

# UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

# FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Campus de Araraquara

Modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK) para predizer a farmacocinética dos enantiômeros de hidroxicloroquina de acordo com polimorfismos genéticos de CYP2D6 e CYP2C8

GABRIELLA DE SOUZA GOMES RIBEIRO

**Orientadora: Profa. Dra. Natália Valadares de Moraes** 

Araraquara, SP

2022

### GABRIELLA DE SOUZA GOMES RIBEIRO

# MODELAGEM FARMACOCINÉTICA BASEADA EM FISIOLOGIA (PBPK) PARA PREDIZER A FARMACOCINÉTICA DOS ENANTIÔMEROS DE HIDROXICLOROQUINA DE ACORDO COM POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE CYP2D6 E CYP2C8

Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Natália Valadares deMoraes

Araraquara, SP

Ribeiro, Gabriella de Souza Gomes.

R484m

Modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK) para predizer a farmacocinética dos enantiômeros de hidroxicloroquina de acordo com polimorfismos genéticos de CYP2D6 e CYP2C8 / Gabriela de Souza Gomes Ribeiro. – Araraquara: [S.n.], 2022. 65 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Natália Valadares de Moraes.

1. Hidroxicloroquina. 2. Enantiômeros. 3. PBPK. 4. Polimorfismos genéticos. I. Moraes, Natália Valadares de, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6 Esta ficha não pode ser modificada



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



# **CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

# TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK) para predizer a farmacocinética dos enantiômeros de hidroxicloroquina de acordo com polimorfismos genéticos de CYP2D6 e CYP2C8

# AUTORA: GABRIELLA DE SOUZA GOMES RIBEIRO ORIENTADORA: NATÁLIA VALADARES DE MORAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Farmacêuticas, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. NATÁLIA VALADARES DE MORAES (Participaçao Virtual) Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciencias Farmaceuticas do Campus de Araraquara da UNESP

Profa. Dra. FERNANDA DE LIMA MOREIRA (Participação Virtual) Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Profa. Dra. PATRICIA DE CARVALHO MASTROIANNI (Participação Virtual) Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciencias Farmaceuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP

Araraquara, 14 de dezembro de 2022

Victor Picchi Assinado digitalmente Gandin: por Victor Picchi Gandin:43047576874 4304757687 4 Razão: Supervisor Técnico de Seção (Subst.)

# DEDICATÓRIA

Dedico esta, aos meus país **Shírley** e **Augusto**, por sempre me apoiarem e acreditarem em meu potencial para chegar até aquí. Eles são meus maiores exemplos de luta, força e de superação.

Dedico as minhas irmãs que sempre estiveram ao meu lado me proporcionando incentívos e sorrisos em momentos dificeis.

Ao meu noivo **Gabríel** por estar presente em cada ponto da minha vida e de minhas conquistas até o presente momento, me apoiando e me dando todo o suporte durante minha vida acadêmica.

Dedico a toda a minha familia que sempre se manteve presente, em especial a minha tia **Tereza** por estar junto de mim em todas as etapas da minha vida em que concluí.

A todos os meus professores da graduação do Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto, que foram meus maiores exemplos e espelho para eu ingressar na pós-graduação.

E aos meus amigos, leaís e companheiros que são como anjos, presentes em todos os momentos dífíceis e felizes da minha vida.

# AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Natália Valadares de Moraes pela confiança que depositou em mim para que eu pudesse realizar da melhor forma este projeto. Pela paciência para comigo em todos os momentos de dúvidas, e pela compreensão e suporte durante toda a execução deste trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado que me foi concedida durante um período. Número do processo: 88887.503341/2020-00.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (docentes, servidores técnico-administrativos) pela dedicação e oportunidade de fazer parte de um curso de mestrado de excelência constatada em nível internacional.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP por todo o suporte acadêmico.

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química dos enantiômeros <i>R</i> -HCQ e <i>S</i> -HCQ16
Figura 2: Metabolismo hepático da HCQ20
Figura 3: Modelo farmacocinético baseada em fisiologia (PBPK)26
Figura 4: Fluxograma representativo da construção e validação dos modelos
dos enantiômeros de HCQ31
Figura 5: Perfis de concentração sanguínea versus tempo após administração
oral de R-HCQ e S-HCQ antes e após inserir a distribuição subcelular40
Figura 6: Perfis de concentração dos enantiômeros <i>R</i> -HCQ e S-HCQ em sangue
e em plasma41
Figura 7: Verificação do modelo PBPK dos enantiômeros R-HCQ e S-HCQ em
relação aos parâmetros PK simulados e observados44
Figura 8: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea versus tempo
predito e observado do enantiômero <i>R</i> -HCQ45
Figura 9: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea versus tempo
predito e observado do enantiômero S-HCQ46
Figura 10: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ
e S-HCQ versus tempo de fenótipos de CYP2D648
Figura 11: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ e
S-HCQ versus tempo de fenótipos de CYP2C849
Figura 12: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ e
S-HCQ versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 e CYP2D650
Figura 13: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ e
S-HCQ versus tempo em relação ao efeito da administração de claritromicina
como inibidor de CYP3A450
Figura 14: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ e
S-HCQ versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 com a presença de inibidor
de CYP3A451
Figura 15: Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de R-HCQ e
S-HCQ versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 e CYP2D6 com a presença
de inibidor de CYP3A451

# LISTA DE SIGLAS

AUC: Área sob a curva de concentração plasmática versus tempo

- BDCQ: bisdesetilcloroquina
- CQ: cloroquina
- CL: clearance
- Cmax: Concentração plasmática máxima
- DCQ: desetilcloroquina
- DDI: interação fármaco-fármaco
- DHCQ: desetilhidroxicloroquina
- Fa: Fração absorvida
- FDA: Food and Drug Administration
- HCQ: hidroxicloroquina
- IV: Intravenoso
- Ka: constante de absorção
- Log p: Coeficiente de partição
- MFE: mean fold error (Erro médio)
- NM: metabolizador normal
- PBPK: farmacocinética baseada em fisiologia
- PD: farmacodinâmica
- PK: farmacocinética
- pKa: constante de dissociação ácida
- PM: metabolizador lento
- Tmax: tempo de observação de Cmáx
- UM: metabolizador ultrarrápido
- Vss: volume aparente de distribuição em estado estacionário

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> : Parâmetros utilizados para a construção dos enantiômeros de HCQ.32
Tabela 2: Revisão de dados da literatura dos valores de clearance total, renal e
hepático dos enantiômeros da HCQ em plasma e em sangue
Tabela 3: Resumos dos dados de estudos clínicos usados para a verificação
dos modelos PBPK de <i>R</i> -HCQ e S-HCQ34
Tabela 4: Dados preditos, observados e o erro médio (MFE, mean fold error)43
Tabela 5: Razões R-HCQ/S-HCQ dos parâmetros farmacocinéticos AUC
(AUCR) e Cmax (CmaxR) preditas e observadas48
Tabela 6: Parâmetros PK preditos de R-HCQ de S-HCQ em diferentes fenótipos
deCYP2C8 e CYP2D652
Tabela 7: Razões dos fenótipos/fenótipos e fenótipos-inibidor/fenótipos dos
parâmetros farmacocinéticos simulados53

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	.13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1       S-HCQ       e </td <td>da .15 16</td>	da .15 16
2.1.2 Toxicidade	.17
2.1.3 Disposição cinética	.18
2.2 Metabolismo de HCQ mediado por enzimas CYP	22
2.2.1 CYP2D6	.22
2.2.2 CYP2C8	23
2.2.3 CYP3A4	24
2.3 Farmacocinética Baseada em Fisiologia (PBPK <b>)</b>	25
3 OBJETIVO	.28
3.1 Objetivos específicos	.28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	.29
4.1 Software	.29
4.1.1 Desenvolvimento de modelos PBPK	.29
4.1.2 Dados clínicos S-HCQ e <i>R</i> -HCQ	33
4.1.3 Análise da previsibilidade do modelo	.34
4.1.4 Simulação do efeito de polimorfismos genéticos de CYP2D6 na disposi-	ção
cinética dos enantiômeros de HCQ	35
4.1.5 Simulação do efeito de polimorfismos genéticos de CYP2C8 na disposi-	ção
cinética dos enantiômeros de HCQ	36
4.1.6 Simulação do efeito da claritromicina como inibidor de CYP3A4	da
disposição cinética dos enantiômeros de HCQ	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÕES	.55
7 REFERÊNCIAS	.56

### RESUMO

Hidroxicloroquina (HCQ) é medicamento antimalárico utilizado para tratar infecções parasitárias por Plasmodium sp. O fármaco também é indicado para o tratamento de doencas inflamatórias e autoimunes, como infeccões reumáticas e dermatológicas, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e discoide, e condições dermatológicas provocadas ou agravadas pela luz solar. A HCQ é um fármaco guiral disponível como mistura racêmica de R-HCQ e S-HCQ. Sua enantiosseletividade é descrita tanto na farmacocinética, como na farmacodinâmica e o medicamento final é disponível apenas na forma de racemato. A HCQ é metabolizada principalmente no fígado pelas enzimas CYP2D6, 3A4 e 2C8. Dados clínicos sugerem que variantes de CYP2D6 resultam em alteração no metabolismo de HCQ. Este estudo teve como objetivo desenvolver modelos farmacocinéticos baseados em fisiologia (PBPK) para predizer a disposição cinética dos enantiômeros de HCQ e avaliar o efeito de polimorfismos genéticos na exposição sistêmica de HCQ. A modelagem PBPK foi desenvolvida usando o simulador Simcyp V21. A construção do modelo foi baseada em parâmetros PK in vitro e em dados clínicos observados em voluntários adultos após a administração oral e intravenosa de HCQ. O modelo incorporou dados de cinética enzimática para as enzimas CYP2D6, CYP2C8 e CYP3A4, cujos valores de clearance intrínseco foram definidos por extrapolação retrógrada de forma a capturar a contribuição de cada isoforma na eliminação total de HCQ. As predições dos modelos PBPK finais foram verificadas em relação a dados PK observados em 3 estudos clínicos (administração intravenosa e oral) através dos perfis de concentração sanguínea e pela comparação dos parâmetros PK observados e preditos. O erro médio (MFE) é considerado satisfatório quando os parâmetros preditos encontram-se dentro de duas vezes o valor observado correspondente. Para a área sob a curva concentração sanguínea versus tempo (AUC) de R-HCQ e S-HCQ após administração IV, o MFE foi de 0,76 e 1. Para R-HCQ após administração oral, o MFE variou de 0.94-1 e 0.55-1.2 para os parâmetros AUC e concentração sanguínea máxima (Cmax). Para S-HCQ, os valores de MFE ficaram entre 0,71-0,89 e 0,75-1,5 para AUC e Cmax, respectivamente. As razões R-HCQ/S-HCQ preditas/observadas para AUC (0,73-1,34) e Cmax (0,70-0,72) mostraram predizer a enantiosseletividade. Os modelos PBPK para os enantiômeros foram empregados para simular perfis de concentração sanguínea e parâmetros PK em fenótipos metabolizador normal (NM), lento (PM) e ultrarrápido (UM) de CYP2D6 e NM e PM de CYP2C8. As simulações mostraram que sujeitos PM para CYP2D6 apresentam aumento em média de 1,1 vezes na AUC, e sujeitos UM de CYP2D6 apresentaram redução de 0,9 vezes, em relação aos sujeitos NM de CYP2D6. Foram realizadas simulações de cenários clínicos improváveis de serem avaliados em estudos clínicos. Indivíduos com fenótipo PM para CYP2D6 e CYP2C8 em uso do inibidor de CYP3A4 claritromicina podem apresentar aumento médio na AUC de R-HCQ e S-HCQ de 2,34 e 2,68. Em conclusão, os modelos PBPK desenvolvidos se mostraram adequados para a predição da cinética enantiosseletiva de HCQ e podem ser aplicados para predizer interações complexas fármaco-fármaco-gene que não são facilmente avaliadas em estudos clínicos.

**Palavras-chave**: Hidroxicloroquina. Enantiômeros. PBPK. Polimorfismos genéticos.

### ABSTRACT

Hydroxychloroguine (HCQ) is an antimalarial drug used to treat *Plasmodium* sp. parasitic infections. The drug is also indicated for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases, such as rheumatic and dermatologic infections, rheumatoid arthritis, systemic and discoid lupus erythematosus, and dermatologic conditions caused or aggravated by sunlight. HCQ is a chiral drug available as a racemic mixture of R-HCQ and S-HCQ. Its enantioselectivity is described in the pharmacokinetics and in the pharmacodynamics, and the final drug is available only as a racemate. HCQ is metabolized primarily in the liver by CYP2D6, 3A4 and 2C8 enzymes. Clinical data suggest that CYP2D6 variants result in altered HCQ metabolism. This study aimed to develop physiology-based pharmacokinetic (PBPK) models to predict the kinetic disposition of R- and S-HCQ and to evaluate the effect of genetic polymorphisms in thesystemic exposure. PBPK modeling was developed using the Simcyp V21 simulator. Model development was based on in vitro PK parameters and clinical data observed in adult volunteers following oral and intravenous administration of HCQ. The model incorporated enzyme kinetics data for the enzymes CYP2D6, CYP2C8, and CYP3A4, whose intrinsic clearance values were defined by retrograde extrapolation to capture the contribution of each isoform to total HCQ elimination. Predictions of the final PBPK models were verified using observed PK data from 3 clinical studies (intravenous and oral administration) by comparing blood concentration profiles and observed and predicted PK parameters. The mean fold error (MFE) is considered satisfactory when all predicted parameters were within two fold the corresponding observed value. For the area under the blood concentration versus time curve (AUC) of R-HCQ and S-HCQ after IV administration, MFE was 0.76 and 1. For R-HCQ after oral administration, MFE values ranged from 0.94-1 and 0.55-1.2 for AUC and maximum blood concentration (C<sub>max</sub>). For S-HCQ, MFE values were 0.71-0.89 and 0.75-1.5 for AUC and Cmax, respectively. The predicted/observed R-HCQ/S-HCQ ratios for AUC (0.73-1.34) and C<sub>max</sub> (0.70-0.72) showed that our model was able to predict the enantioselectivity. PBPK models of *R*- and S-HCQ enantiomers were applied to simulate blood concentration profiles and PK parameters in normal metabolizer (NM), poor metabolizer (PM) and ultrarapid metabolizer (UM) phenotypes for CYP2D6 and NM and PM for CYP2C8. Simulations showed an average 1.1-fold increase in the AUC oin CYP2D6 PM, and a 0.9 fold reduction in CYP2D6 UM, relative to CYP2D6 NM subjects. Simulations showed that a 1.5-fold increase in the AUC in CYP2C8 PM relative to CYP2C8 NM phenotype. Simulations of clinical scenarios unlikely to be evaluated in clinical studies were performed. Individuals with the PM phenotype for both CYP2D6 and CYP2C8 using the CYP3A4 inhibitor clarithromycin showed an average increase in the AUC of R-HCQ and S-HCQ of 2.34 and 2.68 fold. In conclusion, PBPK models proved to be suitable for the prediction of the enantioselective kinetics of HCQ. The PBPK models can be applied to predict complex drug-drug-gene interactions that are not easily evaluated in clinical trials.

Keywords: Hydroxychloroquine. Enantiomers. PBPK. Genetic polymorphisms.

