

FIOCRUZ

Concurso Público Fiocruz 2023

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

TE32

**Desenvolvimento de métodos analíticos para
farmacocinética**



Prova Objetiva

01. Os métodos analíticos mais frequentemente usados em estudos de farmacocinética de moléculas candidatas a fármacos baseiam-se na Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência (CLUE) com detecção por espectrometria de massas sequencial. A CLUE é uma técnica analítica:

- I – de separação e quantificação de moléculas de alta volatilidade.
- II – que utiliza fases estacionárias com partículas iguais ou menores que 2 µm e altas velocidades lineares de fase móvel, aumentando a resolução cromatográfica e a detectabilidade e diminuindo o tempo das análises.
- III – de separação e identificação inequívoca de moléculas, fornecendo um alto poder de resolução cromatográfica devido à composição da fase móvel.

Dos itens acima:

- (A) apenas I está correto.
- (B) apenas II está correto.
- (C) apenas I e II estão corretos.
- (D) apenas II e III estão corretos.
- (E) todos estão corretos.

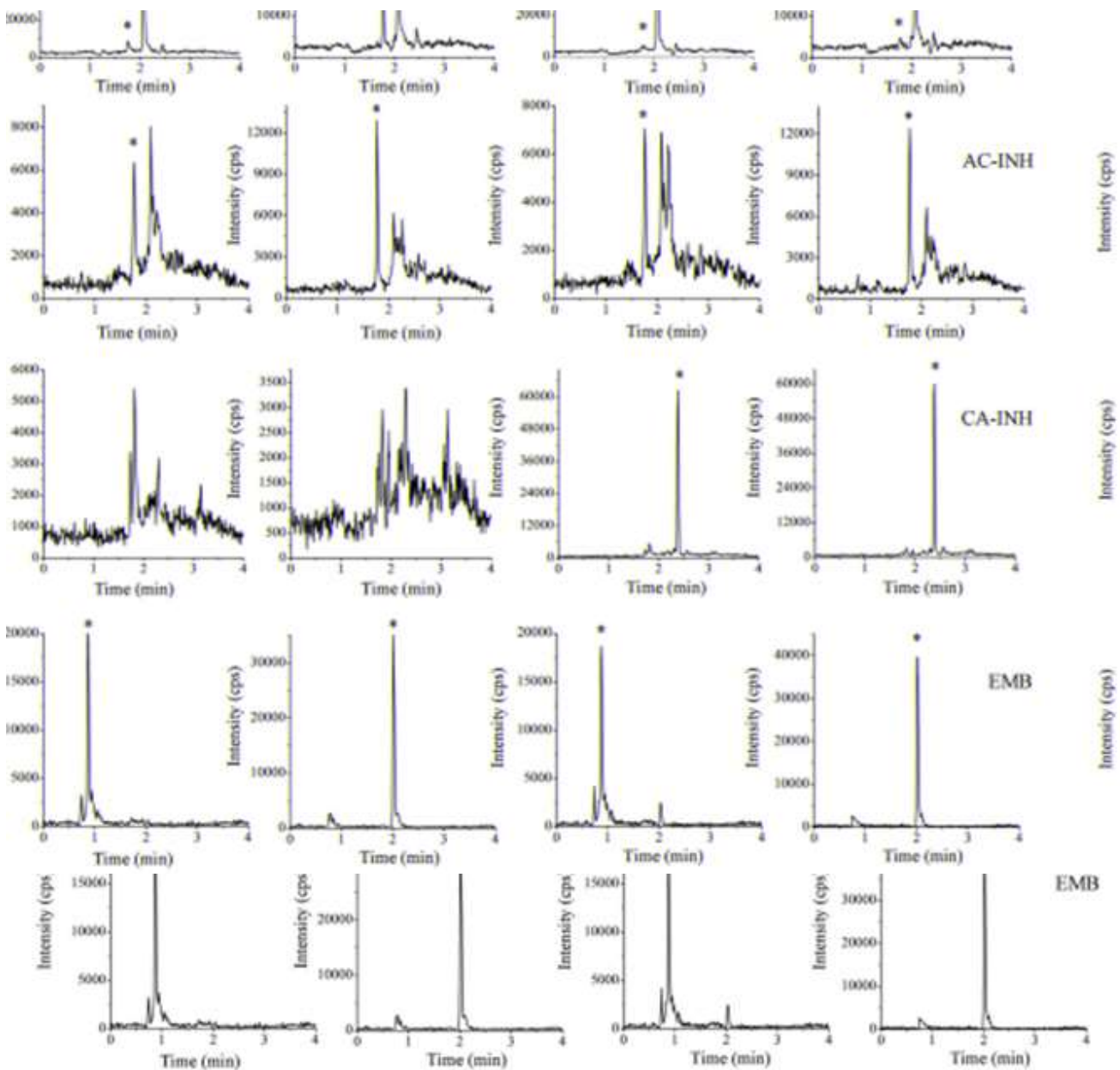
02. Os benefícios da utilização da Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência (CLUE) em relação à Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (CLAE) no acoplamento à espectrometria de massas sequencial incluem os benefícios abaixo relacionados, EXCETO:

- (A) possibilidade de analisar um maior número de amostras em um menor período de tempo em aplicações de rotina.
- (B) ganho de detectabilidade em função da obtenção de picos mais finos.
- (C) menor volume de injeção de amostra.
- (D) a amostra a ser injetada deve ser filtrada com filtros de porosidade de 0,2 µm, mesmo que já tenha sido centrifugada, um procedimento comumente empregado, de forma satisfatória, para as amostras a serem injetadas em um sistema de CLAE.
- (E) redução de efeitos de supressão de sinal em função da melhor separação dos analitos alvo e interferentes da matriz.

03. A cromatografia por interações hidrofílicas (HILIC, do inglês *hydrophilic interaction chromatography*) é uma modalidade de separação muito utilizada em bioanálises, na qual é empregada uma fase estacionária mais polar do que na cromatografia a líquido de ultra eficiência no modo fase reversa, e uma fase móvel com pouca concentração de água ou tampão, sendo normalmente > 70% em solvente orgânico, tipicamente acetonitrila. A utilização do modo de separação HILIC propicia algumas vantagens quando comparada a outros modos de separação como a fase normal ou fase reversa, entre as quais estão as relacionadas abaixo, EXCETO:

- (A) diminuição da pressão do sistema, devido à redução da viscosidade da fase móvel, em função da alta concentração de solvente orgânico na fase móvel.
- (B) aumento da detectabilidade quando o detector de espectrometria de massas é utilizado, uma vez que o processo de ionização dos analitos é favorecido com a alta concentração de solvente na fase móvel.
- (C) maiores retenções e eficiências de separação de analitos polares com baixa retenção no modo em fase reversa, sem a necessidade de utilização de aditivos de pareamento iônico.
- (D) compatibilidade com técnicas de extração que utilizam altas concentrações de solvente orgânico, como a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) ou extração líquido-líquido, o que permite a eliminação das etapas de evaporação e reconstituição, facilitando e simplificando a preparação de amostra.
- (E) fatores tais como o pH e a concentração iônica da fase móvel, além da temperatura da coluna não influenciam a seletividade e a sensibilidade e não precisam ser otimizados durante o desenvolvimento de métodos.

04. No Brasil, o Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT) é responsável, entre outras ações, por estabelecer as diretrizes para o controle da doença, que tem tratamento padronizado, exclusivamente oferecido pelo Sistema Único de Saúde. A apresentação farmacológica dos medicamentos atualmente em uso para o esquema básico de tratamento em adultos e adolescentes na fase intensiva é de comprimidos em doses fixas combinadas com a apresentação tipo 4 em 1 (rifampicina-RIF, isoniazida-INH, pirazinamida-PZA e etambutol-EMB). Para INH, o principal metabólito ativo é o acetil-INH (AC-INH). Como a terapia combinada com múltiplos fármacos é necessária, um método analítico para monitorar simultaneamente as substâncias em plasma humano também é fundamental, porém alguns métodos publicados, baseados na cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas sequencial apresentam desvantagens, tais como longo tempo de separação cromatográfica, baixa retenção da INH e separação parcial de AC-INH e INH em colunas de fase reversa. Xing et al (2021) desenvolveram um método de cromatografia a líquido de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas triplo quadrupolo para quantificar simultaneamente RIF, INH, PZA, EMB e o metabólito AC-INH em plasma humano. Após precipitação do plasma com acetonitrila e centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi submetida a uma reação de derivatização com cinamaldeído (CA) e diluída com um diluente contendo 20 % de acetonitrila, 0,1 % de ácido fórmico e 2 % de ácido heptafluorobutírico (HFBA). Observe a figura abaixo:



Cromatogramas de INH, AC-INH, CA-INH, e EMB com ou sem adição de CA e HFBA. (A) sem CA e sem HFBA; (B) sem CA e com HFBA; (C) com CA e sem HFBA; (D) com CA e com HFBA. INH = isoniazida; AC-INH = acetil isoniazida; CA-INH = produto de derivatização da isoniazida com cinamaldeído; EMB = etambutol; CA = cinamaldeído; HFBA = ácido heptafluorobutírico. Os picos de cada analito estão destacados por asteriscos (*). Separação cromatográfica realizada em coluna Acquity UPLC HSS T3 1,8 µm (2,1 x 100 mm, Waters). Fonte: Xing et al. Heliyon 2021;7:e07532.

Com base na figura apresentada, pode-se afirmar que:

- I – o produto de derivatização CA-INH formado pela reação entre a isoniazida (INH) e o cinamaldeído (CA) possui maior hidrofobicidade que a INH e apresenta maior intensidade de sinal.
- II – a adição do reagente de pareamento iônico HFBA à solução diluída da amostra aumentou significativamente a retenção do etambutol (EMB).
- III – o analito etambutol (EMB) é menos polar que o produto de derivatização CA-INH.

Dos itens acima, somente:

- (A) I está correto.
- (B) II está correto.
- (C) I e II estão corretos.
- (D) II e III estão corretos.
- (E) I e III estão corretos.

05. O objetivo de um método bioanalítico quantitativo é fornecer uma determinação exata, precisa e confiável da quantidade de um analito alvo, geralmente um fármaco, um metabólito ou um biomarcador em amostras biológicas complexas, tais como fluidos ou tecidos. A seletividade de um sistema de detecção triplo quadrupolo no modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas (MRM) é elevada e, em muitos casos, a separação de diferentes analitos por cromatografia a líquido não precisa ser efetuada com o mesmo rigor exigido por outros sistemas de detecção. A separação cromatográfica é realmente necessária na espectrometria de massas sequencial com analisador do tipo triplo quadrupolo no modo de aquisição MRM:

- I – para aumentar a sensibilidade, exatidão e precisão do método analítico quantitativo, como resultado da separação eficiente dos analitos alvo de impurezas e outros componentes da matriz complexa, que mesmo não sendo detectados no modo MRM podem competir pela ionização e alterar o sinal obtido.
- II – a fim de possibilitar a análise de isóbaros, substâncias quirais e substâncias que podem interferir pela contribuição de isótopos $M+1$ ou $M+2$, onde M é a massa monoisotópica.
- III – sempre que for preciso analisar mais de uma substância simultaneamente.

