

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Departamento de Ciências da Saúde



Utilização de modelos farmacocinéticos de base fisiológica no desenvolvimento de novos fármacos

Liliana Sofia Nunes Branco, nº21001137

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2013

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Departamento de Ciências da Saúde



Utilização de modelos farmacocinéticos de base fisiológica no desenvolvimento de novos fármacos

Liliana Sofia Nunes Branco, nº21001137

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Tese orientada pelo Prof Dr. Paulo Jorge Pereira Alves Paixão

Outubro de 2013

Resumo

Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento bastante acentuado da utilização de modelos *in vitro* e *in silico* para a obtenção de dados que permitem aumentar a eficácia de programas de desenvolvimento de novos fármacos.

Actualmente são utilizados dois tipos de modelos para descrever a farmacocinética de compostos químicos em função do tempo: modelos empíricos farmacocinéticos e modelos farmacocinéticos baseados na fisiologia (PBPK).

Modelos PBPK assumem que o corpo humano interage com os compostos químicos como um sistema integrado, pelo que um evento que ocorre numa zona do corpo poderá influenciar um evento a ocorrer noutra zona, aparentemente distinta.

Estes modelos assumem que o organismo humano é constituído por “compartimentos” que representam fisiologicamente os órgãos, tecidos e outros espaços fisiológicos.

Para a correcta utilização destes modelos é necessário determinar a estrutura do modelo e as suas características, escrever equações que o caracterizem, bem como definir e estimar os parâmetros deste.

Estes modelos têm vindo a ser usados no campo toxicológico e farmacêutico cada vez com maior frequência. No futuro poder-se-ão transformar numa ferramenta universal.

Abstract

In the last decades there was a much accentuated increase in the usage of in vitro and in silico models, for obtaining data which allow an increase in the effectiveness of new drugs development programs.

Nowadays, two types of models are used to describe chemical compounds pharmacokinetics: pharmacokinetic empiric models and physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models.

PBPK models assume that the human body interacts in the chemical compounds as an integrated system: events occurring in one part of the body influence events occurring in another part of the body.

These models assume that the human body can be represented by compartments that physiologically represent the organs, tissues and other spaces.

For the current employment of these models we need to determine model structure and its characteristics, find equations that represent it as well as define and estimate its parameters.

These models are being used in toxicology and pharmaceutics with increasing frequency. In the future they can become an universal tool.

Índice

Resumo	III
<i>Abstract</i>	IV
Índice de figuras	VI
Índice de Tabelas.....	VII
Abreviaturas.....	VIII
1. Introdução	1
2. Definição de modelos farmacocinéticos baseados na fisiologia (PBPK)	3
2.1. Limitações.....	6
3. Modelos PBPK	8
3.1. Definição de modelos de estrutura farmacocinética baseados na fisiologia de todo o corpo	8
3.2. Modelos de Tecidos.....	10
3.3. Equações dos modelos	14
3.4. Parâmetros dos modelos PBPK.....	18
3.4.1. Parâmetros fisiológicos.....	18
3.4.2. Parâmetros dependentes do composto	19
3.4.2.1. Dados <i>in vivo</i>	20
3.4.2.2. Dados <i>in vitro</i>	21
3.4.2.3. Dados <i>in silico</i>	24
4. Aplicações.....	27
5. Perspectivas futuras.....	28
6. Conclusão	30
7. Referências Bibliográficas.....	31

Índice de figuras

Figura 1: Correlação entre variáveis individuais que afectam a <i>clearance</i> (Bois, Jamei, & Clewell, 2010).....	3
Figura 2: Estrutura típica de um modelo de PBPK. Q significa fluxo. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)	5
Figura 3: Gráfico da distribuição hepática do alfentanil em doentes saudáveis e em doentes com cirrose hepática. (Khalil & Laer, 2011)	6
Figura 4: Passos para o desenvolvimento de um modelo PBPK (Feras, 2011).....	8
Figura 5: Distribuição da digoxina no fígado <i>versus</i> tecido adiposo	14
Figura 6: Gráfico que relaciona a biodisponibilidade de vários fármacos em cães, primatas e roedores <i>versus</i> a biodisponibilidade absoluta verificada em humanos. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003).....	24
Figura 7: Evolução anual das publicações científicas que contêm no título o termo “PBPK” (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010).....	28
Figura 8: Diferentes estudos realizados e submetidos a agência FDA. (Zhao, Rowland, & Huang, 2012).....	29

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Comparação de estudos em sistemas <i>in vitro</i> , para estudar a biotransformação	23
--	----

Abreviaturas

ADME – Absorção, distribuição, metabolização e eliminação

AUC – Área sob a curva

Cl_{int} – *Clearance* intrínseca

FDA – *Food and drug administration*

P_{app} – Permeabilidade aparente

PBPK – Farmacocinética baseada na fisiologia

PK – Farmacocinética

PSA – área de superfície polar

TK – Toxicocinética

1. Introdução

Quando uma substância química é introduzida no organismo (quer por administração voluntária ou exposição involuntária) é distribuída por diversos tecidos e fluidos. Nestes tecidos, esta liga-se a várias proteínas e receptores, podendo sofrer alterações químicas e/ou ser eliminada na forma inalterada. Assim, a farmacocinética de um composto pode ser representada por um complexo conjunto de processos em que ocorrem transferências de massa entre partes do corpo mais ou menos definidas designadas de “compartimentos”. (Nestorov, 2007)

O desenvolvimento de novos fármacos e outros tratamentos requer uma pesquisa bastante complexa que necessita a compreensão da doença a tratar e informação sobre o impacto do fármaco no mercado. Os estudos necessários para o desenvolvimento de um novo fármaco podem ser divididos em diversas fases (de 0 a IV).

A fase 0 ou fase pré clínica inicia-se com a descoberta de uma nova molécula, seguida pela pesquisa da sua actividade farmacológica. A molécula é também caracterizada, quer nas suas características químicas e físicas, quer biofarmacêuticas, de modo a se poder começar a planear eventuais aproximações para o desenvolvimento de formulações. Posteriormente são realizados testes de toxicidade em animais e desenvolvido um método bioanalítico para avaliar a farmacocinética e a resposta à exposição.

A informação obtida, nestes estudos pré-clínicos, deve ser suficiente para se poder prosseguir para estudos em humanos, pelo que neste ponto inicia-se a fase I. Esta fase envolve estudos em voluntários saudáveis para avaliar a segurança, tolerabilidade e farmacocinética da molécula.

A fase II, geralmente dividida em IIa e IIb, é realizada em doentes designados de “ideais”, ou seja, que apenas têm a doença em questão e não tomam qualquer tipo de fármacos. A primeira fase é inicialmente conduzida num pequeno grupo de doentes para determinar a dose inicial e o regime posológico de modo a produzir os efeitos desejados. A fase IIb é conduzida num grande número de doentes de modo a confirmar as conclusões tiradas na fase anterior.

A fase III é feita em doentes que tenham outras doenças ou que tomem outros medicamentos e pretende mostrar que a nova molécula não interage negativamente com outras e/ou não afecta outras patologias. Para além disso, pretende ainda mostrar que a sua utilização é uma mais-valia e é melhor que as demais terapêuticas existentes no mercado.

Por último ocorre a fase IV também designada de fase pós comercialização (a molécula já se encontra no mercado) e cabe aos profissionais de saúde bem como aos utentes reportar qualquer efeito adverso que seja encontrado. (Krishna, 2004)

Para a interpretação destes estudos são utilizados um grande número de dados que podem provir de três fontes (*in vitro*, *in vivo* e *in silico*), dependente das fases e perguntas em questão. Nas últimas décadas tem-se vindo a verificar uma tendência para que, cada vez mais nas fases pré-clínicas, sejam utilizadas técnicas *in vitro* e *in silico*, antes de qualquer estudo *in vivo* ser realizado, permitindo seleccionar as moléculas de interesse e decidir se se deve perseguir o desenvolvimento clínico da molécula ou não.

Neste contexto uma ferramenta que se tem mostrado bastante útil são os modelos farmacocinéticos baseados na fisiologia (PBPK), pois estes conseguem integrar toda a informação referida, e deste modo auxiliam na escolha das moléculas que possuem melhores características. Por outro lado, após ter sido seleccionada a molécula, para se perseguir o estudo para as fases 1 a 4, estes modelos também auxiliam na sua caracterização mecanística.

2. Definição de modelos farmacocinéticos baseados na fisiologia (PBPK)

Existem dois tipos de modelos farmacocinéticos (PK) ou toxicocinéticos (TK) de natureza compartimental: modelos farmacocinéticos de base empírica e modelos farmacocinéticos de base fisiológica (PBPK). (Brochot, Aarons, & Bois, 2005) Ambos os modelos têm como base a utilização de “compartimentos” que representam mais ou menos explicitamente os órgãos/tecidos, sendo no entanto distintos na forma como estes são definidos. (Nestorov, 2007)

Nos modelos empíricos toda a informação que lhes diz respeito é derivada a partir de dados de concentração *versus* tempo. (Brochot, Aarons, & Bois, 2005) Deste modo, a escolha dos modelos (número de compartimentos) a usar vai depender do estudo e análise *à priori* dos dados.

Os modelos PBPK são, por outro lado, definidos como mecanísticos, sendo que regra geral a construção do modelo precede a avaliação dos dados de concentração *versus* tempo. Estes modelos foram descritos pela primeira vez por Teorell em 1937, embora o interesse por factores fisiológicos que controlam ADME de substâncias químicas tenha sido iniciado em publicações datadas do século XIX. Teorell reconheceu formalmente que o corpo humano lida com os fármacos como se de um sistema integrado se tratasse. Eventos que ocorrem numa parte do organismo vão influenciar e são influenciados por eventos que ocorrem noutra zona, através de uma ligação comum que é a circulação sanguínea. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010).

