



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Francisco João Mota Batalha de Oliveira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacokinetic models and monitoring of direct oral anticoagulants” referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação da Dra. Maria João Pereira, da Dra. Ana Margarida Oliveira e da Professora Doutora Ana Cristina Fortuna, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

Francisco João Mota Batalha de Oliveira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacokinetic models and monitoring of direct oral anticoagulants” referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação da Dra. Maria João Pereira, da Dra. Ana Margarida Oliveira e da Professora Doutora Ana Cristina Fortuna, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

## Declaração de auditoria

Eu, Francisco João Mota Batalha de Oliveira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017257689 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacokinetic models and monitoring of direct oral anticoagulants” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2022.

  
\_\_\_\_\_

(Francisco João Mota Batalha de Oliveira)

## **Agradecimentos**

*A Coimbra, a cidade que levo sempre no coração, que parece tão pequeno na hora da despedida.*

*Aos meus pais, Paula e João, que me deram todo o apoio e confiança em todos os meus passos, que me tornaram no homem que sou hoje, e a quem os meus agradecimentos vão sempre parecer pouco. Espero que tenham em mim uma fração do orgulho que tenho neles.*

*À minha irmã Margarida, que é para mim um exemplo da pessoa que quero um dia tornar-me, que sempre esteve perto por mais longe que pudesse estar.*

*À Mariana, pelo amor incondicional, pela força que me dá, por estar sempre ao meu lado, por ser casa e pilar. As cores são todas mais vivas quando estás comigo.*

*À minha avó Rosa, sempre comigo em pensamento, ao teu sorriso contagiante que sempre traz o meu de arrasto.*

*Ao Rodrigo, o amigo, irmão que nunca tive e, provavelmente, padrinho de casamento pré-definido, palavras vão ser sempre pouco.*

*Aos amigos de Coimbra, às memórias que vão ficar para sempre, aos jantares, às saídas, e a todos os bons momentos no geral. Obrigado por viverem Coimbra comigo e por todo o apoio que me deram, sem vocês não era a mesma coisa.*

*Ao Paulo Rua, padrinho e amigo sempre presente, que sem ele ainda estaria tão perdido como no ano de caloiro.*

*Aos amigos de Pombal, porto de abrigo que me faz ser sempre a melhor versão de mim próprio, que os muitos anos que já passámos juntos se multipliquem muitas vezes.*

*À Dra. Maria Pereira e a toda a equipa do departamento de Estabilidades da Bluepharma Indústria, S. A, pela simpatia e dedicação em transmitir-me os seus conhecimentos.*

*À Dra. Ana Margarida Oliveira e ao Dr. Carlos Oliveira, pela oportunidade que me proporcionaram e pela disponibilidade e acessibilidade que sempre mostraram.*

*À toda a equipa da Farmácia Barros, pela forma que me receberam e sempre me ajudaram, pelo carinho e paciência, mas principalmente pela boa disposição contagiante que tornou esta experiência tão mais especial.*

*À Professora Doutora Ana Cristina Fortuna, pela orientação na monografia, por me ter despertado o interesse na área da farmacocinética e farmacoterapia personalizada, pela docente exímia que mostrou ser e pela sua dedicação e disponibilidade.*

*A todos vós, o meu profundo agradecimento.*

# ÍNDICE

## Capítulo I – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Análise SWOT.....	10
2.1 Pontos Fortes ( <i>Strenghts</i> ).....	10
2.1.1 Formação oferecida.....	10
2.1.2 Equipamento e condições de trabalho.....	10
2.1.3 Subsídio de alimentação.....	11
2.1.4 Filosofia <i>Kaizen</i> <sup>TM</sup> .....	11
2.2 Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ).....	12
2.2.1 Plano de estágio.....	12
2.2.2 Regime misto de teletrabalho.....	12
2.2.3 Remodelações nas imediações do local de trabalho.....	13
2.3 Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	13
2.3.1 Desenvolvimento de <i>soft skills</i> .....	13
2.3.2 Relevância no setor farmacêutico.....	13
2.4 Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	14
2.4.1 Plano de Estudos do MICEF.....	14
2.4.2 Centralização da Indústria Farmacêutica em Portugal.....	14
3. Considerações Finais.....	14
4. Referências Bibliográficas.....	15

## Capítulo II – Relatório de estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	17
1. Introdução.....	18
2. Farmácia Barros.....	18
3. Análise SWOT.....	19
3.1. Pontos Fortes ( <i>Strenghts</i> ).....	19
3.1.1 Equipa técnica.....	19
3.1.2 Gestão da farmácia.....	19
3.2 Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ).....	20
3.2.1 Aconselhamento de MNSRM.....	20
3.2.2 Receitas manuais e receitas de transição.....	20
3.2.3 Falta de confiança no estagiário.....	21
3.3 Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	21
3.3.1 Formação.....	21
3.3.2 Manipulados.....	21
3.4 Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	22
3.4.1 Pandemia de Covid-19.....	22
3.4.2 Espaço físico.....	22
4. Considerações finais.....	22
5. Casos Práticos.....	23
Caso I – Infecção Urinária.....	23

Caso II – Obstipação .....	24
Caso III – Rinite alérgica .....	24
Caso IV – Hipertensão arterial .....	25
Caso V – Sintomática na recuperação da infecção por SARS-Cov2.....	25
6. Referências Bibliográficas.....	26

### **Capítulo III – Monografia " Pharmacokinetic models and monitoring of direct oral anticoagulants"**

Abbreviations.....	28
Abstract .....	30
Resumo .....	31
1. Introduction.....	32
2. Dabigatran .....	33
2.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics.....	33
2.2 Pharmacokinetic models .....	34
2.2.1 P-gp-mediated drug-drug interactions .....	34
2.2.2 Age- and weight-adjusted dosing of dabigatran etexilate in children with venous thromboembolism .....	36
2.3 Sampling and monitoring.....	37
2.3.1 Capillary electrophoresis (CE) .....	37
2.3.2 LC-MS/MS.....	38
3. Apixaban.....	38
3.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics.....	39
3.2 PK models .....	40
3.2.1 DDI in renal impaired and paediatric populations .....	40
3.3 Sampling and monitoring.....	41
3.3.1 Coagulation Assays.....	41
4. Rivaroxaban .....	42
4.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics.....	42
4.2 PK models .....	43
4.2.1 Paediatric populations.....	43
4.2.2 Renal and hepatic impairment and DDI.....	44
4.3 Sampling and monitoring.....	45
4.3.1 Anti-factor Xa activity, PT and aPTT .....	45
4.3.2 Thromboelastography (TEG).....	46
5. Edoxaban .....	47
5.1 Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.....	47
5.2 PK models .....	48
5.2.1 P-gp influence.....	48
5.3 Sampling and monitoring.....	49
5.3.1 HPLC-DAD.....	49
5.3.2 Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS).....	50
6. Conclusion.....	50
7. Bibliography .....	52

# Capítulo I



## **Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica**

Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A.



## **Abreviaturas**

**BLPH** – Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S. A.

**DAG** – Departamento de Desenvolvimento Analítico e Galénico

**EC** – Estágio Curricular

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**HPLC** – *High performance liquid chromatography*

**IF** – Indústria Farmacêutica

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SOP** – *Standard Operating Procedure*

**SWOT** – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## I. Introdução

No final dos cinco anos do seu percurso académico no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) os estudantes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) deparam-se com um último desafio, o Estágio Curricular (EC). Esta unidade curricular engloba a realização do estágio em si, em uma ou mais áreas profissionais, e a elaboração e apresentação de uma monografia e de um relatório de estágio (Universidade de Coimbra, [s.d.]).

Dentro do vasto leque de saídas profissionais que o MICF oferece, a Indústria Farmacêutica (IF) mostra-se cada vez mais como uma área de grande relevo. Por essa razão a FFUC destaca-se pela oportunidade que é dada aos seus alunos para a realização de parte do seu EC nesta área profissional. Dentro do Plano Estudos do MICF constam unidades curriculares como Métodos Instrumentais de Análise, Tecnologia Farmacêutica e Assuntos Regulamentares do Medicamento (Universidade de Coimbra, [s.d.]) que nos dão algumas ferramentas para um possível futuro na área da IF, e foi pelo interesse que me despertaram estas unidades curriculares que escolhi realizar parte do meu EC na Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S. A. (BLPH).

A BLPH é um grupo farmacêutico que nasceu em 2001 após a aquisição das instalações do grupo alemão Bayer, em São Martinho do Bispo, Coimbra, onde é até hoje sediada. Presentes em todas as fases do ciclo de vida do medicamento, a BLPH é hoje uma referência no mercado farmacêutico nacional e internacional, estando presente em mais de 100 países e exportando mais de 88% da sua produção (Bluepharma Marketing & Communication, 2021). Todos estes fatores cativam para os alunos da FFUC aquando do planeamento do seu EC, aos quais se juntam, no meu caso em particular, a proximidade de Coimbra e o método de seleção dos candidatos ao estágio.

Entre os treze departamentos à escolha no processo de candidatura, fiz, como me foi solicitado, uma pré-seleção dos três nos quais desejava estagiar. Foram eles os departamentos de Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação, Controlo de Qualidade e Investigação e Inovação, muito devido ao interesse que tinha pela prática laboratorial, que mencionei na entrevista presencial. Terminado o processo de seleção, fui colocado no departamento de Desenvolvimento de Produto na Unidade Analítica (recentemente reestruturado e agora designado Departamento Analítico e Galénico (DAG)), mais concretamente na área documental da secção de Estabilidades, sob a orientação da minha coordenadora de estágio, Dra. Maria João Pereira.

O estágio iniciou-se a 10 de janeiro e terminou dia 31 de março de 2022, tendo a duração aproximada de três meses. O presente relatório apresenta uma análise SWOT do trabalho desenvolvido e dos conhecimentos adquiridos durante este período, elaborando os seus pontos fortes (S, *strengths*), os seus pontos fracos (W, *weaknesses*), oportunidades (O, *opportunities*) e ameaças (T, *threats*).

## **2. Análise SWOT**

### **2.1 Pontos Fortes (*Strengths*)**

#### **2.1.1 Formação oferecida**

Durante praticamente todo o estágio na BLPH, os estagiários receberam formação nos mais diversos assuntos, desde formação específica de trabalho laboratorial, como pesagem de substâncias perigosas e uso de equipamentos HPLC (*high performance liquid chromatography*), até à cibersegurança e ao funcionamento do sistema de cópias controladas, com um grande ênfase na segurança no trabalho.

Estas formações deram-me uma perspetiva das diferentes funções desempenhadas em cada departamento, e do funcionamento geral da empresa. Os formandos eram posteriormente sujeitos a uma breve avaliação, que, caso não fosse realizada com sucesso, implicava a frequência a uma sessão de esclarecimento, solidificando os conhecimentos adquiridos.

Foi-me também facultado acesso aos Procedimentos Operacionais Normalizados (SOP, *Standard Operating Procedures*) do DAG, que complementados com as várias horas de formação, dada na sua maioria pela Dra. Maria João Pereira, especificamente sobre o trabalho de documentação no departamento de Estabilidades, me deram as bases necessárias para desempenhar as funções que me foram designadas.

#### **2.1.2 Equipamento e condições de trabalho**

Logo no início do estágio foi distribuído por todos os estagiários uma mochila, um computador portátil com todo o *software* que necessitaríamos, um rato *wireless*, um teclado e um *headset*, aliviando os estagiários da necessidade de utilização dos seus bens pessoais e até do encargo financeiro que teriam de acarretar caso fosse necessário adquirir novos equipamentos. Aliado a isto, as instalações da BLPH possuem pequenos espaços de refeição, onde todos os colaboradores dispõem gratuitamente de fruta e café, bem como de uma cantina, permitindo trazer as suas próprias refeições ou aproveitar as refeições (a preço acessível e de boa qualidade) que eram oferecidas. Sensivelmente passado um mês desde o

começo do meu estágio foi também inaugurado um novo parque de estacionamento, reservado aos colaboradores da BLPH e que resolveu a escassez de lugares que há muito se observava para quem, como eu, se deslocava de automóvel para as instalações.

De um modo geral, foi bastante visível a preocupação demonstrada pela BLPH quanto ao bem-estar, não só dos seus colaboradores, como também dos seus estagiários. Estes são, na minha opinião, tratados como funcionários da empresa, integrados como parte da equipa e motivados a dar o seu melhor, criando uma boa perspectiva para todos os interessados em ingressar numa possível carreira profissional na área da IF.

