

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA

**Desenvolvimento de modelo farmacocinético embasado pela fisiologia  
(PBPK) aplicado a translação intraespecie**

Laura Bem Olivo

Porto Alegre, novembro de 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado por **Laura Bem Olivo** para  
obtenção do diploma de Farmacêutica

Bibiana Verlindo de Araújo  
*Orientadora*

Keli Jaqueline Staudt  
*Coorientadora*

Porto Alegre, novembro de 2020

Este Trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Modelagem PK/PD da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino público e de excelência, à Faculdade de Farmácia por ter sido minha segunda casa nos últimos seis anos e à todo o corpo docente e técnico que contribuíram para minha formação.

À minha orientadora, Professora Bibiana de Araújo, pela orientação, compreensão, incentivo e discussões científicas. És um exemplo de mulher, cientista e professora.

À minha coorientadora, Keli Staudt, que nunca me deixou desistir, disposta a tudo com muita calma e paciência. Obrigada por ser mais que uma co, mas também uma amiga que me inspira ser a cada dia a minha melhor versão.

À Professora Teresa Dalla Costa, pelas inspiradoras trocas científicas.

Ao Laboratório de Farmacocinética de Modelagem PK/PD pelo companheirismo, cafés e que me trouxe de volta ao universo da pesquisa.

À Victória Helfer e ao Fernando Carreño por me ensinarem muito mais do que a ciência em si, mas sim em como fazer ciência com ética e profissionalismo. Vocês são seres únicos e muito especiais. Que sorte poder conviver com vocês. Juntos e *shallow now*.

À Bruna Bernar, Graziela Lock e Schaiane Ferri por alegrarem meus dias, e madrugadas, de laboratório, por sempre terem um colo e uma palavra de conforto e por serem absolutamente essas pessoas incríveis por dentro e por fora. Amo vocês.

À Ana Xavier que todas as manhãs aquecia meu coração ansioso com um café quentinho.

À minha dupla, Leticia Mezzomo, por ter sido uma fiel companheira nesses seis anos. Construimos uma amizade incrível que quero levar pra sempre comigo. Tenho muito orgulho da nossa trajetória e das profissionais que estamos nos tornando. Te amo muito.

À Tainara Benin, pela amizade verdadeira que construímos e por ter compartilhado tantos momentos comigo nesses últimos anos. Sei que sempre poderei contar contigo.

À Renata Neves, por ser uma irmã, que esteve junto comigo sempre compartilhando as alegrias e as tristezas. Faltam palavras pra descrever o que eu sinto por ti. Tu faz parte da minha família.

À Emily Garcia e Victória Giudice, por alegrarem meus dias e noites. Vocês tem um lugar reservados pra sempre no meu coração.

À Carolina Backes, por sempre ter estado ao meu lado e ter feito a diferença nos meus dias. Agradeço ao universo por ter te colocado na minha vida. Te amo.

Às amigas que a farmácia me deu: Karina, Mariana, Naiany, Rafaela e Renata Britto, por compartilharem tantos momentos ao longos desses anos.

Às minhas amigas de infância: Bia, Joana, Milena, Paula Ciotta, Paula Rosin, Raissa e Sabrina pela persistência na nossa amizade, por terem entendido cada “hoje não posso” e por todos esses anos de convivência. Amo vocês.

À Natally Toson, por ser absolutamente o ser humano mais incrível que eu tive o privilégio de conviver, e por todo o incentivo e amor.

Às minhas dindas Maria e Vera, à minha tia Carla e às minhas primas Fernanda, Júlia e Luísa por terem vibrado todas as conquistas junto comigo e por serem tão presentes na minha vida.

Ao Alabama e à Brigitte, por serem meus fiéis companheiros e secretários.

À Paula Olivo, por ser uma inspiração para mim. Cresci vendo tu se realizar pessoalmente e profissionalmente e tenho um orgulho imenso da mulher que tu te tornou. Obrigada por compartilhar a casa e a vida comigo nos últimos seis anos.

Aos meus pais, Silvia e Mauro, por nunca terem me dito não, por serem pais presentes e incentivarem todas as oportunidades que eu tive na vida. Ser filha de vocês é um privilégio imenso. Obrigada por tudo, eu amo vocês demais.

*“If you don’t live for something,  
you will die for nothing”*

## RESUMO

Modelos PBPK são modelos do tipo “bottom-up” que integram informações fisiológicas do organismo com características físico-químicas do fármaco permitindo a simulação a priori de perfis farmacocinéticos. No cenário clínico esta estratégia é utilizada para estudos de interação fármaco-fármaco e para compreensão da influência da fisiopatologia sobre os processos farmacocinéticos e farmacodinâmicos. Neste trabalho a modelagem PBPK foi aplicada para avaliação da influência da infecção sobre o processo de distribuição de antimicrobianos. O fármaco escolhido foi a piperacilina devido a sua importância no tratamento de infecções nosocomiais e sepse (associada ao tazobactam). O modelo base foi construído inicialmente para ratos hígidos em doses correspondentes a doses utilizadas em humanos (60 e 120 mg/kg) e translacionados para animais imunodeprimidos e infectados com *E. coli* paras as dose de 60, 120 e 240 mg/kg. Foram coletadas informações físico-químicas do fármaco e informações farmacocinéticas previamente publicadas. Para o desenvolvimento do modelo foi utilizado o software PK-SIM (Bayer Company). O modelo foi validado para concentrações plasmáticas totais e livres musculares através de dados previamente publicados e do cálculo do “Average Fold Error (AFE)”. As concentrações previstas pelo modelo frente aos dados da literatura foram adequadas apresentando valores de AFE dentro do critério de aceitação de 0,5 – 2,0, sendo que todas as simulações permaneceram de acordo com a faixa estipulada. Dessa forma, pode-se simular a influência da infecção alterando o pH em músculo, pulmão e cérebro frente a diferentes patógenos. Foram testados diferentes protocolos de administração (q4h, q6h e q8h). Nenhum dos protocolos avaliados corrobora para o sucesso da terapia frente a infecções generalizadas em cenário pré-clínico, tendo como referência os valores de concentração inibitória mínima (CIM) dos patógenos mais comuns associados a sepse (*E.coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*) alcançados nos tecidos.

## ABSTRACT

PBPK models are bottom-up models that integrate physiological information of the organism with physical-chemical characteristics of the drug that allow an a priori simulation of pharmacokinetic profiles. In the clinical setting, this strategy is used for drug-drug interaction (DDI) studies and for understanding the influence of pathophysiology on pharmacokinetic and pharmacodynamic processes. In this work PBPK modeling was applied to evaluate the infection influence on antimicrobial distribution process. The drug chosen was piperacillin due to its importance in the treatment of nosocomial infections and sepsis (associated with tazobactam). The base model was developed for healthy rats at doses corresponding to doses used in humans (60 and 120 mg / kg) and translated to immunosuppressed animals and infected with *E. coli* for the doses of 60, 120 and 240 mg/kg. Physical-clustered drug information and published pharmacokinetic information were collected. For the development of the model, the software PK-SIM (Bayer Company) was used. The model was validated for total plasma and free muscle concentrations through previously published data and the calculation of the Average Fold Error (AFE). As predicted by the model in view of the literature data, the values of AFE were modified within the acceptance criterion of 0.5 - 2.0, and all simulations were according to the stipulated range. In this way, it is possible to simulate the influence of infection by changing the pH in muscle, lung and brain against different pathogens. Different administration protocols (q4h, q6h and q8h) were tested. None of the available protocols corroborate to the success of therapy in the face of generalized changes in preclinical scenario, having as reference the values of minimum inhibitory concentration (MIC) of the most common pathogens associated with sepsis (*E.coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*) achieved in the tissues.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação mecanística de um modelo farmacocinético embasado pela fisiologia (PBPK). (Adaptado de Kuepfler et al., 2016) .....	14
<b>Figura 2:</b> Representação mecanística de um tecido com distribuição limitada pela difusão. (Adaptado de Upton et al., 2016) .....	15
<b>Figura 3:</b> Representação mecanística de um tecido com distribuição limitada pela permeabilidade da membrana (Adaptado de Upton et al., 2016). .....	16
<b>Figura 4:</b> Representação dos building blocks para a construção de um PBPK (algumas informações são opcionais dependendo do propósito do modelo) (Adaptado de Kuepfler et al., 2016).....	17
<b>Figura 5:</b> Crescimento do número de publicações com o termo "Physiologically Based Pharmacokinetic Model" nas bases de dados PubMed e Scopus nos últimos 10 anos; até 30 de setembro de 2020.....	20
<b>Figura 6:</b> Estrutura química da Piperacilina (DrugBank, 2020).....	22
<b>Figura 7:</b> Concentrações musculares livre previstas <i>versus</i> observadas para as duas doses avaliadas (rosa 120 mg/kg e azul 60 mg/kg).....	34
<b>Figura 8:</b> Concentrações plasmáticas totais previstas <i>versus</i> observadas para as duas doses avaliadas (rosa 120 mg/kg e azul 60 mg/kg). .....	34
<b>Figura 9:</b> Perfil de concentração muscular livre de PIP por tempo nos diferentes pH teciduais para as doses de 60 (A), 120 (B) e 240 mg/kg (C) (círculos vermelhos dados de Araújo et al. (2011)).....	38
<b>Figura 10:</b> Simulações das concentrações livre de PIP no músculo de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde) .....	43
<b>Figura 11:</b> Simulações das concentrações livre de PIP no pulmão de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde) .....	44
<b>Figura 12:</b> Simulações das concentrações livre de PIP no cérebro de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde).....	45

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO .....	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
3.1 Modelagem Farmacocinética.....	13
3.2 Modelo Farmacocinético Embasado pela Fisiologia (PBPK) .....	14
3.2.1 Histórico .....	19
3.2.2 Aplicações.....	20
3.3 Piperacilina .....	22
3.3.1 Variações Farmacocinéticas.....	24
4. METODOLOGIA .....	26
4.1 Dados bibliográficos.....	26
4.2 Softwares .....	26
4.2.1 Graph Grabber (Quintessa Limited).....	26
4.2.2 RStudio (R) .....	26
4.2.3 PK-SIM (Open Systems Pharmacology) .....	27
4.3 Modelo base .....	27
4.4 Organismo biológico .....	27
4.5 Propriedades físico-químicas e biológicas da piperacilina .....	28
4.6 Cálculo do coeficiente de partição plasma:tecido muscular (Kp).....	29
4.7 Avaliação do modelo.....	29
4.8 Avaliação da influência da infecção na penetração tecidual de piperacilina .....	30
4.9 Simulação de cenários em outros tecidos .....	30
5. RESULTADOS .....	32
5.1 Modelo base .....	32
5.2 Modelo Ratos Imunodeprimidos Infectados com E. coli .....	35
5.3 Avaliação da influência do pH muscular no Kp.....	37
5.4 Simulações .....	39
6. CONCLUSÕES.....	47
7. PERSPECTIVAS .....	47
8. REFERÊNCIAS .....	48

## 1. INTRODUÇÃO

O uso da modelagem e simulação (M&S) vem crescendo nos últimos anos devido à sua utilização para integrar dados, conhecimento e mecanismos para auxiliar no uso e no desenvolvimento de medicamentos. Modelos apropriados fornecem informações precisas para predição do tempo de exposição e resposta para diferentes protocolos de administração (MOULD; UPTON, 2012). Dentro desta área, atualmente, destacam-se os modelos farmacocinéticos embasados pela fisiologia (PBPK), que vêm sendo utilizados a fim de integrar mecanismos fisiológicos e características dos fármacos através de relações matemáticas para prever, simular e compreender sua farmacocinética. A modelagem fisiológica visa a transição da biologia de uma ciência descritiva para uma ciência preditiva (PETERS, 2012).

Devido a sua complexidade, um modelo PBPK contempla o organismo como um todo, levando em conta todas as vias de administração e os mecanismos envolvidos nos processos de distribuição e eliminação do fármaco. Graças ao avanço da tecnologia pode-se integrar informações obtidas tanto *in vitro* quanto *in vivo*, tornando possível transformar alvos em terapias (ZHUANG; LU, 2016). Esta abordagem traz uma alternativa para explicar não somente a variabilidade interindividual, mas também a aplicação dos princípios farmacogenômicos para explicar diferenças entre populações (PETERS, 2012).

São aplicados em diferentes cenários na área farmacêutica desde o desenvolvimento à prática clínica. Os modelos PBPK podem ser aplicados na identificação de um regime terapêutico ideal e também na otimização da relação risco-benefício conseguindo prever situações extremas. Ademais, fornecem uma compreensão mecanística dos processos fisiológicos que governam o comportamento observado com o medicamento e traduzem esse entendimento para novos cenários, como por exemplo, de uma espécie para outra ou para uma população doente (KUEPFER et al., 2016).

Levando em conta este cenário, estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa descreveram variações farmacocinéticas de antimicrobianos em populações infectadas como a redução na penetração tecidual (DE ARAÚJO et al., 2011; TORRES et al., 2017; ALVES et al., 2017). Essas alterações farmacocinéticas podem influenciar no sucesso do tratamento de infecções. A

fim de compreender melhor os processos fisiopatológicos envolvidos em um destes trabalhos, foi proposto um PBPK para a piperacilina (PIP).

A PIP é um  $\beta$ -lactâmico de amplo espectro utilizado para o tratamento de infecções bacterianas moderadas a severas (HAYASHI et al., 2010). Muito se discute sobre protocolos de administração deste medicamento uma vez que são relatadas diversas alterações farmacocinéticas que causam o insucesso da terapia em populações infectadas (Andersen et al., 2018; Araujo et al., 2011; Fisher et al., 2019; Joukhadar et al., 2001; Sukarnjanaset et al., 2019).

## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um modelo farmacocinético embasado em fisiologia (PBPK) para a piperacilina e avaliar sua aplicabilidade em cenário de translação intraespécie.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Modelagem Farmacocinética

A farmacocinética (PK) é uma ciência de estudo que contempla o curso de um xenobiótico em um organismo biológico após a sua administração, levando em consideração seus processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME) (FAN; DE LANNOY, 2014). Em farmacocinética, modelagem e simulação (M&S), caracterizam a construção de modelos matemáticos que permitem a descrição ou simulação do perfil de concentração por tempo de um fármaco em um organismo, seja humano ou não, a partir de dados *in vivo* ou *in vitro* (LEAHY, 2005). Esta abordagem pode incluir modelos compartimentais, populacionais, fisiológicos, e mais modernamente a farmacologia quantitativa de sistemas, compondo a farmacometria, ciência que quantifica o comportamento de fármacos, medicamentos e de doenças, visando dar suporte ao desenvolvimento mais eficiente de fármacos e/ou de decisões regulatórias (GOBBURU, 2010). Pode-se aplicar diferentes métodos matemáticos dependendo do resultado que se quer obter. Essa abordagem numérica permite criar situações atípicas e críticas, e mostram resultados favoráveis no delineamento de um experimento (GALLO-NETO, 2012).

Os modelos farmacocinéticos clássicos (empíricos) abordam as interações entre a administração do medicamento e o efeito causado, sem considerar os mecanismos internos da fisiopatologia do indivíduo (DANHOF et al., 2008). Tais modelos, conhecidos como modelos mamilários ou compartimentais, apresentam um número limitado de compartimentos, que normalmente se subdividem em central e periférico, e são avaliados conforme critérios estatísticos e gráficos de ajuste do modelo (*godness-of-fit*), no qual o modelo estrutural que melhor descreve os dados experimentais é o selecionado (NESTOROV, 2007).

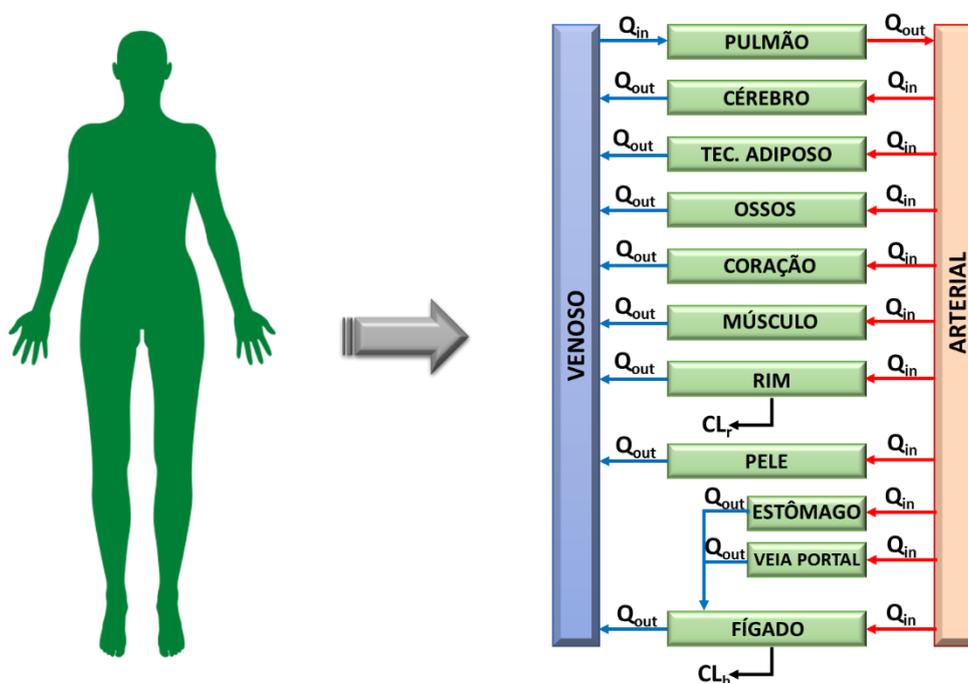
Um exemplo de aplicação da abordagem empírica são os modelos de farmacocinética populacional (popPK), que são utilizados para que se possa compreender as fontes de variabilidade observada nas concentrações individuais de uma população alvo. Esses modelos, assim como os mamilários, são modelos do tipo *top-down*, ou seja, que obtém as informações a partir de dados experimentais (PETERS, 2012). Outro tipo de abordagem são os do tipo

*bottom-up*, onde informações prévias sobre as características do sistema e outras variáveis que podem resultar em uma observação são reunidas para prever um resultado. Esse é o caso dos modelos farmacocinéticos embasados pela fisiologia (PBPK) (ABIATTI et al., 2018).

### 3.2 Modelo Farmacocinético Embasado pela Fisiologia (PBPK)

Modelos PBPK integram conhecimentos acerca de processos fisiológicos de um organismo biológico com características físico-químicas de um fármaco a fim de obter uma representação mecanística dele neste sistema, permitindo assim a simulação a priori dos perfis de concentração por tempo tanto no plasma quanto em tecidos de interesse (PETERS, 2012).

Um modelo PBPK nada mais é do que a tradução de um organismo biológico em compartimentos (Figura 1). Cada compartimento é definido pelo volume e/ou peso do órgão que são interligados pela corrente sanguínea. O fluxo sanguíneo de entrada e saída destes tecidos também é essencial para este tipo de modelo. Todos estes parâmetros estando em acordo com a espécie estudada, seja clínica ou pré-clínica (KUEPFER et al., 2016).



**Figura 1:** Representação mecanística de um modelo farmacocinético embasado pela fisiologia (PBPK). (Adaptado de Kuepfler et al., 2016)

Usualmente, estes modelos representam os principais tecidos de um organismo biológico, e são definidos como modelos PBPK completos, entretanto, é possível condensar estes compartimentos em um modelo PBPK mínimo, de acordo com as propriedades similares de perfusão e permeabilidade dos tecidos (JONES; ROWLAND-YEO, 2013).

Para definir o tipo de modelo PBPK é importante lembrar que a premissa desta abordagem é manter o balanço de massas. A variação da quantidade de fármaco no tecido em função do tempo pode ser limitada pela perfusão, como vemos na Figura 2. Quando isso ocorre, usamos a relação descrita na Equação 1.

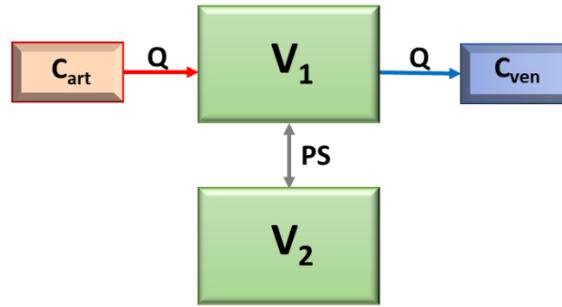


**Figura 2:** Representação mecânica de um tecido com distribuição limitada pela difusão. (Adaptado de Upton et al., 2016)

$$\frac{dC_{ven}}{dt} = \frac{Q \cdot C_{art} - Q \cdot C_{ven}}{V_{tecido}}$$

(Eq.1)

Na qual  $C_{ven}$  é a concentração de fármaco no sangue venoso,  $t$  é o tempo,  $Q$  é o fluxo sanguíneo,  $C_{art}$  é a concentração de fármaco no sangue arterial e  $V_{tecido}$  é o volume total do tecido, sendo então a quantidade de fármaco no tecido dependente do fluxo sanguíneo. Uma relação mais complexa ocorre quando a distribuição do fármaco pelos tecidos é limitada pela permeabilidade da membrana. Nesta relação o tecido é subdividido em dois compartimentos, superficial e profundo e a permeabilidade (PS) entre estes espaço é levada em consideração. Este processo pode ser melhor entendido através da figura 3. As equações diferenciais que o descrevem estão apresentadas a seguir:



**Figura 3:** Representação mecânica de um tecido com distribuição limitada pela permeabilidade da membrana (Adaptado de Upton et al., 2016).

$$\frac{dC_{ven}}{dt} = \frac{Q \cdot C_{art} - Q \cdot C_{ven} - PS \cdot C_{ven} + PS \cdot C_{tecido}}{V_1} \quad (\text{Eq.2})$$

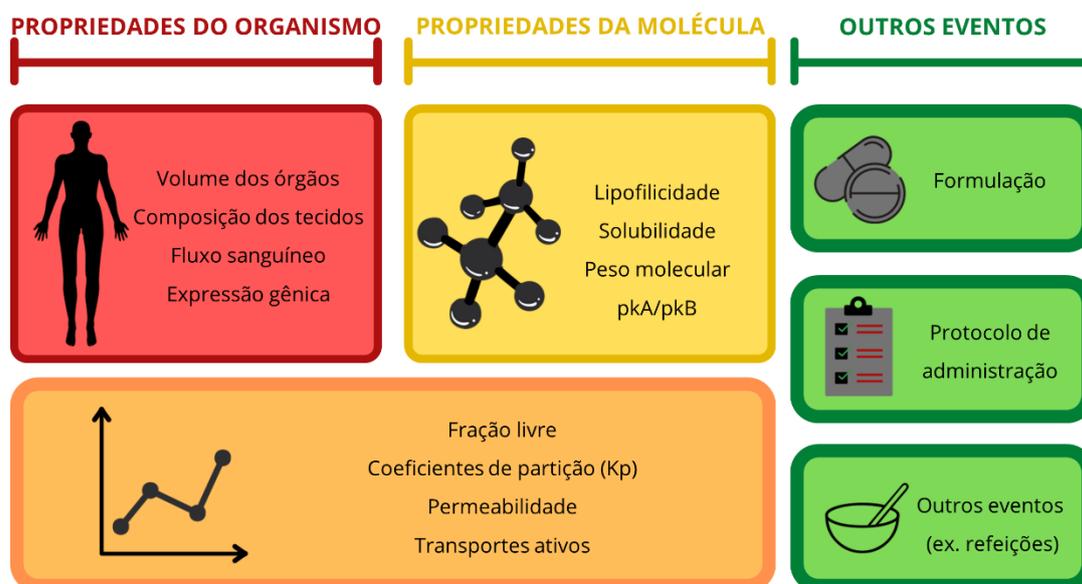
$$\frac{dC_{tecido}}{dt} = \frac{PS \cdot C_{ven} - PS \cdot C_{tecido}}{V_{tecido}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Na qual,  $C_{ven}$  é a concentração de fármaco no sangue venoso,  $t$  é o tempo,  $Q$  é o fluxo sanguíneo,  $PS$  é a permeabilidade da membrana,  $C_{tecido}$  é a concentração de fármaco no tecido,  $V_1$  é o volume do espaço superficial do tecido e  $V_{tecido}$  é o volume do tecido incluindo espaço superficial e profundo, sendo a concentração de fármaco no tecido dependente da permeabilidade da membrana que divide estes dois compartimentos (UPTON; FOSTER; ABUHELWA, 2016).

Entendendo estas relações é possível a construção de um modelo com maior clareza. Em um PBPK mínimo, agrupar os tecidos que contribuam muito para manter o balanço de massas pode não ser uma boa estratégia. Isto vai depender do propósito do modelo e do tipo de molécula que se está utilizando. Por exemplo, compostos muito lipofílicos são muito bem distribuídos no tecido adiposo, logo este tecido é considerado essencial para a estrutura do modelo, tanto para manter o balanço de massas quanto para a performance dele em simulações (NESTOROV, 2007). Outros métodos de como agrupar tecidos com características similares em um PBPK mínimo foram propostos por Pilari & Huisinga (2010).

Segundo Cao & Jusko (2012) modelos PBPK mínimos são uma abordagem mais racional para descrever a PK de um medicamento quando comparados aos modelos mamilários tradicionais, sendo assim um PBPK mínimo seria a escala intermediária entre um modelo PBPK completo e um modelo mamilário. Apesar da sua menor complexidade quando comparado a um PBPK completo, atualmente, esses modelos ainda são utilizados e suas aplicações serão discutidas no item 3.2.2 Aplicações.

Quando utilizamos uma abordagem mais completa é possível descrever com maior propriedade os processos de absorção, distribuição, metabolização e eliminação (ADME) do fármaco (MUNIR et al., 2018). A construção de um PBPK segue um formato conhecido como *building blocks*, que está representado da Figura 4.



**Figura 4.:** Representação dos *building blocks* para a construção de um PBPK (algumas informações são opcionais dependendo do propósito do modelo) (Adaptado de Kuepfler et al., 2016)

O conhecimento acerca da fisiologia do organismo é essencial para a construção do modelo. No primeiro bloco cada órgão é representado de acordo com a sua composição, onde estes compartimentos podem ser subdivididos para que se consiga descrever melhor os processos fisiológicos, por exemplo, volume de plasma, volume de interstício, volume intracelular, características histológicas dos tecidos e do sangue. Esta subdivisão ajuda a descrever com maior propriedade os processos de perfusão e permeação de moléculas nos tecidos. O

sangue também é subdividido em compartimentos diferentes: arterial e venoso, sendo este último subdividido em periférico e central, visto que há relatos na literatura que corroboram para diferenças nas concentrações sanguíneas entre estes três compartimentos (KUEPFER et al., 2016).

Essa representação mecanística segmentada ajuda a compreender melhor os processos de absorção e distribuição de um medicamento nas diferentes vias de administração. Como por exemplo, em uma administração pela via oral, deve-se atentar para a subdivisão do trato gástrico intestinal (TGI), uma vez que este sistema possui diferentes pH os níveis de absorção do fármaco podem variar de acordo com isso (JONES; ROWLAND-YEO, 2013). Esta abordagem engloba parâmetros como tempo de desintegração e dissolução do medicamento. Representações mecanísticas de um PBPK pela via oral foram descritas com maior detalhe por Jamei e colaboradores (2009).