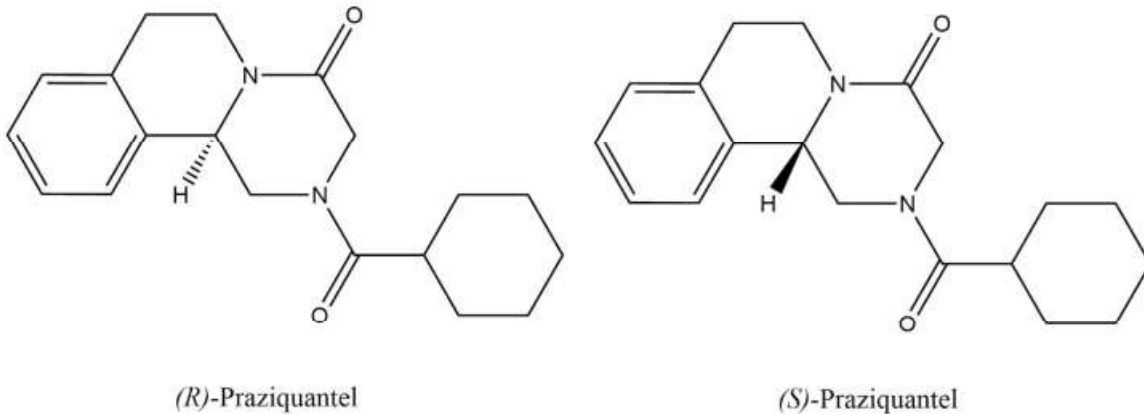
Dos itens acima, somente:

- (A) I está correto.
- (B) II está correto.
- (C) I e II estão corretos.
- (D) II e III estão corretos.
- (E) I e III estão corretos.

06. Entre as fontes de ionização disponíveis em instrumentos de espectrometria de massas triplo quadrupolo, a ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*) consiste em:

- (A) processo no qual espécies ionizadas na fase gasosa são produzidas a partir de uma solução pela formação e dessolvatação de minúsculas gotas altamente carregadas, que são resultantes da aplicação de uma diferença de potencial da ordem de kV entre um capilar e um contraeletrodo, sob pressão atmosférica.
- (B) formação de íons em fase gasosa a partir de moléculas presentes em uma matriz sólida ou líquida, a qual é irradiada com um laser.
- (C) ionização de qualquer espécie pela interação de um feixe focalizado de átomos neutros, que têm uma energia translacional de vários keV, com uma amostra normalmente dissolvida em uma matriz.
- (D) ionização de um átomo ou molécula em fase gasosa pela adição de um elétron livre para formar íons M^- .
- (E) ionização química de uma amostra, a qual pode ser um gás ou líquido nebulizado, usando uma descarga corona à pressão atmosférica ou um beta emissor (como ^{63}Ni).

07. As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) ameaçam mais de 1,7 bilhão de pessoas que vivem nas comunidades mais pobres e marginalizadas do mundo. Essas enfermidades apresentam indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos nas áreas de pesquisa, produção de medicamentos e em seu controle. O controle da esquistossomose, DTN, depende fortemente do fármaco praziquantel (PZQ), que é usado como quimioterapia preventiva como parte das estratégias nacionais de controle de helmintos. O PZQ é comercializado sob a forma de uma mistura racêmica 1:1 de dois enantiômeros (ver figura abaixo). Apenas o enantiômero (R) (também conhecido como Levo-PZQ, L-PZQ ou (-)-PZQ) do PZQ possui ação farmacológica efetiva, enquanto o enantiômero (S) (também conhecido como Dextro-PZQ, D-PZQ ou (+)-PZQ) não tem ação antiesquistossômica, mas contribui para alguns dos efeitos colaterais conhecidos do PZQ, como dores abdominais e diarreia, além de conferir um sabor amargo indesejável, o que dificulta a sua administração a crianças.



Fórmula estrutural dos dois enantiômeros do praziquantel. Fonte: Zdesenko G; Mutapi F. PLoS Negl. Trop. Dis. 2020;14(9):e0008649.

Com base na estrutura dos dois enantiômeros do praziquantel, é INCORRETO afirmar que:

- (A) colunas quirais podem ser usadas para a diferenciação dos dois enantiômeros em sistemas de cromatografia a líquido de ultra eficiência (CLUE) acoplados a espectrômetros de massas triplo quadrupolos.
- (B) a ionização por eletrospray (ESI) é a fonte de íons indicada para a análise dos dois enantiômeros em espectrômetros de massas triplo quadrupolos.
- (C) a ionização por eletrospray (ESI) no modo positivo resulta em moléculas protonadas que devem ser os íons precursores selecionados para fragmentação no modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas (MRM) para a quantificação dos dois enantiômeros, empregando espectrômetros de massas triplo quadrupolos.
- (D) o modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas (MRM) pode ser usado em espectrômetros de massas triplo quadrupolos para a diferenciação dos enantiômeros, dependendo da coluna cromatográfica empregada.
- (E) somente um espectrômetro de massas de alta resolução pode ser usado para a diferenciação dos dois enantiômeros.

08. O efeito matriz é considerado o calcanhar de Aquiles na análise quantitativa em métodos analíticos para farmacocinética, empregando a técnica de cromatografia líquida de alta ou ultra-eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial com analisadores do tipo triplo quadrupolo. Sobre os efeitos matriz, é INCORRETO afirmar que:

- (A) a ionização por eletrospray (ESI) é mais suscetível a esses efeitos do que a ionização química à pressão atmosférica (APCI).
- (B) técnicas de preparo de amostras são ineficazes para eliminar ou diminuir esses efeitos.
- (C) deve-se à competição de outras moléculas presentes na amostra (sais, compostos endógenos, contaminantes oriundos de embalagens ou insumos usados durante a análise) que não as moléculas alvo, pela ionização.
- (D) geralmente são observados pela redução da intensidade de sinal do analito na amostra quando em comparação ao analito em solução.
- (E) podem impactar negativamente em importantes parâmetros do método analítico quantitativo, tais como limite de quantificação, linearidade, exatidão e precisão.

09. Em relação às vantagens da técnica de espectrometria de massas de alta resolução em relação à espectrometria de massas com analisadores do tipo triplo quadrupolo, é INCORRETO afirmar que:

- (A) os instrumentos de alta resolução são mais baratos que os espectrômetros de massas com analisadores do tipo triplo quadrupolo.
- (B) permite avaliar a presença de substâncias não alvo após a aquisição, com análise retrospectiva dos dados adquiridos.
- (C) permite a medida de massa acurada, com maior especificidade.
- (D) a análise não direcionada possibilita a detecção de um número muito maior de substâncias simultaneamente, sem a necessidade de padrões.
- (E) a massa acurada resultante da maior exatidão de massa indica a técnica para a identificação de metabólitos e produtos de degradação em estudos farmacocinéticos.

10. Em relação à eficiência de ionização de uma substância no modo de ionização eletrospray (ESI) na espectrometria de massas de alta resolução (HRMS, do inglês *High Resolution Mass Spectrometry*), avalie se são verdadeiras (V) ou falsas (F) as afirmativas a seguir:

- I – um maior conteúdo de solvente orgânico no eluente aumenta a eficiência de ionização da maioria das substâncias.
- II – o pH do eluente não influencia na eficiência de ionização de nenhuma substância.
- III – diferentes soluções-tampão, com o mesmo pH, resultam em eficiências de ionização iguais.

As afirmativas I, II e III são, respectivamente:

- (A) V, F e F.
- (B) F, V e F.
- (C) V, V e F.
- (D) F, V e V.
- (E) V, V e V.

11. Analisadores de massas de espectrômetros de massas podem ser classificados em dois grupos, de baixa e de alta resolução. Estabeleça a correta correspondência entre as colunas I e II:

Coluna I – resolução

- 1. alta
- 2. baixa

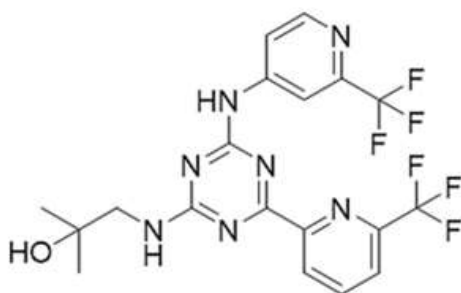
Coluna II – analisador

- () Orbitrap™
- () armadilha de íons
- () quadrupolo
- () ressonância ciclotrônica de íons

A sequência correta, de cima para baixo, é:

- (A) 1, 2, 1, 1.
- (B) 1, 2, 1, 2.
- (C) 1, 2, 2, 1.
- (D) 2, 2, 1, 2.
- (E) 1, 1, 1, 2.

12. A cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas de alta resolução em instrumento híbrido com analisadores de massa quadrupolo e por tempo de voo (LC-Q-TOF HRMS) foi utilizada por Chakkar et al (2024) para a identificação e a caracterização de produtos de degradação do enasidenib (ver figura abaixo), Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) de um medicamento aprovado em 2017 pela Agência Americana para Medicamentos e Alimentos (*U.S. Food and Drug Administration, FDA*), para terapia dirigida em pacientes com leucemia mieloide aguda recidivante ou refratária. Além disso, a avaliação de risco de *N*-nitrosaminas, prováveis agentes carcinógenos para humanos, segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), foi realizada usando um ensaio de nitrosação modificado (NAP). (CHAKKAR et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2024;38:e9696)



Fórmula estrutural do enasidenib. Fonte: Chakkar et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2024;38:e9696.

Com base na estrutura apresentada e nas massas atômicas dos isótopos mais abundantes $C=12,00000\text{ u}$, $N=14,00307\text{ u}$, $O=15,99491\text{ u}$, $H=1,007825\text{ u}$, $F=18,99840\text{ u}$, $Na=22,98977\text{ u}$ e $K=38,96371\text{ u}$, é INCORRETO afirmar que:

- (A) a molécula protonada $[M+H]^+$ apresenta relação massa carga m/z 474,1472 e os adutos de sódio $[M+Na]^+$ e potássio $[M+K]^+$ m/z 496,1290 e 512,1034, respectivamente.
- (B) a molécula protonada $[M+H]^+$ apresenta relação massa carga m/z 474,1472 e a perda de uma molécula de água produz o fragmento m/z 456,1366.
- (C) os produtos de degradação do enasidenib obtidos pelos estudos de degradação forçada sob várias condições (estresse hidrolítico, fotolítico, oxidativo e térmico) podem ser identificados e caracterizados por LC-Q-TOF HRMS sem a necessidade de padrões analíticos de cada produto de degradação.
- (D) se a massa acurada da *N*-nitrosamina *N*-nitrosoenasidenib no modo eletrospray negativo foi de m/z 501,1198 e a massa exata m/z 501,1228, o erro de massa foi de -3,98 ppm na definição da fórmula molecular $C_{19}H_{16}F_6N_8O_2$.
- (E) se a massa acurada da *N*-nitrosamina *N*-nitrosoenasidenib no modo eletrospray negativo foi de m/z 501,1198 e a massa exata m/z 501,1228, o erro de massa foi de -5,98 ppm na definição da fórmula molecular $C_{19}H_{16}F_6N_8O_2$.

13. O preparo de amostras biológicas para análise por cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) tem como objetivos os itens abaixo, EXCETO:

- (A) concentrar os analitos alvo para níveis detectáveis e/ou quantificáveis.
- (B) remover componentes endógenos da amostra que podem interferir na resposta analítica.
- (C) compatibilizar a amostra com o sistema cromatográfico.
- (D) ionizar os interferentes, pela adição de solventes.
- (E) retirar potenciais contaminantes oriundos de embalagens ou insumos usados durante a análise da amostra que podem afetar a detecção e/ou quantificação do analito alvo.