### **2.1.3 Subsídio de alimentação**

A BLPH dá também aos seus estagiários, de forma igual a qualquer colaborador, um cartão refeição com valor monetário que pode ser utilizado na cantina das suas instalações, ou em superfícies comerciais e restaurantes diversos. Este incentivo é uma mais-valia não só pelas razões monetárias, mas por mais uma vez mostrar igualdade com os colaboradores efetivos da empresa.

### **2.2.4 Filosofia Kaizen™**

O método de trabalho na BLPH assenta na filosofia *Kaizen*™. O Instituto Kaizen define *Kaizen* como uma metodologia de melhoria contínua que envolve tanto administradores como colaboradores, procurando obter melhorias sustentáveis que ofereçam uma vantagem competitiva no seu mercado (Kaizen Institute, n.d.).

Na prática, esta filosofia era aplicada na parte documental do departamento de estabilidades através da elaboração do planeamento semanal onde cada elemento da equipa era proposto a um conjunto de objetivos. O progresso de cada um era registado periodicamente através de uma reunião diária onde cada um partilhava as tarefas já realizadas e poderia tirar dúvidas com o resto da equipa.

A minha experiência com este método foi positiva, dada a liberdade oferecida para desempenhar as tarefas que me foram incumbidas, de uma forma que me fosse mais conveniente, ao mesmo tempo mantendo-me ao corrente do meu progresso e dos objetivos a cumprir, reduzindo o *stress* e aumentando a qualidade do meu trabalho.

## **2.2 Pontos Fracos (Weaknesses)**

### **2.2.1 Plano de estágio**

A minha colocação na parte documental do departamento de Estabilidades causou-me alguma surpresa e um certo descontentamento, visto que um dos principais objetivos da minha candidatura se refletia numa experiência em contexto laboratorial na IF. Esta era uma das minhas perspetivas para uma futura carreira profissional, o que mencionei na minha entrevista presencial aquando da minha candidatura, e a realização de um estágio nesta área poderia elucidar-me sobre o quotidiano da prática laboratorial, oportunidade que não tive durante o meu estágio na BLPH.

Notei, por vezes, algumas lacunas no meu plano de estágio, dado que as minhas funções no departamento não me pareceram totalmente definidas. Talvez motivada pela falta de tempo causada pelo aumento da carga de trabalho que se verifica nos meses de janeiro e fevereiro (devido à saída e análise de muitas amostras das câmaras de estabilidade nestas datas), pareceu-me haver alguma desorganização na atribuição das minhas funções, que me pareceram muitas vezes improvisadas, dando a sensação de que a minha chegada ao departamento não foi planeada convenientemente.

Algumas das funções que desempenhei foram a revisão de diários laboratoriais, a elaboração de relatórios formais de estabilidade e organização de arquivo. Esta última, que ocupou uma percentagem significativa das horas totais do meu estágio, foi para mim uma função pouco enriquecedora e muito pouco relacionada com a preparação que me foi dada durante o MICEF, envolvendo apenas a organização por ordem sequencial de um grande número de sequências de análise.

No geral, penso que a minha colocação no departamento de Estabilidades, apesar de me ter dado uma perspetiva geral do funcionamento da IF, não me permitiu esclarecer muitas das dúvidas que tinha quanto à IF como saída profissional. Isto também é muito devido ao facto do curto tempo de estágio, que só permite ao estagiário experienciar uma pequena parte do setor da IF, e esta não está à sua escolha.

### **2.2.2 Regime misto de teletrabalho**

O estágio decorreu em regime misto, maioritariamente em teletrabalho e com alguns dias de trabalho presencial. O horário de trabalho era das 9h às 18h, no entanto, devido à pandemia de SARS-CoV-2, os colaboradores e estagiários foram divididos por turnos que

alternavam semanalmente, sendo que o primeiro turno apenas poderia estar presencialmente nas instalações das 9h às 15h30 e o segundo das 16h às 18h.

Estes horários foram, na minha opinião, prejudiciais numa questão de produtividade, especialmente nas semanas em que estive no segundo turno. A deslocação para as instalações acarreta um gasto de tempo uma quebra do ritmo de trabalho, que muitas vezes parece não ser compensado pelas duas horas de trabalho presencial. Além disso, a divisão dos colaboradores por turnos dificulta a formação de boas relações de trabalho, especialmente com os colegas do turno oposto, numa altura em que devido ao teletrabalho, elas já eram difíceis de formar.

### **2.2.3 Remodelações nas imediações do local de trabalho**

Durante todo o decorrer do meu estágio na BLPH, as instalações e, mais precisamente, o local de trabalho do departamento de Estabilidades encontravam-se em trabalhos de remodelação. Embora essenciais para a melhoria do espaço de trabalho, os trabalhos conduzidos provocavam ruído que muitas vezes destabilizava os trabalhadores que se encontravam em trabalho presencial, afetando a produtividade e bem-estar.

## **2.3 Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1 Desenvolvimento de *soft skills***

O trabalho que desenvolvi no meu estágio na BLPH trouxe-me valências que serão certamente uma mais-valia para o meu futuro enquanto profissional, principalmente na área da IF. Desde o relacionamento com colegas de trabalho no mundo profissional como a criação de hábitos de trabalho, pude também aprofundar os meus conhecimentos em inglês, especialmente o vocabulário técnico utilizado na IF. Adquiri também conhecimentos em softwares como o Word e Excel do Microsoft Office, que utilizei extensivamente durante o meu estágio para a elaboração de relatórios de estabilidade. Estes conhecimentos cedo provaram a sua utilidade, facilitando-me a elaboração do presente documento.

### **2.3.2 Relevância no setor farmacêutico**

O departamento de Estabilidades é por si só um pequeno negócio dentro da própria BLPH, sendo que várias empresas contratam os seus serviços para a realização de ensaios de estabilidade nos seus produtos. Esta presença da BLPH nos mercados internacionais deu-me a oportunidade de conhecer outras empresas de relevo no setor da IF, perspetivando as diferenças a nível dos requisitos regulamentares entre países e zonas distintos.

Dentro do mercado nacional, a BLPH é uma referência na zona centro, que desde a sua fundação se encontra em constante expansão. Além das instalações em São Martinho do Bispo e em Taveiro, foi recentemente construída uma nova unidade industrial em Eiras e apresentado o projeto Bluepharma Park, um *cluster* farmacêutico que representa grande investimento no setor da IF em Portugal que poderá trazer mais oportunidades para os jovens farmacêuticos da zona centro, atraindo outras empresas do setor.

## **2.4 Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1 Plano de Estudos do MICF**

Existem no Plano de Estudos do MICF várias unidades curriculares que focam o ramo da Farmácia Comunitária e aconselhamento terapêutico, no entanto, a IF parece não ter o mesmo destaque, deixando os alunos, por vezes, com uma fraca noção da diversidade de oportunidades e saídas profissionais oferecidas neste setor. Sendo a IF uma área que tem absorvido do mercado de trabalho cada vez mais jovens farmacêuticos, penso que o Plano de Estudos está um pouco desatualizado neste aspeto. Embora unidades curriculares como Tecnologia Farmacêutica, Assuntos Regulamentares do Medicamento e Gestão e Garantia de Qualidade forneçam aos alunos os conhecimentos teóricos que os preparam para um futuro na IF, de um ponto de vista prático os alunos ficam com poucas noções do funcionamento de uma empresa deste setor e da forma como as diferentes áreas se interligam num contexto real.

### **2.4.2 Centralização da Indústria Farmacêutica em Portugal**

A IF em Portugal encontra-se altamente centralizada em Lisboa, principalmente se considerarmos apenas as unidades de produção de medicamentos (*Associados Archive - Apifarma*, [s.d.]). Visto que a deslocação que acarreta um estágio fora da zona centro do país é muitas vezes inconveniente para os estudantes da Universidade de Coimbra, estes vêem-se limitados em termos do número de empresas que estão ao seu alcance, como a BLPH.

A vinda de mais empresas do setor para a zona centro, como está a ser tentado com a construção do Bluepharma Park, não só seria benéfica para os farmacêuticos da zona centro, como também para as empresas em si, que atrairiam mais investidores e recursos humanos.

## **3. Considerações finais**

O estágio na BLPH foi para mim uma experiência enriquecedora que, mesmo não correspondendo a todas as minhas expectativas, deu-me conhecimentos e mais valias que certamente me fizeram evoluir enquanto futuro profissional e farmacêutico. É de louvar a

oportunidade que é oferecida pela FFUC aos seus alunos da realização de parte do seu estágio na IF, um setor com uma preponderância cada vez maior nas saídas profissionais dos jovens farmacêuticos.

Sinto que termino este EC com uma nova perspetiva do papel do farmacêutico na IF, mas também com uma melhor noção da importância da ética profissional, deontologia e espírito de ajuda entre colegas de trabalho, valores que me foram sendo transmitidos pela equipa que me acolheu durante este estágio. Deixo, portanto, um forte agradecimento ao grupo Bluepharma pela oportunidade que me proporcionou, em especial à equipa documental do departamento de Estabilidades e à Dra. Maria João Pereira, pela dedicação e apoio incansável que demonstraram.

#### **4. Referências Bibliográficas**

**Associados Archive - Apifarma** - [Consult. 4 set. 2022]. Disponível em: <https://www.apifarma.pt/quem-somos/associados/>

BLUEPHARMA MARKETING & COMMUNICATION - With eyes set on the future. **blue - Magazine of Bluepharma Group**. 2021).

KAIZEN INSTITUTE - **O que é o KAIZEN™** [Consult. 2 set. 2022]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen>

UNIVERSIDADE DE COIMBRA - **Plano de Estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas** [Consult. 30 ago. 2022]. Disponível em: [https://apps.uc.pt/courses/PT/programme/1172/2022-2023?id\\_branch=21781](https://apps.uc.pt/courses/PT/programme/1172/2022-2023?id_branch=21781)



# Capítulo II



## Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Barros

## **Abreviaturas**

**EC** – Estágio Curricular

**FB** – Farmácia Barros

**FC** – Farmácia Comunitária

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**PE** – Plano de Estudos

**UC** – Unidades Curriculares

## **I. Introdução**

Em termos sucintos, o Farmacêutico é definido como um especialista do Medicamento, atuando junto do utente como agente promotor da saúde pública na primeira linha de cuidados de saúde. Assim, a Farmácia Comunitária é o ramo onde estão se reúnem todas as condições necessárias para que exerça as suas funções com todo o rigor, dignidade, confiança, competência e responsabilidade que são inerentes ao exercício desta profissão.

Numa altura em que as competências do Farmacêutico Comunitário se tornam cada vez mais abrangentes, é necessário que, paralelamente, seja exigido cada vez mais rigor e responsabilidade. Nesse sentido, o Estágio Curricular (EC) em Farmácia Comunitária mostra-se vital na formação de farmacêuticos que estejam à altura das necessidades da comunidade.

Este Estágio, parte integrante do Plano de Estudos (PE) do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), tem como objetivo aliar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo dos 5 anos do MICF, em Unidades Curriculares (UC) como Farmacologia, Deontologia e Legislação Farmacêutica e Organização e Gestão Farmacêutica, ao exercício profissional, permitindo a consolidação e aprofundamento destes mesmos conhecimentos, bem como a sua adaptação ao contexto real. O seu objetivo prende-se em dar aos futuros farmacêuticos as ferramentas necessárias ao desempenho das suas funções.

O meu EC foi realizado na Farmácia Barros (FB) em Pombal, tendo a minha escolha sido baseada na experiência positiva que tive no estágio de verão, onde tive a oportunidade de conhecer a equipa da FB, que me acolheu de forma calorosa, mostrando-se sempre disponível para esclarecer todas as minhas dúvidas e auxiliar em tudo o que necessitasse. Estagiei sob orientação da Dra. Ana Margarida Oliveira, nos meses de abril, maio, junho e julho e, adicionalmente, no verão de 2020, como estágio de verão, complementar ao Estágio Curricular.

## **2. Farmácia Barros**

A Farmácia Barros está situada na Avenida Heróis do Ultramar n.º 99, em Pombal, perto do Centro de Saúde de Pombal e do Hospital Distrital de Pombal, entre outros estabelecimentos de saúde, como clínicas dentárias, centros de fisioterapia e clínicas veterinárias. A Diretoria Técnica está ao cargo da Dra. Ana Margarida Oliveira.

Com mais de 80 anos de existência, a FB é hoje uma referência para muitos pombalenses, muito devido às relações já formadas com o pessoal da farmácia, cujo foco

absoluto é no utente. Isto reflete-se na qualidade do atendimento, que atrai habitantes que abrangem diferentes estratos culturais e socioeconómicos, oriundos de todas as treze freguesias do concelho de Pombal.