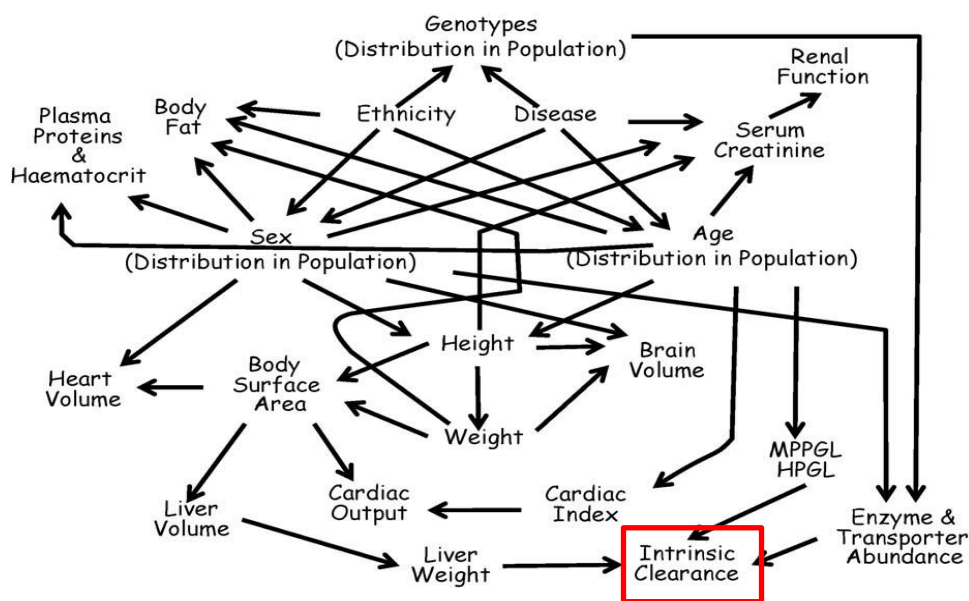


Figura 1: Correlação entre variáveis individuais que afectam a *clearance* (Bois, Jamei, & Clewell, 2010)

Como exemplo das interações descritas, pode-se referir a *clearance*. Alterando parâmetros como o *output* cardíaco, área de superfície corporal, concentração transportadores/ enzimas ou até mesmo o peso corporal vão ser desencadeados diversos processos que levam a uma alteração desta (figura 1). (Bois, Jamei, & Clewell, 2010) Assim, uma modulação racional pode ser feita em função das interações conhecidas entre todos estes factores.

Ao longo dos anos os modelos PBPK têm vindo a sofrer progressos significativos, pois têm aumentado as pesquisas nas áreas da medicina, farmacologia e engenharia química. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010) Como a farmacocinética de um fármaco é um processo complexo, influenciado por uma grande variedade de factores, incluindo propriedades da molécula, fluxo sanguíneo, volumes sanguíneos nos diferentes tecidos, permeabilidade das várias membranas, composição tecidular e a afinidade dos compostos administrados para os tecidos, estes modelos apresentam uma forma racional de integrarem todos estes mecanismos. (Nestorov, 2003) Tal é realizado por integração dos conhecimentos da cinética do composto em estudo num modelo parametrizado em termos fisiológicos. A base deste modelo segue a estrutura anatómica do organismo estudado. Os modelos são elaborados com base em “compartimentos” que representam fisiologicamente os órgãos, tecidos e outros espaços (figura 2). (Nestorov, 1998) Os modelos matemáticos elaborados permitem assim estimar e/ou derivar valores que são importantes para caracterizar o processo (como por exemplo o volume de distribuição ou a *clearance*).

Desta forma, os modelos PBPK são frequentemente usados no desenvolvimento de fármacos e estudos toxicológicos, conseguindo-se prever a cinética e metabolismo das substâncias no corpo.

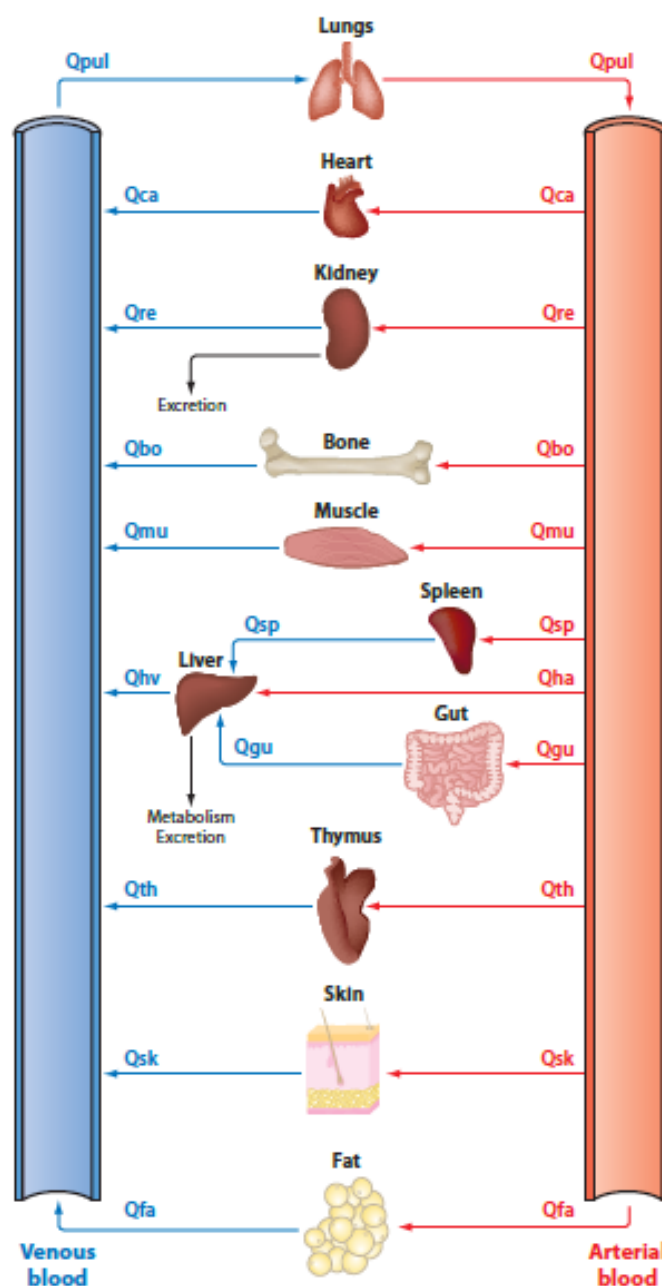


Figura 2: Estrutura típica de um modelo de PBPK. Q significa fluxo. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)

Neste contexto, o maior objectivo dos modelos PBPK é fornecer uma ferramenta adequada para todos os tipos de extrapolações farmacocinéticas, isto é, prever os eventos em humanos a partir de extrapolações de dados *in vitro* pré-clínicos obtidos a partir de animais ou através de extrapolações intra - espécies a partir de outros dados clínicos. (Nestorov, 1998)

2.1. Limitações

Os modelos PBPK requerem um conhecimento alargado sobre a fisiologia, bioquímica e processos físico-químicos que ocorrem em sistemas biológicos. Estes podem ser comprometidos se os tecidos e órgãos essenciais para a farmacocinética e farmacodinâmica do composto em estudo também o estiverem, com uma patologia por exemplo, como é o caso da cirrose hepática.

Um doente que tenha cirrose hepática vai ter maiores concentrações plasmáticas, por exemplo, de alfentanil, pois a metabolização hepática está comprometida. (figura 3) (Khalil & Laer, 2011)

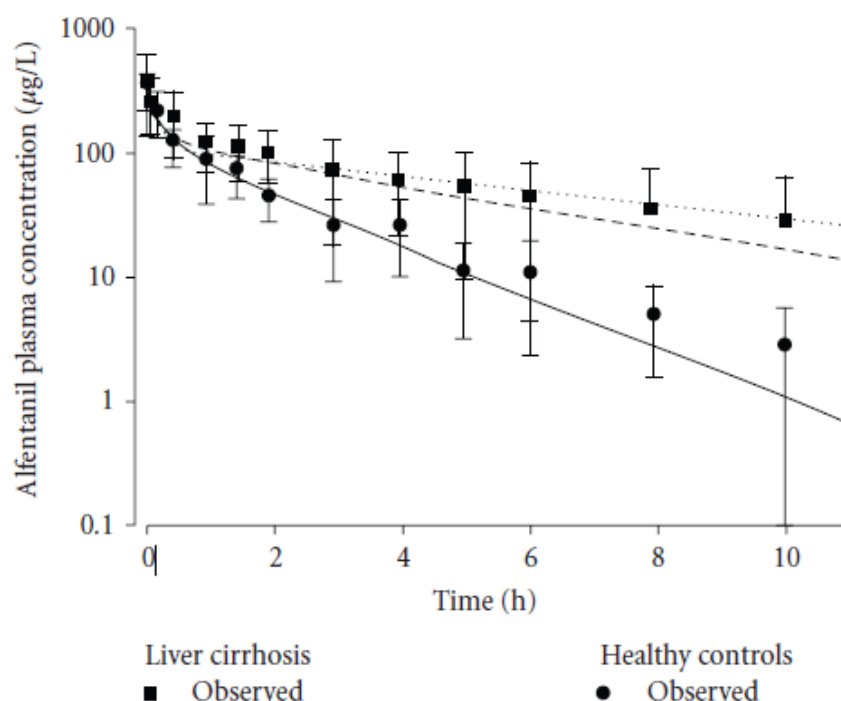


Figura 3: Gráfico da distribuição hepática do alfentanil em doentes saudáveis e em doentes com cirrose hepática. (Khalil & Laer, 2011)

Assim a selecção de dados para o modelo em questão pode causar alguns problemas e dificultar a obtenção de informação consistente. (Feras, 2011)

Estes modelos por vezes encontram-se limitados, devido à variabilidade intrínseca ao próprio doente, pois não há nenhum doente igual a outro, o que pode implicar que um modelo seja adequado para uma determinada pessoa mas que não o seja para outra. (Zhao, Rowland, & Huang, 2012)

Por outro lado, a complexidade destes modelos é limitada por muitas razões práticas, como por exemplo, a necessidade de muitos dados e informação, (há que ter em conta que o sistema é dependente de parâmetros mas o fármaco também o é) o

que vai conferir um problema na computação e na transformação em modelos matemáticos. (Nestorov, 1998) A inclusão de múltiplos parâmetros (dependentes do fármaco ou do sistema) requer o uso de muita informação para estabelecer perfis de concentração *versus* tempo. Tal facto pode constituir uma grave limitação deste tipo de modelos, pois esta informação nem sempre é conhecida. Para além disso, a utilização de múltiplas variáveis pode tornar os modelos extremamente complexos e difíceis de trabalhar.

