o nome do(s) medicamento(s) estudado(s), a via de administração, a população na qual foi estudado e os resultados do objetivo principal e das principais descobertas farmacocinéticas.			
<b>Contexto</b>				
3	São descritos dados farmacocinéticos (ou seja, absorção, distribuição, metabolismo, excreção) que são conhecidos e relevantes para os medicamentos em estudo.			
4	É fornecida uma explicação da justificativa do estudo.			
5	É fornecida a hipótese ou objetivos específicos			
<b>Metodologia</b>				
6	Os critérios de elegibilidade dos participantes do estudo são descritos.			
7	A coadministração (ou a ausência dela) do(s) medicamento(s) do estudo com outros medicamentos com potencial interações ou alimentos.			
8	As características de preparação e administração do medicamento, incluindo dose, via, formulação, duração da infusão (se aplicável) e frequência, são descritas.			
9	A coleta de fluidos corporais ou tecidos (tempo, frequência e armazenamento) para a quantificação do fármaco é descrita.			
10	A validação dos métodos bioanalíticos utilizados no estudo é referenciada ou descrita, se aplicável.			
11	Métodos de modelagem farmacocinética e software utilizados são descritos, incluindo as suposições feitas quanto ao número de compartimentos e ordem de cinética (zero, primeira ou ordem mista).			
13	As fórmulas para variáveis calculadas (como depuração de creatinina, área de superfície corporal, ASC e peso corporal ajustado) são fornecidas ou referenciadas.			
15	Métodos estatísticos, incluindo o software utilizado, são descritos.			
<b>Resultados</b>				
16	As censuras (desistências) do estudo ou os sujeitos perdidos no acompanhamento (ou a falta deles) são relatados.			
18	Todas as variáveis relevantes que podem explicar a variabilidade farmacocinética entre pacientes e dentro de um mesmo paciente (incluindo: idade, sexo, função dos órgãos, etnia, peso ou IMC, estado de saúde ou			
19	Os resultados das análises farmacocinéticas são relatados com medidas apropriadas de precisão, como intervalo de variação ou intervalos de confiança de 95%.			
<b>Discussão/Conclusão</b>				
22	As limitações do estudo, descrevendo potenciais fontes de viés e imprecisão quando relevantes, devem ser descritas.			
23	A relevância das descobertas do estudo (aplicabilidade, validade externa) é descrita.			
<b>Outros</b>				
24	As fontes de financiamento e conflitos de interesse dos autores são divulgados.			

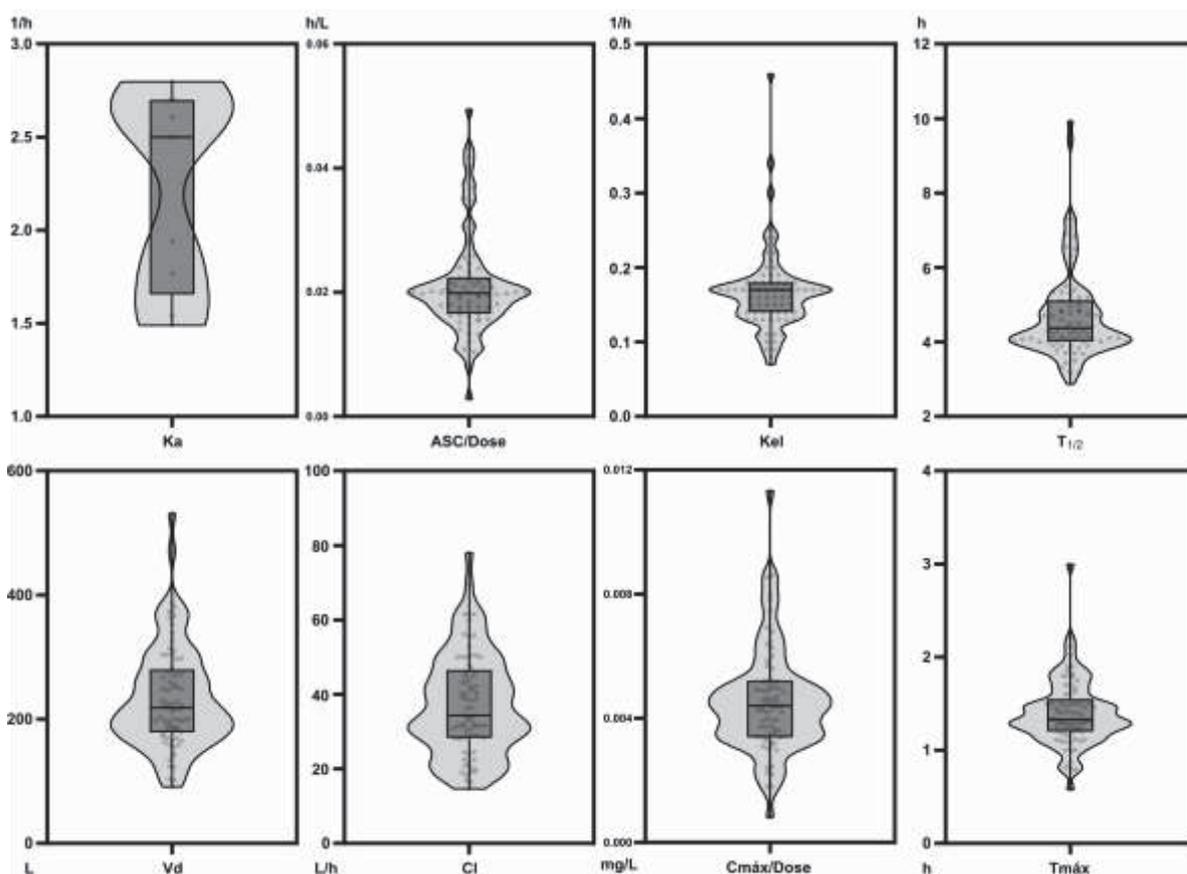
Fonte: o autor (2023)

#### 3.4.1.4. Estudos com pacientes saudáveis incluídos na revisão de escopo

Para aprimorar a visualização dos parâmetros farmacocinéticos de pacientes saudáveis, a Figura 55 mostra uma representação gráfica dos pacientes e a distribuição desta população. A Tabela 21, por sua vez, disponibiliza os valores da análise descritiva dos parâmetros coletados, incluindo média, mediana, média ponderada, intervalo interquartil, desvio padrão, desvio padrão relativo, mínimo e máximo. Os valores individuais da extração estão detalhados no Apêndice 8, que contém 72 perfis saudáveis provenientes de 36 estudos.

Para facilitar a comparação, os pacientes saudáveis do estudo conduzido por Crump et al. (1983) foram considerados como os valores de referência para os parâmetros farmacocinéticos. Este estudo foi o primeiro a relatar a determinação da concentração plasmática de ciprofloxacino oral em pacientes saudáveis.

FIGURA 54 - VIOLIN PLOT COM BOXPLOT DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES SAUDÁVEIS



Fonte: o autor (2023)

TABELA 21 - ANÁLISE DESCRITIVA DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES SAUDÁVEIS

	Ka (1.h <sup>-1</sup> )	ASC (mg.h.L <sup>-1</sup> )	ASC/Dose (h.L <sup>-1</sup> )	Kel (1.h <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (h)	Vd (L)	Cl (L.h <sup>-1</sup> )	C <sub>máx</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	C <sub>máx</sub> /Dose (L)	T <sub>máx</sub> (h)
<b>Máx</b>	2,80	26,00	0,049	0,46	9,93	532,00	78,08	6,40	0,0113	3,00
<b>Q3</b>	2,70	13,46	0,022	0,18	5,10	280,20	46,51	2,93	0,0052	1,55
<b>Mediana</b>	2,50	10,40	0,020	0,17	4,30	218,10	34,36	2,42	0,0044	1,33
<b>Q1</b>	1,65	8,06	0,016	0,14	4,00	178,50	28,28	1,64	0,0034	1,20
<b>Min</b>	1,49	1,00	0,003	0,07	2,88	91,14	14,69	0,28	0,0008	0,58
<b>Média</b>	2,23	10,99	0,021	0,17	4,72	235,00	37,32	2,31	0,0045	1,40
<b>Média ponderada</b>	2,19	10,77	0,021	0,17	4,65	233,12	37,63	2,29	0,0045	1,37
<b>DP</b>	0,53	5,41	0,008	0,06	1,26	83,84	13,70	1,13	0,0017	0,37
<b>DPR (%)</b>	23,77	49,23	39,05	34,29	26,69	35,68	36,71	48,92	38,07	26,43

Ka - constante de absorção; ASC - área sob a curva; kel - constante de eliminação; T<sub>1/2</sub> - meia-vida; Vd - volume de distribuição; Cl - clearance; C<sub>máx</sub> - concentração máxima; T<sub>máx</sub> - tempo para concentração máxima; Q - intervalo interquartil; DP - desvio padrão; DPR - desvio padrão relativo.  
Fonte: o autor (2023)

Os valores de Ka variaram de 1,49 a 2,80, com uma mediana de 2,50. O valor mais alto (2,8 1.h<sup>-1</sup>) foi relatado em um estudo que avaliou uma população jovem e saudável (Lebel et al., 1986), enquanto o valor mais baixo (1,49 1.h<sup>-1</sup>) foi observado em sujeitos saudáveis do sexo masculino (Gonzalez et al., 1984). Não houve uma tendência discernível no valor de Ka em sujeitos saudáveis em relação a covariáveis. Além disso, devido à escassez de dados disponíveis para Ka, a comparação entre estudos e o gráfico de violino podem não representar com exatidão a distribuição real desta variável na população.

Para facilitar a comparação, os dados de ASC foram normalizados, ajustando o parâmetro de acordo com a dose administrada ao paciente (ASC/dose). O ASC/Dose variou de 0,003 h.L<sup>-1</sup> (Frost et al., 1992) a 0,049 h.L<sup>-1</sup> (Bayer et al., 2009), com uma mediana de 0,020 h.L<sup>-1</sup>. Essa variação corresponde a 1,5 a 24,5 mg.h.L<sup>-1</sup> ao ajustar os parâmetros AUC/dose para 500 mg. Em contraste, quando o parâmetro não foi ajustado de acordo com a dose, a faixa correspondente foi de 1,00 a 26,00 mg.h.L<sup>-1</sup>, com uma mediana de 10,40 mg.h.L<sup>-1</sup>, valor que se aproxima de 9,90 mg.h.L<sup>-1</sup> conforme relatado por Crump et al. (1983). Apesar dessa faixa ser dispersa, a maior parte dos dados ficaram compreendidos entre o primeiro quartil (8,06 mg.h.L<sup>-1</sup>) e do terceiro quartil (13,46 mg.h.L<sup>-1</sup>). Ao avaliar o efeito das covariáveis, é possível observar o impacto direto das interações medicamentosas no ASC/dose. Os estudos que relataram os valores mais baixos de AUC/dose foram conduzidos por Frost et al. (1992), que avaliaram a interação do ciprofloxacino com uso concomitante de

antiácidos, como hidróxido de alumínio e carbonato de cálcio. Kara et al. (1991) avaliaram interações envolvendo gluconato ferroso, sulfato ferroso e polivitamínico, propondo que a redução na biodisponibilidade do ciprofloxacino na presença de ferro pode ser atribuída à formação de um complexo íon férrico-ciprofloxacino.

Por outro lado, dois estudos identificaram interações medicamentosas que resultaram em um aumento no ASC. O estudo conduzido por Sriwiryajan et al. (2011) encontrou uma interação com itraconazol, enquanto Iqbal et al. (2009) identificou uma interação com diclofenaco. Ambos os estudos justificaram esse efeito citando a inibição enzimática do CYP3A4, que está relacionada com o metabolismo do ciprofloxacino. Outra covariável de impacto é a faixa etária, na qual os sujeitos idosos frequentemente apresentam valores próximos do máximo dentre os estudos avaliados. Essa observação, juntamente com outros parâmetros como meia-vida e clearance, pode ser parcialmente explicada por uma diminuição na taxa de filtração glomerular na população idosa, sugerindo a necessidade de uma posologia diferente para esse grupo (Lebel et al., 1986).

As interpretações relacionadas à depuração do ciprofloxacino foram semelhantes ao considerar os parâmetros  $kel$  e  $T_{1/2}$ . O  $kel$  variou de  $0,07 \text{ 1.h}^{-1}$  (Sriwiryajan et al., 2011) a  $0,46 \text{ 1.h}^{-1}$  (Gonzalez et al., 1984), com uma mediana de  $0,17 \text{ 1.h}^{-1}$  e intervalos interquartis entre  $0,14 \text{ 1.h}^{-1}$  e  $0,18 \text{ 1.h}^{-1}$ . O  $T_{1/2}$  variou de  $2,88 \text{ h}$  (Lomaestro et al., 1991) a  $9,93 \text{ h}$  (Sriwiryajan et al., 2011), com uma mediana de  $4,30 \text{ h}$ . O estudo de Crump et al. (1983) relatou  $kel$  de  $0,18 \text{ 1.h}^{-1}$ , com  $T_{1/2}$  de  $3,90 \text{ h}$ . Entre os estudos incluídos que avaliaram interações medicamentosas, Lomaestro et al. (1991) e Iqbal et al. (2009) relataram os valores mais elevados de  $kel$  e  $T_{1/2}$  ao avaliar a interação com clindamicina e diclofenaco, respectivamente. Por outro lado, Sriwiryajan et al. (2011) encontrou os valores mais baixos de  $kel$  e  $T_{1/2}$  no contexto da interação com itraconazol em uma população saudável. Além dos estudos mencionados, Frost et al. (1992) observaram um prolongamento da meia-vida do ciprofloxacino quando administrado juntamente com hidróxido de alumínio e carbonato de cálcio, fornecendo evidências adicionais do impacto das interações medicamentosas na depuração do ciprofloxacino. Esses achados estão alinhados com o aumento da ASC nos pacientes.

O clearance (Cl) variou de 14,69 L.h<sup>-1</sup> (Bayer et al., 2009) a 78,08 L.h<sup>-1</sup> (Bashir et al., 2004), com uma mediana de 34,36 L.h<sup>-1</sup> e intervalos interquartis entre 28,28 L.h<sup>-1</sup> e 46,51 L.h<sup>-1</sup>. Vale a pena notar os estudos conduzidos por Bayer et al. (2009) e Lebel et al. (1986), que indicaram uma redução no Cl na população idosa devido a uma diminuição na taxa de filtração glomerular. Bashir et al. (2004) relataram o maior Cl em seu estudo envolvendo jovens mulheres paquistanesas. Por outro lado, Hoogkamer et al. (1995) observou um alto Cl ao estudar o efeito do leite na farmacocinética do ciprofloxacino (69,44 L.h<sup>-1</sup>). É importante destacar que outro estudo de Neuvonen et al. (1991) examinou o efeito do leite na depuração (32,21 L.h<sup>-1</sup>), valor que não diferiu da população controle do estudo em questão. Isso pode implicar na possibilidade desses resultados serem valores isolados ou específicos para Cl, semelhante ao estudo conduzido exclusivamente com mulheres paquistanesas, já que não há outros estudos disponíveis para comparar e confirmar a reprodutibilidade desses dados. Por fim, Rambout et al. (1994) e Stuth et al. (1995) também relataram um aumento nesse parâmetro ao avaliar a interação com subsalicilato de bismuto e omeprazol.

O volume de distribuição (Vd) variou de 91,14 L (Bayer et al., 2004) a 532 L (Brunner et al., 2002), com uma mediana de 218,1 L. Brunner et al. (2002) conduziram um estudo comparando a penetração de tecidos de ciprofloxacino em indivíduos saudáveis. Com base nas informações disponíveis, é difícil sugerir uma explicação clara ou identificar covariáveis que possam esclarecer a discrepância no valor de Vd de Brunner et al. (2002) (532 L) em comparação com outros perfis, já que estes apresentaram valores distantes dos declarados (terceiro quartil - 280,20 L), indicando a possibilidade de um valor atípico para esse parâmetro. Ao avaliar os estudos subsequentes em ordem decrescente, os valores de Vd variaram de 310 L a 390 L, e nenhuma covariável notável além da condição "saudável" foi identificada. Bayer et al. (2009) relatou o valor mais baixo de Vd (91,14 L) em um estudo realizado com uma população idosa, o que está alinhado com outros estudos envolvendo sujeitos idosos (134,32 L e 163,15 L) (Lebel et al., 1986; Weinstein et al., 1991). Essa diminuição no Vd pode ser atribuída a uma redução no conteúdo de água corporal e na massa muscular, acompanhada de um aumento na gordura corporal, levando a um volume de distribuição reduzido para agentes hidrofílicos (Thürmann, 2020).

Ajustou-se o  $C_{m\acute{a}x}$  de acordo com a dose, de forma semelhante ao ASC. O  $C_{m\acute{a}x}/dose$  variou de 0,0008 L (Frost et al., 1992) a 0,0113 L (Bayer et al., 2009), com uma mediana de 0,0044 L. Isso corresponde a uma faixa de 0,4 a 5,65  $mg.L^{-1}$  quando ajustado para 500 mg. Em comparação, o  $C_{m\acute{a}x}$  não ajustado variou de 0,28  $mg.mL^{-1}$  a 6,40  $mg.mL^{-1}$ , com uma mediana de 2,42  $mg.mL^{-1}$  e intervalos interquartis de 1,64  $mg.mL^{-1}$  e 2,93  $mg.mL^{-1}$ . Crump et al. (1983) relataram um valor de referência de máx de 2,3  $mg.mL^{-1}$ . Frost et al. (1992) relataram o valor mais baixo de  $C_{m\acute{a}x}/dose$  ao avaliar o impacto do hidróxido de alumínio e carbonato de cálcio. Por outro lado, Kara et al. (1991) relataram o segundo valor mais baixo (0,018 L) ao avaliar os efeitos do gluconato ferroso, sulfato ferroso e multivitaminas sobre a absorção e biodisponibilidade do ciprofloxacino. Ambos os estudos abordaram o impacto desses medicamentos na absorção e biodisponibilidade do ciprofloxacino. Por outro lado, os valores mais altos de  $C_{m\acute{a}x}/dose$  foram observados em estudos realizados com indivíduos idosos (Lebel et al., 1986, Bayer et al., 2009, Weinstein et al., 1991, Ball et al., 1986). Weinstein et al. (1991) conduziram uma avaliação específica da população idosa, examinando a interação entre cálcio e rifampicina com o ciprofloxacino. No entanto, o aumento observado em  $C_{m\acute{a}x}/dose$  pode ser atribuído às características da população idosa, em vez da interação medicamentosa, como concluído pelos autores.

O  $t_{m\acute{a}x}$  variou de 0,58 h (Hoffken et al., 1985) a 3 h (Kara et al., 1991), com uma mediana de 1,33 h. Crump et al. (1983) relataram um valor de  $t_{m\acute{a}x}$  de 1,25 h. Os valores mais baixos de  $t_{m\acute{a}x}$  foram relatados por Hoffken et al. (1985) (0,58 h), Escobar e Hoyo-Vadillo (2003) (0,79 h) e Ball et al. (1986) (0,8 h). Esses estudos não especificaram uma covariável que pudesse explicar a causa desse declínio em  $t_{m\acute{a}x}$ , além das covariáveis para sujeitos jovens e em jejum. No entanto, deve ser observado que essas covariáveis parecem estar distribuídas por toda a faixa desse parâmetro e não se correlacionam com a diminuição em  $t_{m\acute{a}x}$ . Kara et al. (1991) comparou diferentes interações medicamentosas em sujeitos saudáveis. O grupo de controle (3 h) e o grupo que recebeu sulfato ferroso (2,2 h) exibiram os valores mais altos de  $t_{m\acute{a}x}$ , que podem ser valores atpicos, considerando que o terceiro quartil foi de 1,55 h.

Mesmo que os parâmetros de Bashir et al. (2004) para a população feminina tenham diferido dos valores medianos, a covariável sexo não apresentou significância quando comparada aos homens. Essa descoberta está alinhada com os resultados do estudo de Galliccano et al. (1996), que demonstrou a ausência de efeito de gênero na farmacocinética do ciprofloxacino.

Quanto ao estado de alimentação, Frost et al. (1989) investigaram o impacto da alimentação, mais especificamente, refeições ricas em gordura e cálcio em comparação com o jejum, no ciprofloxacino e não encontraram um efeito significativo. No entanto, em 1992, o mesmo autor observou que o carbonato de cálcio influenciou a absorção do ciprofloxacino, sugerindo uma potencial complexação com o cálcio e impacto subsequente em seu perfil farmacocinético (Frost et al., 1992). Essas descobertas estão alinhadas com estudos de Neuvonen et al. (1991) e Hoogkamer et al. (1995), que examinaram os efeitos do leite e do iogurte e concluíram que havia um efeito significativo na concentração plasmática de ciprofloxacino.

Tolentino-Hernandez et al. (2020) conduziu uma avaliação farmacocinética da população mexicana e a comparou com outras etnias, revelando uma diferença significativa em seus perfis. No entanto, o autor reconheceu limitações decorrentes da falta de divulgação da etnia de toda a população modelada, o que o forçou a depender da nacionalidade em vez disso. Essa abordagem pode introduzir viés, uma vez que a nacionalidade pode abranger várias etnias.

As covariáveis de interação medicamentosa, especificamente as interações com íons ferrosos, carbonato de cálcio e diclofenaco, tiveram impacto (Frost et al., 1992, Kara et al., 1991, Iqbal et al., 2009). Sriwiriayajana et al. (2011) encontraram que o ciprofloxacino diminuiu o metabolismo do itraconazol, aumentando sua concentração plasmática, o que poderia potencialmente causar reações adversas a medicamentos. A coadministração desses medicamentos deve ser abordada com cautela. Weinstein et al. (1991) concluíram que a clindamicina ou rifampicina não afetaram significativamente a farmacocinética do ciprofloxacino. Quanto à covariável idade, ser jovem não afetou substancialmente a farmacocinética do ciprofloxacino. Por outro lado, os sujeitos idosos tiveram um impacto significativo devido à sua fisiologia alterada (Lebel et al., 1986, Bayer et al., 2009, Weinstein et al., 1991, Ball et al., 1986).