A FB oferece também diversos serviços como a medição do colesterol total, pressão arterial, glicémia, peso e altura e, mais recentemente, exame de medição ambulatória da pressão arterial (MAPA) de 48h.

Nos dias úteis, o horário da farmácia é das 9h às 19h30 e aos sábados das 9h às 13h. Adicionalmente, de 4 em 4 semanas, efetua serviço permanente que alterna entre as 4 farmácias locais, estando em funcionamento 24h durante os 7 dias correspondentes conforme o Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de agosto (Decreto-Lei n.º 172/2012, 2012).

### **3. Análise SWOT**

#### **3.1. Pontos Fortes (Strengths)**

##### **3.1.1 Equipa técnica**

Desde o primeiro dia, a equipa da FB esforçou-se para me integrar rapidamente na dinâmica da farmácia e mostrou-se sempre prontamente disponível para esclarecer qualquer dúvida que pudesse surgir e para me auxiliar em tudo o que fosse necessário. Isto levou a que fosse desenvolvida uma boa relação estagiário/equipa, o que se revelou uma mais-valia no decorrer do meu EC e no desenvolvimento de conhecimentos e competências que me ajudaram a crescer enquanto futuro farmacêutico e profissional de saúde.

Para além do mais, foram-me transmitidos valores essenciais por parte de todos os colaboradores, quer no que diz respeito ao trabalho individual de cada um, que mostrou ser movido pela responsabilidade, seriedade, empatia pelo utente e dignidade, quer no que concerne ao trabalho de equipa, que tem como peças basilares a entreaajuda, a confiança e o respeito por cada um dos colegas.

##### **3.1.2 Gestão da farmácia**

Na FB dá-se um especial foco ao *marketing* e *merchandising*, sendo estas estratégias fundamentais para a subsistência da farmácia antes das mudanças de instalações, quando o acesso à farmácia era de maior dificuldade traduzindo-se numa menor afluência.

As campanhas promocionais são pensadas continuamente, alterando-se frequentemente a disposição dos produtos na farmácia. Utilizam-se gôndolas e expositores para dar maior destaque no interior da farmácia, assim como suportes multimédia,

nomeadamente os ecrãs na fachada e montras. As redes sociais são também cada vez mais usadas na promoção da campanhas e informação do público. A organização e cuidado na disposição dos produtos expostos são também evidentes, com especial atenção aos produtos de venda sazonal.

Outro grande foco na gestão da farmácia tem que ver com os preços dos produtos não sujeitos a receita médica. O Dr. Carlos Oliveira, proprietário da farmácia, faz uma gestão minuciosa de *stocks*, muitas vezes encomendando grandes quantidades de produtos para prevenir uma eventual subida de preços, ou até a sua rotura, o que se aplica também aos MSRM. Esta preocupação tem o seu fundamento na relação próxima com o utente, que muitas vezes vê com desconfiança uma subida no preço de um produto que compra habitualmente, mantendo assim a confiança da clientela e a boa reputação da FB.

Ao observar estas práticas pude reforçar os conhecimentos que adquiri em UC como Organização e Gestão Farmacêutica e Marketing Farmacêutico (Universidade de Coimbra, [s.d.]), mais ainda, ganhei uma perspetiva de todas as dimensões da prática farmacêutica no ramo da FC.

## **3.2 Pontos Fracos (*Weaknesses*)**

### **3.2.1 Aconselhamento de MNSRM**

Em contexto de FC, existe, atualmente, uma grande variedade de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica, muitos com as mesmas indicações terapêuticas, que diferem em pequenos pormenores relativos à sua composição, método de toma ou, simplesmente, no seu *stock* disponível e margem de lucro para a farmácia. Quando comecei o atendimento ao balcão foi para mim difícil o aconselhamento destes produtos quando o utente não tinha uma ideia definida do que pretendia,

Esta dificuldade levou a que fosse muitas vezes necessário recorrer à opinião dos colegas, que por serem mais experientes e por terem já recebido mais formações acerca dos diversos produtos, têm mais conhecimento acerca dos mesmos.

### **3.2.2. Receitas manuais e receitas de transição**

Uma das dificuldades com que me deparei no atendimento ao público diz respeito às receitas de prescrição manual e às de prescrição eletrónica materializada. Atualmente, o contacto com este tipo de receitas é escasso, o que faz com que haja mais dificuldade no seu processamento.

No caso das receitas de prescrição eletrónicas materializadas, o problema intensificava-se nos meses de verão (coincidentes com o período do meu EC), onde a afluência de utentes emigrantes, que apresentam usualmente este tipo de receita, aumenta consideravelmente, e o processo associado à dispensa de produtos comparticipados foi, para mim, complexo de assimilar. Já no que concerne às receitas manuais, a questão prende-se com o facto de serem muitas vezes de difícil interpretação ou apresentarem falta de dados. Tudo isto originou situações de transtorno devido a muitas vezes ter de pedir auxílio aos colegas de equipa mais experientes, aumentando o tempo de espera do utente e muitas vezes tendo de interromper o trabalho dos colegas.

### **3.2.3. Falta de confiança no estagiário**

Apesar da grande maioria dos utentes demonstrarem confiança no meu atendimento e aconselhamento enquanto futuro farmacêutico, fui confrontado com casos em que esta confiança não foi tão notória. Fui por vezes confrontado com utentes que insistiram em ser atendidos por colegas mais experientes, retirando-me algumas oportunidades de aprendizagem.

## **3.3 Oportunidades (*Opportunities*)**

### **3.3.1 Formação**

Ao longo dos quatro meses de EC tive a oportunidade de assistir a algumas formações dadas quer por pessoal da FB quer por delegados de vendas. Essas formações incidiram tanto em categorias gerais, como cosmética e puericultura, como em novos produtos específicos das mais variadas categorias.

Assim, considero que todos os conhecimentos adquiridos constituíram uma mais-valia para o desenvolvimento do meu estágio curricular, uma vez que resultaram num aumento de confiança aquando do aconselhamento farmacêutico, o que faz com que o utente saia da farmácia esclarecido e certo de que adquiriu os produtos mais adequados às suas necessidades.

### **3.3.2 Manipulados**

No decorrer do estágio foi-me também dada a oportunidade enriquecedora de preparar alguns manipulados, um dos serviços prestados pela FB. Isto permitiu-me explorar mais um ramo na área da FC, sendo esta uma prática pouco comum, atualmente, nas farmácias de oficina.

Aquando da realização destas tarefas foram bastantes úteis os conhecimentos adquiridos em UC como Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica, além de toda a prática laboratorial que está incluída no PE do MICF.

### **3.4 Ameaças (*Threats*)**

#### **3.4.1 Pandemia de COVID-19**

Durante o meu período de estágio, a pandemia de COVID-19 foi ainda um fator que impactou negativamente a farmácia e o meu EC. A realização de testes rápidos de antigénio (TRAg) na FB teve sempre uma grande afluência, o que obrigava a dispensa para estas funções de pelo menos um farmacêutico, causando muitas vezes constrangimentos no atendimento ao balcão, principalmente em horas de ponta, em que o tempo de espera dos utentes aumentava consideravelmente.

O início do meu estágio passou muitas vezes por fazer o registo dos resultados dos testes TRAg na plataforma Sifarma<sup>®</sup> e Sinave<sup>®</sup>, o que me ajudou a ganhar alguma prática no uso do Sifarma<sup>®</sup>, mas que por outro lado atrasou um pouco o meu progresso para o atendimento ao público.

Depois da minha passagem para o atendimento ao público pude também experienciar as dificuldades de comunicação resultantes do uso de máscara. As dificuldades em entender o cliente e vice-versa eram frequentes, havendo até casos de utentes com surdez ou dificuldades auditivas profundas, que dependiam da leitura de lábios para interpretar que lhes era transmitido, onde fui obrigado a recorrer à escrita, dificultando imenso o aconselhamento.

#### **3.4.2. Espaço físico**

A FB mudou de instalações em outubro de 2021, perdendo muito espaço de armazém, o que causa algum transtorno a nível logístico, visto que muitas vezes era difícil arrumar o *stock* de excedentes.

Esta diminuição do espaço fez também com que não fosse tão fácil definir locais para formações ou outros serviços da farmácia, como consultas de nutrição ou realização de testes rápidos de antigénio para a COVID-19.

## **4. Considerações Finais**

Mais que um espaço de saúde, a farmácia comunitária é o elo entre os utentes e a terapêutica que lhes é indispensável. Como agente promotor de saúde, cabe ao farmacêutico tornar a farmácia num local onde os utentes podem depositar a sua confiança nos momentos

de maior fragilidade, e para isso tem de estar preparado para qualquer situação, atuando de forma assertiva, rigorosa e responsável, procurando sempre expandir os seus conhecimentos e melhorar continuamente enquanto profissional. Foi com esta mentalidade que comecei o meu EC neste ramo.

O estágio na FB foi, para mim, uma experiência imprescindível para a minha formação enquanto profissional e farmacêutico. A minha evolução no atendimento ao público foi para mim evidente, muito devido ao constante acompanhamento por parte do pessoal da farmácia. Os conhecimentos que adquiri abriram-me portas para o meu ingresso no mercado de trabalho, onde espero encontrar uma equipa como a da FB, profissionais com paixão pela profissão e com uma empatia pelo utente que certamente levarei como referência para a minha vida profissional.

Pessoalmente, desenvolvi o meu sentido de responsabilidade e maturidade à medida que me deparei com o facto de o meu trabalho impactar diretamente a saúde dos utentes. Consolidei também os conhecimentos adquiridos durante o MICF que me auxiliaram durante todo o EC.

## **5. Casos Práticos**

### **Caso I – Infecção Urinária**

Uma utente do sexo feminino, com cerca de 40 anos, desloca-se à farmácia com queixas de ardor ao urinar e um desconforto permanente que diz ser associado a uma infeção urinária, sendo esta uma situação recorrente nesta utente, que revela já ter tido os mesmos sintomas três vezes nos últimos três meses. Nas últimas duas vezes diz ter tomado o antibiótico fosfomicina, prescrito pelo seu médico de família, que resolveu a situação rapidamente. Acrescentou que desta vez os sintomas não pareciam tão agravados e, estando ciente dos riscos da toma frequente de antibióticos, pretendia experimentar um tratamento não farmacológico.

Inicialmente, alertei para a importância de um consumo apropriado de água, realçando também que uma higiene íntima apropriada era vital nestas situações. Informei a utente da existência de suplementos de arando vermelho e uva ursina, indicados tanto no tratamento como na prevenção das infeções urinárias.

Recomendei-lhe, portanto, o gel íntimo Lactacyd® Prebióticos, para uma higiene íntima reforçada com pré-bióticos que ajudam a manter o equilíbrio da microflora vaginal (*Lactacyd Prebiótico* | *Lactacyd - Lactacyd*, [s.d.]), e os suplementos Advancis® Uritabs, com arando



vermelho e uva-ursina, numa posologia de duas cápsulas depois do pequeno-almoço e jantar, até os sintomas atenuarem, e nos dias seguintes, uma cápsula depois do pequeno-almoço como prevenção de recidivas (*Advancis Uritabs - Cuidados Femininos | Advancis, [s.d.]*). Caso não visse melhorias com este tratamento, reforcei a importância de consultar um médico especialista, informando a utente da existência de vacinas que poderiam adequar-se à sua situação. A utente adquiriu os produtos aconselhados.

## **Caso II – Obstipação**

Uma utente idosa, do sexo feminino, chega à farmácia com queixas de obstipação, informando-me que já não defeca há cerca de 5 dias. Informou que “quase todas as semanas” utiliza comprimidos Dulcolax<sup>®</sup> que lhe foram inicialmente prescritos para um exame de colonoscopia, embora desta vez não pareçam ter surtido efeito, já tendo passado 2 dias desde a sua toma.

Depois de algumas breves questões sobre medicação habitual e hábitos alimentares, informei-a dos riscos associados à toma regular de laxantes de ação local, que podem causar habituação, devendo ser usados apenas em casos pontuais de obstipação, ou quando necessária uma completa evacuação intestinal para exames de diagnóstico. Adicionalmente, após ter observado que a pele da utente apresentava sinais de desidratação, alertei para a necessidade de uma ingestão abundante de água para um tratamento eficaz da obstipação.

Por fim, recomendei uma dieta pobre em gorduras e carnes processadas, evitando quanto possível o leite, mas rica em fibras, com abundância de legumes, frutos com casca e leguminosas. Aconselhei também as saquetas Dulcosoft<sup>®</sup>, um laxante osmótico que contém Macrogol 4000, acompanhado de uma elevada ingestão de líquidos.