14. A injeção direta de amostras biológicas, matrizes extremamente complexas, em sistemas cromatográficos convencionais não é indicada, e uma etapa de preparação de amostra geralmente é necessária. Entre as técnicas de extração rápidas e simples utilizadas para o preparo de amostras biológicas para análise por cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), a que se baseia no equilíbrio de sorção do analito presente na amostra com o sorvente, em que a amostra é misturada dinamicamente com o sorvente por meio da aspiração de ar, é conhecida como:

- (A) microextração em fase sólida (*solid-phase microextraction, SPME*).
- (B) extração em ponteiros descartáveis (*disposable pipette extraction, DPX*).
- (C) extração sortiva com barra de agitação (*stir bar sorptive extraction, SBSE*).
- (D) precipitação de proteínas (*protein precipitation, PP*).
- (E) extração líquido-líquido (LLE).

15. O desenvolvimento de métodos inovadores de microextração vem ganhando destaque, considerando que o preparo de amostras biológicas ainda é uma etapa crucial para a obtenção de métodos robustos e confiáveis para análise por cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas. Entre as técnicas de microextração usadas em bioanálises, a que emprega uma coluna capilar de sílica fundida tubular aberta com diferentes fases estacionárias é:

- (A) microextração sortiva com barra de agitação (*stir bar sorptive microextraction, SBSE*).
- (B) microextração em fase sólida (*solid-phase microextraction, SPME*).
- (C) microextração em fase sólida em tubo (*in-tube solid-phase microextraction, in-tube SPME*).
- (D) microextração por sorvente empacotado (*microextraction by packed sorbent, MEPS*).
- (E) extração em ponteiros descartáveis (*disposable pipette extraction, DPX*).

16. As técnicas convencionais mais utilizadas no preparo de amostras biológicas para análise por cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas possuem vantagens e desvantagens. Estabeleça a correspondência mais adequada entre as colunas I e II.

Coluna I – técnica

1. diluição simples
2. precipitação de proteínas
3. extração líquido-líquido
4. extração por fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*)

Coluna II – desvantagens

- () menos seletiva que SPE, não remove fosfolípidos endógenos; pode formar emulsões; difícil de automatizar; trabalhosa; não é ideal para substâncias altamente polares e metabólitos; evaporação do solvente necessária; gera grandes volumes de solventes orgânicos.
- () seletividade mínima, não remove a maioria dos interferentes da matriz; não há extração ou pré-concentração da amostra; evaporação do solvente pode ser necessária.
- () pode exigir o desenvolvimento do método para otimizar o protocolo; considerada a mais difícil e cara entre as quatro técnicas.
- () sem purificação e concentração da amostra; não-seletiva, interferentes podem causar supressão iônica ou formatos ruins de picos; propicia contaminação da coluna analítica e do instrumento.

A sequência correta, de cima para baixo, é:

- (A) 3, 2, 4, 1.
- (B) 1, 2, 3, 4.
- (C) 3, 1, 2, 4.
- (D) 2, 1, 3, 4.
- (E) 1, 3, 4, 2.

17. A Resolução Anvisa RDC nº 27, de 17 de maio de 2012 dispõe sobre requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. A validação do método para a determinação quantitativa de analitos em matrizes biológicas inclui a construção e avaliação de no mínimo três curvas de calibração com diferentes concentrações do padrão do analito adicionados de padrão interno (PI). Para métodos de cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas, deve ser utilizado, preferencialmente, PI marcado com isótopo estável. Observe as afirmativas a seguir, em relação aos requisitos para PI deuterados:

I – pelo menos 5 átomos de deutério (^2H) devem estar presentes na molécula do PI deuterado, a fim de levar a uma diferença de massa de 10 unidades em relação ao analito alvo.

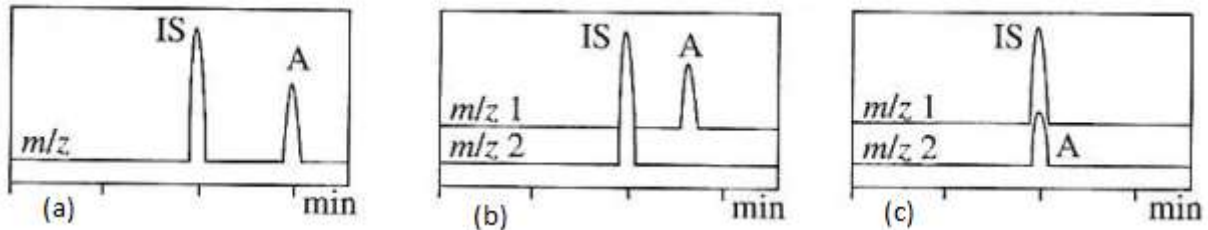
II – os átomos de deutério (^2H) devem estar localizados em posições bem definidas da molécula, sem modificação da estereoquímica da molécula.

III – os átomos de deutério (^2H) devem estar inseridos em posições estáveis na molécula, sem a possibilidade de troca com átomos de hidrogênio (^1H) durante o uso e armazenamento do PI.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) apenas I e II estão corretas.
- (D) apenas II e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

18. A figura abaixo apresenta cromatogramas de íons extraídos provenientes do uso de padrões internos (IS, do inglês *internal standard*) adicionados à amostra biológica objeto de análise antes do preparo da amostra, a fim de efetuar a análise quantitativa do analito alvo (A) por cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas sequencial. Pode-se dizer que nos casos (a), (b) e (c), o padrão interno usado, respectivamente, é uma substância:



Cromatogramas de íons extraídos apresentando um padrão interno (IS) e um analito alvo (A). Fonte: Lavagnini et al. Quantitative Applications of Mass Spectrometry. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, 2006.

- (A) (a) com tempo de retenção diferente do analito alvo, gerando no modo MRM um íon de mesmo valor de relação massa/carga (m/z); (b) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O), gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção; (c) da mesma classe química do analito alvo, gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e diferente tempo de retenção.
- (B) (a) com tempo de retenção diferente do analito alvo, gerando no modo MRM um íon de mesmo valor de relação massa/carga (m/z); (b) da mesma classe química do analito alvo, gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e diferente tempo de retenção; (c) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O), gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção.
- (C) (a) da mesma classe química do analito alvo, gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção; (b) com tempo de retenção diferente do analito alvo, gerando no modo MRM um íon de mesmo valor de relação massa/carga (m/z); (c) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O) gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção.
- (D) (a) da mesma classe química do analito alvo, gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção; (b) com tempo de retenção diferente do analito alvo, gerando no modo MRM um íon de mesmo valor de relação massa/carga (m/z); (c) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O) gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e diferente tempo de retenção.
- (E) (a) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O) gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e diferente tempo de retenção; (b) derivado do analito alvo marcado com um isótopo estável (geralmente contendo ^2H , ^{13}C , ^{15}N ou ^{18}O) gerando uma espécie iônica de diferente valor de relação massa/carga (m/z) e mesmo tempo de retenção; (c) com tempo de retenção diferente do analito alvo, gerando no modo MRM um íon de mesmo valor de relação massa/carga (m/z).

19. A determinação quantitativa de substâncias em amostras biológicas por métodos de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas inclui a construção e avaliação de curvas de calibração, utilizando-se a mesma matriz proposta para o estudo, adicionadas da substância alvo a analisar, em diferentes concentrações, acrescidas de uma concentração fixa do padrão interno. Observe as afirmativas a seguir, em relação à curva de calibração:

- I – caso a variância do erro não seja constante em toda a faixa de quantificação do método analítico, deve ser utilizado o método dos mínimos quadrados ponderados, usando a ponderação que apresentar o menor valor para soma dos erros relativos dos valores nominais dos padrões de calibração versus seus valores obtidos pela equação da curva.
- II – somente o modelo linear pode ser usado para a construção da equação matemática que descreve a curva de calibração.
- III – um modelo não linear pode ser empregado para a construção da equação da curva de calibração, desde que seja demonstrado matematicamente que o modelo linear não é adequado.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que apenas:

- (A) I está correta.
- (B) II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) II e III estão corretas.
- (E) I e III estão corretas.

20. “Para obter resultados quantitativamente significativos sem as substâncias padrão dos analitos identificados, uma série de estratégias diferentes vem sendo desenvolvidas em análises não-direcionadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS).” (KRUIVE, A. Anal. Chem. 2020;92:4691-4699)

Segundo Kruve (2020), algumas das abordagens mais empregadas são as abaixo relacionadas, EXCETO:

- (A) utilização dos tempos de retenção dos picos diretamente ou em combinação com diferentes ferramentas estatísticas.
- (B) diluição isotópica.
- (C) radiomarcagem.
- (D) utilização de substâncias estruturalmente semelhantes para quantificação.
- (E) quantificação baseada na previsão das eficiências de ionização.

21. O composto CA apresentou atividade terapêutica promissora contra doenças metabólicas, incluindo demência e osteoporose, e apresentou também efeito antibacteriano, antioxidante, anti-hipertensivo e antidiabético. A tabela abaixo apresenta os parâmetros farmacocinéticos de CA no plasma de ratos Sprague Dawley (SD) machos após administração oral (100 mg/kg, n=5, média ± DP) e intravenosa (10 mg/kg, n=5, média ± DP). Observe os parâmetros farmacocinéticos do CA:

Parâmetro farmacocinético	Oral (100mg/kg)	IV (10mg/kg)
C_{max} (ng/mL)	6810,00±1715,90	793,29±201,64
T_{max} (min)	30	5
$T_{1/2}$ (h)	14,5±2	12±2
$AUC_{(0-8)}$ (ng/ml.h-1)	44509±3724	12018,12±1429,56
Vd (L/kg)	47±6	15±3
Clearance	2,3±0,2	0,8±0,1
F(%)	38±7	-

C_{max} (pico da concentração plasmática máxima), T_{max} (o tempo para atingir o pico de concentração); $T_{1/2}$ (tempo de meia vida de eliminação); $AUC_{(0-\infty)}$ (área sob a curva do tempo zero ao infinito); V_d (volume de distribuição aparente); CL (Clearance); F (biodisponibilidade).

Sobre o assunto é possível afirmar que:

- I. Uma taxa mais lenta de eliminação e depuração significa uma presença prolongada de CA na circulação sistêmica, conduzindo potencialmente a efeitos farmacológicos sustentados e desejáveis.
- II. Um maior volume de distribuição e uma menor depuração conduzem a uma redução da meia-vida, o que também terá impacto na eficácia terapêutica da CA.
- III. A biodisponibilidade absoluta do CA foi 38%, o que desempenha um papel crítico na determinação do regime de dosagem do CA e está intimamente relacionado com outros parâmetros farmacocinéticos primários, incluindo meia-vida e depuração.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

22. Observe as afirmativas a seguir sobre os estudos de metabolismo de medicamentos:

- I. Durante o processo de desenvolvimento de medicamentos para avaliar o risco da interação de fármaco - fármaco baseados em citocromo CYP450 -, o primeiro tipo de estudo consiste em identificar a via metabólica do novo medicamento e a capacidade de outras moléculas terapêuticas pretendidas modificarem o metabolismo do novo medicamento.
- II. Estudos mais complexos avaliam a possibilidade de o novo medicamento alterar o metabolismo de outros medicamentos.
- III. As enzimas citocromo (CYP) do fígado metabolizam uma ampla gama de medicamentos, e mais de 90% das interações de fármaco - fármaco acontecem na etapa catalisada pela enzima CYP.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

23. Um novo protótipo antineoplásico foi desenvolvido com mecanismo de morte de células leucêmicas K562, através de sinalização necroptótica. Devido ao seu efeito promissor, estudos sobre a sua farmacocinética foram realizados utilizando um novo método bioanalítico validado, baseado em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. A tabela abaixo apresenta a média dos parâmetros farmacocinéticos desse novo protótipo em ratos (n = 3) após administração intraperitoneal na dose de 100 mg/kg.