Essas descobertas em indivíduos saudáveis devem ser tratadas com cautela devido à alta variabilidade observada nos dados. A variabilidade variou de 23,77% (Ka) a 39,05% (ASC/dose). É importante observar que diferentes conjuntos de parâmetros podem ser observados nas mesmas condições e covariáveis. Por exemplo, uma comparação da meia-vida entre Capecchi et al. (1995) (7,28 h) e Lomaestro et al. (1991) (3,19 h) ilustra essa disparidade. A comparação dos perfis de indivíduos saudáveis em cada estudo exibe diferenças significativas. Essa discrepância pode ser atribuída à intra-variabilidade dentro da população saudável ou à falta de uma descrição abrangente da população, potencialmente envolvendo uma covariável significativa que poderia ajudar a elucidar essa diferença. Esse comportamento foi observado em todos os parâmetros, tornando mais desafiador interpretar ou identificar tendências.

A maioria das covariáveis, exceto as condições de saúde, tinha valores ausentes e, das covariáveis elegíveis para extração, apenas 155 de 516 células (30,04%) estavam preenchidas. Essa descoberta está alinhada com a avaliação de qualidade dos estudos, onde uma questão crítica foi a necessidade de mais detalhes sobre as características da população modelada, o que pode ajudar a explicar a intra-variabilidade. O uso da lista de verificação ClinPK desenvolvida por Kanji et al. (2015) é uma ferramenta valiosa para ajudar a abordar lacunas específicas de informações na apresentação da farmacocinética. Avaliar a qualidade dos estudos incluídos com base nas diretrizes de relatórios atuais pode não ser justo, já que muitos aspectos agora exigidos em publicações não eram obrigatórios no passado e podem não ter sido abordados ainda.

#### 3.4.1.5. Estudos com pacientes não-saudáveis incluídos na revisão de escopo

Os dados disponíveis sobre os principais parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino oral em pacientes com condições clínicas, como fibrose cística, insuficiência renal, gastroparesia diabética, imunossuprimidos, cirrose e febre, estão disponíveis no Apêndice 9. A farmacocinética do ciprofloxacino em pacientes com insuficiência renal, definidos pelo clearance de creatinina (CrCl) inferior a 50 ml.min<sup>-1</sup> por 1,73 m<sup>2</sup>, mostrou que a T<sub>1/2</sub> foi de 6,30 e 7,10 h após administração oral de 500 e 750 mg, respectivamente. Em contraste, em pacientes saudáveis, a T<sub>1/2</sub> foi de 4,30 e

6,30 h para as mesmas doses, respectivamente. Pacientes com insuficiência renal apresentaram concentrações de dose mais elevadas em comparação com aqueles com função renal normal (Gasser et al., 1987).

Os resultados dos estudos que avaliaram a farmacocinética em pacientes com insuficiência renal incluídos nesta revisão mostraram variabilidade. Ao compará-los, a mediana de  $k_{el}$  foi de  $0,08 \text{ h}^{-1}$ , com uma variabilidade evidente no intervalo de  $0,04 \text{ h}^{-1}$  a  $0,11 \text{ h}^{-1}$ . Da mesma forma, a mediana de  $T_{1/2}$  foi de 8,75 h, variando de 6,3 h a 16,8 h. Isso corrobora os dados de  $Cl$ , que variaram entre 16,85 a  $21,18 \text{ L.h}^{-1}$ , indicando uma baixa depuração e conseqüente aumento na meia-vida. O valor mediano de  $T_{max}$  foi de 1,68 h, variando de 1,5 h a 2,3 h (intervalo interquartil de 0,66 h). Além disso, o  $V_d$  oscilou de 113,8 a 408,6 L, com uma faixa de 294,8 L (terceiro quartil - 253,3 L) (Gasser et al., 1987; Shalit et al., 1986; Singlas et al., 1987).

A mediana de  $ASC/dose$  foi de  $0,046 \text{ h.L}^{-1}$ , com valor máximo de  $0,059 \text{ h.L}^{-1}$  e mínimo de  $0,036 \text{ h.L}^{-1}$ , representando  $ASC$  de  $26,0 \text{ mg.h.L}^{-1}$  a  $44,5 \text{ mg.h.L}^{-1}$  sem o ajuste pela dose. Os dados apresentam considerável variabilidade, com um desvio padrão relativo de 21,74%. As  $ASC$  mostraram-se mais elevadas em pacientes com insuficiência renal do que em indivíduos saudáveis. Isso pode ser explicado pela baixa depuração do fármaco, com uma tendência de aumento à medida que a gravidade da insuficiência renal aumenta. Pacientes com função renal prejudicada podem necessitar de ajustes de dose para evitar o acúmulo do medicamento, levando em consideração a gravidade da doença, apesar da variabilidade observada nos resultados (Gasser et al., 1987; Shalit et al., 1986; Singlas et al., 1987).

A fibrose cística (FC) é uma doença genética que afeta órgãos como o fígado, pulmões, pâncreas e intestinos. Ela é causada por mutações no gene regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR). Como resultado dessa mutação genética, uma proteína CFTR defeituosa é produzida, levando à desregulação do equilíbrio de sais e água nas membranas celulares. As disfunções da proteína CFTR podem resultar na produção de muco espesso, que obstrui as vias respiratórias, os ductos biliares, os ductos pancreáticos e os intestinos (Gentzsch e Marcus, 2018).

Davis et al. (1987) encontraram que após a administração oral de 750 mg de ciprofloxacino, não houve diferença estatisticamente significativa nos parâmetros

farmacocinéticos entre pacientes com fibrose cística e pessoas saudáveis. No entanto, a dose oral de 750 mg de ciprofloxacino pode levar ao acúmulo e manter as concentrações do medicamento no escarro bem acima das concentrações inibitórias mínimas de *P. aeruginosa* em pacientes com fibrose cística (Reed et al., 1988).

Após a administração oral, a absorção do ciprofloxacino foi de 71% tanto em pacientes com fibrose cística quanto em adultos saudáveis. Goldfarb et al. (1986) demonstraram que, após uma única dose (500 mg, 750 mg e 1.000 mg) de ciprofloxacino oral em pacientes com fibrose cística e pacientes saudáveis, não houve alterações nos parâmetros farmacocinéticos em termos de  $t_{máx}$ ,  $T_{1/2}$  e  $V_d$  (Davis et al., 1987). Além disso, outro estudo estabeleceu que a suplementação enzimática não influencia a absorção oral de ciprofloxacino em pacientes com fibrose cística (Mack et al., 1991). E finalmente, a avaliação da função pulmonar em pacientes com fibrose cística não revelou correlação entre o grau de resposta ao tratamento com antibióticos na infecção por *P. aeruginosa* (Pedersen et al., 1987). Embora a fibrose cística não tenha alterado os parâmetros farmacocinéticos em comparação com pacientes saudáveis em cada estudo, os resultados também apresentaram alta variabilidade.

Os estudos que avaliaram a farmacocinética de pacientes com fibrose cística mostraram que a mediana de  $k_{el}$  foi de  $0,17 \text{ h}^{-1}$ , com um mínimo de  $0,14 \text{ h}^{-1}$  e um máximo de  $0,22 \text{ h}^{-1}$ . A  $T_{1/2}$  variou de 2,95 h a 4,80 h, com uma mediana de 3,70 h. O  $V_d$  é outro parâmetro com alta variabilidade, variando de 118,8 L a 246,7 L, com uma mediana de 151,0 L. A mediana do  $Cl$  foi de  $29,07 \text{ L.h}^{-1}$ , com um mínimo de  $20,43 \text{ L.h}^{-1}$  e um máximo de  $42,95 \text{ L.h}^{-1}$  (primeiro quartil de  $11,21 \text{ L.h}^{-1}$ ). A mediana da  $ASC$  foi de  $19,30 \text{ mg.h.L}^{-1}$ , com um mínimo de  $3,90 \text{ mg.h.L}^{-1}$  e um máximo de  $32,7 \text{ mg.h.L}^{-1}$  (primeiro quartil de  $9,10 \text{ mg.h.L}^{-1}$ ) (Davis et al., 1987; Goldfarb et al., 1986; Mack et al., 1991; Pedersen et al., 1987; Reed et al., 1988). Esses resultados sugerem uma considerável variabilidade na forma como o fármaco se comporta em pacientes com fibrose cística. Essa variabilidade na farmacocinética pode ser atribuída a variações genéticas individuais, diferenças na gravidade da doença e variações na função pulmonar e gastrointestinal. Por outro lado, outra limitação que contribui para a variabilidade dos resultados é o tamanho amostral reduzido.

O ciprofloxacino é eliminado predominantemente inalterado pelos rins, e sua farmacocinética não é significativamente afetada pela insuficiência hepática. No

entanto, observaram-se ligeiras modificações na farmacocinética do ciprofloxacino em pacientes com insuficiência hepática leve a moderada. A farmacocinética do ciprofloxacino em pacientes com insuficiência hepática é apenas minimamente alterada, e, portanto, não parece ser necessária a ajuste de dose na maioria dos pacientes. No entanto, é aconselhável ter cautela ao prescrever ciprofloxacino a pacientes com doença hepática grave devido à maior susceptibilidade à hepatotoxicidade induzida por medicamentos (Montay et al., 1990).

Uma quantidade limitada de informações está disponível sobre a farmacocinética em pacientes com HIV. A biodisponibilidade média do ciprofloxacino foi encontrada em 82%. Esses achados sugerem que o ciprofloxacino administrado por via oral é bem absorvido em pacientes portadores de HIV, indicando boa biodisponibilidade. Da mesma forma, outros parâmetros não mostraram alterações significativas (Owens et al., 1997).

No caso de pacientes com gastroparesia diabética, quando administrada uma única dose oral de 500 mg de ciprofloxacino, o medicamento foi absorvido adequadamente. A gastroparesia em pacientes com diabetes mellitus não afeta significativamente a biodisponibilidade e outros parâmetros farmacocinéticos do ciprofloxacino (Marangos et al., 1995).

Durante uma febre aguda, há uma diminuição no fluxo sanguíneo para o trato gastrointestinal, o que pode afetar a absorção de medicamentos administrados por via oral. Além disso, as mudanças no fluxo sanguíneo e na permeabilidade vascular, comumente observadas durante a febre, podem influenciar a distribuição do medicamento pelo corpo, afetando a farmacocinética geral. No entanto, em pacientes sem problemas gastrointestinais, a absorção de uma única dose oral de 500 mg de ciprofloxacino durante a febre aguda não foi alterada em comparação com pacientes saudáveis (Patel et al., 1995).

É importante ressaltar que, mesmo que essas condições não afetem significativamente os parâmetros farmacocinéticos, isso não significa que as doenças avaliadas devem ser ignoradas durante o ajuste de doses, pois cada população pode apresentar diferenças e variações que requerem atenção individual.

#### 3.4.1.6. Estudos de farmacocinética populacional incluídos na revisão de escopo

Em relação aos estudos de farmacocinética populacional (popPK), dos 9 estudos, 5 envolveram pacientes graves com tratamento em UTI (55,5%), 2 estudos incluíram pacientes em oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) (22,2%), e 1 estudo focou em pacientes idosos, enquanto outro em pacientes com infecção osteoarticular (11,1% cada), como mostrado na Tabela 24.

As estimativas de parâmetros do modelo base para a CI variaram de 5,4 L.h<sup>-1</sup> (Cios et al., 2014) a 48,5 L.h<sup>-1</sup> (Zahr et al., 2021), com uma mediana de 13,6 L.h<sup>-1</sup>. Para o V<sub>dc</sub>, as estimativas variaram de 22,72 L (Cios et al., 2014) a 143,0 L (Sima et al., 2021), com uma mediana de 66,3 L. O V<sub>dp</sub> variou de 75,0 L (Khachman et al., 2011) a 212,0 L (Zahr et al., 2021), com uma mediana de 89,5 L, e o Q variou de 19,9 L.h<sup>-1</sup> (Cheng et al., 2022) a 91,9 L.h<sup>-1</sup> (Abdulla et al., 2020), com uma mediana de 39,4 L.h<sup>-1</sup>. Essas estimativas de população são consideradas valores típicos, e os parâmetros individuais variam de acordo com os diversas covariáveis incorporadas no modelo matemático.

Ao subdividir os parâmetros de acordo com sua população, foi possível demonstrar que o valor típico mediano da CI em pacientes gravemente enfermos era de 16,3 L.h<sup>-1</sup>, em comparação com 11,99 L.h<sup>-1</sup> em pacientes durante a ECMO. A estimativa da CI para os idosos foi de 8,0 L.h<sup>-1</sup>, enquanto pacientes com infecções osteoarticulares tiveram um valor de 48,5 L.h<sup>-1</sup>. É importante observar que houve apenas um estudo para cada uma das populações de idosos e infecção osteoarticular, tornando difícil determinar se esses valores são resultados isolados ou representam esses valores típicos.

O valor típico para o volume de distribuição do compartimento principal mostrou que pacientes gravemente enfermos tinham um volume de 62 L, enquanto pacientes da ECMO tinham um valor de 75,3 L. Os idosos apresentaram um volume de 22,7 L, e pacientes com infecções osteoarticulares tinham um volume de 66,3 L. Vale ressaltar que a maioria desses pacientes estava hospitalizada, e nenhum dos estudos modelou uma população saudável, tornando incerto qual seria o valor típico para indivíduos saudáveis.

No que diz respeito aos modelos de covariáveis, os estudos investigaram diversas covariáveis que poderiam estar relacionadas com os valores de Cl, Vdc e Vdp, mas apenas 11 foram consideradas significativas nos modelos popPK. Entre esses estudos, a covariável significativa mais frequentemente observada foi o clearance de creatinina, que apareceu em 5 modelos para os parâmetros de Cl (55,5%). Após o clearance de creatinina, o peso corporal foi a próxima covariável mais comum, ocorrendo em 3 estudos para Vdc e Vdp (33,3%). Outras covariáveis, como bicarbonato plasmático, taxa estimada de filtração glomerular, terapia de substituição renal, idade, sexo, bilirrubina total, massa magra, fatores dietéticos em doença renal e rifampicina, apareceram uma vez cada como covariáveis significativas nos modelos de Cl.

De acordo com o modelo final de covariáveis exibido na Tabela 22, todos os modelos indicaram que um maior clearance de creatinina resulta em uma maior depuração de ciprofloxacino, com a maioria dessas equações exibindo uma relação proporcional ( $f(\theta, \text{tempo}) \cdot (1 + \epsilon)$ ). Uma abordagem semelhante indicou que o peso corporal contribui para um valor maior de Vd, principalmente devido à distribuição do medicamento no compartimento adiposo e ao suprimento sanguíneo para vários tecidos corporais (Zuckerman et al., 2015).

No modelo de Alihodzic et al. (2022), o bicarbonato plasmático contribuiu em uma relação proporcional ao valor de Cl. Por outro lado, no modelo de Li et al. (2018), as covariáveis significativas incluíram idade, sexo e bilirrubina total, com sua influência sobre o parâmetro Cl explicada por um modelo proporcional. De acordo com o modelo de Li, idade acima de 49 anos implica em uma diminuição do Cl; a população feminina exibe uma diminuição de 56,5% no Cl em comparação com os homens, e uma concentração normal de bilirrubina (0,8 a 1,2 mg.dL<sup>-1</sup>) leva a um aumento de quase 10% no Cl. Por fim, outra covariável significativa no estudo de Zahr et al. (2021) foi a interação medicamentosa com rifampicina, que aumentou o Cl em quase 60%.

Os efeitos aleatórios dos estudos elegíveis mostraram uma faixa de 14,0% (Cios et al., 2014) a 67,8% (Abdulla et al., 2020) para Cl e de 18,6% (Cios et al., 2014) a 72% (Khachman et al., 2011) para Vdc. O erro residual variou de 0,98% (Sima et al., 2021) a 33,6% (Cios et al., 2014), com uma mediana de 16,8%, e o erro proporcional foi o modelo mais comumente usado (n = 6, 66,6%).

Dentro dessas populações modeladas, os pacientes idosos apresentaram os valores mais divergentes para os parâmetros Cl e Vd. Esse achado está alinhado com descobertas de farmacocinética tradicional, onde a idade é reconhecida como um fator significativo devido a alterações na fisiologia basal, reduções no teor de água corporal e massa muscular e diminuição na eficiência de filtração renal (Lebel et al., 1986; Bayer et al., 2009; Weinstein et al., 1991; Ball et al., 1986).

TABELA 22 - FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO

ID	N	População	Covariáveis significativas	Modelo final com covariáveis	Estimativas de parâmetros	Variabilidade Interindividual (efeitos aleatórios $\eta$ )	Variabilidade intraindividual (erro residual $\epsilon$ )
Abdulla et al., 2020	42	Gravemente enfermo	-	-	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 25,4±11 $V_{dc}$ (L) 91,1±13 $V_{dp}$ (L) 164±15 $Q$ (L.h <sup>-1</sup> ) 91,9±10	$Cl$ (%) 67,8±12 $V_c$ (%) 51,0±22	Prop (%) 15,3±48 Add (%) 14,3±55
Alhodzic et al., 2022	17	ECMO	Bicarbonato plasmático (A) e filtração glomerular (B)	$Cl = Cl_{pop} * (1 + 0,0571 * (A - 25,7)) * (1 + 0,0038 * (B - 40,83))$	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 12,9±7,6 $V_{dc}$ (L) 73,2±16 $V_{dp}$ (L) 88,3±17 $Q$ (L.h <sup>-1</sup> ) 39,4±33	$Cl$ (%) 46,4±20 $V_{dc}$ (%) 48,1±18 $V_{dp}$ (%) 3,2 $Q$ (%) 38,7±64	Prop (%) 12,1±21,9
Cheng et al., 2022	8	ECMO	Massa corpórea (C), clearance de creatinina (D), terapia de substituição renal (RRT)	$V_{dc} = V_{dcpop} * (C / 80)^{0,75}$ $V_{dp} = V_{dppop} * (C / 80)^{0,75}$ If RRT = 0 $Cl = Cl_{pop} * (D / 92)$ If RRT = 1 $Cl = Cl_{pop}^{CVHDF}$	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 11,08±5,60 $Cl_{CVHDF}$ (L.h <sup>-1</sup> ) 1,51±1,18 $V_{dc}$ (L) 77,31±23,99 $V_{dp}$ (L) 90,71±38,69 $Q$ (L.h <sup>-1</sup> ) 19,99±17,74	-	-
Cios et al., 2017	44	Idoso	Massa corpórea (C), clearance de creatinina (D)	$V_{dc} = V_{dcpop} + 0,86 * C$ $Cl = Cl_{pop} + 0,21 * D$	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 8,0 $V_{dc}$ (L) 22,72	$Cl$ (%) 14,0 $V_{dc}$ (%) 18,6	Comb (%) 33,6
Conil et al., 2008	70	Gravemente enfermo	Clearance de creatinina (D)	$Kel = D * 0,0010203 + 0,119655$	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 13,6±5,8 $V_{dc}$ (L) 62,0±10,7 $Kel$ (h <sup>-1</sup> ) 0,216±0,073 $K12$ (h <sup>-1</sup> ) 0,499±0,168 $K21$ (h <sup>-1</sup> ) 0,120±0,012 $T_{1/2}$ (h) 3,7±1,8	-	-
Khachman et al., 2011	10 2	Gravemente enfermo	Clearance de creatinina (D)	$Cl = Cl_{pop} * (D / 91,7)^{0,43}$	$Cl$ (L.h <sup>-1</sup> ) 19,0±6,3 $V_{dc}$ (L) 31±24 $V_{dp}$ (L) 75±8,4 $Q$ (L.h <sup>-1</sup> ) 71±31	$Cl$ (%) 50±25 $V_{dc}$ (%) 72±40 $Q$ (%) 71±31	Prop (%) 22±8,4

Li et al., 2018	15	Gravemente enfermo	Idade (E), sexo (F), bilirrubina total (G)	$Cl = Cl_{pop} * (1 + (49 - E) * 0,0153) * (1 - 0,432 * F) * (G / 1,85)^{0,241}$	Cl (L.h <sup>-1</sup> ) 16,3±9 Vdc (L) 24,2 Vdp (L) 83,2 Q (L.h <sup>-1</sup> ) 71,2	Cl (%) 18,7 Vdc (%) 51,5	Prop (%) 18,3 Add (%) 11,4
Sima et al., 2021	30	Gravemente enfermo	Clearance de creatinina (D)	$Cl = Cl_{pop} + D * (D / 1,25)$	Cl (L.h <sup>-1</sup> ) 5,4±28 Vdc (L) 143±9,0	Cl (%) 44,9±3,0 Vdc (%) 34,8±17,0	Prop (%) 4,78±26 Add (%) 0,981±34
Zahr et al., 2021	92	Infecção osteoartricular	Massa magra (H), massa corpórea (C), modificação da dieta em doença renal (I) e rifampicina (RIF)	$Cl = Cl_{pop} * (H / 54)^{0,75} * (I / 100)^{0,311} * (1,55, \text{ if RIF} = 1)$ OR $Cl = Cl_{pop} * (C / 70)^{0,75} * (I / 100)^{0,319} * (1,62, \text{ if RIF} = 1)$	Cl <sub>FFM</sub> (L.h <sup>-1</sup> ) 48,5 Vdc <sub>FFM</sub> (L) 66,3 Vdp <sub>FFM</sub> (L) 212 Q <sub>FFM</sub> (L.h <sup>-1</sup> ) 33,8 Cl <sub>BW</sub> (L.h <sup>-1</sup> ) 44,0 Vdc <sub>BW</sub> (L) 56,5 Vdp <sub>BW</sub> (L) 194 Q <sub>BW</sub> (L.h <sup>-1</sup> ) 31,1	Cl <sub>FFM</sub> (%) 21,9 Vdc <sub>FFM</sub> (%) 34,9 Cl <sub>BW</sub> (%) 20,3 Vdc <sub>BW</sub> (%) 29,4	Prop <sub>FFM</sub> (%) 26,2 Prop <sub>BW</sub> (%) 26,4

ECMO - oxigenação membranar extracorpórea; Cl – clearance; Vdc – volume de distribuição do compartimento central; Vdp – volume de distribuição do compartimento periférico; Q – clearance intercompartimental; Prop – erro residual proporcional; add – erro residual aditivo; Comb – erro residual combinado; FFM - massa magra; BW - massa corpórea; CL<sub>CVHDF</sub> - clearance do ciprofloxacino com pacientes em hemodiafiltração venosa; RIF - rifampicina.  
Fonte: o autor (2023)

#### 3.4.1.7. Estudos PK/PD incluídos na revisão de escopo

A farmacocinética (PK) define a variação das concentrações do medicamento no corpo ao longo do tempo, enquanto a farmacodinâmica (PD) descreve a relação entre as concentrações do medicamento e seus efeitos farmacológicos. Conseqüentemente, PK/PD descreve a relação entre a dose do medicamento e seus efeitos farmacológicos, onde alterações nas concentrações do medicamento resultam em diferentes efeitos farmacológicos (Roberts et al., 2015).