Os demais blocos para a construção deste modelo incluem conhecimentos físico-químicos da molécula que podem ser facilmente encontrados em bancos de dados químicos como DRUGBANK, além de parâmetros biológicos já observados na literatura ou experimentalmente, como fração livre do fármaco no organismo. Descrever o protocolo de administração bem como a via de administração é essencial para o sucesso do modelo. Outros eventos que possam influenciar no perfil de concentração por tempo do medicamento devem ser adicionados quando pertinentes (KUEPFER et al., 2016).

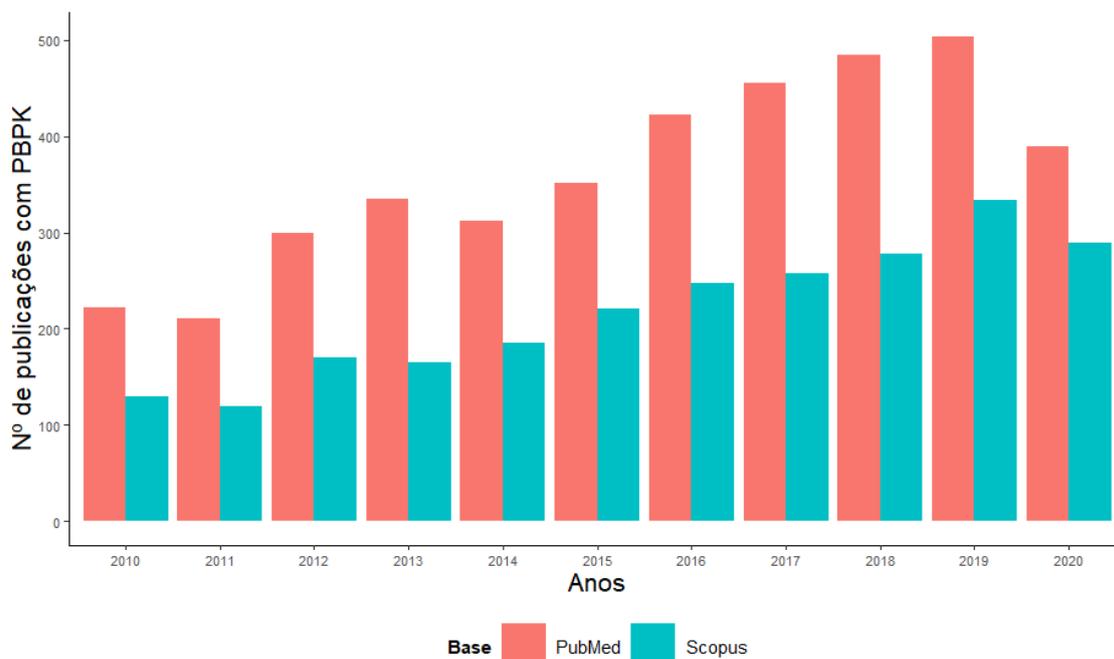
Após o desenvolvimento do modelo é necessário sua validação, e não há uma regra clara para isso. Usualmente esta validação se dá através da comparação do perfil de concentração simulada com o perfil de comparação dos dados observados, pela comparação dos parâmetros farmacocinéticos previstos e observados ou por métodos estatísticos que comparam estes dois casos, como percentagem do erro preditivo e o “*average fold error*”. É importante desafiar o modelo colocando ele em diferentes situações, como testar em diferentes doses e populações. Esta estratégia traz uma maior confiabilidade para utilizá-lo em simulações. Uma vez validado, o modelo está pronto para simular diferentes cenários (KHOT et al., 2017; KUEPFER et al., 2016).

### 3.2.1 Histórico

A essência da modelagem PBPK foi descrita pela primeira vez em 1924, quando Howar Haggard publicou o processo de distribuição do anestésico éter etílico. O estudo aborda o mecanismo de absorção, distribuição e eliminação da molécula através de um diagrama que representa a correlação entre o sistema respiratório e a circulação sanguínea. Por meio da sistemática do diagrama é possível compreender a penetração do éter etílico em diferentes tecidos a partir de uma administração inalatória (HAGGARD, 1924).

Mais de 10 anos depois, Torsten Teorell (1937) publicou o primeiro trabalho que descreve a cinética de uma substância administrada por vias intravasculares e extravasculares. O objetivo destes estudos foi propor relações matemáticas para descrever a cinética de distribuição de substâncias pelo organismo. Foi o primeiro relato de equações diferenciais que descrevessem a penetração tecidual em cada órgão (PAALZOW, 1995).

Cerca de 30 anos mais tarde, Bischoff e colaboradores (1971) publicaram a PK do Metotrexato utilizando compartimentos fisiológicos. Utilizando um modelo PBPK mínimo foi possível realizar a previsão das concentrações plasmáticas e teciduais para este fármaco com sucesso. O desenvolvimento de modelos PBPK cresceu muito na última década, como podemos observar na figura 5, unindo a tecnologia e a ciência. O desenvolvimento de softwares que possibilitassem a modelagem PBPK foi a causa raiz para o crescimento desta abordagem o que facilita a aplicação destes modelos nos mais diferentes cenários (SAGER et al., 2015).



**Figura 5:** Crescimento do número de publicações com o termo "*Physiologically Based Pharmacokinetic Model*" nas bases de dados PubMed e Scopus nos últimos 10 anos; até 30 de setembro de 2020

SimCyp® (Certara), GastroPlus® (SimulationPlus) e PK-SIM® (Bayer) são exemplos de softwares desenvolvidos para construção de um PBPK, que apresentam em suas configurações um modelo fisiológico genérico, normalmente completo, populações e espécies pré-definidas. Estas plataformas são facilitadoras para que se possamos aplicar o PBPK em diferentes abordagens.

### 3.2.2 Aplicações

Os modelos PBPK, sejam mínimos ou completos, pode ser utilizado em diferentes cenários. Dentre eles: entender melhor os processos fisiopatológicos de um medicamento no organismo, translacionar processos intra e interespecies, ajustar o regime posológico ideal, otimizar o risco-benefício de um medicamento, prever as primeiras doses a serem testadas em humanos no desenvolvimento de novas entidades farmacêuticas e explicar as interações fármaco-fármaco (PETERS, 2012).

Jermain e colaboradores (2020) utilizaram um modelo PBPK mínimo para simular as concentrações alcançadas no tecido pulmonar após administração oral de 0,2 mg/kg de ivermectina como alternativa de tratamento

para COVID-19. O modelo é composto de um compartimento de absorção, compartimento pulmonar e os demais tecidos foram compilados em um único compartimento, todos interligados pela circulação sanguínea. O modelo foi validado com concentrações plasmáticas de ivermectina em pacientes submetidos a pesquisa de Fase I para este tratamento. O modelo sugere que a exposição tecidual pulmonar de ivermectina seria incapaz de atingir o IC50 do SARS-CoV-2 (agente viral causador da COVID-19). Ainda que apresente limitações, como a impossibilidade de validar a exposição pulmonar bem como de simular o acúmulo de ivermectina no tecidos após doses múltiplas, o modelo corrobora estrategicamente para o direcionamento das pesquisas envolvendo a nova doença.

Edginton & Willmann (2008) utilizaram um modelo PBPK completo já descrito na literatura para translacioná-lo uma população com diferentes graus de cirrose e avaliaram se esse modelo seria capaz de prever as concentrações plasmáticas de alfentanila, lidocaína, teofilina e levetiracetam nesta população. As alterações fisiológicas da doença foram inseridas no modelo e ele foi testado frente aos quatro medicamentos. As concentrações previstas pelo modelo são similares as concentrações obtidas na literatura, o que valida a utilização de modelos PBPK em translações intraespécies. Neste contexto, também é possível simular as concentrações teciduais e avaliar se há ou não uma redução na penetração tecidual destes medicamentos em uma população cirrótica.

Uma outra abordagem são modelos translacionais interespécies. O estudo de Khot e colaboradores (2017) mostra o desenvolvimento de um PBPK de um conjugado anticorpo-fármaco (ADC) utilizando como composto o conjugado trastuzumabe e amtansina (T-DM1), usado para tratamento de câncer de mama. Os modelos de ADC e T-DM1 foram desenvolvidos utilizando uma população de ratos e os resultados foram translacionados para humanos através de uma escala alométrica a fim de prever a farmacocinética do conjugado T-DM1. O modelo desenvolvido foi capaz de prever as concentrações em humano de maneira satisfatória.

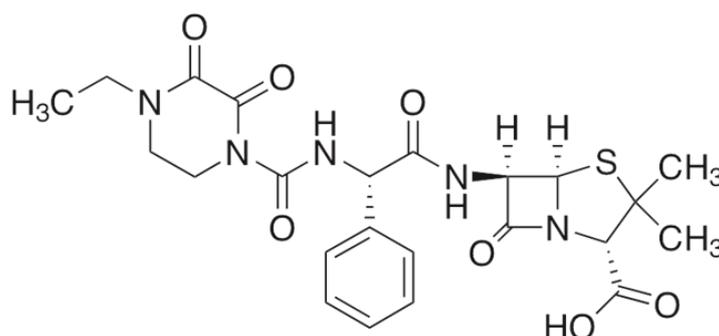
O estudo de Li e colaboradores (2020) desenvolveu um PBPK completo para entender com maior clareza as variações PK do voriconazol com base na compreensão do seu metabolismo através dos genótipos da CYP2C9, e também para avaliar interações fármaco-fármaco com outros substratos para

a CYP3A4. Os resultados do estudo mostram que os polimorfismos da CYP2C9 auxiliam na individualização da terapia deste medicamento e o modelo também ajuda no manejo de possíveis interações medicamentosas. Com base nos exemplos acima, fica claro que modelos PBPK são adaptáveis, podendo ser utilizados nas mais diferentes situações.

No presente trabalho, é proposto o desenvolvimento de um modelo PBPK para o antibiótico piperacilina.

### 3.3 Piperacilina

A piperacilina (PIP) é uma molécula semissintética derivada da ampilicina, da família das ureidopenicilinas. É um antimicrobiano  $\beta$ -lactâmico de amplo espectro utilizado para o tratamento de inúmeras infecções bacterianas. Sua estrutura química está representada da figura 6 (DrugBank, 2020).



**Figura 6:** Estrutura química da Piperacilina (DrugBank, 2020)

A molécula é classificada como um zwitterion de classe 2, por possuir cargas opostas com  $pK_a$  (ácido) de 3,49 e  $pK_a$  (básico) de -4,33 (DE ARAUJO et al., 2011; DrugBank, 2020). Devido a sua estrutura química ela não é absorvida pelo TGI, portanto só é administrada pelas vias intravenosa e intramuscular, sendo sua biodisponibilidade por esta última via em torno de 70% (HAYASHI et al., 2010).

Por possuir uma ampla atividade este composto é ativo contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas sendo elas aeróbicas ou anaeróbicas. Em concentrações de 32 mg/L conseguiu inibir cerca de 80% dos microrganismos gram-negativos mais clinicamente importantes. *Pseudomonas aeruginosa*, que é uma bactéria Gram-negativa e aeróbica, mostrou maior susceptibilidade à

piperacilina do que à carbenicilina ou ticarcilina com valores de concentração inibitória mínima (CIM) em torno de 32 mg/L. A PIP consegue inibir cerca de 90% da maioria das cepas de bactérias anaeróbias em concentrações de 8 mg/L ou menos (HOLMES et al., 1984).

O mecanismo de ação da PIP é como o de outra penicilina. Atua inibindo a síntese de peptidoglicano que envolve a membrana plasmática bacteriana. As bactérias possuem uma parede celular (PC) de peptidoglicano que envolve a membrana plasmática (MP) bacteriana e evita lise osmótica. A PIP interage com as proteínas ligantes de penicilinas (PLP) presentes logo abaixo da PC. Essa interação causa a inibição cruzada de peptidoglicano, logo as bactérias são incapazes de construir suas PC e esse enfraquecimento acaba causando a lise celular bacteriana. Algumas bactérias expressam uma enzima chamada  $\beta$ -lactamase, portanto o anel  $\beta$ -lactâmico presente na estrutura química das penicilinas torna-se um fácil substrato. Para contornar isso, as penicilinas são administradas concomitantemente com um inibidor destas enzimas a fim de aumentar sua atividade antimicrobiana, uma vez que ela é dependente do tempo em que a concentração do medicamento permanece acima da CIM da bactéria. A PIP, na prática clínica é administrada juntamente com Tazobactam (TAZ), um inibidor de  $\beta$ -lactamase (GERRIETS., 2018).

O metabolismo da PIP difere em espécies pré-clínicas e clínicas, e em espécies pré-clínicas ainda não foi muito bem elucidado (GHIBELLINI et al., 2007). Cerca de 80% da dose administrada é excretada via renal, porém há uma pequena fração excretada pela via biliar (FORTNER; FINLEY; SCHIMPF, 1982). Por muito tempo acreditou-se que sua distribuição era através de difusão passiva, porém estudos recentes de Wen e colaboradores (2018; 2019) mostraram que a interação entre PIP e TAZ também era mediada por transportadores orgânicos aniônicos (OAT) 1 e 3. Estes transportadores são transportadores de influxo localizados majoritariamente no rim, portanto possuem grande papel na excreção de PIP.

A PIP segue uma farmacocinética linear, porém há relatos de não-linearidade quando administrada em doses altas. Entretanto não há um consenso quanto a isso, visto que há estudos em doses elevadas que suportam a hipótese de linearidade (HAYASHI et al., 2010).

O tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) varia em humanos e ratos, sendo cerca de 60 min e 30 min, respectivamente. Já a variação da fração livre se mostra a mesma nas duas espécies estando entre 60-80% (FORTNER; FINLEY; SCHIMPF, 1982; NOLTING et al., 1996).