## **Caso III – Rinite alérgica**

JM de 55 anos, deslocou-se à farmácia com uma crise de rinite alérgica, apresentando dores de cabeça fortes e congestão nasal. Natural de França, diz que estas crises alérgicas são recorrentes quando viaja para Portugal, sendo normalmente resolvidas com a toma de Sinutab II<sup>®</sup>, medicamento que desejava adquirir.

Por apresentar uma forte constituição física, e dados os efeitos adversos da pseudoefedrina, tive a precaução de averiguar se sofreria também de hipertensão. Visto ser cliente habitual da farmácia, pude aceder ao seu histórico de medicação no sistema Sifarma<sup>®</sup>, onde pude constatar que o utente era medicado com Telmisartan/Hidroclorotiazida 80 mg+25 mg. Após questionar o utente, pude confirmar o seu quadro de hipertensão.

Alertei-o para os possíveis efeitos adversos da toma de Sinutab II<sup>®</sup>, que pode causar uma descompensação da sua pressão arterial. Recomendei então a sua substituição pelo Telfast 120<sup>®</sup>, um anti-histamínico indicado para a rinite sazonal. Informei que, durante a sua estadia em Portugal, seria benéfica a lavagem diária das fossas nasais usando uma solução isotónica como Rhinomer<sup>®</sup>. O utente aceitou a sugestão relativamente ao Telfast 120<sup>®</sup>, não sendo necessário o spray de lavagem das fossas nasais, visto que já o tinha adquirido anteriormente.

#### **Caso IV – Hipertensão arterial**

Um utente com cerca de 80 anos, do sexo masculino, cliente habitual da farmácia, queixa-se de dor de cabeça, persistente já há dois dias, afirmando “sentir o coração a bater na cabeça”. Questionei-o se tomava algo para o controlo da pressão arterial, ao que me respondeu afirmativamente. Fiz mais algumas questões sobre a medicação, às quais me foi respondendo mostrando alguma confusão, trocando muitas vezes os nomes dos medicamentos e a sua posologia. Recomendei-lhe que fizesse a medição da tensão arterial, serviço prestado pela FB.

Ao proceder com a medição, o utente registou valores de 175 mmHg para a pressão sistólica e 136 mmHg para a pressão diastólica. Pedi ao utente para aguardar alguns minutos para que pudesse confirmar os valores, que se registaram novamente muito acima dos valores recomendados. Encaminhei o utente para o hospital mais próximo, recomendando-lhe que revesse a sua medicação com o médico.

#### **Caso V – Sintomática na recuperação da infeção por SARS-CoV2**

JS, utente com 38 anos do sexo feminino, educadora de infância, chega à FB com uma receita da medicação da sua mãe. Após dispensada, queixou-se de fadiga que sentia desde que esteve em quarentena, infetada com SARS-CoV2, o que causava bastante transtorno tendo em conta a sua profissão. Além disso, sentia ainda bastante expetoração, que a incomodava principalmente de noite. Procurava recomendações de algum suplemento para a fadiga e de algo que ajudasse a expulsar as secreções.

Sugeri-lhe então um suplemento de magnésio e umas pastilhas efervescentes de acetilcisteína. Aconselhei-lhe também a ingestão de bastante água para fluidificar a expetoração e que elevasse o torço quando se deitasse, para que a expetoração não fosse tão incomodativa.

## 6. Referências Bibliográficas

**Advancis Uritabs - Cuidados Femininos | Advancis** - [Consult. 6 set. 2022]. Disponível em: <https://www.advancispharma.com/pt/cuidados-femininos/uritabs/>

**Decreto-Lei n.º 172/2012** - atual. 1 ago. 2012. [Consult. 6 set. 2022] Disponível em: <https://dre.tretas.org/dre/302743/decreto-lei-172-2012-de-1-de-agosto#anexos>

**Lactacyd Prebiótico | Lactacyd - Lactacyd** - [Consult. 6 set. 2022]. Disponível em: <https://www.lactacyd.pt/lactacyd/portfolio/lactacyd-prebiotico/>

UNIVERSIDADE DE COIMBRA - **Plano de Estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas** [Consult. 30 ago. 2022]. Disponível em: [https://apps.uc.pt/courses/PT/programme/1172/2022-2023?id\\_branch=21781](https://apps.uc.pt/courses/PT/programme/1172/2022-2023?id_branch=21781)

# **Capítulo III**

## **Monografia**

“Pharmacokinetic models and monitoring of direct oral anticoagulants”

Orientado pela Professora Doutora Ana Cristina Fortuna

## Abbreviations

**ADME** – Absorption, distribution, metabolism and excretion

**AF** – Arterial Fibrillation

**AFMC** – Analyte focusing by micelle collapse

**aPTT** – Activated partial thromboplastine time

**AUC** – Area under the curve

**BCRP** – Breast cancer resistance protein

**BGS** – Background solution

**BID** – Twice daily

**C<sub>24h</sub>** – Concentration after 24 hours

**CAT-II** – Calibrated automated thrombogram II

**CE** – Capillary electrophoresis

**CES-1** – Carboxylesterase I

**CES-2** – Carboxylesterase 2

**CL<sub>int</sub>** – Intrinsic clearance

**C<sub>max</sub>** – Peak concentration

**C<sub>ss,min</sub>** – Trough of concentration at steady state

**CYP** – Cytochrome P450

**DABE** – Dabigatran etexilate

**DAD** – Diode array detection

**DDI** – Drug-drug interactions

**DOAC** – Direct oral anticoagulant

**dRVVT** – Dilute Russel viper venom time

**FASI** – Filled amplified or enhanced sample injection

**FDA** – Federal Drug Administration

**FXa** – Coagulation factor Xa

**HPLC** – High performance liquid chromatography

**ID** – Once daily

**IV** – Intravenous

**K<sub>b</sub>** – Base dissociation constant

**LC-MS/MS** – Liquid chromatography with tandem mass spectrometry

**log P** – Partition coefficient

**MD** – Multiple dose

**MS/MS** – Tandem mass

**PBPK model** – Pharmacologically based pharmacokinetic model

**PD** – Pharmacodynamic

**P-gp** – P-Glycoprotein

**PK** – Pharmacokinetic

**pK<sub>a</sub>** – Acid dissociation constant

**PT** – Prothrombine time

**SD** – Single dose

**SDS** – Sodium dodecyl sulphate

**SOC** – Standard of care

**t<sub>1/2</sub>** – Half-life time

**TAG** – Thromboelastography

**t<sub>max</sub>** – Time to achieve peak concentration

**TT** – Thrombine time

**UGT2B15** – UDP Glucuronosyltransferase Family 2 Member B15

**UPLC** – Ultra performance liquid chromatography

**UV** – Ultraviolet

**VKA** – Vitamin K antagonists

**V<sub>max,CES1</sub>** – CES-I maximum velocity

**V<sub>max,P-gp</sub>** – P-gp maximum velocity

**V<sub>ss</sub>** – Distribution volume at steady state

**VTE** – Venous thromboembolic events

## Abstract

Direct oral anticoagulants (DOAC) selectively and reversibly inhibit coagulation factors, without direct effects on platelet aggregation. They are currently essential therapies for the control of non-valvular atrial fibrillation and prevention of venous thromboembolic events. The safety profiles of these drugs make them a good alternative to classical anticoagulants like vitamin K antagonists (VKA), however there are some drawbacks such as their metabolism mediated by cytochrome P450 enzymes or the fact that they are substrates of P-glycoprotein (P-gp). These conditions are extremely important regarding potential drug interaction in polymedicated patients, or simply in vulnerable populations for whom dose adjustments may be required.

In these circumstances, that the creation of pharmacokinetic models can be crucial. These models allow an efficient, accurate and controlled dose adjustment supported by clinical data, reducing the risk of adverse effects and supporting treatment decisions. For the development of these models, we need to acquire accurate pharmacokinetic data, creating the need to further improve the methods used to monitor DOACs.

This work reviews the latest pharmacokinetic models of the four most commonly used DOACs (dabigatran, apixaban, rivaroxaban and edoxaban), succinctly describing their elaboration process and pointing out some of the cases where these models have revealed to be clinically useful. In addition, recently developed monitoring methods are summarized for each DOAC, discussing their advantages and limitations.

**Keywords:** Pharmacokinetic models; direct oral anticoagulant (DOAC); therapeutic drug monitoring; dabigatran; apixaban; rivaroxaban; edoxaban; P-glycoprotein; drug-drug interaction (DDI).

## Resumo

Os anticoagulantes orais diretos (DOAC, *direct oral anticoagulant*) atuam por inibição seletiva e reversível dos fatores de coagulação, sem efeitos diretos na agregação plaquetária. São, atualmente, terapêuticas essenciais no controlo da fibrilhação auricular não valvular e na prevenção de acontecimentos tromboembólicos venosos. O perfil de segurança destes fármacos torna-os uma boa alternativa aos anticoagulantes clássicos como os antagonistas da vitamina K (VKA, *vitamin K antagonists*), embora tenham algumas limitações como o metabolismo mediado por enzimas do citocromo P450, e/ou o facto de serem substratos da glicoproteína-P (P-gp). Estas condicionantes são de extrema importância clínica por desencadearem o desenvolvimento de interações farmacológicas em doentes polimedicamentados, ou simplesmente nas populações mais vulneráveis e para as quais pode ser necessários ajustes de dose.

Nestas circunstâncias, a criação de modelos farmacocinéticos pode ser determinante, pois permitem um ajuste de doses eficiente, exato e apoiado por dados clínicos, reduzindo o risco de efeitos adversos e promovendo uma terapêutica individualizada. Para a sua elaboração precisamos de adquirir dados farmacocinéticos precisos, e daí surge a necessidade de melhorar cada vez mais os métodos utilizados para monitorizar DOACs.

Este trabalho sumariza os mais recentes modelos farmacocinéticos para os quatro DOACs mais utilizados atualmente na prática clínica (dabigatrano, apixabano, rivaroxabano e edoxabano), descrevendo sucintamente o seu processo de execução e destacando alguns dos casos nos quais estes modelos nos podem ser úteis. Além disso, resume alguns métodos de monitorização recentemente desenvolvidos para cada um dos fármacos e quais as suas vantagens e limitações.

**Palavra-chave:** Modelos farmacocinéticos; DOAC; monitorização de fármacos; dabigatrano; apixabano; rivaroxabano; edoxaban; glicoproteína-P; interação farmacológica.



## I. Introduction

As individualized therapy is looking more and more likely to be the future's primary mean of pharmaceutical prescription, the study of pharmacokinetic (PK) models is of high relevance. These mathematical tools allow to define the right dose and reach the physiological targets that we aim for, reducing side effects and improving patient's drug compliance. With the improvement of these models, we may even be able to replace certain clinical trials, reducing a good part of the financial costs and logistics associated with pharmacokinetic drug research. To attain this aims, analytical methodologies are required to quantify the drug in an efficient manner.

In 2010, dabigatran was approved by the Federal Drug Administration's (FDA), revolutionizing anticoagulant therapy, through the introduction of direct oral anticoagulants (DOAC) in clinical practice (Chen, Stecker e Warden, 2020). These drugs were a very significant step for the prevention of strokes and venous thromboembolic events (VTE) in non-valvular arterial fibrillation (AF), with better safety profiles, compliance and maintaining the same effectiveness of oral vitamin K antagonists (VKA), such as warfarin.

Other DOAC's followed dabigatran, namely rivaroxaban, edoxaban and apixaban, each one with its unique therapeutic indications and contraindications. Although clinical trials reveal that DOACs were safer than VKA, the risk of haemorrhage and other complications remains to be considered (Sikorska e Uprichard, 2017). Therefore, the use of PK models can useful to choose the right posology of these drugs, particularly in special populations, such as patients with kidney or hepatic failure, geriatric and paediatric populations.

For the elaboration of these models, clinical PK data needs to be acquired in the most accurate, practical, safe and economical ways. Furthermore, as these drugs are frequently administrated in elderly, polymedicated populations, medical emergencies involving haemorrhages or trauma are common, situations where the type, dosage and time of taking of anticoagulants needs to be known rapidly (Brückner *et al.*, 2022). Therefore, sampling models and methods of monitoring DOACs need to be improved and developed.

The present work summarises DOAC PK proprieties and highlights the process underlying PK model development.