Os estudos incluídos que avaliaram PK/PD também empregaram PopPK para identificar e quantificar as fontes de variabilidade do medicamento em uma população (Mould e Upton, 2013). Por meio do modelo PopPK, torna-se possível realizar simulações de Monte Carlo para testar uma ampla gama de valores de covariáveis, que têm um impacto significativo nos perfis farmacocinéticos, gerando diversos valores de parâmetros de PK e facilitando a criação de índices para PK/PD em diferentes distribuições de MIC (Concentração Inibitória Mínima), vinculando, assim, as informações sobre a concentração plasmática com seus efeitos (Trang et al., 2017).

A relação entre a área sob a curva de concentração sérica ao longo de 24 horas em estado de equilíbrio e a MIC ( $ASC_{0-24}/MIC$ ) serve como um preditor confiável da eficácia da ciprofloxacina, com valores  $\geq 125$  h indicando uma alta probabilidade de cura microbiológica e clínica para quinolonas (Zelenitsky e Ariano et al., 2010).

Abdulla et al. (2020) conduziram testes com o objetivo de atingir um  $ASC_{0-24}/MIC \geq 100$  h em vários valores de MICs e descobriram que uma dose de 1200 mg ou mais era eficaz contra bactérias com MICs superiores a  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , como o *P. aeruginosa*.

Alihodzic et al. (2022) examinaram índices superiores a 125 h e concluíram que, para patógenos com MICs superiores a  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , a ciprofloxacina não era uma opção terapêutica. No entanto, uma dose diária de 1200 mg seria apropriada para patógenos com um valor de MIC igual ou inferior a  $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$ , levando em consideração fatores como bicarbonato plasmático superior a  $22 \text{ mmol.L}^{-1}$  ou uma taxa estimada de filtração glomerular superior a  $10 \text{ mL.min}^{-1}$ , que reduzem significativamente a probabilidade de atingir a meta terapêutica.

Cheng et al. (2022) conduziram testes em várias MICs e demonstraram que, dentro da faixa de peso de 60 kg a 100 kg, com depuração de creatinina variando

entre 30 mL.min<sup>-1</sup> e 100 mL.min<sup>-1</sup>, todos os regimes de dosagem de 400 mg/dia a 1200 mg/dia alcançaram uma probabilidade de 100% de atingir a meta terapêutica para patógenos com uma MIC de 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. Por outro lado, Conil et al. (2008) encontraram que receber de 400 mg/dia a 800 mg/dia era suficiente apenas para cepas bacterianas com MIC < 0,3 mg.L<sup>-1</sup>.

Li et al. (2018) constataram que a redução da dose com base na depuração de creatinina não é suportada. No entanto, reduzir a dose para 400 mg/dia é mais coerente para mulheres com idade mais avançada e níveis significativamente aumentados de bilirrubina, desde que os valores de MIC para as cepas bacterianas sejam de 0,25 mg.L<sup>-1</sup>.

Sima et al. (2021) concluíram que um regime de 800 mg/dia era suficiente para MICs ≤ 0,125 mg.L<sup>-1</sup>, mas inadequado para MICs ≥ 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, exceto para pacientes com função renal prejudicada. Além disso, uma posologia consistindo de ciprofloxacina 1200 mg/dia possibilitou uma probabilidade de 100% de atingir a meta terapêutica para MICs ≤ 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto nenhum regime de dosagem alcançou suficiência para MICs ≥ 0,5 mg.L<sup>-1</sup>.

Sob uma perspectiva diferente, Khachman et al. (2011) simularam índices PK/PD usando valores de MICs de várias cepas. Para atingir um valor de 125 h ou mais para *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae*, eram necessários apenas 400 mg/dia. No entanto, para o *Pseudomonas aeruginosa*, eram necessários 2400 mg, e essa meta não era alcançada para o *Enterobacter aerogenes* e o *Acinetobacter baumannii*.

Na prática clínica, a dosagem regular de ciprofloxacina geralmente se situa dentro de uma faixa estreita de 800-1200 mg/dia, observando que doses mais elevadas podem potencialmente aumentar o risco de eventos adversos (Abdulla et al., 2020).

A revisão de escopo foi conduzida de maneira eficaz, permitindo a identificação de diversos achados relacionados aos parâmetros farmacocinéticos em diferentes condições clínicas, destacando a variabilidade nos dados disponíveis. Essa abordagem proporcionou uma compreensão mais profunda e abrangente do campo, enriquecendo nosso entendimento sobre o comportamento farmacocinético do ciprofloxacino, ampliando seu conhecimento no contexto clínico. Essas descobertas

desempenham um papel fundamental no avanço da farmacocinética e beneficiarão pesquisas futuras que dependem deste mapeamento de dados, contribuindo para a promoção de terapias otimizadas, eficazes e seguras.

#### 3.4.2. Farmacocinética populacional *In Silico*

A revisão de escopo forneceu uma síntese da farmacocinética do ciprofloxacino oral em diferentes condições de saúde. Além de ser útil na coleta de dados farmacocinéticos para posterior modelagem, também destacou a falta de padrões claros na forma como os parâmetros farmacocinéticos se comportam em diferentes populações. Essa correção pode ser realizada com a aplicação da modelagem farmacocinética populacional, que identifica a variabilidade interindividual e intraindividual, bem como o impacto das covariáveis nos parâmetros individuais.

A proposta deste estudo *in silico* visa realizar a modelagem de farmacocinética populacional com base em pacientes simulados, baseado no intervalo declarado nos estudos de farmacocinética tradicional resgatados na revisão de escopo. Essa modelagem leva em consideração as variações encontradas nos estudos e as covariáveis associadas aos parâmetros farmacocinéticos observados. O objetivo dessa nova abordagem é estruturar os dados existentes para uma modelagem sem a necessidade de pacientes reais e observações farmacocinéticas, o que pode auxiliar na estimativa das doses ideais para os pacientes com base em suas informações individuais.

##### 3.4.2.1. Método numérico iterativo para estimativa da constante de absorção

Para utilizar os dados foi necessário estimar as constantes de absorção dos estudos incluídos. Para tal, foi aplicado uma rotina de método numérico iterativo limitado por erro absoluto para encontrar os valores próximos desta constante.

Os dados brutos de Dias et al. (2019) foram utilizados na modelagem monocompartimental para metformina e bicompartimental para canaglifozina para obtenção dos parâmetros de  $k_a$ . O processo iterativo do método numérico foi desenvolvido e aplicado para obtenção do  $k_a$  estimado e ambos parâmetros foram comparados acerca de suas concordâncias (Tabela 23).

TABELA 23 - COMPARAÇÃO DA ESTIMATIVA NUMÉRICA DA CONSTANTE DE ABSORÇÃO EM RELAÇÃO AOS MODELOS MONO E BICOMPARTIMENTAIS

Metformina monocompartimental				Canaglifozina bicompartimental			
Ka simulado	Ka mono	MW p-valor	Acurácia	Ka simulado	Ka bi	MW p-valor	Acurácia
0,5492± 0,3414	0,4701± 0,2887	0,6588	123,75± 57,89	2,305± 1,035	3,079± 2,605	0,9999	91,51± 29,67

Nota: Ka simulado obtido por método numérico; MW - teste Mann-Whitney. Ka mono e bi obtidos pelo software PKanalix.

Fonte: o autor (2023)

Antes de comparar os dados obtidos pela simulação, foi verificada a normalidade dos dados usando o teste de Shapiro-Wilk. Os resultados indicaram não-normalidade dos dados, com p-valores de 0,0037 e 0,0001 para o modelo monocompartimental e p-valores de 0,1964 e 0,0412 para o modelo bicompartimental. Portanto, foi necessário utilizar o teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos, rejeitando a hipótese alternativa ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) e demonstrando que os grupos comparados são estatisticamente semelhantes.

A acurácia dos modelos foi de 123,75% e 91,51%, mostrando uma concordância aceitável em relação aos valores reais obtidos no software de modelagem farmacocinética. Portanto, a aplicação do método numérico iterativo limitado por erro absoluto se mostrou adequada para estimar as constantes de absorção. No entanto, para ampliar o conhecimento das limitações e a qualidade dos resultados, propõe-se aumentar o tamanho amostral e utilizar outras medidas de erro em abordagens numéricas.

#### 3.4.2.2. Modelagem de farmacocinética populacional

Após estimar as constantes de absorção para todos os perfis farmacocinéticos, os VPs foram criados por meio da simulação dos dados a partir de uma amostragem aleatória em larga escala da distribuição lognormal para os parâmetros de Cl e Vd. Ao final, foi possível gerar 9.600 pacientes (originalmente 960 pacientes), totalizando 115.200 observações farmacocinéticas no período de 0 a 48 horas, provenientes de 86 perfis farmacocinéticos, cada um contendo seu conjunto de covariáveis específicas. A utilização de linguagem de programação poupou tempo na

manipulação de dados, demonstrando ser uma ferramenta essencial em simulações ou na produção de grandes volumes de dados.

Um obstáculo encontrado durante o processo de modelagem foi a limitação do poder de processamento computacional. O software Monolix não foi projetado para lidar com grandes volumes de dados, como as 115.200 observações necessárias para as simulações. Como resultado, as simulações eram excessivamente demoradas ou a aplicação simplesmente interrompia durante o processo, tornando a avaliação impossível. Para superar esse desafio, o tamanho amostral foi reduzido em dez vezes, resultando em 11.520 observações. Embora fosse possível integrar as simulações do Monolix com o R, devido a restrições de tempo, a decisão foi tomada de prosseguir com o primeiro protótipo usando os dados disponíveis no próprio software do Monolix. Planeja-se procurar uma máquina com maior capacidade de processamento ou considerar a integração com o software R em um segundo momento.

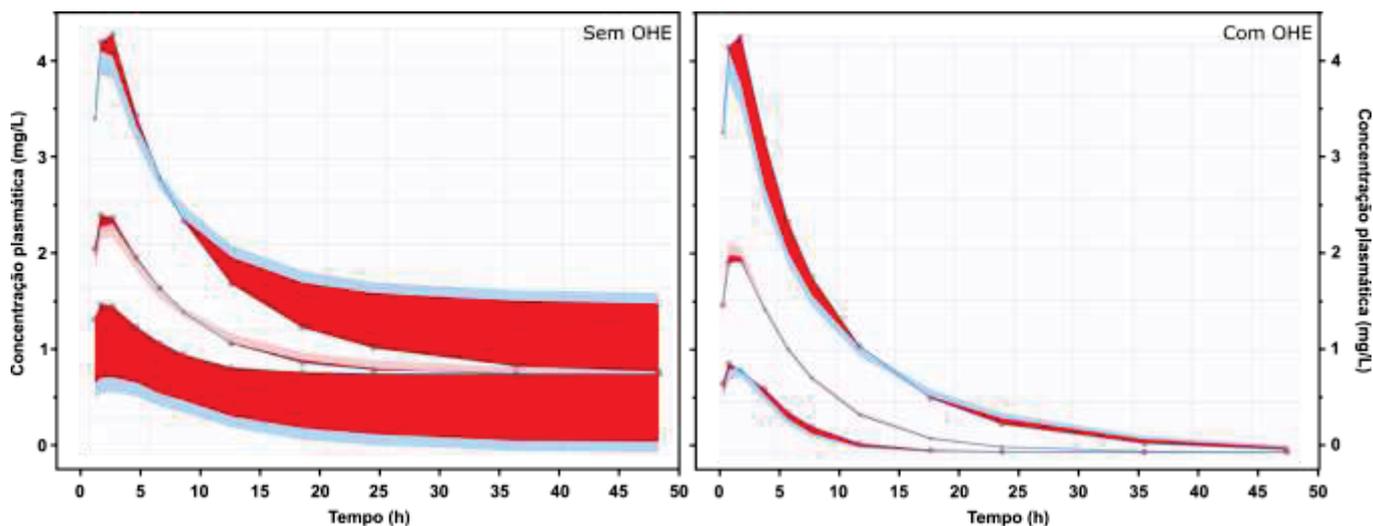
Para fins de comparação, o OHE não foi aplicado às covariáveis, a fim de ilustrar o impacto dessa abordagem no tratamento dos dados. Nesse contexto, os VPCs foram comparados. O VPC tem como objetivo a comparação das previsões geradas pelo modelo farmacocinético com os dados reais observados dos pacientes. É importante ressaltar que as observações dos pacientes devem estar contidas dentro do intervalo de previsão percentil. Caso as observações reais estejam fora desse intervalo, o VPC destaca as previsões em vermelho, identificando onde o modelo matemático apresenta imprecisões.

Ao analisar os resultados na Figura 56, que demonstra a predição do modelo matemático em relação aos dados inseridos na modelagem, tornou-se evidente a necessidade de pré-processamento desses dados, uma vez que a área vermelha representa um erro residual da predição. Isso ocorre porque o modelo matemático enfrenta dificuldades para identificar tendências em covariáveis categóricas não binárias, como aquelas com sete categorias, por exemplo. Ao aplicar a técnica de OHE, é possível analisar o efeito individual de cada uma das categorias, o que facilita a exclusão ou ajuste de seus coeficientes para obter um ajuste mais preciso de forma individual.

As partes destacadas em vermelho podem ser reduzidas com a adição de covariáveis no modelo para uma melhor captura do erro aleatório e residual. No

entanto, sem a utilização do OHE, não foi observada uma melhora significativa na capacidade de predição do modelo. Ao final, a base de dados passou de 6 covariáveis categóricas (saúde, interação medicamentosa, estado alimentar, idade, sexo, nacionalidade) com diversos níveis para 31 covariáveis binárias.

FIGURA 55 - UTILIZAÇÃO DE ONE-HOT ENCODING NA VERIFICAÇÃO PREDITIVA VISUAL DAS MODELAGENS POPULACIONAIS



Nota: Modelo com OHE representado pelo modelo base sem a adição de covariáveis.

Fonte: o autor (2023)

Na seleção de covariáveis para o modelo inicial, o Monolix propõe adições e exclusões de covariáveis na tentativa de aprimorar o modelo. Isso é ilustrado no Quadro 17, que registra o histórico de alterações ao longo do processo dos quatro modelos, incluindo todas as inclusões e exclusões.

O modelo inicial sugeriu diversas covariáveis, com destaque para a significância das covariáveis de coadministração de ciprofloxacino com hidróxido de alumínio, leite e a idade avançada do paciente, as quais foram incluídas em todos os modelos. Por outro lado, as covariáveis que não foram incluídas em nenhum dos modelos incluem a febre do paciente, o gênero masculino, o estado alimentado, a coadministração com gluconato ferroso, polivitamínicos, rifampicina, iogurte e, de forma contraintuitiva, o cálcio.

QUADRO 17 - INCLUSÃO DAS COVARIÁVEIS EM DIFERENTES MODELAGENS PARA OS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS POPULACIONAIS DO CIPROFLOXACINO

Categoria	Covariável	M <sub>1</sub>			M <sub>2</sub>			M <sub>3</sub>			M <sub>4</sub>		
		Ka	Cl	Vd									
Saúde	Cirrose	✓			✓			✓			✓		
	Fibrose cística	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Febril												
	Gastroparesia diabética			✓			✓						✓
	HIV	✓			✓			✓			✓		
	Insuficiência renal	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Saudável	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓
Int. med.	Cálcio												
	Carbonato de cálcio		✓	✓		✓	✓		✓			✓	
	Clindamicina				✓								
	Diclofenaco	✓											
	Gluconato ferroso												
	Hidróxido de alumínio	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Itraconazol		✓			✓			✓			✓	
	Omeprazol		✓	✓		✓			✓			✓	
	Polivitamínico												
	Rifampicina												
	Subsalicilato de bismuto	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓
	Sucralfato	✓											
	Sulfato ferroso	✓	✓			✓			✓			✓	
Alimento	Alimentado												
	Alimentado 2 horas	✓			✓			✓		✓	✓		✓
	Alim. alta gordura e cálcio	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	logurte												
	Jejum	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Leite	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Idade	Idoso	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Jovem	✓			✓			✓			✓		
Sexo	Homem												
	Mulher			✓			✓			✓			✓
Nac.	Mexicano	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Paquistanês	✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓	

Nota: As colunas M<sub>n</sub> relacionadas aos quatro diferentes modelos populacionais. Ka – constante de absorção; Cl – clearance; Vd – volume de distribuição

Fonte: o autor (2023)

Após o desenvolvimento do quarto modelo, o software indicou a inclusão e exclusão da covariável de gastroparesia diabética de forma cíclica, encerrando a exploração das covariáveis. Após essa exploração, os dados de OFV, variabilidades e acurácias de predição foram extraídos e registrados em uma tabela para fins de comparação (Tabela 24).

TABELA 24 - PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO DO MODELO POPULACIONAL FARMACOCINÉTICO DO CIPROFLOXACINO

Modelo	OFV	Intervar. $\eta$ (%)	Intravar. $\varepsilon$ (%)*	Acurácia Ka (%)	Acurácia CI (%)	Acurácia Vd (%)
M <sub>1</sub>	-238751	Ka = 43,06 CI = 37,32 Vd = 52,77	< 0,001	93,53 ± 13,90	100,11 ± 4,92	95,60 ± 14,64
M <sub>2</sub>	-275655	Ka = 50,47 CI = 37,32 Vd = 59,69	< 0,001	96,68 ± 16,30	100,11 ± 4,92	96,74 ± 16,94
M <sub>3</sub>	-239416	Ka = 53,97 CI = 37,32 Vd = 61,04	< 0,001	95,99 ± 17,81	100,11 ± 4,92	96,04 ± 18,36
M <sub>4</sub>	-157848	Ka = 59,03 CI = 37,32 Vd = 65,64	< 0,001	94,33 ± 14,18	100,11 ± 4,92	95,84 ± 16,36

Nota: \*modelo de erro residual do tipo combinado para todos modelos.

Fonte: o autor (2023)

A função OFV indica modelos aprimorados à medida que seu valor diminui. Inicialmente, obteve-se um valor de -238751, melhorando para -275655 no segundo modelo e voltando a piorar nos modelos subsequentes. Quando observamos as intervariabilidades individuais ( $\eta$ ), foi possível determinar uma variação de 37,32% a 65,64%, sendo a menor variabilidade encontrada no parâmetro CI e a maior no parâmetro Vd.

Ao avaliar a capacidade do modelo em predizer parâmetros reais, a acurácia para o parâmetro CI permaneceu constante em 100,11% para todos os modelos, uma vez que não houve alterações nas covariáveis ao longo dos diferentes modelos. Por outro lado, as acurácias para o Ka e Vd aumentaram do primeiro para o segundo modelo e diminuíram nos modelos seguintes. Com base nessas informações, o modelo 2 foi selecionado, fornecendo acurácias de 96,68%, 100,11%, e 96,74% para os parâmetros Ka, CI e Vd, respectivamente. Mesmo que o modelo demonstre uma boa acurácia, é importante ressaltar que esse parâmetro é calculado com base nos

dados coletados e incluídos no estudo, sendo necessário desafiar o modelo com pacientes reais a fim de verificar sua concordância.

A equação do modelo individual está representada nas Equações 9, 10 e 11. É fundamental destacar que essas covariáveis não são tratadas como valores numéricos pelo modelo. Ele as interpreta de forma binária, indicando se o paciente possui (1) ou não possui (0) a covariável (ou se está fazendo coadministração de um determinado composto com o tratamento). Além disso, o modelo não permite a sobreposição de algumas covariáveis. Por exemplo, um paciente não pode ser considerado saudável e ter fibrose cística ao mesmo tempo em seu perfil. Da mesma forma, um paciente não pode ser simultaneamente classificado como homem e mulher na mesma equação.

$$\log(k_a) = \log(0,56) - 0,29*ALIM2H - 0,72*Al(OH)_3 + 1,06*CIRR - 0,48*CLIND + 0,37*FC + 0,31*IDOSO + 0,34*JEJUM + 1,03*HIV + 1,13*SDV + 0,53*GORDCALC + 0,52*MEX + 0,42*LEITE - 0,99*PAQ + 0,96*IR + 0,29*JOVEM + \eta_{ka} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$\log(V_d) = \log(130,99) - 0,9*Al(OH)_3 + 0,76*SUBBIS - 0,27*CaCO_3 - 0,54*GD - 0,43*IDOSO - 0,26*M + 0,46*SDV + 0,59*LEITE + \eta_{vd} \quad (\text{Eq. 10})$$

$$\log(Cl) = \log(34,03) - 0,65*Al(OH)_3 + 0,59*SUBBIS - 0,72*CaCO_3 - 0,28*FC - 0,55*IDOSO + 0,17*JEJUM - 0,39*FeSO_4 - 0,38*GORDCALC - 0,38*IT + 0,26*MEX + 0,39*LEITE + 0,23*OMPZ + 0,59*PAQ - 0,69*IR + \eta_{cl} \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde:

ALIM2H - alimentado há duas horas;

CIRR - cirrose;

CLIND - clindamicina;

FC - fibrose cística;

SDV - saudável;

GORDCALC - alimentado com alto teor de gordura e cálcio;

MEX - mexicano;

PAQ - paquistanês;

IR - insuficiência renal;

SUBBIS - subsalicilato de bismuto;

CaCO<sub>3</sub> - carbonato de cálcio;

GD - gastroparesia diabética;

M - mulher;

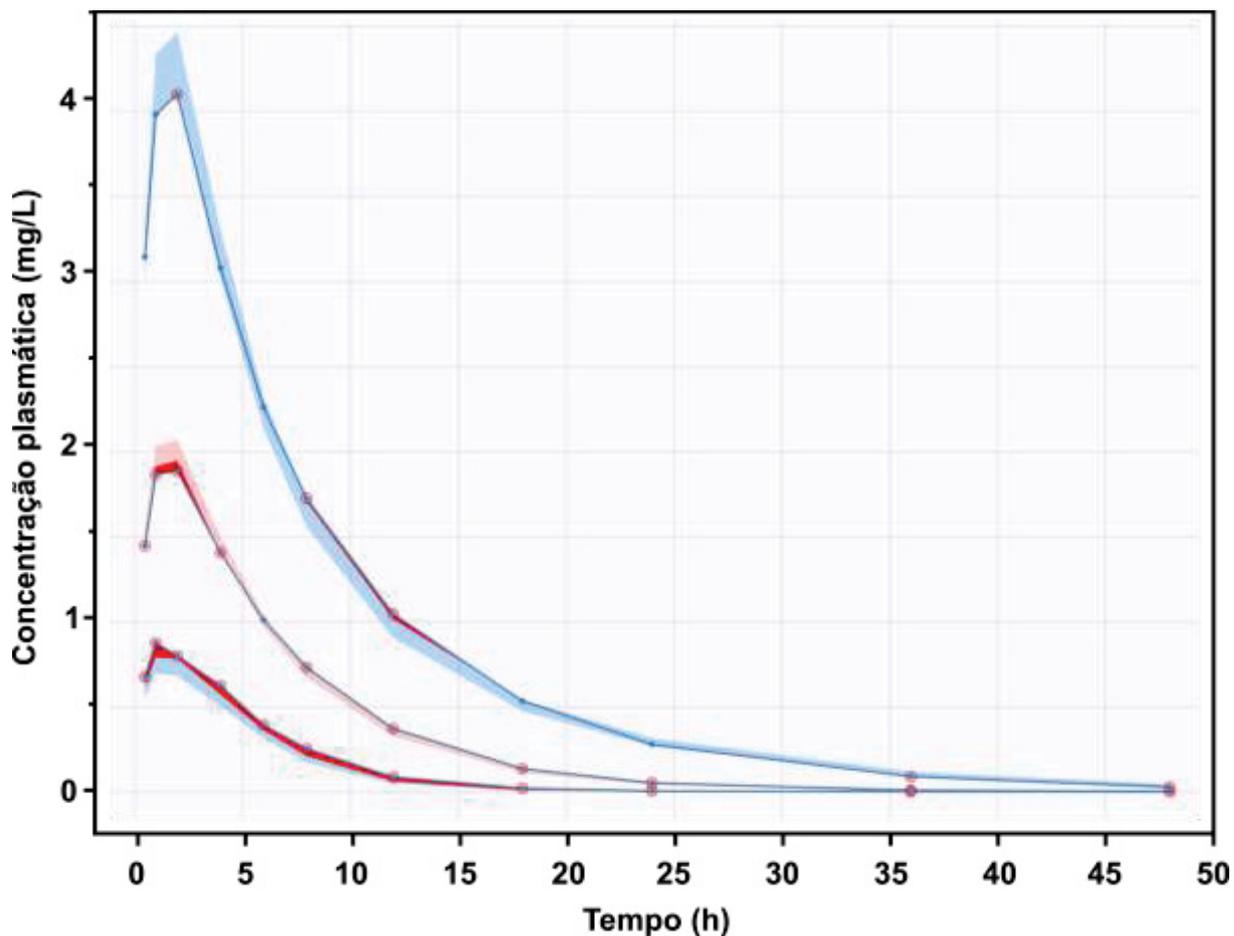
IT - itraconazol;

OMPZ - omeprazol.