#### 1 INTRODUÇÃO

A hidroxicloroquina (HCQ) é um antimalárico utilizado para o tratamento de infecção parasitária ocasionada por *Plasmodium vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, e *P. falciparum*. Também é indicada para o tratamento de artrite reumatoide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES), lúpus eritematoso discoide e condições dermatológicas provocadas ou agravadas pela luz solar (OLSEN et al. 2013; DIMA et al. 2021). Em razão da maior segurança e baixo custo no mercado farmacêutico, a HCQ tornou-se um dos medicamentos mais prescritos para artrite reumatoide nos Estados Unidos da América, com cerca de meio bilhão de comprimidos dispensados em 2019 (LI et al. 2020). Apesar do uso de cloroquina (CQ) e HCQ não autorizado no tratamento da COVID-19, medicamentos contendo essas aminoquinolinas foram utilizados como *off-lable* para tratar ou prevenir a doença. Entretanto, CQ e HCQ não mostraram eficácia no tratamento da COVID-19 em ensaios clínicos randomizados com grande número de pacientes (SELF et al. 2020).

A dosagem diária deste HCQ depende da indicação terapêutica. Para a profilaxia da malária, a dose de 400 mg (310 mg da base) deve ser administrada uma vez na semana com início de 2 semanas antes da exposição e continuar por 4 semanas após sair da região endêmica. Para a profilaxia em pacientes pediátricos, pode ser aplicada a dose normalizada pelo peso dede 6.5 mg/kg (5 mg/kg da base) em período semelhante ao descrito acima. Para o tratamento da malária não complicada, adultos devem receber a dose de 800 mg (620 mg da base) seguidos de 400 mg (310 mg da base) em 6h, 24h e 48 h após a dose inicial, perfazendo um total de 2000 mg de sulfato de HCQ ou 1550 mg da base HCQ. Por fim, no tratamento dos lúpus eritematoso, a dose recomendada de HCQ para adultos é de 200 a 400 mg (155 a 310 mg da base) diariamente, administrada como dose única diária ou dividida em 2 doses diárias.

De acordo com a Academia Americana de Oftalmologia (2016-AAO), é recomendado não ultrapassar 5 mg/kg/dia de peso corporal ou 400 mg/dia em razão do risco de retinopatia (MARMOR et al. 2016). Em pacientes com insuficiência renal crônica com taxa de filtração glomerular <30 mL/min é recomendada a redução da dose de HCQ em 50% (FANOURIAKIS et al. 2020). Em razão da HCQ possuir uma meia-vida longa (cerca de 22 dias), os regimes de doses podem ser adaptados ao alternar os dias de administração, como, por

exemplo, a administração de 200 mg no primeiro dia e 400 mg no segundo dia, com média diária de 300 mg por dia (MELLES e MARMOR, 2014). Levando em consideração que HCQ é disponível como mistura racêmica, estudos que avaliam a farmacocinética e a farmacodinâmica dos enantiômeros *S*-HCQ e *R*-HCQ são necessários para a melhor compreensão das relações entre exposição-efeito terapêutico e exposição-toxicidade (DUCHARME et al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994; MIDHA et al. 1996).

A Farmacocinética Baseada em Fisiologia (PBPK) consiste em uma abordagem farmacológica quantitativa utilizada para modelar processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de fármacos e toxicantes em seres humanos e em modelos de experimentação e predizer quantitativamente a exposição. Os modelos PBPK são construídos a partir de propriedades físicoquímicas, propriedades de ligação no sangue (fração não ligada as proteínas plasmáticas, razão de concentração sangue:plasma, dados obtidos em estudos in vitro (permeabilidade, solubilidade/dissolução, metabolismo) e parâmetros farmacocinéticos in vivo do fármaco de interesse. Após construção fundamentada nas melhores práticas científicas, o modelo PBPK é verificado externamente com dados observados em estudos clínicos independentes. Após um processo extensivo de aprendizado e confirmação do modelo PBPK desenvolvido e validação segundo critérios quantitativos e estatísticos, o mesmo poderá ser utilizado para predizer cenários não investigados anteriormente (JAMEI et al. 2009; JONES e ROWLAND-YEO, 2013). Um recente estudo utilizou a modelagem e simulação (M&S) para investigar a cinética da HCQ como mistura racêmica com o intuito de otimização de doses para pacientes com COVID-19 (ZHANG et al. 2021). Apesar de HCQ não apresentar um perfil favorável de eficácia x segurança para o tratamento da COVID-19, a ferramenta PBPK tem se mostrado promissora para acelerar o desenvolvimento de fármacos e na dosagem de precisão. Através da modelagem & simulação PBPK, vários cenários podem ser testados como otimização de doses em populações especiais, interações fármaco-fármaco е interações gene-fármaco (BHATNAGAR et al. 2021; CUI et a. 2021). Embora a enantiosseletividade já tenha sido descrita na disposição cinética de HCQ, o modelo PBPK descrito na literatura refere-se a HCQ como mistura enantiomérica (ZHANG et al. 2021). Este estudo teve como objetivo aplicar a modelagem e simulação PBPK na compreensão da enantiosseletividade na disposição cinética de HCQ e para explorar cenários de interações complexas não previsíveis em estudos clínicos, como por exemplo as interações fármaco-fármaco-gene.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

# 2.1 S-HCQ e *R*-HCQ como fármacos de escolha para estudo da enantiosseletividade

Em meados de 1600, no Chile, o uso da casca da cinchona usadas para tratar febre e calafrios chamou a atenção dos jesuítas. Mais tarde, em 1820, os principais alcaloides de quinina e cinchonina foram isolados, e em 1934 ocorreu a caracterização química da cloroquina (CQ) (DIMA et al. 2022). O sulfato de HCQ, é um análogo hidroxilado da CQ sintetizado em 1946, e em razão de apresentar melhor perfil de segurança é administrado desde 1955 como alternativa à CQ (IRASTORZA et al. 2010).

Desde a década de 50, diversos fármacos inicialmente desenvolvidos como racematos (mistura de 1:1 de cada enantiômero) passaram a ser desenvolvidos como enantiômeros individuais, quando dados de eficácia e segurança justificassem os desafios técnicos de síntese e produção dos isômeros isolados. Omeprazol e citalopram foram substituídos, pelo menos parcialmente, por esomeprazol e escitalopram em razão da maior seletividade relacionada a atividade farmacológica ou perfil de segurança (JACQUES et al. 2015).

HCQ é um fármaco quiral e sua enantiosseletividade foi descrita tanto na farmacocinética, como na farmacodinâmica (DUCHARME e FARINOTTI. 1996; MCLACHLAN et al. 1994). Embora os mecanismos moleculares da ação na malária não estejam completamente descritos, as 4-aminoquinolinas apresentam atividade antiparasitária contra plasmódios em razão do prejuízo na degradação de hemoglobina. Os valores de IC50 para a razão S/R-aminoquinolinas frente a diferentes cepas variam de valores próximos da unidade até 1,23. Porém, a distribuição seletiva para as células do sangue e a ligação as proteínas plasmáticas parecem ser os principais determinantes para o efeito antimalárico enantiosseletivo *in vivo* (BROCKS e MEHVAR. 2003). A razão sangue/plasma para *R*-HCQ e S-HCQ foi estimada como 8,6 e 5,

respectivamente (MCLACHLAN et al. 1993) e a fração livre no plasma para *R*-HCQ é cerca de 2 vezes superior à de S-HCQ. A AUC para *R*-HCQ no sangue é cerca de 1.5-1.9 vezes superior à de S-HCQ após dose intravenosa ou oral (DUCHARME te al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994). Considerando a distribuição preferencial de *R*-HCQ para células do sangue (TOUTAIN e BOUSQUET-MÉLOU, 2014) e as células do sangue como sítio de ação de HCQ na prevenção e tratamento da malária, a compreensão da disposição cinética enantiosseletiva parece ser um ponto chave para estabelecer relações exposição-resposta, pelo menos para esta indicação terapêutica.

Estudos mostram que cardiomiopatia fatais ou potencialmente fatais foram relatados após o uso de HCQ e de CQ, com manifestações de bloqueio atrioventricular, hipertensão pulmonar e outras complicações cardíacas. Os achados no eletrocardiograma mostraram que HCQ prolonga o intervalo QT (FDA, 2017). Ensaios *in vitro* em fibras Purkinje isoladas mostram que *R*-HCQ e *S*-HCQ bloqueiam canais de potássio Kir2.1 em concentrações similares, sugerindo que a quiralidade não parece influenciar a toxicidade cardíaca de HCQ (BALLET et al. 2022).

Um estudo *in vitro* para o vírus SARS-CoV-2 realizou um ensaio de detecção de nível de RNA viral utilizando remdesivir como controle. O estudo apontou que *R*-HCQ demonstrou atividade inibitória viral superior ao composto racêmico e seu isômero *S*-HCQ com concentrações efetivas EC50= 3,05  $\mu$ M. O enantiômero *R*-HCQ atingiu EC50=5,38  $\mu$ M, seguido da mistura enantiomérica com atividade inibitória EC50=5,09 (NI et al. 2022).



*R*-hidroxicloroquina (*R*-HCQ)

S-hidroxicloroquina (S-HCQ)

Figura 1. Estrutura química dos enantiômeros *R*-HCQ e S-HCQ.

#### 2.1.1 Mecanismo de ação farmacológica

As aminoquinolinas possuem uma ampla atividade farmacológica,

atuando em sistemas distintos, receptores celulares e organelas intracelulares. Essa variabilidade contribui para o uso de aminoquinolinas desde a profilaxia e tratamento da malária, bem como a atividade anti-inflamatória e imunomodulação na AR e LES (PLANTONE e KOUDRIAVTSEVA. 2018). Na prevenção e o tratamento da malária, acredita-se que a HCQ exerce seu efeito em razão do acúmulo nas vesículas ácidas do parasita e inibição da polimerização do heme. HCQ é ativa contra cepas sensíveis a CQ do *Plasmodium falciparum, Plasmodium malariae, Plasmodium ovale* e *Plasmodium vivax* (FDA, 2017). Em geral, os mecanismos de ação farmacológicos da HCQ para o tratamento de malária, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico são pouco descritos ou desconhecidos (FDA, 2017).

#### 2.1.2 Toxicidade

Os efeitos cardíacos da HCQ são descritos em estudos póscomercialização. A bula descreve relatos de cardiomiopatia fatais ou possivelmente fatais e prolongamento do intervalo QT (FDA, 2017). As aminoquinolinas inibem a atividade de canais de potássio, e atrasam a repolarização nas células cardíacas. Do ponto de vista clínico, isso leva ao prolongamento do intervalo QT que pode ser observado no eletrocardiograma. Além disso, o atraso na repolarização tem maior impacto em sujeitos com redução nas frequências cardíacas (CHATRE et al. 2018). A hipertrofia concêntrica que é o aumento do tecido muscular dos ventrículos cardíacos, foi associada ao uso de aminoquinolinas (JOYCE e FABRE, 2013). Casos de sobredose com o análogo estrutural CQ resultam em quadros de hipocalemia (CLEMESSY et al. 1995). Uma vez que HCQ prolonga o intervalo QT, sugere-se que outros fármacos com efeito semelhante como os antiarrítmicos, amiodarona e sotalol não sejam administrados juntamente com HCQ (FDA, 2017). Os níveis plasmáticos aumentados de digoxina, foram observados em pacientes com terapia combinada com HCQ (FDA, 2017). Além disso HCQ pode gerar a diminuição da glicemia, sendo alertado o cuidado do uso de HCQ com hipoglicemiantes (FDA, 2017).

Os efeitos de aminoquinolinas no sistema nervoso central (SNC) são pouco relatados. Foram relatados efeitos neurológicos como a perda auditiva neurossensorial, confusão, dores de cabeça, tontura, convulsões, alucinações e

ataxia (PHILLIPS-HOWARD e KUILE. 1995). Recentemente, a agência europeia de medicamentos (EMA), recomendou a atualização de bulas contendo CQ e HCQ para inclusão do risco de transtornos psiquiátricos e comportamento suicida associado ao uso dessas aminoquinolinas.

As aminoquinolinas podem induzir ototoxicidade em exposições agudas ou crônicas. A perda auditiva gerada pelas aminoquinolinas é bilateral, leve e moderada e pode vir acompanhada de tonturas e vertigem. Em casos de superdosagem de HCQ em indivíduos adultos, a ototoxicidade tende a diminuir dentro de 48 a 72 horas (SEÇKIN et al. 2000). A intoxicação aguda por HCQ e CQ podem deixar sequelas oftalmológicas, incluindo diplopia, perda da acuidade visual, visão de túnel e midríase. O restabelecimento da visão pode ocorrer de forma rápida, mas também pode levar meses. Dados de toxicidade ocular foram relatados com o uso de doses crônicas de 1000 mg de HCQ. A toxicidade na retina nessa dose tem prevalência aumentada em 1%, associando-se a perda irreversível da visão, mesmo após a suspensão do medicamento (BROWNING. 2002). Entende-se que o mecanismo de toxicidade ocular induzida por CQ e HCQ na retina esteja associada a interação das aminoquinolinas com a melanina (YUSUF et al. 2017).

Para o tratamento de indivíduos intoxicados por HCQ recomenda-se a descontaminação, estabilização de arritmias cardíacas e suporte hemodinâmico (MCBETH et al. 2015). Os critérios para a transferência do paciente intoxicado por aminoquinolinas para a unidade de terapia intensiva (UTI), consiste em hipotensão sistêmica persistente, arritmias ventriculares, coma e persistência de hipoglicemia (JONES et al. 2017).

#### 2.1.3 Disposição cinética

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a HCQ é um fármaco de classe I, ou seja, possui alta solubilidade e alta permeabilidade. Fármacos pertencentes a essa classe são bem absorvidos após administração oral e sua taxa de absorção em geral é maior que a de eliminação (AMIDON et al. 1995). A biodisponibilidade oral de HCQ como mistura enantiomérica é 67-74% e apresenta um volume de distribuição extremamente elevado de 5.522 L. Devido a sua alta lipofilicidade e lisossomotropismo, a HCQ pode atravessar membranas celulares e se acumular nos lisossomos, onde acaba interrompendo funções celulares significativas (PONTICELLI e MARÔNI. 2016). A HCQ liga-se às proteínas no plasma de forma enantiosseletiva. Liga-se principalmente à α1-glicoproteína ácida (MCLACHLAN et al. 1993; BROCKS et al. 1994). Após dose oral de 155 mg, a concentração máxima (Cmax) no plasma foi de 50,3 ng/mL, e o tempo de observação da concentração máxima (Tmax) de 3,74 horas. Após doses intravenosas de 155 mg, a Cmax no sangue variou de 1161 a 2436 ng/mL com valor médio de 1918 ng/mL (FDA, 2019).

O metabolismo hepático de HCQ resulta em três metabólitos quirais, sendo eles desetilhidroxicloroquina (DHCQ), desetilcloroquina (DCQ) e bisdesetilcloroquina (BDCQ). A HCQ é eliminada na urina humana na forma dos metabólitos DCQ e DHCQ, e em menor proporção, BDCQ. (OLIVEIRA. 2007; MCLACHLAN. 1991). As enzimas CYP2D6, CYP2C8, CYP3A4 são as principais responsáveis pela N-desetilação de HCQ (TANAKA et al. 2004). Estudos de metabolismo in vitro em microssomas hepáticos humanos identificaram as enzimas CYP2C8, CYP3A4 CYP3A5 e CYP2D6 como as principais isoformas responsáveis pela N-desetilação da cloroquina (CQ). Em razão da similaridade estrutural com HCQ, e da identidade estrutural do principal metabólito DCQ entre as duas 4-aminoquinolinas, acredita-se que as mesmas enzimas contribuam para o metabolismo de CQ e HCQ (KIM et al. 2003). Dados de modelagem in sílico, estudos em microssomas hepáticos com inibidores específicos e dados de metabolismo usando enzimas recombinantes sugerem que a contribuição de CYP3A4, CYP2D6 e CYP2C8 é de 17%, 19% e 37%, respectivamente (ZHANG et al. 2021).