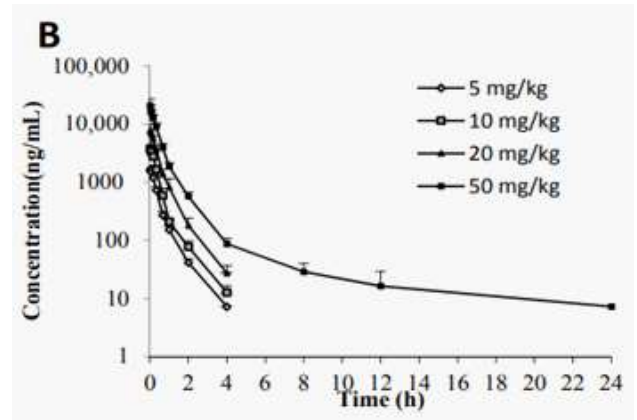
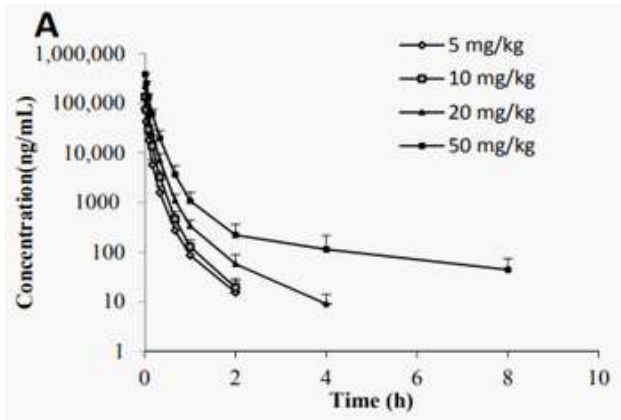
Animal	T _{max} (h)	C _{max} (µg/mL)	AUC _(0-9h) (h. µg/mL)	AUC _(0-∞) (h. µg/mL)	Vd/F(L/kg)	T _{1/2} (h)	CL _T /F (mL/min/kg)
1	1,00	22,06	101,65	146,93	5,12	5,22	11,34
2	1,00	21,66	91,80	95,68	1,98	1,31	17,42
3	1,00	19,15	41,142	44,70	9,35	2,14	37,28
Média	1,00	20,96	78,20	95,77	5,48	2,89	22,01
±SD		± 1,5	± 32,4	± 51,1	± 3,6	± 2,0	± 13,5

T_{max} (o tempo para atingir o pico de concentração); C_{max} (pico da concentração plasmática máxima), AUC₍₀₋₉₎ (área sob a curva desde o tempo zero até 9h); AUC_(0-∞) (área sob a curva do tempo zero ao infinito); MRT (tempo médio de residência); Vd/F (volume de distribuição aparente); T_{1/2} (tempo de meia vida de eliminação); F (biodisponibilidade); CL (Clearance).

Sobre os estudos do novo protótipo, é INCORRETO afirmar que:

- (A) o novo protótipo anticâncer demonstra uma absorção rápida e alta, atingindo uma média C_{max} de 20,96 µg/mL em 1 h (T_{max}), após dose de 100 mg/kg em ratos.
- (B) a via intraperitoneal é considerada uma administração parenteral, na qual o composto está totalmente disponível; esse processo de absorção depende parcialmente das propriedades físico-químicas do medicamento, o protótipo tem lipofilicidade baixa (logP = 2,48), sendo isto primordial para um agente anticancerígeno tratar lesões de tumores profundos, como neoplasias da medula óssea.
- (C) os valores médios da área sob a curva (AUC) AUC_(0-9h) e AUC_(0-∞) de 78,20 e 95,77 h.µg/mL, respectivamente, também indicam uma extensão relativamente boa da absorção do protótipo e sua exposição ao organismo do rato.
- (D) a média do volume de distribuição (Vd/F) obtido para o novo protótipo foi de aproximadamente 5,48 L/kg, o que pode ser considerado um grande volume de distribuição.
- (E) o novo protótipo anticâncer apresentou um tempo de meia vida de baixa a média, de acordo com sua elevada depuração, indicando uma possível fase de eliminação relativamente rápida.

24. C118P, um pró-fármaco com o grupo éster fosfato de C118, que é um novo inibidor de proteína de microtúbulos, está atualmente em desenvolvimento clínico de Fase I na China para o tratamento de câncer de ovário e câncer de pulmão. Os gráficos mostram os perfis de concentração plasmática versus tempo de C118P em ratos (A), C118 em ratos (B), após a administração intravenosa de doses 5, 10, 20 e 50 mg/kg de C118P.



Observe as afirmativas a seguir:

- I. Tanto C118P quanto C118 foram detectáveis no plasma de ratos após administração por via intravenosa de C118P.
- II. Após a administração intravenosa, C118P pode ser hidrolisado em C118 rapidamente, com C118P e C118 detectáveis no sangue simultaneamente.
- III. A área sob a curva de C118 reduziu proporcionalmente a dose no intervalo de 5–50 mg/kg.

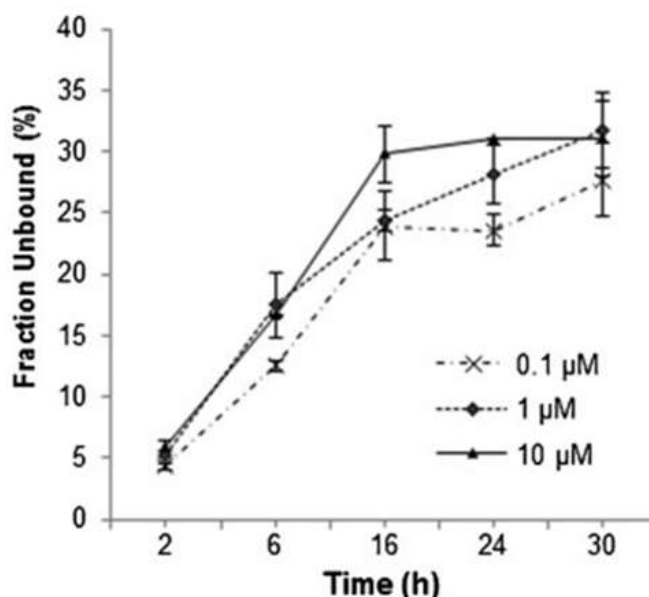
Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

25. Sobre os estudos de farmacocinética para otimizar a dose e o regime de dosagem de um composto, é INCORRETO afirmar que:

- (A) um método bioanalítico que pode ser escolhido é a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial.
- (B) estudos de estabilidade em fluidos corporais simulados em diferentes pHs fornecem orientações para estudos de farmacocinética in vivo.
- (C) um composto instável em fluidos corporais simulados, como fluido gástrico ou intestinal, pode degradar-se ou sofrer transformações químicas antes de ser absorvido pela corrente sanguínea, aumentando a quantidade do composto ativo disponível para absorção e a sua biodisponibilidade oral.
- (D) o estudo da proporção sangue-plasma indica a partição do medicamento no sangue ou plasma, bem como a afinidade do medicamento pelos eritrócitos e concentrações adicionais que podem causar hepatotoxicidade.
- (E) a variabilidade do pH regional, perfusão sanguínea, a permeabilidade à membrana celular, a ligação às proteínas plasmáticas de uma nova molécula terapêutica influencia diretamente os parâmetros farmacocinéticos, incluindo distribuição do medicamento, depuração e meia-vida.

26. Um inibidor altamente específico de CDK4 e CDK6, biodisponível por via oral, demonstrou uma tolerabilidade controlável e potencial terapêutico para uma variedade de tipos de câncer. Dados pré-clínicos sugerem que esse inibidor pode atravessar a barreira hematoencefálica, apoiando o desenvolvimento clínico adicional do tratamento de tumores do sistema nervoso central. A análise de amostras de plasma, tumor e líquido cefalorraquidiano (LCR) foi realizada para avaliar a farmacocinética e a penetração do composto no sistema nervoso central e no tumor.



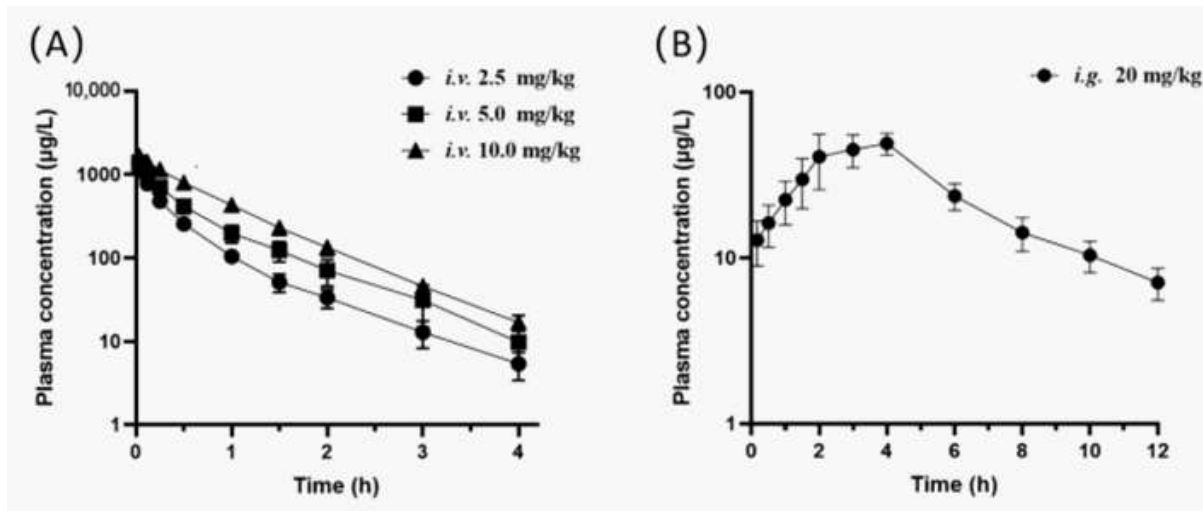
Observe as afirmativas abaixo sobre o gráfico acima: fração não ligada do inibidor (0,1, 1 e 10 µM) no plasma no tempo de equilíbrio de 2, 4, 6, 16 e 24 h.

- I. A fração não ligada do inibidor no plasma pode ser determinada por diálise de equilíbrio.
- II. O tempo de equilíbrio otimizado da fração não ligada do inibidor no plasma é de 6 h.
- III. O inibidor ligou pouco às proteínas plasmáticas.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

27. Um medicamento fitoterápico com ação antioxidativa, anti-inflamatória, antiproliferativa, antitumoral, antimicrobiana e anti-Alzheimer, tem sido amplamente utilizado para o tratamento de reumatismo e alívio da dor na China. No entanto, as características farmacocinéticas incluindo a biodisponibilidade deste composto permanecem indefinidas. Os gráficos abaixo apresentam as curvas da média da concentração plasmática desse fitoterápico em escala logarítmica ordenada (n = 8): (A) administração intravenosa do fitoterápico 2,5, 5, 10 mg/Kg; (B) administração oral do fitoterápico 20 mg/Kg. A tabela abaixo mostra a média dos parâmetros farmacocinéticos estimados do fitoterápico após administração intravenosa (i.v.) e oral (i.g.) (n = 8).