$\eta$  – intervariabilidade individual

O VPC do modelo 2 está representado na Figura 57, a qual, evidencia uma melhora na capacidade de predição quando comparada com o VPC inicial da Figura 54. Esta figura representa a variação nas respostas farmacocinéticas entre os indivíduos de uma população. As barras azuis representam as predições das concentrações plasmáticas máximas, mínimas e médias da população, sendo que quando os dados se apresentam dentro destes limites, o modelo é capaz de representar adequadamente a farmacocinética na população-alvo. Caso o os dados saiam do intervalo previsto, a figura ilustra em vermelho a diferença da observação em relação o modelo.

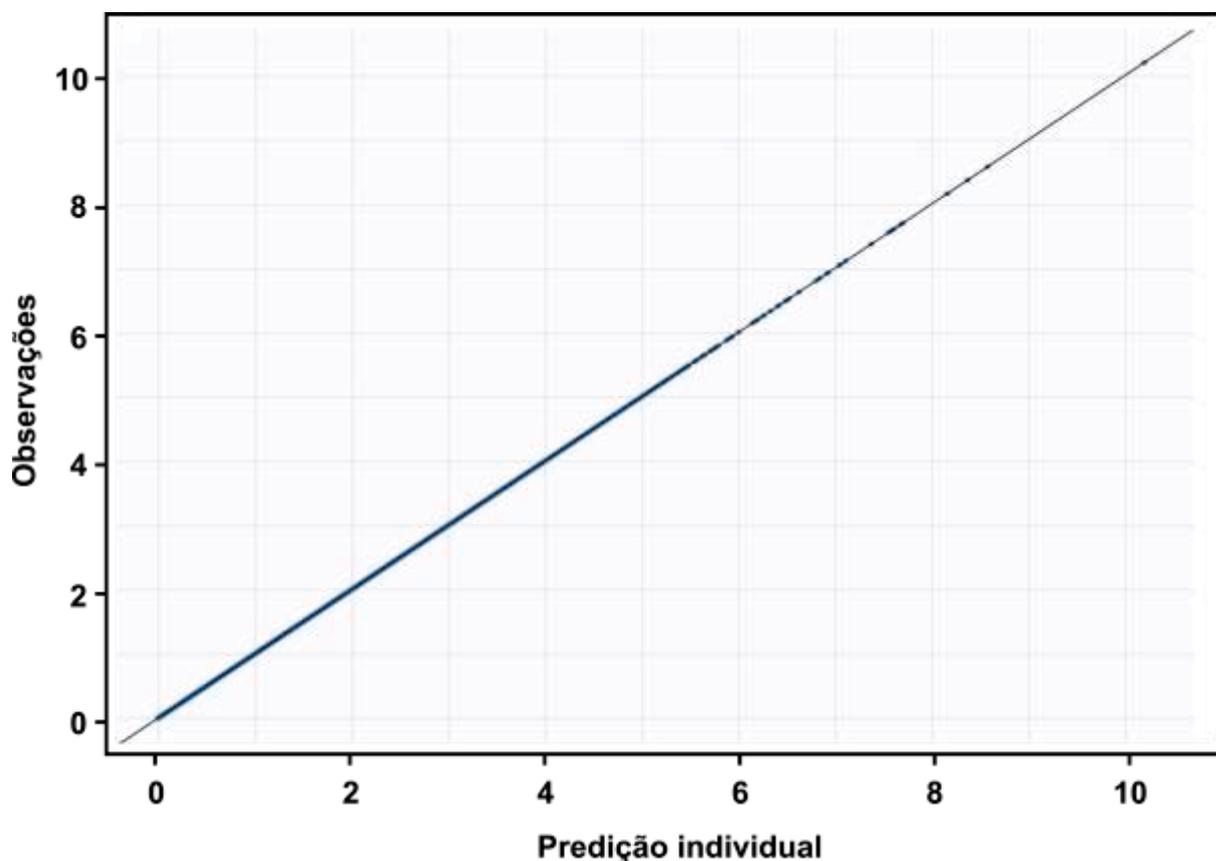
FIGURA 56 - VERIFICAÇÃO PREDITIVA VISUAL DO MODELO FINAL DO CIPROFLOXACINO



Fonte: o autor (2023)

Mesmo que o VPC e as acurácias apresentem valores aceitáveis, o modelo necessita de um refinamento. Através deste VPC do modelo final, é possível notar um intervalo de previsão percentil estreito, o que não é comum em modelagens populacionais na literatura. Esse resultado está em consonância com os resultados do erro residual ( $\epsilon$ ) apresentados na Tabela 26, onde em todos os modelos obteve-se um erro inferior a 0,001%. Além disso, ao avaliar os dados previstos em relação aos observados (Figura 58), observou-se uma interpolação dos eixos com uma baixa dispersão dos dados.

FIGURA 57 - CORRELAÇÃO DOS DADOS PREDITOS E DADOS OBSERVADOS DO MODELO POPULACIONAL DO CIPROFLOXACINO



Fonte: o autor (2023)

Estes resultados apontam para a possibilidade de sobreajuste (*overfitting*, em inglês) do modelo, o que pode ter sido causado por diversos fatores. O modelo que estima os parâmetros depende de parâmetros populacionais, covariáveis, intervariabilidade individual ( $\eta$ ) e intravariabilidade individual ( $\epsilon$ ). A intervariabilidade do modelo é determinada com base em um grupo de pacientes que compartilham as mesmas covariáveis. Portanto, se houver vários pacientes idosos com insuficiência renal, cada um com seu conjunto de parâmetros, o modelo calculará a variabilidade entre os indivíduos e expressará essa variação em porcentagem, como indicado na Tabela 26. Por outro lado, o erro residual é definido a partir da variação dentro do mesmo indivíduo. Esse erro pode se originar a partir de imperfeições na observação farmacocinética ou variação não explicada por outros fatores e erros. Acredita-se que a forma como os pacientes virtuais foram simulados pode ter contribuído para a baixa intravariabilidade, uma vez que o pacote *linpk* gera um perfil farmacocinético perfeito

e isento de variações. Se utilizarmos os mesmos parâmetros de entrada, o mesmo perfil será produzido, sem apresentar erros de determinação ou variação natural inerente àquele conjunto de parâmetros.

### 3.5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como uma proposta para contornar o problema de intravariabilidade, planeja-se utilizar as informações de erro residual ( $\epsilon$ ) obtidas de outros modelos (que se encontram em torno de 26%), conforme identificado na revisão de escopo, e incorporar essa variação nas observações farmacocinéticas de cada um dos perfis simulados no *linpk*. Dessa forma, a intravariabilidade individual pode ser incluída com base em dados da literatura, o que contribuirá para aumentar o erro residual, ampliar o intervalo de previsão percentil do VPC e introduzir um erro natural e esperado na predição em relação aos dados reais.

Outras propostas para refinar o modelo consistem em imputar as covariáveis categóricas por meio da aplicação de regressão logística a partir dos parâmetros farmacocinéticos observados, de maneira a evitar covariáveis faltantes, que podem contribuir com ineficiência da modelagem. Outra proposta consiste na conversão de covariáveis numéricas em intervalos categóricos para enriquecer o modelo, um exemplo seria a segregação da variável Idade em intervalos de anos, aumentando a complexidade para além de “jovem e idoso”. Uma proposta que pode apresentar um risco é a utilização do país de origem como uma possível variável, porém entende-se que se não declarado, o mesmo país pode apresentar etnias diferentes na mesma modelagem, porém valeria a pena realizar uma análise de subgrupo e avaliar seu impacto.

Por mais que haja várias propostas relacionadas às covariáveis, é esperado que tais limitações diminuam gradativamente com a publicação de mais artigos farmacocinéticos, uma vez que a disponibilidade e o detalhamento dos dados clínicos em larga escala devem contribuir para a evolução contínua desta abordagem.

### 3.6. CONCLUSÃO

A farmacocinética do ciprofloxacino oral foi investigada de maneira abrangente na revisão de escopo, com foco em sua resposta em diversas condições de clínicas e diversas covariáveis, avaliando seu impacto sobre os parâmetros farmacocinéticos. A revisão de escopo proporcionou uma visão abrangente da farmacocinética do ciprofloxacino oral em várias condições de saúde, destacando as complexidades da farmacocinética deste fármaco e enfatizando a importância de considerar múltiplos fatores, incluindo interações medicamentosas, interações com alimentos, mudanças relacionadas à idade e função renal, ao otimizar o regime posológico para diferentes populações de pacientes.

A partir dos dados coletados na revisão de escopo, foi possível utilizar de simulações computacionais para individualizar os pacientes e imputar parâmetros farmacocinéticos faltantes. Para estimar os valores da constante de absorção, aplicou-se um método numérico iterativo limitado por erro absoluto para estimar esses parâmetros, mostrando-se eficaz em estimar estes parâmetros com boa acurácia. A utilização de processos automatizados em todas etapas do estudo se mostrou uma ferramenta poderosa para otimizar processos manuais que envolvem grandes volumes de dados.

Os dados simulados foram modelados no software Monolix, produzindo diferentes modelos, cada um contendo diferentes conjuntos de covariáveis para explicar as tendências e comportamentos dos parâmetros de  $K_a$ ,  $Cl$  e  $V_d$ . O modelo selecionado apresentou boas acurácias para predição dos parâmetros farmacocinéticos e dos perfis plasmáticos do ciprofloxacino.

Embora haja mais alternativas a serem testadas para melhorar a qualidade de modelagem, os experimentos, de forma categórica, demonstraram resultados positivos. Esse protótipo representa um significativo avanço para o refinamento de futuras experimentações, abrindo precedentes para a utilização de dados da literatura na modelagem de pacientes totalmente virtuais para diversas fármacos além do ciprofloxacino. Esses resultados marcam o início de um projeto que visa inovar as abordagens de modelagem populacional *in silico*, contribuindo para o progresso na clínica e terapêutica de medicamentos.

## REFERÊNCIAS

AARONS, L.; OGUNGBENRO, K. Optimal Design of Pharmacokinetic Studies. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 3, p. 250–255, 2010.

ABDULLA, A. et al. Population pharmacokinetics and target attainment of ciprofloxacin in critically ill patients. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 76, n. 7, p. 957–967, 2020.

ALIHODZIC, D. et al. Ciprofloxacin in Patients Undergoing Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO): A Population Pharmacokinetic Study. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 965, 2022.

ALSULTAN, A. et al. Clinical pharmacology applications in clinical drug development and clinical care: A focus on Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 10, p. 1217–1227, 2020.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton delineamento de formas farmacêuticas**. 4 a Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

BAERTSCHI, S. W. Analytical methodologies for discovering and profiling degradation-related impurities. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 8, p. 758–767, 2006.

BALL, A. P. et al. Pharmacokinetics of oral ciprofloxacin, 100 mg single dose, in volunteers and elderly patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 17, n. 5, p. 629–635, 1986.

BASHIR, F. et al. SINGLE-DOSE PHARMACOKINETIC STUDY OF CIPROFLOXACIN AFTER ORAL ADMINISTRATION TO THE HEALTHY FEMALE VOLUNTEERS. **Biological Sciences - PJSIR**, v. 47, n. 3, p. 214–217, 2004.

BAYER, A. et al. Pharmacokinetics of Ciprofloxacin in the Elderly. **Respiration**, v. 51, n. 4, p. 292–295, 2009.

BEG, S. et al. Introduction to Quality by Design (QbD): Fundamentals, Principles, and Applications. Em: **Pharmaceutical Quality by Design**. Elsevier, 2019. p. 1–17.

BHOOP, B. S.; RAZA, D. K.; BEG, S. Developing “Optimized” Drug Products Employing “Designed” Experiments. **Drug Development**, 2013.

BLESSY, M. et al. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n. 3, p. 159–165, 2014.

BON, C. et al. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part III : Using nonlinear mixed-effects to characterize and quantify variability in drug pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 41, n. 2, p. 171–183, 2018.

BRASIL. RDC 53, 4 de dezembro de 2015. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, p. 1–5, 2015a.

BRASIL. Guia N° 4/2015 - Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, p. 1–22, 2015b.

BRASIL. RDC N. 166, de 25 de Julho de 2017, Validação de métodos analíticos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, v. 2017, p. 1–21, 2017.

BRASIL. RDC N. 318, de 6 novembro de 2019, Estudos de estabilidade em insumos farmacêuticos ativos e medicamentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, v. 2019, p. 1–18, 2019.

BREEN, S. S.; JAMBHEKAR P. J. **Basic pharmacokinetics**. 2009.

BRUNNER, M. et al. Target Site Concentrations of Ciprofloxacin after Single Intravenous and Oral Doses. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 12, p. 3724–3730, 2002.

CAMPBELL, F. et al. Mapping reviews, scoping reviews, and evidence and gap maps (EGMs): the same but different— the “Big Picture” review family. **Systematic Reviews**, v. 12, n. 1, p. 45, 2023.

CAPECCHI, P. L. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of neutrophil-associated ciprofloxacin in humans. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 57, n. 4, p. 446–454, 1995.

CARTER, A. A.; ROSENBAUM, S. E.; DUDLEY, M. N. Review of Methods in Population Pharmacokinetics. **Clinical Research and Regulatory Affairs**, v. 12, n. 1, p. 1–21, 1995.

CATCHPOLE, C. et al. The comparative pharmacokinetics and tissue penetration of single-dose ciprofloxacin 400 mg iv and 750 mg po. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 33, n. 1, p. 103–110, 1994.

CERTARA. Introducing Population Pharmacokinetic Analysis Into Your Early Drug Development Efforts. **Certara**. 2020. Disponível em: [https://www.certara.com/app/uploads/2020/06/WP\\_IntroducingPopulationPharmacokineticsAnalysis-2.pdf](https://www.certara.com/app/uploads/2020/06/WP_IntroducingPopulationPharmacokineticsAnalysis-2.pdf). Acesso em: 27/10/2023

CHIRALIZER. Determination of HPLC Column Dead Time. **Chiralizer**. 2010. Disponível em: [https://www.hplctools.com/Tip\\_106\\_Determining\\_HPLC\\_Column\\_Dead\\_Time\\_or\\_Dwell\\_Volume.html](https://www.hplctools.com/Tip_106_Determining_HPLC_Column_Dead_Time_or_Dwell_Volume.html). Acesso em: 27/10/2023

CLINICALC. Drug Statistics. 2020. Disponível em: <https://clinicalc.com/DrugStats/>. Acesso em: 04/04/2023

CHANDRASEKARAN, B. et al. Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. Em: **Dosage Form Design Parameters**. Elsevier, 2018. p. 731–755.

CHEMAXON, L. L. C. Marvin Sketch v6. 3. 2014.

CHENG, V. et al. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in critically ill patients receiving extracorporeal membrane oxygenation (an ASAP ECMO study). **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, v. 41, n. 3, p. 101080, 2022.

CIOS, A. et al. Population pharmacokinetic analysis of ciprofloxacin in the elderly patients with lower respiratory tract infections. **Experimental Gerontology**, v. 57, p. 107–113, 2014.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. In: **Fundamentos de cromatografia**. 2006. p. 453-453.

CONIL, J.-M. et al. Ciprofloxacin use in critically ill patients: pharmacokinetic and pharmacodynamic approaches. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, n. 6, p. 505–510, 2008.

CRQSP (Conselho Regional de Química de São Paulo). **Artigo explica a utilização da quimiometria. 2007**. Disponível em: [https://www.crq4.org.br/informativomat\\_235](https://www.crq4.org.br/informativomat_235). Acesso em: 06/11/2023

CRUMP, B.; WISE, R.; DENT, J. Pharmacokinetics and tissue penetration of ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 24, n. 5, p. 784–786, 1983.

DAVIS, R. L. et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in cystic fibrosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 31, n. 6, p. 915–919, 1987.

DEIDDA, R. et al. Risk-based approach for method development in pharmaceutical quality control context: A critical review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 161, p. 110–121, 2018.

DIAS, B. C. L. et al. A new HPLC–MS/MS method for the simultaneous quantification of SGLT2 inhibitors and metformin in plasma and its application to a pharmacokinetic study in healthy volunteers. **Biomedical Chromatography**, v. 33, n. 11, p. e4663, 2019.

DOLAN, J. Making the Most of a Gradient Scouting Run. **LCGC North America**, LCGC North America-01-01-2013. v. 31, n. 1, p. 30–35, 2013.

DOLD, M. et al. Haloperidol versus first-generation antipsychotics for the treatment of schizophrenia and other psychotic disorders. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 2015.

DONG, M.; PAUL, R.; GERSHANOV, L. Getting the peaks perfect: System suitability for HPLC. **Today's Chemist at Work**, v. 10, p. 38–42, 2001.

ECHOLS, R. et al. Comparative crossover assessment of serum bactericidal activity and pharmacokinetics of ciprofloxacin and ofloxacin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 33, n. 1, p. 111–118, 1994.

ESCOBAR, Y.; HOYO-VADILLO, C. Pharmacokinetics of Ciprofloxacin in Healthy Mexican Volunteers. **Arzneimittelforschung**, v. 53, n. 09, p. 664–667, 2011.

ETTE, E. I.; WILLIAMS, P. J. Population Pharmacokinetics I: Background, Concepts, and Models. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 38, n. 10, p. 1702–1706, out. 2004.

FAA, (FEDERATION AVIATION ADMINISTRATION). **AC 120-92 - Introduction to Safety Management Systems for Air Operators**. Disponível em: <[https://www.faa.gov/regulations\\_policies/advisory\\_circulars/index.cfm/go/document.information/documentid/22480](https://www.faa.gov/regulations_policies/advisory_circulars/index.cfm/go/document.information/documentid/22480)>. Acesso em: 27 out. 2023.

FASUGBA, O. et al. Ciprofloxacin resistance in community- and hospital-acquired Escherichia coli urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 545, 2015.

FÁVERO, L. P.; BELFIORE, P. **Manual de análise de dados: estatística e modelagem multivariada com Excel®, SPSS® e Stata®**. Elsevier Brasil, 2017.

Food and Drug Administration (FDA). **Approved Drug Products: Cetraxal Solution/Drops; Otic**. 1987a. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/021918lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/021918lbl.pdf). Acesso em: 10/04/2023.

Food and Drug Administration (FDA). **Approved Drug Products: Ciloxan Solution/Drops; Ophthalmic**. 1987b. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2006/019992s020lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2006/019992s020lbl.pdf). Acesso em: 10/04/2023.

Food and Drug Administration (FDA). **Approved Drug Products: CIPRO (ciprofloxacin) oral tablets and suspension**. 1987c. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/019537s086lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/019537s086lbl.pdf). Acesso em: 10/04/2023.

Food and Drug Administration (FDA). **Approved Drug Products: Cipro HC Suspension/Drops; Otic**. 1987d. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/020805s011lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/020805s011lbl.pdf). Acesso em: 10/04/2023.

Food and Drug Administration (FDA). **Approved Drug Products: CIPRO XR (ciprofloxacin) extended-release tablets.** 1987e. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2002/021473Orig1s000Approv.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/021473Orig1s000Approv.pdf). Acesso em: 10/04/2023.

Food and Drug Administration (FDA). “**Guidance for industry on Population Pharmacokinetics.** Food and Drug Administration, HHS. Notice.” 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/128793/download>. Acesso em: 27/10/2023

FEBRAFAR, (FEDERAÇÃO BRASILEIRA DE FARMÁCIA). **Medley lança cloridrato de ciprofloxacino, seu primeiro genérico de 2016.** Febrifar, 29 mar. 2016. Disponível em: <https://www.febrifar.com.br/medley-lanca-cloridrato-de-ciprofloxacino-seu-primeiro-generico-de-2016/>. Acesso em: 27 out. 2023

FOSTER, C. R.; JUGULUM, R.; FREY, D. D. Evaluating an adaptive One-Factor-At-a-Time search procedure within the Mahalanobis-Taguchi System. **International Journal of Industrial and Systems Engineering**, v. 4, n. 6, p. 600, 2009.