### 3.3.1 Variações Farmacocinéticas

Estudos demonstram que há variações na farmacocinética da PIP em populações especiais. Joukhadar e colaboradores (2001) avaliaram concentrações plasmáticas e teciduais (músculo e tecido adiposo) de PIP em voluntários sadios e em pacientes com choque séptico. As concentrações livres teciduais forem de 5 a 10 vezes inferiores nos pacientes quando comparadas as dos voluntários sadios após uma única dose de 4 g de PIP. Mesmo após uma simulação de administração com intervalo entre doses de 8 horas, as concentrações de PIP seriam de 20  $\mu\text{g/mL}$  e 11  $\mu\text{g/mL}$  no músculo e tecido adiposo, respectivamente, indicando que após administração de 12 g de PIP q24h as concentrações alcançadas nos tecidos seriam ineficazes no tratamento de choque séptico, uma vez que os principais patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacterioides species*) em um choque séptico possuem CIM > 20  $\mu\text{g/mL}$ .

Sukarnjanaset e colaboradores (2019) avaliaram diferentes protocolos de administração de PIP 6, 8, 12 e 16 g/dia, por infusões de curta duração em pacientes com sepse. Foram avaliadas as concentrações plasmáticas alcançadas pelo fármaco e a probabilidade de atingir o alvo (PTA) de 90% do índice PK/PD preditivo de eficácia da piperacilina (tempo acima da CIM) descrito para diferentes patógenos. Concluiu-se que o protocolo habitual para humanos de 4 g de PIP a cada 6 horas administrado por uma infusão de 30 minutos não é suficiente para tratar indivíduos com sepse. De todos os protocolos avaliados a maior parte deles conseguiu atingir a CIM da *Escherichia coli*, entretanto nenhum foi capaz de aproximar-se da *Pseudomonas aeruginosa*.

Um estudo do nosso grupo de pesquisa também relatou variações farmacocinéticas da PIP. De Araujo e colaboradores (2011) avaliaram através de um modelo PK/PD a penetração tecidual de PIP no músculo esquelético de ratos imunodeprimidos e infectados com *Escherichia coli*. Os dados

apresentados mostram que há uma redução na penetração tecidual de PIP quando comparados com ratos hígidos (Nolting et al., 1996). Os autores sugerem que tal desequilíbrio possa ser causado pela diferença de pH entre plasma e tecido, ocasionado pela infecção, resultando na alteração do processo de difusão passiva.

É visto que há muitos anos se discute variações farmacocinéticas de PIP e suas implicações nos protocolos de administração usuais. Portanto avaliar alternativas que auxiliem no entendimento dos processos fisiopatológicos e no manejo das doses torna-se essencial para garantir a eficácia do tratamento de infecções bacterianas.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Dados bibliográficos**

Os valores das concentrações plasmáticas totais e musculares livres para ratos hípidos foram extraídas do estudo de Nolting e colaboradores (1996). Os dados foram resultado de experimentos seguindo um protocolo de administração de piperacilina i.v bolus em doses únicas de 60 e 120 mg/kg, que equivalem as doses de (4 g/dia e 8 g/dia) utilizadas em humanos. As concentrações livres quantificadas no músculo foram definidas através de microdiálise.

Para animais infectados e imunodeprimidos, as concentrações plasmáticas e teciduais foram extraídas do estudo de Araújo e colaboradores (2011). A imunodepressão foi induzida utilizando Ciclofosfamida: 150 mg/kg i.p 5 dias antes e 100 mg/kg 1 dia antes do experimento. A infecção foi induzida no dia do experimento, através da administração de 0,1 mL de um inóculo contendo  $10^6$  UFC por mL de *Escherichia coli* ATCC25922, no músculo esquelético de ratos Wistar. A infecção causada nestes animais não se propagou para outros tecidos, caracterizando uma infecção local no tecido muscular. Os valores de concentração são resultados de 3 diferentes protocolos de administração de piperacilina i.v bolus em doses únicas de 60 mg/kg, 120 mg/kg e 240 mg/kg.

### **4.2 Softwares**

#### **4.2.1 Graph Grabber (Quintessa Limited)**

O software Graph Grabber versão 2.0.2 permite que se extraia pontos de dados de imagens gráficas, foi utilizado para extração de dados da literatura. Estes dados foram exportados para uma planilha excel e posteriormente importados no PK-SIM.

#### **4.2.2 RStudio (R)**

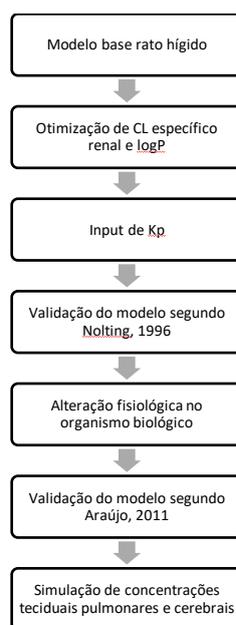
O software RStudio versão 1.2.1335 é um software para análise de dados, foi utilizado na construção das imagens gráficas por ser intercambiável com o software de M&S descrito no item 3.2.3. Também foi utilizado como ferramenta de cálculo para as análises de validação do modelo.

### 4.2.3 PK-SIM (Open Systems Pharmacology)

Para construção do modelo foi utilizado o software PK-SIM versão 8.0. Esta ferramenta é gratuita e foi desenvolvida para a construção de modelos PBPK. Pode ser utilizada para M&S de diferentes espécies como roedores, coelhos, cães e humanos, porém encontram-se algumas limitações quanto a espécies não-humanas. Caracteriza o organismo biológico em 18 diferentes compartimentos levando em consideração volume, peso e pH dos órgãos, bem como fluxo sanguíneo de entrada e saída dos mesmo para as diferentes espécies.

### 4.3 Modelo base

O fluxograma do processo para a construção do modelo está descrito na Figura 7.



**Figura 7:** Fluxograma da construção do modelo PBPK para piperacilina

### 4.4 Organismo biológico

Para a construção do modelo foram utilizados os parâmetros de ratos, sendo este o indivíduo de estudo. Os parâmetros anatômicos e fisiológicos, como peso, volume, pH, fluxo sanguíneo de entrada e saída dos órgãos foram utilizados do *default* do software de modelagem e simulação, PK-SIM.

Valor da taxa de filtração glomerular de um rato hígido foi dada como entrada no modelo segundo o trabalho de Davies et al (1993) no valor de 1,31 mL/min.

O software utilizado não apresenta valores de expressão gênica para a espécie requerida. Portanto, estes dados foram retirados da base de dados de humanos para a enzima CYP3A4, o transportador de efluxo glicoproteína-P (Pg-P) e para os transportadores de influxo OAT1 e OAT3.

#### 4.5 Propriedades físico-químicas e biológicas da piperacilina

As propriedades físico-químicas e biológicas da piperacilina foram adicionadas no modelo conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1:** Propriedades físico-químicas utilizadas para a Piperacilina

<b>Peso molecular (g/mol)</b>	517.56 <sup>1</sup>
<b>LogP</b>	0.67 <sup>1</sup>
<b>Solubilidade (mg/mL)</b>	0.119 <sup>1</sup>
<b>pK<sub>a</sub> (ácido)</b>	3.49 <sup>1</sup>
<b>Fração Livre (fu)</b>	0.58 <sup>2</sup>
<b>CL plasma (mL/min)</b>	11.7 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Valores retirados da base química DrugBank

<sup>2</sup>. Valores descritos por Nolting, 1996

Os parâmetros LogP e CL específico (valor calculado pelo software através do CL plasmático) foram otimizados para um melhor ajuste das concentrações.

Os valores de Km e V<sub>max</sub> dos transportadores OAT 1 e 3 determinados *in vitro* para a PIP estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2:** Valores de Km e V<sub>max</sub> para piperacilina em células hOAT1 e hOAT3-HEK293

	<b>Km (uM)</b>	<b>V<sub>max</sub> (nmol/mg proteína/min)</b>
<b>OAT 1</b>	37±5	0,173±0,011
<b>OAT 3</b>	172±28	0,336±0,022

(Wen e colaboradores, 2018)

#### 4.6 Cálculo do coeficiente de partição plasma:tecido muscular (Kp)

Um dado muito importante na construção de modelos PBPK são os coeficientes de partição plasma:tecido. Equações mecánísticas podem representar esse processo. A equação descrita para zwitterions do grupo 2 foi utilizada para estimação deste parâmetro (RODGERS; ROWLAND, 2006) (eq. 4). Os componentes teciduais para o músculo estão descritos na Tabela 3.

$$Kp = \left[ \frac{(1 + 10^{pka\ base - pH_{IW}} + 10^{pH_{IW} - pka\ \acute{a}cido}) \cdot f_{IW}}{1 + 10^{pka\ base - pH_p} + 10^{pH_p - pka\ \acute{a}cido}} + Ka_{PR} + [PR]_T + f_{EW} + \left( \frac{P \cdot f_{NL} + 0,3P + 0,7}{1 + 10^{pka\ base - pH_p} + 10^{pH_p - pka\ \acute{a}cido}} \right) \cdot f_{NP} \right] \quad (\text{Eq. 4})$$

#### 4.7 Avaliação do modelo

A validação do modelo foi feita através da comparação dos perfis de concentração plasmática e musculares da simulação com os dados observados, para todas as doses avaliadas. A partir dessa comparação foi possível gerar um gráfico das concentrações previstas e observadas.

Para que fosse possível uma avaliação quantitativa do modelo, foi utilizado o cálculo de *average fold error* (AFE) descrito pela equação 2. Foram aceitos valores dentro do limite de aceitação de 0,5 – 2,0 (Li *et al*, 2019).

$$AFE = 10^{\frac{1}{n} \sum \log \frac{C_{prev}}{C_{obs}}} \quad (\text{Eq. 5})$$

Na qual n é o número total de observações, C<sub>prev</sub> é as concentrações simuladas e C<sub>obs</sub> é a concentração observada nos dados bibliográficos.

Também se avaliou os parâmetros farmacocinéticos como, clearance plasmático, volume de distribuição, tempo de meia vida e área sob a curva, estimados pelo modelo em comparação aos observados por Nolting (1996) para as duas doses avaliada.

#### 4.8 Avaliação da influência da infecção na penetração tecidual de piperacilina

Uma das hipóteses levantadas por Araújo et al. (2011) para explicar a redução da penetração tecidual da piperacilina no músculo esquelético de ratos infectados, foi associada a mudanças de pH neste local. Assim, com base no modelo PBPK desenvolvido, avaliou-se a influência da penetração de piperacilina na alteração do pH muscular nos valores de 7,0, 6,5, 6,0, e 5,0. Tal influência foi avaliada pelos valores de  $K_p$  e AFE quando comparados aos perfis de concentrações musculares livres para as 3 doses contempladas pelo estudo.

#### 4.9 Simulação de cenários em outros tecidos

Após a validação do modelo de infecção provocada por *E. coli* no tecido muscular foram realizadas simulações com base nos parâmetros determinados para prever as concentrações teciduais livres no pulmão e no cérebro. A mesma alteração fisiológica validada foi aplicada para estes dois tecidos e os perfis de concentração tecidual livre por tempo foram simulados para as doses de 60 mg/kg, 120 mg/kg e 240 mg/kg através de uma única administração i.v bolus.

Os valores de  $k_p$  para o tecido pulmonar e cerebral também foram calculados através dos parâmetros descritos na Tabela 3 pela Equação 4.

Foram avaliados parâmetros farmacocinéticos para verificar se o protocolo de tratamento, atualmente aplicado na prática clínica, é capaz de erradicar infecções bacterianas pertinentes nos tecidos pulmonares e cerebrais mesmo com as alterações de penetração tecidual causadas por estas infecções.

**Tabela 3:** Componentes teciduais pulmonares e cerebrais aplicados no cálculo de  $K_p$  definidos por R&R

	Músculo	Pulmão	Cérebro
pkA (ácido) <sup>1</sup>	7 a 5	6.6 a 5	7.1 a 5
pkA (base) <sup>1</sup>	3.49	3.49	3.49
pH água intracelular (pH IW) <sup>2</sup>	-4.3	-4.3	-4.3
pH plasma (pH P) <sup>3</sup>	7.4	7.4	7.4
Água intracelular ( $f_{IW}$ ) <sup>3</sup>	0.61	0.24	0.59
Água extracelular ( $f_{EW}$ ) <sup>3</sup>	0.12	0.34	0.16
Lipídeos neutros ( $f_{NL}$ ) <sup>3</sup>	0.01	0.02	0.04
Fosfolipídeos neutros ( $f_{NP}$ ) <sup>3</sup>	0.0072	0.01	0.0015

<b>Constante de associação (<math>K_{aPR}</math>)<sup>3</sup></b>	0.72	0.72	0.72
<b>Razão proteínas (tecido/plasma)</b> <b>(<math>[PR]_T</math>)<sup>3</sup></b>	0.06	0.21	0.05
<b>Coeficiente de partição O/A (P)<sup>3</sup></b>	0.16	0.16	0.16

---

<sup>1</sup> Valores de pKa retirados da base química DrugBank

<sup>2</sup> Faixa de pH na água intracelular a ser testada

<sup>3</sup> Valores de composição tecidual retiradas do PK-SIM; f indica fração

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Modelo base

Os resultados obtidos com o modelo desenvolvido para ratos hígidos foram satisfatórios. Os parâmetros otimizados pelo software para LogP foram de 1,35 e 2,38 para o CL específico. Pode-se observar através da Tabela 4 que os parâmetros farmacocinéticos dos perfis simulados foram muito semelhantes aos perfis observados por Nolting e colaboradores (1996) para as duas doses avaliadas.