## 2. Dabigatran

### 2.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics

Dabigatran is a reversible and competitive direct thrombin inhibitor that is mostly used in the prevention of VTE and stroke (Blech *et al.*, 2008). It is the only DOAC administered as a prodrug – dabigatran etexilate – which is rapidly converted in the active metabolite, dabigatran, by carboxylesterase 2 (CES-2) in the intestine and CES-1/CES-2 in the liver (Doki *et al.*, 2019).

Dabigatran etexilate has a very low oral bioavailability of approximately 7.2% (Blech *et al.*, 2008), given its high affinity for P-glycoprotein (P-gp), an efflux protein located primarily in the apical part of the enterocytes. Therefore, the risk for haemorrhaging is increased when dabigatran etexilate is administered P-gp inhibitors like verapamil, tacrolimus, ritonavir, dronedarone, among others (Sikorska e Uprichard, 2017). After hepatic metabolism mediated through UGT2B15 glucuronidation, dabigatran is converted to I-O-Acylglucoronide (DAG), and active metabolite mostly eliminated in urine, resulting in a significant increase in its concentration in renal impaired patients. Clinical studies for these drug-drug interactions (DDI) were performed recently, but, as of this moment, clinicals still commonly decide the adequate dosing regimen empirically (Doki *et al.*, 2019). Other relevant PK proprieties of dabigatran and dabigatran etexilate are summarised in Table I.

Paediatric, renal impaired and hepatically impaired patients are the most affected as clinical trials are, for obvious practical and ethical reasons, difficult to perform. A practical solution to this problem is the creation of physiologically based PK models that can help by virtually simulating dabigatran etexilate and dabigatran movements through compartments, even in complex situations as concomitant P-gp inhibitor or inducer administration (Doki *et al.*, 2019). Using the patient's absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) parameters, various sets of differential equations can accurately simulate the behaviour of dabigatran etexilate/dabigatran in the target population (Moj *et al.*, 2019). PK proprieties of dabigatran and dabigatran etexilate are summarized in Table I.

**Table 1** – Pharmacokinetic properties of dabigatran etexilate and dabigatran as per Doki et al., 2019, Moj et al., 2019 and EMA, 2010.

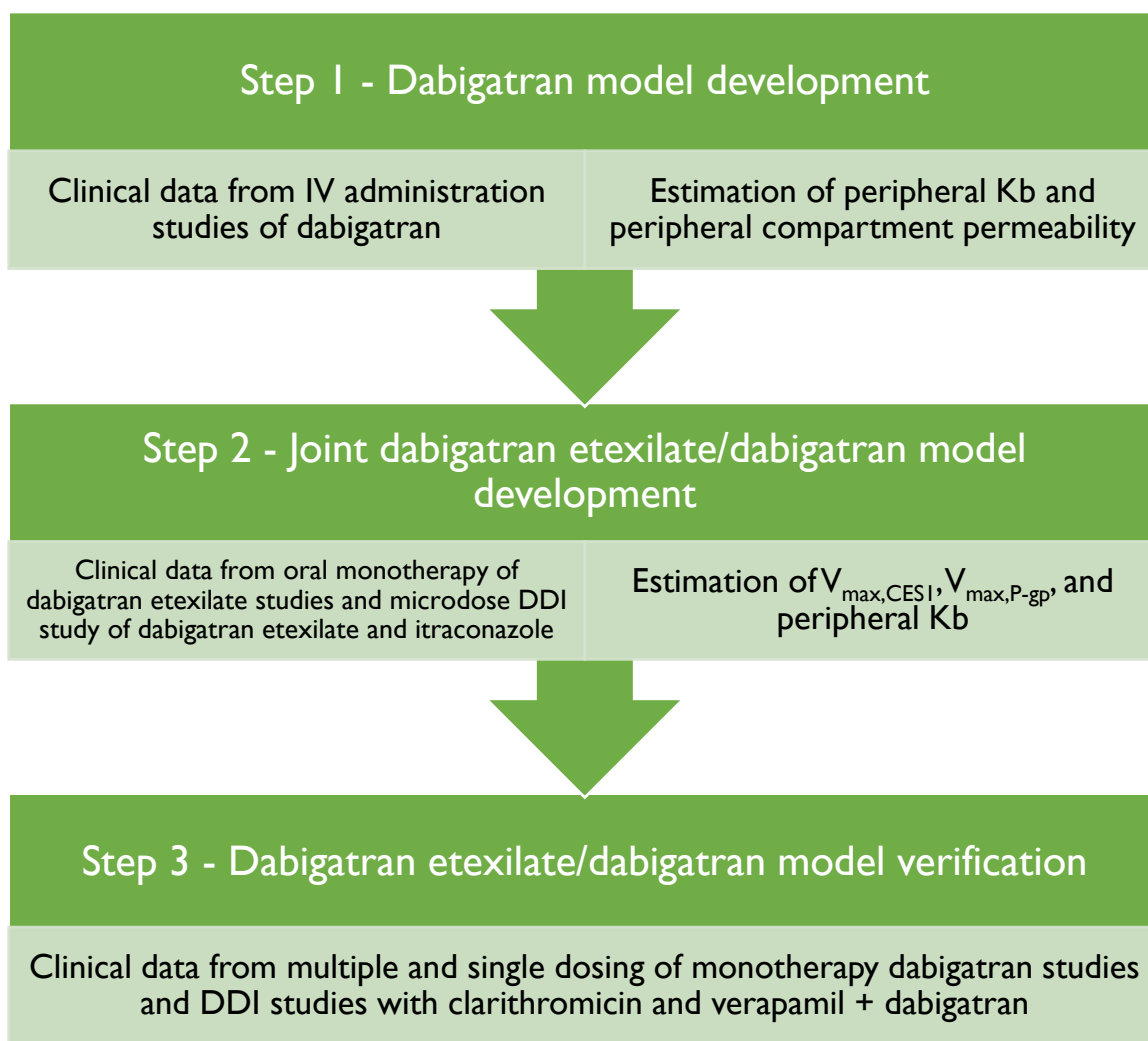
PK properties	DOAC	
	Dabigatran etexilate	Dabigatran
Molecular weight (g/mol)	627.70	471.50
log P	3.80	-2.21
Compound type	Diprotic base	Ampholyte
pKa	4.0 (base), 6.7 (base)	4.4 (acid), 12.4 (base)
Blood/plasma ratio	1.26	0.69
Fraction unbound in plasma	0.06	0.65
V <sub>ss</sub> (L/kg)	15.16	0.96
Renal clearance (L/hour)		7.97
Additional systemic clearance (L/hour)		0.97
t <sub>Cmax</sub> (h)		2-3
t <sub>1/2</sub> (h)		12-17

## 2.2 Pharmacokinetic models

### 2.2.1 P-gp-mediated drug-drug interactions

In 2021, Lang *et al.* published the development of a PK model for dabigatran etexilate/dabigatran that simulated the intestinal absorption of dabigatran etexilate accounting for the distribution of P-gp proteins along the gastrointestinal tract. This model included clinical data from dabigatran etexilate/dabigatran when administered alone and co-administered with P-gp inhibitors such as itraconazole, verapamil and clarithromycin.

The first step in building this model, as described in Figure 1, was to retrieve clinical data for the intravenous (IV) administration of dabigatran from literature, allowing to optimise model parameters. Secondly, the input parameters were estimated using data from the oral administration of DABE and the concomitant administration of a microdose of DABE with itraconazole. Finally, the model was verified by comparing the DDI predicted with studies using other P-gp inhibitors.



**Figure 1** – Stepwise approach for the development of DABE/dabigatran reduced PBPK model and its subsequent verification, adapted from Lang et al., 2021

Impact of DDI in dabigatran PK profile was assessed using two parameters: total area under the curve ( $AUC_{\text{inf}}$ ) ratio, which corresponds to the fold change of the  $AUC_{\text{inf}}$  observed after the monoadministration of dabigatran and after the co-administration with a P-gp inhibitor; and maximum concentration ( $C_{\text{max}}$ ) ratio, which measured the fold change of the  $C_{\text{max}}$  between the monoadministration of dabigatran and the co-administration of dabigatran with a P-gp inhibitor. These ratios were then compared with the simulated ratios obtained from PK models. The  $\log_{10}(\text{Predicted}/\text{Observed ratio})$  value represents the accuracy of the model, and its optimal value is 0. The great majority of the observed results for the  $\log_{10}(\text{Predicted}/\text{Observed ratio})$  were within the limits adapted from (Guest et al., 2011), and close to 0, meaning the model successfully and accurately predicted DDI for various dosages and P-gp inhibitors.

The validation of this model opened ways for other studies to be performed. An example of this is the simulation of regional differences in intestinal P-gp inhibition, which made

the role of each intestinal segment in dabigatran absorption clearer and allowed to optimise dose staggering of dabigatran with P-gp inhibitors, avoiding DDI.

Ultimately, models like this one may provide the means for dabigatran to be used as a clinical probe for the study of new entities, namely P-gp inhibitors, and can also give guidance in clinical trials for these new substances.

### **2.2.2 Age- and weight-adjusted dosing of dabigatran etexilate in children with venous thromboembolism**

In 2021, Röshammar *et al.* developed a PK model for dabigatran etexilate with the aim of testing the accuracy of the dosing algorithm used in the standard-of-care (SOC) of children with venous thromboembolism. An improved version of said algorithm was then developed and tested using this model. Authors also examined the differences between 3 different formulations used in paediatrics and how they impacted the treatment: oral solution, pellets and capsules. Accordingly, clinical data from five different studies in children were included, and one from adult patients treated with 150 mg capsules twice daily, in order to stabilise the model and help differentiate this formulation from the rest. Three of these studies were phase 2a and used a two-compartment PK model for paediatric populations, which was updated with the data from other two paediatric clinical studies of phase 2b/3. Distribution modelling was adjusted according to its covariates (age and bodyweight), as well as absorption modelling (type of formulation).

To evaluate different dosing strategies, a sub-group of 500 patients (evenly distributed in genre) was made for each age category, according to the categories of a proposed updated dosing algorithm. This algorithm and the SOC (used in the studies mentioned above) were tested by simulating dabigatran administration and comparing the simulated trough concentration at steady state ( $C_{ss,min}$ ) with the reference exposure range of 26 to 250 ng/ml for dabigatran. The updated algorithm results showed only a marginal percentage of patients outside the reference exposure concentrations for oral solution, pellets and capsules, although a larger variability in  $C_{ss,min}$  has been observed when compared to the SOC. Nevertheless, the lack of a need for dose adjustment in this algorithm gives it an advantage for clinical practice.

In conclusion, the PK model and the updated dosing algorithm conceived could become very useful tools for clinicals in the future, saving time and money in the processes of monitoring and dose adjustment of dabigatran, and giving children suffering with VTE a more practical treatment than the SOC.

## 2.3 Sampling and monitoring

Validation is a crucial step during the development of a PK model. The concentration of dabigatran must be monitored to test if it is in fact reaching the patients' blood in within the therapeutic range of concentrations. For that, sampling and quantification methods must be optimized to give the most accurate evaluation of the models to be utilized in clinical studies or even in day-to-day monitoring.

Dabigatran is usually indirectly quantified by measuring its effects using thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) assays (Cheng *et al.*, 2022; Jakimczuk *et al.*, 2022). Although these methods may be appropriate for routine check-ups, there is still a need to quantify and monitor dabigatran directly, in certain cases. Due to numerous interferants (like low-molecular-weight heparins, for example (Jakimczuk *et al.*, 2022) and interindividual variability, in a clinical study scenario, where measurements must be as accurate as possible, high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), ultra performance liquid chromatography with ultra violet detector (UPLC-UV), and UPLC-MS/MS assays are the most utilized.

Inconveniently, this equipment requires an experienced operator and is too expensive for most laboratories in hospitals and clinics. This creates a need for new methods to be developed, in order to monitor patients using DAB as needed and as efficiently possible (Cheng *et al.*, 2022).

### 2.3.1 Capillary electrophoresis (CE)

Cheng *et al.* published in 2021 an alternative method for dabigatran monitoring, using a technique known as CE. This technique uses a small amount of human plasma to quickly and accurately separate DAB and its most predominant and active metabolite, DAG, from sample endogenous interferants. However, in comparison to other techniques, CE has a significantly lower sensitivity, due to its low volume for sample injection and the short optical length of capillary. To overcome these difficulties, Cheng *et al.* stacked three on-line pre-concentration methods: field amplified or enhanced sample injection, sweeping and analyte focusing by micelle collapse.

Using this approach and optimizing parameters like buffer pH, background solution (BGS), sodium dodecyl sulphate (SDS) and BGS plug concentrations and injection time of analytes, electropherograms are obtained with UV detection at 214 nm wavelength. These results show CE as an alternative with superior properties than UPLC-MS/MS, and with further validation, this method could be suitable to be applied in clinical practice in the near future.