**Figura 2**. Metabolismo hepático da HCQ. A isoforma CYP2D6 é responsável pela desalquilação da HCQ em DCQ e DHCQ. Outras isoformas também responsáveis por essa etapa do metabolismo não foram identificadas até o momento. Fonte: Próprio autor. Figura preparada em BioRender (https://biorender.com/)

Os dados da enantiosseletividade na disposição cinética da HCQ ainda são limitados. A absorção dos enantiômeros de HCQ não foi enantiosseletiva e a fração absorvida (Fa) de *R*-HCQ e S-HCQ foi calculada em 74% e 77%, respectivamente (MCLACHLAN. 1994). Após a administração de dose única de 200 mg de sulfato de *rac*-HCQ foi observada AUC no sangue de 3948 ± 351 ng\*h/mL para *R*-HCQ e 2208±343 ng\*h/mL para *S*-HCQ. As concentrações sanguíneas máximas (Cmax) de 84 ± 22 ng/mL para *R*-HCQ e 52 ± 14ng/mL para *S*-HCQ (DUCHARME et al. 1995).

A ligação a proteínas plasmáticas foi avaliada *in vitro* utilizando 40 g/L de albumina sérica humana, sendo 37% *R*-HCQ e 64% para S-HCQ (MCLACHLAN et al. 1993). Além disso, o mesmo estudo relata a ligação à  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida de 41% para *R*-HCQ e 29% para S-HCQ utilizando 0,7 g/L de  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida.

O clearance total no sangue em voluntários sadios foi de 19,6 L/h para R-

HCQ e de 35,1 L/h para S-HCQ (DUCHARME et al. 1995). A meia- vida de HCQ administrada por via oral é estimada em 537 horas ou 22,4 dias no sangue. Após infusão intravenosa de 155 mg, HCQ possui meia-vida de cerca de 40 dias (FDA. 2017). O clearance não renal calculado a partir de dados no sangue, que se acredita ser essencialmente hepático, foi de 17,8 L/h e 30,49 L/h para *R*-HCQ e S-HCQ, respectivamente. O clearance renal calculado a partir dos dados em sangue foi de 1,79 L/h para *R*-HCQ e 4,61 L/h para S-HCQ (DUCHARME et al. 1995). Observou-se ainda que a razão enantiomérica *R*/S na excreção urinária está correlacionada com a razão plasmática, o que indica que a excreção urinária não contribui para a diferença na disposição cinética entre *R*-HCQ e S-HCQ (BROCKS et al. 1994).

Um estudo experimental mostrou que a AR reduziu o clearance dos enantiômeros da HCQ por aumento na ligação as proteínas plasmáticas (EMAMI et al. 1998). Em consonância com essas observações, pacientes com AR apresentaram concentrações sanguíneas de ambos enantiômeros de HCQ maiores quando comparados a voluntários sadios (TETT et al. 1994). Outro estudo realizado em pacientes com AR, mostrou que o clearance renal de *S*-HCQ foi cerca de 2 vezes o clearance renal de *R*-HCQ de forma similar ao que é observado para voluntários sadios (MCLACHLAN et al. 1993).

Um trabalho buscou identificar potenciais pares de interação fármacofármaco (DDIs) de HCQ clinicamente relevantes com base em dados de interação do Food and Drug Administration (FDA) e da Drug Interaction Flockhart Table<sup>TM</sup> (https://drug-interactions.medicine.iu.edu/MainTable.aspx) pela identificação de inibidores fortes, fracos e moderados. O estudo sugeriu um total de 423 pares de DDI envolvendo a HCQ (BISWAS e ROY 2021). Entendese que em razão da similaridade estrutural entre HCQ e CQ, os potenciais DDIs identificados para HCQ podem ser esperadas para CQ. A pesquisa concluiu que há pelo menos 29 pares de DDI que devem ser considerados clinicamente graves e devem ser monitorados em pacientes que fazem uso de HCQ (BISWAS e ROY. 2021). Uma pesquisa retrospectiva realizada durante 3 anos avaliou prescrições médicas de idosos do norte da Europa em uso de HCQ para identificar possíveis interações medicamentosas envolvendo o fármaco. Destacou-se que a amiodarona coadministrada com HCQ pode aumentar o efeito do antiarrítmico (VELASCO-GONZÁLEZ et al. 2020). Além disso, uma

análise relacionou a síndrome do QT longo em paciente com insuficiência cardíaca com a coadministração de amiodarona e HCQ, uma vez que ao iniciar o tratamento de lúpus com HCQ ocorriam episódios de fibrilação atrial. O estudo propôs que a HCQ atua na corrente ativa de despolarização dos canais iônicos e nas correntes dos íons de cálcio (MIRANDA-AQUINO et al. 2018).

#### 2.2 Metabolismo de HCQ mediado por enzimas CYP

#### 2.2.1 CYP2D6

O isoforma 2D6 do sistema citocromo P450 (CYP) D6 é uma enzima essencial na metabolização de diversos fármacos, e responsável pela metabolização de cerca de 20% dos medicamentos hoje comercializados, como a codeína, amitriptilina, fluvoxamina, risperidona, paroxetina, dextrometorfano, entre outros. CYP2D6 é expressa tanto no fígado quanto em órgãos extrahepáticos como cérebro e intestino (YU et al. 2004). Fenótipos metabolizadores de CYP2D6 são classificados através dos níveis de atividade enzimática, e podem ser atribuídos como metabolizador lento (PM), metabolizador intermediário (IM), metabolizador normal (NM) e metabolizador ultrarrápido (UM). A frequência desses fenótipos são de 2, 3, 92 e 5% em populações dos Estados Unidos, respectivamente, podendo variar em diferentes grupos étnicos (GAEDIGK et al. 2017). No Brasil, o estudo realizado pela Rede Nacional de Farmacogenética (Refargen) com 1034 adultos sadios de ambos os sexos classificados como brancos, pardos e pretos das regiões Norte, Nordeste Sudeste e Sul mostrou que a frequência do alelo CYP2D6\*2 foi de 19,5%, e a frequência do alelo *CYP2D6*\*3 foi de 0,8% (REFARGEN <u>www.refargen.org.br</u>).

O gene *CYP2D6* é altamente polimórfico e possui mais de 100 alelos com variações já descritos pelo *Pharmacogene Variation* (PharmVar), e algumas dessas variações estão relacionadas a alterações funcionais já bem definidas (RENY e FONTANA. 2015). Esses polimorfismos podem estar relacionados a alelos nulos de CYP2D6, e carregam uma expressão pequena da proteína CYP2D6 ou até mesmo proteínas não funcionais, e estes, são considerados PM's, contrariamente, múltiplas cópias do gene *CYP2D6* pode ser caracterizado como UM's (ZANGER et al. 2004). As variantes *CYP2D6 \*3 \*4 \*5 e 6\** estão associadas a enzima não funcional (YOKOTA et al. 1993; SUNBERG-INGELMAN. 2005). As variações *CYP2D6\*10, \*17 e \*41* estão relacionadas a

atividade enzimática reduzida (KANE et al. 2020). A variação correspondente ao alelo \*17 é mais frequente em africanos, enquanto a variação correspondente ao alelo \*10 é encontrada com maior frequência em caucasianos (BRADFORD, 2002).

Além de fármacos, a isoforma tem como substrato neurotoxinas envolvidas no surgimento da doença de Parkinson (HIROI et al. 1998). Portanto, sabe-se que indivíduos portadores de alelos *CYP2D6* não funcionais expressam maior vulnerabilidade à doença de Parkinson, isso inclui populações caucasianas britânicas (LU et al. 2014). A atividade de CYP2D6 no cérebro está relacionada a produção de neurotransmissores endógenos como a dopamina e a serotonina. (KIRCHHEINER et al. 2011).

A atividade de CYP2D6 na presença de potentes indutores enzimáticos do sistema P450 como a rifampicina ou fenobarbital não é induzida, e por isso, considera-se esse gene como não induzível (PAN et al. 2017). Contudo, estudos mostram que o metabolismo de fármacos substratos de CYP2D6 aumentam no período gestacional, num exemplo atípico de indução enzimática (PAN et al. 2017). Essa atividade foi descrita pela primeira vez em 1983, onde a biodisponibilidade de metoprolol (substrato de CYP2D6) que era de 80% em não gestantes reduziu para 20% no período da gestação e 40% no período pós-parto (HÖGSTEDT et al. 1983). Posteriormente, um estudo relatou que o clearance sistêmico do metoprolol após administração intravenosa aumentou de 26% para 97% durante a gravidez (HÖGSTEDT et al. 1985). Outro trabalho mostrou que a razão metabólica plasmática dextrometorfano/dextorfano foi reduzida em 53% após administração oral durante o período de gravidez (WADELIUS, et al. 1997). Com isso, identificou-se que a atividade de HNF4 $\alpha$  (regulador da expressão basal de CYP2D6) obteve aumento significante na gravidez quando comparado ao período antes da gestação e pós-parto em camundongos humanizados (KOH et al. 2014). Com base nesses relatos, pode-se dizer que há aumento considerável no metabolismo de fármacos substratos de CYP2D6 em mulheres grávidas.

#### 2.2.2 CYP2C8

A subfamília CYP2C compõe-se de quatro genes, *CYP2C18*, *CYP2C19*, *CYP2C9* e *CYP2C8* agrupados em 390 kb no cromossomo 10q23.3. A enzima *CYP2C8* possui capacidade de metabolizar diversos fármacos disponíveis clinicamente incluindo antidiabéticos, anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), antimaláricos, quimioterápicos, entre diversas outras classes (DALY et al. 2007; XIAOPING et al. 2013; ZANGER e SCHWAB. 2013). Além das classes de fármacos, CYP2C8 também é responsável pelos processos de metabolização do ácido araquidônico e ácido retinóico (ZELDIN et al. 1996; MCSORLEY e DALY. 2000). Embora a isoforma CYP2C8 possua sequência mais próxima de CYP2C9, curiosamente CYP2C8 compartilha substratos com a isoforma CYP3A4 (TOTÁ e RETTIE, 2005).

Mesmo que essa subfamília apresente características polimórficas demonstradas clinicamente, ainda há conflitos sobre efeitos de polimorfismos genéticos relacionados a CYP2C8. Um estudo demonstrou que o clearance de substratos de CYP2C8 como repaglinida, rosiglitazona e pioglitazona foi maior em homozigotos e heterozigotos do alelo *CYP2C8\*3* (KIRCHHEINER, et al. 2006; NIEMI et al. 2005; TORNIO et al. 2008). Entretanto, estudos *in vitro* contradizem esses dados, uma vez que o alelo *CYP2C8\*3* foi associado com redução da atividade enzimática *in vitro* para os substratos ácido hialurônico, amodiaquina e o paclitaxel quando comparado ao alelo selvagem (BAHADUR et al. 2002; DAI et al. 2001; DALY et al. 2007).

Nenhuma variante com cópias duplicadas ou triplicadas de gene *CYP2C8* foi identificada (DAI et al. 2001). Os alelos *CYP2C8* \*2 estão associados a redução de atividade enzimática *in vitro*, sendo o alelo \*2 mais frequente em afroamericanos. De certo modo, isso pode estar relacionado com as diferentes concentrações de CQ e DCQ em populações africanas (AQUILANTE et al. 2013). Um estudo utilizando microssomas hepáticos humanos apontou que os níveis séricos alterados de bilirrubina estavam possivelmente relacionados a diminuição dos níveis da proteína CYP2C8 e sua atividade enzimática (THOMAS et al. 2015). Também foi identificado que há uma possível indução de CYP2C8 pelo 1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilcolina (POPC) (THOMAS et al. 2013).

#### 2.2.3 CYP3A4

A CYP3A4 é altamente expressa no fígado e intestino humanos, portanto, é considerada uma enzima de grande relevância, responsável pela metabolização de 30% a 40% de todos os fármacos hoje utilizados na prática clínica (ZANGER et a. 2008). Dentre esses fármacos podem se destacar a eritromicina, tamoxifeno, benzodiazepínicos, opioides, estatinas, dentre muitos outros (BU, 2006; LIU et al. 2007). CYP3A4 também é responsável pelo metabolismo de alguns esteroides endógenos como a testosterona, progesterona, cortisol e ácidos biliares (PATKI et al. 2003; BODIN et al. 2005). O primeiro polimorfismo de CYP3A4 publicado foi relacionado a variante CYP3A4\*3. Essa variação é mais frequente em populações africanas (KLEIN e ZANGER, 2006). Embora a atividade de CYP3A4 tenha uma grande variabilidade entre os indivíduos, não existem marcadores genéticos que possam caracterizar subgrupos. Portanto, a farmacogenética tem um potencial limitado na personalização da dosagem para substratos de CYP3A4.

Sabe-se que os inibidores de CYP3A são clinicamente descritos na literatura, sendo eles, antibióticos, agentes anti-HIV, antidepressivos bloqueadores de canais de cálcio e demais compostos fitoterápicos e diéticos (ZHOU. 2008). Os substratos de CYP3A4 sinvastatina e lovastatina quando administrados com inibidor de CYP3A4 como a claritromicina apresentam um aumento superior a 5 vezes na AUC (LI et al. 2015). Em razão dessa importante interação fármaco-fármaco, o uso de estatinas e claritromicina simultaneamente está associado a inúmeros efeitos adversos induzidos por estatinas, principalmente na musculatura esquelética (PATEL et al. 2013). Outro estudo demonstrou que a inibição de CYP3A4 intestinal pela claritromicina reduziu o clearance do midazolam em pacientes idosos (QUINNEY et al. 2008). O uso concomitante de claritromicina e do substrato colchicina está associado a maiores ricos de intoxicações por colchicina (ZAPATA et al. 2020). Estudos de interação fármaco-fármaco realizados por modelagem e simulação sugerem que ritonavir pode interagir fortemente com HCQ, uma vez que ritonavir é um forte inibidor de CYP3A4 e fraco inibidor de CYP2D6 (ZHANG et al. 2021).

#### 2.3 Farmacocinética baseada em Fisiologia (PBPK)



**Figura 3.** Modelo farmacocinético baseada em fisiologia (PBPK) simplificado com compartimentos que representam tecidos conectados pelo fluxo sanguíneo (Q). Na figura está ilustrada a administração intravenosa (IV) e a administração oral. Fonte: Próprio autor.Figura preparada com BioRender (<u>https://biorender.com/</u>)

Embora os aspectos teóricos da modelagem PBPK não sejam recentes (TEORELL, 1937; BISCHOFF et al. 1971), essa abordagem assumiu um formato contemporâneo nas últimas décadas com a utilização de softwares para modelagem e simulação. As aplicações da modelagem PBPK são diversas e a ferramenta pode ser usada desde as etapas iniciais do desenvolvimento de fármacos, mas também para a personalização da terapia farmacológica em populações especiais. Trata-se de uma abordagem farmacológica quantitativa utilizada para modelar processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de fármacos e toxicantes em seres humanos e em modelos de experimentação. Uma vez que um modelo se mostra adequado para determinado objetivo, este pode ser usado para simular cenários não investigados anteriormente (JAMEI et al. 2009; JONES e ROWLAND-YEO, 2013). O modelo estrutural de corpo inteiro em PBPK envolve os principais órgãos como o fígado, cérebro, coração, trato gastrointestinal, pulmões, rins, tecido adiposo entre outros. Os tecidos são conectados pelo sangue arterial e sangue venoso de forma a representar os mecanismos fisiológicos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos fármacos. São considerados ainda

o volume de cada tecido, sua composição, presença de enzimas de metabolismo e o fluxo sanguíneo (Q) que chega em cada tecido (Figura 3).

