



**Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas
Laboratório de Imunopatologia**



MIKAELLA CÂNDIDO COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO FARMACOCINÉTICO BASEADO
EM FISIOLOGIA (PBPK) APLICADO À DOENÇA DE CHAGAS EM
MODELO CÃO**

**Ouro Preto
2026**

MIKAELLA CÂNDIDO COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO FARMACOCINÉTICO BASEADO
EM FISIOLOGIA (PBPK) APLICADO À DOENÇA DE CHAGAS EM
MODELO CÃO**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas, no Departamento de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Ouro Preto, como pré-requisito para obtenção do grau de bacharela em Ciências Biológicas.

Ênfase em Biotecnologia e Saúde

Orientadora: Dr^a. Lorena Cera Bandeira

Co-orientadora: Dr^a. Cláudia Martins
Carneiro

Ouro Preto
2026

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C837d Costa, Mikaella Cândido.

Desenvolvimento de modelo farmacocinético baseado em fisiologia (PBPK) aplicado a Doença de Chagas em modelo cão. [manuscrito] / Mikaella Cândido Costa. - 2026.

89 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Lorena Cera Bandeira.

Coorientadora: Profa. Dra. Cláudia Martins Carneiro.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas .

1. Doença de Chagas. 2. Farmacologia. 3. Farmacocinética. I. Bandeira, Lorena Cera. II. Carneiro, Cláudia Martins. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616.937

Bibliotecário(a) Responsável: Renata Mara de Almeida - CRB-6: 2507



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Mikaella Cândido Costa

Desenvolvimento de um modelo farmacocinético baseado em fisiologia (PBPK) aplicado a doença de Chagas em modelo cão

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em 31 de Julho de 2026

Membros da banca

Dr^a - Lorena Cera Bandeira - Orientadora (DEQUI-UFOP)
Mst. - Luciana da Fonseca Medeiros (Universidade Federal de Ouro Preto)
Mst. Lorrana Mendes Rocha - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr^a - Lorena Cera Bandeira, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 06/08/2026



Documento assinado eletronicamente por **Lorena Cera Bandeira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 06/08/2026, às 17:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1154523** e o código CRC **16240334**.

Dedico este trabalho à garota que eu fui,
que encontrou a coragem necessária para
que hoje pudéssemos chegar aonde
estamos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter guiado meu caminho até aqui.

Aos meus pais, Elmice e Gerson, por terem sido meu porto seguro desde os meus primeiros passos e por terem corrido no sol para que eu pudesse caminhar pela sombra. Por terem acreditado em mim e nunca terem permitido que eu desistisse. Vocês sempre me aplaudiram tão alto que eu nunca soube quem não aplaudiu. Eu amo vocês!

À minha tia Evans, pelos conselhos sábios ao longo desses anos e por sempre estar ao meu lado.

À Cláudia Carneiro, por ter acreditado na Mikaella da entrevista, ainda no segundo período, e ter dado uma chance a ela. Sua força e versatilidade me inspiram. À Lorena, pelo apoio incondicional, acadêmico e pessoal, pelo companheirismo e pelo otimismo, até nos piores dias. Vocês me fizeram apaixonar pela ciência e me ensinaram muito além dela, obrigada por cada ensinamento, incentivo e confiança.

Agradeço ao Laboratório de Imunopatologia por ter sido palco de grandes ensinamentos, pelos dias de convivência, colaboração e aprendizado, e por todos os colegas de caminhada que contribuíram para esse processo. Em especial, agradeço à Amanda, Camila, Helena, Karoline, Luciana e Rafael, por toda a colaboração, amizade e pelos momentos compartilhados ao longo dessa trajetória.

À Camille, por ter me ensinado o verdadeiro significado de irmandade ao longo de todos esses anos. Ao Luiz Gustavo, pela parceria inabalável. E aos amigos que fiz em Ouro Preto, que tornaram toda essa caminhada mais leve e me deram suporte para que eu não caísse. Obrigada a todos; vocês sabem quem são.

Agradeço à Universidade Federal de Ouro Preto por ter sido o cenário de uma das experiências mais enriquecedoras que já vivi.

Agradeço às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta caminhada e contribuíram para que este sonho se tornasse realidade.

RESUMO

Desenvolvimento de um modelo farmacocinético baseado em fisiologia (PBPK) aplicado à doença de Chagas em modelo cão

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, tendo o benznidazol (BNZ) como único fármaco disponível para seu tratamento no Brasil, porém com limitada eficácia terapêutica, sobretudo na fase crônica. A variabilidade terapêutica observada nas diferentes fases da doença pode estar relacionada às propriedades farmacocinéticas desfavoráveis do composto, como baixa biodisponibilidade e biodistribuição. A modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK) integra dados fisiológicos, bioquímicos e físico-químicos do fármaco para simular concentrações plasmáticas e teciduais ao longo do tempo, permitindo prever sua biodistribuição em diferentes organismos e regimes de dose. O presente estudo teve como objetivo geral desenvolver um modelo farmacocinético embasado em fisiologia (PBPK) para o benznidazol e avaliar sua aplicabilidade para a doença de Chagas no modelo cão, e com objetivos específicos: I) coletar dados físico-químicos do benznidazol; II) desenvolver um procedimento operacional padronizado para coleta, organização e inserção de dados físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol no software PK-Sim visando à construção de modelos PBPK; III) desenvolver e calibrar o modelo PBPK do benznidazol utilizando ferramentas computacionais especializadas, validando-o com dados experimentais de farmacocinética de animais infectados pelo *Trypanosoma cruzi* obtidos pelo nosso grupo de pesquisa. Para alcançar esses objetivos, foram identificadas divergências entre os valores de lipofilicidade e fração não ligada às proteínas plasmáticas do benznidazol, justificando a realização de cinco simulações para o refinamento do modelo. As simulações finais apresentaram excelente concordância para o tempo para atingir a concentração máxima ($T_{máx}$) e a meia-vida de eliminação ($T_{1/2}$), enquanto a área sob a curva (AUC) e a concentração máxima ($C_{máx}$) permaneceram com discrepâncias em relação aos valores observados. A comparação entre cães saudáveis e infectados mostrou perfil farmacocinético semelhante na fase aguda e maior exposição sistêmica ao benznidazol na fase crônica, associada à redução do *clearance* e do volume aparente de distribuição. Os resultados demonstram a modelagem PBPK como ferramenta com potencial para otimização da terapia da doença de Chagas, embora o modelo ainda necessite de refinamentos.

Palavras-chave: Farmacométrie, Farmacocinética, Modelagem e Simulação, PBPK, Doença de Chagas, Benznidazol.

ABSTRACT

Development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model applied to Chagas disease in the dog model.

Chagas disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, benznidazole (BNZ) is the only drug available for its treatment in Brazil. However, the benznidazole exhibits limited therapeutic efficacy, particularly during the chronic phase. The therapeutic variability observed across the different stages of the disease may be linked to the compound's unfavorable pharmacokinetic properties, such as low bioavailability and biodistribution. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling integrates physiological, biochemical, and physicochemical drug data to simulate plasma and tissue concentrations over time, enabling the prediction of biodistribution across different organisms and dosing regimens. The general objective of this study was to develop a PBPK model for benznidazole and evaluate its applicability to Chagas disease using a canine model. Specific objectives included: I) collect physicochemical data on benznidazole; II) develop a standard operating procedure for the collection, organization, and input of benznidazole's physicochemical and pharmacokinetic data into PK-Sim software to construct PBPK models; III) develop and calibrate the benznidazole PBPK model using specialized computational tools, validating it against experimental pharmacokinetic data from *Trypanosoma cruzi*-infected animals obtained by our research group. To achieve these objectives, discrepancies were identified regarding benznidazole's lipophilicity and unbound plasma protein fraction values, justifying the performance of five simulations to refine the model. The final simulations showed excellent agreement regarding the time to reach maximum concentration ($T_{\text{máx}}$) and the elimination half-life ($T_{1/2}$). In contrast the area under the curve (AUC) and maximum concentration ($C_{\text{máx}}$) still showed discrepancies compared to observed values. The comparison between healthy and infected dogs showed a similar pharmacokinetic profile during the acute phase and greater systemic exposure to benznidazole during the chronic phase, associated with reduced clearance and apparent volume of distribution. The results demonstrate the potential of PBPK modeling as a tool for optimizing Chagas disease therapy, although the model still requires refinement.

Keywords: Pharmacometrics, Pharmacokinetics, Modeling and Simulation, PBPK, Chagas disease, Benznidazole.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	4
Figura 2 - Fórmula química do benznidazol	5
Figura 3 - Efeitos colaterais do benznidazol	6
Figura 4 - Fluxograma de desenvolvimento do modelo PBPK para o benznidazol.....	16
Figura 5 – Interface do <i>software</i> PK-Sim® (versão 12.3), destacando: (A) <i>Building Blocks</i> .; (B) aba <i>Basic Physico-Chemistry</i> ; (C) aba <i>ADME</i> ; e (D) <i>Advanced Parameters</i>	23
Figura 6 - Simulação 1: Fêmeas não infectadas	27
Figura 7 - Simulação 1: Machos não infectados.....	28
Figura 8 - Simulação 1: Fase Aguda.....	30
Figura 9 - Simulação 1: Fase Crônica.....	31
Figura 10 - Simulação 2: Fêmeas não infectadas	33
Figura 11 - Simulação 2: Machos não infectados.....	34
Figura 12 - Simulação 2: Fase Aguda.....	35
Figura 13 - Simulação 2: Fase Crônica.....	36
Figura 14 - Simulação 3: Fêmeas não infectadas	38
Figura 15 - Simulação 3: Machos não infectados.....	39
Figura 16 - Simulação 3: Fase Aguda.....	40
Figura 17 - Simulação 3: Fase Crônica.....	41
Figura 18 - Simulação 4: Fêmeas não infectadas	43
Figura 19 - Simulação 4: Machos não infectados.....	44
Figura 20 - Simulação 4: Fase Aguda.....	46
Figura 21 - Simulação 4: Fase Crônica.....	47
Figura 22 - Simulação 5: Fêmeas não infectadas	49
Figura 23 - Simulação 5: Machos não infectados.....	50
Figura 24 - Simulação 5: Fase Aguda.....	51
Figura 25 - Simulação 5: Fase Crônica.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Interpretação AFE	18
Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos do BNZ	19
Tabela 3 - Parâmetros farmacocinéticos do BNZ (<i>in silico</i> e em cão)	20
Tabela 4 - Parâmetros simulação 1	26
Tabela 5 - Parâmetros simulação 2	32
Tabela 6 - Parâmetros simulação 3	37
Tabela 7 - Parâmetros simulação 4	42
Tabela 8 - Parâmetros simulação 5	48
Tabela 9 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 1	55
Tabela 10 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 2	57
Tabela 11 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 3	59
Tabela 12 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 4	61
Tabela 13 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 5	63

LISTA DE ABREVIACÃO

- ADME:** Absorção, Distribuição, Metabolização e Excreção.
- AfE:** *Average Fold Error* (erro médio de dobra)
- ANN:** Redes Neurais Artificiais
- AUC:** Área sob a curva concentração-tempo
- B.I.D:** Regime posológico de duas vezes ao dia (do alemão *Bis in die*)
- BNZ:** Benznidazol
- BSEP:** Bomba de efluxo de sais biliares (do inglês *Bile Salt Export Pump*)
- CAPES:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CEUA:** Comitê de Ética em experimentação animal
- CL:** *Clearance* (depuração).
- C_{máx}:** Concentração máxima.
- CNPq:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- CTS:** Simulação de Ensaio Clínico (do inglês *Clinical Trial Simulation*).
- CYP:** Citocromo P450
- DDI:** Interação medicamentosa (do inglês *Drug-Drug Interaction*)
- DTNs:** Doenças Tropicais Negligenciadas
- FAPEMIG:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.
- FDA:** *Food and Drug Administration* (agência regulatória)
- FDT:** Teoria do Fármaco Livre (do inglês *Free Drug Theory*)
- fup:** Fração não ligada ao plasma (fração livre)
- GST:** Glutathione S-transferase
- HPLC:** Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)
- IL-6:** Interleucina-6
- K_m:** Constante de Michaelis-Menten
- LogP:** Lipofilicidade (do inglês *Lipophilicity*)
- LogP_{ow}:** Coeficiente de partição
- MIDD:** Desenvolvimento de medicamentos baseados em modelos (do inglês *Model-Informed Drug Development*)
- MRP2:** Proteína associada à resistência a múltiplos fármacos 2
- NF:** Nifurtimox
- OAT3:** Transportador de ânions orgânicos 3

OCT1: Transportador de cátions orgânicos 1

OPS: Organização Pan Americana de Saúde.

OSP: *Open Systems Pharmacology*

PBPK: Modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (do inglês *Physiologically Based Pharmacokinetic*).

P-gp: Glicoproteína P

PK/PD: Farmacocinética/Farmacodinâmica

POP: Procedimento Operacional Padrão

popPK: Modelagem farmacocinética populacional

QSAR: Relações Quantitativas Estrutura-Atividade

QSPR: Relações Quantitativas Estrutura-Propriedades

T. cruzi: *Trypanosoma cruzi*

$t_{1/2}$: Meia-vida de eliminação

$T_{máx}$: Tempo para atingir a concentração máxima.

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto.

UTDs: Unidades de tipagem discreta

Vd: Volume de distribuição

$V_{máx}$: Velocidade máxima (em contextos enzimáticos)

VO: Via oral

WHO: *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Doença de Chagas.....	3
2.2 Benznidazol	5
2.3 Farmacocinética do benznidazol.....	6
2.4 Farmacomетria.....	7
2.5 Modelagem Farmacocinética baseada em Fisiologia	8
2.6 Modelo cão na doença de Chagas.....	10
3. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	12
4. OBJETIVOS	13
4.1 Geral:.....	13
4.2 Específicos:	13
5. MATERIAIS E MÉTODOS	14
5.1- Softwares	14
5.1.1- R Studio ®	14
5.1.2- PK-Sim® (Open Systems Pharmacology).....	14
5.3- Desenvolvimento de um procedimento operacional para inserção de dados no PK-Sim®	14
5.4- Desenvolvimento do modelo PBPK	15
5.5- Modelo Biológico e estudo pré-clínico	17
5.6- Validação de modelo PBPK.....	17
5.7- Estatística.....	17
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6.1- Coleta de dados e procedimento operacional.....	19
6.2- Inserção dos parâmetros no PK-Sim®.....	22
6.3- Calibração do modelo PBPK.....	25
6.4- Análises farmacocinéticas e estatísticas.....	54
7. CONCLUSÃO	67
8. REFERÊNCIAS	68

1. INTRODUÇÃO

A biotecnologia é uma prática milenar realizada pelos seres humanos, nas antigas civilizações como os Babilônios e Sumérios, para a produção de pão e vinho por exemplo. (VITOLLO, 2015; VITOLLO, 2024). Ao longo do tempo, essa prática evoluiu e deu origem a um campo multidisciplinar que utiliza sistemas biológicos para o desenvolvimento de bens e serviços de interesse comercial. Nesse contexto, o avanço das técnicas biotecnológicas possibilitou o desenvolvimento de fármacos cada vez mais complexos, ampliando o campo de atuação da farmacologia, ciência responsável por estudar a interação de compostos químicos com os organismos vivos (VITOLLO, 2015; AMER, BAIDOO 2021). Tem impulsionado a medicina de precisão, ao integrar biomarcadores, alvos moleculares, ferramentas computacionais e sistemas avançados de liberação de fármacos (FOUNTZILAS *et al.*, 2022) que possibilitam o desenvolvimento de terapias mais seletivas e individualizadas, aumentando a eficácia do tratamento e reduzindo a ocorrência de efeitos adversos (MARQUES *et al.*, 2024).