É importante salientar que por vezes ocorrem erros matemáticos na implementação destes modelos. Embora este tipo de erros seja difícil de detectar, este erro é evitável, sendo a validação (comparação com os resultados esperados ou obtidos por outros modelos) uma importante forma de os identificar.

Os modelos PBPK reflectem conhecimento científico e os processos têm que ser bem caracterizados. Se o modelo for mal caracterizado, como por exemplo, não referir a existência de transportadores essenciais para a farmacocinética do fármaco, o modelo vai falhar. Assim, é importante fazer uma extensa e continua avaliação do modelo de modo a minimizar e identificar possíveis erros de simplificação. (Feras, 2011)

Uma grande limitação para a aplicação destes modelos é a dificuldade prática de se obter a distribuição das moléculas nos diferentes tecidos em humanos. Até há bem pouco tempo, a única abordagem possível de se caracterizar a distribuição ocorria por administração do fármaco em estudos *in vivo* em modelos animais. Posteriormente fazia-se a extrapolação do coeficiente de partição para humanos. No entanto, esta limitação tem vindo a ser superada por estudos que associam a afinidade tecidular à composição e propriedades físico-químicas do fármaco. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)

Após a finalização e obtenção de dados a partir do modelo surge muitas vezes a questão “O que se pode fazer para validar o modelo?” ou “Até que ponto o modelo é adequado” ou ainda “Qual o nível de confiança do modelo?”. (Zhao, Rowland, & Huang, 2012)

A resposta a estas questões nem sempre é fácil, uma vez que em PBPK é possível simular perfis de concentração em qualquer órgão. No entanto, na maior parte das vezes (principalmente em Humanos) não é possível validar experimentalmente estes perfis.

3. Modelos PBPK

3.1. Definição de modelos de estrutura farmacocinética baseados na fisiologia de todo o corpo

O conceito geral de modelos PBPK consiste na descrição matemática de processos fisiológicos, físico-químicos e bioquímicos relevantes que determinam a farmacocinética do composto. (Nestorov, 2007) Para o desenvolvimento de um modelo PBPK geralmente são necessários cinco passos:

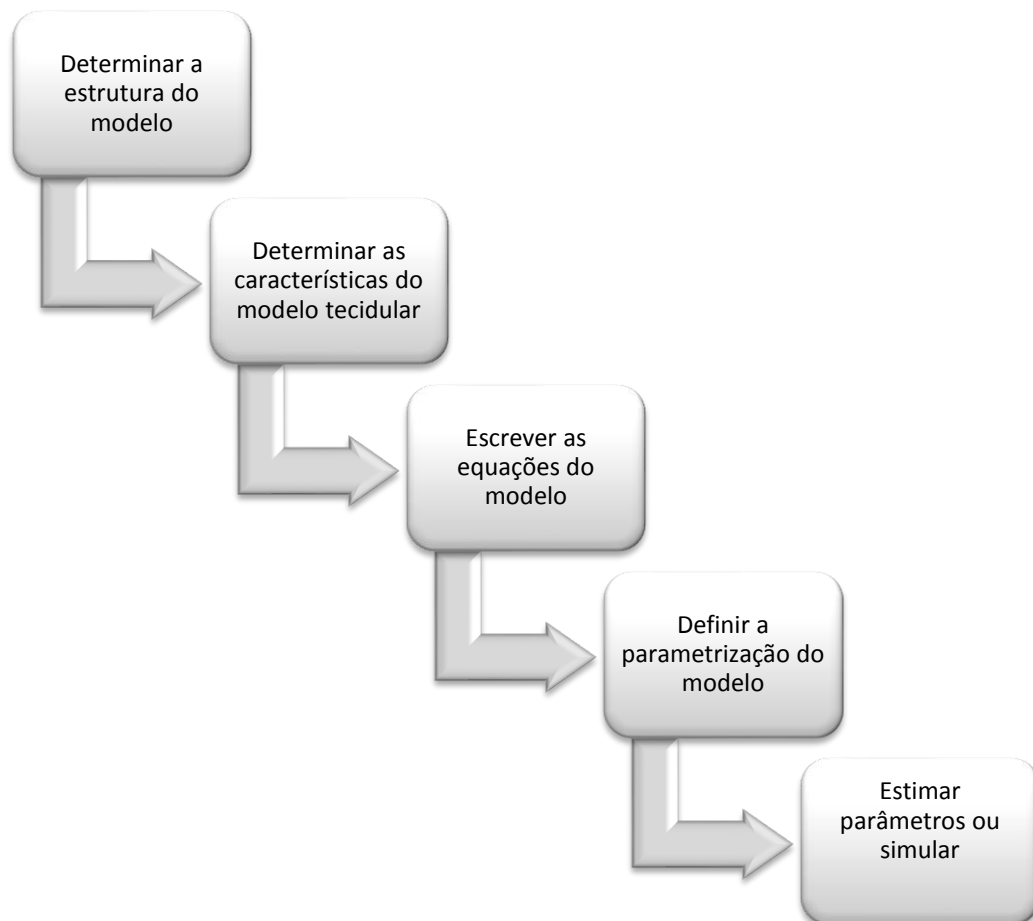


Figura 4: Passos para o desenvolvimento de um modelo PBPK (Feras, 2011)

1) Determinar a estrutura do modelo

Modelos PBPK representam a estrutura do organismo vivo que está a ser estudado, com os seus vários órgãos/ tecidos na forma de “compartimentos”. A escolha dos “compartimentos” está relacionada com a anatomia e fisiologia dos sistemas biológicos. No entanto, tal não determina quantas regiões do corpo ou “compartimentos” são necessários, sendo preciso avaliar primeiramente os aspectos mais importantes da farmacocinética da molécula em estudo. Deste modo, a escolha depende da físico-química (lipofilicidade, solubilidade e ionização) e da farmacologia (mecanismo de transporte e local de acção) do fármaco. (Bischoff, 1975) Por exemplo, se o fármaco não é solúvel nos lípidos, provavelmente não é importante colocar no modelo detalhes sobre os tecidos adiposos.

A complexidade do modelo aumenta com o aumento do número de tecidos/ órgãos que se incorpora. De modo a reduzir a dimensão e complexidade dos modelos foi delineada e implementada uma estratégia designada de *lumping*. (Nestorov, 1998) Esta técnica permite unir vários tecidos/ fluxos de sangue num só. (Brochot, Aarons, & Bois, 2005) Um exemplo de *lumping* ocorre quando tecidos/órgãos que partilham as mesmas características fisiológicas, físico-químicas e bioquímicas são agrupados num único “compartimento”, enquanto tecidos/ órgãos com características distintas, ou preponderantes, como por exemplo o fígado, são mantidos isolados. (Feras, 2011)

Outro exemplo de *lumping* ocorre quando se está perante isómeros ópticos, apresentando as mesmas características físico-químicas e propriedades de biodistribuição, e são agrupadas como de uma só molécula se tratasse. (Brochot, Aarons, & Bois, 2005)

2) Determinar as características do modelo tecidular

A estrutura de cada tecido/órgão em particular também tem que ser especificada (ou seja representar (ou não) os sub-compartimentos relevantes de cada órgão). Deste modo é importante conhecer os processos que ocorrem em cada órgão/tecido, devendo-se ter em conta por exemplo a perfusão e a difusão. (Feras, 2011)

3) Escrever as equações do modelo;

Os modelos PBPK são derivados da lei da acção da massa, ou seja, são derivados de equações de balanço de massa, pois os processos cinéticos são fenómenos de transferência de massa. (Feras, 2011)

4) Definir a parametrização do modelo;

Após as equações do modelo estarem definidas, os seus parâmetros devem ser especificados e/ou estimados. Os parâmetros para incorporação num modelo PBPK são geralmente de dois tipos: fisiológicos ou dependentes do composto. (Feras, 2011)

5) Estimar parâmetros ou simular;

Neste último passo o sistema está completo e as equações que descrevem o modelo estão codificadas em *software* apropriado.

Ao longo do tempo muitos *softwares* foram desenvolvidos e disponibilizados. No entanto, é importante diferenciar entre *software* utilizado para modelos gerais, tais como o MATLAB (<http://www.mathworks.com/products/matlab/>), ModelMaker (<http://www.modelkinetix.com/modelmaker/>), e Berkeley Madonna (<http://www.berkeleymadonna.com/>) e *software* para aplicação farmacocinética, tais como Simcyp (<http://www.simcyp.com/>) e GastroPlus (<http://www.simulations-plus.com/>).