Em alguns casos, modelos reduzidos podem ser usados para agrupar tecidos com propriedades de taxa de fluxo sanguíneo similares de forma combinada para reduzir o número de compartimentos e a complexidade geral do modelo (NESTOROV, 1998). A distribuição para cada tecido é limitada pela taxa de perfusão sanguínea ou limitada pela permeabilidade. A cinética limitada pela taxa de perfusão em geral aplica-se a pequenas moléculas lipofílicas, uma vez que o fluxo sanguíneo para o tecido é o fator limitante para a distribuição. Esse tipo de modelo demonstra que em estado estacionário, a concentração total do fármaco no tecido está em equilíbrio com a concentração total do fármaco na circulação, enquanto a concentração de fármaco livre é igual. Já a distribuição limitada pela permeabilidade aplica-se principalmente para moléculas polares e/ou de tamanho maior, onde a permeabilidade através da membrana celular é o processo limitante da distribuição. Neste caso, o tecido é definido por dois compartimentos que representam o espaço intracelular e extracelular separados por uma membrana que atua como uma barreira difusional. Provavelmente esse modelo quando em estado estacionário, também alcançará o equilíbrio, onde a concentração de fármaco livre será igual, porém, neste mesmo modelo o tempo para atingir o equilíbrio é dependente da permeabilidade específica do fármaco. Portanto, se os processos de transporte ativo estão incluídos para entrada ou saída do espaço intracelular, as concentrações livres neste espaço podem ser maiores ou menores do que no espaço extracelular, respectivamente (JONES e ROWLAND-YEO, 2013).

Dentre inúmeros benefícios da modelagem PBPK pode-se destacar a estrutura fisiológica desses modelos, o que simplifica a inclusão de outros mecanismos como por exemplo o processo de transporte ativo para os tecidos. O transporte ativo de fármacos pode ser incorporado ao modelo em vários tecidos diferentes como o fígado e intestino se dados de abundância relativa de transportadores e dados cinética *in vitro* e/ou dados clínicos estiverem disponíveis (JONES e ROWLAND-YEO. 2013).

A modelagem PBPK é considerada uma ferramenta relevante para descrever e realizar predições de forma quantitativa de possíveis interações fármaco-fármaco (DDIs). Essa abordagem vem sendo aplicada no desenvolvimento de medicamentos, e é recomendada pela *Food and Drug*  Administration (FDA) dos EUA e pela EMA para o esboço de ensaios clínicos de DDIs e em populações especiais. Sendo assim, ao enviar uma requisição de novo de medicamento (NDA), os investigadores podem usar simulações PBPK para preencher as lacunas clínicas que são consideradas desconhecidas(PERRY et al. 2020). A agência reguladora americana publicou recomendações sobre o formato e o conteúdo dos dados de modelagem e simulação PBPK em submissões regulatórias (FDA, 2019). A agência reguladora europeia divulgou recomendações para os relatórios de estudos contendo modelagem PBPK. Dentre as recomendações, sugere-se a apresentação de relatório detalhado do modelo, abrangendo parâmetros específicos do composto, a visão geral do processo de construção do modelo, as análises de sensibilidade, e também argumentações sobre o impacto regulatório juntamente com todos os resultados e informações relevantes (EMA, 2018).

Diante do exposto, este trabalho se favoreceu da modelagem e simulação PBPK como ferramenta para compreensão da enantiosseletividade na disposição cinética de HCQ. A construção dos modelos para um par de compostos com propriedades físico-químicas idênticas incluindo peso molecular, coeficiente de partição octanol/água e constante de dissociação de ácidos e bases, mas com propriedades de ligação no sangue e disposição cinética diferentes é um desafio de modelagem pouco explorado até hoje.

#### **3 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi desenvolver modelo PBPK para *R*-HCQ e para S-HCQ para buscar identificar a enantiosseletividade de HCQ e de redes complexas de interação fármaco-fármaco-gene.

#### **Objetivos específicos**

- Construir modelos PBPK para os enantiômeros *R*-HCQ e S-HCQ para administração intravenosa e oral.
- Validar o modelo externamente usando dados de disposição cinética enantiosseletiva previamente publicados na literatura.
- Aplicação do modelo para investigar os efeitos de polimorfismos genéticos de CYP2C8 e CYP2D6 na disposição cinética de *R*- e S-HCQ.
- Aplicação do modelo para investigar redes complexas de interação

fármaco-fármaco-gene.

#### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 4.1 Software

A modelagem em PBPK foi desenvolvida com o simulador SIMCYP versão 21 (CERTARA, Princeton, NJ, EUA). O simulador SIMCYP é constituído por uma plataforma de banco de dados para modelagem mecanística '*bottom-up*' e simulação dos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de fármacos em indivíduos saudáveis e populações especiais (JAMEI et al. 2009). Os parâmetros anatômicos e fisiológicos como fluxo sanguíneo em diferentes tecidos, volumes dos órgãos, composição tecidual, permeabilidade, expressão de enzimas de metabolismo e a dependência desses fatores em relação ao peso corpóreo, sexo e idade foram fornecidos pelas bibliotecas do simulador.

#### 4.1.1 Desenvolvimento de modelos PBPK

As etapas de construção e validação do modelo estão descritas na Figura 4. O desenvolvimento do modelo de *R*-HCQ e *S*-HCQ favoreceu-se do modelo previamente descrito para HCQ como mistura enantiomérica (ZHANG et al. 2021) e incorporou dados disponíveis da farmacocinética enantiosseletiva de HCQ (MCLACHLANet al. 1994; DUCHARME et al. 1995; MIDHA et al. 1996; TETT et al. 1998). Os parâmetros físico-químicos e os parâmetros biológicos de *R*-HCQ e S-HCQ usados na construção do modelo PBPK encontram-se descritos na Tabela 2.

A fração livre no plasma (Fu) foi descrita em estudo *in vitro* (MCLACHLAN et al. 1993) com valores de 0,63 para *R*-HCQ e 0,36 para S-HCQ. Logo, a ligação a proteínas plasmáticas representa uma importante fonte de variabilidade na farmacocinética entre os enantiômeros *R*- e S-HCQ.

O clearance plasmático foi estimado a partir do clearance intravenoso sanguíneo. Essa etapa se fez necessária uma vez que o simulador requer dados dos parâmetros farmacocinéticos em plasma como dado de entrada no modelo. Logo, os valores de clearance plasmático foram calculados a partir da equação 1 (TOUOTAIN e BOUSQUET-MÉLOU. 2014), onde "B/P" descreve a razão de concentração sangue/plasma e H é a proporção de glóbulos vermelhos no sangue (hematócrito).

$$Cl \, plasmático = \frac{Cl \, sanguíneo}{B/P} = \frac{Cl \, sanguíneo}{1 + H \, (conc. \, glóbulos \, vermelhos) - 1}$$

Na construção dos modelos dos enantiômeros *R*-HCQ e *S*-HCQ foram avaliados três métodos para predição da distribuição disponíveis no simulador: método corrigido de Poulin e Theil (método 1), Rodgers e Rowland (método 2), e Rodgers e Rowland com permeabilidade iônica (método 3). Usando o modelo de distribuição (método 3), foi possível predizer os valores de 97,89 L/kg para *R*-HCQ e 54,07 L/kg para *S*-HCQ. Esses valores são compatíveis com aqueles observados para a mistura enantiomérica em plasma em pacientes com COVID-19 ou voluntários sadios (MUNSTER et al. 2002; ZAHR et al. 2021)

A distribuição subcelular foi utilizada para capturar a distribuição lisossomal de HCQ. Foram considerados os principais órgãos que contribuem para o sequestro lisossomal de HCQ como rins, pulmões e fígado, visto que esses tecidos apresentam maiores quantidades de lisossomos (MACINTYRE e CUTLER. 1988).

O levantamento bibliográfico realizado com base em 2 estudos clínicos independentes sugere que o clearance plasmático hepático não é enantiosseletivo. Dados de clearance renal (CL<sub>R</sub>) e clearance total (CL<sub>T</sub>) em sangue foram revisados da literatura (DUCHARME et al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994) (Tabela 2). Diante disso foi realizado o cálculo para a obtenção do clearance não-renal (CL<sub>NR</sub>) e assumiu-se que o CL<sub>NR</sub> é igual ao clearance hepático (CL<sub>H</sub>) (Equação 2). Os dados da Tabela 2 sugerem ausência de enantiosseletividade no clearance hepático de HCQ, o que justifica o uso da extrapolação retrógrada a partir da contribuição enzimática para CYP2C8, CYP2D6 e CYP3A4 previamente descrita na literatura (ZHANG et al. 2021). Para a extrapolação retrógrada, o clearance renal foi fixado em 15,4 L/h para *R*-HCQ e 23,0 L/h para *S*-HCQ conforme observado nos estudos *in vivo* (TETT et al. 1994; DUCHARME et al. 1995).

$$Cl_{NR} = Cl_H = Cl_T - Cl_R$$
 Eq.2

Eq.1



**Figura 4.** Fluxograma representativo da construção e validação dos modelos dos enantiômeros de HCQ. Fonte: Próprio autor. Figura preparada com BioRender (<u>https://biorender.com/</u>)

Tabela	<ol> <li>Parâmet</li> </ol>	tros utiliza	ados pa	ra a con	strução	dos en	antiôn	neros	de HC	Q	
Log p: C	oeficiente d	e partição	. pKa: C	onstante	de disso	ciação a	ácida.	۷ss: ۱	Volume a	aparente	e de

Parâmetros	R-HCQ	S-HCQ	Referência
Propriedades físico-químicas Peso molecular (g/mol) Log P Tipo de composto pKa	335,87 3,84 Base diprótica 9,67 (pKa 1)	335,87 3,84 Base diprótica 9,67 (pKa 1)	PubChem Compound PubChem Compound PubChem Compound PubChem Compound
Propriedades de ligação no sangu	8,27 (pKa 2)	8,27 (pKa 2)	
Razão sangue:plasma (B/P)	8,6	5	Tett et al. 1998. Dados estimados para os enantiômeros
Fração livre no plasma	0,63	0,36	McLachlan et al. 1993
<b>Absorção</b> Modelo Fração absorvida (Fa)	1ª ordem 0,74 (30%)	1ª ordem 0,77 (30%)	McLachlan et al., 1994
Ka (1/h)	0,3 (30%)	0,3 (30%)	Vivo
Lag time (h)	0,5 (30%)	0,5 (30%)	-
Distribuição Modelo Vss (L/kg) Distribuição subcelular Kp scalar Método de predição	PBPK de corpo inteiro 97,89 ativada 0,44 Método 3	PBPK de corpo inteiro 54,07 ativada 0,44 Método 3	Valor predito Rodgers et al., 2005 Rodgers et al. 2005
Eliminação		motodo o	riodgolo ot all 2000
Clearance Cl <sub>total,plasma</sub> (L/h) CL <sub>int,CYP2C8</sub> (μL/min/pmol) % contribuição CYP2C8	Cinética enzimática 130,45 0,927 46 4	Cinética enzimática 175,7 1,96 44 2	Midha et al. 1996 Extrapolação retrógrada
CL <sub>int,CYP2D6</sub> (µL/min/pmol	1,091	2,308	Extrapolação retrógrada
% contribuição CYP2D6 CL <sub>int,CYP3A4</sub> (μL/min/pmol) % contribuição CYP3A4	24,0 0,061 20.7	22,9 0,129 19.8	Extrapolação retrógrada
Cl <sub>int,adicionalHLM</sub> (µL/min/mg proteina)	3,232	10,554	Identificação de parâmetro para capturar os dados
Clearance renal típico (L/h)	15,4	23,0	Cálculo baseado em dados plasmaticos Ducharme et al. 1995

distribuição em estado estacionário. CLint: clearance intrínseco Ka: constante de absorção. Lag time: tempo de latencia

	Ref.	<i>R</i> -HCQ	% em relação ao Cl⊤	S-HCQ	% em relação ao Cl⊤	R/S	Matriz	Fonte
CL <sub>R</sub>	McLachlan	1,14 L/h	8,2%	2,46L/h	8,2%	0,46	Sangue,	Observado
CLт CLн	et al. 1993	13,9 L/h 12,76 L/h	- 91,8%	25,1 L/h 22,64 L/h	- 90,2%	0,55 0,56	IV	Observado Calculado
CLR		9,8 L/h		12,3 L/h		0,79		Estimado com B/P
CLT	McLachlan et al. 1993	119,5 L/h	-	127 L/h	-	0,94	Plasma, IV	Observado
CLн		109,7 L/h	91,8 %	114,7 L/h	90,3 %	0,95		Calculado
CL <sub>R</sub>	Ducharme	1,79 L/h	9,1 %	4,61 L/h	13,13%	0,38	Sangue,	Observado
CL <sub>T</sub> /F CL <sub>H</sub> /F	et al. 1995	19,6 L/h 17,8 L/h	- 90,8%	35,1 L/h 30,49 L/h	- 86,8%	0,56 0,58	oral	Observado Calculado
CLR		15,4 L/h	8,9 %	23,05 L/h	13,13%	0,66		Estimado
CL⊤/F	Ducharme et al. 1995	168,6 L/h	-	175,5 L/h	-	0,96	Plasma, oral	Observado
CL <sub>H</sub> /F		153,2 L/h	90,8 % T	152,45 L/h	86,8 %	1,00		Calculado

**Tabela 2.** Revisão de dados da literatura dos valores de clearance total, renal e hepático dos enantiômeros da HCQ em plasma e em sangue.

#### 4.1.2 Dados clínicos S-HCQ e R-HCQ

O desempenho do modelo PBPK foi verificado comparando os dados simulados com dados os observados in vivo após a administração oral e intravenosa em voluntários adultos saudáveis ou pacientes com artrite reumatoide. A posologia administrada em pacientes adultos por via oral ou intravenosa é de 200 mg de sulfato de HCQ que corresponde a 155 mg de HCQ base livre, ou 77,5 mg de cada enantiômero (Tabela 3). Os perfis de concentração de *R*-HCQ e *S*-HCQ no sangue observados foram extraídos por meio da ferramenta WebPlotDigitalizer (https://automeris.io/WebPlotDigitizer/).