**Tabela 4:** Parâmetros farmacocinéticos observados por Nolting et. al (1996) e os estimados pelo modelo.

Parâmetros	Nolting, 1996		PK-Sim	
	60 mg/kg	120 mg/kg	60 mg/kg	120 mg/kg
<b>t<sub>1/2</sub> (min)</b>	33 ±6	36 ±8	27,7	27,7
<b>CL (mL/min/kg)</b>	11,7 ±8.3	15,3 ±9,4	16,57	16,57
<b>Vdss (L/kg)</b>	0,33 ±0,20	0,52 ±0,41	0,50	0,50
<b>ASC<sub>0-inf</sub> (ug*min/mL)</b>	4662 ±1899	9921 ±4138	3621,18	7242,36
<b>MRT (min)</b>	32 ±8	36 ±8	29,9	29,9

Pelos dados do perfil simulado vemos que o modelo proposto descreve uma cinética linear para a PIP, visto que os valores dos parâmetros PK são iguais e que o valor de ASC aumenta proporcionalmente ao aumento da dose. A farmacocinética linear de PIP foi descrita por um modelo de dois compartimentos no estudo de Roberts e colaboradores (2009) para descrever dados plasmáticos.

Para avaliação da penetração tecidual baseado nos dados de Nolting e colaboradores (1996) é possível realizar abordagem conhecida como fator de penetração tecidual (fT), que pode ser calculada de acordo com a equação 1. Essa abordagem leva em consideração a exposição tecidual livre *versus* a exposição plasmática livre. O fT obtido para o estudo de Nolting é 1,0. Em contrapartida, o método abordado neste trabalho é o coeficiente de penetração tecidual (Kp) que foi estimado pelo software para o músculo no valor de 0,40. Esses valores são incomparáveis devido a complexidade das equações. O método utilizado para estimação do Kp leva em consideração interações eletrostáticas e a composição do tecido enquanto que o fT é uma abordagem

empírica. Se aplicarmos a equação 1 nos perfis simulados obtemos um valor de  $fT$  de 0,99, o que contribui para a avaliação e validação do modelo.

$$fT = \frac{ASC_{tecido\ livre}}{ASC_{plasma\ livre}}$$

(Eq. 6)

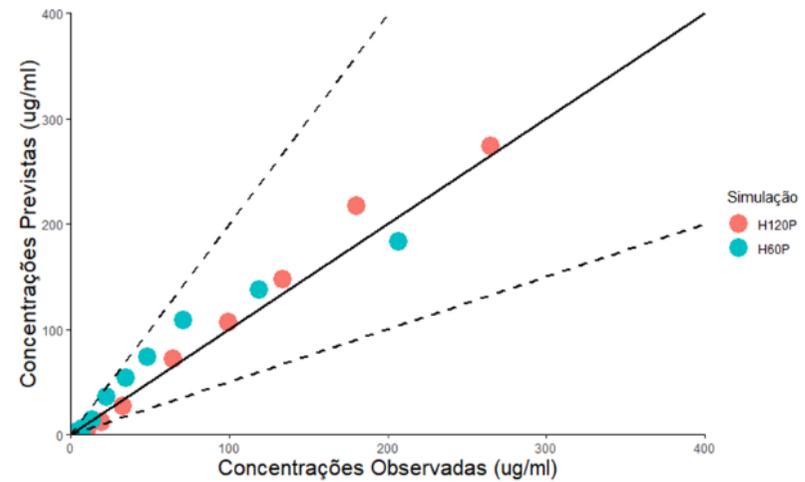
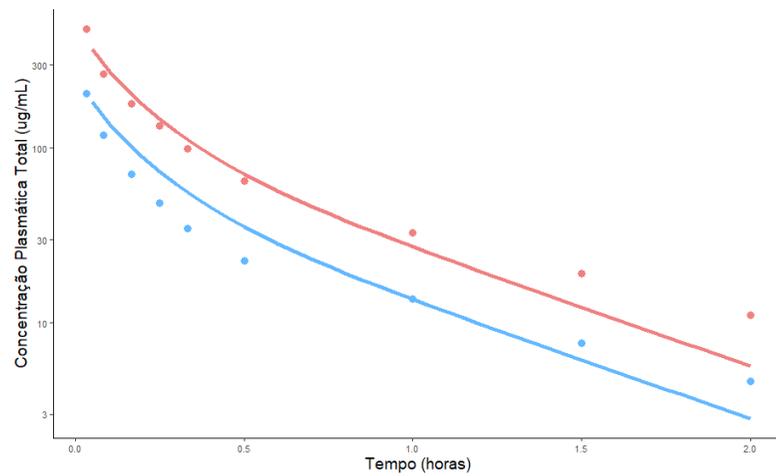
No qual  $fT$  é o fator de penetração tecidual,  $ASC_{tecido\ livre}$  é a área sob a curva do perfil de concentração muscular livre por tempo e  $ASC_{plasma\ livre}$  é a área sob a curva do perfil de concentração plasmática livre por tempo.

Avaliando os perfis de concentração prevista *versus* observadas (figuras 7 e 8) e do cálculo da AFE (Tabela 5) podemos ver que todas as simulações (plasmáticas e musculares) estão dentro do limite estipulado 0,5 – 2,0.

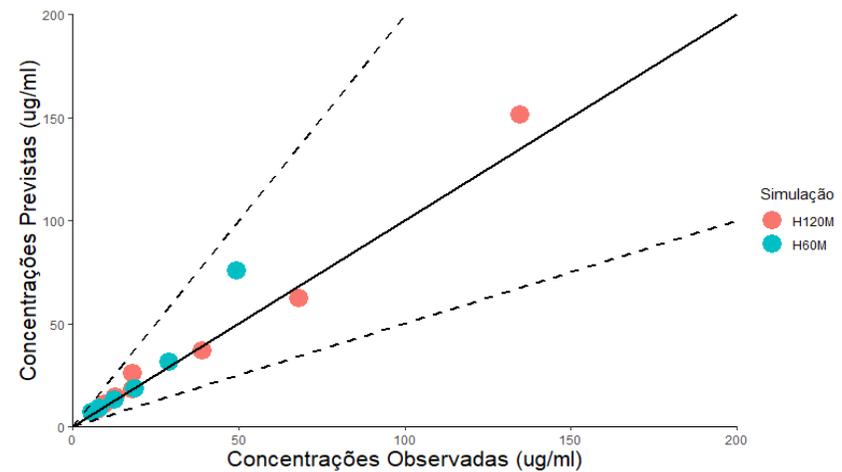
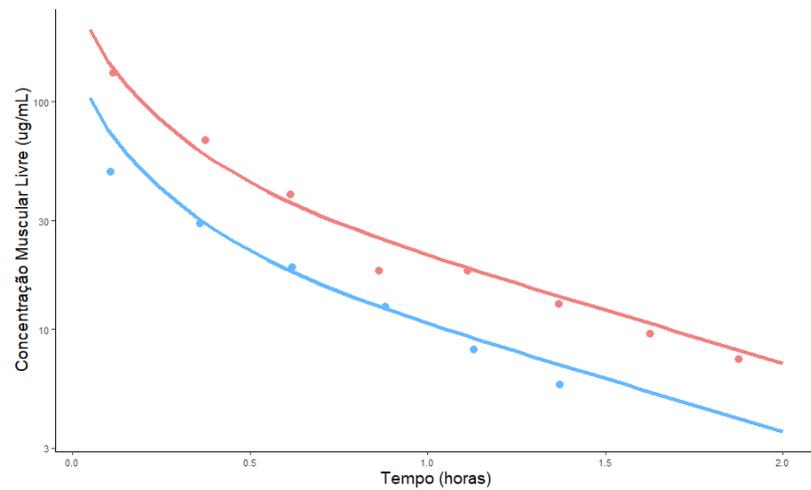
**Tabela 5:** Resultados dos testes estatísticos *Avarege Fold Error* (aceitação 0,5 - 2,0).

<b>Simulação</b>	<b>AFE</b>
Hígidos Plasma 60mg/kg	1,12
Hígidos Plasma 120mg/kg	0,89
Hígidos Músculo 60mg/kg	1,14
Hígidos Músculo 120mg/kg	1,07

Em posse de todos esses resultados das análises, podemos observar que os mesmos corroboram para eficácia do modelo e utilização do mesmo para dar continuidade na investigação de outros cenários. Dessa forma, foi possível translacioná-lo para ratos imunodeprimidos e infectados com *E. coli* e avaliar os resultados obtidos através dessa abordagem.



**Figura 8:** Concentrações plasmáticas totais previstas versus observadas para as duas doses avaliadas (rosa 120 mg/kg e azul 60 mg/kg).



**Figura 7:** Concentrações musculares livre previstas versus observadas para as duas doses avaliadas (rosa 120 mg/kg e azul 60 mg/kg).

## 5.2 Modelo Ratos Imunodeprimidos Infectados com E. coli

Os resultados do modelo desenvolvido para ratos infectados serão apresentados a seguir. Pode-se observar através da tabela 3 que os parâmetros farmacocinéticos dos perfis simulados foram muito semelhantes aos perfis observados por Araújo e colaboradores (2011) para as três doses avaliadas.

Embora, agora, estejam sendo avaliadas três doses ainda assim a estimação dos parâmetros se dá de maneira linear, o que corrobora com o estudo de Hayashi e colaboradores (2010), no qual sugere que em doses únicas a PIP segue farmacocinética linear mesmo que em altas doses. Se comparados com os dados dos animais hígidos pode-se notar uma redução de 50% nos valores de CL. Por se tratar de uma infecção local no músculo esquelético não se esperava alteração nos parâmetros PK. Devido ao pequeno número de animais e ao alto desvio padrão dos parâmetros do estudo de Araújo e colaboradores (2011) não houve diferença estatística quando comparados aos de Nolting e colaboradores (1996) (Tabela 6), entretanto se olharmos para os valores das médias consegue-se notar essa redução.

**Tabela 6:** Parâmetros farmacocinéticos observados por Araújo et. al (2011) e os estimados pelo modelo.

Parâmetros	Araújo, 2011		
	60 mg/kg	120 mg/kg	240 mg/kg
$t_{1/2}$ (min)	27 ±17	26 ±13	33 ±5
CL (mL/min/kg)	4,8 ±0,83	5,66 ±1,67	7,1 ±1,17
Vdss (L/kg)	0,17 ±0,09	0,19 ±0,08	0,28 ±0,03
ASC <sub>0-inf</sub> (ug*min/mL)	12840 ±2220	21552 ±6024	33960 ±4824
Parâmetros	PKSIM		
	60 mg/kg	120 mg/kg	240 mg/kg
$t_{1/2}$ (min)	39,43	39,43	39,43
CL (mL/min/kg)	8,33	8,33	8,33
Vdss (L/kg)	0,41	0,41	0,41
ASC <sub>0-inf</sub> (ug*min/mL)	7202,11	14404,14	28808,28

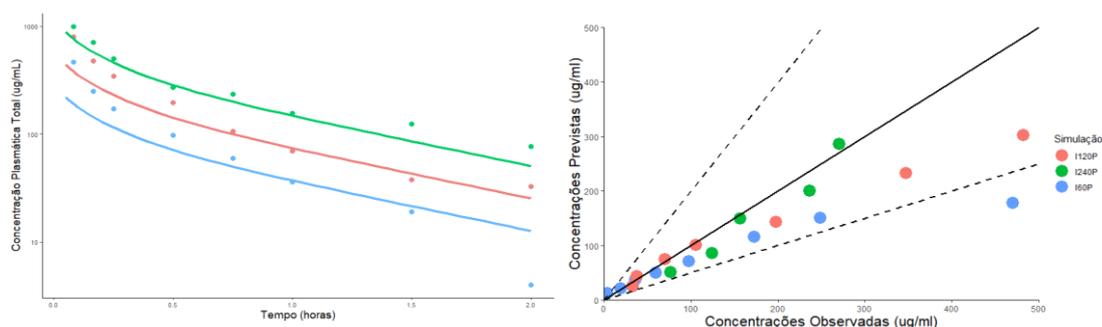
Tal redução sugere uma interação farmacocinética entre a PIP e a Ciclofosfamida, imunossupressor administrado nos animais infectados. Este imunossupressor interage com o transportador OAT1. Os OAT estão localizados na membrana da célula e movimentam as moléculas da corrente sanguínea para

o tecido. Estes transportadores estão majoritariamente no rim e interações fármaco-fármaco mediadas por eles podem trazer efeitos colaterais devido as alterações de clearance em moléculas com eliminação renal (EL-SHEIKH et al., 2013). Assim como no estudo de Wen e colaboradores (2018), onde se demonstrou que o CL do TAZ é reduzido pela presença de PIP devido a maior afinidade da PIP pelos OAT 1 e 3. Logo, os achados corroboram para que haja uma inibição competitiva de OAT1 devido à presença concomitante de PIP e Ciclofosfamida, em que o imunossupressor possui maior afinidade pelo transportador.

Portanto, após estimação correta dos valores de CL podemos validar o modelo através da AFE. Na tabela 4 pode-se observar que os valores de AFE estão dentro dos limites especificados. Na figura 3 pode-se observar as concentrações previstas versus as concentrações observadas.

**Tabela 7:** Resultados dos testes estatísticos Avarege Fold Error (aceitação 0,5 - 2,0).

Simulação	AFE
Infectados plasma 60mg/kg	0.88
Infectados plasma 120mg/kg	0.76
Infectados plasma 240mg/kg	0.86



**Figura 10:** Concentrações plasmáticas totais previstas versus observadas por Araújo et al (2011) para as três doses avaliadas (verde 240 mg/kg, rosa 120 mg/kg e azul 60 mg/kg).

Validado o modelo para plasma foi possível avaliar a influência do pH na determinação do  $K_p$  para que pudéssemos validar o modelo para o músculo.