A farmacometria é uma ciência que integra dados de biologia, farmacologia, fisiologia, matemática e estatística para descrever, compreender e prever a exposição e a resposta aos fármacos. A incorporação de dados e biomarcadores amplia sua capacidade de caracterizar a variabilidade interindividual, contribuindo para o desenvolvimento da medicina de precisão (MARQUES *et al.*, 2024). Entre suas principais aplicações, destacam-se a modelagem e simulação farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD), que inclui a modelagem farmacocinética populacional (popPK) e modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK), que permite caracterizar a variabilidade da exposição de medicamentos, prever respostas terapêuticas e otimizar esquemas de dose, aumentando a eficácia e a segurança dos tratamentos (USMAN *et al.*, 2023).

A modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (PBPK) é uma abordagem mecanística que descreve a absorção, distribuição, metabolização e excreção dos fármacos a partir de parâmetros fisiológicos, anatômicos e bioquímicos dos órgãos e tecidos. Estes modelos permitem simular o comportamento do medicamento em diferentes condições fisiológicas e fisiopatológicas, possibilitando a predição da exposição aos fármacos em populações distintas. Dessa forma, modelos desenvolvidos para indivíduos saudáveis podem ser adaptados para representar estados de doença e extrapolados para diferentes cenários clínicos (USMAN *et al.*, 2023).

A aplicação da biotecnologia no desenvolvimento de medicamentos representa uma estratégia importante para enfrentar por exemplo desafios relacionados às doenças tropicais negligenciadas. As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um grupo de doenças infecciosas parasitárias, bacterianas e virais que ocorrem com frequência em regiões tropicais e subtropicais, e que afetam desproporcionalmente as comunidades rurais e mais pobres, causando sérios problemas de saúde, agravando as dificuldades sociais e econômicas (LIN *et al.*, 2022; SWE *et al.*, 2023).

Entre as doenças tropicais negligenciadas, destaca-se a doença de Chagas, que permanece um como um importante problema de saúde pública na América Latina. Causada pelo agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, no qual o benznidazol (BNZ) é o principal fármaco com atividade tripanocida utilizado no tratamento da doença, sendo considerado o fármaco de primeira escolha para o tratamento no Brasil (ROLIM, 2010). Entretanto, sua eficácia é limitada, especialmente na fase crônica da infecção, além de estar associada à ocorrência de efeitos adversos que frequentemente comprometem a adesão ao tratamento (CRUZ *et al.*, 2023; Silveira *et al.*, 2026). Embora medidas de controle tenham reduzido a transmissão da doença, os desafios relacionados à otimização da terapia persistem, evidenciando a necessidade de estratégias que permitam compreender o comportamento farmacocinético do benznidazol no organismo para aprimorar sua eficácia e segurança.

Neste cenário, as ferramentas computacionais ganham destaque na pesquisa biotecnológica como suportes essenciais para o desenvolvimento e a avaliação de fármacos. Destacam-se os modelos farmacocinéticos baseados em fisiologia (PBPK), que integram dados experimentais para prever a distribuição de fármacos no organismo. Dessa forma, construir um modelo PBPK aplicado à doença de Chagas, constitui uma estratégia promissora para avaliar a biodistribuição do benznidazol, visando otimização da terapia.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas é uma enfermidade endêmica na América Latina, sendo uma doença tropical negligenciada, de expressiva morbimortalidade (PÉREZ-MOLINA *et al.*, 2018; WHO, 2026). A doença de Chagas possui como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi*, pertencente a ordem Kinetoplastida, e da família Trypanosomatida (WHO, 2026 *apud* ALMEIDA *et al.*, 2026). Atualmente, em termos de diversidade genética do *T. cruzi* hoje são reconhecidas sete unidades de tipagem discreta (UTDs) que se diferenciam em: TcI-TcVI e Tcbat (ZINGALES, 2018). A susceptibilidade ou resistência natural aos fármacos, como o benznidazol (BNZ) ou nifurtimox (NF) constitui uma característica inerente às diferentes cepas do parasito, sendo observada nos três estágios evolutivos do parasito (amastigota, epimastigota e tripomastigota) (ZINGALES, 2018). Crescem as evidências que a diversidade genética do parasito influencia os resultados do diagnóstico e da resposta ao tratamento da doença, embora a magnitude e os mecanismos envolvidos nessa associação ainda necessitem de investigação mais aprofundada (DE SOUSA *et al.*, 2024).

Além dos desafios científicos relacionadas à compreensão da etiopatogenia, ao desenvolvimento de novos fármacos, métodos diagnósticos mais confiáveis e estratégias preventivas, aspectos socioculturais, políticos e econômicos frequentemente são negligenciados, dificultando o enfrentamento efetivo da doença. (MALAFAIA, 2009). Como consequência dessas limitações, a doença de Chagas permanece como um importante problema de saúde pública, afetando milhões de pessoas. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2026) estima que existem aproximadamente 6 a 7 milhões de pessoas infectadas no mundo, mais de 10 mil pessoas morrem a cada ano em consequência de complicações clínicas da doença e cerca de 75 milhões de pessoas na região correm o risco de contraí-la. No Brasil, a prevalência varia de 1,0 a 2,4% da população, o que equivale a 1,9 a 4,6 milhões de pessoas infectadas (DIAS *et al.*, 2015).

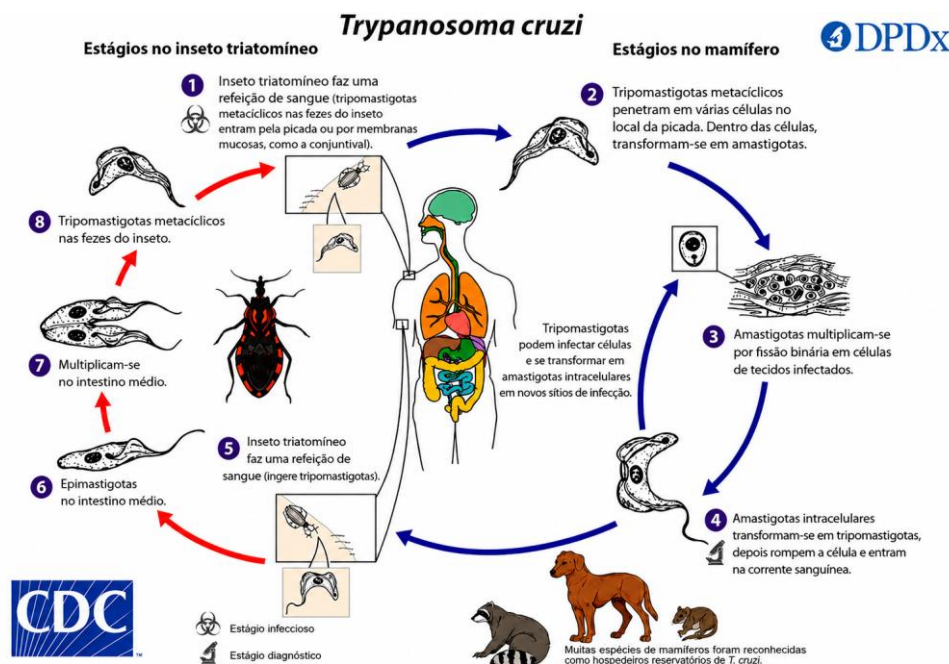
Desde a década de 1990, iniciativas pela Organização Pan Americana de Saúde (OPAS) contribuíram para redução significativa da transmissão vetorial da doença de Chagas por meio do controle de vetores como *Triatoma infestans* e *Rhodnius prolixus*. Contudo, a erradicação da doença de Chagas nas Américas não foi alcançada, o que exige vigilância contínua diante dos desafios como mudanças climáticas, adaptação dos vetores

ao ambiente e resistência a inseticidas (DE SOUSA *et al.*, 2024). Além disso, a doença de Chagas permanece negligenciada, frequentemente descrita como uma “doença silenciosa e silenciada”, devido ao longo período assintomático e à limitada atenção recebida de governos, instituições de pesquisa e da sociedade (DE SOUSA *et al.*, 2024).

A doença apresenta curso clínico bifásico, fase aguda e crônica (NUNES *et al.*, 2024). A infecção aguda geralmente é assintomática, com duração de 4 a 8 semanas, e quando sintomática, manifesta-se com sinais clínicos inespecíficos, incluindo febre persistente por mais de sete dias, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, edema subcutâneo em membros ou face e exantema morbiliforme (DE SOUSA *et al.*, 2024). Sinais característicos, como o sinal de Romanã e os chagomas de inoculação podem indicar a porta de entrada do parasito (DE SOUSA *et al.*, 2024).

Após a infecção aguda, a doença progride naturalmente para a fase crônica, que geralmente envolve um período clinicamente latente e assintomático, conhecido como fase crônica indeterminada, com duração de 10 a 30 anos, e que pode perdurar por toda a vida. No entanto, até 40% dos infectados desenvolvem manifestações clínicas, sendo conhecida como fase sintomática crônica, envolvendo o coração (mais comum), o esôfago, o cólon ou o sistema nervoso (PÉREZ MOLINA, 2009).

Figura 1 - Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*



Fonte: Adaptada de CDC – DPDx: *American Trypanosomiasis*, com uso de ferramenta de Inteligência Artificial (IA).

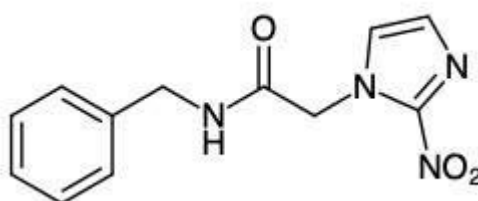
2.2 Benznidazol

O benznidazol (BNZ) é o único medicamento com ação tripanocida empregado clinicamente no Brasil, e por isso é o fármaco de escolha para o tratamento da doença de Chagas (ROLIM, 2010).

Na clínica, a apresentação do benznidazol é de comprimidos de 100 mg para adultos e 12,5 mg para crianças de até dois anos de idade e sua posologia consiste na administração oral de 2,5–3,5 mg/kg em adultos e 2,5–5 mg/kg em crianças, de duas a três vezes ao dia, preferencialmente após as refeições, com regime de tratamento de 60 dias, não excedendo dose diária de 300 mg. A forma infantil tem por objetivo evitar o fracionamento (LAFEPE, 2013).

O benznidazol apresenta alta eficácia na fase aguda, embora sua eficácia seja reduzida na fase crônica, estudos demonstraram que o tratamento com o BNZ pode reduzir a carga parasitária, retardar a progressão das alterações cardíacas e diminuir a deterioração clínica dos pacientes (URBINA, 2009). Estudos têm demonstrado que a com 5 a 7 mg/kg na fase aguda, 2 vezes ao dia, durante 60 dias, pode-se obter 60 a 70% de cura parasitológica. Entretanto, o tratamento na fase crônica, ainda que apresente um efeito protetor sobre a evolução clínica da doença é capaz de curar em apenas 20% dos casos. As razões para a diferença na eficácia antiparasitária do composto na fase aguda e crônica da doença não são bem determinadas (CANÇADO, 2002).

Figura 2 - Fórmula química do benznidazol



Fonte: SwissADME

Efeitos adversos associados ao benznidazol foram registrados tanto em adultos, quanto em crianças, sendo mais prevalentes as reações cutâneas. O exantema puriginoso foi o mais recorrente, comumente associado à urticária e ao angioedema, evidenciando o predomínio de reações de hipersensibilidade na terapia com benznidazol (CRUZ *et al.*, 2023). Distúrbios gastrointestinais, como náuseas, vômitos, dor abdominal, perda de

peso, e neurológicos, como a cefaleia, também foram frequentes. Alterações laboratoriais, ainda que menor escala, como leucopenia, eosinofilia, e elevação de enzimas hepáticas ocorreram raramente (CRUZ *et al.*, 2023). Em torno de 56,6% dos pacientes interrompem o tratamento devido as reações que o medicamento causa (CRUZ *et al.*, 2023).

Figura 3 - Efeitos colaterais do benznidazol



Fonte: Criada com o auxílio de ferramenta de inteligência artificial (IA), com base nas descrições dos efeitos colaterais apresentados por Cruz *et al.*, 2024.

2.3 Farmacocinética do benznidazol

O BNZ ainda não representa o fármaco ideal para o tratamento da doença de Chagas, visto que apresenta ser um composto de classe 4 no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, por possuir baixa solubilidade em água (0,237 mg/mL) e, baixa permeabilidade, com coeficiente de partição igual à $\text{LogP}_{ow} = 0,7$ (MAXIMIANO, 2010; SANCHEZ, 2018), além de possuir elevada toxicidade.

As limitações deste fármaco podem estar relacionadas com as suas propriedades farmacocinéticas inadequadas, como baixa biodisponibilidade, reduzida distribuição, alto *clearance* e/ou curta meia-vida de eliminação (LAMAS, 2006; URBINA, 2010; MOREIRA DA SILVA, 2012). Essas características podem ser atribuídas às propriedades físico-químicas (MAXIMIANO, 2010) e da autoindução dos seus sistemas de biotransformação (CYP3A hepática e GST intestinal) e transporte (P-gp e MRP2) (PERDOMO, 2013).

O BZN é administrado pela via oral, apresentando uma absorção rápida e quase completamente pelo trato gastrointestinal (MOLINA, 2017). O tempo de meia vida plasmática é de aproximadamente 12 horas, sendo o pico em 3,5 horas, com concentrações máximas de 2,20 µg / mL (MOLINA, 2017). Sua taxa de ligação a proteínas plasmáticas é de 44,0%, atingindo sua concentração máxima (2,22 a 2,80 µg/ml) em 2 a 4 horas (RIBEIRO, 2009). É excretado pela urina e fezes, tanto na forma inalterada como de seus metabólitos (RAAFLAUB, 1980).

É metabolizado pelas enzimas do citocromo P450 do fígado, com biotransformação parcial (RIBEIRO, 2009). Segundo um estudo realizado por Perin (2017) o BNZ atinge órgãos como o coração e cólon, que são os órgãos mais pertinentes afetados pela infecção pelo *T. cruzi*. Entretanto, sugere-se que o fármaco possui uma inadequada biodistribuição, devido a sua baixa solubilidade em água.

Em um estudo realizado por Silveira (2026) para analisar a farmacocinética do benznidazol e sua associação com as reações adversas do medicamento, mostrou que 82,8% dos pacientes apresentaram pelo menos um efeito adverso, e que em alguns casos graves resultaram na interrupção definitiva do tratamento. A análise farmacocinética demonstrou que pacientes com reações cutâneas apresentaram maiores valores de concentração plasmática máxima ($C_{máx}$) e área sob a curva (AUC), indicando uma associação entre maior exposição sistêmica ao benznidazol e o desenvolvimento dessas reações, reforçando a hipótese de que a toxicidade do fármaco é dependente da exposição. Estes achados contribuem para o desenvolvimento de estratégias de otimização posológica, como ajuste de dose e duração do tratamento, além da aplicação de modelos farmacocinéticos para aumentar a segurança.

2.4 Farmacomетria

A farmacomетria pode ser definida como o da ciência de modelos matemáticos de biologia, farmacologia, doenças e fisiologia usadas para descrever e quantificar interações entre xenobióticos e pacientes, incluindo efeitos benéficos e efeitos colaterais resultantes dessas interações (BARRET *et al.*, 2008).

A farmacomетria é a ciência que utiliza da modelagem matemática e simulações, de modelos quantitativos em biologia, farmacologia e progressão de doenças para descrever comportamentos PK/PD dos medicamentos em relação às suas ações, incluindo efeitos terapêuticos e tóxicos (USMAN *et al.*, 2023). Portanto, a farmacomетria pode ser considerada a fusão de farmacologia, fisiologia, fisiopatologia, matemática, estatística e

modelagem *in silico* por meio de programas de software para atender requisitos regulatórios e terapêuticos para o desenvolvimento de novos medicamentos e tomadas de decisões clínicas (USMAN *et al.*, 2023).

O desenvolvimento de medicamentos baseados em modelos (MIDD) utiliza modelos quantitativos de estudos pré-clínicos e clínicos para otimizar a tomada de decisões, associado a análise de risco-benefício durante o desenvolvimento de fármacos. A aplicação bem-sucedida de modelos quantitativos pode aprimorar eficácia de ensaios clínicos e levar à dosagem ideal em paciente de forma mais individualizada, incluindo subpopulações como por exemplo pacientes com insuficiência renal e hepática, ou polimorfismos genéticos. Este tipo de abordagem é essencial para garantir que os pacientes se beneficiem dos tratamentos, minimizando efeitos adversos (YEO, 2024).