O primeiro tipo de *software* referido necessita de uma linguagem de programação que codifique o modelo e fornece soluções numéricas e gráficas, sendo mais flexível e optimizável pelo investigador.

Enquanto o *software* para aplicação farmacocinética tem a vantagem de possuir toda a informação que é necessária ao utilizador, nomeadamente, as bases de dados de valores fisiológicos. No entanto, este tipo de *software* é relativamente complexo de se usar e limitado na possibilidade de realizar modelos à medida do utilizador. (Feras, 2011)

3.2. Modelos de Tecidos

Como visto anteriormente, a estrutura de um modelo PBPK pode ser derivada a partir da estrutura anatómica de um organismo identificando os órgãos/tecidos do organismo e fazendo a correspondência para diferentes “compartimentos”. (Nestorov, 2007).

Há um conjunto de tecidos/órgãos que estão presentes na grande maioria dos modelos, sendo definidos como tecidos “fundamentais” e abrangem a circulação sanguínea (frequentemente dividida em circulação arterial e venosa), locais de maior eliminação (fígado para metabolização de fármacos, ocasionalmente intestinos e/ou

pulmões e rins se a *clearance* renal for significativa), locais de benefícios potenciais e/ou reacções adversas (por exemplo compartimentos tumorais em fármacos citotóxicos ou leite materno para mães que se encontram a amamentar), locais de administração (pele para administrações subcutâneas, sistema linfático para moléculas proteicas grandes), assim como tecidos em que se espere que as cinéticas sejam peculiares (ou seja não lineares).

O resto do corpo, ou seja tecidos “não fundamentais”, é representado com um grau de detalhe variável. O principal objectivo desta representação é manter o balanço de massa, que é crucial para se conseguir um modelo adequado. Podendo-se agrupar os tecidos “não fundamentais” em dois diferentes compartimentos: (i) equilíbrio rápido; (ii) equilíbrio lento. (Nestorov, 2007) (Li & Rabitz, 1995)

A estes modelos podem ser adicionadas variações estruturais, por exemplo se for adicionado um circuito paralelo. A necessidade de adição ocorre, por exemplo, se o fármaco em estudo possuir metabolitos activos. Neste caso é necessário estudar isoladamente a administração do metabolito, inibindo a via metabólica responsável pela sua formação. Simultaneamente podem também ser investigados os efeitos farmacológicos em subpopulações que possuem polimorfismos relacionados com a biotransformação deste metabolito activo. (Moghadamnia, Rostami-Hodjegan, Abdul-Manap, Wright, Morice, & Tucker, 2003).

Outro exemplo que pode ser dado, para justificar a necessidade de adição de um circuito paralelo, ocorre quando se estuda a mãe e o feto/recém-nascido, tendo que se considerar a passagem de metabolitos através da placenta/leite materno. (Byczkowski & Lipscomb, 2001)

Pode-se ainda referir, como exemplo, quando se estuda sistemas que incluem anticorpos, como é o caso de algumas novas abordagens terapêuticas (uso do rituximab) para a área de oncologia. É necessário estudar separadamente o comportamento dos anticorpos e dos seus fragmentos criando um submodelo para estes, sendo assim possível prever a sua distribuição.

Por outro lado, quando se está a estudar o efeito de um anticorpo no tratamento oncológico também tem que se criar um submodelo para a massa tumoral que descreva o seu crescimento vascular e necrótico. (Ferl, Wu, & Distefano, 2005)

A complexidade de um modelo representativo de tecidos/órgãos individuais é determinada pelo menos por três factores: (i) propósito da modelação; (ii) assunções referentes aos mecanismos cinéticos dos tecidos do composto de interesse; (iii) informações disponíveis sobre a cinética do tecido. (Nestorov, 2007)

Após terem sido determinados todos os compartimentos necessários, isto é, terem sido decididos quais os tecidos que devem ser incluídos/excluídos, o passo seguinte é

especificar o modelo para cada tecido/ órgão em particular, sendo necessária uma visão mais profunda dos processos cinéticos de cada tecido. Estes pressupostos podem ser tomadas com base em conhecimentos anteriores dos processos físico-químicos e bioquímicos, tais como permeabilidade membranar, ligação das proteínas ao tecido, metabolismo do próprio tecido. (Nestorov, 2003)

Na grande maioria dos casos é assumido o modelo limitado pela taxa de perfusão. O mecanismo subjacente a este modelo é que a substância em estudo distribui-se instantaneamente por todo o tecido, não existindo gradientes de concentração particulares. Isto representa uma significativa simplificação comparativamente à situação real, no entanto, parece produzir resultados satisfatórios, especialmente em casos de compostos lipofílicos e pequenos. (Nestorov, 2003)

Em alguns casos, as membranas tecidulares apresentam-se como uma barreira para a distribuição sendo assumido um modelo mais complexo em que a permeabilidade é o factor limitante. Tal acontece frequentemente com moléculas polares e de elevado peso molecular. (Bois, Jamei, & Clewell, 2010) Como consequência os modelos tecidulares podem ter diferentes graus de complexidade. Se for assumido que a limitação provém da membrana capilar são definidos dois compartimentos: (i) tecido vascular; (ii) tecido extravascular. Se, por outro lado, for assumido que a limitação provém da permeabilidade na membrana celular os compartimentos irão ser: (i) extracelular; (ii) celular. Pode-se ainda assumir, por exemplo, que a limitação provém dos dois mecanismos em cima mencionados e neste caso são necessários três compartimentos (vascular, intersticial e celular).

Existem ainda situações em que é realístico assumir que existem gradientes de concentração no tecido/órgão (sendo descrito um sub - compartimento). Noutros casos a relação em que ocorre distribuição instantânea tem que ser abandonada e é necessário usar mais que um “parâmetro de distribuição”, sendo designado de modelo de dispersão. Os casos mais frequentes em que este modelo tem que ser usado são os seguintes:

- **Quando a afinidade do composto para o tecido é alta;** pois neste caso o composto vai acumular-se no tecido para o qual tem maior afinidade, em vez de se distribuir de igual forma, podendo ocorrer toxicidade nas zonas de maior acumulação.

Um exemplo que pode ser dado, são os modelos PBPK estudados para o metilmercúrio, que tem alta afinidade para o cérebro, onde se converte em Hg^{2+} , acumulando-se no sistema nervoso central. A toxicidade aguda

causada por este composto vai provocar sintomas tais como parestesia e ataxia, nos adultos, e problemas mentais em crianças.

Este composto tem ainda grande afinidade para a placenta, conseguindo atravessá-la e afectando gravemente o feto. (Byczkowski & Lipscomb, 2001)

- **Quando um grande número de tecidos está a ser modelado;** cada tecido tem as suas próprias propriedades (nomeadamente de toxicidade, farmacocinética, modo de acção) fazendo com que a existência de um grande número de tecidos num modelo possa fazer com que haja variações significativas na distribuição dos compostos. (Krishnan & Andersen, 2010)

Os critérios utilizados mais frequentemente para a definição de um dado tecido são: (i) a actividade enzimática (metabolização); (ii) a solubilidade do composto no órgão ou tecido.

- **Quando existem muitas proteínas envolvidas no processo;** pois vai ocorrer ligação entre estas e a molécula em estudo. O complexo proteína ⇌ composto (devido ao seu elevado peso molecular) não vai atravessar as membranas plasmáticas de igual forma como o composto na sua forma livre. Deste modo, vai ocorrer acumulação.

Muitos fármacos são transportados para os seus locais de acção, biotransformação e excreção ligados a proteínas plasmáticas. Uma vez que, a acção do fármaco só é exercida na sua forma livre, a sua resposta terapêutica está dependente do grau de ligação às proteínas. A proteína mais importante no que concerne a ligação de fármacos é a albumina, no entanto existem outras proteínas que podem estar envolvidas neste processo, nomeadamente a β -globulina e a α 1-glicoproteína ácida.

Um exemplo que pode ser dado é a distribuição da digoxina (figura seguinte). Este princípio activo liga-se em grande extensão à albumina, fazendo assim que não haja igual distribuição deste fármaco por todos os tecidos. (Krishnan & Andersen, 2010)

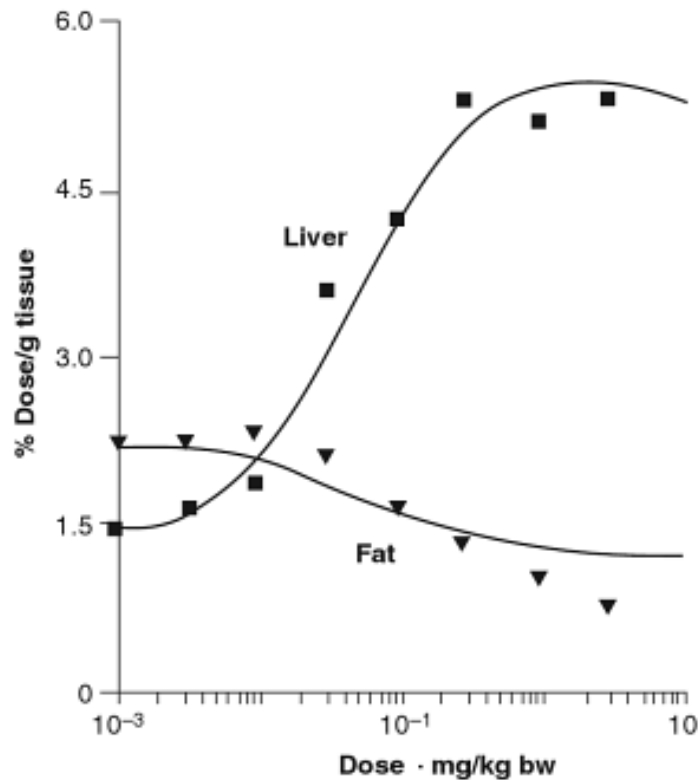


Figura 5: Distribuição da digoxina no fígado *versus* tecido adiposo (Krishnan & Andersen, 2010)

3.3. Equações dos modelos

As equações dos modelos de PBPK são derivadas a partir da lei dos balanços de massa, sendo usados quatro tipos de descrições matemáticas dos tecidos:

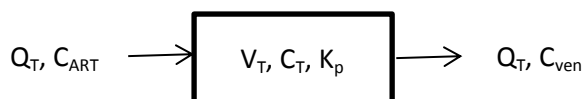
- São usadas equações algébricas quando é assumido que ocorre o equilíbrio instantaneamente e pode ser considerado estático. Um exemplo típico, do uso destas equações, é quando se estuda as concentrações do ar inalado ou alveolar. (Price & Krishnan, 2011)
- Equações diferenciais lineares são as mais frequentemente descritas em modelos de PBPK. Resultam destas equações sistemas lineares que permitem estimar parâmetros e simular processos.
- Equações diferenciais não lineares são usadas para processos não lineares em tecidos/órgãos particulares. Os exemplos mais comuns, do

uso deste modelo, é a *clearance* dependente da concentração e/ ou ligação proteica. (Nestorov, 2003)

- São utilizadas equações diferenciais parciais quando são assumidos modelos de dispersão nos tecidos.