Parâmetros	Intravenoso			Oral
	2,5 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
C_{max} (µg/L)	-	-	-	64 ± 35
T_{max} (h)	-	-	-	3,4 ± 0,7
$T_{1/2}$ (h)	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,2	3,0 ± 1,6
$AUC_{(0-t)}$ (µg/L.h)	480 ± 142	760 ± 415	1282 ± 329	285 ± 87
$AUC_{(0-\infty)}$ (µg/L.h)	484 ± 144	771 ± 425	1299 ± 332	318 ± 98
$AUC_{(0-t)}/AUC_{(0-\infty)}$	0,99 ± 0,01	0,99 ± 0,01	0,99 ± 0,01	0,90 ± 0,09
MRT (h)	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,2	6 ± 2
V_d	5 ± 2	8 ± 3	7 ± 2	-
CL	5,6 ± 1,9	9 ± 5	8 ± 2	-
F(%)	-	-	-	10 ± 2

C_{max} (pico da concentração plasmática máxima), T_{max} (o tempo para atingir o pico de concentração); $AUC_{(0-t)}$ (área sob a curva desde o tempo zero até o último ponto de amostragem); $AUC_{(0-\infty)}$ (área sob a curva do tempo zero ao infinito); MRT (tempo médio de residência); $T_{1/2}$ (tempo de meia vida de eliminação); V_z (volume de distribuição aparente); F (biodisponibilidade).

Observe as afirmativas abaixo sobre os gráficos e tabela:

- I. Para todos os perfis concentração-tempo no estudo, a proporção de $AUC_{(0-t)}$ para $AUC_{(0-\infty)}$ foi superior a 90%.
- II. Os perfis farmacocinéticos após a administração intravenosa na dose de 2,5, 5 e 10 mg/kg mostrou meia-vida de eliminação média semelhante ($T_{1/2}$ de 0,6~0,7 h), tempo médio de residência (MRT de 0,6~0,80 h), volume de distribuição (V_d de 5~7 L/kg) e depuração sistêmica (CL de 5,6~9 L/kg/h), que não apresentaram diferenças entre os diferentes níveis de dose ($p > 0,05$).
- III. A biodisponibilidade absoluta do fitoterápico após dose única (20 mg/kg) foi de cerca de 10± 2%, indicando boa absorção do fitoterápico em ratos.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

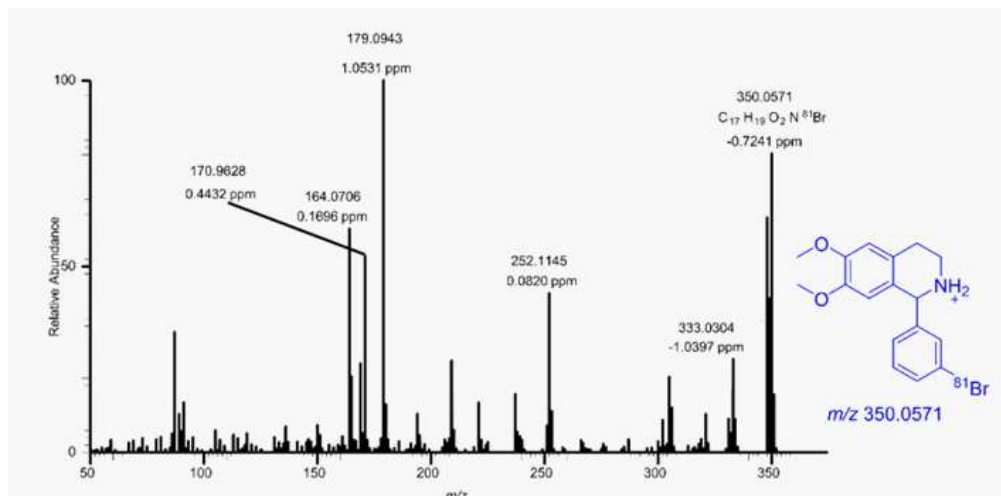
28. O composto BH é um agente antiarrítmico da linha sintética de tetrahydroisoquinolina. Sobre a tabela abaixo, que apresenta os parâmetros farmacocinéticos desse composto em ratos após administração oral e intravenosa (n = 6, média \pm DP), é correto afirmar que:

Parâmetros	Unidade	Oral (19,2mg/kg)	Intravenoso (1,9 mg/kg)
AUC _{0-t}	h.(ng/mL)	1932 \pm 492	1810 \pm 699
AUC _{0-∞}	h.(ng/mL)	1969 \pm 480	1902 \pm 664
T _{max}	h	1,0 \pm 0,5	-
T _{1/2}	h	1,6 \pm 0,2	2,0 \pm 1,0
C _{max}	ng/mL	568 \pm 122	906 \pm 47
CL	mL/h	1057 \pm 202	117 \pm 43
V _d	mL	2484 \pm 622	338 \pm 168
F(%)		10,6	

* AUC_{0-t} (AUC_{0-∞}), área sob as concentrações do analito versus curva de tempo do tempo 0 ao t h (inf); T_{max}, tempo de concentração máxima; T_{1/2}, meia-vida de eliminação; C_{max}, concentração máxima; CL, clearance; V_d, volume aparente de distribuição; F (%), biodisponibilidade absoluta.

- (A) a C_{max} de 568 \pm 122 ng/mL foi alcançada em 1,00 \pm 0,45 h após a administração oral, indicando que o BH foi rapidamente absorvido pelo sistema circulatório sanguíneo.
- (B) o BH foi eliminado lentamente do sistema circulatório sanguíneo, pois o T_{1/2} foi de 1,6 \pm 0,2h após administração oral.
- (C) os valores de AUC_(0-t) e AUC_(0-∞) após administração oral foram 1932 \pm 492 e 1969 \pm 480 h*(ng/mL), indicando que o tempo de monitorização não foi adequado.
- (D) o volume aparente de distribuição foi de 2484 \pm 622 mL, indicando um maior volume plasmático de ligação de proteínas para BH.
- (E) a biodisponibilidade absoluta do BH foi elevada.

29. É crucial para o desenvolvimento inicial de medicamentos realizar perfis metabólicos em uma nova entidade química. A figura abaixo apresenta os espectros de massa MS/MS da BH, um inibidor do transportador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ da superfície da membrana.



Observe as afirmativas a seguir sobre o metabolismo de fármacos.

- I. BH é o composto original de todos os seus metabólitos, e, como os metabólitos derivam do BH, as características espectrais de massa dos metabólitos apresentam altas correlações com as do BH.
- II. O fragmento mais abundante, o íon em m/z 179,0943, foi produzido pela perda de um radical metila e da 3'-bromo benzeno.
- III. O pico do íon molecular protonado de BH no modo positivo ESI foi m/z 350,0571 ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{N}^{81}\text{Br}$).

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

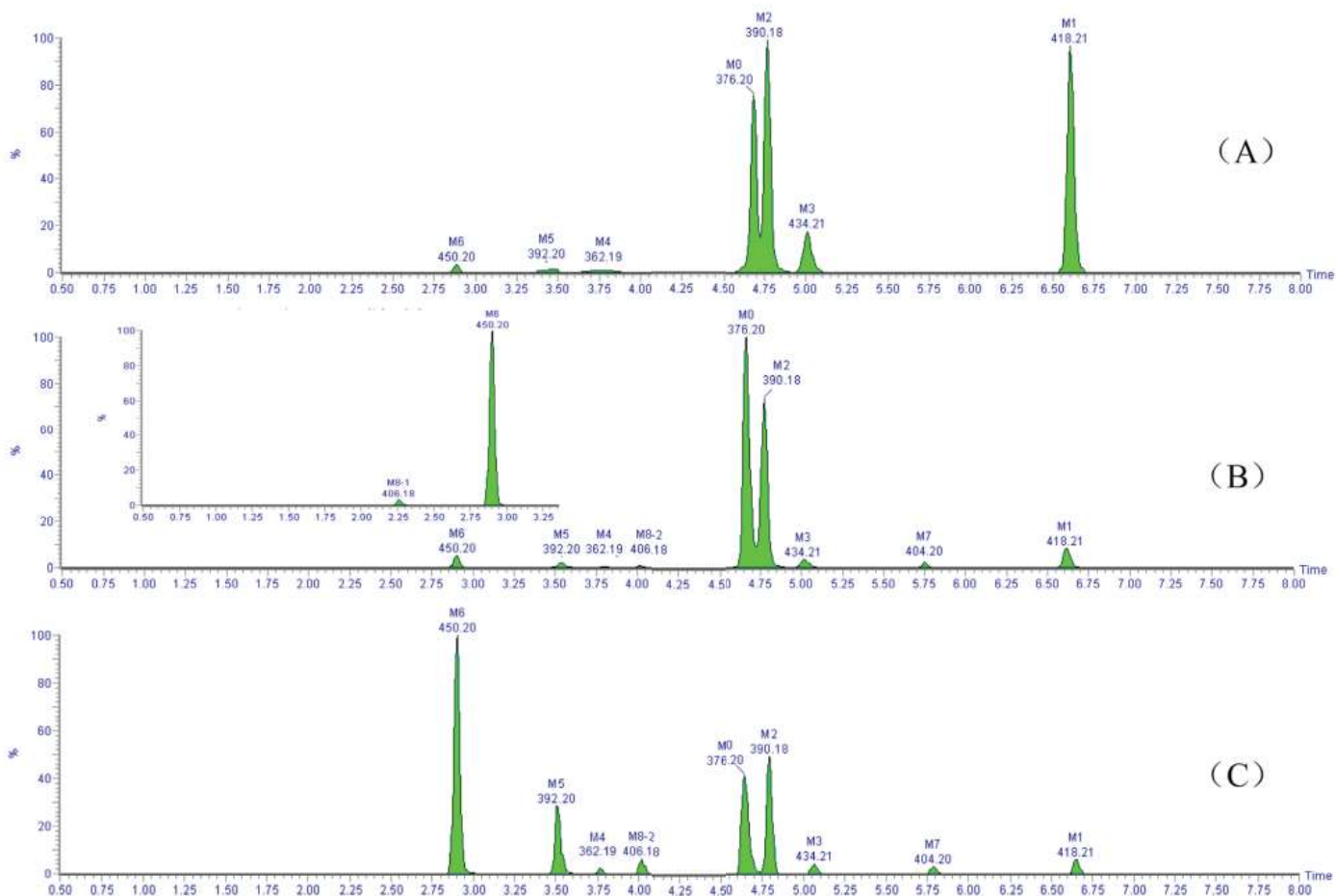
30. Observe as afirmativas abaixo sobre a caracterização de metabólitos formados a partir de substâncias inovadoras.