### 2.3.2 LC-MS/MS

Park *et al.* developed and validated a LC-MS/MS method capable of simultaneously quantify dabigatran, dabigatran etexilate and DAG. The third is exceptionally useful, as the current standard methods quantify DAG indirectly, by preparing a different aliquot of the plasma sample and using alkaline hydrolysis to convert DAG into dabigatran, requiring more time and increasing the bias. To develop the method, the parameters for liquid chromatography and mass spectrometry were optimised and blood samples were collected from health volunteers after a single dose of 150 mg of dabigatran etexilate to a tube containing K<sub>2</sub>EDTA, processed and then stored until analysis. Validation was performed according to the guidelines by assessing selectivity, linearity, precision, and accuracy, recovery and matrix effect, stability, and incurred sample reanalysis.

A PK study was performed for further testing, using samples from 10 healthy volunteers and assessing the concentration-time profile for dabigatran, dabigatran etexilate and DAG. The results obtained were in all similar to the published data, with the exception of the concentration of DAG being 2.4 times higher than DAB, when usually only 20% of dabigatran is converted to DAG. The author speculates that this is due to the fact the most common method to determine DAG concentration is to indirectly quantify it by alkalinising the sample, turning DAG back into dabigatran and then determining the increase in dabigatran concentration. As dabigatran can degrade in alkaline pH, these determinations may be biased, leading to a smaller difference in dabigatran concentration after alkanisation and a consequent underestimation of DAG concentration. The method here presented is, therefore, a more accurate way to determine DAG. These results show that this LC-MS/MS method has high potential for routine laboratory use in PK studies.

## 3. Apixaban

Apixaban is a DOAC that directly and selectively inhibits the coagulation factor Xa (FXa), a key enzyme in the coagulation pathways. Approved by the FDA in 2012, it is orally administrated as tablets in dosages of 2.5 and 5 mg in patients suffering from AF to prevent stroke and VTE. Although its safety profile makes apixaban one of the DOACs most prescribed, its potential for DDI and PK variability in patients with renal or hepatic impaired makes apixaban monitoring mandatory (Xu *et al.*, 2021).

Additionally, the increase in the number of paediatric patients with VTE has made evident the lack of studies in this population, which brought the need to develop PK models for this drug (Xu *et al.*, 2021).

### 3.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics

Apixaban absorption occurs mainly in the small intestine, reducing along the gastrointestinal tract. The oral bioavailability of apixaban is approximately 50% due to first-pass metabolism and incomplete absorption but it is not affected by food intake. Protein binding is approximately 93%, the majority being bound to albumin. This percentage has shown to be unaffected by severe renal impairment and mild to moderate hepatic impairment (Byon *et al.*, 2019).

Apparent distribution volume is approximately 21L, probably comprising vascular and interstitial fluid. Metabolic pathways include O-demethylation, hydroxylation, and sulfation of hydroxylated O-demethyl apixaban (Raghavan *et al.*, 2009), occurring mostly via cytochrome P450 (CYP) 3A4/5 with minor contribution of CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2J2 (Wang *et al.*, 2010). Apixaban is yet the major component within its metabolism with pharmacological activity, with no active metabolites present (Byon *et al.*, 2019).

Elimination pathways include biliary and direct intestinal excretion and renal elimination. Apixaban is mostly excreted in its unchanged form, partially unabsorbed and partially resulting from enterohepatic circulation (Byon *et al.*, 2019). Clearance is mostly biliary and renal. PK proprieties of apixaban are summarised in Table 2.

**Table 2** – PK proprieties of apixaban as per Byon *et al.*, 2019 and Xu *et al.*, 2021.

PK proprieties	DOAC
	Apixaban
Molecular weight (g/mol)	459.50
log P	2.22
Compound type	Neutral
Solubility (mg/ml)	0.11
Blood/plasma ratio	0.70
Fraction unbound in plasma	0.13
V <sub>ss</sub> (L)	21
Renal clearance (L/hour)	0.90
CYP3A4 CL <sub>int</sub> (μL/min/mg microsomal protein)	1.42
Additional human liver microsome CL <sub>int</sub>	0.36
t <sub>Cmax</sub> (h)	3-4
t <sub>1/2</sub> (h)	12



## 3.2 PK models

Like dabigatran, apixaban is a P-gp substrate, making DDI likely to occur, specially accounting for the fact that apixaban is also a breast cancer resistance protein (BCRP) substrate and metabolized by CYP enzymes (Byon *et al.*, 2019). As apixaban has a relatively narrow therapeutical index, safety for patients taking drugs that could potentially cause DDI could be compromised, in paediatric and renally impaired populations (Xu *et al.*, 2021).

The elaboration of PK models could be an important step in obtaining the data needed to create a more effective dosing regimen for the populations most affected and to decrease the chances of DDI.

### 3.2.1 DDI in renal impaired and paediatric populations

In 2021, Xu *et al.* developed a PK model that could help in complex cases of concomitant therapeutics in renal impaired and paediatric populations. The study began by making a suitable model for healthy adults, and then validated. Following a second validation process for the final model, PK profiles for apixaban were predicted, firstly for healthy subjects, and secondly for the complex DDI cases which the model was initially designed to simulate.

The results showed an accurate assumption of the single-dose PK profiles for apixaban in healthy adults in a broad range of dosages (from 0.5 mg to 50 mg). In multiple-dose simulation, with dosages ranging from 2.5 mg to 25 mg BID, the accumulation of apixaban was also predicted successfully with the exception of the 10 mg and 25 mg regime, possibly due to the lack of clinical data in these dosages.

Most importantly, apixaban PK behaviour while virtually removing intestinal CYP3A4 metabolism impact from the model, resulted in little to no difference in the PK profile. In opposition, removing P-gp efflux impact caused a significant increase in apixaban exposure. This indicates P-gp plays an important role in the bioavailability of apixaban, but that seems not to be the case for CYP enzymes.

A study was made to test DDI in renal impaired patients administered with apixaban, by oral and IV routes, with or without other drugs that can develop DDI with apixaban (ketoconazole and rifampicin). The model was then used to predict the PK profiles of each scenario and the results were compared to the observed data. Accordingly, ketoconazole has a synergistic effect with renal impairment. Therefore, it is important to consider the treatment with these drugs that are inhibitors of P-gp when prescribing apixaban to renal impaired patients.

After adjusting the absorption and clearance parameters of the adult and renal impairment model for children, the  $C_{max}$ , AUC, oral administration clearance and IV administration clearance parameters were predicted, both with and without DDI drugs or renal impairment. A similarity in body weight-adjusted exposure and clearance were observed between children and adults. However, infants younger than 1 year revealed higher concentrations of apixaban probably due to the immaturity in CYP3A4 and P-gp activity.

The accuracy shown in this model predictions means that it can be used to simulate dosing in hepatically impaired patients and other complex scenarios, but it can also be usefulness in adult and healthy patients. This makes therapy with P-gp inhibitors a safer possibility; otherwise, discontinuation was mandatory. In paediatric populations, however, all the model predictions assume that the children simulated by the model underwent normal development, which may compromise the adequateness of the model and limit its uses in clinical practice.

### **3.3 Sampling and monitoring**

Similarly to other DOAC's, the gold standard method for monitoring apixaban is LC-MS/MS, while less accurate coagulation assays like PT, aPTT and others, are used for routine clinical testing (Park *et al.*, 2019). More precise methods like calibrated automated thrombogram II (CAT-II) are in development, but their clinical relevance is still to be uncovered (Giesen *et al.*, 2021).

#### **3.3.1 Coagulation Assays**

Although coagulation assays are common practice in indirectly therapeutic DOAC monitoring, there is no on-therapy reference range, as only peak and trough concentrations are indicated by manufactures to be measured by LC-MS/MS. In 2019, Park *et al.* aimed to establish these ranges for apixaban and rivaroxaban, allowing to determine what is the most appropriate method.

For apixaban, samples of thawed plasma from 99 patients taking 2.5 and 5 mg apixaban BID were analysed. The mean concentration for apixaban and anti-factor Xa was determined and then compared to the coagulation test results. Linear co-relation (P-value <0.01) was found for both dosages, in the PT (%), antithrombin (%) and dilute Russel viper venom time confirm (dRVVT) assays. dRVVT is an assay usually performed for patients with lupus, and, if

more studies to determine optimal reagents are performed, could be a valid alternative for the more standard coagulation assays used for DOAC's.

On-therapy reference ranges were then determined for the defined tests and the results show clearly defined intervals that differ significantly from the reference ranges, as expected. Furthermore, reference ranges observed for subjects taking 5 mg BID are broader than those observed for subjects taking 2.5 mg BID. Due to the small sample size, clinical relevance of the methods is still limited, though they may be of use in future studies or emergent situations.

## **4. Rivaroxaban**

Rivaroxaban is a direct inhibitor of FXa, with the benefit of having an increased selectivity to this clotting factor (Kvasnicka *et al.*, 2017), thus reducing the potential for side effects and DDI. Mostly used in the prevention of VTE in patients with AF, rivaroxaban dosages can go from 2.5 mg BID to 20 mg ID.

### **4.1 Pharmacokinetics and pharmacodynamics**

Rivaroxaban absorption is distinguished from other DOAC because its bioavailability (80-100%) may be increased in the presence of food. For the 20 mg ID dosage, the bioavailability is increased by 39% in fed conditions, and for that reason, dosages above 10 mg are recommended to be administered with food. The absorption is rapid, and  $C_{max}$  is achieved between 2 and 4 hours, showing no relevant accumulation in multiple dosing (Kvasnicka *et al.*, 2017).

The percentage of binding to proteins is about 92-95%, mainly to albumin. Distribution volume at steady state is about 0.62 L/kg, showcasing a moderate affinity for peripheral tissues. About two thirds of the absorbed rivaroxaban is metabolised by CYP450 enzymes, namely CYP3A4 (18%) and CYP2J2 (14%) (Kvasnicka *et al.*, 2017), while the remaining third is eliminated in its unchanged form, mainly via renal P-gp efflux (Stampfuss *et al.*, 2013).

Elimination of rivaroxaban is performed in its unchanged form mainly by the renal and hepatobiliary system, derived from direct P-gp efflux and hepatic metabolism, meaning patients with renal or hepatic impairment could potentially be exposed to concentrations off the therapeutic range (Willmann *et al.*, 2021). PK proprieties of rivaroxaban are summarised in Table 3.

**Table 3** – PK proprieties of rivaroxaban as per Cheong et al., 2019, Kvasnicka et al., 2017 and Stampfuss et al., 2013.

PK proprieties	DOAC
	Rivaroxaban
Molecular weight (g/mol)	435.88
log P	1.5
Compound type	Neutral
Solubility (mg/ml)	0.01
Blood/plasma ratio	0.71
Fraction unbound in plasma	0.065
V <sub>ss</sub> (L/kg)	0.3824139
Renal clearance (L/hour)	4.73
CYP3A4 CL <sub>int</sub> (µl/min per picomoles)	0.06353705
CYP2J2 CL <sub>int</sub> (µl/min per picomoles)	5.685421
t <sub>C<sub>max</sub></sub> (h)	2-4
t <sub>1/2</sub> (h)	5-13

## 4.2 PK models

Rivaroxaban's absorption variability and unique renal clearance adds an extra challenge in the creation of PK models, since it is, alike other DOAC, a P-gp and CYP3A4/2J2 substrate.

Several PK models have been made during the development of rivaroxaban and were then adapted by Willmann *et al.* in 2014 for paediatric populations, and more recently, in 2021, for renal and hepatic impairment and DDI potential.

### 4.2.1 Paediatric populations

As the paediatric patient population with VTE and AF increased, a need for adequate dosing surged. To suit that need, Willmann *et al.* aimed to scale the already validated adult model that used the clinical data from phase I studies in adult patients. By adapting the clearance and protein binding algorithms to be age-dependent by including anthropometric and physiological data for children, a paediatric PK model was originated, which was then used to generate data to guide the dosing in an upcoming paediatric phase I trial.

The PK parameters simulated with this model were C<sub>max</sub>, AUC and concentration in plasma after 24 hours (C<sub>24h</sub>) (which is equivalent to the trough concentration in an ID regimen). Adult common dosages of 10 and 20 mg were adapted by taking the body weight of 70 kg as

standard, thus considering 10 mg/70 kg body weight (0.143 mg/kg body weight) and 20 mg/70 kg body weight (0.286 mg/kg body weight) as reference dosages for children. The observed 90% confidence interval (CI) for the adult population model was compared to the values that resulted from the virtual paediatric population.