Composto e via de Administração	Dose (mg)	População	Regime de doses	n	Idade (anos)	Duração do estudo	% de mulheres	Ref.
Oral <i>R</i> -HCQ	77,5	Voluntário sadio	única	24	20-36	168h	0	2
Oral <i>R</i> -HCQ	77,5	Voluntário sadio	única	72	19-50	77 dias	0	3
IV <i>R</i> -HCQ	77,5	Paciente com artrite reumatoide	única	9	50±16	32h	77,7	1
Oral S-HCQ	77,5	Voluntário sadio	única	24	20-36	168h	0	2
Oral S-HCQ	77,5	Voluntário sadio	única	72	19-50	77 dias	0	3
IV S-HCQ	77,5	Paciente com artrite reumatoide	única	32	50±16	32h	77,7	1

**Tabela 3.** Resumos dos dados de estudos clínicos usados para a verificação dos modelos PBPK de *R*-HCQ e S-HCQ

McLachlan et al. 1994<sup>1</sup>, Ducharme et al.1995<sup>2</sup>, Midha et al. 1996<sup>3</sup>

#### 4.1.3 Análise da previsibilidade do modelo

A performance dos modelos foi avaliada graficamente comparando as concentrações observadas e simuladas. Outra forma de avaliação a qualificação do modelo baseou-se nas comparações dos parâmetros farmacocinéticos observados e preditos, considerando a área sob a curva de concentração plasmática-tempo (AUC<sup>0-t</sup>), concentração sanguínea/plasmática máxima (Cmax) e tempo para observação da concentração sanguínea/plasmática máxima (tmax). Os valores de entrada e o desenho do estudo para cada simulação foram baseados nos dados dos estudos clínicos publicados, incluindo idade, dose administrada, duração do estudo, e proporção de homens e mulheres. O desempenho das simulações foi avaliado pelo erro médio (*mean fold error, MFE*) para os parâmetros PK (AUC, Cmax e tmax) usando a equação 3. O modelo PBPK foi considerado com desempenho adequado quando todos os parâmetros preditos se encontravam dentro de duas vezes o valor observado correspondente (MFE 0,5-2,0) (GUO et al. 2013).

$$MFE = \frac{parâmetro predito}{parâmetro observado}$$
 Eq. 3

Outro critério para avaliar o modelo foi através do cálculo da média do

erro (*AFE*, sigla em inglês para *average fold error*), que corresponde a um indicador do viés da previsão (Equação 4). Modelos com predições sem viés, tem AFE igual a 1. Valores subestimados são definidos por AFE abaixo de 1 e valores superestimados são definidos por AFE maior que 1. Em geral, as predições são consideradas satisfatórias quando AFE estiver entre 0,8-1,25. Predições aceitáveis são consideradas com AFE entre 0,5-0,8 ou 1,25-2,0 e ruim quando AFE está entre 0-0,5 ou >2.

$$AFE = 10^{\frac{1}{n}\sum \log \frac{Pred_i}{Obs_i}}$$
 Eq. 4

O cálculo do erro médio absoluto (*AAFE*, sigla em inglês para *absolute avera fold error*) converte os valores negativos dos erros log-transformados, avaliando a dispersão das predições (Equação 5). Os valores de AAFE podem variar entre 1 e infinito. Predições satisfatórias são aquelas com AAFE inferior a 1,25, aceitáveis quando AAFE estiver entre 1,25 e 2 e ruins quando AAFE for acima de 2.

$$AAFE = 10^{\frac{1}{n}\sum \left|\log\frac{Pred_i}{Obs_i}\right|}$$
Eq. 5

#### 4.1.4 Simulação do efeito de polimorfismos genéticos de CYP2D6

A simulação para analisar a disposição cinética dos enantiômeros em diferentes fenótipos de CYP2D6 foi realizada atribuindo uma frequência igual a 1 para cada fenótipo, incluindo metabolizadores lentos, normais e ultrarrápidos. De acordo com a tabela de diplótipo-fenótipo de CYP2D6 disponível pela *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network* (CPIC), o fenótipo (PM) é aquele cujo o score de atividade é igual a 0, que é atribuído aos alelos \*3, \*4, \*6 e \*7 entre outros. São considerados (NM) aqueles que possuem atividade entre 0,25 a 2, comumente atribuídos aos carreadores dos alelos \*1, \*2, \*8, \*9, \*10 entre outros (LEE et al. 2016). O score de atividade acima de 2 é atribuído aos UMs, sendo alguns deles carreadores de múltiplas cópias de alelos funcionais como \*1/\*1×2 ou \*1/\*2×≥3, \*2/\*2×2 ou \*2/\*2×≥3. A abundância média de CYP2D6 foi definida como 18,180 pmol/mg

proteína para UMs, 0 pmol/mg proteína para PMs e 9,400 pmol/mg proteína para os NMs, conforme a biblioteca do simulador. A simulação foi realizada com um total de 1000 indivíduos, sendo 10 ensaios com 100 voluntários com idades entre 20 e 50 anos, sendo 50% de mulheres. A simulação foi realizada considerando a observação das concentrações em sangue durante 216 horas.

#### 4.1.5 Simulação do efeito de polimorfismos genéticos de CYP2C8

A simulação para analisar a disposição cinética dos enantiômeros em diferentes fenótipos de CYP2C8 foi realizada atribuindo frequência igual a 1 para cada um dos fenótipos (metabolizadores lentos e normais). Segundo o CPIC, as variações alélicas no gene CYP2C8 não estão claramente associadas com a variabilidade na atividade funcional da proteína clinicamente. Com tudo, dados *in vitro* demonstram que variação no alelo *CYP2C8\*3* reduz a atividade enzimática para certos substratos, como o ácido araquidônico (DAI et al. 2021). A abundância média de CYP2C8 foi atribuída 0 PMs e 24 pmol/mg proteína para NMs. A simulação do efeito de CYP2C8 na disposição cinética de R-HCQ e S-HCQ foi realizada num total de 1000 indivíduos, sendo 10 ensaios com 100 voluntários com idades entre 20 e 50 anos, considerando 50% de mulheres. O perfil de concentração sanguínea versus tempo foi simulado pelo período de 216 horas após a administração.

#### 4.1.6 Simulação do efeito da claritromicina como inibidor de CYP3A4

O fármaco inibidor de CYP3A4 claritromicina (CLTR) foi proposto para avaliar o impacto da atividade de CYP3A4 na disposição cinética dos enantiômeros foi a claritromicina (CLTR). A simulação foi realizada com um total de 100 indivíduos no total, sendo 10 ensaios com 10 voluntários cada, e duração de 216 horas. A dose única administrada de claritromicina foi de 250 mg. Os dados específicos do fármaco CLTR estão disponíveis na biblioteca do simulador.

Foram simuladas ainda situações complexas que não podem ser facilmente avaliadas em estudos clínicos, como a presença simultânea de polimorfismos genéticos nos genes CYP2D6 e CYP2C8 e o efeito da inibição de CYP3A4 em diferentes fenótipos para CYP2C8 e CYP2D6.

#### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Neste trabalho foram desenvolvidos modelos PBPK para predizer os perfis de concentração de *R*-HCQ e *S*-HCQ no sangue e seus parâmetros PK. Os modelos foram construídos a partir de dados de estudos clínicos e ensaios *in vitro* que investigaram a enantiosseletividade na disposição cinética de HCQ. Em razão da inexistência de dados de metabolismo *in vitro* para os enantiômeros de HCQ isoladamente, foi utilizada a estratégia da extrapolação retrógrada para propor dados de cinética enzimática. Essa estratégia baseou-se na observação de que o clearance hepático de HCQ em plasma não é enantiosseletivo, diferentemente do clearance hepático no sangue como observado na Tabela 2. Graficamente, a capacidade preditiva do modelo se mostrou adequada para capturar o perfil de concentração sanguínea dos enantiômeros *R*-HCQ e de *S*-HCQ tanto após administração intravenosa (MCLACHLAN et al. 1994), como após administração oral (DUCHARME et al. 1995; 1994; MIDHA et al. 1996).

Como já esperado, os valores de peso molecular, log P e pKa são idênticos para *rac*-HCQ, *R*-HCQ e S-HCQ (*PubChem Compound*, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxychloroquine). A HCQ é um fármaco de elevada lipofilicidade com coeficiente de partição octanol:água (log P) de 3,84. De acordo com a sistema de classificação biofarmacêutica (*BCS*, *Biopharmaceutics Classification System*), é um fármaco de classe 1, ou seja, tem elevada solubilidade e elevada permeabilidade (AMIDON et al. 1995). A fração absorvida (Fa) é de 0,74 para *R*-HCQ e de 0,77 para *S*-HCQ em pacientes com AR (MCLACHLAN et al. 1994). Logo, em razão da elevada permeabilidade e Fa similar, não se espera que as diferenças nas concentrações sanguíneas entre os enantiômeros sejam atribuídas ao processo de absorção. Nos modelos PBPK desenvolvidos, a Fa predita foi de 0,77 para *R*-HCQ e *S*-HCQ usando o modelo de absorção de primeira ordem. Portanto, o modelo de primeira ordem se mostrou adequado para capturar o processo a absorção de HCQ.

A enantiosseletividade na distribuição dos enantiômeros da HCQ se justifica, pelo menos parcialmente, em razão dos diferentes valores de fração livre no plasma e razão de concentração sangue:plasma. O enantiômero S-HCQ liga-se mais fortemente as proteínas plasmáticas. A fração livre no plasma (Fu) de *R*-HCQ e S-HCQ é de 0,63 e 0,36, respectivamente (FURST, 2016). A razão de concentração de HCQ sangue:plasma é de 7,2 para mistura enantiomérica (TETT et al. 1989), o que indica que a HCQ se encontra principalmente nas

células do sangue em detrimento do plasma. Considerando a razão de Cmax sanguíneo *R*/S-HCQ foi de 1,61 (DUCHARME et al. 1995), razão *R*/S de 1,7 para a razão de concentração sangue:plasma (MCLACHLAN et al. 1994), a razão B/P foi estimada em 8,6 para *R*-HCQ e 5,0 para *S*-HCQ. Após administração oral de dose única e intravenosa de *rac*-HCQ, as concentrações sanguíneas de *R*-HCQ são maiores quando comparadas a *S*-HCQ o que pode ser explicado pela distribuição enantiosseletiva da HCQ para as células do sangue (DUCHARME et al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994; MIDHA et al. 1996).

A disposição cinética da HCQ é comumente descrita na literatura com dados de concentração sanguínea e parâmetros farmacocinéticos determinados a partir do sangue, como AUC, concentração sanguínea máxima e clearance sanguíneo total (DUCHARME et al. 1995; LIU et al. 2012). Todavia, outros trabalhos descrevem a cinética de HCQ no plasma (FAN et al. 2015). As simulações neste estudo foram realizadas para determinação de perfis de concentração sanguínea (DUCHARME et al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994; MIDHA et al. 1996). A parametrização do modelo PBPK no simulador Simcyp exigiu a conversão de parâmetros PK sanguíneos em parâmetros plasmáticos, como a conversão apresentada na Equação 1.

A elevada distribuição da HCQ pode ser explicada pelo sequestro lisossomal, um fenômeno já descrito previamente para as aminoquinolinas (MACINTYRE e CUTLER. 1988). Por ser uma base diprótica em pH fisiológico, a HCQ pode acumular-se nos lisossomos em concentrações de até 50.000 vezes maior que as concentrações citossólicas e extracelulares (DERENDORF. 2020). Os lisossomos são organelas intracelulares ligadas as membranas, e contêm enzimas digestivas que atuam na digestão intracelular. As funções de fagocitose e autofagia em macrófagos estão diretamente associadas a atividade lisossomal para degradar ou reciclar materiais intra ou extracelulares. O pH lisossomal é de cerca de 4,5 – 5,0, enquanto o pH citossólico varia de 7,0 – 7,5. Logo, a concentração de prótons nos lisossomos é cerca de 1000 vezes maior que no citosol (APPELQVIST et al. 2013). Os lisossomos são encontrados em grande abundância no fígado, pulmões, rins e baço. O sequestro de fármacos nos lisossomos ocorre principalmente para bases fracas que se ionizam preferencialmente no pH ácido lisossomal. Em razão da baixa permeabilidade de compostos ionizados, esses compostos ficam aprisionados na estrutura lisossomal o que contribui para o aumento da distribuição desses fármacos,

principalmente para tecidos com elevado conteúdo lisossomal (MACINTYRE e CUTLER. 1988).

A distribuição subcelular com o aprisionamento de HCQ no fígado, rins e pulmões foi incluída no modelo usando o método 3 de distribuição, com permeabilidade iônica. O fator de escalonamento do coeficiente de partição tecido:plasma (Kp scalar) foi fixado em 0,44 para R- e S-HCQ para um melhor ajuste dos dados in vivo. Com a incorporação da distribuição subcelular a AUC de R-HCQ variou de 4578 para 4498 ng.h/mL após administração oral de 77,5 mg de *R*-HCQ. Para S-HCQ, a AUC foi de 2135 para 2126 ng.h/mL. Os valores de Cmax de *R*-HCQ e S-HCQ são mais sensíveis a incorporação da distribuição subcelular em lisossomos e variando de 116,31 ng/mL para 92,43 ng/mL e 101,57 para 82,46 ng/mL demostrando um aumento no volume de distribuição (Figura 5). Embora a incorporação da distribuição subcelular não tenha um impacto tão significativo no perfil de concentrações no sangue, há um aumento considerável no coeficiente de partição tecido:plasma nos tecidos com alto conteúdo lisossomal. Para esses tecidos, houve um aumento do coeficiente de partição tecido:sangue (Kp) para *R*-HCQ de 135, 337 e 87 para 373, 662 e 123 nos rins, fígado e pulmões, respectivamente, alterando significativamente a exposição local.

Em resumo, a incorporação da distribuição lisossomal, elevada partição tecido:sangue e o significativo sequestro das aminoquinolinas nas células vermelhas no sangue contribuem para a elevada distribuição das aminoquinolinas. Há que se considerar que o sítio de ação das aminoquinolinas depende da indicação terapêutica. Embora não exista uma descrição detalhada do mecanismo e local de ação da HCQ na malária, acredita-se que o fígado e as células do sangue sejam os tecidos alvo, uma vez que o ciclo do parasita no hospedeiro humano ocorre nesses tecidos. Coincidentemente, estes são tecidos de acúmulo de HCQ no homem. No tratamento da artrite, acredita-se que os monócitos e linfócitos representam tecidos alvo para HCQ. Dados de distribuição celular in vitro sugerem que HCQ tem captação celular superior pra essas células no sangue em comparação com os eritrócitos (BROCKS et al. 1994).

Um estudo de modelagem e simulação explorou a distribuição tecidual da CQ em ratos de forma mecanística incorporando o compartimento lisossomal para descrever o acúmulo tecidual de CQ. Os dados mostraram acúmulo de CQ nos tecidos hepático, pulmonar, rins e baço, tecidos com elevado conteúdo de

lisossomos. O modelo se mostrou bastante útil na compreensão da distribuição de CQ, um fator importante para explicar a elevada distribuição de CQ (LIU e JUSKO et al. 2021).



**Figura 5**. Perfis de concentração sanguínea versus tempo após administração oral de *R*-HCQ (A) e S-HCQ (B) antes e após inserir a distribuição subcelular. A linha em vermelho representa a simulação antes de incorporar a distribuição subcelular no modelo e a linha em preto após inserir a distribuição subcelular. As linhas pontilhadas representam os percentis 5° e 95°.

As aminoquinolinas HCQ e CQ, estruturalmente muito semelhantes, compartilham as mesmas vias metabólicas. Ambas são metabolizadas principalmente por CYP2C8, CYP2D6 e CYP3A4 e em menor proporção via CYP1A2 (RENDIC et al. 2020; PROJEAN et al. 2003; KIM et al. 2003). A contribuição de CYP2C8, CYP2D6 e CYP3A4 na eliminação de HCQ foi estimada em 37,3, 19,3 e 16,7% (ZHANG et al. 2021). Sabe-se que a ausência de dados de cinética enzimática para os enantiômeros de HCQ são uma limitação na construção desse modelo. Entretanto, uma vez que o clearance hepático no plasma para ambos enantiômeros é similar, não se acredita que o metabolismo seja uma razão para a farmacocinética enantiosseletiva no sangue. Simulações com o modelo PBPK mostram que embora diferença significativa na exposição no sangue seja observada entre *R*- e S-HCQ, a exposição no plasma é similar entre os enantiômeros (Figura 6). A modelagem e simulação PBPK sugere que distribuição. não clearance, principal determinante а е 0 éο da enantiosseletividade. Tal observação não é trivial uma vez que o sangue é a matriz preferencialmente amostrada em estudos PK para as aminoquinolinas.

A contribuição do clearance renal foi fixado em 8,9 % para *R*-HCQ e 13,1

% para S-HCQ conforme observado em estudos *in vivo* (TETT et al. 1994; DUCHARME et al. 1995). Portanto, os modelos PBPK semi-mecanísticos aqui desenvolvidos para *R*- e S-HCQ refletem satisfatoriamente o balanço de massas da HCQ com relação a fração absorvida, metabolizada e excretada inalterada na urina.



**Figura 6.** Perfis de concentração dos enantiômeros *R*-HCQ e S-HCQ. O gráfico A representa os dados no plasma e o gráfico B representa os dados em sangue. *R*-HCQ é representado pelas linhas vermelhas e S-HCQ é representado pelas linhas azuis. As linhas pontilhadas representam os percentis 5° e 95°.