- I. A precisão nas medidas de massa e informações valiosas sobre fragmentação fornecidas pela espectrometria de massa de alta resolução (HR-MS) contribuem significativamente para a caracterização do metabólito.
- II. A identificação de metabólitos em humanos e ratos deve ser investigada na fase inicial do desenvolvimento do medicamento para avaliação da biodisponibilidade.
- III. A cromatografia líquida de ultra eficiência/espectrometria de massa de tempo de voo quadrupolo (UHPLC/Q-TOF MS) pode ser utilizada para rastrear e caracterizar os metabólitos em plasma, urina e fezes de humanos e de ratos.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

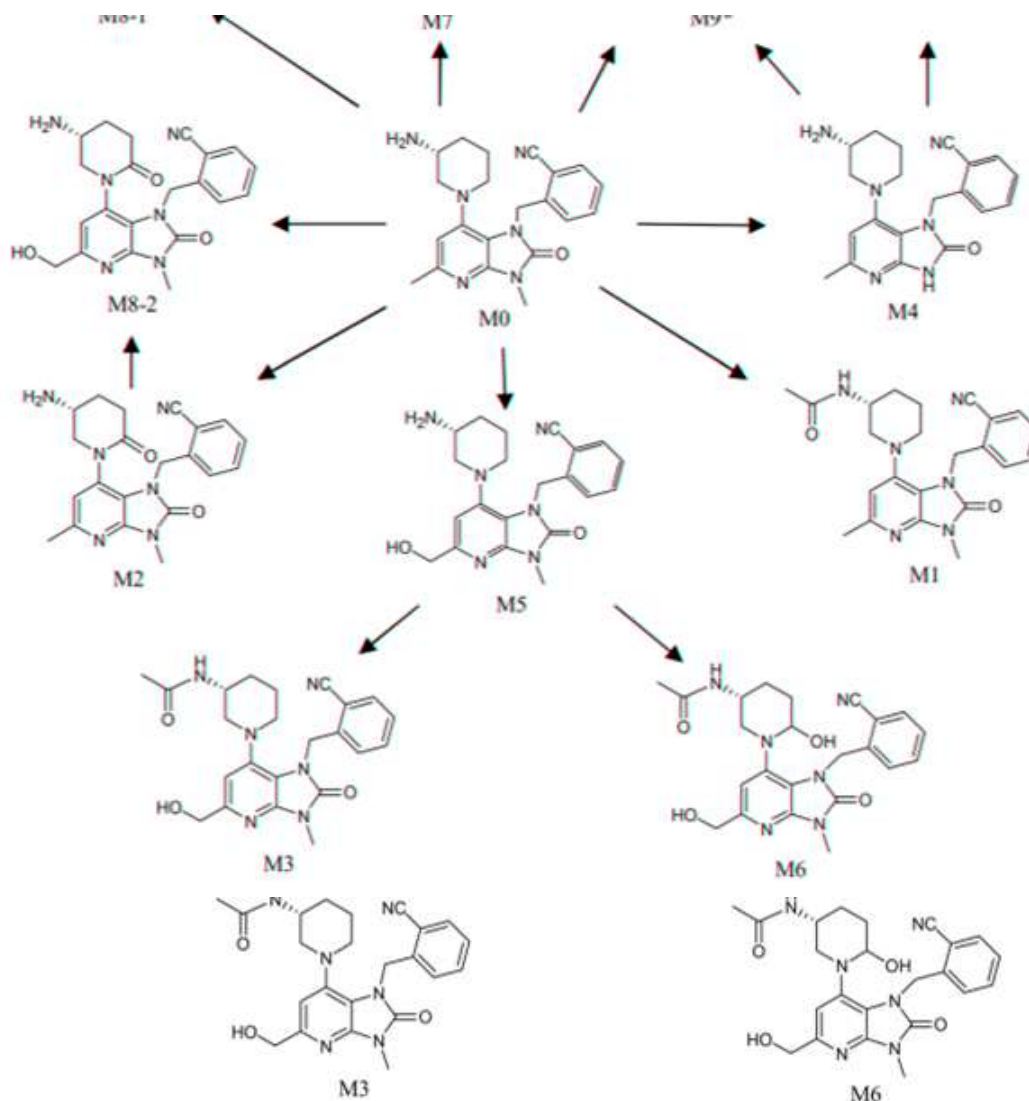
31. Um método de cromatografia líquida de ultra eficiência/espectrometria de massa de tempo de voo quadrupolo (UHPLC/Q-TOF HRMS) foi utilizado para a varredura completa do plasma, urina e amostras fecais, para obter um perfil completo dos metabólitos de uma substância inovadora. Os cromatogramas abaixo apresentam amostras de plasma em 1 h (A), amostras de urina em 4–8 h (B), amostras de fezes em 24–48 h (C) após administração oral de dose única de 100 mg da substância inovadora (M0).



Sobre os cromatogramas acima, é INCORRETO afirmar que:

- (A) no total de amostras (plasma, urina e fezes), 9 metabólitos foram encontrados.
- (B) no cromatograma A foram encontrados 7 metabólitos no plasma.
- (C) no cromatograma C, 8 metabólitos foram quantificados nas fezes.
- (D) os metabólitos M1 até M8-2 foram encontrados nas amostras.
- (E) no cromatograma B, 9 metabólitos foram encontrados na urina.

32. Observe as afirmativas abaixo sobre as vias metabólicas e perfis da imigliptina em ratos; Cloridrato de Imigliptina (M0), seus metabólitos M1 – M10.



- I. As vias metabólicas propostas para a imigliptina em ratos detectados após administração oral de imigliptina são 7 metabólitos de fase I e 4 metabólitos de fase II.
- II. Os metabólitos da imigliptina foram N-dealquilação, N-acetilação, oxidação de grupamento alquila, oxidação de amina e formação de glucuronídeo.
- III. Na amostra de plasma, M1 e M2 são metabólitos resultantes da acetilação e hidroxilação, respectivamente.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta;
- (B) apenas I e II estão corretas;
- (C) apenas II e III estão corretas;
- (D) apenas I e III estão corretas;
- (E) todas estão corretas

33. Compostos da família N-benzil hidroxipiridona carboxamida apresentam atividade antiviral. Dois candidatos dessa família que apresentaram um perfil antiviral promissor foram avaliados quanto à solubilidade em água, estabilidade frente ao plasma e a microssomas, conforme a tabela abaixo.

Composto	Solubilidade em água (µM)	Estabilidade no plasma t _{1/2} (h)		Estabilidade em microssomas t _{1/2} (min)	
		humano	murino	Humano	murino
1	2,2 ± 0,2	>24	>24	40,1 ± 1,8	26,0 ± 1,0
2	2,2 ± 0,1	>24	>24	102,3 ± 11,8	53,7 ± 0,4

Observe as afirmativas abaixo sobre a tabela.

- I. 1 e 2 exibiram excelente estabilidade plasmática e boa estabilidade microssomal, prevendo uma biodisponibilidade amplamente favorável em ambas as espécies.
- II. Os análogos 1 e 2 apresentaram baixa solubilidade aquosa, com alta permeabilidade, pois a solubilidade necessária é inversamente proporcional à permeabilidade.
- III. Os valores indicados mostram que ambas são metabolizadas rapidamente por amidases.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas I e II estão corretas.
- (C) apenas II e III estão corretas.
- (D) apenas I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

34. A estabilidade frente às frações microssomal e S9 é um ensaio que ajuda a estimar a estabilidade de substâncias candidatas a fármaco a processos de biotransformação. Abaixo são mostrados resultados da estabilidade de um candidato a fármaco, frente às frações microssomais e S9 de cinco diferentes espécies. Os valores apresentados são o tempo de meia vida(t_{1/2}) em minutos. Foi utilizado material de macacos *cynomolgus*.

Fração	Camundongo	Rato	Cão	Macaco	Homem
Microssoma	52.1	43.5	89	22.9	136
Microssoma*	54.8	46.6	119	25.2	411
S9	128	147	477	7	429

*Nessa condição a atividade flavina monoxigenase (fmo) foi inativada.

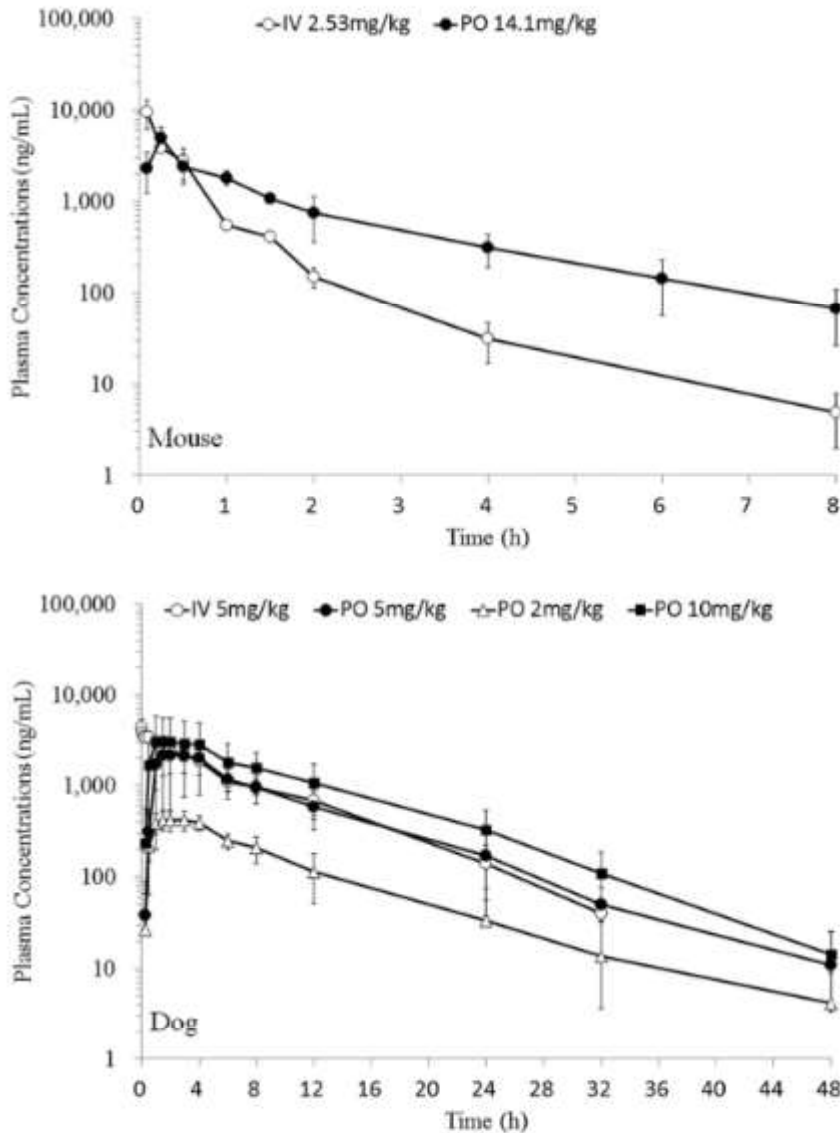
Avalie as afirmativas abaixo:

- I. Pode-se observar claramente que a substância estudada é pouco biotransformada por enzimas fase 2 em todas as espécies.
- II. A inativação da fmo afeta radicalmente a taxa de biotransformação em todas as espécies.
- III. Esses resultados indicam uma maior estabilidade metabólica no homem em relação às demais espécies.