FOURTILLAN, J. B. Caracteristiques pharmacocinetiques de la ciprofloxacine par voies orale et intraveineuse. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 20, n. 1, p. 33–37, 1990.

FROST, R. W. et al. Ciprofloxacin Pharmacokinetics After a Standard or High-Fat/High-Calcium Breakfast. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 29, n. 10, p. 953–955, 1989.

FROST, R. W. et al. Effects of aluminum hydroxide and calcium carbonate antacids on the bioavailability of ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, n. 4, p. 830–832, 1992.

GABRIELSSON, J.; WEINER, D. Non-compartmental Analysis. Em: REISFELD, B.; MAYENO, A. N. (Eds.). **Computational Toxicology**. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press. v. 929p. 377–389, 2012.

GALLICANO, K.; SAHAI, J. Lack of gender effect on ciprofloxacin pharmacokinetics in humans. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 632–634, 1996.

GASSER, T. C. et al. Ciprofloxacin pharmacokinetics in patients with normal and impaired renal function. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 31, n. 5, p. 709–712, 1987.

GENTZSCH, M.; MALL, M. A. Ion Channel Modulators in Cystic Fibrosis. **Chest**, v. 154, n. 2, p. 383–393, 2018.

GILBERT, D. N. et al. **The Sanford guide to antimicrobial therapy 2007**, Antimicrobial Therapy. Inc., Hyde Park, Vt, 2006.

GOLDFARB, J. et al. Single-Dose Pharmacokinetics of Oral Ciprofloxacin in Patients With Cystic Fibrosis. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 26, n. 3, p. 222–226, 1986.

GONZALEZ, M. A. et al. Multiple-dose pharmacokinetics and safety of ciprofloxacin in normal volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 26, n. 5, p. 741–744, 1984.

GRANGER, B.; ALBU, S. The Haloperidol Story: **Annals of Clinical Psychiatry**: Vol 17, No 3. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10401230591002048>>. Acesso em: 27 out. 2023.

GRAY, K.; ADHIKARY, S.; JANICKI, P. Pharmacogenomics of analgesics in anesthesia practice: A current update of literature. **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 155, 2018.

HIGGINS, J.; GREEN, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions** | **Wiley Online Books**. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470712184>>. Acesso em: 27 out. 2023.

HÖFFKEN, G. et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and parenteral administration. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 27, n. 3, p. 375–379, 1985.

HOOBKAMER, J. F. W.; KLEINBLOESEM, C. H. The Effect of Milk Consumption on the Pharmacokinetics of Fleroxacin and Ciprofloxacin in Healthy Volunteers: **Drugs**, v. 49, n. Supplement 2, p. 346–348, 1995.

HOOOPER, D. C. et al. Mechanisms of action of and resistance to ciprofloxacin. **The American journal of medicine**, v. 82, n. 4A, p. 12–20, 1987.

ICH Q1B. Stability testing: photostability testing of new drug substances and products. **International Conference on Harmonization**. Current step 4 version, 1996.

ICH Q1A(R2). Stability testing of new drug substances and products. **International Conference on Harmonization**. Current step 4 version, 2003.

ICH Q2(R2). Validation of analytical procedures. International Conference on Harmonization. Current step 2b, 2006

ICH Q3A(R2). Impurities in new drug substances. **International Conference on Harmonization**. Current step 4 version, 2006.

ICH Q3B(R2). Impurities in new drug products. **International Conference on Harmonization**. Current step 4 version, 2006.

ICH Q8(R2). Pharmaceutical development. **International Conference on Harmonization**. Current step 4 version, 2009.

ICH Q14. Analytical procedure development. **International Conference on Harmonization**. Draft version, 2022.

IQBAL, Z. et al. Pharmacokinetic Interaction of Ciprofloxacin with Diclofenac: A Single-Dose, Two-Period Crossover Study in Healthy Adult Volunteers. **Clinical Drug Investigation**, v. 29, n. 4, p. 275–281, 2009.

ISRAEL, D. et al. Pharmacokinetics and serum bactericidal titers of ciprofloxacin and ofloxacin following multiple oral doses in healthy volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, n. 10, p. 2193–2199, 1993.

JACYNA, J.; KORDALEWSKA, M.; MARKUSZEWSKI, M. J. Design of Experiments in metabolomics-related studies: An overview. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 164, p. 598–606, 2019.

JAIN, D.; BASNIWAL, P. K. Forced degradation and impurity profiling: Recent trends in analytical perspectives. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 86, p. 11–35, 2013.

JANSSEN. Bula Haldol (CCDS0812). **JANSSEN**, Beerse, Bélgica. Disponível em: [https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil\\_bula/Haldol-Janssen.pdf](https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil_bula/Haldol-Janssen.pdf)> Acesso em: 25/07/2022.

JANZEN, H.; SELENT-STIER, C.; MUAZZAM, U. Forced degradation studies – comparison between ICH, EMA, FDA and WHO guidelines and Anvisa’s resolution RDC 53/2015. Dissertação. **Faculdade de Matemática e Ciências Naturais da Rheinische Friedrich-Wilhelms**, 2016.

JÓŹWIAK, M. et al. Anticancer activities of fatty acids and their heterocyclic derivatives. **European Journal of Pharmacology**, v. 871, p. 172937, 2020.

KANJI, S. et al. Reporting Guidelines for Clinical Pharmacokinetic Studies: The ClinPK Statement. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 54, n. 7, p. 783–795, 2015.

KARA, M. et al. Clinical and chemical interactions between iron preparations and ciprofloxacin. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 3, p. 257–261, 1991.

KHACHMAN, D. et al. Optimizing ciprofloxacin dosing in intensive care unit patients through the use of population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis and Monte Carlo simulations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 8, p. 1798–1809, 2011.

LEBEL, M. et al. Pharmacokinetics of Ciprofloxacin in Elderly Subjects. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 6, n. 2, p. 87–91, 1986.

LI, X. et al. Ciprofloxacin in critically ill subjects: considering hepatic function, age and sex to choose the optimal dose. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 3, p. 682–690, 2019.

LIMA, C. C.; BENJAMIM, S. C. C.; SANTOS, R. F. S. DOS. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte, Enferm**, p. 105–113, 2017.

LOMAESTRO, B. M.; BAILIE, G. R. Effect of staggered dose of calcium on the bioavailability of ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 5, p. 1004–1007, 1991.

MACK, G.; COOPER, P. J.; BUCHANAN, N. Effects of enzyme supplementation on oral absorption of ciprofloxacin in patients with cystic fibrosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 7, p. 1484–1485, 1991.

MARANGOS, M. N. et al. Absorption of ciprofloxacin in patients with diabetic gastroparesis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 9, p. 2161–2163, 1995.

MEI, H. et al. The clinical efficacy and safety of vancomycin loading dose: A systematic review and meta-analysis. **Medicine**, v. 98, n. 43, p. e17639, 2019.

MENEGOTTO, J.; BARROS, L. C. Aplicação de sistemas fuzzy em modelos farmacocinéticos multicompartmentais. 2011

MIGUEL, C. P. A. **Qualidade: enfoques e ferramentas**. São Paulo: Artliber, 2001.

MIKULAK, R. J.; MCDERMOTT, R.; BEAUREGARD, M. **The Basics of FMEA**. 2. ed. New York: Productivity Press, 2017.

MIRCO, J.; ROCHA, M. S. DA. Estudo de estabilidade de medicamentos. **Rev Acadêmica Oswaldo Cruz**, v. 2, n. 7, 2007.

Monolix 2021R2, Lixoft SAS, a Simulations Plus company.

MONTAY, G.; GAILLOT, J. Pharmacokinetics of fluoroquinolones in hepatic failure. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 26, n. suppl B, p. 61–67, 1990.

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. John Wiley & Sons, 2017.

MOULD, D.; UPTON, R. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development-Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 2, n. 4, p. 38, 2013.

NANCARROW, C.; MATHER, L. E. Pharmacokinetics in Renal Failure. **Anaesthesia and Intensive Care**, v. 11, n. 4, p. 350–360, 1983.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos - 4.ed.: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Bookman Editora, 2010.

NEUVONEN, P. J.; KIVISTÖ, K. T.; LEHTO, P. Interference of dairy products with the absorption of ciprofloxacin. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 50, n. 5/1, p. 498–502, 1991.

NIX, D. E. et al. The Effect of Sucralfate Pretreatment on the Pharmacokinetics of Ciprofloxacin. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 9, n. 6, p. 377–380, 1989.

OLIVEIRA, M. A; LIMA. E. M. Identificação e Quantificação de Parabenos em Matérias-Primas e Produtos Acabados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG) . In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 2., 2005, Goiânia. . Anais eletrônicos do II Seminário de Pesquisa e Pós-Graduação/ II, Goiânia: UFG, 2005.

OLIVEIRA, A. C.; ARMOND, G. A. Infecções hospitalares: epidemiologia, prevenção e controle. Em: **Infecções hospitalares: epidemiologia, prevenção e controle**. 2006. p. 710–710.

OLIVERA, M. E. et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ciprofloxacin hydrochloride. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 1, 2011.

OUZZANI, M. et al. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, v. 5, n. 1, p. 210, 2016.

OWEN, J. S.; FIEDLER-KELLY, J. Introduction to Population Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Analysis with Nonlinear Mixed Effects Models. 1. ed. **Wiley**, 2014.

OWENS, R. C. et al. Oral Bioavailability and Pharmacokinetics of Ciprofloxacin in Patients with AIDS. v. 41, 1997.

PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **International Journal of Surgery**, v. 88, p. 105906, 2021.

PARK, G. et al. Analytical Quality by Design (AQbD) Approach to the Development of Analytical Procedures for Medicinal Plants. 2022.

PATEL, K. B. et al. Absorption of ciprofloxacin in febrile and afebrile patients. **International journal of antimicrobial agents**, v. 6, n. 2, p. 119-122, 1995.

PEDERSEN, S. S.; JENSEN, T.; HVIDBERG, E.. Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin and ofloxacin in cystic fibrosis patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 20, n. 4, p. 575-583, 1987.

PERUZZO, F. M.; DO CANTO, E. L. **Química: na abordagem do cotidiano. Química Orgânica. volume 3**. Editora Moderna, 2006.

PETERS, M. D. J. et al. Chapter 11: Scoping Reviews (2020 version). In: Aromataris E, Munn Z (Editors). JBI Manual for Evidence Synthesis, **JBI**, 2020. Available from <https://synthesismanual.jbi.global>. <https://doi.org/10.46658/JBIMES-20-12>

PETKOVSKA, R.; DIMITROVSKA, A. Use of chemometrics for development and validation of an RP-HPLC method for simultaneous determination of haloperidol and related compounds. **Acta Pharm.**, 2008.

PIETSCH, F. et al. Ciprofloxacin selects for RNA polymerase mutations with pleiotropic antibiotic resistance effects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 1, p. 75-84, 2016.

RAMAN, N. V. V. S. S.; MALLU, U. R.; BAPATU, H. R. Analytical Quality by Design Approach to Test Method Development and Validation in Drug Substance Manufacturing. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

RAMBOUT, L. et al. Effect of bismuth subsalicylate on ciprofloxacin bioavailability. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 38, n. 9, p. 2187-2190, 1994.

RANG, R. et al. **Rang & Dale Farmacologia**. Elsevier Brasil, 2015.

REED, M. D. et al. Lack of Unique Ciprofloxacin Pharmacokinetic Characteristics in Patients with Cystic Fibrosis. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 28, n. 8, p. 691–699, 1988.

Rice University (RU). **Stat 503. Lesson 1: Introduction to Design of Experiments**. 2019. Disponível em: [https://www.stat.rice.edu/~dobelman/courses/texts/Notes.411\\_616.Tab6.pdf](https://www.stat.rice.edu/~dobelman/courses/texts/Notes.411_616.Tab6.pdf). Acesso em: 27/10/2023

ROBERTS, J. A.; TACCONE, F. S.; LIPMAN, J. Understanding PK/PD. **Intensive Care Medicine**, v. 42, n. 11, p. 1797–1800, 2016.

SAHU, P. K. et al. An overview of experimental designs in HPLC method development and validation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 590–611, 2018.

SHALIT, I. et al. Pharmacokinetics of Single-Dose Oral Ciprofloxacin in Patients Undergoing Chronic Ambulatory Peritoneal Dialysis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 30, 1986.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P.; QUINN, M. **Handbook of pharmaceutical excipients**. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, 2009.

SILVEIRA, C. B. **FMEA – Análise dos Modos de Falha e seus Efeitos**. Citisystems, 2012. Disponível em: <<https://www.citisystems.com.br/fmea-processo-analise-modos-falhas-efeitos/>>. Acesso em: 27/10/2023

ŠÍMA, M. et al. No Time Dependence of Ciprofloxacin Pharmacokinetics in Critically Ill Adults: Comparison of Individual and Population Analyses. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 8, p. 1156, 2021.

SINGLAS, E. et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin tablets in renal failure; influence of haemodialysis. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 5, p. 589–593, 1987.

SOARES, V. **Diagrama de Ishikawa: o que é, para que serve e como usar**. Na **Prática**, 2022. Disponível em: <<https://napratica.org.br/diagrama-de-ishikawa/>>. Acesso em: 27/10/2023

SPRUILL, W. et al. **Concepts in clinical pharmacokinetics**. ASHP, 2014.

SRIWIRIJAJAN, S. et al. Pharmacokinetic interactions between ciprofloxacin and itraconazole in healthy male volunteers. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 32, n. 3, p. 168–174, 2011.

STARKEY, E. S.; SAMMONS, H. M. Practical pharmacokinetics: what do you really need to know? **Archives of disease in childhood - Education & practice edition**, v. 100, n. 1, p. 37–43, 2015.

STUHT, H. et al. Interaction study of lomefloxacin and ciprofloxacin with omeprazole and comparative pharmacokinetics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 5, p. 1045–1049, 1995.

SWARTZ, M. E.; KRULL, I. S. **Analytical method development and validation**. CRC press, 2018.

SZOLECZKY, R. et al. Analytical Quality by Design (AQbD) Approach to the Development of In Vitro Release Test for Topical Hydrogel. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 4, p. 707, 2022.

TARDY, M. et al. Haloperidol versus low-potency first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 2014.

TARTAGLIONE, T. A. et al. Pharmacokinetics and tolerance of ciprofloxacin after sequential increasing oral doses. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 29, n. 1, p. 62–66, 1986.

THAI, T.; SALISBURY, B. H.; ZITO, P. M. Ciprofloxacin. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

THÜRMAN, P. A. Pharmacodynamics and pharmacokinetics in older adults. **Current Opinion in Anaesthesiology**, v. 33, n. 1, p. 109–113, 2020.

TOLENTINO-HERNÁNDEZ, S. J. et al. Oral Ciprofloxacin Pharmacokinetics in Healthy Mexican Volunteers and Other Populations: Is There Interethnic Variability? **Archives of Medical Research**, v. 51, n. 3, p. 268–277, 2020.

TRABELSI, H. et al. Determination and degradation study of haloperidol by high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 4, p. 649–657, 2002.

TRANG, M.; DUDLEY, M. N.; BHAVNANI, S. M. Use of Monte Carlo simulation and considerations for PK-PD targets to support antibacterial dose selection. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 36, p. 107–113, 2017.

TRICCO, A. C. et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. **Annals of Internal Medicine**, v. 169, n. 7, p. 467–473, 2018.

UNIVERSIDADE DE FLÓRIDA (UFL). Useful pharmacokinetics equations. 2013. Disponível em: <<https://pharmacy.ufl.edu/files/2013/01/5127-28-equations.pdf>> Acesso em: 03/09/2020.

ULLMANN, U. et al. Single and Multiple Dose Pharmacokinetics of Ciprofloxacin. **Eur. J. Clin. Microbiol.**, 1986.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Capítulos gerais, <621> Chromatography. 2015.

VERCH, T. et al. Analytical Quality by Design, Life Cycle Management, and Method Control. **The AAPS Journal**, v. 24, n. 1, p. 34, 2022.

VERCHÈRE, A. Functional investigation of the efflux pump MexA–MexB–OprM of *Pseudomonas aeruginosa*. Tese de Doutorado. **Université René Descartes-Paris V**. 2015.

WAGENLEHNER, F. M. E. et al. Concentrations in Plasma, Urinary Excretion, and Bactericidal Activity of Linezolid (600 Milligrams) versus Those of Ciprofloxacin (500 Milligrams) in Healthy Volunteers Receiving a Single Oral Dose. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 12, p. 3789–3794, 2003.

WAGENLEHNER, F. M. E. et al. Concentrations in plasma, urinary excretion and bactericidal activity of levofloxacin (500mg) versus ciprofloxacin (500mg) in healthy volunteers receiving a single oral dose. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 28, n. 6, p. 551–559, 2006.

WATERS. Diagrama de seletividade de colunas cromatográficas. 2022. Disponível em: <<https://find.waters.com/ColumnCoach/allselectivity/getchart>>. Acesso em: 11/08/2022.

WEINSTEIN, M. P. et al. Crossover assessment of serum bactericidal activity and pharmacokinetics of ciprofloxacin alone and in combination in healthy elderly volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 11, p. 2352–2358, 1991.

WESTERVELT, P. et al. Drug–Gene Interactions: Inherent Variability In Drug Maintenance Dose Requirements. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 39, n. 9, p. 630–637, 2014.

WESTGARD, J. Westgard rules and multirules. **Westgard Rules” from website <https://www.westgard.com>**, 2020.

WISE, R. et al. The comparative pharmacokinetics and tissue penetration of four quinolones including intravenously administered enoxacin. **Infection**, v. 14, n. S3, p. S196–S202, 1986.

WISHART, D. S. et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D1074–D1082, 2018.

ZAHR, N. et al. Ciprofloxacin population pharmacokinetics during long-term treatment of osteoarticular infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. 11, p. 2906–2913, 2021.

ZELENITSKY, S. A.; ARIANO, R. E. Support for higher ciprofloxacin AUC<sub>24</sub>/MIC targets in treating Enterobacteriaceae bloodstream infection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 8, p. 1725–1732, 2010.

ZHIVKOVA, Z. D.; MANDOVA, T.; DOYTCHINOVA, I. Quantitative Structure – Pharmacokinetics Relationships Analysis of Basic Drugs: Volume of Distribution. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 18, n. 3, p. 515, 2015.

ZHU, X.; ZHANG, M.; WEN, Y.; SHANG, D.. Machine learning advances the integration of covariates in population pharmacokinetic models: valproic acid as an example. **Frontiers in Pharmacology**, 13, 994665, 2022.

ZUCKERMAN, M.; GRELLER, H. A.; BABU, K. M. A Review of the Toxicologic Implications of Obesity. **Journal of Medical Toxicology**, v. 11, n. 3, p. 342–354, 2015.

## 5. APÊNDICES

### APÊNDICE 1 - ESTRATÉGIA DE BUSCA COMPLETA PARA PUBMED E SCOPUS

<b>PUBMED (n = 2967)</b>
("Ciprofloxacin"[MeSH Terms] OR "Ciprofloxacin"[All Fields] OR "ciprofloxacin"[All Fields] OR "ciprofloxacin s"[All Fields] OR "ciprofloxacin s"[All Fields] OR "ciprofloxacin s"[All Fields] OR "Ciprofloxacin"[Title/Abstract] OR "Cipro" [Title/Abstract] OR "Ciprofloxacin Hydrochloride"[Title/Abstract] OR "hydrochloride ciprofloxacin"[Title/Abstract] OR "bay 09867"[Title/Abstract] OR "bay 09867"[Title/Abstract] OR "Ciprinol"[Title/Abstract]) <b>AND</b> ("pharmacokinetic"[All Fields] OR "pharmacokinetic"[All Fields] OR "pharmacokinetic"[All Fields] OR "pharmacokinetic"[MeSH Subheading] OR "pharmacokinetics"[All Fields] OR "pharmacokinetics"[MeSH Terms] OR "kinetics drug"[Title/Abstract] OR "Drug Kinetics"[Title/Abstract] OR "ADMET"[Title/Abstract] OR "absorption distribution metabolism elimination and toxicology"[Title/Abstract] OR "ADME-Tox"[Title/Abstract] OR "ADME"[Title/Abstract] OR "absorption distribution metabolism and elimination"[Title/Abstract] OR "LADMER"[Title/Abstract] OR "population pharmacokinetic"[Title/Abstract] OR "pharmacometrics"[Title/Abstract] OR "pharmacokinetic model"[Title/Abstract] OR "popPK"[Title/Abstract] OR "PPK"[Title/Abstract] OR "nonlinear mixed effect model"[Title/Abstract] OR "NONMEM"[Title/Abstract] OR "PK/PD"[Title/Abstract])
<b>SCOPUS (n = 5413)</b>
( TITLE-ABS-KEY ( pharmacokinetic* ) OR TITLE-ABS-KEY ( "kinetics drug" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Drug Kinetics" ) OR TITLE-ABS-KEY ( admet ) OR TITLE-ABS-KEY ( "absorption distribution metabolism elimination and toxicology" ) OR TITLE-ABS-KEY ( adme-tox ) OR TITLE-ABS-KEY ( adme ) OR TITLE-ABS-KEY ( "absorption distribution metabolism and elimination" ) OR TITLE-ABS-KEY ( ladmer )) <b>AND</b> ( TITLE-ABS-KEY ( "Ciprofloxacin" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "ciprofloxacin" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "ciprofloxacin s" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "ciprofloxacin s" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Ciprofloxacin" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Cipro" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Ciprofloxacin Hydrochloride" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "hydrochloride ciprofloxacin" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "bay 09867" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "bay 09867" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Ciprinol" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "population pharmacokinetic" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "pharmacometrics" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "pharmacokinetic model" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "popPK" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "PPK" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "nonlinear mixed effect model" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "NONMEM" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "PK/PD" ) ) <b>AND NOT</b> INDEX ( medline )