Análises baseadas em farmacometria incluem modelos de drogas baseados em farmacocinética (PK), modelos de exposição–resposta farmacocinética–farmacodinâmica ou (PK-PD), modelos baseados em fisiologia (PBPK) e modelos de Simulação de Ensaios Clínicos (CTS). A escolha da abordagem depende da farmacocinética e farmacodinâmica do medicamento, e dos objetivos clínicos e perguntas que se quer responder (BANDEIRA *et al.*, 2022).

2.5 Modelagem Farmacocinética baseada em Fisiologia

A modelagem farmacocinética baseada em fisiologia (do inglês *Physiologically Based Pharmacokinetic* – PBPK) é uma técnica computacional que integra informações fisiológicas do organismo com características bioquímicas e físico-químicas do fármaco para representar, de forma mecanística sua absorção, distribuição, metabolização e excreção. A partir dessa integração, é possível simular, ao longo do tempo, as concentrações plasmáticas, teciduais e em excrementos de fármacos e seus metabólitos (ISOHERRANEN, 2024).

A modelagem PBPK é um modelo farmacocinético compartimental complexo, fundamentado no que se sabe sobre anatomia, fisiologia e perfusão sanguínea dos diferentes órgãos das espécies estudadas. A construção do modelo integra dados provenientes de fontes independentes (NEELY *et al.*, 2018).

Os modelos PBPK podem incorporar vários níveis de complexidade fisiológica e processos de eliminação e distribuição de fármacos, dependendo do uso pretendido e do nível de conhecimento das características do fármaco (ISOHERRANEN, 2024). Por exemplo, um modelo PBPK de corpo inteiro normalmente inclui a maioria dos órgãos

definidos no corpo, como grandes órgãos de distribuição (músculos, pele, tecido adiposo e osso), principais órgãos de eliminação de fármacos (fígado, rim e intestino), possíveis locais de administração de fármacos (intestino e pulmão) e outros órgãos de interesse para distribuição ou ação de determinados fármacos (coração, cérebro, pâncreas e baço) (ISOHERRANEN, 2024).

A PBPK é uma abordagem baseada em teoria que se inicia com o que é percebido no nível do órgão ou tecido. O movimento e a disposição do fármaco no corpo estão relacionados ao fluxo sanguíneo, à concentração do fármaco no sangue e a um coeficiente de partição (USMAN *et al.*, 2023). O coeficiente de partição tecido-plasma (K_p) representa a razão entre a concentração do fármaco no tecido e sua concentração no plasma em condições de equilíbrio, sendo um dos principais parâmetros responsáveis por descrever a distribuição tecidual em modelos PBPK (OECD, 2021).

Esses tipos de modelos são eficazes para responder a perguntas muito específicas; por exemplo, a alteração na concentração de um fármaco em uma população específica de pacientes pode ser especulada pelo modelo PBPK, onde a assinatura molecular da doença já foi incluída pela alteração de parâmetros-chave. Assim, um modelo PBPK desenvolvido para indivíduos saudáveis pode ser modificado em relação ao estado fisiopatológico da doença, e podendo ser extrapolado de um conjunto de pacientes para outras populações e estados clínicos (USMAN *et al.*, 2023).

Na modelagem farmacocinética clássica, o objetivo é ajustar um modelo relativamente simples aos dados experimentais para determinar parâmetros farmacocinéticos a partir do curso ajustado de concentração-tempo. Esses parâmetros são usados para caracterizar e quantificar o comportamento da substância investigada em geral ou em um determinado ensaio clínico e, potencialmente, para extrapolar para situações que ainda não foram investigadas (OSP, 2026).

Esses modelos podem incorporar órgãos artificiais como diferentes compartimentos, e a mudança na farmacocinética dos medicamentos em tais cenários também pode ser prevista para a adaptação do regime de dosagem do medicamento. Esses tipos de previsões auxiliam nas recomendações de dosagem ou impactam o desenho de ensaios clínicos para avaliar um medicamento para uso inovador (USMAN, 2023).

2.6 Modelo cão na doença de Chagas

Modelos de grandes animais, como o cão, geralmente são considerados mais representativos para estudos pré-clínicos do que os modelos murinos (CHANDRA *et al.*, 2019). Essa superioridade está relacionada ao maior tamanho corporal, à vida útil mais longa, à maior semelhança com a fisiologia gastrointestinal humana e à capacidade de desenvolver doenças espontâneas análogas às observadas em humanos (CHANDRA *et al.*, 2019).

Devido às semelhanças nas dimensões do trato gastrointestinal, o modelo canino é o ideal para testar formulações destinadas a humanos. Suas principais vantagens incluem a biodisponibilidade dos medicamentos costuma ser comparável à observada em humanos, como também o manejo simples em comparação a outros animais de porte semelhantes, como miniporcos e primatas. (DRESSMAN, 1986).

Conforme Dressman (1986), a fisiologia gastrointestinal dos cães apresenta elevada similaridade com a de seres humanos. Ambas as espécies compartilham organização anatômica geral quando comparado o trato gastrointestinal, incluindo estômago, intestinos delgado e grosso, e mecanismos fisiológicos semelhantes de digestão, absorção de nutrientes e motilidade intestinal (DRESSMAN *et al.*, 1986). Além disso, cães e humanos possuem processos digestivos baseados em secreções gástricas ácidas, ações de enzimas digestivas similares e uma microbiota intestinal que desempenham papéis semelhantes. Essas semelhanças estruturais e funcionais sustentam o uso do cão como modelo experimental relevante farmacológicos, e farmacocinéticos baseados em fisiologia.

Os cães jovens são altamente suscetíveis à infecção do *T. cruzi* e reproduzem muito bem ambas as fases da doença. Na fase aguda, embora a elevada mortalidade dificulte estudos sobre a evolução crônica da doença, diversos sinais clínicos foram reproduzidos, incluindo o chagoma de inoculação, alterações neurológicas, ascite e insuficiência cardíaca congestiva. Além disso, uma das principais vantagens desse modelo é a grande semelhança da anatomia e fisiologia cardíaca com a humana, além da longa expectativa de vida, oferecendo oportunidade de monitoramento eletrocardiográfico do animal infectado e verificando correlações entre alterações cardíaca e lesões no sistema de condução do coração, favorecendo estudos das formas tardias da doença (DE LANA, 2017).

Dessa forma, a elevada relevância translacional do modelo canino fornece uma base robusta para a aplicação de abordagens farmacométricas. Espera-se que o presente

estudo contribua para o desenvolvimento de ferramentas computacionais aplicadas à otimização terapêutica do benznidazol, ampliando as possibilidades de extrapolação farmacocinética para diferentes cenários experimentais.

3. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Considerando que:

- I. o tratamento da doença de Chagas permanece limitado ao benznidazol, apresentando eficácia limitada na fase crônica, além de efeitos adversos significativos;
- II. a complexidade da farmacocinética aliada à escassez de dados clínicos robustos o que dificulta a otimização de esquemas terapêuticos, especialmente em populações vulneráveis como crianças, gestantes e pacientes com comorbidades;
- III. o desenvolvimento de modelos farmacocinéticos embasados na fisiologia (PBPK – *Physiologically Based Pharmacokinetic models*) representa uma abordagem promissora para superar essas limitações.

O presente estudo propõe a aplicação de uma ferramenta inovadora para a melhoria do tratamento da doença de Chagas, tanto na perspectiva da saúde pública quanto no avanço científico. A construção de um modelo PBPK robusto e validado terá impactos significativos na racionalização terapêutica, no delineamento de ensaios clínicos e na formulação de políticas de saúde mais eficazes para a quimioterapia da doença de Chagas. Além disso, espera-se que este estudo favoreça o desenvolvimento e a aplicação de ferramentas computacionais voltadas à otimização terapêutica do benznidazol, ampliando as possibilidades de extrapolação farmacocinética para diferentes populações e cenários experimentais.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral:

Desenvolver um modelo farmacocinético embasado em fisiologia (PBPK) para o beznidazol e avaliar sua aplicabilidade para a doença de Chagas no modelo cão.

4.2 Específicos:

- I.** Coletar dados físico-químicos do beznidazol, em bases de dados e literatura padrão;
- II.** Desenvolver um procedimento operacional padronizado para coleta, organização e inserção de dados físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol no software PK-Sim® , visando à construção de modelos PBPK;
- III.** Desenvolver e calibrar o modelo PBPK do benznidazol utilizando ferramentas computacionais especializadas;
- IV.** Validar o modelo PBPK com dados experimentais de farmacocinética de animais infectados por *Trypanosoma cruzi*.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1- Softwares

5.1.1- R Studio ®

O *software RStudio* (versão 2026.06.0, *Build* 242; *Posit Software*, PBC) é um software para análise de dados, e foi utilizado na construção de imagens gráficas por ser intercambiável com o software de modelagem e simulação (M&S) PK-Sim®, descrito a seguir. Também foi utilizado como ferramenta de cálculo para as análises de validação do modelo.

5.1.2- PK-Sim® (Open Systems Pharmacology)

O software utilizado para a construção e simulação do modelo PBPK é o *software PK-Sim®* (*Open Systems Pharmacology*, EUA), versão 12.3, voltado para a construção de modelos PBPK, incluindo estudos pré-clínicos como no modelo cão. O *software* permitiu prever os perfis de área sob a curva (ASC), concentração máxima ($C_{\text{máx}}$), tempo para alcançar a concentração máxima ($T_{\text{máx}}$), e meia-vida de eliminação ($T_{1/2}$).

5.3- Desenvolvimento de um procedimento operacional para inserção de dados no PK-Sim®

Foi realizado um levantamento bibliográfico de parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol em bases de dados científicas e repositórios especializados, incluindo PubMed, DrugBank, ChEMBL e Open Systems Pharmacology. Foram coletadas informações referentes à massa molecular, pKa, lipofilicidade (LogP), solubilidade, fração livre plasmática, razão sangue/plasma, permeabilidade. Esses parâmetros foram selecionados por influenciarem diretamente absorção, distribuição e eliminação do composto.

Com base nessas informações, foi elaborado um procedimento operacional padronizado (POP) (Anexo I) descrevendo as etapas necessárias para seleção, organização e inserção dos parâmetros no software PK-Sim®. O procedimento contempla a identificação das fontes de dados, critérios de seleção dos parâmetros, tratamento de valores conflitantes na literatura e utilização de estimativas geradas pelo próprio software quando dados experimentais não estiverem disponíveis.

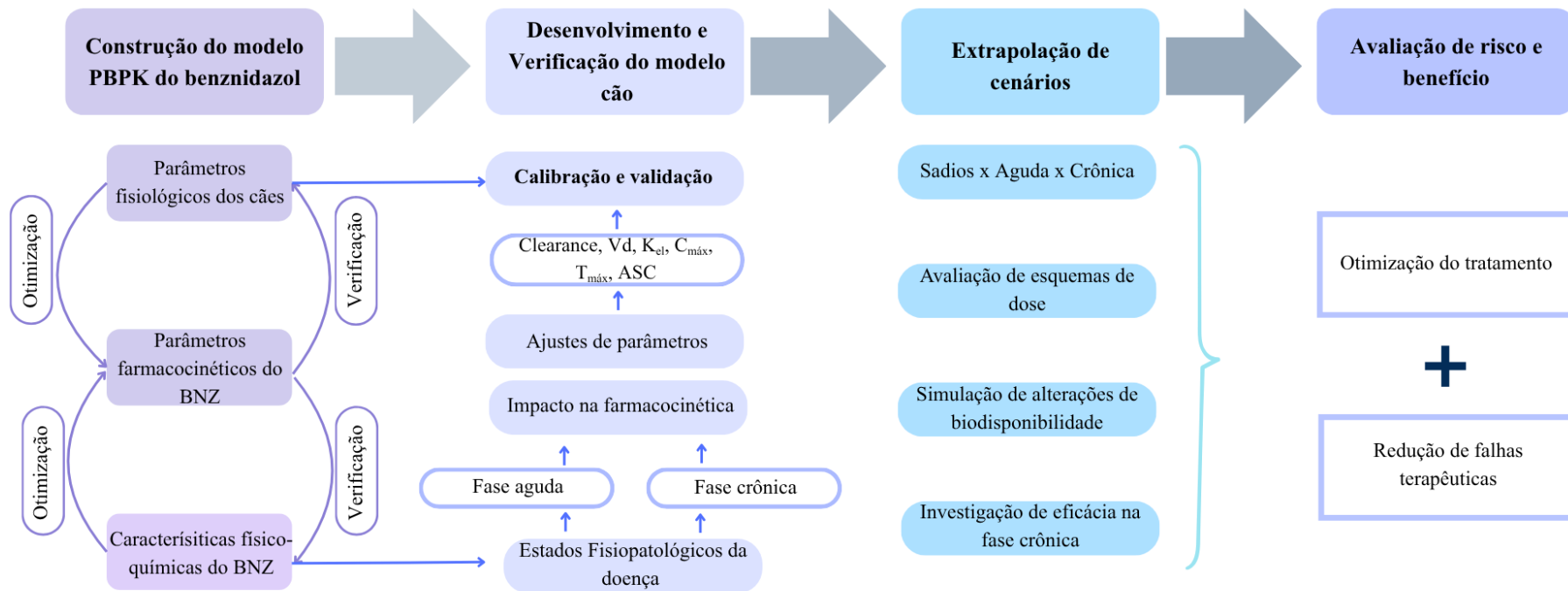
Posteriormente, o procedimento foi aplicado à construção do modelo PBPK do benznidazol, permitindo avaliar sua aplicabilidade como ferramenta de padronização para futuros estudos de modelagem farmacocinética baseada em fisiologia.

5.4- Desenvolvimento do modelo PBPK

O presente estudo buscou desenvolver um modelo PBPK para o benznidazol, utilizando os dados experimentais obtidos pelo nosso grupo de pesquisa (Bandeira *et al.*, 2026). O estudo experimental foi conduzido em 27 cães sem raça definida, distribuído em cinco grupos experimentais: cães não infectados tratados com benznidazol, cães infectados tratados com benznidazol na fase aguda, cães infectados tratados com benznidazol na fase crônica, grupo controle positivo sem tratamento na fase aguda, e grupo controle positivo sem tratamento na fase crônica. Os animais infectados receberam *Trypanosoma cruzi* (cepa Berenice-78) e foram tratados por via oral com benznidazol na dose de 3,5 mg/kg a cada 12 horas. Amostras seriadas de sangue foram coletadas durante o estado de equilíbrio (do inglês *steady state*) para determinação das concentrações séricas do fármaco por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography* – HPLC), permitindo cálculo de $C_{\text{máx}}$, $T_{\text{máx}}$, AUC_{0-12} , *clearance* (CL/F) e volume aparente de distribuição (Vd/F).

Para a construção do modelo PBPK, foram incorporados parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e fisiopatológicos do benznidazol, considerando as alterações associadas à doença de Chagas. O modelo foi desenvolvido de forma sequencial e submetido à calibração e validação em cada etapa por meio da comparação entre as concentrações simuladas e os dados farmacocinéticos observados no estudo pré-clínico. A figura 4 apresenta o fluxo de trabalho adotado para a construção e validação do modelo PBPK do benznidazol em cães.

Figura 4 - Fluxograma de desenvolvimento do modelo PBPK para o benznidazol



Fonte: Adaptado de Pansari *et al.*, 2024.

5.5- Modelo Biológico e estudo pré-clínico

Para a construção do modelo foram utilizados os parâmetros de cães, sendo este o organismo de estudo. Os parâmetros anatômicos e fisiológicos, como peso, volume, pH, fluxo sanguíneo de entrada e saída dos órgãos, correspondentes aos valores padrão (*default*) do *software*, de modelagem e simulação PK-Sim®. Os dados utilizados são provenientes de experimentos definidos pelo protocolo de pesquisa nº: 2017/38 aprovado pelo Comitê de Ética em experimentação animal da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP).