Apesar destas múltiplas possibilidades a grande maioria dos modelos PBPK baseia-se em sistemas de equações diferenciais ordinárias de natureza linear, de acordo com as equações apresentadas em seguida: (Parrot, Paquereau, & Lavé, 2005) (Gibaldi & Perrier, 2007)

- Modelo e equações diferenciais com a perfusão como factor limitante



De acordo com o modelo obtém-se que:

$$\frac{dC_T(t)}{dt} = -\frac{Q_T}{V_T \times K_p} \times C_T(t) + \frac{Q_T}{V_T} \times C_{ART}(t)$$

Onde:

C_{ART} - Concentração arterial

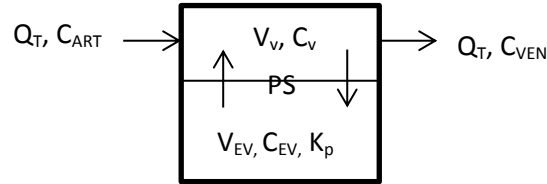
C_{VEN} – Concentração venosa

K_p – coeficiente de distribuição tecido/plasma

Q – fluxo sanguíneo

V_T – Volume tecidular

- Modelo e equações diferenciais com a permeabilidade como factor limitante



De acordo com o modelo obtém-se que:

$$\frac{dC_v(t)}{dt} = - \frac{Q_T + PS_T}{V_v} \times C_v(t) + \frac{PS_T}{V_v \times K_p} \times C_{EV}(t) + \frac{Q_T}{V_T} \times C_{ART}(t)$$

$$\frac{dC_{EV}(t)}{dt} = \frac{PS_T}{V_{EV}} \times C_v(t) - \frac{PS_T}{V_{EV} \times K_p} \times C_{EV}(t)$$

Onde:

C_{ART} - Concentração arterial

C_{VEN} – Concentração venosa

K_p – coeficiente de distribuição tecido/plasma

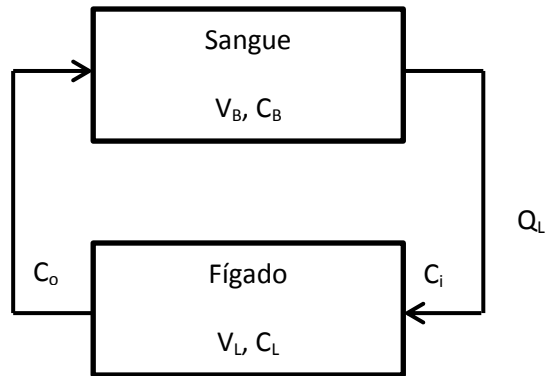
Q – fluxo sanguíneo

V_v – Volume vascular

V_{EV} – Volume extravascular

PS – coeficiente de permeabilidade de superfície

- Modelo e equações diferenciais de um órgão de eliminação



De acordo com o modelo e tendo em conta que a concentração livre de fármaco no fígado é dada por:

$$Cl'_L = f_L C_L$$

E que a fracção livre de fármaco no fígado (f_L) pode ser expressa em função da fracção livre no sangue:

$$f_L = \frac{f_B}{R_L}$$

Obtém-se que:

$$V_L \frac{dC_L}{dt} = Q_L \left(C_B - \frac{C_L}{R_L} \right) - \frac{f_B Cl'_L C_L}{R_L}$$

Onde:

Q – fluxo sanguíneo

V_B – Volume sanguíneo

V_L – Volume no fígado

C_B – Concentração sanguínea de fármaco

C_L – Concentração de fármaco no fígado

C_i – Concentração aferente (arterial)

C_o – Concentração eferente (venosa)

R_L – Ratio de distribuição entre a concentração de fármaco no fígado e o sangue venoso em equilíbrio

3.4. Parâmetros dos modelos PBPK

Como pode ser visto nas equações anteriores, os modelos PBPK têm dois tipos de parâmetros:

- 1) Parâmetros fisiológicos descrevendo as características anatómicas e fisiológicas das espécies; são assumidos como independentes do composto de interesse e considerados fixos, isto é, não são estimados. Dentro deste grupo estão parâmetros tais como: peso, volume intersticial, vascular e celular, *output* cardíaco, fluxo sanguíneo;
- 2) Parâmetros dependentes do composto em estudo, que descrevem a interação do composto com determinados processos no organismo, denominados dependentes, podendo ser dado como exemplo a ligação às proteínas plasmáticas e a permeabilidade intestinal. Estes parâmetros podem ser estimados *in silico*, *in vitro* ou *in vivo*. Neste último caso, estes parâmetros dependentes são estimados a partir de perfis tempo *versus* concentração obtidos experimentalmente para a espécie de interesse. Uma alternativa é o uso de informação externa como, por exemplo, estudos de toxicidade. (Nestorov, 2003)

3.4.1. Parâmetros fisiológicos

Relativamente aos parâmetros fisiológicos, de modo a escolher, quais incluir nos modelos PBPK, são aplicadas *guidelines*, fazendo-se assim uma escolha destes de forma mais assertiva:

- **Deve-se verificar qual a população a modular;**

Se forem estudadas populações especiais então os parâmetros que a caracterizam devem fazer parte do modelo. Exemplos destas populações são os obesos, grávidas, crianças e idosos. (Poulin & et al, 2011) Os parâmetros fisiológicos que diferem dos normais devem ser usados nestes casos.

A gravidez está associada às maiores alterações fisiológicas e biológicas que podem alterar a farmacocinética dos fármacos. Para elaborar um modelo descritivo deste grupo é necessário ter em conta que vão ocorrer

diversas alterações, nomeadamente: pulmonárias, renais, do fluxo sanguíneo, entre outros.

Um exemplo, recentemente estudado, é a metabolização da cafeína por uma grávida. A metabolização deste composto no início da gravidez é de 100% no entanto vai diminuindo, pelo que é estimado que por volta das 32 semanas seja metabolizada apenas 37%. (Gaohua & et. al., 2012)

A manutenção da dose de fármaco é dependente da *clearance*, e das suas alterações bioquímicas e fisiológicas, a obesidade por exemplo, vai afectar parâmetros como o *output* cardíaco, função renal, a expressão de enzimas de metabolização e ligação proteica o que vai alterar assim a *clearance* quando comparada com indivíduos com peso dito normal. (Ghobadi & et. al., 2011)

- **Deve-se avaliar o potencial efeito farmacológico do composto em estudo nas variáveis fisiológicas.**

O fluxo sanguíneo é de todas as variáveis a que mais sofre alterações induzidas pelos efeitos das moléculas. (Wada & et. al., 1997)

- **Deve-se ter em conta que factores ambientais influenciam os parâmetros fisiológicos.**

Um exemplo típico, que pode ser dado, é o *stress*, que afecta a frequência cardíaca e consequentemente o *output* cardíaco, o que vai causar um impacto na ADME das substâncias químicas. Para além deste outros parâmetros são alterados tais como a concentração da albumina e o hematócrito. (Sidhu & et al, 2011)

3.4.2. Parâmetros dependentes do composto

As maiores fontes de parâmetros PBPK são as seguintes:

- Dados estimados a partir de outros que são gerados durante experiências *in vivo* com espécies de interesse. Neste caso são obtidos perfis de concentração *versus* tempo relativos a vários fluidos corporais e órgãos e posteriormente são escritas equações de modelos PBPK em que os parâmetros fisiológicos são fixos.

- Integração de dados obtidos a partir de experiências *in vitro*. Exemplos típicos que podem ser citados são: metabolismo hepático, absorção e partição tecidular.
- Dados *in silico*, obtidos através do auxílio computacional, baseados em informação sobre composição tecidular e/ou dados físico-químicos.
- Extrapolação a partir de outras espécies, baseada em assunções mecanísticas a cerca das relações inter espécies existentes. Um exemplo frequente ocorre quando o coeficiente de partição entre os tecidos e o sangue é assumido como sendo o mesmo para os mamíferos (a menos que existam razões específicas para não o fazer).
- Qualquer combinação dos acima referidos, tal como a extrapolação inter espécies incluindo dados *in vivo* de um modelo animal ou dados *in vitro* a partir das espécies alvo. Esta abordagem foi proposta para compensar as inadequações da extrapolação baseada apenas em informação *in vitro*. (Nestorov, 2007)

3.4.2.1. Dados *in vivo*

A estimação de parâmetros, para modelos PBPK, através de dados obtidos de concentrações tecidulares *in vivo*, é a forma mais provável de se obter valores fidedignos. No entanto, este processo está sujeito a muitas limitações.