APÊNDICE 2 - LINHA DE SCRIPT USADO PARA MANIPULAÇÃO DOS DADOS  
FARMACOCINÉTICOS, MÉTODO NUMÉRICO ITERATIVO PARA ESTIMAÇÃO DA CONSTANTE  
DE ABSORÇÃO, SIMULAÇÃO DE DADOS PARA GERAR PACIENTES VIRTUAIS, GERAÇÃO DO  
PERFIL FARMACOCINÉTICO E SUAS OBSERVAÇÕES

```
# Parte 1 - Importar dados ----
# usar Rio

library(rio)
library(readODS)
library(dplyr)

Planilha <- import("Dataset/Planilha PK-tentativaSeleçãounica.ods")

#### Verifique se é possível utilizar o F para toda população
# Limpar as células NA e 0 ----

Planilha <- Planilha %>%
  filter(!is.na(Planilha$VD))
Planilha <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`VD SD` != 0)
Planilha <- Planilha %>%
  filter(!is.na(Planilha$`CL (L/h)`))
Planilha <- Planilha %>%
  filter(`CL (L/h)` != 0 | `CL/F` != 0)
Planilha <- Planilha %>%
  filter(!is.na(Planilha$`Tmáx (h)`))
Planilha <- Planilha %>%
  filter(!is.na(Planilha$`Cmáx (mg/L)`))
Planilha <- Planilha %>%
  filter(`Kel (h-1)` != 0)

# Substituir NA por "." para importar no monolix ao final

Planilha[is.na(Planilha)] <- "."

# Opcional para selecionar somente as variáveis de interesse ----

#Planilha <- Planilha %>%
#select(ID, `Cov(Interação)`, `Cov(Saúde)`, `Cov(Idade)`, `Cov(Sexo)`, `Cov(Jejum)`,
#       `Cov(Nacionalidade)`, `N dados`, `Dose (mg)`, `Kel (h-1)`, `Kel SD`, `VD/F`,
#       `VD/F SD`, VD, `VD SD`, `CL/F`, `CL/F SD`, `CL (L/h)`, `CL SD`, `Cmáx (mg/L)`, `Cmáx SD`,
#       `Tmáx (h)`)

Planilha <- Planilha %>%
  select(ID, `Cov(Saúde)`, `N dados`, `Dose (mg)`, `Ka (1/h)`, `Kel (h-1)`, `Kel SD`,
         VD, `VD SD`, `CL (L/h)`, `CL SD`, `Cmáx (mg/L)`, `Tmáx (h)`)

# Dentro da planilha, constar HEADER com nome de Kel, Ka, Tmáx para sobrescrever

set.seed(1)

library(mltools)
library(data.table)

Planilha$`Cov(Saúde)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Saúde)`)
```

```

Planilha$`Cov(Interaçao)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Interaçao)` )
Planilha$`Cov(Idade)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Idade)` )
Planilha$`Cov(Sexo)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Sexo)` )
Planilha$`Cov(Jejum)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Jejum)` )
Planilha$`Cov(Nacionalidade)` <- as.factor(Planilha$`Cov(Nacionalidade)` )

levels(Planilha$`Cov(Saúde)` )
levels(Planilha$`Cov(Interaçao)` )
levels(Planilha$`Cov(Idade)` )
levels(Planilha$`Cov(Sexo)` )
levels(Planilha$`Cov(Jejum)` )
levels(Planilha$`Cov(Nacionalidade)` )

# Planilha$`Cov(Saúde)_Cirrhotic` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Cirrhotic` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Cystic fibrosis` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Cystic fibrosis` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Diabetic gastroparesis` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Diabetic gastroparesis` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Febrile` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Febrile` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Haemodialysis` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Haemodialysis` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Healthy` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Healthy` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_HIV` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_HIV` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Pancreatic transplantation` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Pancreatic
transplantation` )
# Planilha$`Cov(Saúde)_Renal impairment` <- as.numeric(Planilha$`Cov(Saúde)_Renal impairment` )

# Explorar

Cirrhotic <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Cirrhotic")
CysticFibrosis <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Cystic fibrosis")
DiabeticGastroparesis <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Diabetic gastroparesis")
Febrile <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Febrile")
Healthy <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Healthy")
HIV <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "HIV")
Renal <- Planilha %>%
  filter(Planilha$`Cov(Saúde)` == "Renal impairment")

# Opcional - Criar e selecionar os vetores medianos (artigos com valores mais próximos da média)

VMean <- data.frame(
  VSaudável = c(median(Healthy$`CL (L/h)`), median(Healthy$VD), median(Healthy$`Tmáx (h)`)),
  VDiabetic = c(median(DiabeticGastroparesis$`CL (L/h)`), median(DiabeticGastroparesis$VD),
median(DiabeticGastroparesis$`Tmáx (h)`)),
  VFebril = c(median(Febrile$`CL (L/h)`), median(Febrile$VD), median(Febrile$`Tmáx (h)`)),
  VHIV = c(median(HIV$`CL (L/h)`), median(HIV$VD), median(HIV$`Tmáx (h)`)),
  VRenal = c(median(Renal$`CL (L/h)`), median(Renal$VD), median(Renal$`Tmáx (h)`)),
  VCystic = c(median(CysticFibrosis$`CL (L/h)`), median(CysticFibrosis$VD), median(CysticFibrosis$`Tmáx
(h)`)),
  VCyrrhotic = c(median(Cirrhotic$`CL (L/h)`), median(Cirrhotic$VD), median(Cirrhotic$`Tmáx (h)`)),
  row.names = c("Cl", "VD", "Tmáx" )
)

TabelaSelecionada <- data.frame()

```

```

TabelaSelecionada <- rbind(
  Healthy[which.min((abs(VMean[1,1] - Healthy$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,1] - Healthy$VD) +
abs(VMean[3,1] - Healthy$`Tmáx (h)`))),],
  DiabeticGastroparesis[which.min((abs(VMean[1,2] - DiabeticGastroparesis$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,2] -
DiabeticGastroparesis$VD) + abs(VMean[3,2] - DiabeticGastroparesis$`Tmáx (h)`))),],
  Febrile[which.min((abs(VMean[1,3] - Febrile$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,3] - Febrile$VD) +
abs(VMean[3,3] - Febrile$`Tmáx (h)`))),],
  Haemo[which.min((abs(VMean[1,4] - Haemo$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,4] - Haemo$VD) +
abs(VMean[3,4] - Haemo$`Tmáx (h)`))),],
  HIV[which.min((abs(VMean[1,5] - HIV$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,5] - HIV$VD) + abs(VMean[3,5] -
HIV$`Tmáx (h)`))),],
  Pancreas[which.min((abs(VMean[1,6] - Pancreas$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,6] - Pancreas$VD) +
abs(VMean[3,6] - Pancreas$`Tmáx (h)`))),],
  Renal[which.min((abs(VMean[1,7] - Renal$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,7] - Renal$VD) + abs(VMean[3,7] -
Renal$`Tmáx (h)`))),],
  CysticFibrosis[which.min((abs(VMean[1,8] - CysticFibrosis$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,8] -
CysticFibrosis$VD) + abs(VMean[3,8] - CysticFibrosis$`Tmáx (h)`))),],
  Cirrhotic[which.min((abs(VMean[1,9] - Cirrhotic$`CL (L/h)` + abs(VMean[2,9] - Cirrhotic$VD) +
abs(VMean[3,9] - Cirrhotic$`Tmáx (h)`))),]
)

# Processo iterativo para estimar Ka
# Caso queira para os dados totais (Sem filtrar pela média)
TabelaSelecionada <- Planilha

iteração <- 1
for (linha in 1:nrow(TabelaSelecionada)) {
  ValorInicial <- TabelaSelecionada$`Kel (h-1)`[linha]
  index <- linha
  Error <- 10
  while (Error > (10e-5)) {
    ValorInicial <- ValorInicial + 0.0001
    Equacao <- (log(ValorInicial) - log(TabelaSelecionada$`Kel (h-1)`[linha])) /
(ValorInicial - TabelaSelecionada$`Kel (h-1)`[linha])
    Error <- Equacao - TabelaSelecionada$`Tmáx (h)`[linha]
    TabelaSelecionada$`Ka simulado`[linha] <- ValorInicial
    print(paste0(TabelaSelecionada$ID[index], "          Linha_", sprintf("%.0f", index), "          ",
sprintf("%.4f", ValorInicial)))
    iteração <- iteração + 1
  }
  print(paste("Sua simulação acabou, você iterou", iteração, "dados"))
} # 1

export(TabelaSelecionada, "Dataset/TabelaFiltroSelecionado.xlsx")

# Loop de simulação de dados dos pacientes
# Antes é necessário armazenar o valor de CL e VD para facilitar o cálculo

TabelaFinal <- TabelaSelecionada # só fiz isso pra não adaptar o restante do script haha
TabelaFinal <- import("Dataset/TabelaFiltroSelecionado.xlsx")

ListData = list()

for (linha in 1:nrow(TabelaFinal)) {
  # Esse trecho converte a distribuição normal em lognormal
  mCl = log((TabelaFinal$`CL (L/h)`[linha] ^ 2) /

```

```

sqrt(TabelaFinal$"CL SD"[linha] ^ 2 + TabelaFinal$"CL (L/h)"[linha] ^
2))
sdCl = sqrt(log(1 + (
TabelaFinal$"CL SD"[linha] ^ 2 /
TabelaFinal$"CL (L/h)"[linha] ^ 2
)))
mVD = log((TabelaFinal$VD[linha] ^ 2) /
sqrt(TabelaFinal$"VD SD"[linha] ^ 2 + TabelaFinal$VD[linha] ^
2))
sdVD = sqrt(log(1 + (
TabelaFinal$"VD SD"[linha] ^ 2 /
TabelaFinal$VD[linha] ^ 2
)))

# Ka é fixo e CI e VD aleatorizados na distribuição lognormal.
# É possível mudar a quantidade de simulações substituindo a multiplicação "10"
Ka <- rep(TabelaFinal$`Ka simulado`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
Cl <- rlnorm(TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1, mCl, sdCl)
VD <- rlnorm(TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1, mVD, sdVD)
Dose <- rep(TabelaFinal$`Dose (mg)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
CovSaúde <- rep(TabelaFinal$`Cov(Saúde)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
#CovInt <- rep(TabelaFinal$`Cov(Interação)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
#CovSexo <- rep(TabelaFinal$`Cov(Sexo)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
#CovIdade <- rep(TabelaFinal$`Cov(Idade)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
#CovJejum <- rep(TabelaFinal$`Cov(Jejum)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
#CovNac <- rep(TabelaFinal$`Cov(Nacionalidade)`[linha], TabelaFinal$`N dados`[linha] * 1)
# Para cada artigo, um data.frame. A lista é composta por vários data.frames
Pacientes.Artigo <- data.frame(CovSaúde,
CovInt, CovSexo, CovIdade, CovJejum, CovNac,
Dose, Ka, Cl, VD) #atenção covariáveis
ListData[[linha]] <- Pacientes.Artigo
names(ListData)[linha] = paste0("Artigo_", linha)
rm(Pacientes.Artigo)
} # 1

```

### **# Parte 3 - Simulação linpk ----**

#### **# Ligar linpk**

```
library(linpk)
```

#### **# Definir intervalos de tempo que serão gerados. Min, máx e intervalos**

```
t_obs = c(0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48)
```

#### **# Rode esse script todo início de rotina para resetar as contagens**

```
linhas = sum(sapply(ListData, nrow, simplify = T)) * length(t_obs)
```

```
PacientesSim = data.frame(matrix(
```

```
ncol = 5, #arrumar caso mude o número de colunas (covariáveis)
```

```
nrow = linhas,
```

```
dimnames = list(
```

```
NULL,
```

```
c(
```

```
"Paciente_ID",
```

```
"Dose",
```

```
"CovSaúde",
```

```
#"CovInt",
```

```
#"CovIdade",
```

```
#"CovSexo",
```

```

    #"CovJejum",
    #"CovNac",
    "Tempo",
    "Concentração"
  )
)
))

# Loop simulação linpk
# Esse loop extrai o data.frame da lista e depois a variável do data.frame

Artigo <- 1
ExportPK <- ListData[[Artigo]]
Contagempaciente <- 1
Contagem <- 1
for (Artigo in 1:length(ListData)) {
  SimData <- ListData[[Artigo]]
  ExportPK <- rbind(ExportPK, ListData[[Artigo]])

  for (Paciente in 1:nrow(SimData)) {
    t_obs = sort(c(0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48))
    PerfilPaciente <- data.frame(pkprofile(
      t_obs,
      cl = SimData$Cl[Paciente],
      vc = SimData$VD[Paciente],
      ka = SimData$Ka[Paciente],
      dose = list (amt = SimData$Dose[Paciente])
    ))
    Doseaux <- ifelse(PerfilPaciente[1] == 0, SimData$Dose[1], ".")
    Aux <- data.frame(
      Paciente_ID = paste(Artigo, Paciente), #paste0("Paciente_", sprintf("%.5d", Paciente)),
      Dose = Doseaux,
      CovSaúde = as.character(SimData$CovSaúde[Paciente]),
      #CovInt = as.character(SimData$CovInt[Paciente]),
      #CovIdade = as.character(SimData$CovIdade[Paciente]),
      #CovSexo = as.character(SimData$CovSexo[Paciente]),
      #CovJejum = as.character(SimData$CovJejum[Paciente]),
      #CovNac = as.character(SimData$CovNac[Paciente]),
      Tempo = t_obs,
      Concentração = PerfilPaciente$conc
    )
    PacientesSim <- PacientesSim %>%
      filter(!is.na(PacientesSim$Dose))
    PacientesSim[Contagem:(Contagem + nrow(Aux) - 1), ] <- Aux
    print(paste("Artigo", Artigo, "Paciente", Paciente))
    Contagem <- Contagem + nrow(Aux)
    Contagempaciente <- Contagempaciente + 1
  } # 2
  print(paste("Você iterou", Contagempaciente, "Pacientes"))
} # 1

ExportPK <- ExportPK[-(1:nrow(ListData[[1]]),)]
PacientesSim$Tempo <- as.numeric(PacientesSim$Tempo)

for (linha in 1:nrow(PacientesSim)) {
  if(PacientesSim$Concentração[linha] == 0) {
    PacientesSim$Concentração[linha] <- "."
  }
}

```

```

}
}

export(ExportPK, "Dataset/ParâmetrosN1-Tese.xlsx") # Ao invés das observações, temos estes parâmetros
export(PacientesSim, "Dataset/SimuladosN1-Tese.csv") # Estas são as observações que você pode usar esses
dados no monolix

# PacientesSim$Concentração <- as.numeric(PacientesSim$Concentração)

# substituir valor de zero na concentração para o monolix aceitar

# Caso precise fazer OneHotEncoder para codificar as variáveis para importar no monolix ----

library(mltools)
library(data.table)

DataOneHot <- PacientesSim

DataOneHot$CovSaúde <- as.factor(DataOneHot$CovSaúde)
#DataOneHot$CovInt <- as.factor(DataOneHot$CovInt)
#DataOneHot$CovIdade <- as.factor(DataOneHot$CovIdade)
#DataOneHot$CovSexo <- as.factor(DataOneHot$CovSexo)
#DataOneHot$CovJejum <- as.factor(DataOneHot$CovJejum)
#DataOneHot$CovNac <- as.factor(DataOneHot$CovNac)

DataOneHot <- cbind(DataOneHot, one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovSaúde))#,
                    #one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovInt)),
                    #one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovIdade)),
                    #one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovSexo)),
                    #one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovJejum)),
                    #one_hot(as.data.table(DataOneHot$CovNac))
                    )

#Dataset 100%
export(DataOneHot, "Dataset/OHEN1-Tese.csv")
# Separar em dados de treinamento e teste

library(caTools)

set.seed(1)

auxS <- unique(DataOneHot$Paciente_ID)

s <- sample.split(Y = auxS, SplitRatio = 0.7)

trainset <- DataOneHot[s,]
testset <- DataOneHot[!s,]

export(trainset, "Dataset/trainsetN100.csv")
export(testset, "Dataset/testsetN100.csv")

```

APÊNDICE 3 - ARTIGOS DA REVISÃO DE ESCOPO EXCLUÍDOS E SUAS RAZÕES

<b>Authors</b>	<b>Article's title</b>	<b>Year of publication</b>	<b>Reason of exclusion</b>
Balbas-Martinez V; Michelet R; Edginton AN; Meesters K; Trocóniz IF; Vermeulen A;	Physiologically-Based Pharmacokinetic model for Ciprofloxacin in children with complicated Urinary Tract Infection.	2019	Desenho do estudo
Begg, E. J., Robson, R. A., Saunders, D. A., Graham, G. G., Buttimore, R. C., Neill, A. M., & Town, G. I.	The pharmacokinetics of oral fleroxacin and ciprofloxacin in plasma and sputum during acute and chronic dosing	2000	Dados faltantes
Bender, S. W., Posselt, H. G., Dalhoff, A., Shah, P. M., & Strehl, R.	Ciprofloxacin pharmacokinetics in patients with cystic fibrosis	1986	Desenho do estudo
Boeckh, M. I. C. H. A. E. L., Lode, H., Deppermann, K. M., Grineisen, S., Shokry, F., Held, R., ... & Krasemann, C.	Pharmacokinetics and serum bactericidal activities of quinolones in combination with clindamycin, metronidazole, and ornidazole.	1990	Via de administração
Boelaert, J., Valcke, Y., Schurgers, M., Daneels, R., Rosseneu, M., Rosseel, M. T., & Bogaert, M. G.	The pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with impaired renal function	1985	Intervenção
Borner, K., Höffken, G., Lode, H., Koeppe, P., Prinzing, C., Glatzelc, P., ... & Reinitz, D	Pharmacokinetics of ciprofloxacin in healthy volunteers after oral and intravenous administration.	1986	Dados ajustados
Brattström, C.; Malmborg, A.-S.; Tyden, G	Penetration of ciprofloxacin and ofloxacin into human allograft pancreatic juice	1988	Intervenção
Brittain, D. C., Scully, B. E., Mcelrath, M. J., Steinman, R., Labthavikul, P., & Neu, H. C.	The pharmacokinetics and serum and urine bactericidal activity of ciprofloxacin	1985	Dados ajustados
Choudhury, H., Gorain, B., Paul, A., Sarkar, P., Dan, S., Chakraborty, P., & Pal, T. K.	Development and validation of an LC-MS/MS-ESI method for comparative pharmacokinetic study of ciprofloxacin in healthy male subjects.	2016	Desenho do estudo
Chukwuani, C. M., Coker, H. A. B., Oduola, A. M., Sowunhmi, A., & Ifudu, N. D.	Bioavailability of Ciprofloxacin and Fleroxacin: Results of a Preliminary Investigation in Healthy Adult Nigerian Male Volunteers.	2000	Dados ajustados

Christensson, B. A., Nilsson-Ehle, I., Ljungberg, B., Lindblad, A., Malmborg, A. S., Hjelte, L., & Strandvik, B.	Increased oral bioavailability of ciprofloxacin in cystic fibrosis patients	1992	Dados ajustados
De Marie, S., Vandenberg, M. F. Q., Buijk, S. L. C. E., Bruining, H. A., Van Vliet, A., Kluytmans, J. A. J. W., & Mouton, J. W.	Bioavailability of ciprofloxacin after multiple enteral and intravenous doses in ICU patients with severe gram-negative intra-abdominal infections	1998	Via de administração
Drusano, G. L., Standiford, H. C., Plaisance, K., Forrest, A., Leslie, J., & Caldwell, J.	Absolute oral bioavailability of ciprofloxacin	1986	Dados ajustados
Facchin A; Bui S; Leroux S; Nacka F; Koehl B; Maksoud E; Fayon M; Jacqz-Aigrain E;	Variability of ciprofloxacin pharmacokinetics in children: impact on dose range in sickle cell patients.	2018	População
Forrest, A., Weir, M., Plaisance, K. I., Drusano, G. L., Leslie, J., & Standiford, H. C.	Relationships between renal function and disposition of oral ciprofloxacin	1988	Dados faltantes
Frost, R. W., Lettieri, J. T., Krol, G., Shamblen, E. C., & Lasseter, K. C.	The effect of cirrhosis on the steady-state pharmacokinetics of oral ciprofloxacin	1989	Dados ajustados
Gattis, W. A., Petros, W. P., Pickard, W. W., Drew, R. H., May, B., & Hathorn, J. W.	Open-Label Study of Single-Dose Ciprofloxacin Absorption after Chemotherapy in Patients with Malignancy	1997	Intervenção
Golper, T. A., Hartstein, A. I., Morthland, V. H., & Christensen, J. M.	Effects of antacids and dialysate dwell times on multiple-dose pharmacokinetics of oral ciprofloxacin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis.	1987	Intervenção
Hackam, D. J., Christou, N., Khaliq, Y., Duffy, D. R., Vaughan, D., Marshall, J. C., & Rotstein, O. D.	Bioavailability of oral ciprofloxacin in early postsurgical patients.	1998	Intervenção
Healy, D. P., Brodbeck, M. C., & Clendening, C. E.	Ciprofloxacin absorption is impaired in patients given enteral feedings orally and via gastrostomy and jejunostomy tubes	1995	Via de administração
Hirata, C. A., Guay, D. R., Awni, W. M., Stein, D. J., & Peterson, P. K.	Steady-state pharmacokinetics of intravenous and oral ciprofloxacin in elderly patients.	1989	Dados faltantes
Höfler, D., Dalhoff, A., Gau, W., Beermann, D., &	Dose- and sex-independent disposition of ciprofloxacin.	1984	Dados ajustados