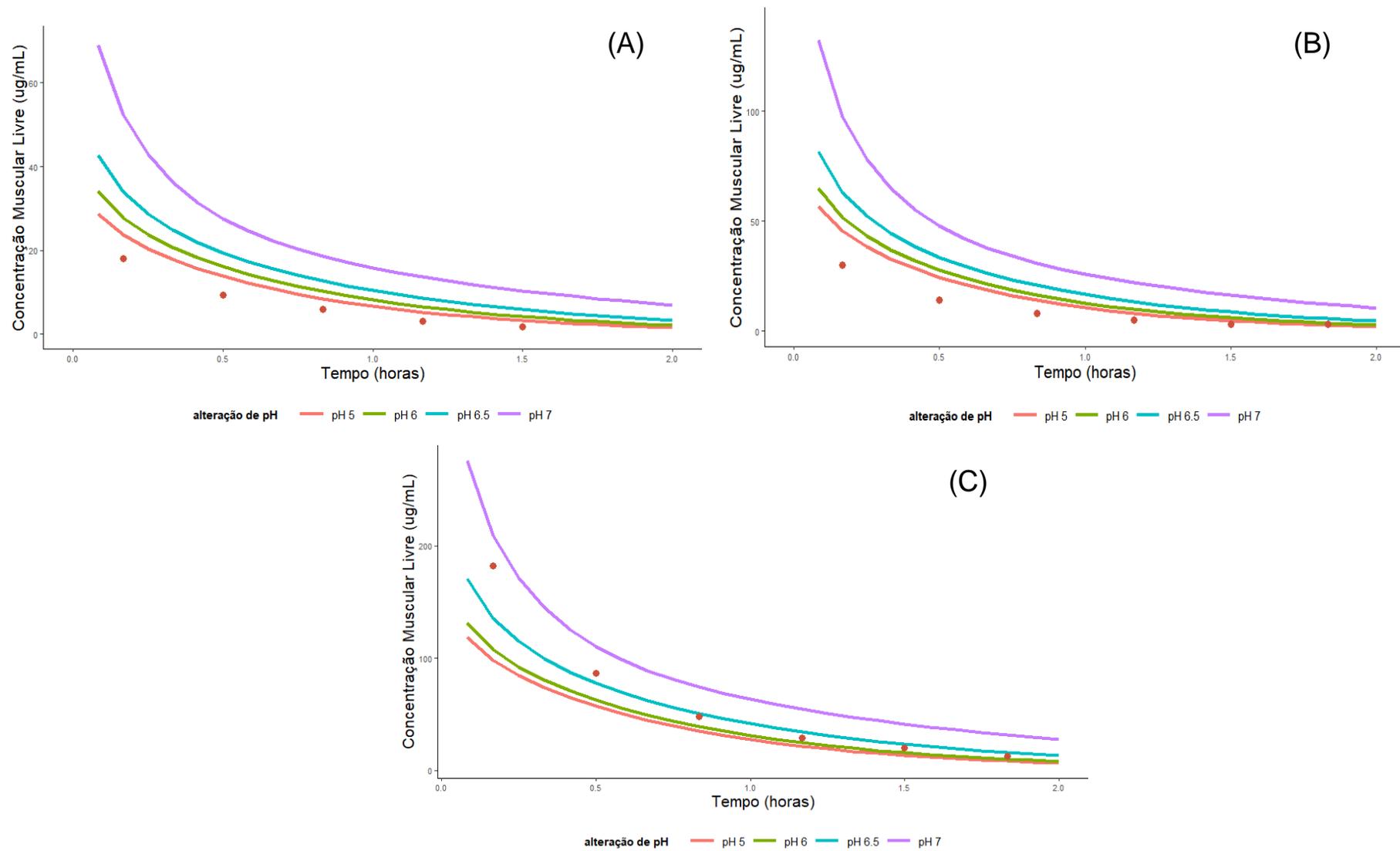
### 5.3 Avaliação da influência do pH muscular no Kp

Os valores de pH muscular foram variados na faixa de 7 a 5 para as três doses. Os valores da simulação foram comparados com as concentrações musculares livres descritas por Araújo e colaboradores (2011). Esses dados podem ser vistos através da tabela 5, na qual conforme o pH muscular fica mais ácido os valores de Kp diminuem. Valores de pH inferiores a 5 não tiveram mudanças significativas nos valores de Kp. Para cada dose e pH foi avaliado o AFE, valores fora do limite de especificação não são aceitos.

Embora os valores de AFE para o pH 6,0 tenham se mantido dentro do limite de especificação é possível observar pelos perfis de concentração por tempo para as doses de 60 e 120 mg/kg (Figura 9), que quando o tecido apresenta pH de 5 os valores de concentração livre simulados estão mais próximos das concentrações observadas. Entretanto esse cenário não se reproduziu para a dose de 240 mg/kg (Figura 9).

**Tabela 8:** Valores de *Average Fold Error* conforme redução do Kp (aceitação 0,5 – 2,0).

Dose (mg/kg)	pH muscular	Kp	AFE
60	7,0	0,4	3,64
	6,5	0,24	2,35
	6,0	0,18	1,84
	5,0	0,16	0,91
120	7,0	0,4	3,87
	6,5	0,24	2,32
	6,0	0,18	1,74
	5,0	0,16	1,44
240	7,0	0,4	1,67
	6,5	0,24	1,03
	6,0	0,18	0,76
	5,0	0,16	0,66



**Figura 9:** Perfil de concentração muscular livre de PIP por tempo nos diferentes pH teciduais para as doses de 60 (A), 120 (B) e 240 mg/kg (C) (círculos vermelhos dados de Araújo et al. (2011))

Se olharmos os dados observados vemos um aumento desproporcional nas concentrações musculares livres para essa dose, o que sugere uma não linearidade. Entretanto não se observa não linearidade entre as doses de 60 e 120 mg/kg e nem nas concentrações plasmáticas para a dose mais elevada. Esse desvio pode ter se dado devido à alta variabilidade dos dados experimentais. Também é possível que haja outros processos que governem esse processo e que possam interferir nessa distribuição. Considerando esse cenário e os valores de AFE que permaneceram dentro do limite estipulado para todos os pH, continuou-se com o pH de 5 como o pH ótimo.

Os resultados apresentados até o momento corroboram com a hipótese de Araújo e colabores (2011) de que o processo infeccioso causado pela *E. coli* no músculo esquelético altera o pH tecidual e isto reduz a penetração tecidual de PIP. Tal redução de pH corrobora, ainda, com a relação entre a estrutura da molécula e o pH ácido. A PIP é instável em baixos pH. Isso porque possui um anel  $\beta$ -lactâmico e outro anel de cinco membro que levam à angulação e tensão torcional. Em condições ácidas, em função da não coplanaridade entre estes anéis, torna-se impossível a estabilização da carbonila da amida terciária no anel  $\beta$ -lactâmico. Isso faz com que o grupo carbonila seja mais eletrofílico e, portanto, sendo mais facilmente atacado por um nucleófilo, o que causa a abertura da  $\beta$ -lactama levando à reatividade dele em pH ácido (Júnior, 2015).

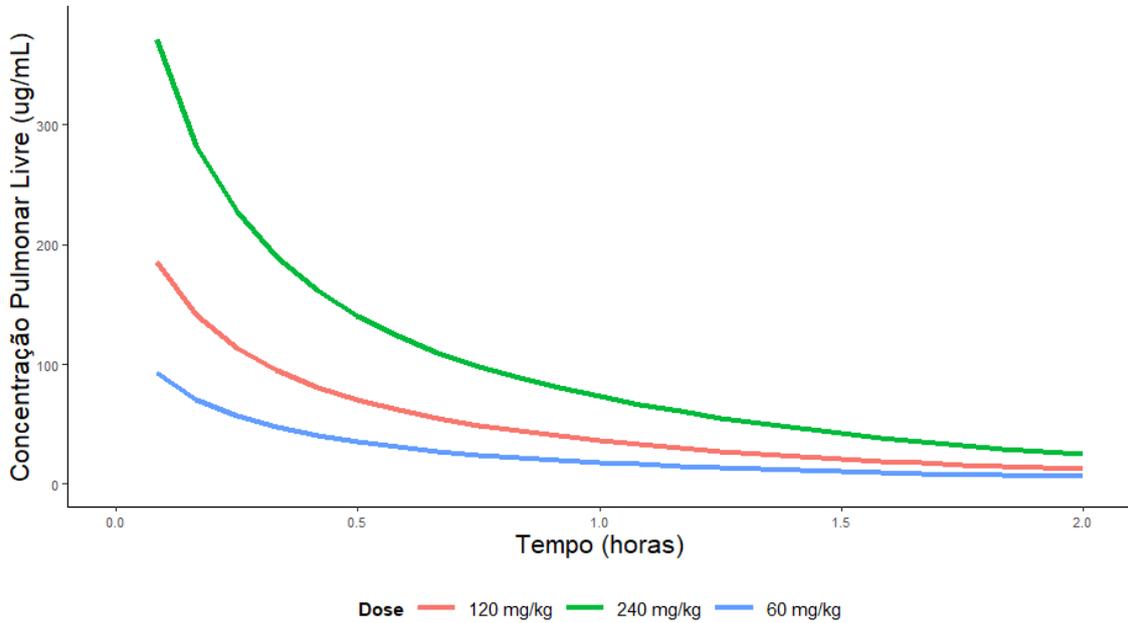
#### 5.4 Simulações

Conforme validação do modelo para infecção local por *E. coli* foi possível simular as concentrações atingidas de PIP para as três doses avaliadas no pulmão e no cérebro. Conforme a tabela 9 podemos analisar a redução dos valores de Kp no pH tecidual normal e no pH ótimo definido pelo modelo (pH 5).

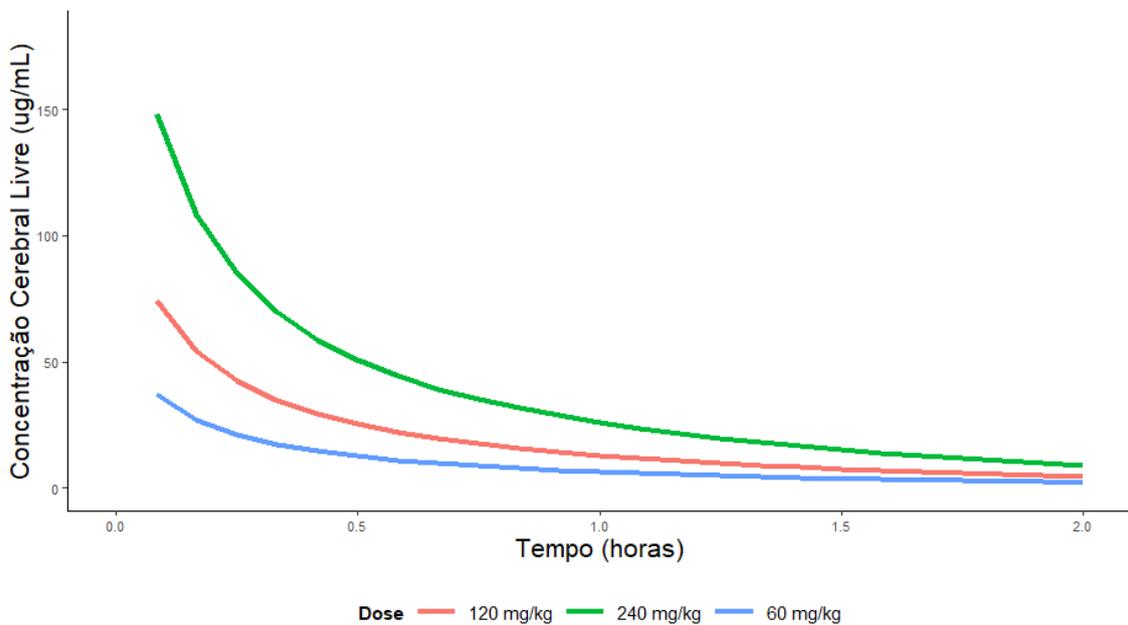
**Tabela 9:** Alteração dos valores de Kp de acordo com a variação do pH tecidual no músculo, pulmão e cérebro.

<b>Tecido</b>	<b>pH</b>	<b>Kp</b>
<b>Músculo</b>	7,0	0,40
	5,0	0,16
<b>Pulmão</b>	6,6	0,54
	5,0	0,49
<b>Cérebro</b>	7,1	0,49
	5,0	0,20

Pode-se observar que o pH tecidual do pulmão não possui tanta influência nos valores de  $K_p$  quando comparados com o músculo e o cérebro. Os perfis de concentração livre tecidual por tempo para pulmão e cérebro estão representados nas Figuras 14 e 15.



**Figura 14:** Perfil de concentração pulmonar livre de PIP por tempo para doses de 60, 120 e 240 mg/kg



**Figura 15:** Perfil de concentração cerebral livre de PIP por tempo para doses de 60, 120 e 240 mg/kg

As concentrações máximas livres ( $C_{m\acute{a}x}$ ) obtidas no pulmão para as doses de 60, 120 e 240 mg/kg foram de 93, 183 e 372  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, e para o cérebro foram de 37, 74 e 148  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

A PIP possui um índice PK/PD que relaciona o efeito como dependendo do tempo ou concentração-independente, sendo assim sua eficácia é descrita de acordo com o tempo que as concentrações livres permanecem acima da CIM. As CIMs mais prevalentes para *E. coli* de acordo com o EUCAST estão na faixa de 2 - 256  $\mu\text{g/mL}$ . De acordo com os resultados obtidos podemos observar que ambas as doses geraram concentrações que seriam capazes de erradicar as infecções causadas por *E. coli* quando a CIM é de 2  $\mu\text{g/mL}$ , nos dois tecidos avaliados. Porém, quando avaliamos infecções causadas por *E. coli* que apresentam uma CIM de 256  $\mu\text{g/mL}$ , vemos que apenas a dose de 240 mg/kg alcançaria concentrações efetivas para erradicar a infecção e, somente, no tecido pulmonar. No tecido cerebral as concentrações alcançadas são insuficientes para apresentar o efeito.