Se, por exemplo, a distribuição que ocorre no tecido não é tida em conta de forma correcta e/ou a estrutura do modelo é muito complexa, pode-se acabar por obter valores que não são estatisticamente fiáveis ou que não são identificáveis. Uma possível solução para este problema é simplificar a estrutura do modelo, ou em alternativa fixar alguns parâmetros. Desta forma elimina-se a sobre-parametrização e consequentemente reduz-se a dimensão da estimação de parâmetros necessária. No entanto, neste caso pode-se sempre por em causa se as soluções referidas mantêm a informação contida nos dados.

Mesmo que o modelo fosse completamente identificável a grande maioria das vezes não seria muito sensível, pois existe uma variação constante dos parâmetros a estimar em simultâneo, o que resulta em problemas numéricos de estimação.

Desta forma, é importante implementar uma metodologia para se poder usar os dados *in vivo*. Assim sendo surgiu um método de aproximação designado de “estimação open-loop”. Neste método o perfil de concentração de sangue (ou plasma)

é analisado em separado (por exemplo através de uma função poliexponencial). A aproximação resultante é usada como estimativa de concentração do sangue que juntamente com a informação de concentração do tecido é utilizada para estimar separadamente os parâmetros específicos de cada composto em cada tecido.

Um problema grave que pode ser apontado a esta metodologia é que viola a relação essencial do balanço de massa e pode resultar em estimativas de parâmetros tendenciosas. A melhor aplicação da “estimativa open-loop” é para a estimação inicial de parâmetros, seguida de um procedimento “estimativa closed-loop”, com o modelo PBPK completo.

3.4.2.2. Dados *in vitro*

Dados obtidos em culturas celulares são actualmente alvo de grande interesse. Estes têm vindo a tornar-se mais realísticos e representativos dos dados obtidos fisiologicamente *in vivo*, o que constitui claramente uma alternativa aos testes com animais. Tal tem-se também verificado por uma serie de razões tais como o facto de as técnicas serem passivas de automatização e os modelos de culturas celulares conseguirem suportar um *screening* maciço com custos menores.

Actualmente as culturas com células CACO-2 são o ensaio *in vitro* mais utilizado para prever a permeabilidade intestinal de novas moléculas. (Paixão P. , 2010) Estas células, derivadas a partir de células humanas do adenocarcinoma e espontaneamente diferenciadas, expressam muitas enzimas envolvidas na permeabilidade e metabolização de fármacos existentes nas células intestinais. (Vogel & et. al., 2006)

A absorção de compostos ocorre maioritariamente no intestino delgado, que pode ser dividido histologicamente em duodeno, jejuno e íleo. No intestino delgado a superfície de absorção é aumentada pela existência de vilosidades e microvilosidades. O principal papel fisiológico do trato gastrointestinal é providenciar protecção contra agentes patogénicos (através de linfócitos) e ao mesmo tempo permitir a permeação de nutrientes e vitaminas. Este forma uma barreira enzimática e fisiológica.

Durante a passagem pelo trato gastrointestinal o composto transita por diferentes pHs, o que vai alterar a sua solubilidade e estabilidade.

As células no intestino são caracterizadas por uma elevada actividade enzimática, permeabilidade selectiva, resistência típica (entre as junções) e mecanismos de efluxo.

Idealmente, um modelo celular *in vitro* deve ter a capacidade de reproduzir o ambiente *in vivo*, reflectindo as respostas naturais do intestino bem como a sua

complexidade fisiológica. Assim, estes testes *in vitro* são focados na solubilidade do fármaco, permeabilidade e metabolização que são considerados as maiores condicionantes da absorção. As culturas de células nestes modelos *in vitro* têm que ser caracterizadas *à priori* de modo a que o seu uso permita obter os resultados esperados. Esta caracterização inclui marcadores epiteliais (citoqueratinas), enzimas (digestivas), junções epiteliais, transportadores moleculares, metabolismo interno (citocromos), etc. (Langerholc & et. al., 2011)

Num ensaio experimental típico com células CACO-2, uma pequena concentração de fármaco é adicionado ao lado apical das células do sistema e amostras são colhidas a partir de ambos os lados (apical e basolateral), após um tempo predefinido (usualmente 1h). Posteriormente é determinada o coeficiente de permeabilidade aparente (P_{app}). (Paixão P. , 2010)

$$P_{app} \left(\frac{cm}{s} \right) = \frac{dQ}{dt} \times \frac{V}{A \times C_o}$$

Onde:

A – área de superfície

C_o - concentração inicial do composto

dQ/dt – rácio do composto no lado basolateral

V – volume da camara receptora

Os valores de P_{app} são muitas vezes relacionados com a permeabilidade efectiva *in vivo* para mostrar a relevância do modelo *in vitro*. No entanto, este teste tem vindo a mostrar algumas limitações na medida em que é observada uma grande variabilidade de valores de P_{app} obtida a partir de diferentes laboratórios.

A *clearance* metabólica também pode ser determinada *in vitro*, através do uso de preparações como profusões de fígados isolados, *slices*, fígado homogenizados, hepatócitos isolados, fracções subcelulares do fígado ou enzimas recombinantes. Cada uma destes sistemas *in vitro* apresenta vantagens e desvantagens (tabela 1).

Tabela 2: Comparação de estudos em sistemas *in vitro*, para estudar a biotransformação. Adaptado de (Paixão P. , 2010)

Sistema <i>In vitro</i>	Vantagem	Desvantagem
Órgãos profundidos	Fase I e II presente Todo o perfil metabólico observado Boa correlação com o <i>in vivo</i>	Caro Metodologia complexa Variabilidade dos lotes Controlo de qualidade Uso limitado para vários compostos
Slices	Fase I e II presente Todo o perfil metabólico observado Boa correlação com <i>in vivo</i>	Caro Metodologia complexa Variabilidade dos lotes Controlo de Qualidade Difusão limitada Uso limitado para múltiplos compostos
Hepatócitos	Fase I e II presente Perfil metabólico Indução modelada Boa correlação com resultados <i>in vivo</i>	Caro Variabilidade dos lotes Controlo de qualidade Metodologia complexa Uso limitado para múltiplos compostos
Microssomas	Fácil de usar Barato	Adição de cofactores Perfil metabólico parcial Indução não modelada

Devido às suas características relativa estabilidade, o uso de suspensões de hepatócitos são o modelo mais utilizado. Neste método uma pequena concentração de fármaco é adicionada à suspensão de hepatócitos isolados com um número conhecido de células ($1 - 3 \times 10^6$ células/ml) e posteriormente são colhidas alíquotas em tempos predefinidos. Posto isto é calculado a *clerance* intrínseca (C_{int}), utilizada para posteriormente prever a *clerance* hepática. (Paixão P. , 2010)

$$Cl_{int}(\mu L/min/10^6 \text{ células}) = \frac{D}{AUC}$$

Onde:

D – total de fármaco adicionado às células

AUC – área sob a curva de fármaco total vs tempo

3.4.2.3. Dados *in silico*

Existem vários modelos animais em que se pode estudar a absorção de fármacos. No entanto, até há data não se encontrou nenhum animal que permita a elaboração de um modelo que possibilite a obtenção de dados que se correlacionem a 100% com os humanos. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

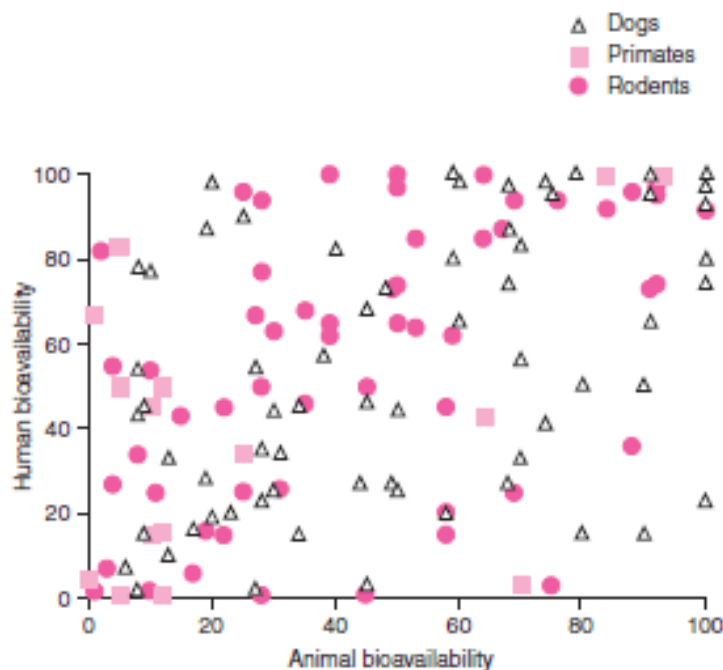


Figura 6: Gráfico que relaciona a biodisponibilidade de vários fármacos em cães, primatas e roedores *versus* a biodisponibilidade absoluta verificada em humanos. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

Pela observação da figura anterior é possível retirar três elações: (i) não há correlação aparente entre a biodisponibilidade de humanos e os modelos animais considerados; (ii) o número de falsos positivos é grande; (iii) o número de falsos negativos é grande. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

Deste modo, através da relação (i), anteriormente referida, facilmente se pode concluir que não é possível a utilização destes dados para prever a biodisponibilidade em humanos, nem para construir modelos computacionais (*in silico*).