The results indicated that in children of body weight of less than 40 kg, the  $C_{24h}$  values were significantly lower than in the adults, suggesting an increase of dose is needed in paediatric population. Furthermore, it was observed that all the PK parameters ( $C_{max}$ , AUC and  $C_{24h}$ ) were above the 90% CI of the adult model. That could be explained by the fact that doses were not weight-adjusted on the adult population, therefore, an individual above 70 kg received the same 10 and 20 mg, while a child over 70 kg received a weight-adjusted dose, resulting in an overestimation of the dosages for children.

Summarily, the adaptation of the adult model to paediatric patients successfully represented the PK profiles of rivaroxaban in children and proposed an adequate dosing for an upcoming clinical trial, and respective dose adjustment when needed.

#### **4.2.2 Renal and hepatic impairment and DDI**

In 2021, Willmann *et al.* used the paediatric PK model described above to assess the impact of renal and hepatic impairment in the PK profile of rivaroxaban, as well as its potential for DDI with other P-gp and CYP3A4 substrates. To attain this aim, a sample of 1000 virtual individuals was created for each degree of renal and hepatic impairment, and the PK parameters were accordingly adjusted. A 10 mg ID rivaroxaban therapy was simulated in these populations and AUC and  $C_{max}$  ratios between the impaired and healthy individuals were calculated to observe the impact of each impairment. These ratios were then compared to the observed in previous clinical trials, which allowed to evaluate the model's prediction accuracy.

Secondly, the same process followed for hepatic and renal impairment was done for DDI by simulating populations treated with P-gp and CYP3A4 inhibitors of different strengths (such as ketoconazole, ritonavir, clarithromycin, erythromycin, and fluconazole). This study illustrated the impact of DDI in rivaroxaban's PK profile and the model's ability to predict them.

Results showed that mild or moderate renal impairment had no impact in AUC values, while severe renal impairment slightly increased the AUC, as observed in previous clinical trials.  $C_{max}$  showed not to be affected by renal impairment. Moderate hepatic impairment, as expected, led to an increased AUC and  $C_{max}$ . The simulated AUC values for hepatic impairment are, in average, lower than those observed in clinical trials. They show, however,

a bigger interindividual variety, as the CI for simulated values overlap the CI for the observed.

Regarding DDI, the model underestimates the  $C_{max}$  and AUC in most simulations, comparing to the observed values. Nevertheless, both observed and simulated scenarios showed an expected increase in PK parameters, proportional to the strength of the inhibitor. The use of different inhibitors made it possible to draw conclusions about the influence of each enzyme in the ADME of rivaroxaban. The simultaneous P-gp and CYP3A4 inhibition caused a large increase in rivaroxaban levels. Although CYP3A4 sole inhibition did not have the same accentuated effect, it is still to be considered in sensitive cases. It's noteworthy to point out the lack of data about the concomitant administration of strong P-gp inhibitors (with mild or no affinity to CYP3A4) with rivaroxaban, which would allow to infer the impact of this specific enzyme.

All in all, the model successfully assessed the impacts of renal and hepatic impairment and DDI in rivaroxaban's PK profile. The predictions were consistent with the recommendation of dose reduction in patients with Child-Pugh B and C and severe renal impairment. Notice is given to the caution needed when prescribing P-gp and CYP3A4 inhibitors concomitantly with rivaroxaban for AF treatment, like amiodarone or dronedarone.

### **4.3 Sampling and monitoring**

Similarly to other DOACs, rivaroxaban has a narrow therapeutic range, and in some sensitive cases (like potential DDI or paediatric usage) the monitoring of this drug is advised. However, there is still a lack of a standardised method to do so (Li *et al.*, 2020). Furthermore, in urgent situations when surgery is needed, there is no method to quantify rivaroxaban that is readily available (Myers *et al.*, 2020).

#### **4.3.1 Anti-factor Xa activity, PT and aPTT**

As already mentioned, the use of UPLC-MS/MS is a valid option for laboratory monitoring of DOACs such as rivaroxaban, despite all the significant drawbacks. Li *et al.*, in 2020, developed and validated an UPLC-MS/MS method that could accurately measure rivaroxaban levels in Chinese patients. Significant differences were reported in this populational PK profiles in comparison to Caucasian populations. Additionally, efforts have been made to find a more cost-effective method to monitor rivaroxaban in laboratory and in clinical practice, anti-factor Xa activity, PT and aPTT results were tested for correlation with results obtained with UPLC-MS/MS.

The validation of the UPLC-MS/MS method was successful, using a sample of 39 patients with VTE using rivaroxaban. That population's values were then used for the testing of other methods. The results obtained lead to the conclusion that PT and aPTT are not valid alternatives to monitor rivaroxaban, as linear correlation was not verified. On the contrary, anti-factor Xa activity showed linear correlation in concentrations above 25 ng/ml and is therefore a suitable alternative to LC-MS/MS methods. Although these results were explicit, the small sample of 39 patients is a limitation for this study, as it might not represent the entirety of the VTE-suffering Chinese population.

#### **4.3.2 Thromboelastography (TEG)**

Myers *et al.*, in 2020, tested an innovative type of assay, thromboelastography (TEG), in its most recent generation, the TEG6S platform, for its ability to accurately and rapidly monitor rivaroxaban in point-of-care practice, allowing clinicals to quickly act in cases when urgent surgery is needed. TEG6S differs from traditional TEG, among other specificities, because of its incorporate anti-factor Xa assay, specific for the detection of factor Xa inhibitor anticoagulant effect.

Previous literature reported conflicting results regarding the use of TEG, and not TEG6S, as a rivaroxaban monitoring assay. For that reason, this study also tests said correlations between TEG and rivaroxaban, as for PT assay.

The PT assay showed correlation with rivaroxaban, even though not being suitable for monitoring. The reference parameter in TEG assays was the reaction time, which quantifies the enzymatic initiation of coagulation. Reaction time in TEG and TEG6S has shown to be associated to rivaroxaban presence and concentration, with TEG6S having the strongest correlation of the 3 assays.

As several studies presented different conclusions regarding TEG, more testing needs to be done in order to assure this could be a point-of-care method in determining rivaroxaban concentration. Moreover, even though TEG reaction time proved correlated with rivaroxaban concentration, the reaction time values registered for the patients taking rivaroxaban fall within the reference range, which takes away the clinical utility of this method.

The simplicity and quickness of this method, added to the correlation shown, call for further investigation, as TEG can potentially become the standard method for rivaroxaban and other anticoagulants monitoring.

## 5. Edoxaban

Edoxaban is a direct, selective and reversible inhibitor of coagulation factor Xa (Parasrampur et al., 2016). Approved by the FDA in 2014 for reduction of embolic events in non-valvular AF and for VTE prevention in 2015, edoxaban is commonly administered once daily in 15 mg to 30 mg dosages.

Despite presenting a robust safety profile, there is still a significant mortality associated with bleeding events in patients taking edoxaban, specially with high dosages. Furthermore, even the most recent antidotes for DOACs, like Andexanet Alfa, cannot reverse edoxaban overdosing (Younis *et al.*, 2020). For these reasons, the understanding of edoxaban PK and its monitoring are of the uttermost importance.

### 5.1 Pharmacokinetics and Pharmacodynamics

Edoxaban has a generally linear and dose-proportional PK (Ogata *et al.*, 2010). Its oral bioavailability is about 62% (Escolar *et al.*, 2014) and may differ in the presence of food, but food intake has a high interindividual variability (Shimizu *et al.*, 2017). Absorption occurs mainly in upper gastrointestinal tract, with 13% being absorbed in the colon (Parasrampur et al., 2015).

Distribution of edoxaban is biphasic and can be described by a 2-compartment model, with an apparent distribution volume of 107 L at steady state. Accumulation is neglectable even in higher doses (Parasrampur et al., 2016).

There are roughly 6 identified metabolites of edoxaban, the most relevant of them being M-4. M-4 is an active metabolite and makes up 10% of the total edoxaban exposure, but, due to its high protein binding, it does not have a significant contribution in edoxaban pharmacological activity. Other active metabolites include M-6 and M-8, but these represent less than 5% of edoxaban exposure (Parasrampur et al., 2016).

Elimination of rivaroxaban uses three different pathways: biliary secretion, urinary excretion and metabolism. About 50% of the absorbed drug undergoes renal clearance, and the other 50% divide between biliary secretion (~40%) and metabolism (CES-1, CYP3A4/5, hydrolysis and glucuronidation make up about 10%) (Bathala *et al.*, 2012).

Edoxaban is a weak P-gp inhibitor and has minimal effect on CYP 450 enzymes, thus it is unlikely to cause DDI in patients who do not suffer from severe renal impairment (Parasrampur et al., 2016).



PK proprieties of edoxaban and M-4 are summarized in **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**

**Table 4** – PK proprieties of rivaroxaban as per Escolar et al., 2014 and Parasrampurua and Truitt, 2016.

PK proprieties	DOAC	
	M-4	Edoxaban
Molecular weight (g/mol)		548.06
log P		1.4
Compound type		Neutral
Solubility (mg/L)		93.29
Blood/plasma ratio		0.92
Fraction unbound in plasma	20%	45%
Absolute bioavalability		61.8
V <sub>ss</sub> (L)		107
Renal clearance (L/hour)		9.95
Total body clearance (L/hour)		21.8
t <sub>C<sub>max</sub></sub> (h)	1.98	1.02
t <sub>1/2</sub> (h)	10.5	11.5

## 5.2 PK models

### 5.2.1 P-gp influence

Although edoxaban is a weak inhibitor of P-gp, several studies indicate that it can have an important role in the PK profile of edoxaban, and that concomitant treatment with P-gp inhibitors increases C<sub>max</sub> and AUC (Parasrampurua et al., 2016).

In 2021, Kato et al. developed a PK model that allowed to determine the influence of P-gp efflux in the gastrointestinal tract (as renal P-gp does not take interact with most P-gp inhibitors). The constructed model was firstly used to simulate the oral administration of 10, 30 and 60 mg dosages and the results were then compared to with those observed. Concentration/time profiles were accurately predicted, validating the model.

Several simulations were made in order to understand the regional absorption of edoxaban in the intestine and the influence of P-gp in the amount of edoxaban absorbed in each region. This allowed to explain the previously observed difference in the PK profile slopes between oral and IV administration in the 8-24h interval, where a slower elimination of

edoxaban was recorded for oral administration. This “flip-flop” phenomena can be explained by the unabsorbed edoxaban, that resulted from P-gp efflux in the small intestine, being posteriorly absorbed slowly in the colon. This slower absorption is also due to the P-gp efflux in the colon and affects the clearance of edoxaban significantly.

All in all, this model was able to predict the complex influence of P-gp in edoxaban PK profiles and could help study potential DDI with P-gp inhibitors in the future.

### **5.3 Sampling and monitoring**

Recent advances have been reported in bioanalytical methods that quantify edoxaban. Beyond the more common LC-MS/MS method, recent research found high performance liquid chromatography – diode array detector (HPLC-DAD) as an accurate method to determine edoxaban concentrations in plasma (Gouveia *et al.*, 2020). Furthermore, patients who undergo edoxaban treatment commonly suffer from other co-morbidities and, therefore, a method capable of determining the concentration of edoxaban in the presence of other co-administered drugs, is of relevance. Younis *et al.*, developed, in 2020, a HPLC-DAD method capable of quantifying edoxaban in the presence of 16 other drugs that are commonly used concomitantly.

In recent years, edoxaban was prescribed for the prevention of pulmonary embolism caused by SARS-CoV-2 infection. As the SARS-CoV-2 pandemic aggravated, there was a rapid increase in patients taking edoxaban, creating a need for a simple and, most of all, fast method to monitor edoxaban. Rashid *et al.*, developed earlier this year a surface enhanced Raman spectroscopy method that can quickly screen edoxaban both in laboratory and in points-of-care.

#### **5.3.1 HPLC-DAD**

Because of the cost, equipment and experience necessary to work with UPLC-MS/MS, this method is not accessible to every laboratory, especially in developing countries. The method designed by Younis *et al.*, aims to have the same accuracy of UPLC methods, but in an affordable and time-efficient way, using the sensitive HPLC-DAD to monitor edoxaban in the presence of 16 different drugs usually prescribed along DOACs.

The key factor for the success of this method is equipment choice. The chromatography column, for example, was carefully selected for this method and thoroughly tested and compared to assure maximum selectivity for edoxaban. FDA guidelines for validation of bioanalytical method were applied and the method was successfully validated.