Michl, A.			
Ilo, C. E., Ilondu, N. A., Okwoli, N., Brown, S. A., Elo-Ilo, J. C., Agbasi, P. U., & Orisakwe, O. E.	Effect of chloroquine on the bioavailability of ciprofloxacin in humans.	2006	Dados faltantes
Issa, M. M., Nejem, R. A. M., El-Abadla, N. S., El-Naby, M. K., Roshdy, A. A., & Kheiralla, Z. A.	Effects of paracetamol on the pharmacokinetics of ciprofloxacin in plasma using a microbiological assay.	2007	Desenho do estudo
Kays, M. B., Overholser, B. R., Mueller, B. A., Moe, S. M., & Sowinski, K. M.	Effects of sevelamer hydrochloride and calcium acetate on the oral bioavailability of ciprofloxacin	2003	Dados faltantes
Konieczna, L., Chmielewska, A., & Lamparczyk, H.	Influence of sex on the pharmacokinetics of ciprofloxacin and ofloxacin	2006	Dados faltantes
Kim, M. K., Nightingale, C. H., & Nicolau, D. P.	Influence of sex on the pharmacokinetic interaction of fleroxacin and ciprofloxacin with caffeine	2003	Dados faltantes
Landersdorfer CB; Kinzig M; Höhl R; Kempf P; Nation RL; Sörgel F;	Physiologically Based Population Pharmacokinetic Modeling Approach for Ciprofloxacin in Bone of Patients Undergoing Orthopedic Surgery.	2020	Desenho do estudo
Lebel, M., Barbeau, G., Bergeron, M. G., Roy, D., & Vallee, F.	Pharmacokinetics of ciprofloxacin in elderly subjects.	1986	Duplicado
Lebel, M., Vallee, F., & Bergeron, M. G.	Tissue penetration of ciprofloxacin after single and multiple doses	1986	Duplicado
Lebel, M., Bergeron, M. G., Vallee, F., Fiset, C., Chasse, G., Bigonnesse, P., & Rivard, G	Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ciprofloxacin in cystic fibrosis patients	1986	Dados faltantes
Ledergerber, B., Bettex, J. D., Joos, B., Flepp, M., & Lüthy, R.	Effect of standard breakfast on drug absorption and multiple-dose pharmacokinetics of ciprofloxacin.	1985	Desenho do estudo
Lehto, P., Kivisto, K. T., & Neuvonen, P. J.	The effect of ferrous sulphate on the absorption of norfloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin.	1994	Desenho do estudo
Lettieri, J. T., Rogge, M. C., Kaiser, L., Echols, R. M., & Heller, A. H.	Pharmacokinetic profiles of ciprofloxacin after single intravenous and oral doses.	1992	Dados faltantes
Lettieri, J. T., Rogge, M., Echols, R., Kaiser, L., & Heller, A. H	Pharmacokinetics of Ciprofloxacin after Single Oral and Intravenous Doses.	1993	Desenho do estudo
Lomaestro, B. M., & Bailie, G. R.	Effect of staggered dose of calcium on the bioavailability of ciprofloxacin.	1991	Duplicado

Lubart, E., Berkovitch, M., Leibovitz, A., Britzi, M., Soback, S., Bukasov, Y., & Segal, R	Pharmacokinetics of ciprofloxacin in hospitalized geriatric patients: comparison between nasogastric tube and oral administration.	2013	Via de administração
Lubasch, A., Keller, I., Borner, K., Koeppe, P., & Lode, H.	Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin, gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, trovafloxacin, and moxifloxacin after single oral administration in healthy volunteers.	2000	Dados ajustados
Meesters K; Michelet R; Mauel R; Raes A; Van Bocxlaer J; Vande Walle J; Vermeulen A;	Results of a Multicenter Population Pharmacokinetic Study of Ciprofloxacin in Children with Complicated Urinary Tract Infection.	2018	População
Miglioli, P. A., Palatini, P., Orlando, R., & Sawadogo, A.	Evaluation of ciprofloxacin and ofloxacin pharmacokinetics in liver cirrhosis.	1993	Desenho do estudo
Montay, G., & Gaillot, J.	Pharmacokinetics of fluoroquinolones in hepatic failure	1990	Desenho do estudo
Montgomery MJ; Beringer PM; Aminimanizani A; Louie SG; Shapiro BJ; Jelliffe R; Gill MA;	Population pharmacokinetics and use of Monte Carlo simulation to evaluate currently recommended dosing regimens of ciprofloxacin in adult patients with cystic fibrosis.	2001	Desenho do estudo
C Morran, C Mcardle, L Pettitt, D Sleigh	Brief report: pharmacokinetics of orally administered ciprofloxacin in abdominal surgery	1989	Desenho do estudo
Muchohi SN; Thuo N; Karisa J; Muturi A; Kokwaro GO; Maitland K;	Determination of ciprofloxacin in human plasma using high-performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection: application to a population pharmacokinetics study in children with severe malnutrition.	2011	Desenho do estudo
Mueller, B. A., Brierton, D. G., Abel, S. R., & Bowman, L.	Effect of enteral feeding with ensure on oral bioavailabilities of ofloxacin and ciprofloxacin	1994	Via de administração
Naber, K. G., Theuretzbacher, U., Moneva-Koucheva, G., & Stass, H.	Urinary excretion and bactericidal activity of intravenous ciprofloxacin compared with oral ciprofloxacin.	1999	Dados faltantes
Neuhofel, A. L., Wilton, J. H., Victory, J. M., Hejmanowski, L. G., & Amsden, G. W.	Lack of bioequivalence of ciprofloxacin when administered with calcium-fortified orange juice: a new twist on an old interaction.	2002	Dados faltantes
Nix, D. E., Watson, W. A., Lener, M. E., Frost, R. W., Krol, G., Goldstein, H., ... & Schentag, J. J.	Effects of aluminum and magnesium antacids and ranitidine on the absorption of ciprofloxacin	1989	Dados ajustados

Overholser, B. R., Kays, M. B., Forrest, A., & Sowinski, K. M.	Sex-related differences in the pharmacokinetics of oral ciprofloxacin.	2004	Dados ajustados
Park MH; Shin SH; Byeon JJ; Lee GH; Yu BY; Shin YG;	Prediction of pharmacokinetics and drug-drug interaction potential using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling approach: A case study of caffeine and ciprofloxacin.	2017	Desenho do estudo
Pasternyk, M.; Chen, J.; Wainer, I.W.; Ducharme, M.P.;	A population pharmacokinetic metabolism model for individualizing ciprofloxacin therapy in ophthalmology	1999	Desenho do estudo
Payen S; Serreau R; Munck A; Aujard Y; Aigrain Y; Bressolle F; Jacqz-Aigrain E;	Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric and adolescent patients with acute infections.	2003	População
Pederzoli, P., Falconi, M., Bassi, C., Vesentini, S., Orcalli, F., Scaglione, F., ... & Martini, N	Ciprofloxacin penetration in pancreatic juice.	1987	Dados ajustados
Peltola, H., Väärälä, M., Renkonen, O. V., & Neuvonen, P. J.	Pharmacokinetics of single-dose oral ciprofloxacin in infants and small children.	1992	Dados ajustados
Perreiter, A.; Nix, D.E.; Matthias, K.;	Appropriateness of ciprofloxacin dosing based on a population pharmacokinetic model	2010	Desenho do estudo
Plaisance, K. I., Drusano, G. L., Forrest, A., Bustamante, C. I., & Standiford, H. C.	Effect of dose size on bioavailability of ciprofloxacin.	1987	Dados ajustados
Plaisance, K. I., Drusano, G. L., Forrest, A., Weir, M. R., & Standiford, H. C.	Effect of renal function on the bioavailability of ciprofloxacin.	1990	Dados ajustados
Rajagopalan P; Gastonguay MR;	Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric patients.	2003	População
Van Rhee, K. P., Smit, C., Wasmann, R. E., Van Der Linden, P. D., Wiezer, R., Van Dongen, E. P., ... & Knibbe, C. A	Ciprofloxacin pharmacokinetics after oral and intravenous administration in (morbidly) obese and non-obese individuals: a prospective clinical study.	2022	Desenho do estudo
Rivas, A. B., Lopez-Picado, A., Salas-Butrón, M. D. R., Terleira, A., Sanchez Pernaute, A., Torres Garcia, A. J., ... & Vargas, E.	Effect of Roux-en-Y gastric surgery on ciprofloxacin pharmacokinetics: an obvious effect?	2019	Intervenção
Ruhnke, M., Trautmann, M., Borner, K., & Hopfenmüller, W.	Pharmacokinetics of ciprofloxacin in liver cirrhosis.	1990	Dados ajustados

Sadiq MW; Nielsen EI; Khachman D; Conil JM; Georges B; Houin G; Laffont CM; Karlsson MO; Friberg LE;	A whole-body physiologically based pharmacokinetic (WB-PBPK) model of ciprofloxacin: a step towards predicting bacterial killing at sites of infection.	2017	Desenho do estudo
Sánchez Navarro, M. D., Sayalero Marinero, M. L., & Sánchez Navarro, A.	Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of ciprofloxacin 250 mg/12 h versus 500 mg/24 h for urinary infections.	2002	Desenho do estudo
Sassen SDT; Mathôt RAA; Pieters R; de Haas V; Kaspers GJL; van den Bos C; Tissing WJE; Te Loo DMWW; Bierings MB; van Westreenen M; van der Sluis IM; Zwaan CM;	Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Ciprofloxacin Prophylaxis in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Patients.	2020	População
Schlender JF; Teutonico D; Coboeken K; Schnizler K; Eissing T; Willmann S; Jaehde U; Stass H;	A Physiologically-Based Pharmacokinetic Model to Describe Ciprofloxacin Pharmacokinetics Over the Entire Span of Life.	2018	Desenho do estudo
Schultz AN; Høiby N; Nielsen XC; Pressler T; Dalhoff K; Duno M; Buchard A; Johansen HK; Wang H; Dalbøge CS;	Individual pharmacokinetic variation leads to underdosing of ciprofloxacin in some cystic fibrosis patients.	2017	Desenho do estudo
Shah, A., Lettieri, J., Kaiser, L., Echols, R., & Heller, A. H.	Comparative pharmacokinetics and safety of ciprofloxacin 400 mg iv thrice daily versus 750 mg po twice daily.	1994	Dados faltantes
Smith, G. M., Leyland, M. J., Farrell, I. D., & Geddes, A. M.	A clinical, microbiological and pharmacokinetic study of ciprofloxacin plus vancomycin as initial therapy of febrile episodes in neutropenic patients	1988	Intervenção
Steen, H. J., Scott, E. M., Stevenson, M. I., Black, A. E., Redmond, A. O. B., & Collier, P. S.	Clinical and pharmacokinetic aspects of ciprofloxacin in the treatment of acute exacerbations of pseudomonas infection in cystic fibrosis patients	1989	Dados faltantes
Sudo, R. T., Melo, P. A., & Suarez-Kurtz, G.	Pharmacokinetics of oral ciprofloxacin in healthy, young Brazilian subjects.	1990	Dados ajustados
Szałek E; Kamińska A; Gozdzik-Spychalska J; Grześkowiak E; Batura-Gabryel H;	The PK/PD index (C <sub>MAX</sub> /MIC) for ciprofloxacin in patients with cystic fibrosis.	2011	Desenho do estudo
Szałek, E.; Kamińska, A.; Łojko, A.; Grześkowiak, E.; Komarnicki, M.; Murawa, D.; Nabywaniec, K.;	Analysis of pharmacokinetics and PK/PD parameter C <sub>max</sub> /MIC for ciprofloxacin in patients with neutropenic fever	2010	Desenho do estudo

Terziivanov D; Atanasova I; Dimitrova V;	Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with liver impairments analyzed by NPEM2 algorithm--a retrospective study.	1998	Desenho do estudo
Thuo N; Ungphakorn W; Karisa J; Muchohi S; Muturi A; Kokwaro G; Thomson AH; Maitland K;	Dosing regimens of oral ciprofloxacin for children with severe malnutrition: a population pharmacokinetic study with Monte Carlo simulation.	2011	População
Urso, R., Segre, G., Cerretani, D., Baldi, A., Bianchi, W., & Maggiolo, F.	Plasma and urine pharmacokinetics of ciprofloxacin in man after single oral administration.	1990	Desenho do estudo
Wingender, W., Graefe, K. H., Gau, W., Förster, D., Beermann, D., & Schacht, P.	Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and intravenous administration in healthy volunteers.	1984	Dados ajustados
Wise, R., Lister, D., McNulty, C. A. M., Griggs, D., & Andrews, J. M.	The comparative pharmacokinetics of five quinolones	1986	Duplicado
Wise, R., Griggs, D., & Andrews, J. M.	Pharmacokinetics of the quinolones in volunteers: a proposed dosing schedule.	1986	Duplicado

APÊNDICE 4 – AVALIAÇÃO DA QUALIDADE – CLINPK – FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL

Questão		EGM Vermelho	EGM Amarelo	EGM Verde
Título/resumo				
1	O título declara o fármaco e população estudada	1	19	23
2	O resumo inclui minimamente o nome do(s) medicamento(s) estudado(s), a via de administração, a população na qual foi estudado e os resultados do objetivo principal e das principais descobertas farmacocinéticas.	2	13	28
<b>Contexto</b>				
3	São descritos dados farmacocinéticos (ou seja, absorção, distribuição, metabolismo, excreção) que são conhecidos e relevantes para os medicamentos em estudo.	16	15	12
4	É fornecida uma explicação da justificativa do estudo.	9	9	25
5	É fornecida a hipótese ou objetivos específicos	6	5	32
<b>Método</b>				
6	Os critérios de elegibilidade dos participantes do estudo são descritos.	4	9	30
7	A coadministração (ou a ausência dela) do(s) medicamento(s) do estudo com outros medicamentos com potencial interações ou alimentos.	0	8	35
8	As características de preparação e administração do medicamento, incluindo dose, via, formulação, duração da infusão (se aplicável) e frequência, são descritas.	1	4	38
9	A coleta de fluidos corporais ou tecidos (tempo, frequência e armazenamento) para a quantificação do fármaco é descrita.	2	1	40
10	A validação dos métodos bioanalíticos utilizados no estudo é referenciada ou descrita, se aplicável.	11	4	28
11	Métodos de modelagem farmacocinética e software utilizados são descritos, incluindo as suposições feitas quanto ao número de compartimentos e ordem de cinética (zero, primeira ou ordem mista).	6	18	19
12	Para estudos de farmacocinética populacional, covariáveis incorporadas nos modelos farmacocinéticos são identificadas e descritas.	NA	NA	NA
13	As fórmulas para variáveis calculadas (como depuração de creatinina, área de superfície corporal, ASC e peso corporal ajustado) são fornecidas ou referenciadas.	8	6	29
14	O peso corporal específico utilizado em dosagens de medicamentos e cálculos farmacocinéticos é relatado (ou seja, peso corporal ideal vs. peso corporal real vs. peso corporal ajustado).	Exclusão	Exclusão	Exclusão
15	Métodos estatísticos, incluindo o software utilizado, são descritos.	11	19	13

<b>Resultados</b>					
16	As censuras (desistências) do estudo ou os sujeitos perdidos no acompanhamento (ou a falta deles) são relatados.	5	1		37
17	A quantificação de dados faltantes ou excluídos é fornecida, se aplicável.	NA	NA	NA	NA
18	Todas as variáveis relevantes que podem explicar a variabilidade farmacocinética entre pacientes e dentro de um mesmo paciente (incluindo: idade, sexo, função dos órgãos, etnia, peso ou IMC, estado de saúde ou gravidade da doença, e comorbidades pertinentes) são fornecidas, juntamente com medidas apropriadas de variação.	8	35	0	
19	Os resultados das análises farmacocinéticas são relatados com medidas apropriadas de precisão, como intervalo de variação ou intervalos de confiança de 95%.	3	4	36	
20	Estudos em pacientes submetidos à remoção extracorpórea de medicamentos (ou seja, diálise) devem relatar o modo de remoção do medicamento, o tipo de filtros utilizados, a duração da terapia e as taxas de fluxo relevantes.	NA	NA	NA	NA
21	Em estudos de biodisponibilidade de medicamentos que comparam duas formulações do mesmo medicamento, biodisponibilidade, ASC, Cmax e Tmax devem ser relatados.	NA	NA	NA	NA
<b>Discussão/conclusão</b>					
22	As limitações do estudo, descrevendo potenciais fontes de viés e imprecisão quando relevantes, devem ser descritas.	18	19	6	
23	A relevância das descobertas do estudo (aplicabilidade, validade externa) é descrita.	4	28	11	
<b>Outros</b>					
24	As fontes de financiamento e conflitos de interesse dos autores são divulgados.	23	8	12	

APÊNDICE 5 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE - CLINPK – FARMACOCINÉTICA TRADICIONAL (CONTINUADA)

Questão											
Título/resumo											
1	O título declara o fármaco e população estudada										
2	O resumo inclui minimamente o nome do(s) medicamento(s) estudado(s), a via de administração, a população na qual foi estudado e os resultados do objetivo principal e das principais descobertas farmacocinéticas.										
<b>Contexto</b>											
3	São descritos dados farmacocinéticos (ou seja, absorção, distribuição, metabolismo, excreção) que são conhecidos e relevantes para os medicamentos em estudo.										
4	É fornecida uma explicação da justificativa do estudo.										
5	É fornecida a hipótese ou objetivos específicos										
<b>Método</b>											
6	Os critérios de elegibilidade dos participantes do estudo são descritos.										
		Wise - 1986									
		Weinstein - 1991									
		Wagenlehner - 2006									
		Wagenlehner - 2003									
		Ullmann - 1986									
		Tolentino - Hernandez - 2020									
		Tartaglione - 1986									
		Stuht - 1995									
		Sriwiryajan - 2011									
		Smith - 1988									
		Singlas - 1987									
		Shalit - 1986									
		Reed - 1988									
		Rambout - 1994									
		Pedersen - 1987									
		Patel - 1995									
		Owens - 1997									
		Nix - 1989									
		Neuvone - 1991									
		Lomaestro - 1991									
		Lebel - 1986									
		Kara - 1991									
		Israel - 1993									
		Iqbal - 2009									
		Hoogkamer - 1995									
		Hoffken - 1985									
		Gonzalez - 1984									
		Goldfarb - 1986									
		Gasser - 1987									
		Galicanno - 1996									
		Frost - 1992									
		Frost - 1989									
		Fourtillan - 1990									
		Escobar - 2011									
		Echols - 1994									
		Davis - 1987									
		Crump - 1983									
		Catchpole - 1994									
		Capecchi - 1995									
		Brunner - 2002									
		Bayer - 1987									
		Bashir 2004									
		Ball - 1986									







11	Métodos de modelagem farmacocinética e software utilizados são descritos, incluindo as suposições feitas quanto ao número de compartimentos e ordem de cinética (zero, primeira ou ordem mista).	0	0	9
12	Para estudos de farmacocinética populacional, covariáveis incorporadas nos modelos farmacocinéticos são identificadas e descritas.	1	0	8
13	As fórmulas para variáveis calculadas (como depuração de creatinina, área de superfície corporal, ASC e peso corporal ajustado) são fornecidas ou referenciadas.		NA	
14	O peso corporal específico utilizado em dosagens de medicamentos e cálculos farmacocinéticos é relatado (ou seja, peso corporal ideal vs. peso corporal real vs. peso corporal ajustado).		NA	
15	Métodos estatísticos, incluindo o software utilizado, são descritos.	0	0	9
<b>Resultados</b>				
16	As censuras (desistências) do estudo ou os sujeitos perdidos no acompanhamento (ou a falta deles) são relatados.	0	8	1
17	A quantificação de dados faltantes ou excluídos é fornecida, se aplicável.	0	0	9
18	Todas as variáveis relevantes que podem explicar a variabilidade farmacocinética entre pacientes e dentro de um mesmo paciente (incluindo: idade, sexo, função dos órgãos, etnia, peso ou IMC, estado de saúde ou gravidade da doença, e comorbidades pertinentes) são fornecidas, juntamente com medidas apropriadas de variação.	0	0	9
19	Os resultados das análises farmacocinéticas são relatados com medidas apropriadas de precisão, como intervalo de variação ou intervalos de confiança de 95%.	0	0	9
20	Estudos em pacientes submetidos à remoção extracorpórea de medicamentos (ou seja, diálise) devem relatar o modo de remoção do medicamento, o tipo de filtros utilizados, a duração da terapia e as taxas de fluxo relevantes.		NA	
21	Em estudos de biodisponibilidade de medicamentos que compararam duas formulações do mesmo medicamento, biodisponibilidade, ASC, C <sub>max</sub> e T <sub>max</sub> devem ser relatados.		NA	
<b>Discussão/conclusão</b>				
22	As limitações do estudo, descrevendo potenciais fontes de viés e imprecisão quando relevantes, devem ser descritas.	0	1	8
23	A relevância das descobertas do estudo (aplicabilidade, validade externa) é descrita.	0	1	8
<b>Outros</b>				
24	As fontes de financiamento e conflitos de interesse dos autores são divulgados.	0	1	8

APÊNDICE 7 – AVALIAÇÃO DA QUALIDADE – CLINPK – FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL (CONTINUADA)

Checklist item		Gap Map Red	Gap Map Yellow	Gap Map Green
<b>Title/Abstract</b>				
1	The title identifies the drug(s) and patient population(s) studied			
2	The abstract minimally includes the name of the drug(s) studied, the route of administration, the population in whom it was studied, and the results of the primary objective and major clinical pharmacokinetic findings.			
<b>Background</b>				
3	Pharmacokinetic data (i.e., absorption, distribution, metabolism, excretion) that is known and relevant to the drugs being studied is described			
4	An explanation of the study rationale is provided			
5	Specific objectives or hypotheses is provided			
	Zahr - 2021			
	Šima - 2021			
	Li - 2019			
	Khachman - 2011			
	Conil - 2008			
	Cios - 2014			
	Cheng - 2022			
	Allhodzic - 2022			
	Adbulla - 2020			

Checklist item		Gap Map Red	Gap Map Yellow	Gap Map Green
<b>Methods</b>				
6	Eligibility criteria of study participants are described			
7	Co-administration (or lack thereof) of study drug(s) with other potentially interacting drugs or food within this study is described			
8	Drug preparation and administration characteristics including dose, route, formulation, infusion duration (if applicable) and frequency are described			
9	Body fluid or tissue sampling (timing, frequency and storage) for quantitative drug measurement is described.			
10	Validation of quantitative bioanalytical methods used in the study are referenced or described if applicable			
11	Pharmacokinetic modeling methods and software used are described, including assumptions made regarding the number of compartments and order of kinetics (zero, first or mixed order)			
12	For population pharmacokinetic studies, covariates incorporated into pharmacokinetic models are identified and described.			
				<b>227</b>
Zahr - 2021				
Šima - 2021				
Li - 2019				
Khachman - 2011				
Conil - 2008				
Cios - 2014				
Cheng - 2022				
Alihodzic - 2022				
Adbulla - 2020				

Checklist item		Gap Map Red	Gap Map Yellow	Gap Map Green
	<b>Methods</b>			
13	Formulas for calculated variables (such as creatinine clearance, body surface area, AUC, and adjusted body weight) are provided or referenced.	Not applicable		
14	The specific body weight used in drug dosing and pharmacokinetic calculations are reported (i.e., ideal body weight vs. actual body weight vs. adjusted body weight)	Not applicable		
15	Statistical methods including software used are described			
	<b>Results</b>			
16	Study withdrawals or subjects lost to follow-up (or lack thereof) are reported			
17	Quantification of missing or excluded data is provided if applicable.			
18	All relevant variables that may explain inter- and intra-patient pharmacokinetic variability (including: age, sex, end-organ function, ethnicity, weight or BMI, health status or severity of illness, and pertinent co-morbidities) are provided with appropriate measures of variance.			