Os resultados deste trabalho representam uma avaliação simples referente à penetração tecidual no pulmão e no cérebro e não levam em consideração processos adjacentes que possam estar ocorrendo nestes tecidos.

Entretanto, essa redução da penetração tecidual foi validada em animais que receberam ciclofosfamida. Esse imunossupressor é comumente utilizado em experimentos pré-clínicos a fim de facilitar o processo de infecção. Conforme observado no modelo há uma redução de CL de PIP em animais que receberam Ciclofosfamida + PIP. Devido a isso decidiu-se projetar a infecção para animais infectados não imunossuprimidos com doses múltiplas para músculo, pulmão e cérebro para avaliar se a penetração tecidual seria diferente.

Há relatos na literatura de infecções como meningite bacteriana e pneumonia causadas por *E. coli* (AL-OBAIDI; DESA, 2018 e PHILLIPS-HOULBRACQ et al. 2018). Esta bactéria também é um dos principais patógenos presentes em infecções generalizadas como sepse e choque séptico, juntamente com *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) e *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) (SUKARNJANASET; JARURATANASIRIKUL; WATTANAVIJITKUL, 2019). As CIMs mais prevalentes para estas bactérias são

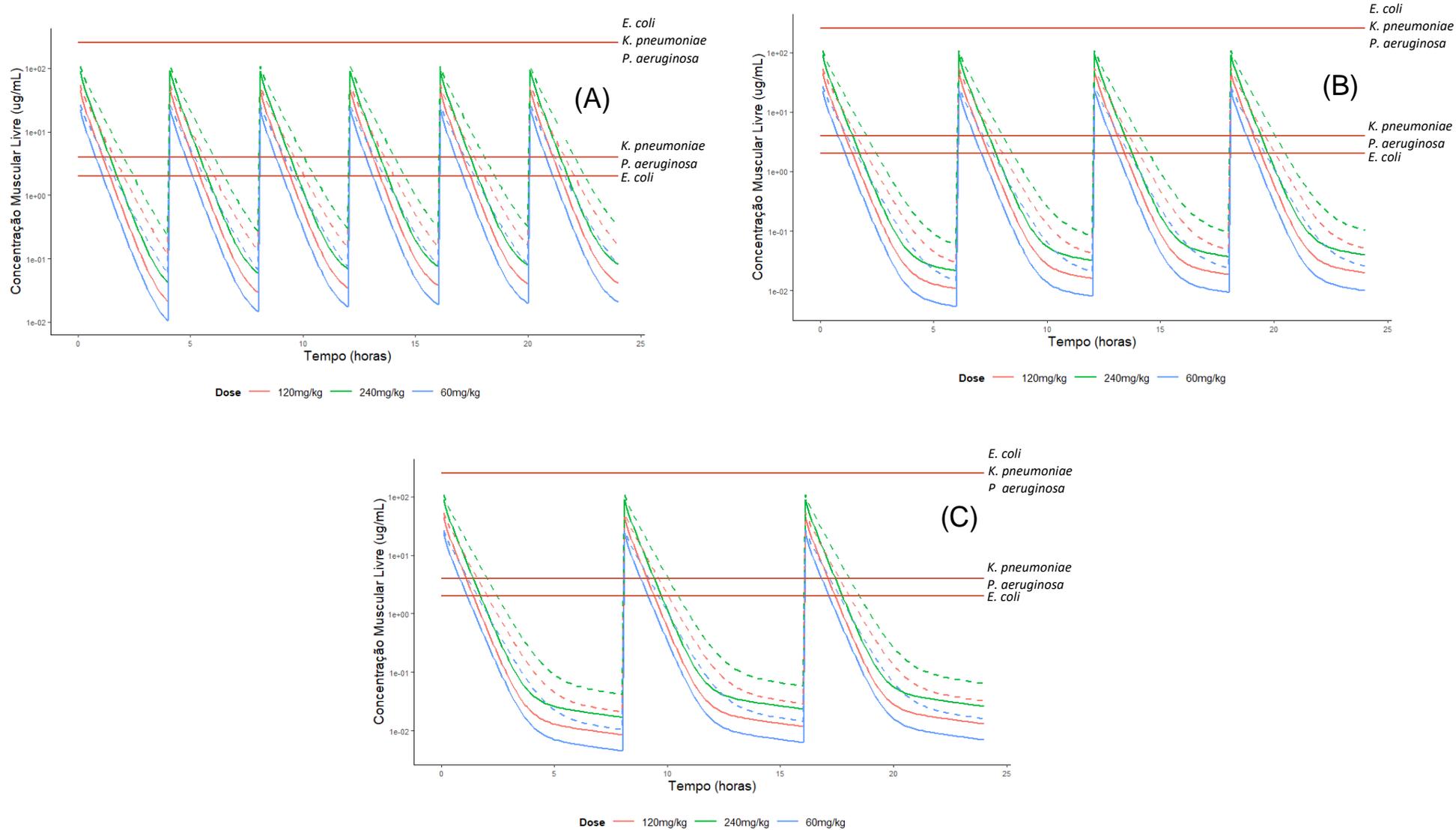
na faixa de 4 µg/mL - 256 µg/mL, valores que comparados aos níveis teciduais alcançados pelo antibiótico, frente aos três principais patógenos da sepse.

Podemos observar pelas Figuras 10, 11 e 12 que em animais imunossuprimidos as concentrações teciduais livres são maiores que nos animais que não são. Esses resultados demonstram que a penetração tecidual de PIP seria ainda menor se não houvesse a administração concomitante de PIP e Ciclofosfamida.

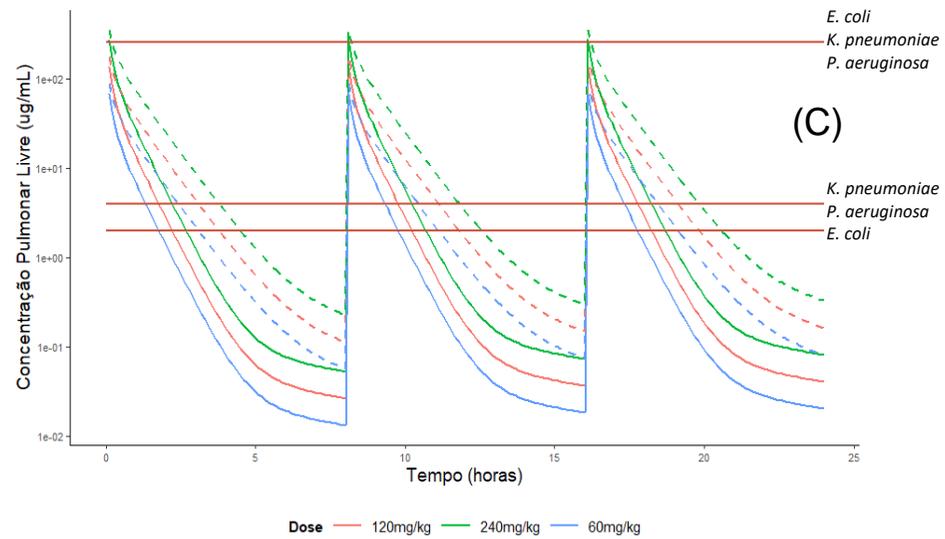
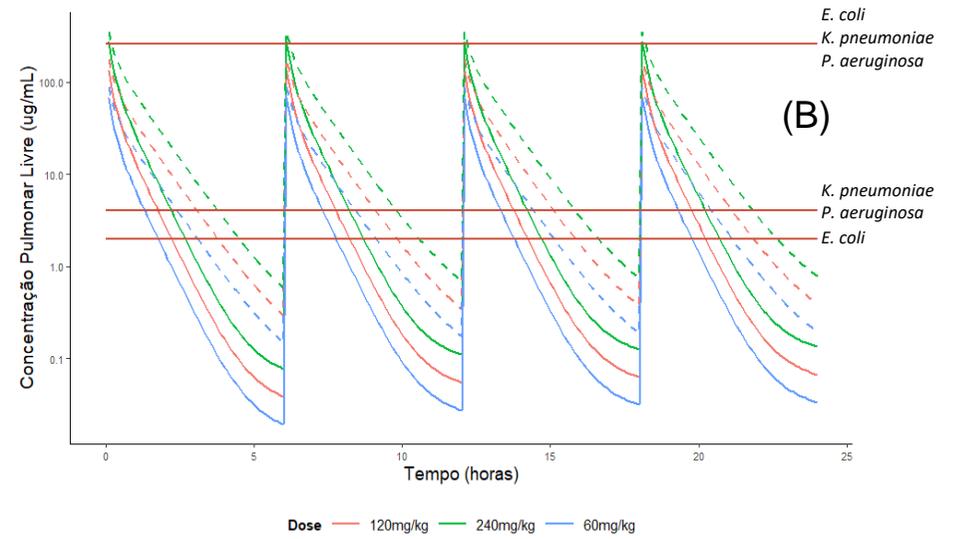
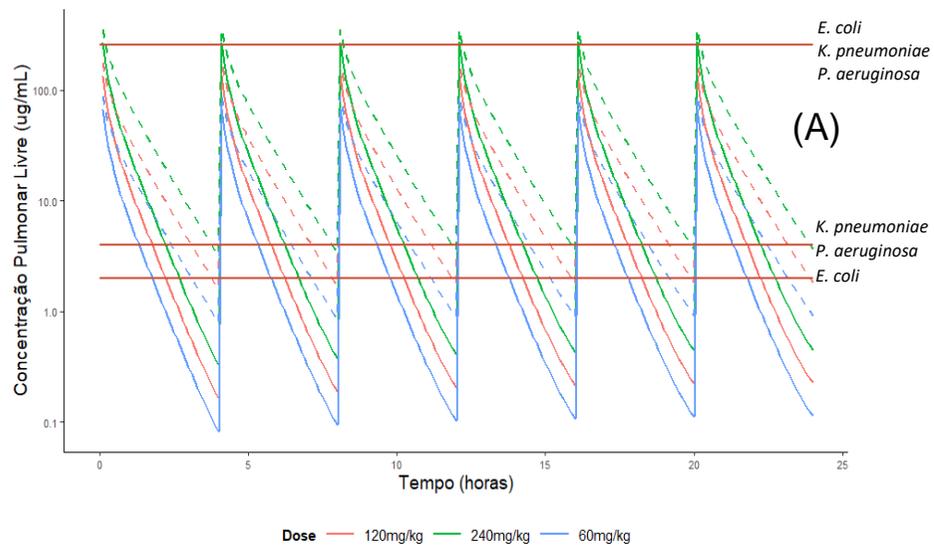
Ainda, mostra que as concentrações simuladas no músculo para ambas as infecções (só infecção e infecção + imunossupressão) e CIMs (prevalente baixa: 2 µg/mL para *E. coli* e 4 µg/mL para *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, e prevalente alta: 256 µg/mL para os 3 patógenos) em todos os regimes de dosagem testados as concentrações não permanecem 100% do tempo acima da CIM das bactérias.

As concentrações simuladas no pulmão para os animais com infecção + imunossupressão e com CIMs baixas (2 µg/mL para *E. coli* e 4 µg/mL para *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*) nas doses de 120 e 240 mg/kg apresentam-se permanecendo acima da CIM das bactérias conforme o tempo, porém apenas no regime de q4h, mas o mesmo não é observado nos animais que possuem apenas a infecção. Quando o regime de dosagem é aumentado as concentrações das 3 doses não permanecem mais 100% do tempo acima da CIM tanto para as CIMs baixas como para a CIM alta.