Das afirmativas acima:

- (A) apenas II está correta.
- (B) apenas III está correta.
- (C) apenas I está correta.
- (D) apenas II e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

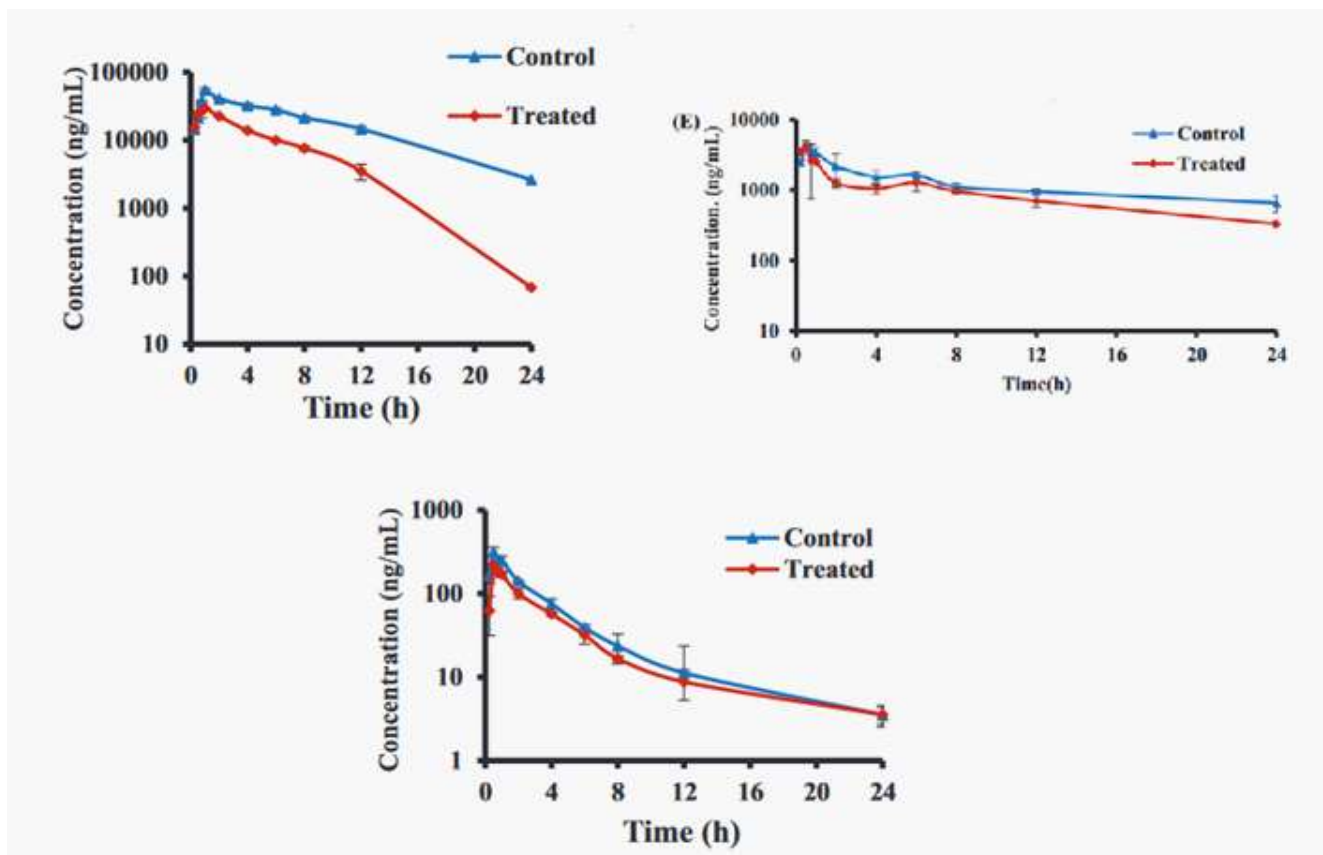
35. O estudo da biodisponibilidade por via oral é um parâmetro importante na farmacocinética não clínica. É importante que sejam utilizadas as mesmas espécies/linhagens usadas em outros ensaios, como, por exemplo, no ensaio de potência. Abaixo são mostradas as curvas de biodisponibilidade oral (PO) de um candidato a fármaco, em camundongos (superior) e em cães (inferior). A biodisponibilidade por via endovenosa (IV) também foi determinada.



Observando esses resultados pode-se concluir que:

- (A) nas duas espécies não foi observada uma grande diferença entre os perfis de biodisponibilidade oral e endovenosa.
- (B) o t_{max} do cão por via oral é próximo de 1h.
- (C) o t_{max} é muito próximo nas duas espécies.
- (D) a C_{max} por via oral no camundongo é um pouco menor que 10 $\mu\text{g/mL}$ de plasma.
- (E) a C_{max} por via oral no cão não é influenciada pela dose utilizada.

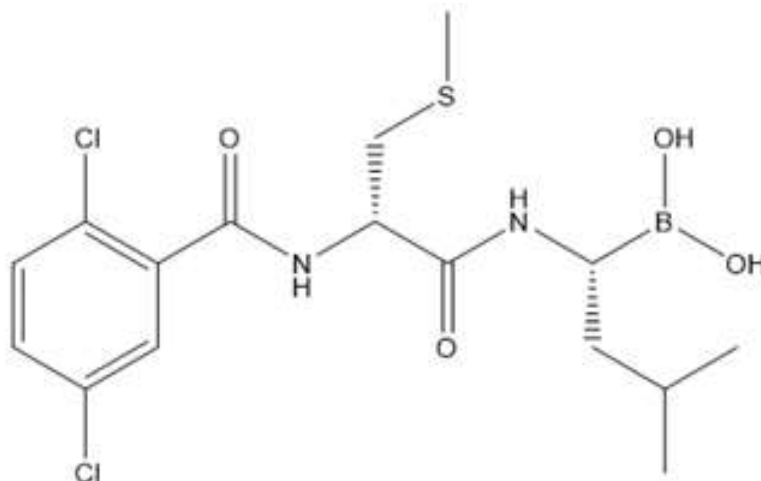
36. Produtos naturais são uma importante fonte para o desenvolvimento de novos fármacos; a avaliação da farmacocinética de compostos naturais em modelos animais de ajuda no desenvolvimento de análogos sintéticos com propriedades superiores. Abaixo é mostrado o efeito sobre a biodisponibilidade de alguns marcadores, após a administração por 14 dias em ratos, de um composto natural.



Superior à esquerda: efeito sobre a biodisponibilidade de um marcador para CYP1A2; superior à direita: efeito sobre a biodisponibilidade de marcador do CYP2E1; inferior: efeito sobre a biodisponibilidade de marcador da isoforma CYP3A1. Grupo controle identificado com triângulo e grupo tratado com o produto natural identificado com losango. Observando esses resultados pode-se concluir que:

- (A) a administração do produto natural não alterou a biodisponibilidade dos marcadores.
- (B) o produto natural se mostrou um inibidor seletivo da isoforma CYP1A2.
- (C) o produto natural se mostrou um inibidor seletivo da isoforma CYP2E1.
- (D) o produto natural se mostrou um inibidor seletivo da isoforma CYP3A1.
- (E) não foi observado fenômeno de inibição sobre nenhuma das isoformas estudadas.

37. A substância (1), mostrada abaixo, é um candidato a novo fármaco para o tratamento de alguns tipos de tumor. No processo de desenvolvimento dessa droga foram estudados os produtos de biotransformação em hepatócitos de diferentes espécies. A técnica utilizada foi a cromatografia a líquido de ultra eficiência acoplada a um espectrômetro de massa Q-Tof. Não houve diferença no perfil dos metabolitos formados, independentemente do hepatócito utilizado. Na tabela abaixo são mostrados os tempos de retenção (t_R) de cada pico observado, as fórmulas moleculares obtidas para cada um, com os erros associados.



Substância	t_R (min)	Fórmula	Erro (ppm)
(1)	8,41	$C_{18}H_{22}N_2O_4SCl_2B$	-10,8
M1	5,44	$C_{11}H_{12}N_2O_2SCl_2$	-12,3
M2	3,89	$C_{11}H_{11}NO_3SCl_2$	-13,7
M3	3,56	$C_{11}H_{12}N_2O_3SCl_2$	-13,6
M4	4,16	$C_{11}H_{12}N_2O_4SCl_2$	-15,6
M5	7,57	$C_{18}H_{22}N_2O_3SCl_2$	-13,3
M6	6,25	$C_{18}H_{21}N_2O_4SCl_2B$	-17,3
M7	5,14	$C_{22}H_{30}N_2O_9SCl_2$	-14,4
M8-1	4,93	$C_{28}H_{37}N_2O_8S_2Cl_2$	-14,7
M8-2	5,20	$C_{28}H_{37}N_2O_8S_2Cl_2$	-15,4

t_R : tempo de retenção. Foi utilizada uma coluna C_{18} .

Analisando esses dados, a alternativa errada sobre os metabolitos formados é:

- (A) M1 é um metabólito de oxidação.
- (B) M2 é um metabólito de oxidação.
- (C) M3 e M4 são possíveis produtos de oxidação de M1.
- (D) M5 é um precursor de M7.
- (E) M7 e M8 são metabolitos fase 2.

38. A determinação do log P é um ensaio fundamental na predição de propriedades farmacocinéticas de substâncias candidatas a fármacos. Existem vários procedimentos experimentais para essa determinação, sendo que a organização para cooperação e desenvolvimento econômico (OCDE) estabeleceu parâmetros para determinação do log P por cromatografia a líquido. Leia as afirmativas abaixo sobre esses parâmetros:

- I. Devem-se utilizar colunas de troca catiônica para a determinação do valor de log P.
- II. Deve ser feita uma calibração com substâncias com valor de log P conhecido, utilizando-se valores de retenção na coluna cromatográfica para a determinação do log P.
- III. O coeficiente de correlação entre os valores de log P de substâncias conhecidas e a retenção deve ser no mínimo 0,99 para considerar o ensaio válido.
- IV. O ideal é a determinação do valor de log P por interpolação aos valores dos padrões.

Das afirmativas acima, estão corretas apenas:

- (A) I e II.
- (B) I e III.
- (C) I e IV.
- (D) II e III.
- (E) II e IV.

39. A avaliação da ligação à proteína plasmática de uma substância candidata ao tratamento do mieloma múltiplo foi realizada pelo método RED (*Rapid Equilibrium Dialysis*). Foram utilizados plasma de rato, do cão e humano, preparando-se amostras nas concentrações de 20, 60 e 200ng/mL. A determinação do composto de interesse no plasma e tampão, após 4h de equilíbrio, foi feita com um método de cromatografia a líquido de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massa Triplo Quadrupolo (TQP), com o limite inferior de quantificação (LIQ) de 0,2 ng/mL. Em todas as condições testadas a concentração no tampão foi menor que LIQ. A partir desses resultados pode-se concluir que:

- (A) o composto de interesse apresenta uma interação forte às proteínas plasmáticas das espécies estudadas.
- (B) o LIQ para esse método não atende às necessidades desse experimento.
- (C) o composto de interesse apresenta uma afinidade forte ao tampão utilizado.
- (D) o tempo de incubação é insuficiente para atingir o equilíbrio.
- (E) o desenvolvimento de um método mais sensível é fundamental para se concluir a afinidade do composto de interesse com proteínas plasmáticas.

40. Nos estudos farmacocinéticos pré-clínicos do **25a**, um promissor novo diurético, da classe dos inibidores de transportadores de ureia, a proporção de ligação da substância a proteínas plasmáticas de ratos Sprague-Dawley (SD) e de humanos foi avaliada por microdiálise. 400 μL de plasma contendo 50, 500 e 2500 ng mL^{-1} de **25a** foram depositados nas bolsas de diálise (lado do plasma) e as bolsas foram colocadas em tubos contendo 4 mL de tampão de diálise (lado do tampão). Após agitação e incubação a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 5 h, alíquotas de 50 μL foram tomadas de ambos os lados (lado do plasma e lado do tampão), diluídas a 100 μL e acrescidas de 600 μL de acetonitrila (contendo 10 ng mL^{-1} de padrão interno) para precipitação das proteínas e subsequente análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS).