No entanto, os dados obtidos, através de animais, podem ser matematicamente decompostos em todos os processos que estão envolvidos na biodisponibilidade. Desta forma vai ser eventualmente possível caracteriza-los e identificar variáveis que sejam comuns a cada espécie.

A elaboração de modelos *in silico* compreende três pontos essenciais:

1) Informação matemática sobre a molécula, com a qual é possível a sua caracterização intrínseca;

Para se obter esta informação são usados descritores moleculares, que se obtêm pelo uso de diversas metodologias, nomeadamente:

- Propriedades superficiais moleculares

Este método usa um descritor molecular designado de PSA (área de superfície polar) que utiliza aproximações mecanísticas. O PSA é definido como parte da área de superfície molecular que contribui para os átomos de azoto e oxigénio, e a área dos átomos de hidrogénio que estão ligados a estes.

Este é calculado para conformações de baixa energia das moléculas. No entanto, é importante salientar que uma molécula pode adoptar várias conformações de baixa energia, tendo consequentemente diferentes valores de PSA. Tal constitui um problema neste método. Assim sendo, de modo a minimizar este problema o PSA é calculado a partir da média destes diferentes estados.

Muitos estudos realizados até há data demonstram uma grande correlação entre o PSA e a permeabilidade das células CACO-2 utilizadas em modelos *in vitro*. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

- Métodos que envolvem mecânica quântica

Métodos como o PSA têm vindo a falhar com a introdução de uma grande diversidade de moléculas/ estruturas na base de dados pois não apresenta grande capacidade discriminatória. Deste modo têm surgido métodos fundamentados em aproximações com base em cálculos de mecânica quântica. Estes métodos são usados para prever a permeabilidade passiva, correlacionando a estrutura molecular com a fracção absorvida após a administração oral. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

2) As características biológicas das moléculas em questão, tais como permeabilidade, *clearance* e ligação às proteínas plasmáticas;

3) A utilização de ferramentas estatísticas que relacionam os dois primeiros pontos.

São diversos os exemplos de ferramentas estatísticas que podem ser mencionados, nomeadamente regressões lineares ou a regra dos cinco, que consistiu numa das primeiras tentativas para fazer um *screen* de compostos para serem absorvidos oralmente.

A regra dos cinco baseia-se numa análise retrospectiva dos fármacos introduzidos no mercado, que mostrou existirem algumas premissas que nos podem levar a concluir que o fármaco tem uma absorção/ permeação pobre:

- Quando a molécula apresenta mais que cinco grupos dadores de hidrogénios (OH e NH);
- Quando a molécula possui mais de dez grupos aceitadores de hidrogénios (N e O);
- Quando o composto apresenta um peso molecular superior a 500;
- Quando o composto apresenta um valor de hidrofobicidade (log P) superior a cinco.

É importante salientar que classes de compostos que são substratos para transportadores membranares constituem uma excepção a esta regra.

A regra dos cinco foi definida com o intuito de identificar compostos com características de solubilidade/permeabilidade vantajosas o que permite obter elevados valores de biodisponibilidade. (Paranjpe, Grass, & Sinko, 2003)

4. Aplicações

Embora os modelos PBPK tenham sido originalmente gerados no campo farmacêutico, estes têm vindo a ser aplicados noutras áreas tais como a toxicologia, a avaliação de risco e eficácia. (Parrot & Lave, 2008)

Quanto ao campo farmacêutico esta ferramenta é usada no desenvolvimento de novos fármacos e no estudo da farmacologia. Mesmo durante as fases de desenvolvimento de novas moléculas (auxilia na escolha da molécula mais promissora) ou fases pré-clínicas, juntamente com dados obtidos *in vitro* (reduzindo significativamente o número de animais necessários para testes).

Estes modelos ajudam também na aprendizagem da influência de diferentes processos e/ou parâmetros envolvidos na farmacocinética de um dado fármaco, por exemplo, o impacto de enzimas e transportadores na biodisponibilidade. (Sun & Pang, 2010)

Os modelos PBPK permitem simular diferentes regimes terapêuticos e assim estabelecer terapias e/ou otimiza-las. São bastantes úteis no estudo de anestésicos e sedativos, por exemplo. (Nestorov, 2003) Para além disso, são usados para estudar populações especiais, tais como obesos ou grávidas, sendo extremamente úteis para avaliar a distribuição do fármaco no feto. No estudo dos pró-fármacos a utilização destes modelos tem a vantagem de permitir o estudo tanto destes como dos seus metabolitos activos. Podem ser usados também para prever a magnitude das interações fármaco – fármaco, a quando de administrações concomitantes, tal é de extrema importância para a indústria farmacêutica para melhorar a segurança.

Adicionalmente, os modelos PBPK têm a vantagem de permitirem prever a exposição do fármaco e/ou os compostos tóxicos no plasma ou sangue, mas também em compartimentos de difícil acesso como o cérebro ou tecidos tumorais. (Feras, 2011)

É importante ainda salientar o peso que estes modelos têm em estudos de imunologia, permitindo a modelação da distribuição tecidular dos anticorpos.

5. Perspectivas futuras

Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento do interesse no uso de modelos PBPK no desenvolvimento e regulamentação de novos fármacos.

A figura seguinte ilustra a evolução do número de publicações científicas publicadas desde 1970 a 2010, cujo título possui o termo “PBPK”.

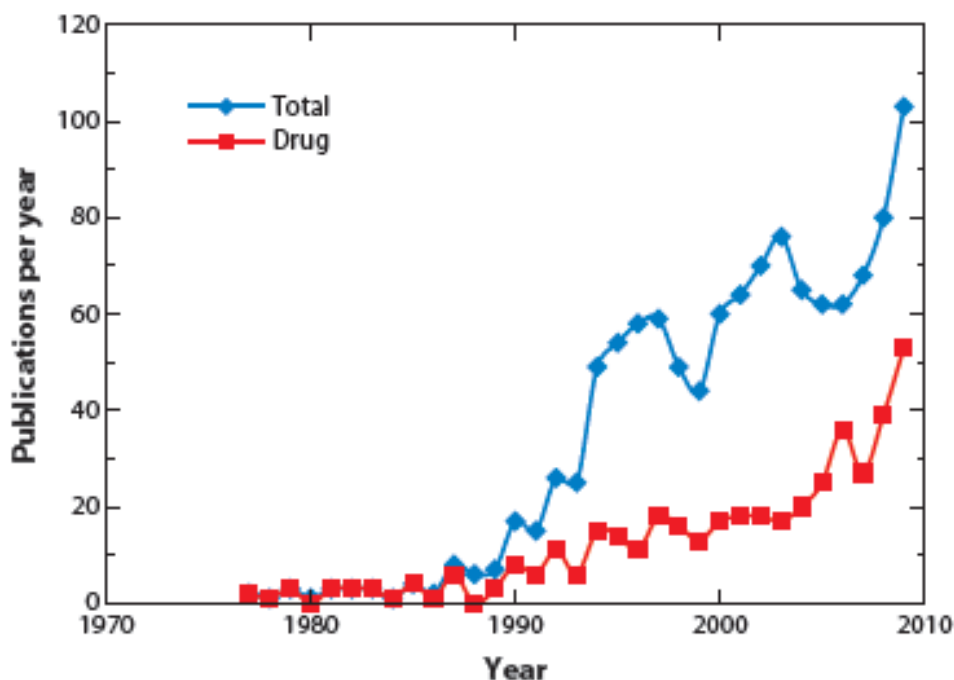


Figura 7: Evolução anual das publicações científicas que contêm no título o termo “PBPK” (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)

No início do ano de 2011, a agência FDA (*food and drug administration*) reportou a recepção de 13 submissões entre o período de 2008 e Julho de 2010 de estudos de PBPK (sete para investigação de novos fármacos e seis para novas aplicações de fármacos já existentes). No entanto no período de Janeiro de 2011 a Julho de 2012 recebeu 12 novas submissões. (Zhao, Rowland, & Huang, 2012)

As 25 submissões correspondem a estudos de diferentes áreas, nomeadamente interações entre fármacos, pediatria ou farmacogenética (figura 6).

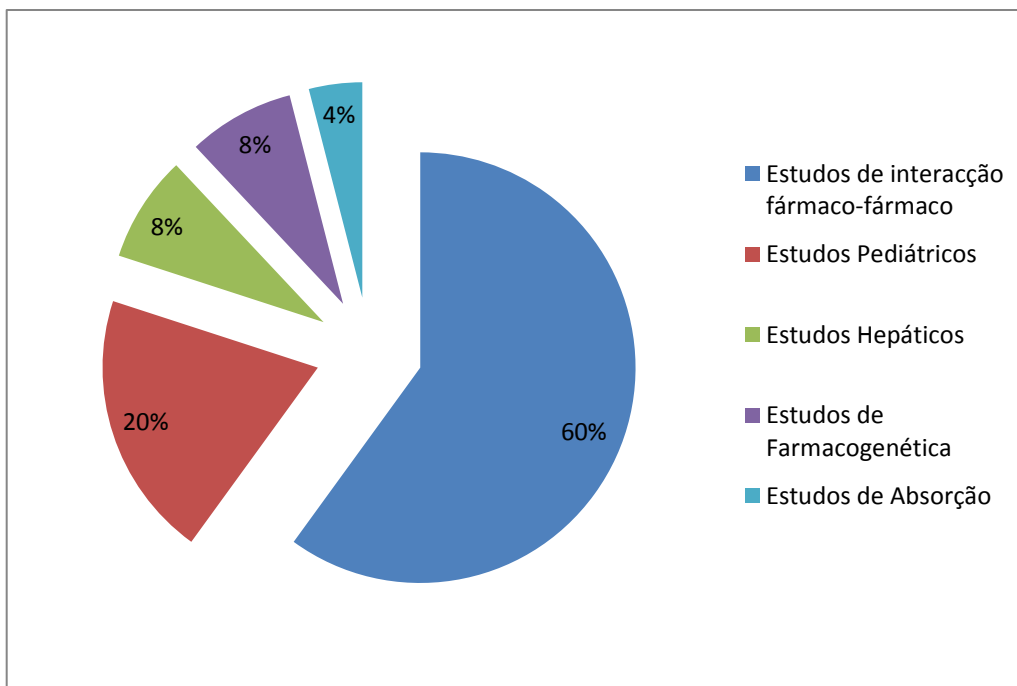


Figura 8: Diferentes estudos realizados e submetidos a agência FDA. (Zhao, Rowland, & Huang, 2012)

Através dos dados anteriormente referidos é possível constatar um aumento bastante acentuado do uso destes modelos, pelo que se deduz que a tendência é um contínuo crescimento.