5.6- Validação de modelo PBPK

A validação do modelo foi feita através da comparação dos perfis de concentração plasmática e musculares da simulação com os dados obtidos nos experimentos, para todas as doses do benznidazol avaliadas, seguindo as diretrizes do guia da *Food and Drug Administration* (FDA, 2020). Para essa avaliação, foram comparados os perfis farmacocinéticos preditos pelo software com aqueles observados no estudo pré-clínico, considerando-se como critério de aceitabilidade um desvio de ± 2 vezes entre os parâmetros farmacocinéticos preditos e observados (FDA, 2020). Os parâmetros avaliados incluíram a concentração máxima ($C_{\text{máx}}$), tempo para atingir a concentração máxima ($T_{\text{máx}}$), área sob a curva concentração-tempo (AUC), e a meia-vida de eliminação ($T_{1/2}$).

5.7- Estatística

Para uma avaliação quantitativa do modelo, foi utilizado o cálculo de *average fold error* (AFE), realizado no software *RStudio* (versão 2026.06.0, Build 242; *Posit Software*, PBC), sendo aceitos valores dentro do limite de aceitação de 0,5 – 2,0 (Li *et al.*, 2020). O AFE quantifica a concordância entre os parâmetros farmacocinéticos simulados e os valores observados experimentalmente. Essa métrica é calculada a partir da média geométrica da razão entre os valores preditos e observados, utilizando transformação logarítmica para minimizar a influência de super e sub-predições (Li *et al.*, 2020).

O desempenho preditivo do modelo foi classificado de acordo com os seguintes critérios de interpretação do AFE:

Tabela 1 - Interpretação AFE

AFE	INTERPRETAÇÃO
1,0	Predição perfeita
0,8 – 1,25	Excelente concordância
0,5 – 2,0	Modelo aceitável
< 0,5	Subpredição importante
>2,0	Superpredição importante

Os parâmetros farmacocinéticos apresentados nas tabelas correspondem à média dos valores estimados pelo PK-Sim® (versão 12.3) para cada grupo simulado, sendo calculados a partir das simulações individuais geradas pelo software.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1- Coleta de dados e procedimento operacional

O levantamento bibliográfico e bancos de dados, como PubMed e DrugBank, permitiu reunir os principais parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol necessários para a construção de um modelo PBPK. A partir dessas informações foi desenvolvido um procedimento operacional padrão (POP) para orientar coleta, organização e inserção desses dados no software PK-Sim® (Anexo I). Organizado em etapas sequenciais, este procedimento assegura tanto a rastreabilidade dos dados empregados quanto a reprodutibilidade de parametrização do composto.

As propriedades físico-químicas são a base para a parametrização do modelo PBPK, pois influenciam diretamente as propriedades ADME – absorção, distribuição, metabolização e excreção. Após o desenvolvimento do POP, foi realizado o levantamento e a organização dos principais parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol necessários para a construção do modelo PBPK. As tabelas 2 e 3 apresentam os parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos, respectivamente, com valores e fonte de obtenção.

Tabela 2- Parâmetros físico-químicos do BNZ

Parâmetros	Valor	Unidade	Fonte
Molécula	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₃	-	SwissADME
Peso Molecular	260.25	g/mol	SwissADME
Lipofilicidade (logP)	0.816	-	ADMET
Lipofilicidade (logP)	1.15	-	SwissADME
Lipofilicidade (logP)	1.322	-	Chemicalize
Fração não ligada ao plasma	40.212	%	ADMET
Fração não ligada no plasma	59	%	Workman <i>et al.</i> , 1984
pKa	pKa ácido: 13.68 pKa básico: 1,52	-	Chemicalize
Solubilidade em água	0.325	mg/ml	ADMET

Fonte: Autoria Própria

Tabela 3 - Parâmetros farmacocinéticos do BNZ (*in silico* e em cão)

Parâmetros	Valor	Unidade	Fonte
Coefficiente de partição (LogP_{ow})	0.772	-	Maximiano <i>et al.</i> , 2010
Volume de distribuição	0.956	L/kg	ADMET
Clearance total	0.84	L/h	Bandeira <i>et al.</i> , 2026
Enzimas Metabolizantes – BSEP_IC50	28.938	-	ADMET
Substrato OAT3	94	%	ADMET
Km OAT3	23.884	uM	ADMET
Km OCT1	124.393	uM	ADMET
Inibição de CYP1A2	59	%	ADMET
V_{máx} CYP1A2	30.144	Nmol/min	ADMET
Substrato CYP2A6	50	%	ADMET
Inibição CYP2C19	61	%	ADMET
Substrato CYP2E1	64	%	ADMET

Fonte: Autoria Própria

Como observado na tabela 2, foram encontrados valores distintos para os parâmetros de lipofilicidade e fração não ligada ao plasma. A lipofilicidade representa a afinidade de uma molécula ou grupo por um ambiente lipofílico, auxiliando a prever a absorção e outras propriedades de transporte de moléculas de fármacos no corpo (COMER; TAN, 2001).

Os valores de LogP foram provenientes de três plataformas computacionais distintas: ADMET, SwissADME, Chemicalize e a metodologia de cálculo para cada uma delas justifica as variações observadas. O banco de dados ADMET estima o LogP por meio de modelos de Relações Quantitativas Estrutura-Atividade (QSAR) e Relações Quantitativas Estrutura-Propriedades (QSPR), que estabelecem relações matemática

entre a estrutura química e suas propriedades físico-químicas, combinados com Redes Neurais Artificiais (ANN) e descritores moleculares para prever LogP (SOHLENIUS-STERNBECK e TERELIUS, 2021).

O SwissADME calcula a lipofilicidade por meio de cinco algoritmos independentes, iLOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP, e SILICOS-IT, que utilizam diferentes abordagens computacionais, com modelos físico-químicos baseados na energia livre de solvatação, métodos atomísticos fundamentados em fragmentos moleculares, descritores topológicos e modelos híbridos que combinam fragmentos estruturais e propriedades topológicas, no qual o valor é obtido pela média das estimativas geradas por esses algoritmos (KLIMOSZEK *et al.*, 2024). A literatura disponível não detalha o método de cálculo do Chemicalize especificamente, mas sua metodologia pode ser inferida a partir de abordagens semelhantes (KLIMOSZEK *et al.*, 2024), no qual é estimado o LogP com base na estrutura molecular, emprego de modelos atomísticos, fragmentários, topológicos e físico-químicos.

A fração não ligada ao plasma é a parte livre circulante do composto, ou seja, que não está ligada a proteínas, sendo um parâmetro crucial para interpretar exposição, efeito, e eliminação do fármaco (DI, 2021). Possui impacto significativo para entender propriedades importantes como o *clearance* (Cl), volume de distribuição (V_d), interação medicamentosa (DDI), e na modelagem PBPK (DI, 2021). Considerando que ambos os parâmetros exercem influência direta na distribuição tecidual e na disponibilidade do fármaco, foram realizadas simulações independentes utilizando cada um dos valores encontrados, que serão mostrados a seguir.

Baseando-se no POP, foram selecionados os parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos do benznidazol. Após a seleção dos valores de LogP e fração não ligada ao plasma, os parâmetros foram inseridos individualmente no PK-Sim®, durante a etapa de construção das simulações (*Building Blocks*). Como essas propriedades influenciam diretamente o perfil ADME, no qual cada combinação foi utilizada para construir um bloco de construção específico para o benznidazol, mantendo-se constantes os demais parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos. Essa estratégia permitiu isolar o efeito desses parâmetros sobre o comportamento farmacocinético previsto pelo modelo PBPK, sem a interferência de alterações em outras propriedades do composto.

6.2- Inserção dos parâmetros no PK-Sim®

A construção do modelo PBPK foi realizada na plataforma *Open Systems Pharmacology* (OSP), versão 12.3, uma plataforma *open-source* especializada em simulações farmacocinéticas e farmacodinâmicas baseadas em fisiologia. Por meio da integração dos softwares PK-Sim® e MoBi®, o sistema viabiliza a construção de modelo mecanísticos para descrição do perfil ADME de fármacos em múltiplas espécies e condições fisiológicas. Além disso, sua organização visa otimizar o fluxo de trabalho, permitindo alterar parâmetros específicos e reutilizar dados sem reconstruir um modelo do zero (OSP, 2026).

Os *Building Blocks*, ou blocos de construção (figura 5A), constituem um dos principais componentes da plataforma da OSP, sendo fundamentais para organização e parametrização de modelos farmacocinéticos. Para promover maior flexibilidade e eficiência na hora da modelagem, os dados são organizados em blocos de construção independentes, cada um representando um conjunto de informações específico, de modo a evitar que todos os parâmetros necessários para uma simulação sejam definidos em um único conjunto de dados (ESQlabs GMBH, 2026).

Primeiramente foram inseridos os parâmetros relacionados às propriedades físico-químicas do benznidazol, que são aquelas relacionadas a massa molecular, pKa, LogP e fração não ligada ao plasma (Figura 5B). Essas informações permitem a caracterização do composto, determinando a permeabilidade e sua biodistribuição corporal

Figura 5 – Interface do software PK-Sim® (versão 12.3), destacando: (A) Building Blocks.; (B) aba Basic Physico-Chemistry; (C) aba ADME; e (D) Advanced Parameters.

The screenshot shows the PK-Sim 12.3 interface. The top menu bar includes File, Modeling, Parameter Identification & Sensitivity, Working Journal, Import/Export, Utilities, and Views. Below the menu is a toolbar with icons for Expression Profile, Individual, Population, Compound, Formulation, Administration Protocols, Event, Observers, Simulation, Individual Simulations, Population Simulations, and Compare Results.

The left sidebar is divided into two main sections: **Building Blocks** (A) and **Simulations**. The **Building Blocks** section includes Expression Profiles, Individuals, Populations, Compounds (with Benznidazol (BNZ) selected), Formulations, Administration Protocols, Events, Observers, and Observed Data. The **Simulations** section includes Simulations, Comparisons, Parameter Identifications, and Sensitivity Analyses.

The main window displays the **Compound: 'Benznidazol (BNZ)'** settings. The **Basic Physico-Chemistry** (B) and **ADME** (C) tabs are highlighted. The **Advanced Parameters** (D) tab is also visible. The **Basic Physico-Chemistry** tab shows the following parameters:

- Lipophilicity:** Experiment (0.82 Log Units), Measurement (0.82 Log Units, Value Origin: Database-Assumption-ADMET).
- Fraction unbound (plasma, reference value):** Binds to: Albumin, α 1-acid glycoprotein, Unknown (selected). Experiment (40.20 %), Measurement (40.20 %, Value Origin: Database-Assumption-ADMET).
- Molecular weight:** Molecular weight (260.25 g/mol), Has halogens (No), Effective molecular weight (260.25 g/mol), Value origin (Database-Assumption-CHEMICALIZE).
- Compound type / pKa:** Acid (13.68), Base (1.52), Neutral (<None>), Value origin (Database-Assumption-CHEMICALIZE).
- Solubility:** Experiment (0.33 mg/ml), Measurement (0.33 mg/ml, Value Origin: Database-Assumption-ADMET).

Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Na aba das propriedades ADME (figura 5C), foram inseridos os parâmetros farmacocinéticos como permeabilidade intestinal, utilizada pelo software para estimar taxa de absorção do fármaco após administração oral. Também foi feita a seleção do método de cálculo da distribuição tecidual disponível no software, para estimar a partição do beznidazol nos diferentes tecidos do organismo. Na mesma aba, no campo de *Metabolism* foram inseridos os parâmetros referentes ao *clearance* hepático.

O protocolo de administração foi configurado no software utilizando um modelo de indivíduo representativo de cão sadio (não infectado), adotando-se o peso de referência de 25kg para parametrização do modelo (figura 5A). A simulação do fármaco foi estabelecida considerando uma formulação do tipo dissolvida.

A administração do benznidazol escolhida para a simulação foi por via oral (VO). A dosagem estipulada foi de 3,5 mg/kg, administrada em um regime posológico de duas vezes ao dia (B.I.D), o que corresponde a intervalos regulares de 12 em 12 horas entre as doses. O período total do protocolo simulado foi de 120 horas, compreendendo um total de 10 doses consecutivas (figura 5A).

Para avaliar e comparar com a simulação, os dados experimentais foram coletados no intervalo corresponde à administração das últimas doses, abrangendo o trecho final das 120 horas de avaliação. Especificamente, as coletas experimentais ocorreram nos seguintes tempos após o início do protocolo: 108.25; 108.50; 108.75; 109.00; 110.00; 111.00; 112.00; 114.00; 116.00; 118.00; 120.00.

Em razão da variabilidade observada nos valores de LogP e da fração não ligada as proteínas plasmáticas (Tabela 2), foram avaliadas diferentes combinações desses parâmetros durante a parametrização do modelo. Essa estratégia foi adotada porque ambos exercem influência direta sobre a distribuição tecidual, a permeabilidade e a ligação de proteínas plasmáticas em modelos PBPK.

6.3- Calibração do modelo PBPK

De acordo com o guia da *Food and Drug Administration* (FDA) (2020), as análises PBPK para aplicações biofarmacêuticas combinam dados de dissolução e outros testes *in vitro* com modelos mecanísticos para prever a exposição sistêmica ao fármaco. Essa abordagem considera mecanismos relacionados à absorção, como metabolismo e transporte, além das propriedades de qualidade do medicamento, permitindo caracterizar a influência de diferentes formulações sobre o comportamento farmacocinético.

Entretanto, a construção de modelos PBPK depende da disponibilidade de dados farmacocinéticos e fisiológicos confiáveis para a parametrização do modelo (KUEPFER et al., 2016). Nesse contexto, a literatura sobre a farmacocinética do benznidazol em cães permanece escassa, restringindo-se a apenas dois estudos conduzidos nesse modelo experimental. Inicialmente, Workman e colaboradores (1984) descreveu o perfil farmacocinético do benznidazol em cães saudáveis, estabelecendo parâmetros fundamentais como absorção, biodisponibilidade, *clearance*, volume de distribuição, meia-vida de eliminação e fração não ligada ao plasma. Posteriormente, Bandeira e colaboradores (2026) observaram como as fases da doença de Chagas, aguda e crônica, impactam a farmacocinética do benznidazol em cães. Os resultados mostraram que o impacto da infecção crônica, que eleva a exposição sistêmica ao fármaco e diminuição de seu *clearance* e volume de distribuição.

O número restrito de publicações, expõe uma lacuna de conhecimento, justificando o desenvolvimento de modelos PBPK para integrar essas variáveis. A revisão de literatura além de evidenciar a escassez de dados farmacocinéticos do BNZ em cães, mas também aponta as divergências nos valores de parâmetros físico-químicos essenciais, como o LogP e fração não ligada as proteínas plasmáticas. Como esses valores são críticos para a biodisponibilidade do fármaco, foram realizadas simulações com diferentes valores encontrados, avaliando o impacto das variações destes parâmetros. E isto, permite avaliar a sensibilidade do modelo PBPK, selecionar os parâmetros mais adequados para sua construção.