A proporção de ligação da substância a proteínas plasmáticas (%) foi calculada como $100\% \times (1 - \text{Concentração}_{\text{tampão}} / \text{Concentração}_{\text{lado do plasma}})$ e os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Espécies	Ligação a proteínas plasmáticas (%)		
	50 ng mL^{-1}	500 ng mL^{-1}	2500 ng mL^{-1}
Humana	44,1 \pm 2,5	38,8 \pm 12,0	40,5 \pm 2,5
Rato	63,2 \pm 3,3	61,4 \pm 1,2	64,5 \pm 2,5

Observe as afirmativas a seguir, em relação à determinação in vitro da ligação do **25a** a proteínas plasmáticas:

- I – O valor médio de ligação a proteínas plasmáticas do **25a** no plasma humano e de rato foi de 38,8% – 44,1% e 61,4% – 64,5%, respectivamente, indicando uma ligeira diferença entre as espécies, enquanto a ligação a proteínas plasmáticas do **25a** em ambas as matrizes de plasma foi relativamente baixa a moderada em comparação com a substância utilizada como composto de referência (varfarina) (98,5%).
- II – Considerando que a ligação a proteínas plasmáticas do **25a** em plasma humano foi relativamente baixa, esse resultado indica que a droga é pouco eficiente em atravessar as membranas celulares ou se difundir.
- III – A ligação a proteínas plasmáticas em cada nível de concentração não mostrou diferenças significativas ($p > 0,05$, teste t de Student), indicando que a ligação do **25a** com as proteínas plasmáticas independe da concentração.

Das afirmativas acima, apenas:

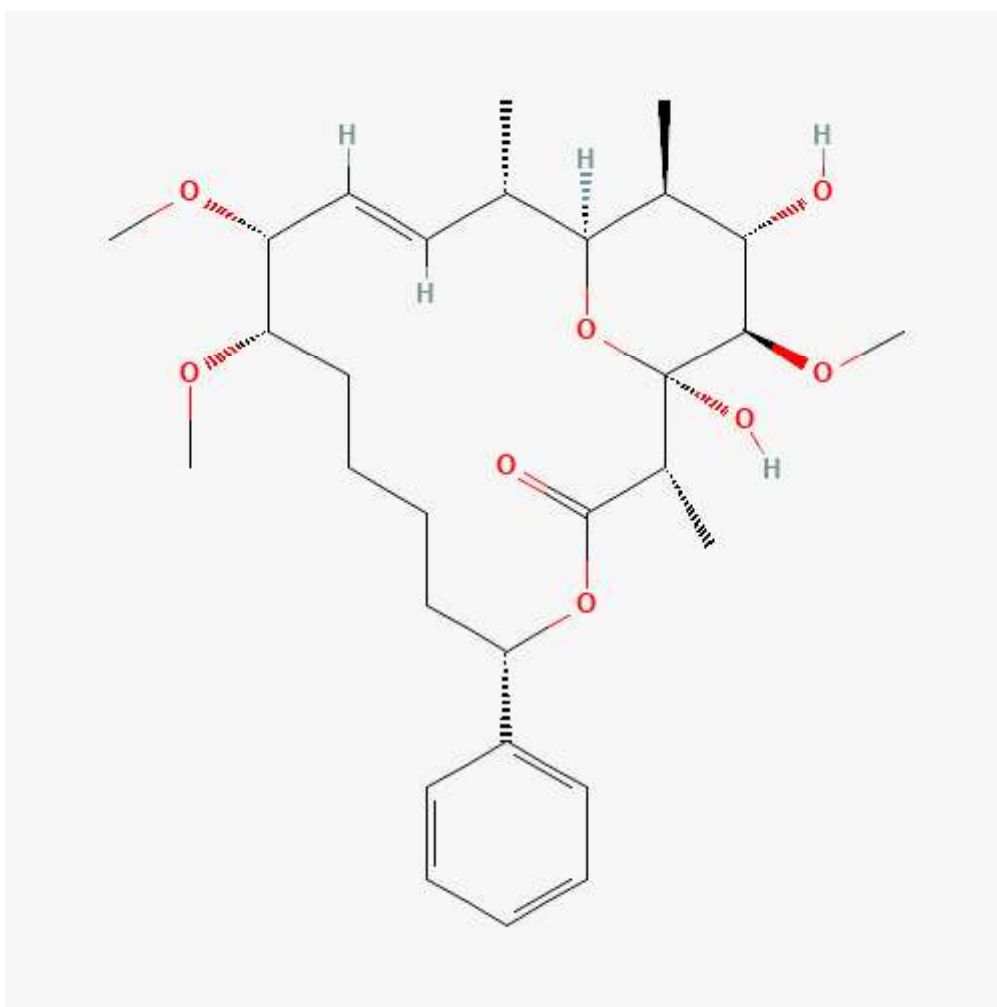
- (A) I está correta.
- (B) II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) II e III estão corretas.
- (E) I e III estão corretas.

Prova Discursiva

QUESTÃO

Soraphen A (SorA) é um produto natural macrolídeo produzido por uma mixobactéria, *Sorangium cellulosum*, que possui propriedades anticancerígenas, imunomoduladoras e antivirais. Essa substância vem sendo estudada para reduzir os níveis séricos do vírus da Dengue (DENV), doença transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, um dos vetores mais importantes endêmicos em regiões subtropicais e tropicais (Brönstrup et al. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2021, 4, 1499–1513).

Com base na estrutura química, propriedades moleculares e farmacocinética do SorA apresentadas na figura e tabela abaixo, discorra, com o mínimo de 50 linhas e o máximo de 150 linhas, sobre as diversas etapas do desenvolvimento de métodos analíticos para a farmacocinética do SorA:



Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Soraphen-A#section=Chemical-and-Physical-Properties>

Parâmetros	Valores
Peso molecular [g/mol]	520,63
pK _{a1} (Cálculo in vitro)	10,60
pK _{a2} (Cálculo in vitro)	11,43
Log P	1,45
Ligação à proteína plasmática [%]	86 (camundongos), 98,2 (humanos)
Clearance hepático total (Cl) [μL/min/kg]	921
Solubilidade em água pH 7 [ng/mL]	200

Fonte: Adaptado de Brønstrup et al. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2021, 4, 1499–1513

- a) Qual o propósito e como se determina o log P? Como interpretar o valor de log P constante da tabela?
- b) Descreva como efetuar um experimento para a determinação in vitro da ligação a proteínas plasmáticas.
- c) Descreva os estudos necessários para a comprovação da estabilidade do analito em plasma humano. Considerando o emprego da cromatografia a líquido de ultraeficiência acoplada à espectrometria de massas (CLUE-EM) no método para avaliação da estabilidade, explique qual tipo de cromatografia é mais adequada (fase reversa, normal ou cromatografia de interações hidrofílicas - HILIC) e qual fonte de ionização deve ser empregada (ionização por eletrospray - ESI ou ionização química à pressão atmosférica - APCI) para a avaliação da estabilidade do Soraphen A (SorA) em plasma humano. Proponha ainda um protocolo de preparo de amostra de plasma para a análise por CLUE-EM.
- d) Qual a importância da caracterização dos metabólitos em estudos de farmacocinética de moléculas candidatas a fármaco? Qual tipo de instrumento de espectrometria de massas deveria ser empregado (baixa ou alta resolução) considerando metabolômica não direcionada? Justifique.

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

INSTRUÇÕES

1. Por motivo de segurança a Fiocruz solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas da Prova Objetiva, a frase abaixo apresentada:

“As melhores coisas da vida, não podem ser vistas nem tocadas, mas sim sentidas pelo coração.” (Dalai Lama)

2. Para cada uma das questões da prova objetiva são apresentadas 5 (cinco) alternativas classificadas com as letras (A), (B), (C), (D) e (E), e só uma responde da melhor forma possível ao quesito proposto. Você só deve assinalar UMA RESPOSTA. A marcação de nenhuma ou de mais de uma alternativa anula a questão, MESMO QUE UMA DAS RESPOSTAS SEJA A CORRETA.

3. A duração da prova é de 4 (quatro) horas, considerando, inclusive, a marcação do Cartão de Respostas e a Prova Discursiva. Faça-a com tranquilidade, mas controle o seu tempo.

4. Verifique se a prova é para o **PERFIL** para o qual concorre.

5. Somente após autorizado o início da prova, verifique se este Caderno de Questões está completo e em ordem. Folhear o Caderno de Questões antes do início da prova implica na eliminação do candidato.

6. Verifique, no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, se seu nome, número de inscrição, identidade e data de nascimento estão corretos. Caso contrário, comunique ao fiscal de sala.

7. O **Caderno de Questões** poderá ser utilizado para anotações, mas somente as respostas assinaladas no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva** e no **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** serão objeto de correção.

8. Observe as seguintes recomendações relativas ao **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**:

. não haverá substituição por erro do candidato;

. não deixar de assinar no campo próprio;

. não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;

. a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;

. outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

9. O fiscal não está autorizado a alterar quaisquer dessas instruções.

10. Você só poderá retirar-se da sala após 60 minutos do início da prova.

11. Quaisquer anotações só serão permitidas se feitas no caderno de questões.

12. Você poderá anotar suas respostas da prova objetiva em área específica do Caderno de Questões, destacá-la e levar consigo.

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue ao fiscal todo o seu material de prova.

14. Ao terminar a prova, entregue ao fiscal de sala, obrigatoriamente, o **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, o **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** e o **Caderno de Questões**.

15. Prova Discursiva:

- A questão discursiva deverá ter um limite mínimo de 50 linhas e máximo de 150 linhas.

- Transcreva sua resposta para a parte pautada do **Caderno de Respostas da Prova Discursiva**. Não assine, rubrique ou coloque qualquer marca que o identifique, sob pena de ser anulado. Assim, a detecção de qualquer marca identificadora no espaço destinado à transcrição do texto definitivo acarretará nota ZERO na respectiva prova discursiva.

- O tempo total de duração das provas será de 4 (quatro) horas, incluindo o tempo para o preenchimento da Resposta Definitiva da Questão Discursiva. Nenhum rascunho **SERÁ LEVADO EM CONTA**.

Boa Prova!



Ao término da prova, anote aqui suas respostas e destaque na linha pontilhada.

01	<input type="checkbox"/>	09	<input type="checkbox"/>	17	<input type="checkbox"/>	25	<input type="checkbox"/>	33	<input type="checkbox"/>
02	<input type="checkbox"/>	10	<input type="checkbox"/>	18	<input type="checkbox"/>	26	<input type="checkbox"/>	34	<input type="checkbox"/>
03	<input type="checkbox"/>	11	<input type="checkbox"/>	19	<input type="checkbox"/>	27	<input type="checkbox"/>	35	<input type="checkbox"/>
04	<input type="checkbox"/>	12	<input type="checkbox"/>	20	<input type="checkbox"/>	28	<input type="checkbox"/>	36	<input type="checkbox"/>
05	<input type="checkbox"/>	13	<input type="checkbox"/>	21	<input type="checkbox"/>	29	<input type="checkbox"/>	37	<input type="checkbox"/>
06	<input type="checkbox"/>	14	<input type="checkbox"/>	22	<input type="checkbox"/>	30	<input type="checkbox"/>	38	<input type="checkbox"/>
07	<input type="checkbox"/>	15	<input type="checkbox"/>	23	<input type="checkbox"/>	31	<input type="checkbox"/>	39	<input type="checkbox"/>
08	<input type="checkbox"/>	16	<input type="checkbox"/>	24	<input type="checkbox"/>	32	<input type="checkbox"/>	40	<input type="checkbox"/>