Considerando que o fluxo sanguíneo hepático é de cerca de 60 L/h, e o clearance hepático no sangue é de 12,76 L/h e 22,6 L/h para R-HCQ e S-HCQ (MCLACHLAN et al. 1993), podemos afirmar que R-HCQ e S-HCQ são considerados fármacos de baixa razão de extração hepática (E<sub>H</sub>). Assim, uma vez que o clearance hepático para fármacos de baixa EH é dependente principalmente do clearance intrínseco e da fração livre no sangue, e considerando a elevada razão sangue:plasma, podemos inferir que a elevada distribuição do fármaco para as células do sangue limita o clearance hepático de HCQ. Ao se estimar o clearance plasmático hepático para ambos enantiômeros, não é observada diferença significativa entre R- e S-HCQ. Tal observação contradiz os dados de Cardoso e Bonato (2009) que sugeriram metabolismo in vitro enantiosseletivo, com R-HCQ sendo preferencialmente metabolizado (CARDOSO e BONATO. 2009). Entretanto, os autores não determinaram a fração do fármaco livre no meio microssomal que pode alterar consideravelmente os resultados do experimento. Além disso, os autores também não determinaram os parâmetros de cinética enzimática Km e Vmax para caracterizar o metabolismo de *R*-HCQ e S-HCQ.

A verificação dos modelos PBPK para *R*-HCQ e *S*-HCQ foi realizada por simulações nas mesmas condições dos estudos da literatura, considerando a dose administrada, porcentagem de mulheres e idade dos sujeitos de pesquisa (DUCHARME et al. 1995; MCLACHLAN et al. 1994; MIDHA et al. 1996). As simulações PBPK para *R*-HCQ e *S*-HCQ no sangue após administração oral ou intravenosa apresentaram MFE dentro do critério de 0,5 – 2,0. Os valores de AFE encontram-se dentro de 0,8-1,25, mostrando que o modelo estimou com acurácia os parâmetros PK AUC e C<sub>max</sub>. Os valores de AAFE também sugeriram que as simulações descrevem os dados observados de forma satisfatória, uma vez que encontram-se no intervalo de 1-1,25.

Via de administração/ composto	Matriz	Dose (mg)	Ref.	AUC predita (ng.h/mL)	AUC observada (ng.h/mL)	Cmáxpredita (ng/mL)	C <sub>máx</sub> observada (ng/mL)	MFE AUC	MFE C <sub>máx</sub>
<i>R</i> -HCQ oral	Sangue, 0 a 168h	77,5	1	3976,18	3948	90,23	84	1,01	1,22
<i>R</i> -HCQ oral	Sangue, 0 a 168h	77,5	2	4028,91	4245,16	90,88	164,55	0,94	0,55
<i>R</i> -HCQIV	Sangue, 0 a 32h	77,5	3	2636,09	3444,49	-	-	0,76	-
AFE								0,90	0,81
AAFE								1,11	1,22
S-HCQ oral	Sangue, 0 a 168h	77,5	1	1966,36	2208	79,81	52	0,89	1,5
S-HCQ oral	Sangue, 0a 168h	77,5	2	2000,89	2813,74	80,48	105,96	0,71	0,75
S-HCQ IV	Sangue, 0a 32h	77,5	3	1959,79	1875,2	-	-	1	-
AFE								0,85	1,06
AAFE								1,16	1,06

**Tabela 4**. Resumos dos dados de estudos clínicos usados com os enantiômeros de HCQ. A tabela apresenta os dados preditos, observados e o erro médio (MFE, *mean fold error*) em relação as características cinéticas abordadas.

AFE: média do erro (sigla em inglês para average fold error); AAFE: media absoluta do erro (sigla em inglês para absolute average fold error); Ducharme et al.1995<sup>1</sup>, Midha et al.1996<sup>2</sup> McLachlan et al. 1994, 1996<sup>3</sup>



**Figura 7.** Verificação do modelo PBPK dos enantiômeros *R*-HCQ e S-HCQ. Os parâmetros PK simulados e observados foramutilizados para a verificação do modelo PBPK final. As linhas sólidas representam a linha da unidade, as linhas tracejadas representam a diferença de 0,5 e 2 vezes. *R*-HCQ está representado por símbolos cheios e S-HCQ por símbolos vazios. Dados de administração oral estão representados por círculos e dados de administração intravenosa em triângulos.



**Figura 8.** Dados preditos e observados de concentração sanguínea versus tempo para *R*-HCQ após administração oral (A, e B) e IV (C). A linha escura representa a concentração média e as linhas tracejadas os percentis 5° e 95°. Dados observados estão representados pelos círculos pretos. (A) Ducharme et al. 1995, (B) Midha et al. 1996, (C) McLachlan et al. 1994



**Figura 9.** Dados preditos e observados de concentração sanguínea versus tempo para S-HCQ após administração oral (A, e B) e IV (C). A linha escura representa a concentração média e as tracejadas representam os percentis 5° e 95°. Dados observados estão representados pelos círculos pretos. (A) Ducharme et al. 1995, (B) Midha et al. 1996, (C) McLachlan et al. 1994.

Para avaliar a capacidade do modelo em predizer a enantiosseletividade na disposição cinética de HCQ, foi realizado o cálculo de razão *R*-HCQ/S-HCQ tanto para os dados simulados quanto para os dados observados (Tabela 5). Os resultados mostram que a razão *R*/S para AUC predita/observada variaram de 0,73 a 1,34 em três estudos independentes, sugerindo que o modelo consegue predizer de forma adequada a disposição cinética enantiosseletiva de HCQ.

O modelo PBPK final de *R*-HCQ e S-HCQ foi aplicado para simular o efeito de polimorfismos genéticos de CYP2D6 e CYP2C8. PMs de CYP2D6 apresentaram aumento na AUC de R-HCQ e S-HCQ de 1,3 vezes em relação NMs de CYP2D6. UMs de CYP2D6 apresentaram redução de 0,9 vezes na AUC de R-HCQ e S-HCQ (Tabela 6). Embora estudos in vitro não tenham sido realizados para caracterizar de forma quantitativa a cinética enzimática por enzimas CYP para os enantiômeros de HCQ, evidências clínicas sugerem a participação dessas isoformas no metabolismo de HCQ. Polimorfismos genéticos nas isoformas CYP2D6, foram analisados em 194 pacientes coreanos com lúpus eritematosos em uso de HCQ. A razão [DHCQ]:[HCQ] foi maior em pacientes com genótipo G/G do polimorfismo CYP2D6\*10 (rs1065852), ou seja, em carreadores do alelo selvagem (LEE et al. 2016). A frequência do alelo variante CYP2D6\*10 é elevada em indivíduos asiáticos (78%) (LLERENA et al. 2014). Em razão da redução da expressão de CYP2D6 em carreadores do alelo CYP2D6\*10, indivíduos asiáticos estão associados a maior exposição a HCQ. Simulações PBPK com potenciais inibidores de CYP2D6 foram realizadas para investigar DDIs. A quinidina foi empregada como forte inibidor de CYP2D6 e ritonavir como fraco inibidor de CYP2D6. Quando HCQ (em dose de ataque de 600 mg 2 vezes ao dia seguidas de doses de manutenção de 200 mg 2 vezes ao dia por 4 dias) é coadministrado com quinidina em doses múltiplas, observouse um discreto aumento de 19% na exposição sistêmica de HCQ em voluntários saudáveis de 20 a 50 anos. Logo, o efeito encontrado neste estudo de simulação para a redução da atividade de CYP2D6 relacionada a farmacogenética se assemelha ao efeito de inibição de CYP2D6 em modelo PBPK para a mistura enantiomérica. Em idosos com idade avançada, por outro lado, a administração simultânea com quinidina resultou em aumento de 50% na AUC quando comparado aos indivíduos em uso de HCQ apenas (ZHANG et al. 2021).

Matriz/via de administração	Ref.	AUCR predita	AUCR observada	AUCR pred/obs	CmaxR predita	CmaxR observada	CmaxR pred/obs
Sangue, administração oral	1	2,02	1,78	1,13	1,13	1,61	0,7
Sangue, administração oral	2	2,01	1,5	1,34	1,12	1,55	0,72
Sangue, administração IV	3	1,34	1,83	0,73	-	-	-

**Tabela 5**. Razões *R*-HCQ/S-HCQ dos parâmetros farmacocinéticos AUC (AUCR) e Cmax (CmaxR) preditas e observadas

<sup>1</sup>Ducharme et al. 1995; <sup>2</sup>Midha et al. 1996; <sup>3</sup>McLachlan et al. 1994;



**Figura 10.** Simulação do efeito da atividade de CYP2D6 na disposição cinética de *R*-HCQ (A) e S-HCQ (B) no sangue após administração oral. A linha em verde representa metabolizadores ultrarrápidos (UM) de CYP2D6; a linha em preto representa os metabolizadores normais (NM); a linha vermelha representa os metabolizadores lentos de CYP2D6 (PM). As linhas tracejadas representam os valores de percentis 5° e 95° para CYP2D6 NM.



**Figura 11.** Simulação do efeito da atividade de CYP2C8 na disposição cinética de *R*-HCQ (A) e S-HCQ (B) no sangue após administração oral. A linha preta representa CYP2C8 NM e a linha vermelha representa CYP2C8 PM. As linhas tracejadas representam os percentis 5° e 95° para CYP2C8 NM.



**Figura 12.** Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de *R*-HCQ (A) e *S*-HCQ (B) versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 e CYP2D6 após administração oral. A linha em preto representa os NM de CYP2C8 e CYP2D6 e a linha na cor vermelha representa os PM de CYP2C8 e CYP2D6, já as linhas tracejadas representam os valores de percentis 5° e 95° em relação aos indivíduos NM de CYP2C8 e CYP2D6.



**Figura 13.** Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de *R*-HCQ (A) e *S*-HCQ (B) versus tempo em relação ao efeito da administração de claritromicina como inibidor de CYP3A4. A linha em preto representa somente os enantiômeros, a linha na cor azul representa os enantiômeros com a presença do inibidor, já as linhas tracejadas representam os valores de percentis 5° e 95° em relação a concentração dos enantiômeros unicamente.



**Figura 14.** Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de *R*-HCQ (A) e S-HCQ (B) versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 com a presença de inibidor de CYP3A4 após administração oral. A linha em preto representa os NM de CYP2C8 e a linha na cor vermelha representa os PM de CYP2C8, e a linha na cor azul representa fenótipos PM de CYP2C8 na presença do inibidor de CYP3A4, já as linhas tracejadas representam os valores de percentis 5° e 95° em relação aos indivíduos NM de CYP2C8.



**Figura 15.** Comparação entre os perfis de concentração sanguínea de *R*-HCQ (A) e *S*-HCQ (B) versus tempo de fenótipos PM de CYP2C8 e CYP2D6 com a presença de inibidor de CYP3A4 após administração oral. A linha em preto representa os NM de CYP2C8 e CYP2D6 e a linha na cor vermelha representa os PM de CYP2C8 e CYP2D6, e a linha na cor azul representa fenótipos PM de CYP2C8 e CYP2D6 na presença do inibidor de CYP3A4, já as linhas tracejadas representam os valores de percentis 5° e 95° em relação aos indivíduos NM de CYP2C8 e CYP2D6.

	(-)- <i>R</i> -ŀ	HCQ	(+)-S-HCQ			
Fenótipo	AUC (ng/mL.h)	Cmax (ng/mL)	AUC (ng/mL.h)	Cmax (ng/mL)		
CYP2D6 NM	4202,5±1912,9	99,8±26,1	1888,28±882	87,5±24,9		
	4031,47	99,6	1827,7	85,5		
	(1718,5-7691,4)	(56,4-135,8)	(766,1-3342,9)	(46,5-124,4)		
CYP2D6 PM	5305,7±2062,4	104,3±24,1	2441,2±1016,8	93,9±22,8		
	5130,4	105,4	2299	94,7		
	(2540,1-8819,2)	(65,1-142,3)	(1141,7-1440,8)	(57,2-130,3)		
CYP2D6 UM	3780,8±1561	99,3±24,6	1706,9±716,5	85,7±22,9		
	3608,6	98,6	1576,1	86,6		
	(1634,5-6462,5)	(59,5-141,3)	(720,5-2927,5)	(50,4-124,1)		
CYP2C8 NM	4202,5±1912,9	99,8±26,1	4202,5±1912,9	99,8±26,1		
	4031,4	99,6	4031,47	99,6		
	(1718,5-7691,4)	(56,4-135,8)	(1718,5-7691,4)	(56,4-135,8)		
CYP2C8 PM	6553,4±1916,7	107,9±24,4	3111,8±1016,9	100,3 <del>±</del> 20,3		
	6550,7	108,1	3067,8	99,8		
	(3503,7-9494,9)	(76,9-139,2)	(1544,1-4725,6)	(70,7-130)		
CYP2D6- CYP2C8 PM	8898,3±2242,3 8794,6 (5977,7-12416,7)	111,1±26,5 109,8 (76,2-153,2)	4487±1306,5 4368,6 (2771,8-6770,2)	106,6±25,6 104,8 (73,6-148,1)		
CYP2C8 PM+	7152,6±2147,7	108,2±21,5	3388,5±1167,8	100,8±20,5		
inibidor de	7173,1	108,3	3399,5	100,1		
CYP3A4	(3655,6-10563,4)	(77,1-140,6)	(1559,5-5418,1)	(71,2-132,3)		
CYP2D6- CYP2C8 PM + inibidor de CYP3A4	9845,7±2439,2 9687,8 (6607,2-13839)	111,4±26,5 110,3 (76,3-153,2)	5064,9±1474,5 4952,6 (2939,7-7584,6)	107±25,7 105,1 (73,7-147,7)		
CYP2D6- CYP2C8 NM + inibidor de CYP3A4	4440,6±2061,5 4172,9 (1739,2-7934,3)	100,1±26,2 99,9 (57,1-136,7)	1975,4±932,9 1877,8 (751,1-3455,2)	88±25 86,1 (46,3-124,4)		

 Tabela 6. Parâmetros PK preditos de R-HCQ de S-HCQ em diferentes fenótipos de CYP2C8 e CYP2D6

Dados apresentados como média ± desvio padrão; mediana (percentil 5 - 95)

	R-HC	Q	S-HCQ		
Fenótipo	AUC	Cmax	AUC	Cmax	
CYP2D6 PM/NM	1,26	1	1,29	0,93	
CYP2D6 UM/NM	0,89	0,99	0,90	0,97	
CYP2C8 PM/NM	1,55	1,08	1,64	1,21	
CYP2D6-CYP2C8 PM/CYP2D6- CYP2C8 NM	2,11	1,11	2,37	1,21	
CYP2C8 PM+ inibidor CYP3A4/NM	1,70	1,08	1,79	1,15	
CYP2D6-CYP2C8 PM+ inibidor de CYP3A4/NM	2,34	1,15	2,68	1,21	
CYP2D6-CYP2C8 PM + inibidor de CYP3A4 /CYP2D6- CYP2C8 NM	1,05	1,00	1,04	1,00	

**Tabela 7**. Razões dos fenótipos/fenótipos e fenótipos-inibidor/fenótipos dos parâmetros farmacocinéticos simulados.

As simulações PBPK para o fenótipo PM de CYP2C8 mostraram aumento de 1,5 na AUC do *R*-HCQ e 1,6 de S-HCQ em relação a indivíduos com fenótipo NM CYP2C8. Os alelos CYP2C8 \*2, \*3, \*4 e \*8 demonstraram redução do metabolismo de alguns substratos dependentes de CYP2C8 in vitro. O alelo \*2 é mais frequente em afro-americanos e o alelo \*3 possui maior frequência em caucasianos (AQUILANTE et al. 2013). Um estudo avaliou os efeitos da correlação genótipo-fenótipo dos alelos CYP2C8\*2, \*3 e \*4 no metabolismo dos enantiômeros de ibuprofeno em sistemas de expressão em células de inseto assistidas por baculovírus. O estudo demonstrou que o clearance intrínseco de ibuprofeno foi menor para CYP2C8\*3 e CYP2C8\*4 (YU et al. 2013). Mutações genéticas no gene CYP2C8 identificadas em humanos possuem um impacto funcional no clearance de substratos, como ibuprofeno, repaglinida, pioglitazona e rosiglitazona (LAI et al. 2009). Uma vez que os dados in vivo e in vitro disponíveis para as variantes de CYP2C8 e seu impacto funcional são limitados, alelos não são associados a determinados fenótipos, estes como metabolizadores lentos e ultrarrápidos (AQUILANTE et al. 2013). Simulações PBPK foram realizadas com genfibrozil como inibidor de CYP2C8 em diferentes cenários de DDIs com HCQ. Quando gemfibrozil (600 mg/2 vezes ao dia) é

administrado simultaneamente HCQ (em dose de ataque de 600 mg 2 vezes ao dia seguidas de doses de manutenção de 200 mg 2 vezes ao dia por 4 dias) houve aumento de cerca de 20% em AUC de HCQ em relação a administração de HCQ apenas indivíduos adultos saudáveis. Porém, em idosos com idade de 85 a 95 anos, a interação gemfibrozil +HCQ resultou em aumento médio de 56% quando comparado a sujeitos tratados com HCQapenas (ZHANG et al. 2021).