Na primeira simulação foram utilizados os seguintes parâmetros:

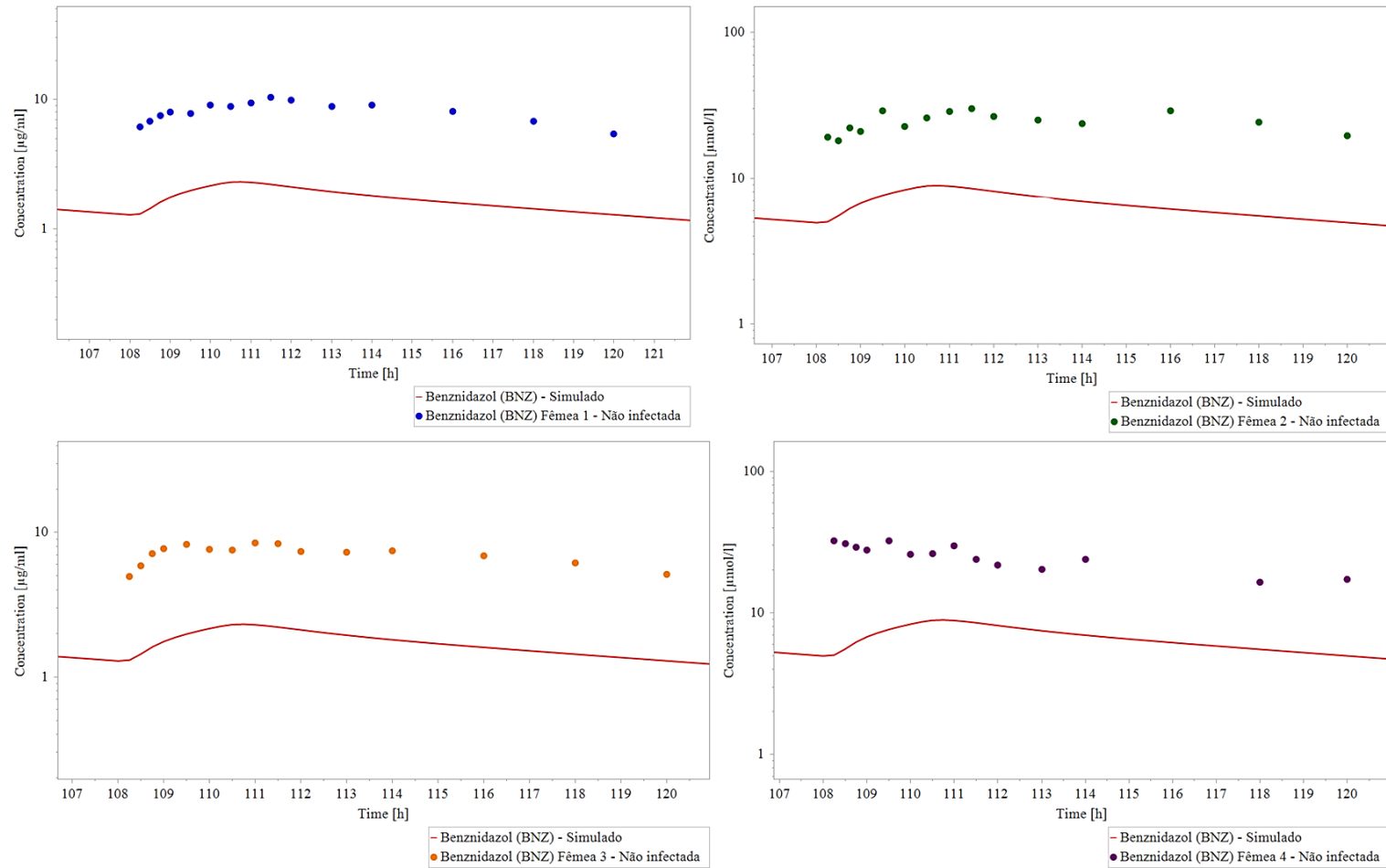
Tabela 4 - Parâmetros simulação 1

Parâmetros	Valor	Unidade
Lipofilicidade (LogP)	0.816	-
Fração não ligada ao plasma	40.20	%
Peso molecular	260.25	g/mol
pKa	Ácido: 13.68 Básico: 1.52	-
Solubilidade em água	0.325	mg/ml

Após a inserção dos parâmetros utilizados na primeira simulação, foram realizadas simulações farmacocinéticas considerando três cenários fisiopatológicos distintos: cães saudáveis, cães infectados por *T. cruzi* (cepa Berenice-78) na fase aguda, e cães infectados por *T. cruzi* (cepa Berenice-78) na fase crônica da doença. As simulações foram comparadas entre si para avaliar a influência da progressão da infecção sobre o perfil farmacocinético.

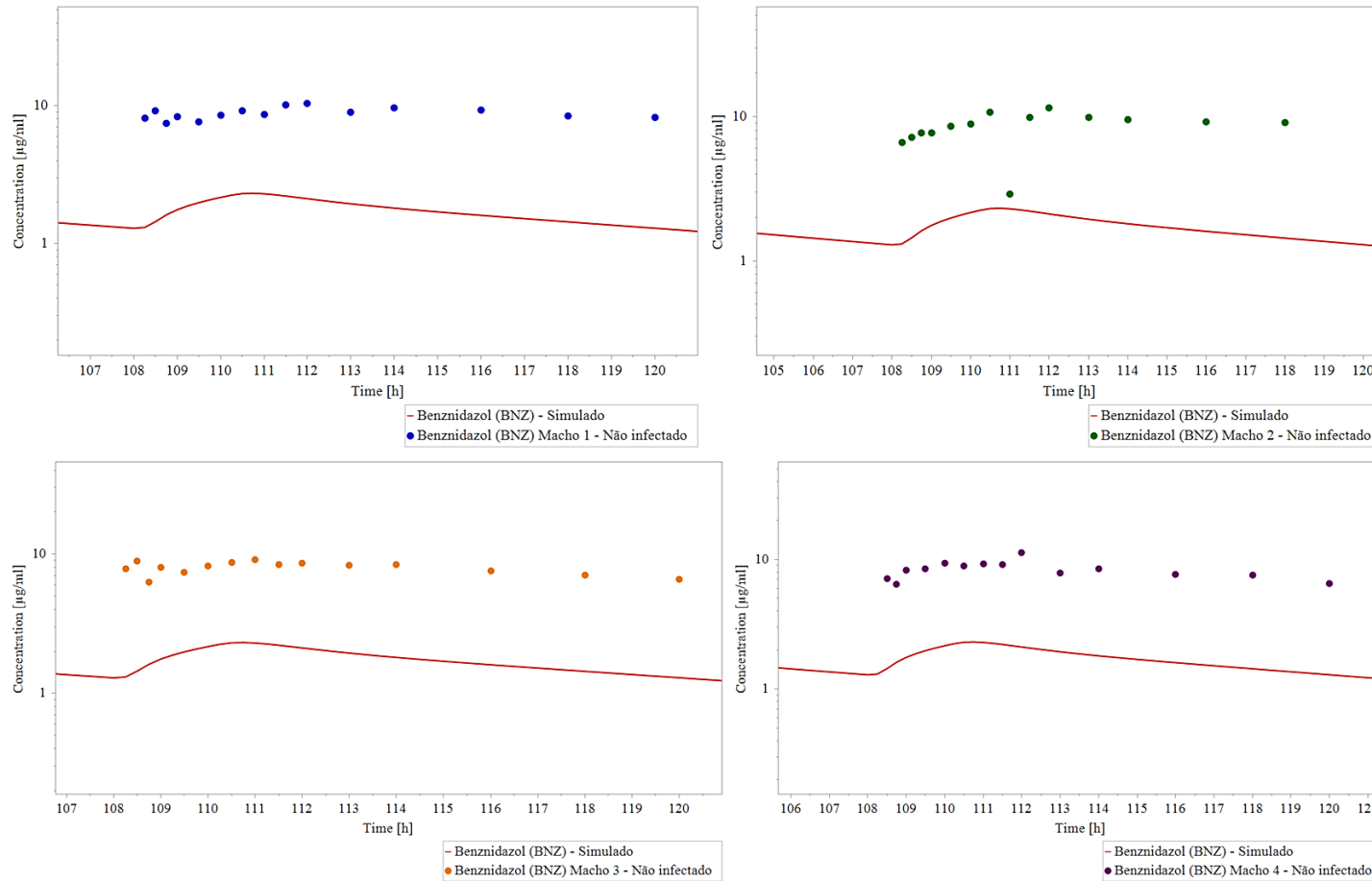
A cepa Brenice-78 foi selecionada por apresentar elevada relevância científica por ter sido isolada da primeira paciente diagnosticada com doença de Chagas (DE LANA *et al.*, 1986). É amplamente empregada em estudos experimentais por apresentar elevada suscetibilidade ao benznidazol e reproduzir de forma consistente as alterações cardíacas da doença de Chagas, incluindo miocardite, fibrose e disfunção cardíaca, o que permite avaliar simultaneamente a resposta ao tratamento e a evolução das lesões cardíacas (VELOSO *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2016)

Figura 6 - Simulação 1: Fêmeas não infectadas



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 7 - Simulação 1: Machos não infectados



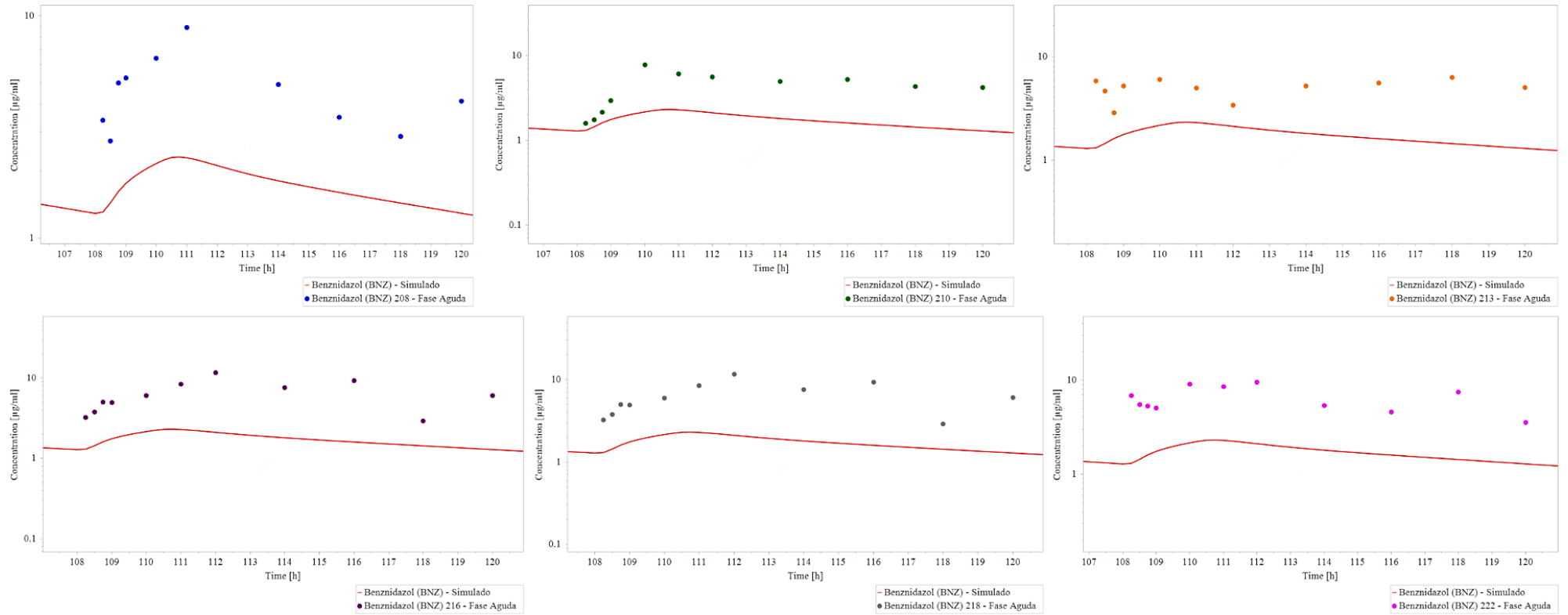
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Observa-se que as concentrações plasmáticas preditas pelo modelo (linha vermelha) permaneceram inferiores às concentrações observadas experimentalmente (pontos coloridos) em todos os indivíduos sadios avaliados. Essa discrepância é evidenciada pela diferença entre os perfis de concentração ao longo do tempo, com diferença superior a ± 2 , como indicado pelo FDA. Embora o modelo tenha reproduzido de forma razoável o comportamento temporal das concentrações, incluindo o aumento inicial seguido pelo declínio gradual, os valores absolutos não refletem os dados experimentais. Esse resultado sugere que determinados processos fisiológicos ou farmacocinéticos relevantes para a disposição do fármaco podem não estar sendo representados de maneira adequada.

Apesar da discrepância quantitativa entre os valores observados e os valores preditos, o modelo foi capaz de reproduzir qualitativamente o comportamento farmacocinético do benznidazol, representando as fases de absorção e eliminação do fármaco. O resultado sugere que a estrutura do modelo é consistente, embora alguns parâmetros fisiológicos e farmacocinéticos ainda necessitem de refinamento.

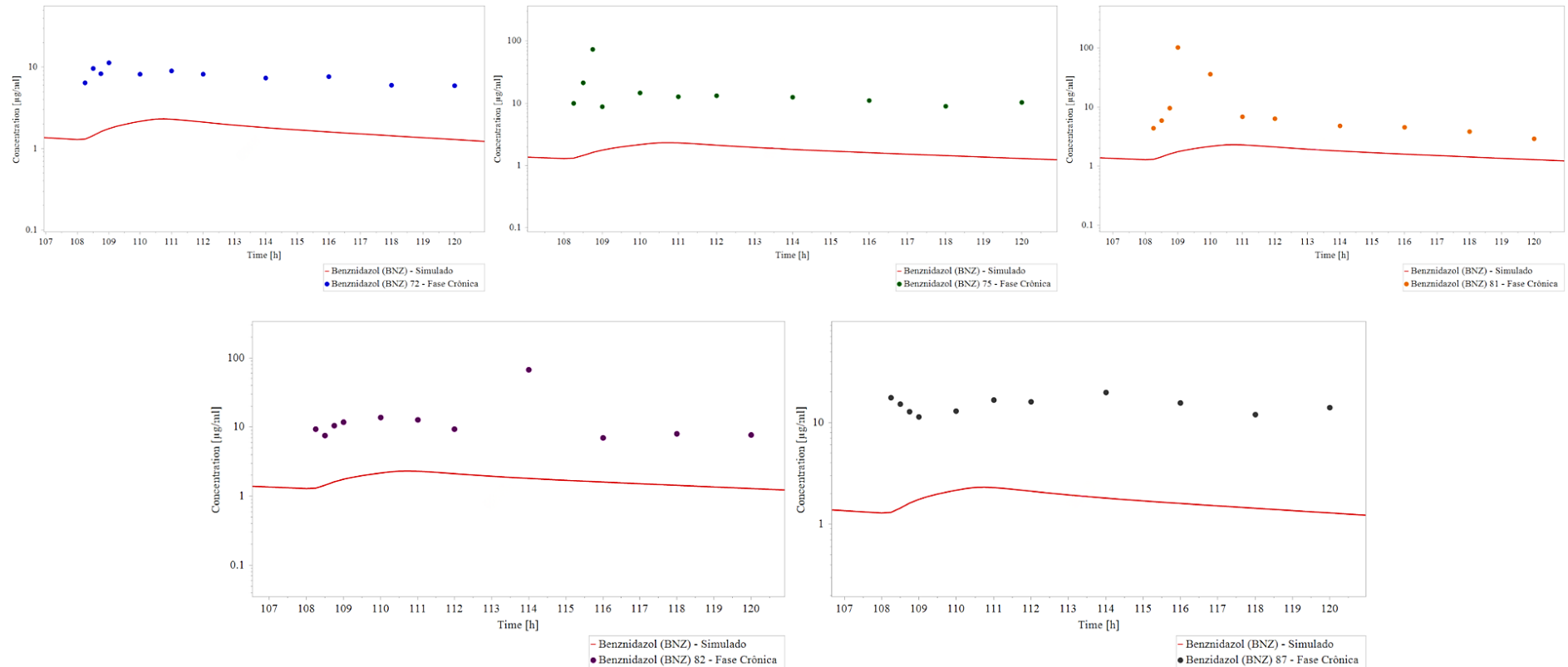
Nas figuras 8 e 9 podemos observar as simulações relacionadas a fase aguda e fase crônica, respectivamente. A persistência da divergência entre os dados observados e simulados, tanto no grupo não infectado quanto no grupo infectado, evidencia que as limitações do modelo vão além das alterações causadas pela infecção.