Os primeiros estudos efectuados com modelos PBPK basearam-se essencialmente em riscos ambientais para a comunidade. No entanto, tem-se vindo a verificar um aumento destes na área farmacológica pelo que até à presente data foram apresentados alguns estudos científicos em que é possível apenas com dados *in silico* prever a farmacocinética de um dado fármaco. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)

No futuro é esperado que continue a haver uma melhoria e uma maior fiabilidade na aplicação destes modelos PBPK, havendo uma diminuição do uso de métodos *in vivo* e *in vitro*. É esperado que o uso destes modelos permita, por exemplo, prever o efeito de um dado transportador num órgão específico ou o papel de determinadas proteínas. Também é esperado poder-se usar esta ferramenta para simular doenças específicas (em indivíduos, ensaios clínicos e na população global).

PBPK é uma ferramenta que se tem vindo a mostrar ser primordial, e ter vantagens a nível do custo-benefício (pelo que a sua aceitação pela indústria e agências regulamentares tem aumentado substancialmente) podendo-se transformar numa ferramenta universal. (Rowland, Peck, & Tucker, September 2010)

6. Conclusão

Com o aumento do conhecimento das bases moleculares de determinadas patologias, bem como os recentes avanços da genómica e proteómica, o desenvolvimento de novos fármacos é cada vez mais orientado para o alvo terapêutico. A computação como ferramenta de auxílio para o *design* de novas moléculas é hoje em dia uma parte integral do processo de desenvolvimento de novas moléculas. (Paixão P. , 2010)

Através da presente monografia é possível concluir que a modelação *in silico* pode ser usada de modo a seleccionar compostos para se iniciar estudos de novas moléculas.

Nem sempre é fácil determinar a estrutura do modelo, bem como as equações subjacentes, pelo que se tem que ter em conta a variabilidade inter individual de cada individuo, assim como patologias que este possa ter. A determinação errada do modelo quando não detectada facilmente pode conduzir a resultados erróneos.

A utilização destes modelos vem a afirmar-se como uma ferramenta essencial, não só no campo farmacêutico. Assim é de esperar que cada vez mais haja um aumento da confiança nestes modelos por parte indústria farmacêutica e agências regulamentares o que conduz a um aumento da sua utilização.

No entanto para que isto aconteça é necessário que continue a haver um estudo continuo nesta área de modo a se poderem ultrapassar algumas limitações (secção 2.1) e se consiga validar o modelo com maior confiança/ fiabilidade possível.

7. Referências Bibliográficas

- Bischoff, K. B. (1975). Some fundamental considerations of the applications of pharmacokinetics to cancer chemotherapy. *Cancer Chemotherapy Reports*, 777-793.
- Bois, F., Jamei, M., & Clewell, H. (2010). PBPK modelling of inter-individual variability in the pharmacokinetics of environmental chemicals. *Science Direct*, 256-257.
- Brochot, C., Aarons, L., & Bois, F. (2005). Lumping in pharmacokinetics. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 719 - 736.
- Brochot, C., Tóth, J., & Bois, F. (2005). Lumping in Pharmacokinetics. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*.
- Butina, D., Segall, M., & Frankcombe, K. (2002). Predicting ADME properties in silico: methods and models. *Information biotechnology supplement*.
- Byczkowski, J., & Lipscomb, J. (2001). Physiologically based pharmacokinetic modeling of lactational transfer of methylmercury. *Society Risk analysis*, vol.21 no.5.
- Cai, H., & et. al. (2006). Evaluation of an integrated in vitro-in silico PBPK (physiologically based pharmacokinetic) model to provide estimates of human bioavailability. *International journal of pharmaceutics*, 133-139.
- Feras, L. (2011). Physiologically based pharmacokinetic modeling: methodology, applications and limitations with a focus on its role in pediatric drug development. *Journal of Biomedicine and biotechnology*.
- Ferl, G., Wu, A., & Distefano, J. (2005). A predictive model of therapeutic monoclonal antibody dynamics and regulation by the neonatal Fc Receptor (FcRn). *Annals of Biomedical Engineering*, 1640 - 1652.
- Gaohua, L., & et. al. (2012). A pregnancy physiologically based pharmacokinetic (p-PBPK) model for disposition of drugs metabolized by CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4. *Br J. Clin Pharmacol*, 873-85.
- Ghobadi, C., & et. al. (2011). Application of a Systems approach to the bottom - up assessment of pharmacokinetics in obese patients. *Clin pharmacokinet*, 809 - 822.
- Gibaldi, M., & Perrier, D. (2007). *Pharmacokinetics - Drugs and pharmaceutical sciences* (2nd edition ed., Vol. 15). New York: informa healthcare.
- Khalil, F., & Laer, S. (2011). Physiologically based pharmacokinetic modeling: methodology, applications, and limitations with a focus on its role in pediatric drug development. *Journal of biomedicine and biotechnology*.

- Krishna, R. (2004). *Applications of pharmacokinetic principles in drug development*. New York: Plenum Publishers.
- Krishnan, K., & Andersen, M. (2010). *Quantitative Modeling in Toxicology*. United Kingdom: Wiley.
- Langerholc, T., & et. al. (2011). Novel and established intestinal cell line models - An indispensable tool in food science and nutrition. *Trends in food science and technology*, 11-20.
- Li, G., & Rabitz, H. (1995). A general analysis of exact nonlinear lumping in chemical kinetics. *Chem. Eng Sci*, 49(3): 343-361.
- Menezes. (2002). Simpósio sobre ética e pesquisa em animais. *AMRIGS*, 105-108.
- Moghadamnia, A., Rostami-Hodjegan, A., Abdul-Manap, R., Wright, C., Morice, A., & Tucker, G. (2003). Physiologically based modelling of inhibition of metabolism and assessment of the relative potency of drug and metabolite: dextromethorphan vs dextrophan using quinidine inhibition. *Clin Pharmacol*, 57 - 67.
- Nestorov, I. (1998). Lumping of Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Models. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics Vol. 26, No. 1*.
- Nestorov, I. (2003). Whole body pharmacokinetic models. *Clin. Pharmacokinetic* 42 (10), 883-908.
- Nestorov, I. (2007). Whole body physiologically based pharmacokinetic models. *Informa UK*, 1742-5255.
- Paixão, P. (2010). In Silico prediction of human oral bioavailability. Artificial neural networks and physiologically based models.
- Paixão, P., Gouveia, L., & Morais, J. (2012). Prediction of the human oral bioavailability by using in vitro and in silico drug related parameters in a physiologically based absorption model. *Internatonal Jornal of Pharmaceutics*, 84-98.
- Paranjpe, P., Grass, G., & Sinko, P. (2003). In silico tools for drug absorption prediction. *J. Drug Delly*, 133-148.
- Parrot, J., Paquereau, N., & Lavé, T. (2005). Application of full physiological models for pharmaceutical drug candidate selection and extrapolation of pharmacokinetics to man. *Basci and Clinical pharmacology and toxicology*, 193 - 196.
- Parrot, N., & Lave, T. (2008). Applications of physiologically based absorption models in drug discovery and development. *Molecular Pharmaceutics*, 760-755.
- Pereira, M. J. (2007). Princípios gerais e considerações práticas para quem trabalha com animais de laboratório. *SPA*.

- Poulin, P., & et al. (2011). PHRMA CPCDC Initiative on Predictive Models of Human Pharmacokinetics, Part 5: Prediction of Plasma concentration - time profiles in human by using the physiologically - based pharmacokinetic modeling approach. *PharmaceuticL sCIENCES*, vol 100 no. 10.
- Price, K., & Krishnan, K. (2011). An integrated QSAR-PBPK modelling approach for predicting the inhalation toxicokinetics of mixtures of volatile organic chemicals in the rat. *Sar and QSAR in Environmental Research*, 107-128.
- Rowland, M., Peck, C., & Tucker, G. (September 2010). Physiologically-based pharmacokinetics in drug development and regulatory science. *PA51CH03-Rowland*, 45-73.
- Sidhu, P., & et al. (2011). Simulation of differential drug pharmacokinetics under heat and exercise stress using a physiologically based pharmacokinetic modeling approach. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 365-382.
- Sun, H., & Pang, K. (2010). Physiological modeling to understand the impact of enzymes and transporters on drug and metabolite data and bioavailability estimates. *PharSpringer Science+ Business Media*.
- Vogel, H., & et. al. (2006). *Drug Discovery and Evaluation - Safety and pharmacokinetic assays*. Berlin: Springer.
- Wada, D., & et. al. (1997). Computer simulation of the effects of alterations in blood flows and body on thiopental pharmacokinetics in humans. *Medline*, 884-99.
- Zhao, P., Rowland, M., & Huang, S.-M. (2012). Best practice in the use of physiologically based pharmacokinetic modeling and simulation to address clinical pharmacology regulatory questions. *Clinical pharmacology & therapeutics*.