Checklist item		Gap Map Red	Gap Map Yellow	Gap Map Green
<b>Results</b>				
19	Results of pharmacokinetic analyses are reported with appropriate measures of precision (such as range or 95% confidence intervals)			
20	Studies in patients receiving extracorporeal drug removal (i.e., dialysis) should report the mode of drug removal, type of filters used, duration of therapy and relevant flow rates			
21	In studies of drug bioavailability comparing two formulations of the same drug, F (bioavailability), AUC, Cmax (maximal concentration) and Tmax (time to maximal concentration) should be reported			
<b>Discussion/Conclusion</b>				
22	Study limitations describing potential sources of bias and imprecision where relevant should be described		•	
23	The relevance of study findings (applicability, external validity) is described		•	
<b>Other Information</b>				
24	Funding sources and conflicts of interest for the authors are disclosed.		•	

APÊNDICE 8 - PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS E COVARIÁVEIS DE PACIENTES SAUDÁVEIS

ID	Int. Med	Idade	Sexo	Alim.	Nac	N	Dose (mg)	Ka (1.h <sup>-1</sup> )	ASC (mg.h. L <sup>-1</sup> )	Kel (1.h <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (h)	VD (L)	Cl (L.h <sup>-1</sup> )	C <sub>máx</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	T <sub>máx</sub> (h)	
	.	I	.	.	.	9	100	.	1,95± 0,75	0,17± 0,06 <sup>b</sup>	4,00± 1,40	198,32 ±51,10 <sup>b</sup>	34,36 ±8,85 <sup>b</sup>	0,86± 0,35	1,30	
	.	J	.	.	.	6	100	.	1,20± 0,40	0,18± 0,05 <sup>b</sup>	3,90± 1,00	314,21 ±70,17 <sup>b</sup>	55,83 ±12,4 <sup>7b</sup>	0,34± 0,09	1,20	
Ball et al., 1986																
	.	J	.	JE	.	6	100	.	1,40± 0,26	0,17± 0,002 <sup>b</sup>	4,00± 0,05	276,23 ±34,37 <sup>b</sup>	47,86 ±5,94 <sup>b</sup>	0,52± 0,14	0,80	
	.	J	.	AL	.	6	100	.	1,09± 0,23	0,16± 0,04 <sup>b</sup>	4,20± 1,00	372,53 ±52,67 <sup>b</sup>	61,47 ±8,69 <sup>b</sup>	0,43± 0,15	1,00	
Bashir et al., 2004																
	.	J	M	.	PQ	10	500	.	8,96± 7,70	0,17± 0,06 <sup>b</sup>	4,08± 1,38	197,70 ±98,88	78,08 ±41,3 <sup>6</sup>	1,56± 0,49	2,11	
Bayer et al., 1987																
	.	J	H	.	.	10	150	.	5,55± 1,08	0,19± 0,03	3,70± 0,64	101,48 ±6,20 <sup>b</sup>	19,01 ±1,30	1,20± 0,32	1,30	
	.	I	.	.	.	10	150	.	7,43± 2,43	0,16± 0,05	4,30± 1,28	91,14± 8,04 <sup>b</sup>	14,69 ±1,30	1,70± 0,32	1,30	
Brunner et al., 2002																
	.	.	H	.	.	8	500	.	8,89± 1,22	0,11± 0,02 <sup>b</sup>	6,56± 1,10	531,99 ±11,55 <sup>b</sup>	56,20 ±1,22	1,87± 1,27	1,86	
Capecchi et al., 1995																
	.	.	.	.	.	12	250	.	8,77± 1,82	0,09± 0,02 <sup>b</sup>	7,28± 1,15	200,64 ±27,90 <sup>b</sup>	19,10 ±2,65 <sup>b</sup>	1,73± 0,76	1,90	
Catchpole et al., 1994																
	.	.	H	.	.	6	750	.	19,20± 1,10 <sup>a</sup>	0,17± 0,05 <sup>b</sup>	4,00± 1,10	169,40 ±1,20	39,06 ±1,50 <sup>b</sup>	3,90± 1,70	1,50	

Crump et al., 1983	.	H	JE	.	6	500	2,70	9,90± 2,43 <sup>a</sup>	0,18± 0,04	3,90± 0,80	284,23 ±46,74 <sup>b</sup>	50,50 ±8,30 <sup>b</sup>	2,30± 0,70	1,25
Davis et al., 1987	.	H	.	.	12	750	1,94	16,70± 5,10	0,13± 0,02	5,20± 0,80	272,61 ±149,1 7	36,33 ±19,8 8	3,34± 1,34	1,50
Echols et al., 1994	.	H	.	.	12	500	.	11,64± 1,98	0,14± 0,02 <sup>b</sup>	5,00± 0,59	213,17 ±30,69	42,26 ±4,81 <sup>b</sup>	2,45± 0,65	1,33
Escobar et al., 2011	.	.	.	MX	24	500	.	10,12± 2,94	0,18± 0,05 <sup>b</sup>	3,84± 1,13	228,78 ±40,93 <sup>b</sup>	41,29 ±7,38 <sup>b</sup>	2,44± 0,88	0,79
Fourtillan et al., 1990	.	.	.	.	12	750	.	11,53± 2,21 <sup>a</sup>	0,15± 0,03 <sup>b</sup>	4,70± 0,83	304,00 ±61,00	45,00 ±5,90	2,94± 0,42	1,20
	.	.	AL	.	12	750	.	13,24± 2,86	0,14± 0,02 <sup>b</sup>	4,84± 0,73	197,93 ±81,01 <sup>b</sup>	28,34 ±11,6	2,47± 0,43	1,63
	.	.	ALC	.	12	750	.	12,11± 3,49	0,14± 0,02 <sup>b</sup>	4,78± 0,77	155,12 ±40,28 <sup>b</sup>	22,49 ±5,84	2,42± 0,57	1,21
Frost et al., 1989	.	.	AL2	.	12	750	.	13,20± 2,42	0,14± 0,02 <sup>b</sup>	4,81± 0,82	218,08 ±104,1 1 <sup>b</sup>	31,42 ±15,0 0	2,74± 0,68	1,79
	.	.	JE	.	12	750	.	12,30± 2,58	0,15± 0,01 <sup>b</sup>	4,69± 0,42	195,86 ±111,1 9 <sup>b</sup>	28,94 ±16,4 3	2,23± 0,50	1,42
	.	.	JE	.	12	750	.	13,50± 4,61	0,18± 0,06	3,90± 1,35	103,55 ±27,01 <sup>b</sup>	18,40 ±4,80	3,18± 1,29	1,24
Frost et al., 1992	CC	.	JE	.	12	750	.	7,82± 3,09	0,11± 0,04	6,10± 2,40	183,09 ±56,33 <sup>b</sup>	20,80 ±6,40	1,69± 0,48	1,29
	HA	.	JE	.	12	750	.	2,08± 1,20	0,11± 0,06	6,50± 3,80	158,51 ±52,52 <sup>b</sup>	16,90 ±5,60	0,60± 0,58	1,61

Galicanno et al., 1996	.	H	.	.	14	750	.	13,42±	0,17±	4,20±	220,37	36,36	3,14±	1,50
								2,59	0,03	0,74 <sup>b</sup>	±43,04 <sup>b</sup>	±7,10	0,77	
	.	M	.	.	10	750	.	16,10±	0,17±	4,02±	183,95	31,71	3,19±	1,50
								3,95	0,04	0,88 <sup>b</sup>	±60,08 <sup>b</sup>	±10,3	0,50	
Gasser et al., 1987	.	.	.	.	13	500	.	9,80±	0,16±	4,30±	123,40	40,28	2,20±	1,30
								4,00	0,09 <sup>b</sup>	2,50	±46,50	±18,6	1,10	
	.	.	.	.	13	750	.	15,60±	0,20±	3,50±	158,00	47,15	2,80±	1,60
								9,10	0,07	1,20	±46,50	±32,7	1,50	
Gonzalez et al., 1984	.	H	.	.	12	250	1,54	5,43±	0,46±	4,19±	186,51	30,85	1,42±	1,11
								0,54	0,10	0,90	±12,43 <sup>b</sup>	±2,05 <sup>b</sup>	0,15	
	.	H	.	.	12	500	1,77	10,60±	0,34±	4,87±	222,09	31,60	2,60±	1,11
								2,58	0,16	2,25	±36,22 <sup>b</sup>	±5,15 <sup>b</sup>	0,50	
	.	H	.	.	12	750	1,49	15,03±	0,30±	5,34±	257,62	33,43	3,41±	1,45
								1,84	0,11	1,95	±21,13 <sup>b</sup>	±2,74 <sup>b</sup>	0,46	
	.	.	.	.	12	50	.	1,00±	0,20±	3,44±	304,00	50,00	0,28±	0,58
								0,30 <sup>a</sup>	0,16 <sup>b</sup>	2,66	±144,0	±10,0	0,08	
Hoffken et al., 1985	.	.	.	.	12	100	.	1,90±	0,17±	4,09±	304,00	52,63	0,47±	0,82
								0,60 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,43	±34,00	±11,1	0,13	
	.	.	.	.	12	750	.	12,20±	0,14±	4,75±	353,00	61,47	2,65±	1,16
								2,00 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,67	±57,00	±9,79	0,48	

Hoogkamer et al., 1995	.	.	JE	.	12	500	.	9,60±	0,16±	4,30±	310,24	50,00	2,10±	1,10
								3,20	0,06	1,50 <sup>b</sup>	±69,29 <sup>b</sup>	±11,1 <sup>7b</sup>	0,60	
	.	.	LE	.	12	500	.	6,60±	0,15±	4,70±	470,98	69,44	1,70±	1,10
								2,70	0,03	1,10 <sup>b</sup>	±129,0 <sup>9b</sup>	±19,0 <sup>3b</sup>	0,70	
Iqbal et al., 2009	.	.	.	.	12	500	.	12,93±	0,24±	4,30±	249,56	40,22	2,48±	2,02
								2,47	0,02 <sup>b</sup>	0,33	±5,34 <sup>b</sup>	±0,86	0,33	
D	.	.	.	.	12	500	.	18,92±	0,25±	5,40±	225,74	28,97	3,91±	1,49
								5,85	0,001 <sub>b</sub>	0,03	±72,68 <sup>b</sup>	±9,33	0,80	
Israel et al., 1993	.	.	H	.	14	500	.	10,60±	0,17±	4,00±	170,38	31,60	2,50±	1,40
								2,30	0,07 <sup>b</sup>	1,60	±37,72	±4,59	0,60	
	.	.	H	.	14	750	.	15,60±	0,15±	4,50±	171,59	32,21	3,30±	1,50
								3,10	0,06 <sup>b</sup>	0,60	±38,39	±4,29	0,70	
SF	.	.	.	.	8	500	.	12,30±	0,15±	4,50±	184,02	28,34	1,20±	3,00
								3,30	0,03 <sup>b</sup>	0,80	±35,01	±5,39 <sup>b</sup>	0,50	
Kara et al., 1991	.	.	.	.	8	500	.	6,70±	0,13±	5,10±	165,51	22,49	0,90±	2,20
								2,00	0,03 <sup>b</sup>	1,00	±36,57	±4,97 <sup>b</sup>	0,20	
GF	.	.	.	.	8	500	.	4,10±	0,14±	4,80±	217,63	31,42	1,10±	1,30
								2,80	0,04 <sup>b</sup>	1,20	±93,02	±13,4 <sup>3b</sup>	0,50	
PV	.	.	.	.	8	500	.	5,40±	0,13±	5,20±	217,15	28,94	0,90±	1,40
								1,00	0,04 <sup>b</sup>	1,60	±39,68	±5,29 <sup>b</sup>	0,40	
Lebel et al., 1986	.	I	.	.	12	500	2,61	20,88±	0,10±	6,83±	163,15	16,55	3,24±	1,08
								8,68	0,02 <sup>b</sup>	1,53	±42,87	±4,35	0,79	



SB	.	.	.	.	12	750	.	.	.	11,81±	0,18±	4,08±	363,08	61,67	2,57±	1,75
										2,84	0,04	0,81	±75,18 <sup>b</sup>	±12,7	0,71	
Singlas et al., 1987	.	.	.	.	5	500	.	.	.	12,00±	0,09±	7,30±	326,07	30,95	2,00±	1,80
	.	.	.	.			.	.	.	2,00	0,01 <sup>b</sup>	0,70	±59,28	±5,63	0,20	
Sriwiyajan et al., 2011	.	H	.	.	10	500	.	.	.	20,14±	0,08±	9,42±	271,86	20,00	3,19±	1,25
	.		.	.			.	.	.	4,26	0,02	2,49	±135,9	±10,0	0,83	
													3	0		
IT	.	H	.	.	10	500	.	.	.	21,62±	0,07±	9,93±	298,33	23,86	3,00±	1,90
	.		.	.			.	.	.	4,06	0,01	2,11	±57,32	±4,00	0,70	
Stuht et al., 1995	.	.	.	.	12	500	.	.	.	11,90±	0,17±	4,15±	251,61	42,02	2,60±	1,46
	.		.	.			.	.	.	1,89 <sup>a</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,92	±26,77 <sup>b</sup>	±4,47	0,76	
O	.	.	.	.	12	500	.	.	.	10,00±	0,17±	4,11±	296,54	50,00	2,18±	1,41
	.		.	.			.	.	.	3,49 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,81	±69,34 <sup>b</sup>	±11,6	0,82	
													9			
Tartaglione et al., 1986	.	.	.	.	8	250	.	.	.	3,70±	0,17 <sup>b</sup>	4,10	267,83	45,27	0,76±	1,12
	.		.	.			.	.	.	1,00			±48,50 <sup>b</sup>	±8,20	0,22	
	.	.	.	.	11	500	.	.	.	7,60±	0,17 <sup>b</sup>	4,10	260,78	44,08	1,60±	1,46
	.		.	.			.	.	.	2,60			±59,77 <sup>b</sup>	±10,1	0,79	
													0			
	.	.	.	.	11	750	.	.	.	12,90±	0,10 <sup>b</sup>	6,90	387,85	38,95	2,54±	1,67
	.		.	.			.	.	.	3,00			±60,43 <sup>b</sup>	±6,07	0,54	
	.	.	.	.	11	1000	.	.	.	16,60±	0,11 <sup>b</sup>	6,30	366,92	40,36	3,38±	1,80
	.		.	.			.	.	.	2,40			±35,54 <sup>b</sup>	±3,91	0,56	
	.	H	.	MX	24	250	.	.	.	5,45±	0,18±	3,77±	249,55	45,87	1,57±	0,87
	.		.				.	.	.	1,44 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,58	±44,17 <sup>b</sup>	±8,12 <sup>b</sup>	0,48	

Tolentino-Hernandez et al., 2020	.	.	.	MX	26	500	.	.	9,99± 2,02 <sup>a</sup>	0,22± 0,04 <sup>b</sup>	3,18± 0,61	229,67 ±31,11 <sup>b</sup>	50,05 ±6,78 <sup>b</sup>	2,51± 0,65	1,17
Ullmann et al., 1986	.	.	.	.	20	500	2,5	.	8,65± 2,34	0,17± 0,04 <sup>b</sup>	4,01± 0,86	224,10 ±40,62 <sup>b</sup>	38,73 ±7,02 <sup>b</sup>	1,80± 0,48	1,32
Wagelehner et al., 2003	.	.	.	.	12	500	.	.	10,20± 1,90	0,16± 0,02 <sup>b</sup>	4,40± 0,56	380,30 ±91,92	60,06 ±13,2	2,46± 0,48	1,09
Wagelehner et al., 2006	.	.	.	.	14	500	.	.	9,30± 1,80	0,16± 0,03 <sup>b</sup>	4,40± 0,90	122,89 ±12,12 <sup>b</sup>	19,35 6±1,1	2,20± 0,50	1,00
Weinstein et al., 1991	.	I	.	.	6	750	.	.	20,90± 7,70	0,21± 0,07 <sup>b</sup>	3,30± 1,10	134,32 ±63,81	28,21 ±13,4	5,10± 1,40	1,40
									26,00± 7,20	0,13± 0,04 <sup>b</sup>	5,50± 1,80	165,37 ±54,23	20,84 ±6,83	6,40± 1,50	1,30
									22,90± 6,60	0,17± 0,07 <sup>b</sup>	4,00± 1,70	141,54 ±63,03	24,52 ±10,9	5,60± 2,10	1,70
Wise et al., 1986	.	.	H	.	6	500	2,7	.	9,90± 2,43	0,18± 0,04 <sup>b</sup>	3,90± 0,80	190,43 ±31,32 <sup>b</sup>	33,84 ±5,56 <sup>b</sup>	2,30± 0,70	1,25

Ka - constante de absorção; ASC - área sob a curva; kel - constante de eliminação; T<sub>1/2</sub> - meia-vida; Vd - volume de distribuição; Cl - clearance; C<sub>máx</sub> - concentração máxima; T<sub>máx</sub> - tempo para concentração máxima; Int. Med. - interação medicamentosa; Alim. - interação alimentícia ou status alimentar; Nac - nacionalidade; CC - carbonato de cálcio; HA - hidróxido de alumínio; D - diclofenaco; SF - Sulfato ferroso; GF - Gluconato ferroso; PV - polivitamínico; CA - cálcio; SC - sucralfato; SB - subsalicilato de bismuto; IT - itraconazol; O - omeprazol; R - rifampicina; CL - clindamicina; I - idoso; J - jovem; H - homem; M - mulher; JE - jejum; AL - alimentado; ALC - alimentado com alto teor de cálcio e gordura na alimentação; AL2 - alimentado há duas horas; LE - leite; YG - yogurt; PQ - Paquistânês; MX - Mexicano; <sup>a</sup> - ASC<sub>0-inf</sub>; <sup>b</sup> - parâmetro estimado pelo autor através dos outros parâmetros fornecidos.

APÊNDICE 9 - PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE PACIENTES COM CONDIÇÕES CLÍNICAS.

ID	Condição o clínica	N	Dose (mg)	Ka (1.h <sup>-1</sup> )	ASC (mg.h.L <sup>-1</sup> )	Kel (1.h <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (h)	VD (L)	Cl (L.h <sup>-1</sup> )	C <sub>máx</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	T <sub>máx</sub> (h)
Shalit et al., 1986	IR	8	750	.	44,50±	0,04±	16,80	408,58±	16,85±	3,61±	1,56
					25,80 <sup>a</sup>	0,01	±5,10	158,72	6,55	1,56	
Gasser et al., 1987	IR	14	500	.	20,20±	0,10±	7,10±	136,60±	21,18±	2,50±	1,80
					9,90	0,04 <sup>b</sup>	2,90	11,70	11,58	0,80	
	IR	15	750	.	26,80±	0,11±	6,30±	113,80±	19,70±	3,70±	2,30
					6,60	0,06 <sup>b</sup>	3,20	34,20	4,30	0,80	
Singlas et al., 1987	IR	5	500	.	26,00±	0,06±	10,40	265,45±	17,69±	2,90±	1,50
					6,00	0,01 <sup>b</sup>	±0,60	77,82	5,18	0,60	
Davis et al., 1987	FC	12	750	0,92	19,00±	0,15±	4,70±	214,58±	31,64±	3,24±	2,20
					6,50	0,03	0,80	80,04	11,80	1,03	
Goldfarb et al., 1986	FC	11	750	.	25,80±	0,20±	3,60±	151,01±	29,07±	4,50±	2,20
					9,40 <sup>a</sup>	0,05	0,90	36,86 <sup>b</sup>	7,09 <sup>b</sup>	1,60	
	FC	11	1000	.	32,70±	0,19±	3,70±	163,27±	30,58±	4,60±	2,40
					14,20 <sup>a</sup>	0,03	0,60	47,50 <sup>b</sup>	8,90 <sup>b</sup>	1,70	
Mack et al., 1991	FC	6	250	.	3,90±	0,17±	3,98±	246,66±	42,95±	1,30±	1,50
					1,20	0,14 <sup>b</sup>	3,19	50,85 <sup>b</sup>	8,85 <sup>b</sup>	0,07	
Pedersen et al., 1987	FC	18	750	.	19,30±	0,22±	3,40±	127,74±	26,04±	4,00±	1,80
					7,90	0,05	1,00	35,03 <sup>b</sup>	7,14	1,90	
Reed et al., 1988	FC	6	750	1,3	23,90±	0,15±	4,50±	118,77±	18,29±	4,70±	2,30
					5,00	0,03 <sup>b</sup>	1,00	10,88	1,67	1,70	
	FC	6	750	1,8	16,70±	0,14±	4,80±	141,54±	20,43±	3,80±	1,30
					2,20	0,02 <sup>b</sup>	0,80	20,88	3,01	0,70	
Montay et al., 1990	C	7	750	.	18,38±	0,20±	3,47±	229,83±	45,90±	3,71±	1,29
					7,07	0,07 <sup>b</sup>	1,23	70,00 <sup>b</sup>	13,98	0,81	

Owens et al., 1997	AIDS	13	500	.	12,13± 3,21	0,18± 0,02 <sup>b</sup>	3,86± 0,48	153,83± 27,27 <sup>b</sup>	27,62± 4,90 <sup>b</sup>	2,94± 0,51	1,38
Marangos et al., 1995	GD	12	500	.	9,74± 2,59	0,54± 0,20 <sup>b</sup>	4,03± 0,58	95,56± 17,02 <sup>b</sup>	51,33± 9,14 <sup>b</sup>	2,13± 0,67	1,29
Patel et al., 1995	FB	13	500	.	10,91± 3,64	0,17± 0,03 <sup>b</sup>	4,08± 0,65	180,78± 40,41 <sup>b</sup>	30,70± 6,86 <sup>b</sup>	2,31± 1,26	2,48

Ka - constante de absorção; ASC - área sob a curva; kel - constante de eliminação; T<sub>1/2</sub> - meia-vida; Vd - volume de distribuição; Cl - clearance; C<sub>máx</sub> - concentração máxima; T<sub>máx</sub> - tempo para concentração máxima; AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida; FC - fibrose cística; GD - gastroparesia diabética; IR - insuficiência renal; C - cirrose; FB - febril; <sup>a</sup> - ASC<sub>0-inf</sub>; <sup>b</sup> - parâmetro estimado pelo autor através dos outros parâmetros fornecidos.