Figura 8 - Simulação 1: Fase Aguda



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 9 - Simulação 1: Fase Crônica



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

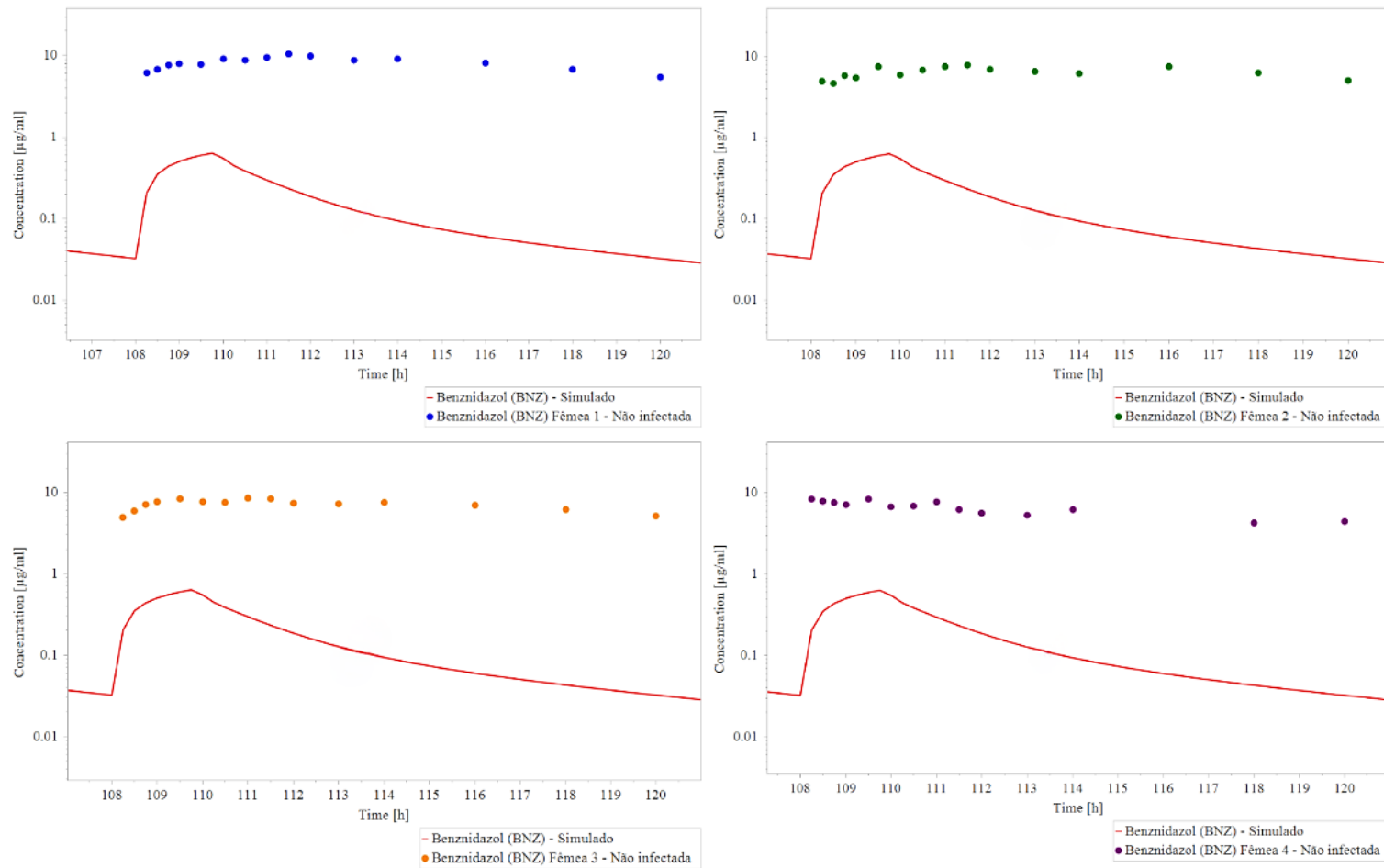
De acordo com Bohnert e Gan (2013), seguindo a Teoria do Fármaco Livre (*Free Drug Theory – FDT*) apenas a fração não ligada às proteínas plasmáticas é capaz de atravessar membranas biológicas, distribuir-se nos tecidos e interagir com receptores farmacológicos, influenciando diretamente na farmacocinética. Dessa forma, pequenas alterações na fração não ligadas podem provocar mudanças importantes na distribuição e exposição do fármaco. Os resultados corroboram com o estudo, visto que as simulações mostraram que valores de LogP e fração não ligada ao plasma baixo resultaram em um achatamento excessivo da curva de concentração plasmática, não representando o perfil farmacocinético do benznidazol. Dessa forma, foi realizada a segunda simulação com parâmetros de valores diferentes.

Tabela 5 - Parâmetros simulação 2

Parâmetros	Valor	Unidade
Lipofilicidade (LogP)	1.15	-
Fração não ligada ao plasma	59	%
Peso molecular	260.25	g/mol
pKa	Ácido: 13.68 Básico: 1.52	-
Solubilidade em água	0.325	mg/ml

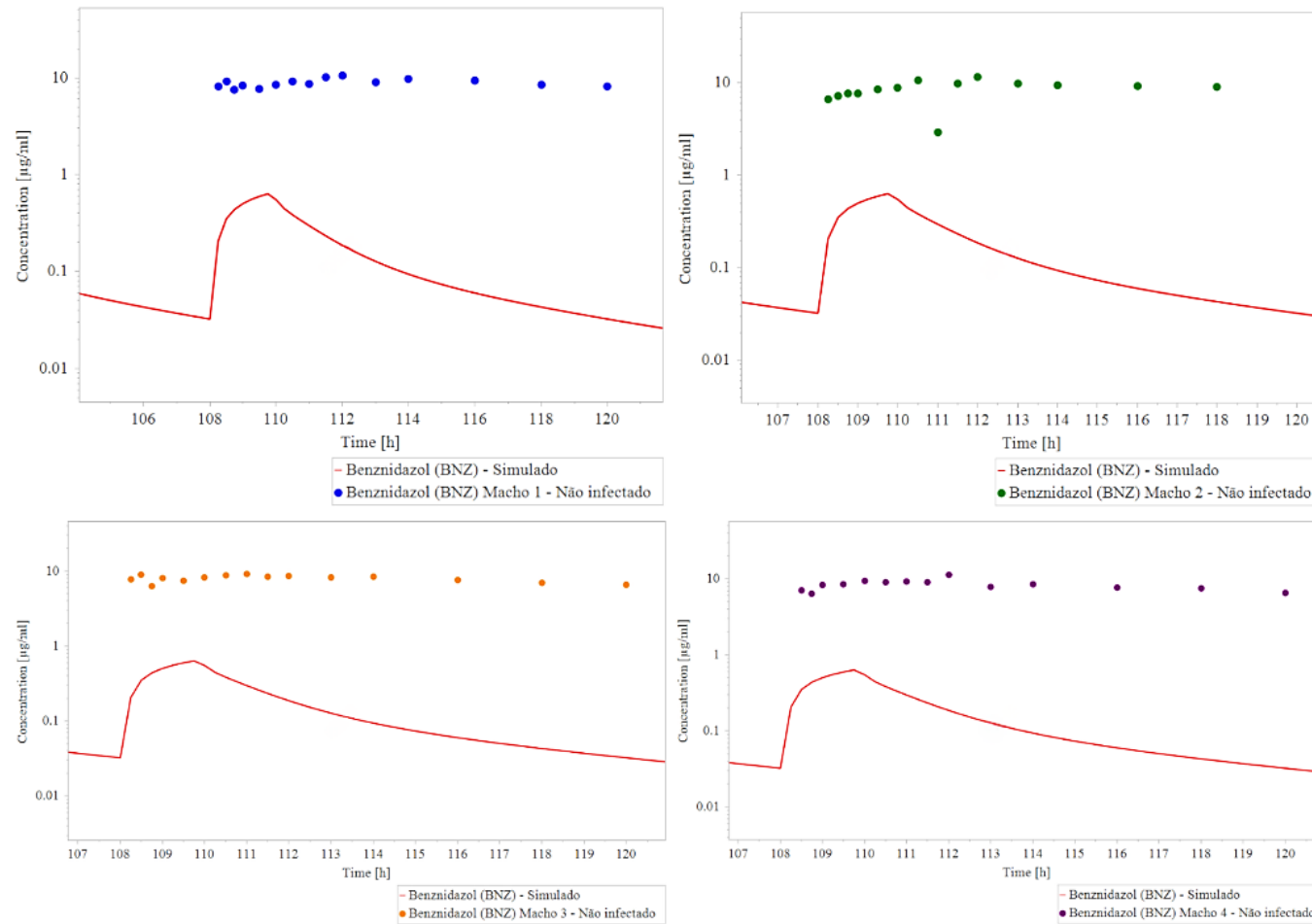
Nessa simulação, os valores de LogP e fração não ligada ao plasma aumentaram a absorção do BNZ, o que pode ser observado com uma melhor definição do pico da absorção (fig. 12-15), atingindo pico de concentração por volta de 109,5-110 horas. Após esse ponto, observa-se uma redução progressiva das concentrações ao longo do tempo, caracterizando a fase de eliminação do fármaco (fig. 12-15). No entanto, esse pico (linha vermelha) é inferior ao observado nos dados experimentais (pontos coloridos), indicando que esse modelo subestimou a absorção e/ou exposição sistêmica do benznidazol.

Figura 10 - Simulação 2: Fêmeas não infectadas



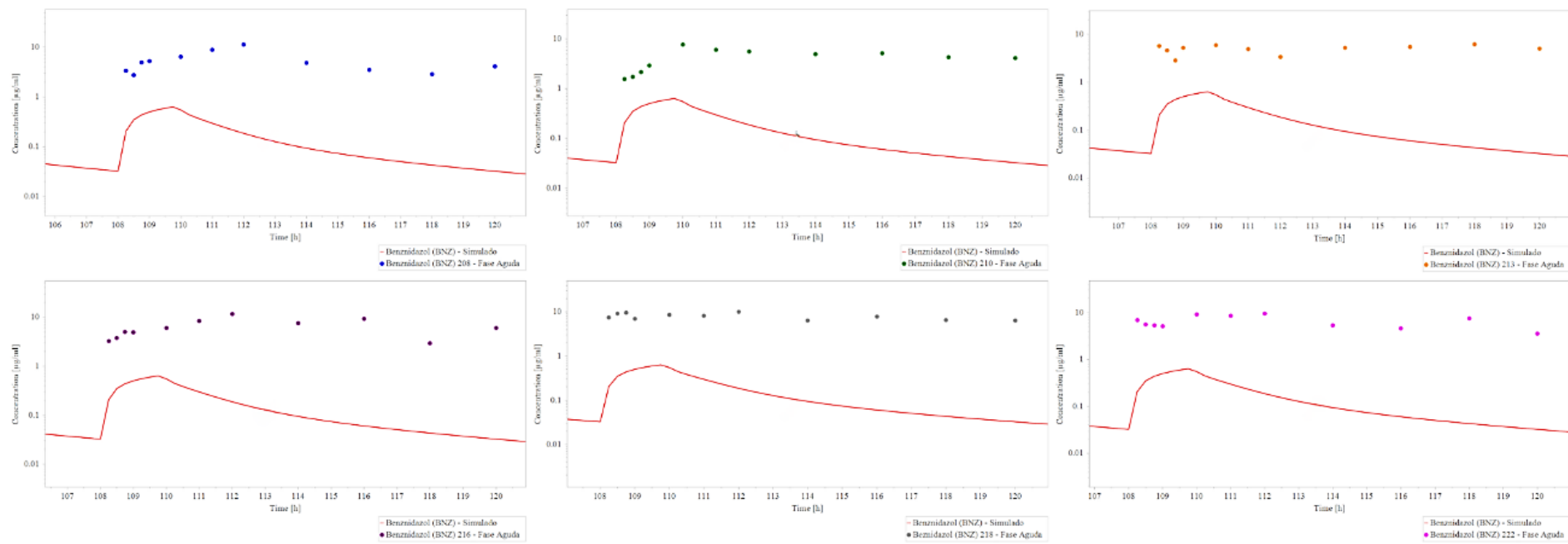
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 11 - Simulação 2: Machos não infectados



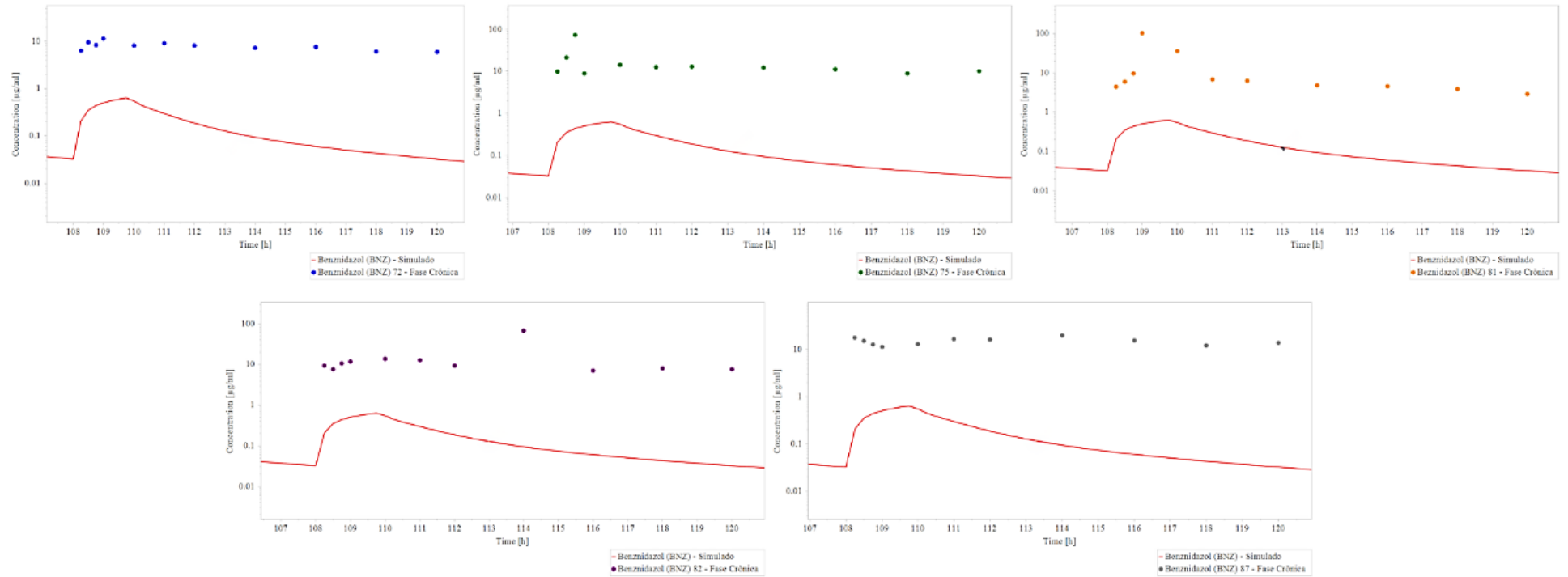
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 12 - Simulação 2: Fase Aguda



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 13 - Simulação 2: Fase Crônica



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

De acordo com a FDA (2020), quando um modelo PBPK necessita de refinamento, recomenda-se a realização de análises de incerteza e sensibilidade dos parâmetros, de forma a avaliar a influência das variáveis de entrada sobre as predições do modelo. Nesse contexto, diferentes combinações de LogP e fração não ligada ao plasma foram avaliadas por meio de análises de sensibilidade, uma vez que esses parâmetros apresentaram variabilidade entre as fontes consultadas e exercem influência direta sobre biodisponibilidade e as predições farmacocinéticas do modelo PBPK.