Simulações também foram realizadas em um cenário PMs para CYP2C8 e CYP2D6. Um aumento de 2 vezes na AUC foi observado para o enantiômero *R*-HCQ e aumento de 2,3 para o enantiômero S-HCQ em relação a NM de CYP2C8 e CYP2D6, sugerindo uma interação fármaco-gene moderada nessa subpopulação.

O efeito de um inibidor de CYP3A4 na disposição cinética de *R*- e *S*-HCQ foi investigado através da administração simultânea de CLTR. A coadministração de CLTR e HCQ resultou em aumento muito discreto na AUC, sem relevância clínica, em razão da pequena contribuição de CYP3A4 no metabolismo de HCQ em relação as demais enzimas CYP. Por fim, simulações em piores cenários foram investigados avaliando populações com fenótipo PM para CYP2C8 na presença do inibidor de CYP3A4 que resultou em aumento de 1,7 na AUC para ambos enantiômeros em relação aos sujeitos CYP2C8 NM. Foi avaliada ainda a coadministração de CLTR e HCQ em PM para CYP2C8 e para CYP2D6. Neste cenário, com o prejuízo no metabolismo de todas as principais vias de metabolismo de *R*-HCQ e *S*-HCQ, a AUC de *R*-HCQ e *S*-HCQ resultou em aumento de 2,34 e 2,68, respectivamente.

Dados da relação exposição e toxicidade são escassos para HCQ. A literatura descreve relatos de intoxicações agudas, onde concentrações plasmáticas foram de 9,87 mg/L após 2 horas, 4,53 mg/L após 10 horas, e 0,64 mg/L após 68 horas em uma paciente que ingeriu cerca de 1200 mg de HCQ (JORDAN et al. 1999). Não há na literatura muitos casos de sobredose por HCQ. Entretanto, toxicidade grave foi relatada em pacientes com níveis plasmáticos variando de 0,64 a 6,1 mg/L, e casos fatais com níveis de 48 mg/L e 104 mg/L no sangue post-mortem (GRAHAM. 1960; MILLER e FIECHTNER. 1989; KEMMENOE. 1990). Um estudo demonstrou que pacientes portadores de artrite reumatoide (AR) e que faziam terapia com HCQ há 6 meses com doses 3000 mg por semana de *rac*-HCQ apresentaram concentração de *R*-HCQ e *S*-HCQ de aproximadamente 1000 ng/mL e 800 ng/mL, respectivamente (TETT et al.

1994). Com tudo, não há informações precisas na literatura em relação a toxicidade para os enantiômeros de HCQ (MCLACHLAN et al. 1993).

Um estudo realizado com 143 pacientes administrou 200 mg e 400 mg de HCQ uma vez ao dia e descreveram que a concentração de 1000 ng/mL foi considerada satisfatória na redução do LES e apontaram que doses de 400 mg não resultou em melhora adicional quando comparados a dose de 200 mg (COSTEDOAT-CHALUMEAU et al. 2006). Outro estudo conduzido com pacientes portadores de AR considerou que doses de 200 mg ao dia foram suficientes para redução significativa da dor em repouso e em movimento, e que doses de 400 mg ao dia não resultaram em melhora na terapia (TELL et al. 2000). Os estudos disponíveis mostram que a relação PKPD para as diferentes indicações terapêuticas de HCQ ainda não estão bem definidas. Dados farmacodinâmicos descritos para cada enantiômero são praticamente inexistentes. Também não está claro se a exposição sistêmica pode ser preditiva da toxicidade de HCQ. Logo, as implicações do modelo para ajuste e otimização de doses requerem novas pesquisas que explorem os alvos farmacocinéticos associados com a eficácia e segurança.

O estudo desenvolvido neste trabalho tem limitações. Os modelos PBPK desenvolvidos assumiram que a contribuição enzimática de CYP2D6, CYP2C8 e CYP3A4 é igual entre os enantiômeros em razão da observação de clearance plasmático não enantiosseletivo. Entretanto, para futuro refinamento do modelo, estudos de metabolismo *in vitro* são necessários para caracterizar a cinética enzimática de *R*- e *S*-HCQ. O número de estudos clínicos que investigaram a disposição cinética enantiosseletiva de HCQ é limitado, o que restringiu a verificação do modelo aos estudos disponíveis. Por fim, as implicações do modelo para ajuste de dose são restritas, uma vez que os alvos moleculares farmacológicos ou relacionados à segurança não estão bem caracterizados, bem como as relações PKPD.

### 6 CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu realizar com confiança simulações dos perfis de concentração no sangue e parâmetros PK dos enantiômeros de HCQ em relação aos dados da literatura. A predição da enantiosseletividade na disposição cinética de HCQ foi considerada satisfatória. Os modelos PBPK desenvolvidos para *R*-HCQ e *S*-HCQ e verificados externamente foram empregados para avaliar o efeito de polimorfismos genéticos. As simulações realizadas com sujeitos PM para CYP2D6 ou sujeitos PM para CYP2C8 mostraram aumento discreto de AUC em comparação aos NM. Já os sujeitos CYP2C8 PM e CYP2D6 PM mostraram aumento de cerca de 2 vezes na AUC. O modelo foi ainda aplicado para realizar predições de cenários clínicos pouco prováveis em estudos clínicos, como a avaliação de interações complexas fármaco-fármacogene.

## 7. REFERÊNCIAS

AMIDON, L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

APPELQVIST, H. et al. The lysosome: from waste bag to potential therapeutic target. **Journal Of Molecular Cell Biology**, v.5, n.4, p. 214-226, 2013.

AQUILANTE, L. et al. PharmGKB summary. **Pharmacogenetics And Genomics**, v. 23, n. 12, p. 721-728, 2013.

ASSMUS, F; HOUSTON, J; GALETIN, A. Incorporation of lysosomal sequestration in the mechanistic model for prediction of tissue distribution of basic drugs. **Elsevier European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 109, p. 419-430, 2017.

BALLET, V. et al. In vitro ion channel profile and ex vivo cardiac electrophysiology properties of the R (-) and S (+) enantiomers of hudroxychloroquine. **European** Journal Of Pharmacology, v. 915, p. 174670, 2022.

BAHADUR, N. et al. CYP2C8 polymorphisms in Caucasians and their relationship with paclitaxel  $6\alpha$ -hydroxylase activity in human hepatic microsomes. **Biochemical pharmacology**, v. 64, n. 11, p. 1579-1589, 2002.

BHATNAGAR, S. et al. Dose adjustment of venetoclax when coadministered with posaconazole: clinical predictions of drug interaction using a PBPK approach. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 87, n. 4, p. 465-474, 2021 BISWAS, M; ROY, D.Potential clinically significant drug-drug interactions of hydroxychloroquineused in the treatment of COVID-19.**International Journal Of Clinical Practice**, v. 75, n. 11, 2021.

BRADFORD, L. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africansand their descendants. **Pharmacogenomic**, v. 3, n. 2, p. 229-243, 2002.

BROCKS, D; MEHVAR, R. Stereoselectivity in the Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of the Chiral Antimalarial Drugs. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 42, n. 15, p. 1359-1382, 2003

BROCKS, DR et al. Hematologic disposition of hydroxychloroquine enantiomers. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 34, n. 11, p. 1088-1097, 1994.

BROWNING, D. Hydroxychloroquine and chloroquine retinopathy: screening for drug toxicity. **American journal of ophthalmology**, v. 133, n. 5, p. 649-656, 2002.

BU, HZ. A literature review of enzymatic kinetic parameters for CYP3A4mediated metabolic reactions of 113 drugs in human hepatic microsomes: evaluation of the structure-kinetic relationship. **Current drug metabolism**, v. 7, n. 3, p. 231-249, 2006.

CAO, Y; DENG, Q; DAI, S. Remdesivir for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 causing COVID-19: an evaluation of the evidence **Travel Medicine And Infectious Disease**, v. 35, p. 101647, 2020.

CARDOSO, C. D; BONATO, P.S. Metabolismo enantiosseletivo da hidroxicloroquina empregando microssomas hepáticos de ratos e camundongos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 45, p. 658-667, 2009.

CHATRE, C. et al. Cardiac complications attributed to chloroquine and hydroxychloroquine: a systematic review of the literature. **Drug safety**, v. 41, n. 10, p. 919-931, 2018.

CLEMESSY, JL.et al. Hypokalaemia related to acute chloroquine ingestion. **The Lancet**, v. 346, n. 8979, p. 877-880, 1995.

COSTEDOAT-CHALUMEAU, N. et al. Low blood concentration of hydroxychloroquine is a marker for and predictor of disease exacerbations in patients with systemic lupus erythematosus. **Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 54, n. 10, p. 3284-3290, 2006.

CHHONKER, Y. et al. Simultaneous quantitation of hydroxychloroquine and its metabolites in mouse blood and tissues using LC–ESI–MS/MS: An application for pharmacokinetic studies, **Journal of Chromatography B**, v.1072, p. 320-327, 2018

CUI, C. et al. Development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) population model for Chinese elderly subjects. **British journal of clinical pharmacology**, v. 87, n. 7, p. 2711-2722, 2021.

DAHLQVIST, R; EJVINSSON, G; SCHENCK-GUSTAFSSON, K. Effect of quinidine on plasma concentration and renal clearance of digoxin. A clinically important drug interaction. **British Journal Of Clinical Pharmacology**, v. 9, n. 4, p. 413-418, 1980.

DAI, D. et al. Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drugpaclitaxel and arachidonic acid. **Pharmacogenetics**, v. 11, n. 7, p. 597-607, out. 2001.

DALY, A. K. et al. Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of genotypes UGT2B7, CYP2C8 and ABCC2. **Gastroenterology**, v. 132, n.1, p. 272-281, 2007.

DAVIS, T. M. E. Antimalarial drugs and glucose metabolism. **British journal of** clinical pharmacology, v. 44, n. 1, p. 1, 1997.

DELLA PORTA, A. et al. Acute chloroquine and hydroxychloroquine toxicity: A review for emergency clinicians. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 38, n. 10, p. 2209-2217, 2020.

DERENDORF, H. Excessive lysosomal ion-trapping of hydroxychloroquine and azithromycin. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 6, p. 106007, 2020.

DIMA, A; JURCUT, C, ARNAUD, L. Hydroxychloroquine in systemic and autoimmune diseases: where are we now?. **Joint Bone Spine**, v. 88, n. 3, p. 105143, 2021.

DIMA, A. et al. Hydroxychloroquine in systemic lupus erythematosus: overview of current knowledge. **Therapeutic Advances In Musculoskeletal Disease**, v. 14, p. 1-25,2022.

DOERING, W. Quinidine-Digoxin Interaction. New **England Journal Of Medicine**, v. 301, n. 8, p. 400-404, 1979.

DUCHARME, J. et al. Enantioselective disposition of hydroxychloroquine after a single oral dose of the racemate to healthy subjects. **British journal of clinical pharmacology**, v. 40, p. 127-133, 1995

DUCHARME, J; FARINOTTI, R. Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine. Focus on recent advancements. **Clin Pharmacokinet**, v 31, p. 74-257, 1996

EMA. Reporting of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling and simulation. **European Medicines Agency**. 2018.

EMAMI, J; PASSUTO, FM; JAMALI, F. Effect of experimental diabetes mellitus and arthritis on the pharmacokinetics of hydroxychloroquine enantiomers in rats. **Pharmaceutical Research**. v 15, p. 897-903, 1998.

FANOURIAKIS, A. et al. Update of the Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA–EDTA) recommendations for the management of lupus nephritis. Annals **Of The Rheumatic Diseases**, v. 79, n. 6, p. 713-723, 2020.

FDA. Approved Drug Products: Hydroxychloroquine Oral Tablets, **US Food and Drug Administration**, 2019.

FDA. Physiologically based pharmacokinetic analyses — format and content guidance forindustry. **US Food and Drug Administration**. 2019.

FISHER, B. et al. Certara UK Limited', Simcyp Division, Level 2-Acero,1 Concourse Way,Sheffield, SI 2BJ, **United Kingdom.** 19th Annual Simcyp Consortium Meeting, 2018.

FURST, D. E. Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and chloroquine during treatment of rheumatic diseases. **Lupus**. v 1, p. 5-11, 1996

GAEDIGK, A. et al. Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. **Genetics In Medicine**, v. 19, n. 1, p. 69-76, 2017.

GAO, B. et al. Relationship of cytochrome P450 gene polymorphisms with blood concentrations of hydroxychloroquine and its metabolites and adverse drug reactions **Bmc Medical Genomics**, v. 15, n. 1, p. 8-15, 2022.

GRAHAM, JD. An overdose of "plaquenil". **British Medical Journal**, v. 1, n. 5181, p. 1256, 1960.

GUO, H. et al. A mechanistic physiologically based pharmacokinetic-enzyme turnover model involving both intestine and liver to predict CYP3A inductionmediated drug-drug interactions. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v 102, p. 2819-2836.

HANKE, N. et al. PBPK Models for CYP3A4 and P-gp DDI Prediction: a modeling network of rifampicin, itraconazole, clarithromycin, midazolam, alfentanil, and digoxin. **Cpt: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 7, n. 10, p. 647-659, 2018.

HÖGSTEDT, S; LINDBERG, B; RANO, UM. Increased oral clearance of metoprolol in pregnancy. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 217-220, 1983.

HÖGSTEDT, S. et al. Pregnancy-induced increase in metabolism of metoprolol. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 37, n. 6, p. 688-692, 1985.

JACQUES, V. et al. Differentiation of antiinflammatory and antitumorigenic properties of stabilized enantiomers of thalidomide analogs. **Proceedings Of The National Academy of Sciences**, v. 112, n. 12, p. 1471-1479, 2015.

JAMEI, M. et al. The Simcyp ® Population-based ADME Simulator, **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v.5, p. 211-223, 2009.

JONES, AL. Chloroquine and Quinine: Critical Care Toxicology Diagnosis and Management of the Critically Poisoned Patient. **Springer International Publishing**. p. 1271-1286. 2015

JONES, HM; YEO-ROWLAND, K. et al. Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development. Cpt: **Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 2, n. 8, p. 63, 2013.

JORDAN, P. et al. Hydroxychloroquine overdose: toxicokinetics and management. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, v. 37, n. 7, p. 861-

864, 1999.

JOYCE, E; FABRE, A; MAHON, N. Hydroxychloroquine cardiotoxicity presenting as a rapidly evolving biventricular cardiomyopathy: key diagnostic features and literature review. **European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care**, v. 2, n. 1, p. 77-83, 2013.