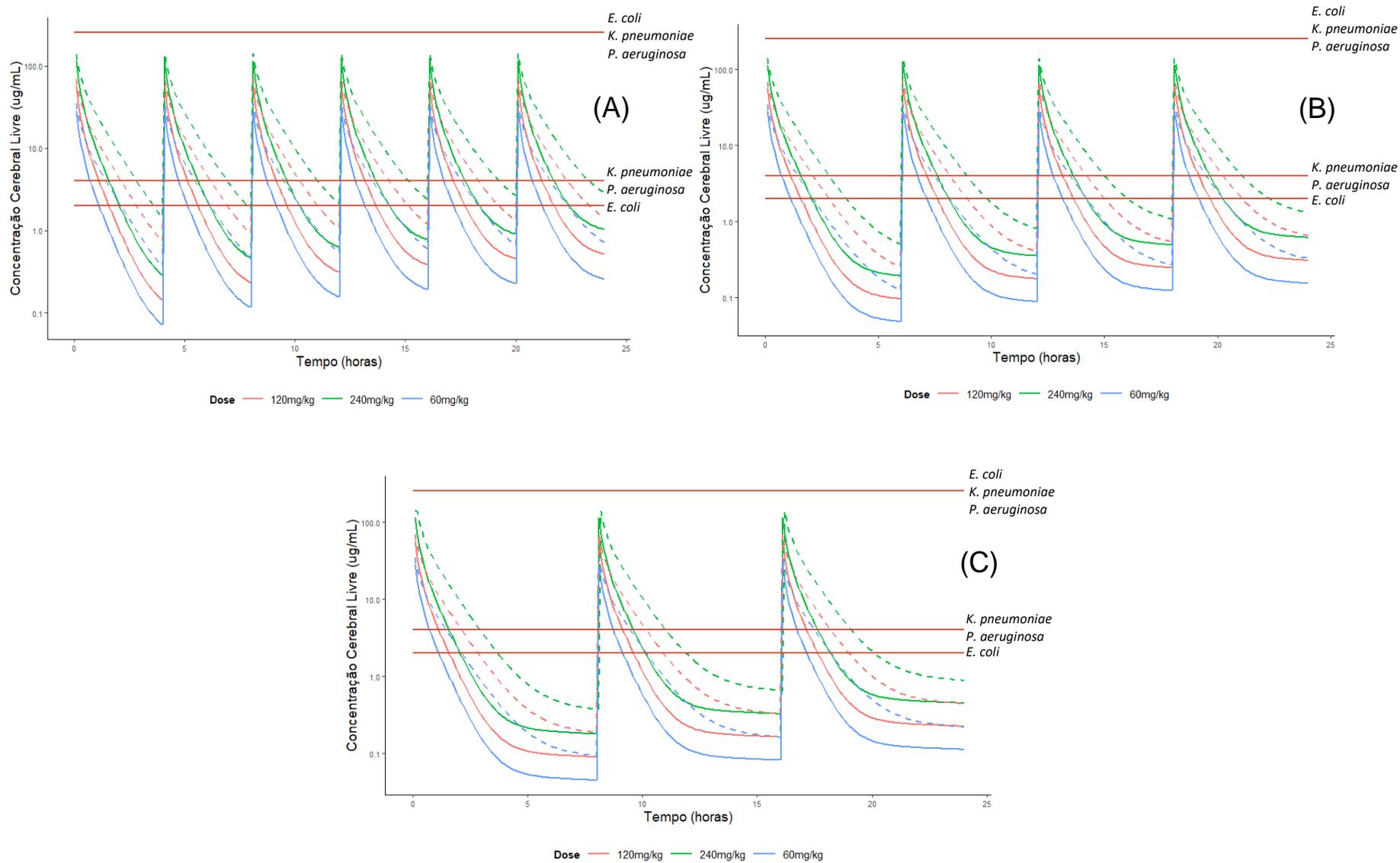
Já nas concentrações simuladas no cérebro (Figura 12, painéis a,b e c), podemos observar que apenas a dose de 240 mg/kg quando administrada em um regime de q4h, produz concentrações acima da CIM de 2 µg/mL para *E. coli* com o decorrer do tempo nos animais infectados e imunossuprimidos. No entanto, para o restante das simulações observa-se um comportamento semelhante ao obtido no músculo, onde em todos os regimes de dosagem testados, as concentrações não permanecem 100% do tempo acima da CIM das bactérias. O que corrobora com os estudos de que a penetração tecidual é modificada pelas infecções causa um insucesso na terapia.



**Figura 10:** Simulações das concentrações livre de PIP no músculo de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde)



**Figura 11:** Simulações das concentrações livre de PIP no pulmão de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde)



**Figura 12:** Simulações das concentrações livre de PIP no cérebro de animais infectados (linha contínua) e animais infectados e imunossuprimidos (linhas pontilhadas) em q4h (A), q6h (B) e q8h (C) para as doses de 60 (azul), 120 (rosa) e 240 mg/kg (verde)

Uma infecção mal tratada pode levar à resistência bacteriana, uma vez que a produção de  $\beta$ -lactamase é uma das principais causas de resistência à penicilinas. Assim se o tratamento for ineficaz a bactéria continuará produzindo a enzima, o que levará a resistência (ALLOCATI et al., 2013). Ao se tratar de infecções severas, os prejuízos na inefetividade do tratamento podem ser maiores. Este estado inflamatório está associado a uma infinidade de alterações nos processos fisiológicos e bioquímicos, como aumento da permeabilidade endotelial, alterações na macro e microcirculação devido aos efeitos pró-coagulantes das citocinas, assim como mudanças na biossíntese de proteínas. Todos esses processos podem causar a disfunção de múltiplos órgãos (RADKE et al., 2017).

Sendo assim, muito ainda se discute sobre protocolos de administração de PIP em populações infectadas. O presente estudo ressalta os prejuízos do insucesso da terapia e também corrobora para que o desenvolvimento de modelos que contribuam para assertividade no tratamento seja mais explorado.

## 6. CONCLUSÕES

- O modelo desenvolvido para ratos hígidos demonstrou-se satisfatório em todos os parâmetros avaliados;
- O modelo para animais imunossuprimidos e infectados com *E. coli* foi satisfatório para as concentrações plasmáticas totais nas três doses avaliadas e para as concentrações musculares livres para as doses de 60 e 120 mg/kg;
- O clearance de PIP é reduzido na presença de Ciclofosfamida;
- As concentrações teciduais livres são aumentadas em animais infectados e imunossuprimidos quando comparados a animais infectados devido a presença de ciclofosfamida;
- Os regimes de dose avaliados para a PIP não seriam capazes de erradicar uma infecção que afeta múltiplos órgãos.

## 7. PERSPECTIVAS

- Compreender melhor o processo de distribuição de PIP em doses elevadas;
- Translacionar o modelo desenvolvido para humanos saudáveis e com sepse;
- Simular protocolos de administração a fim de garantir o sucesso no tratamento de pacientes infectados.

## 8. REFERÊNCIAS

ABBIATI, R. A. et al. An engineering oriented approach to physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling. In: Quantitative Systems Pharmacology Models and Model-Based Systems with Applications. V.42. Amsterdam: **SMTEBOOKS**, 2018

AL-OBAIDI, M. M. J.; DESA, M. N. M. Mechanisms of Blood Brain Barrier Disruption by Different Types of Bacteria, and Bacterial–Host Interactions Facilitate the Bacterial Pathogen Invading the Brain. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 38, n. 7, p. 1349–1368, 2018.

ALLOCATI, N. et al. Escherichia coli in Europe: An overview; **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, p. 6235-6254; 2013.

ALVES, I. A., STAUDT, K., J., SILVA, C., de M., LOCK, G. de A., DALLA COSTA, T., & ARAÚJO, B. V. de,. Influence of experimental criptococcal meningitis in Wistar rats on voriconazole brain penetration assessed by microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.61(7), p.e00321-17, 2017.

ANDERSEN, M. G. et al. Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Sepsis Patients: Should Alternative Dosing Strategies Be Considered? **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 5, 5 mar. 2018.

BISCHOFF, K. B. et al. Methotrexate Pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 8, p. 1128–1133, ago. 1971.

CAO, Y.; JUSKO, W. J. Applications of minimal physiologically-based pharmacokinetic models. **J Pharmacokinetic Pharmacodyn**, v. 39, n. 6, p. 711–723, 2012.

DANHOF, M. et al. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling in translational drug research; **Trends in Pharmacological Sciences**, v.29; p. 186-191; abr. 2008.

DE ARAUJO, B. V. et al. PK-PD modeling of  $\beta$ -lactam antibiotics: In vitro or in vivo models? **Journal of Antibiotics**, v. 64, n. 6, p. 439–446, 2011.

EDGINTON, A. N.; WILLMANN, S. Physiology-based simulations of a pathological condition: Prediction of pharmacokinetics in patients with liver cirrhosis. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 47, n. 11, p. 743–752, 2008.

EL-SHEIKH, A. A. K. et al. Interaction of immunosuppressive drugs with human organic anion transporter (OAT) 1 and OAT3, and multidrug resistance-associated protein (MRP) 2 and MRP4. **Translational Research**, v. 162, n. 6, p. 398–409, dez. 2013.

FAN, J.; DE LANNOY, I. A. M. Pharmacokinetics; **Biochemical Pharmacology**, v.87; p. 93-120; 2014.

FISHER, J. W. et al. Predicting the pharmacokinetics of piperacillin and tazobactam in preterm and term neonates using physiologically based pharmacokinetic modeling. **Computational Toxicology**, v. 12, n. August, p. 100104, 2019.

FORTNER, C. L.; FINLEY, R. S.; SCHIMPF, S. C. Piperacillin Sodium: Antibacterial Spectrum, Pharmacokinetics, Clinical Efficacy, and Adverse Reactions. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 2, n. 6, p. 287–298, 12 nov. 1982.

GALLO-NETO, M. Modelagem Farmacocinética e Análises de Sistema Lineares para a Predição de Concentração de Medicamentos no Corpo Humano. **Dissertação de Mestrado**; Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2012.

GERRIETS., D. W. Y. V. Penicillins. **Drug Allergy Testing**. Elsevier Inc. p. 103–113, 2018.

GHIBELLINI, G. et al. In vitro and in vivo determination of piperacillin metabolism in humans. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 35, n. 3, p. 345–349, mar. 2007.

GOBBURU, J. V. S. Pharmacometrics 2020; **Journal of Clinical Pharmacology**, v.50; p.151-157, set. 2010.

HAGGARD, H. **The absorption, distribution, and elimination of ethyl ether. li. Analysis of the mechanism of absorption and elimination of such a gas**

**or vapor as ethyl ether.**Journal of Biological Chemistry; v. LXI, n.3, 1924.

HAYASHI, Y. et al. Pharmacokinetic evaluation of piperacillin-tazobactam; **Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology**; v.6; p. 1017-1031, 2010.

HOLMES, B. et al. Piperacillin: A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. **Drugs**, v. 28, n. 5, p. 375–425, 1984.

JAMEI, M. et al. Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption; **AAPS Journal**; v.11; p.225-237; 2009

JERMAIN, B. et al. Development of a Minimal Physiologically-Based Pharmacokinetic Model to Simulate Lung Exposure in Humans Following Oral Administration of Ivermectin for COVID-19 Drug Repurposing **Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Drug Transport and Metabolism**; 2020.

JONES, H. M.; ROWLAND-YEO, K. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. **CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology**, v. 2, n. 8, p. 1–12, 2013.

JOUKHADAR, C. et al. Impaired target site penetration of  $\beta$ -lactams may account for therapeutic failure in patients with septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 29, n. 2, p. 385–391, fev. 2001.

KHOT, A. et al. Development of a Translational Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Antibody-Drug Conjugates: a Case Study with T-DM1. **The AAPS Journal**, v. 19, n. 6, p. 1715–1734, 14 nov. 2017.

KUEPFER, L. et al. Applied Concepts in PBPK Modeling: How to Build a PBPK/PD Model. **CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology**, v. 5, n. 10, p. 516–531, 2016.

JÚNIOR<sup>^</sup>, Laurivê Antônio dos Santos; Degradação de antibióticos de uso veterinário em reator de carbonização hidrotermal. **Dissertação de Mestrado**; Universidade Federal de Goiás, 2015.

LEAHY, D. Progress in Simulation Modelling for Pharmacokinetics. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 11, p. 1257–1268, 25 mar. 2005.

LI, X. et al. A Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Voriconazole Integrating Time-Dependent Inhibition of CYP3A4, Genetic Polymorphisms of CYP2C19 and Predictions of Drug–Drug Interactions. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 59, n. 6, p. 781–808, 1 jun. 2020.

MOULD, D. R.; UPTON, R. N. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. **CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology**, v. 1, n. 1, p. 1–14, 2012.

MUNIR, A. et al. Evaluation of the whole body physiologically based pharmacokinetic (WB-PBPK) modeling of drugs. **Journal of Theoretical Biology**, v. 451, p. 1–9, 14 ago. 2018.

NESTOROV, I. Whole-body physiologically based pharmacokinetic models. **Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology**, v. 3, n. 2, p. 235–249, 2007.

NOLTING, A. et al. Determination of free extracellular concentrations of piperacillin by microdialysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 4, p. 369–372, 1996.

PAALZOW, L. K. Torsten Teorell, the Father of Pharmacokinetics. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 100, n. 1, p. 41–46, 1995.

PETERS, Sheila A. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations: Principles, Methods, and Applications in the Pharmaceutical Industry. Hoboken, New Jersey: **John Wiley & Sons**, 2012

PHILLIPS-HOULBRACQ, M. et al. Pathophysiology of Escherichia coli pneumonia: Respective contribution of pathogenicity islands to virulence. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, n. 2, p. 290–296, 1 mar. 2018.

PILARI, S.; HUISINGA, W. Lumping of physiologically-based pharmacokinetic models and a mechanistic derivation of classical compartmental models. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**, v. 37, n. 4, p. 365–405, ago. 2010.

RADKE, C. et al. Development of a Physiologically Based Pharmacokinetic

Modelling Approach to Predict the Pharmacokinetics of Vancomycin in Critically Ill Septic Patients. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 56, n. 7, p. 759–779, 2017.

ROBERTS, J. A. et al. Piperacillin penetration into tissue of critically ill patients with sepsis—Bolus versus continuous administration? **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 3, p. 926–933, mar. 2009.

RODGERS, T.; ROWLAND, M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: Predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 6, p. 1238–1257, 2006.

SAGER, J. E. et al. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation approaches: A systematic review of published models, applications, and model verification. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 43, n. 11, p. 1823–1837, 2015.

SUKARNJANASET, W.; JARURATANASIRIKUL, S.; WATTANAVIJITKUL, T. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin in critically ill patients during the early phase of sepsis. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**, v. 46, n. 3, p. 251–261, 2019.

TORRES, B. G. S., HELFER, V. H., BERNARDES, P. M., MACEDO, A. J., NIELSEN, E. I., FRIEBERG, L. E. & DALLA COSTA, T. Population pharmacokinetic modeling as a tool to characterize the decrease in ciprofloxacin free interstitial levels caused by *Pseudomonas aeruginosa* biofilm lung infection in wistar rats. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.61(7), e02553-16, 2017.

UPTON, R. N.; FOSTER, D. J. R.; ABUHELWA, A. Y. An introduction to physiologically-based pharmacokinetic models; **Paediatric Anaesthesia** ; v.26; p.1036-1046; 2016.

WEN, S. et al. OAT1 and OAT3 also mediate the drug-drug interaction between piperacillin and tazobactam. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 537, n. 1–2, p. 172–182, 2018a.

WEN, S. et al. OAT1 and OAT3 also mediate the drug-drug interaction between piperacillin and tazobactam. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 537,

n. 1–2, p. 172–182, 15 fev. 2018b.

ZHUANG, X.; LU, C. PBPK modeling and simulation in drug research and development. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 6, n. 5, p. 430–440, 2016.