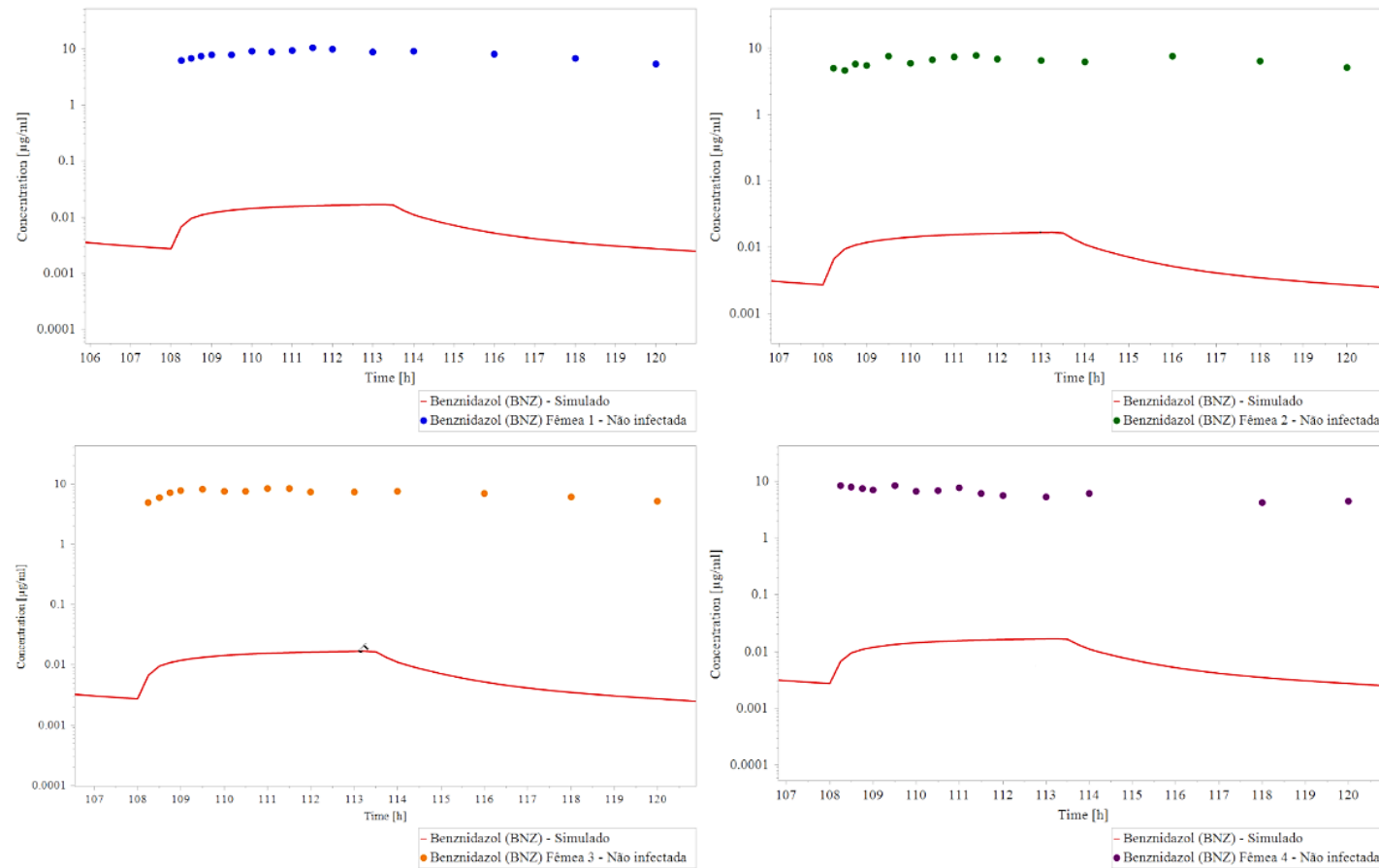
Considerando que as simulações anteriores apresentaram subestimação das concentrações plasmáticas do benznidazol em relação aos dados experimentais, foi realizada uma terceira simulação utilizando diferentes valores de LogP e fração não ligada ao plasma, com o objetivo de aprimorar a capacidade preditiva do modelo.

Tabela 6 - Parâmetros simulação 3

Parâmetros	Valor	Unidade
Lipofilicidade (LogP)	1.322	-
Fração não ligada ao plasma	59	%
Peso molecular	260.25	g/mol
pKa	Ácido: 13.68 Básico: 1.52	-
Solubilidade em água	0.325	mg/ml

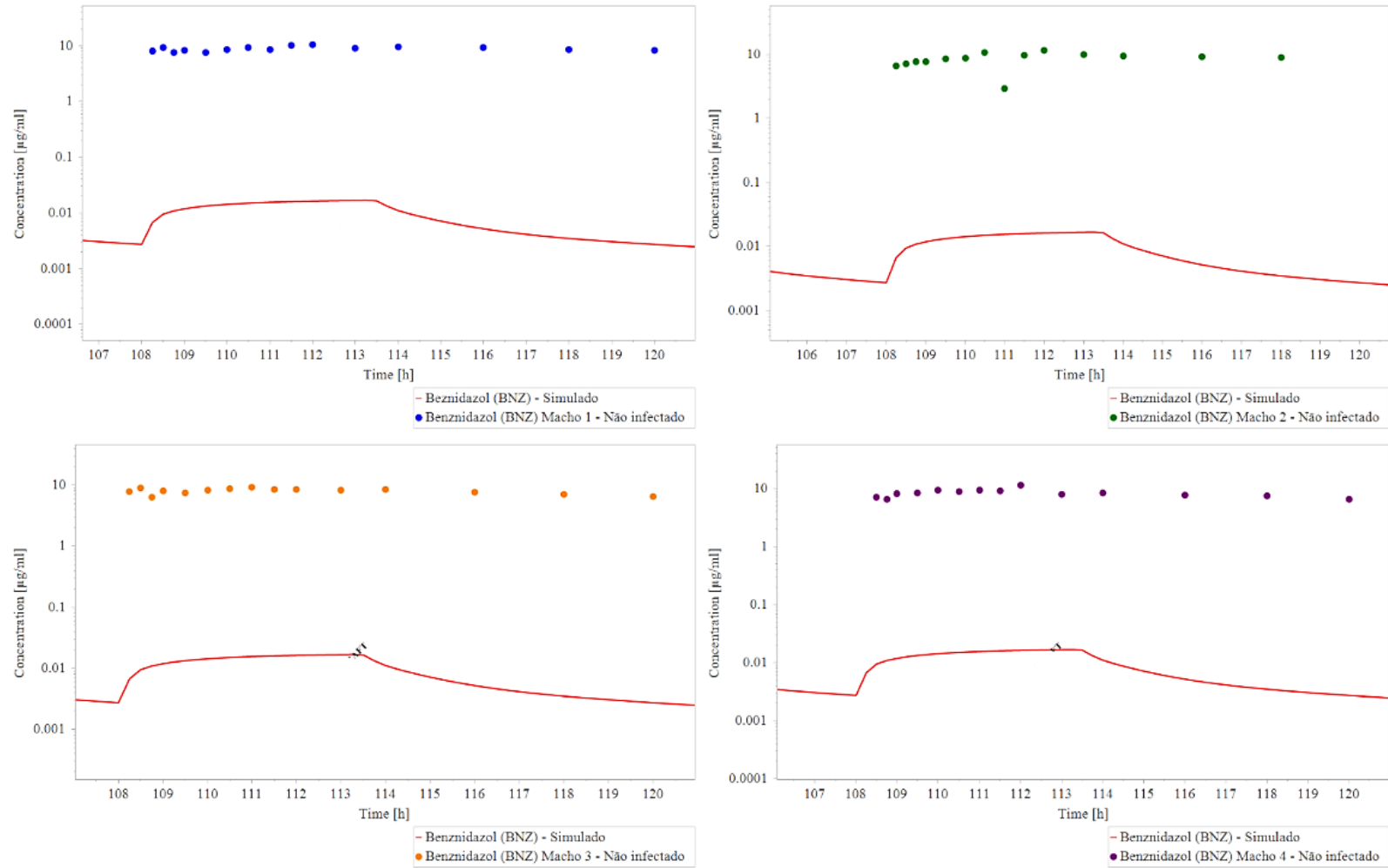
Ao avaliar a curva simulada, nota-se que o perfil de concentração-tempo do benznidazol apresentou um pico de concentração máxima ($C_{máx}$) pouco evidenciado (fig. 17-19). Os níveis de biodisponibilidade aumentaram de forma lenta e progressiva até atingirem o pico por volta de 113 horas, com um curto período de estabilização, seguido pelo início da fase de eliminação, com redução progressiva das concentrações plasmáticas.

Figura 14 - Simulação 3: Fêmeas não infectadas



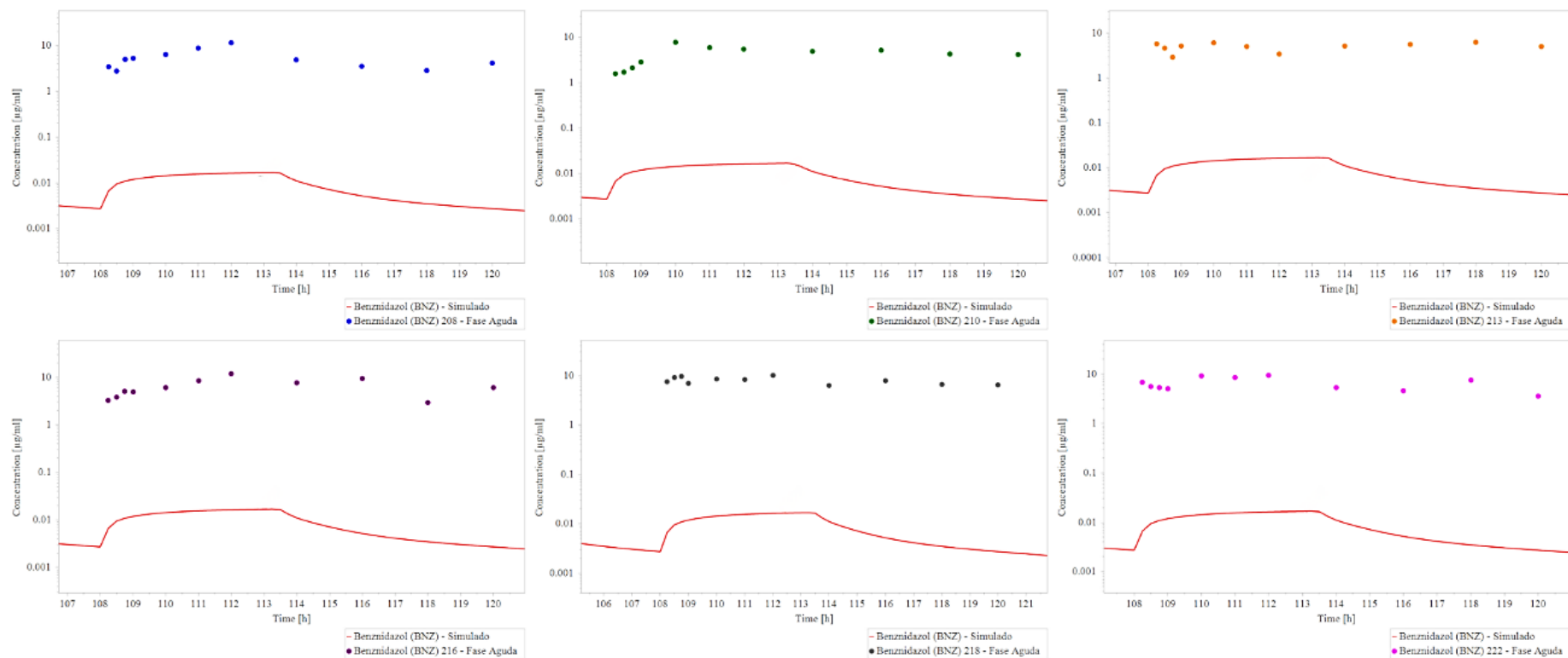
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 15 - Simulação 3: Machos não infectados



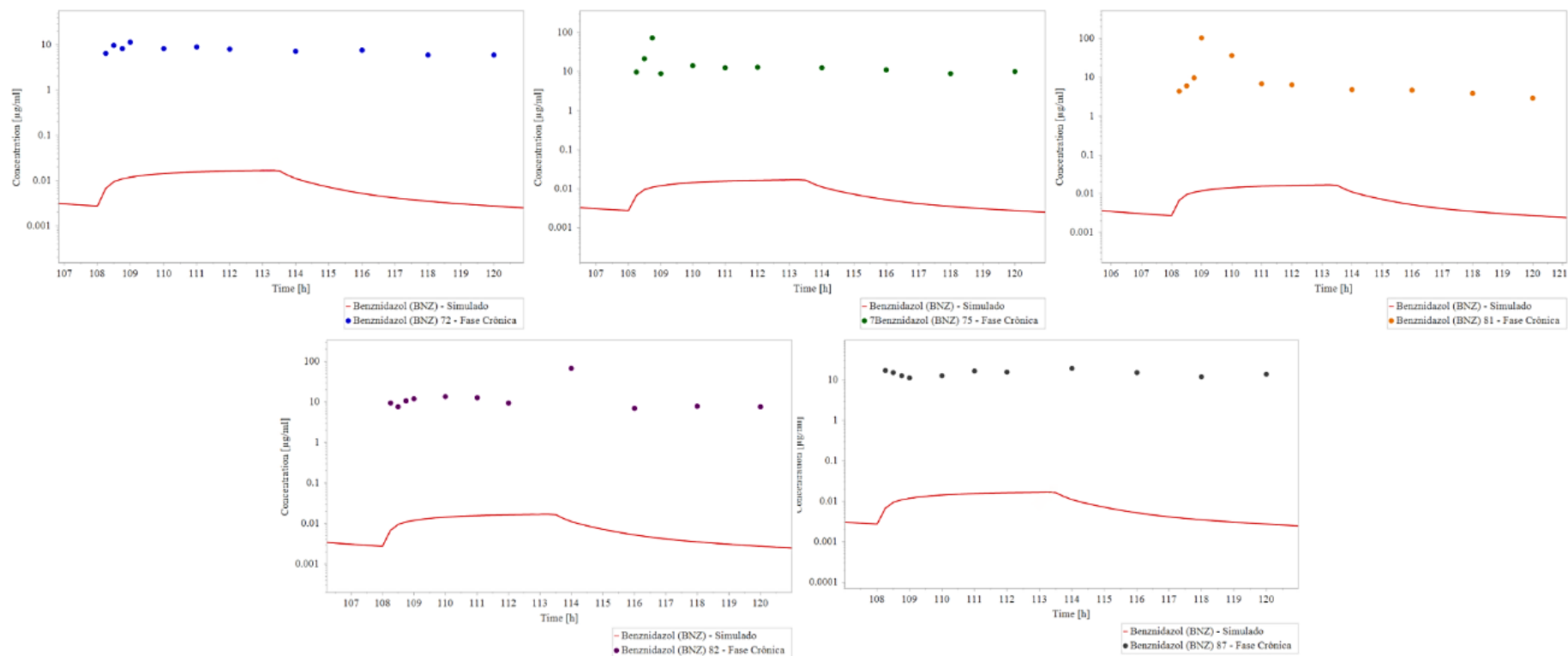
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 16 - Simulação 3: Fase Aguda



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 17 - Simulação 3: Fase Crônica