KANE M, et al. Eliglustat Therapy and CYP2D6 Genotype. **Medical Genetics Summaries**, 2020.

KAZMI, F et al. Lysosomal Sequestration (Trapping) of Lipophilic Amine (Cationic Amphiphilic) Drugs in Immortalized Human Hepatocytes (Fa2N-4 Cells). **Drug Metabolism And Disposition**, v. 41, n. 4, p. 897-905, 1 fev. 2013.

KEMMENOE, AV. An infant fatality due to hydroxychloroquine poisoning. **Journal of analytical toxicology**, v. 14, n. 3, p. 186-188, 1990.

KIM, K, AH. et al. Cytochrome P450 2C8 and CYP3A4/5 are involved in chloroquine metabolism in human liver microsomes. **Archives Of Pharmacal Research**, v. 26, n. 8, p. 631-637, 2003.

KIRCHHEINER, J. et al. CYP2D6 in the brain: effects of the genotype on cerebral perfusion at rest. **Molecular psychiatry**, v.16, n.3, p.333-341, 2011.

KIRCHHEINER, J. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rosiglitazone in relation to the CYP2C8 genotype. **Clinical pharmacology and therapy**, v. 80, n. 6, p. 657-667, 2006.

KLEIN, K; ZANGER, M. U. Cytochrome P450 3A4 pharmacogenomics: recent progress towards the problem of "lost heritability". **Frontiers of Genetics**, v. 4, p. 12, 2013.

KOH, K. H. et al. The altered expression of the small heterodmer partner governs the induction of cytochrome P450 (CYP) 2D6 during pregnancy in mice humanized with CYP2D6. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 6, p. 3105-3113, 2014.

KOX, M et al. Cytokine Levels in Critically III Patients With COVID-19 and Other Conditions. **JAMA**. v. 324, p. 1565-1567, 2020.

LAI, X. S. et al. Human CYP2C8: structure, substrate specificity, inhibitor selectivity, inducers and polymorphisms. **Current Drug Metabolism**, v. 10, n. 9, p. 1009-1047, 2009.

LEE,et al. Disease-Drug Interaction of Sirilumab and Simvastatin in Patients with Rheumatoid Arthritis. **Clinical Pharmacokinet**, v. 56, p. 607-615, 2017 607–615 (2017).

LEE, E. B. et al. Association of Polymorphisms of Cytochrome P450 2D6 With Blood Hydroxychloroquine Levels in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis & Rheumatology, v. 68, n. 1, p. 184-190, 2015.

LI, Q. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. **New England Journal Of Medicine**, v. 382, n. 13, p. 1199-1207, 2020.

LIU, X; JUSKO. W. J. Physiologically based pharmacokinetics of lysosomotropic chloroquine in rat and human. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 376, n. 2, p. 261-272, 2021.

LLERENA, A. et al. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. **Expert Opinion On Drug Metabolism & Toxicology**, v. 10, n. 11, p. 1569-1583, 2014.

LI, G. et al. Enantiomers of Chloroquine and Hydroxychloroquine Exhibit Different Activities Against SARS-CoV-2 in vitro, Evidencing S-Hydroxychloroquine as a Potentially Superior Drug for COVID-19. **Biorxiv**, p. 1-17, 2020.

LI, Q. L. et al. Risk of adverse events among older adults after co-prescription of clarithromycin and statins not metabolized by cytochrome P450 3A4. **Cmaj**. v. 187, n. 3, p. 174-180, 2015.

LU, Y. et al. CYP2D6 phenotypes and risk of Parkinson's disease: a metaanalysis. **Journal of Neurological Sciences**, v. 336, n. 1-2, p. 161-168, 2014.

MACINTYRE, A.C.; CUTLER, D.J. The potential role of lysosomes in tissue distribution of weak bases. **Biopharmaceutics & drug disposition**, v. 9, n. 6, p. 513-526, 1988.

MARMOR, M. F. et al. Recommendations on Screening for Chloroquine and Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). **Ophthalmology**, v. 123, n. 6, p.1386-1394, 2016.

MELLES, R. B.; MARMOR, M. F. The Risk of Toxic Retinopathy in Patients on Long-term Hydroxychloroquine Therapy. **Jama Ophthalmology**, v. 132, n. 12, p. 1453-1460, 2014.

MCBETH, P. B. et al. Novel therapies for myocardial irritability following extreme hydroxychloroquine toxicity. **Case Reports in Emergency Medicine**, v. 2015, 2015.

MCLACHLAN, AJ. et al. Disposition of the enantiomers of hydroxychloroquinel in patients withrheumatoid arthritis following multiple doses of the racemate. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 36,p. 1365-2125, 1993.

MCLACHLAN, AJ. et al. Disposition and absorption of hydroxychloroquine enantiomers folowing a single dose of the racemate. **Chirality**. v. 6, p. 360-364, 1994.

MCLACHLAN, AJ.; TETT, SE.; CUTLER, DJ. High-performance liquid chromatographic separation of the enantiomers of hydroxychloroquine and its major metabolites in biological fluids using an  $\alpha$ 1-acid glycoprotein stationary

phase Journal of Chromatography B: v. 570, n. 1, p. 119-127, 1991.

MCLACHLAN, AJ.; CUTLER, DJ.; TETT, SE. Plasma protein binding of the enantiomers of hydroxychloroquine and metabolites. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 44, n. 5, p. 481-484, 1993.

MCSORLEY, LC.; DALY, AK. Identification of human cytochrome P450 isoforms that contribute to 4-hydroxylation of all-trans-retinoic acid. **Biochemical Pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 517-526, 2000.

MIDHA, K. K. et al. The roles of stereochemistry and partial areas in a parallel design study to assess the bioequivalence of two formulations of hydroxychloroquine: a drug with a very long half life. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 283- 292, 1996.

MILLER, D.; FIECHTNER, J. Hydroxychloroquine overdosage. **The Journal of rheumatology**, v. 16, n. 1, p. 142-143, 1989.

MIRANDA-AQUINO, T. et al. Síndrome de QT largo secundario a la interacción farmacológica entre hidroxicloroquina y amiodarona. **Revista Mexicana de Cardiologia**. v. 29, p. 98-101, 2018.

MUNSTER, T. et al. Hydroxychloroquine concentration–response relationships in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology, v. 46, n. 6, p. 1460-1469, 2002.

NIEMI, M. et al. Co-administration of gemfibrozil and itraconazole has only a minor effect on the pharmacokinetics of cyp2c9 and cyp3a4 nateglinide substrate. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 60, n. 2, p. 208-217, 2005.

OLSEN, N. J.; SCLEICH, M. A.; KARP, D. R. Multifaceted effects of hydroxychloroquine in human disease **Seminars In Arthritis And Rheumatism**, v. 43, n. 2, p. 264-272, 2013.

NESTOROV, IA. et al. Lumping of whole-body physiologically based pharmacokinetic models. Journal Of Pharmacokinetics And Pharmacodynamics, v. 26, n. 1, p.21-46, 1998.

NI, Y. et al. Synthesis and evaluation of enantiomers of hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 in vitro. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 116523, 2022.

OLIVEIRA, A. R. M.; CARDOSO, C. D.; BONATO, P. S. Stereoselective determination of hydroxychloroquine and its metabolites in human urine by liquid-phase microextraction and CE.**Electrophoresis**, v. 28, n. 7, p. 1081-1091, 2007.

PAN, X.; NING, M.; JEONG, H. Transcriptional regulation of CYP2D6 expression. **Metabolism and disposal of drugs**, v. 45, n. 1, p. 42-48, 2017.

PANDEY, S. K. et al. Antimalarial interaction of quinine and quinidine with clarithromycin. **Parasitology**, v. 140, n. 3, p. 406-413, 2013.

PATEL, A. M. et al. "Statin toxicity from macrolide antibiotic coprescription: a population-based cohort study. **Annals of internal medicine** v. 158, n.12, p.869-876. 2013

PERRY, C. et al. Utilization of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Clinical Pharmacology and Therapeutics: an overview. **Current Pharmacology Reports**, v.6, n. 3, p. 71-84, 2020.

PHILLIPS-HOWARD, PA.; KUILE, FO. CNS adverse events associated with antimalarial agents. **Drug safety**, v. 12, n. 6, p. 370-383, 1995.

PLANTONE, D.; KOUDRIAVTSEVA, T. Current and future use of chloroquine and hydroxychloroquine in infectious, immune, neoplastic, and neurological diseases: a mini-review. **Clinical drug investigation**, v. 38, n. 8, p. 653-671, 2018.

PONTICELLI, C.; MORÔNI, G. Hydroxychloroquine in systemic lupus erythematosus (SLE). **Expert Opinion On Drug Safety**, v. 16, n. 3, p. 411-419, 2016.

PROJEAN, D. et al. In vitro Metabolism Of Chloroquine: identification of CYP2C8, CYP3A4, and CYP2D6 as the main isoforms catalyzing n-desethylchloroquine formation **Drug Metabolism And Disposition**, v. 31, n. 6, p. 748-754, 2003.

QUINNEY, S. K. et al. Interaction between midazolam and clarithromycin in the elderly. British **Journal of Clinical Pharmacology**. v. 65, n.1, p. 98-109, 2008

RAKEDZON, S. et al. Hydroxychloroquine and Coronavirus Disease 2019: a systematic review of a scientific failure **Rambam Maimonides Medical Journal**, v. 11, n. 3, p. 1-25, 2020.

REDDY, V.P. et al. Pharmacokinetics under the COVID-19 storm. *Br J* Clin Pharmacol. p. 1-29, 2020.

RENY, L. J.; FONTANA, P. Antiplatelet drugs and platelet reactivity: is it time to halt clinical research on tailored strategies? **Expert Opinion On Pharmacotherapy**, v. 16, n. 4, p. 449-452, 2014.

RODGERS, T.; LAHY, D.; ROWLAND, M. et al. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-tostrong bases. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 6, p. 1259-1276, 2005.

RODGERS, T.; LAHY, D.; ROWLAND, M. Tissue Distribution of Basic Drugs: accounting for enantiomeric, compound and regional differences amongst β-blocking drugs in rat.**Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 6, p. 1237-1248, 2005.

ROSENKE, K. et al. Hydroxychloroquine Proves Ineffective in Hamsters and Macaques Infected with SARS-CoV-2. **Biorxiv**, 2020.

SAMANT, TS.; LUCAKOVA, V.; SCHMIDT, S. Development and Qualification of Physiologically Based Pharmacokinetic Models for Drugs With Atypical Distribution Behavior: a desipramine case study. **Cpt**: **Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 6, n. 5, p. 315-321, 2017.

SEÇKIN, et al. Hydroxychloroquine ototoxicity in a patient with rheumatoid arthritis. **Rheumatology international**, v. 19, n. 5, p. 203-204, 2000.

SELF, W. H. et al. Effect of hydroxychloroquine on clinical status at 14 days in hospitalized patients with COVID-19: a randomized clinical trial. **Jama**, v. 324, n. 21, p. 2165-2176, 2020.

SUNBERG-INGELMAN, M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionaryaspects and functional diversity. **The Pharmacogenomics Journal**, v. 5, n. 1, p. 6-13, 2004.

TANAKA, E. et al. Pharmacogenetics of disease-modifying anti-reumatic drug. **Best Practice& Research Clinical Rheumatology**, v. 18, p.233-247, 2004.

TETT, SE. et al. Concentration-effect relationship of hydroxychloroquine in patients with rheumatoid arthritis: a prospective, dose ranging study. The journal of **Rheumatology**, v. 27, n. 7, p. 1656-60, 2000.

TEORELL, T. Kinetics of distribution of substances administered to the body: the extravascular modes of administration. Archives internationals de pharmacodynamie et de therapie, v. 57, p. 205-225, 1937.

TETT, SE. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxychloroquine enantiomers in patients with rheumatoid arthritis receiving multiple doses of racemate. **Chirality**. v. 6, p. 355-359, 1994.

THOMAS, M. et al. The peroxisome proliferator-activated alpha receptor, PPAR $\alpha$ , directly regulates cytochrome P450 CYP2C8 transcription. Frontiers in **Pharmacology**, v. 6, p. 261, 2015.

THOMAS, M. et al. Direct transcriptional regulation of human hepatic cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) by peroxisome proliferator-activated alpha receptor (PPARα). **Molecular pharmacology**, v. 83, n. 3, p. 709-718, 2013.

TORNIO, A. et al. Trimethoprima and the CYP2C8\*3 allele have opposite effects on the pharmacokinetics of pyoglitazone. **Metabolism and disposal of drugs**, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2008.

TOTÁ, R. A.; RETTIE, A. E. Citocromo P450 2C8: substratos, inibidores, farmacogenética e relevância clínica. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 77, n. 5, pág. 341-352, 2005.

TOUTAIN, PL.; BOUSQUET-MÉLOU, A. Plasma clearance.Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics, v. 27, n. 6, p. 415-425, 2004.

VELASCO-GONZÁLEZ, V. et al. Hydroxychloroquine and Potential Drug

Interactions in Older Adults. Archivos de Bronconeumología, v. 56, n. 10, p. 679-681, 2020.

WADELIUS, M. et al. Induction of CYP2D6 in pregnancy. Clinical pharmacology and therapy, v. 62, n. 4, p. 400-407, 1997.

WENCKEBACH, K. F. Cinchona Derivatives In The Treatment Of Heart Disorders. **The Journal of the American Medical Association**, v. 81, n. 6, p.472-474, 1923.

XIAOPING, LV; ZHONG, F; TAN, X. P450 2C8 and drug metabolism. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 18, p. 2241-2253, 2013.

YOKOGAWA, et al. Influence of lipophilicity and lysosomal accumulation on tissue distribution kinetics of basic drugs: a physiologically based pharmacokinetic model. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 81-94, 2002.

YOKOTA, K. et al. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. **Pharmacogenetics**, v. 3, n. 5, p. 256-263, 1993.

YU, L. et al. Influence of CYP2C8 polymorphisms on the hydroxylation metabolism of paclitaxel, repaglinide and ibuprofen enantiomersin vitro. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 34, n. 5, p. 278-287, 2013.

YU, A. M.; IDLE, J. R.; GONZÁLEZ, F. J. Polymorphic cytochrome P450 2D6: humanized mouse model and endogenous substrates. **Drug metabolism** reviews, v. 36, n. 2, p. 243-277, 2004.

YUSUF, IH. et al. Hydroxychloroquine retinopathy. **Eye**, v. 31, n. 6, p. 828-845, 2017.

ZAHR, N. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxychloroquine in hospitalized patients with COVID-19. **Therapies**, v. 76, n. 4, p. 285-295, 2021.

ZANGER, UM.; RAIMUNDO, S.; EICHELBAUM, M. et al. Cytochrome P450 2D6: overview and update in pharmacology, genetics, biochemistry. **Pharmacology** archives of Naunyn-Schmiedeberg, v. 369, n. 1, p. 23-37, 2004.

ZANGER, UM. et al. Functional pharmacogenetics/genomics of p450 human cytochromes involved in drug biotransformation. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 392, n. 6, p. 1093-1108, 2008.

ZANGER, UM.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzymatic activities and impact of genetic variation. **Pharmacology and Therapy**, v. 138, n. 1, p. 103-141, 2013.

ZAPATA, LV. et al. Evidence of clinically significant drug interaction with concomitant use of colchicine and clarithromycin. **Drug safety**, v. 43, n. 7, p. 661-668, 2020.

ZHANG, M. et al. Development of a Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Hydroxychloroquine and Its Application in Dose Optimization in Specific COVID-19 Patients. **Frontiers In Pharmacology**, v. 11, p.585021, 2021.

ZHOU, S. F. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. **Current drug metabolism**, v. 9, n.4, p.310-322, 200