The results show the usefulness of this method in real-life scenarios, where samples from patients can be quickly analysed without the need to isolate edoxaban from drugs that can interfere in its quantification. The simplicity, reliability and cost-effectiveness of this assay (derived from its small sample volume and fast chromatographic run) make it suitable for routine monitoring or even in urgent situations where the drugs the patient has taken are unknown.

### **5.3.2 Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)**

A more recent approach to quantify edoxaban without the inconvenience of LC-MS methods is SERS. Rashid et al. used this recent technology to design a sensitive and quick way to quantify edoxaban.

This technology works by enhancing the magnitude of Raman emission in several orders by using nanostructures of a noble metal (gold, in this case) and an excitation beam of radiation. This emission is then detected and quantified, detecting concentrations of edoxaban as small as 1 pM, and having no need for mass spectrometry, as Raman emission detection is also highly selective.

Using the  $1436\text{ cm}^{-1}$  band, that changed accordingly to edoxaban concentration, linear regression was found between  $1.4 \times 10^{-4}\text{ M}$  to  $10^{-12}\text{ M}$  concentrations. A cross-validation against HPLC-UV method was performed, where a plasma sample spiked with edoxaban was screened by both methods. The concentrations found were  $1.34 \times 10^{-4}\text{ M}$  by the SERS method and  $1.4 \times 10^{-4}\text{ M}$  by the HPLC method, which translates in a 95.7% agreement.

This method showed selectivity, accuracy, practicality and cost effectiveness that show strong potential to become the standard practice in edoxaban monitoring in the future.

## **6. Conclusion**

DOACs came to revolutionize the treatment of AF and prevention of VTE, but their safety in comparison with VKA anticoagulants discouraged the research for means to monitor these drugs. Mortality associated with bleeding events while in DOAC therapy is still a problem to be solved, and pharmacokinetic modelling is part of the solution.

PK modelling is now in the vanguard supporting clinicals optimisation of dosing guidelines, not only for the general public, but also for the more vulnerable populations: patients with co-morbidities, polymedicated, hepatically and renally impaired patients, and children.

Regarding DOACs specifically, PK models already came a long way and have contributed to decrease the mortality in children and other sensitive patients with non-valvular AF and VTE. Complex clinical cases regarding DDI with P-gp and CYP 450 enzymes can now be solved without empirically dosing. ADME mechanisms of DOACs can now be better understood by simulating diverse conditions in each compartment, opening doors to new and more effective antidotes, molecules and formulations.

Quantifying and monitoring DOACs are crucial steps during the evolution of PK models. As such, new methods like TAG, HPLC-DAD, SERS, among others, are a big step forward in turning drug monitoring into a common and accessible practice and making DOAC therapy even safer. Urgent medical situations when surgery is needed are an example where fast and accurate point-of-care determination of DOAC is most useful and can save lives. Thus, simplifying and reducing costs of methods like LC-MS/MS, are key factors to universalize and improve drug monitoring.

## 7. Bibliography

BATHALA, Mohinder S. *et al.* - Pharmacokinetics, Biotransformation, and Mass Balance of Edoxaban, a Selective, Direct Factor Xa Inhibitor, in Humans. **Drug Metabolism and Disposition**. ISSN 0090-9556. 40:12 (2012) 2250–2255. doi: 10.1124/dmd.112.046888.

BLECH, Stefan *et al.* - The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans. **Drug Metabolism and Disposition**. ISSN 00909556. 36:2 (2008) 386–399. doi: 10.1124/dmd.107.019083.

BRÜCKNER, Lea *et al.* - Development and validation of an analytical method for the determination of direct oral anticoagulants (DOAC) and the direct thrombin-inhibitor argatroban by HPLC–MS/MS. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**. ISSN 1573742X. 53:4 (2022) 777–787. doi: 10.1007/s11239-021-02596-z.

BYON, Wonkyung *et al.* - Apixaban: A Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review. **Clinical Pharmacokinetics**. ISSN 11791926. 58:10 (2019) 1265–1279. doi: 10.1007/s40262-019-00775-z.

CHEN, Ashley; STECKER, Eric; WARDEN, Bruce A. - Direct oral anticoagulant use: A practical guide to common clinical challenges. **Journal of the American Heart Association**. . ISSN 20479980. 9:13 (2020) 1–18. doi: 10.1161/JAHA.120.017559.

CHENG, Cheng-Wei *et al.* - A three-step stacking capillary electrophoresis of field-amplified sample injection, sweeping, and micellar collapse for determination of dabigatran and its active metabolite in human plasma. 30:1 (2022). doi: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3391>.

CHEONG, Eleanor Jing Yi *et al.* - Systematic development and verification of a physiologically based pharmacokinetic model of rivaroxaban. **Drug Metabolism and Disposition**. . ISSN 1521009X. 47:11 (2019) 1291–1306. doi: 10.1124/dmd.119.086918.

DOKI, Kosuke *et al.* - Assessing Potential Drug–Drug Interactions Between Dabigatran Etexilate and a P-Glycoprotein Inhibitor in Renal Impairment Populations Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. **CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology**. . ISSN 21638306. 8:2 (2019) 118–126. doi: 10.1002/psp4.12382.

EMA - Anexo I - Resumo das Características do Medicamento - dabigatrano. ISSN 1008-682X. 2010) 1–29.

- ESCOLAR, Gines *et al.* - The pharmacokinetics of edoxaban for the prevention and treatment of venous thromboembolism. **Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology**. ISSN 17425255. 10:3 (2014) 445–458. doi: 10.1517/17425255.2014.882897.
- GIESEN, P. L. A. *et al.* - Calibrated automated thrombogram II: removing barriers for thrombin generation measurements. **Thrombosis Journal**. ISSN 14779560. 19:1 (2021). doi: 10.1186/s12959-021-00312-8.
- GOUVEIA, Filipa *et al.* - Development, validation and application of a new HPLC-DAD method for simultaneous quantification of apixaban, dabigatran, edoxaban and rivaroxaban in human plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. ISSN 07317085. 181:2020) 113109. doi: 10.1016/j.jpba.2020.113109.
- GUEST, Eleanor J. *et al.* - Critique of the Two-Fold Measure of Prediction Success for Ratios: Application for the Assessment of Drug-Drug Interactions. **Drug Metabolism and Disposition**. . ISSN 0090-9556. 39:2 (2011) 170–173. doi: 10.1124/dmd.110.036103.
- JAKIMCZUK, Aleksandra *et al.* - Monitoring of Anticoagulant Activity of Dabigatran and Rivaroxaban in the Presence of Heparins. **Journal of Clinical Medicine**. ISSN 20770383. 11:8 (2022). doi: 10.3390/jcm11082236.
- KATO, Takafumi *et al.* - Quantitative analysis of an impact of P-glycoprotein on edoxaban's disposition using a human physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model. **International Journal of Pharmaceutics**. ISSN 03785173. 597:2021) 120349. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120349.
- KVASNICKA, Tomas *et al.* - Rivaroxaban - Metabolism, Pharmacologic Properties and Drug Interactions. **Current Drug Metabolism**. ISSN 13892002. 18:7 (2017). doi: 10.2174/1389200218666170518165443.
- LANG, Jennifer *et al.* - Reduced physiologically-based pharmacokinetic model of dabigatran etexilate-dabigatran and its application for prediction of intestinal P-gp-mediated drug-drug interactions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. ISSN 18790720. 165:June (2021) 105932. doi: 10.1016/j.ejps.2021.105932.
- LI, Ying *et al.* - Laboratory monitoring of rivaroxaban in Chinese patients with deep venous thrombosis: A preliminary study. **BMC Pharmacology and Toxicology**. ISSN 20506511. 21:1 (2020). doi: 10.1186/s40360-020-00414-5.
- MOJ, Daniel *et al.* - A Comprehensive Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Dabigatran Etexilate, Dabigatran and Dabigatran Glucuronide in Healthy Adults and

Renally Impaired Patients. **Clinical Pharmacokinetics**. . ISSN 11791926. 58:12 (2019) 1577–1593. doi: 10.1007/s40262-019-00776-y.

MYERS, Sara P. *et al.* - Correlation of thromboelastography with apparent rivaroxaban concentration has point-of-care testing improved? **Anesthesiology**. ISSN 15281175. 2020) 280–290. doi: 10.1097/ALN.0000000000003061.

OGATA, Koichiro *et al.* - Clinical Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of the Novel Factor Xa Inhibitor Edoxaban in Healthy Volunteers. **The Journal of Clinical Pharmacology**. ISSN 00912700. 50:7 (2010) 743–753. doi: 10.1177/0091270009351883.

PARASRAMPURIA, Dolly A. *et al.* - Evaluation of regional gastrointestinal absorption of edoxaban using the enterion capsule. **The Journal of Clinical Pharmacology**. ISSN 0091-2700. 55:11 (2015) 1286–1292. doi: 10.1002/jcph.540.

PARASRAMPURIA, Dolly A. *et al.* - Edoxaban drug–drug interactions with ketoconazole, erythromycin, and cyclosporine. **British Journal of Clinical Pharmacology**. ISSN 13652125. 82:6 (2016) 1591–1600. doi: 10.1111/bcp.13092.

PARASRAMPURIA, Dolly A.; TRUITT, Kenneth E. - Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Edoxaban, a Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulant that Inhibits Clotting Factor Xa. **Clinical Pharmacokinetics**. ISSN 11791926. 55:6 (2016) 641–655. doi: 10.1007/s40262-015-0342-7.

PARK, Soon Ho *et al.* - Evaluation of global laboratory methods and establishing on-therapy ranges for monitoring apixaban and rivaroxaban: Experience at a single institution. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**. ISSN 10982825. 33:5 (2019). doi: 10.1002/jcla.22869.

RAGHAVAN, Nirmala *et al.* - Apixaban Metabolism and Pharmacokinetics after Oral Administration to Humans. **Drug Metabolism and Disposition**. . ISSN 0090-9556. 37:1 (2009) 74–81. doi: 10.1124/dmd.108.023143.

RASHID, Md Abdur *et al.* - Rapid Assay for the Therapeutic Drug Monitoring of Edoxaban. **Biomolecules**. ISSN 2218273X. 12:4 (2022). doi: 10.3390/biom12040590.

SHIMIZU, Takako *et al.* - Population Pharmacokinetics of Edoxaban in Japanese Atrial Fibrillation Patients With Severe Renal Impairment. **Clinical Pharmacology in Drug Development**. ISSN 21607648. 6:5 (2017) 484–491. doi: 10.1002/cpdd.329.

SIKORSKA, Julia; UPRICHARD, James - Direct oral anticoagulants: A quick guide. **European Cardiology Review**. ISSN 17583764. 12:1 (2017) 40–45. doi: 10.15420/ecr.2017:11:2.

STAMPFUSS, Jan *et al.* - The effect of food on the absorption and pharmacokinetics of rivaroxaban. **Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**. . ISSN 0946-1965. 51:07 (2013) 549–561. doi: 10.5414/CP201812.

WANG, Lifei *et al.* - In Vitro Assessment of Metabolic Drug-Drug Interaction Potential of Apixaban through Cytochrome P450 Phenotyping, Inhibition, and Induction Studies. **Drug Metabolism and Disposition**. ISSN 0090-9556. 38:3 (2010) 448–458. doi: 10.1124/dmd.109.029694.

WILLMANN, Stefan *et al.* - Development of a paediatric population-based model of the pharmacokinetics of rivaroxaban. **Clinical Pharmacokinetics**. . ISSN 03125963. 53:1 (2014) 89–102. doi: 10.1007/s40262-013-0090-5.

WILLMANN, Stefan *et al.* - Applications of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Rivaroxaban—Renal and Hepatic Impairment and Drug-Drug Interaction Potential. **Journal of Clinical Pharmacology**. ISSN 15524604. 61:5 (2021) 656–665. doi: 10.1002/jcph.1784.

XU, Ruijuan *et al.* - Developing a physiologically based pharmacokinetic model of apixaban to predict scenarios of drug–drug interactions, renal impairment and paediatric populations. **British Journal of Clinical Pharmacology**. . ISSN 13652125. 87:8 (2021) 3244–3254. doi: 10.1111/bcp.14743.

YOUNIS, Sameh E. *et al.* - Gradient HPLC-DAD method for quantification of novel oral anticoagulant “Edoxaban” in plasma: Its selective determination in presence of sixteen co-administered drugs. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**. ISSN 1873376X. 1160:2020). doi: 10.1016/j.jchromb.2020.122386.