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

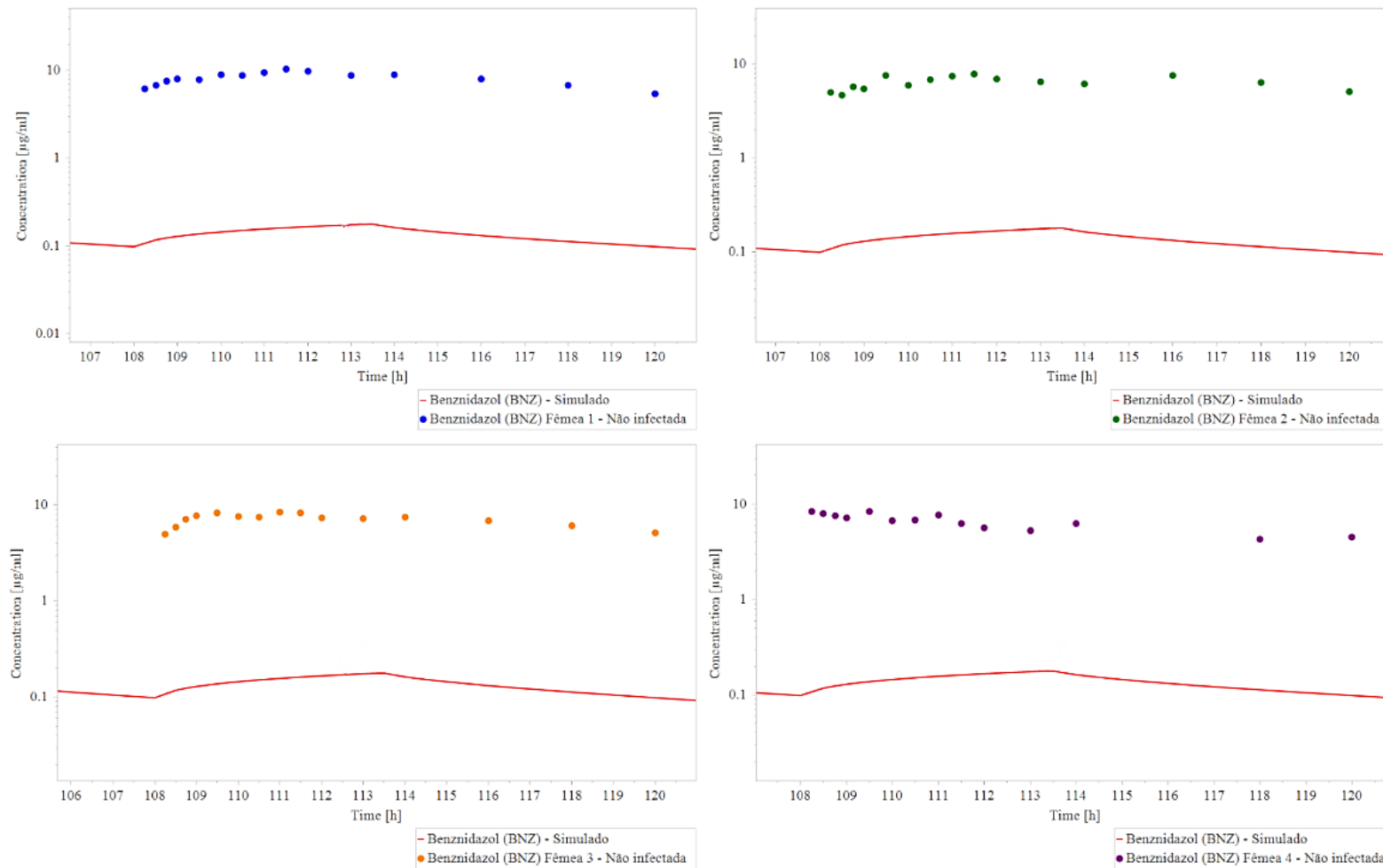
No entanto, as concentrações simuladas (linha vermelha) permaneceram significativamente inferiores aos dados experimentais (pontos coloridos) em todo o intervalo analisado, mostrando que os parâmetros utilizados nessa simulação não são suficientes para reproduzir o perfil farmacocinético do benznidazol, e segue subestimando a quantidade de fármaco disponível. Resultados semelhantes são descritos por Zhang *et al.* (2011), que destaca a análise de sensibilidade como uma etapa fundamental para o refinamento de modelos PBPK, permitindo identificar parâmetros que exercem maior influência sobre as previsões farmacocinéticas e otimizar sua capacidade preditiva. Dessa forma, considerando a baixa concordância entre as concentrações simuladas e experimentais, novos ajustes nos parâmetros foram feitos, tentando melhorar a capacidade preditivas nas próximas simulações. Dessa forma, foram utilizados os seguintes parâmetros na quarta simulação:

Tabela 7 - Parâmetros simulação 4

Parâmetros	Valor	Unidade
Lipofilicidade (LogP)	0.816	-
Fração não ligada ao plasma	59	%
Peso molecular	260.25	g/mol
pKa	Ácido: 13.68 Básico: 1.52	-
Solubilidade em água	0.325	mg/ml

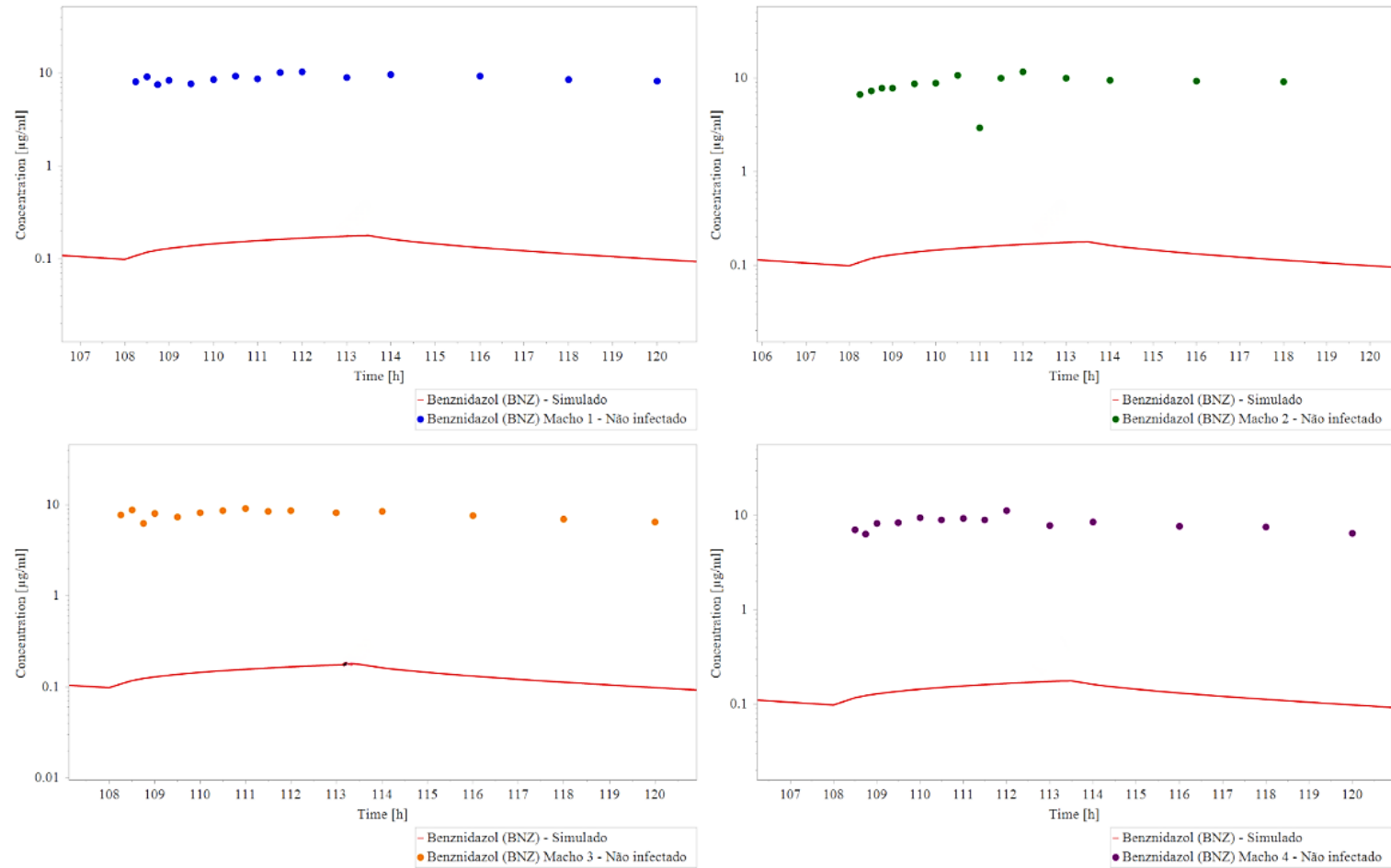
A partir dessa parametrização, foi gerado um novo perfil de concentração *versus* tempo do benznidazol, posteriormente comparado aos dados experimentais obtidos em cães saudáveis.

Figura 18 - Simulação 4: Fêmeas não infectadas



Fonte: *Software PK-Sim®* (versão 12.3)

Figura 19 - Simulação 4: Machos não infectados

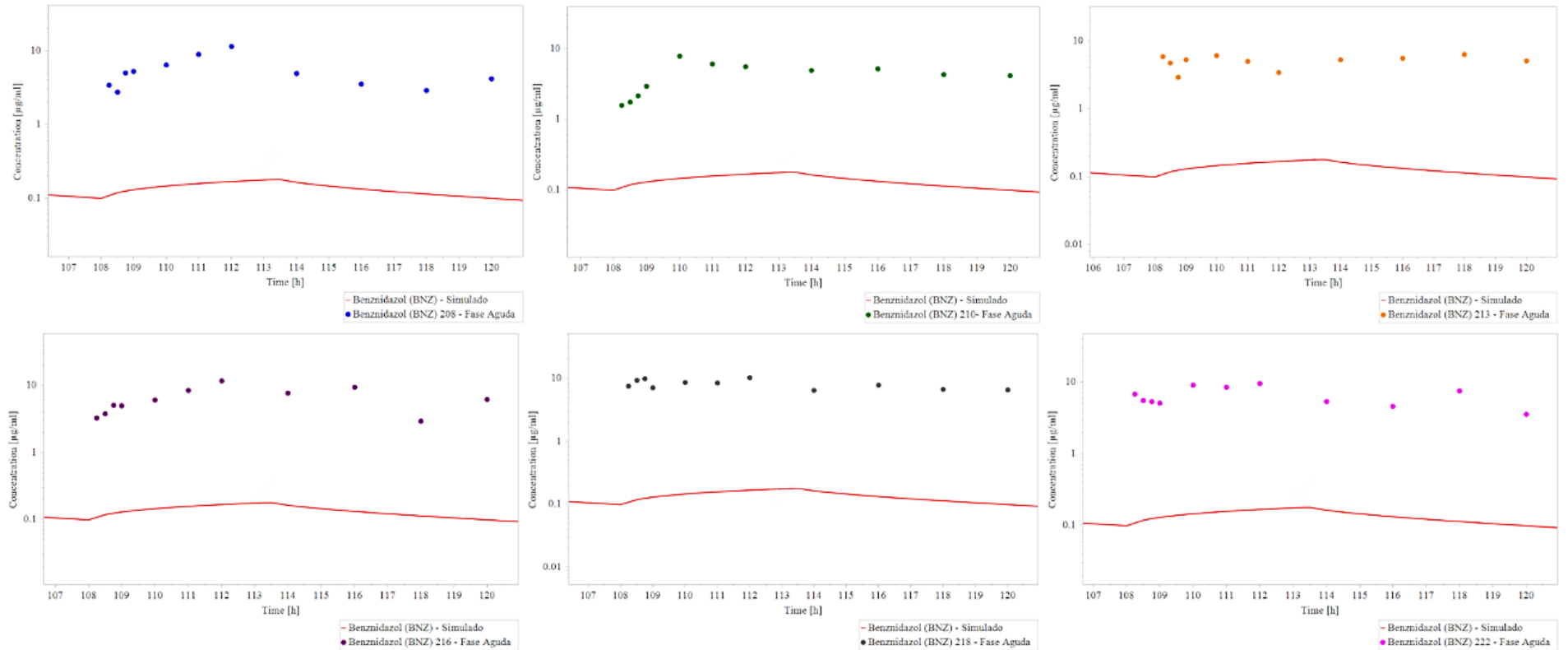


Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

O perfil de concentração plasmática *versus* tempo na quarta simulação evidenciou uma discreta elevação das concentrações de benznidazol, sem o estabelecimento de um pico de concentração máxima ($C_{\text{máx}}$) evidente (fig. 19–22). As concentrações plasmáticas apresentaram uma leve inclinação na fase inicial da curva, seguida por um curto período de estabilização, atingindo seu valor máximo entre 113 e 114 horas (fig. 19–22)., após o qual foi observado um declínio gradual das concentrações do fármaco. Contudo, as concentrações simuladas (linha vermelha) permaneceram inferiores às concentrações experimentais (pontos coloridos) durante todo o intervalo avaliado, evidenciando que a parametrização adotada ainda não foi suficiente para predizer com precisão o perfil farmacocinético do benznidazol.

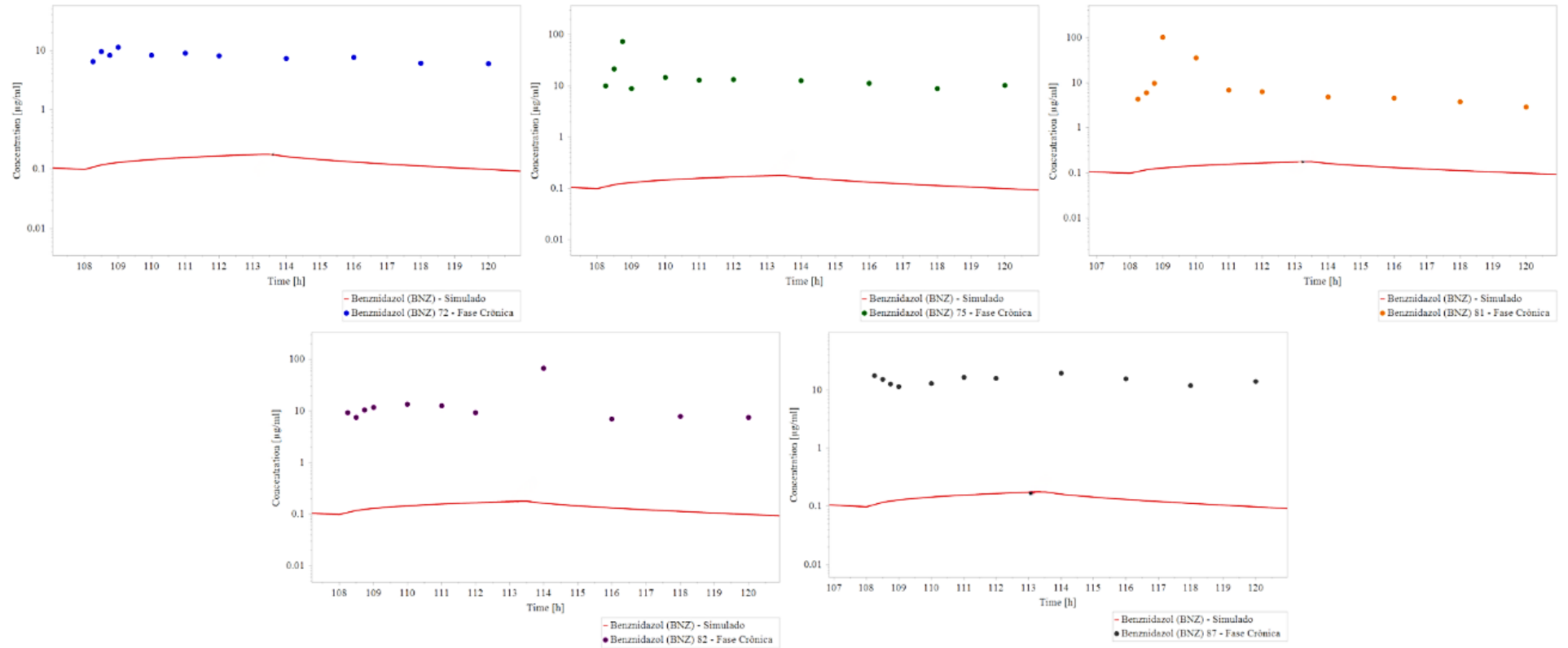
Esse resultado corrobora as observações de Zhang e colaboradores (2011) e as diretrizes da FDA (2020), as quais apontam que modelos PBPK com baixa capacidade preditiva demandam refinamentos sucessivos embasados em análises de sensibilidade, sobretudo nos parâmetros de entrada. Na quarta simulação, embora o ajuste de LogP e da fração plasmática livre tenha elevado discretamente as concentrações preditas, a persistente subestimação frente aos dados experimentais indica a necessidade de investigar as outras variáveis farmacocinéticas.

Figura 20 - Simulação 4: Fase Aguda



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 21 - Simulação 4: Fase Crônica



Fonte: *Software PK-Sim®* (versão 12.3)

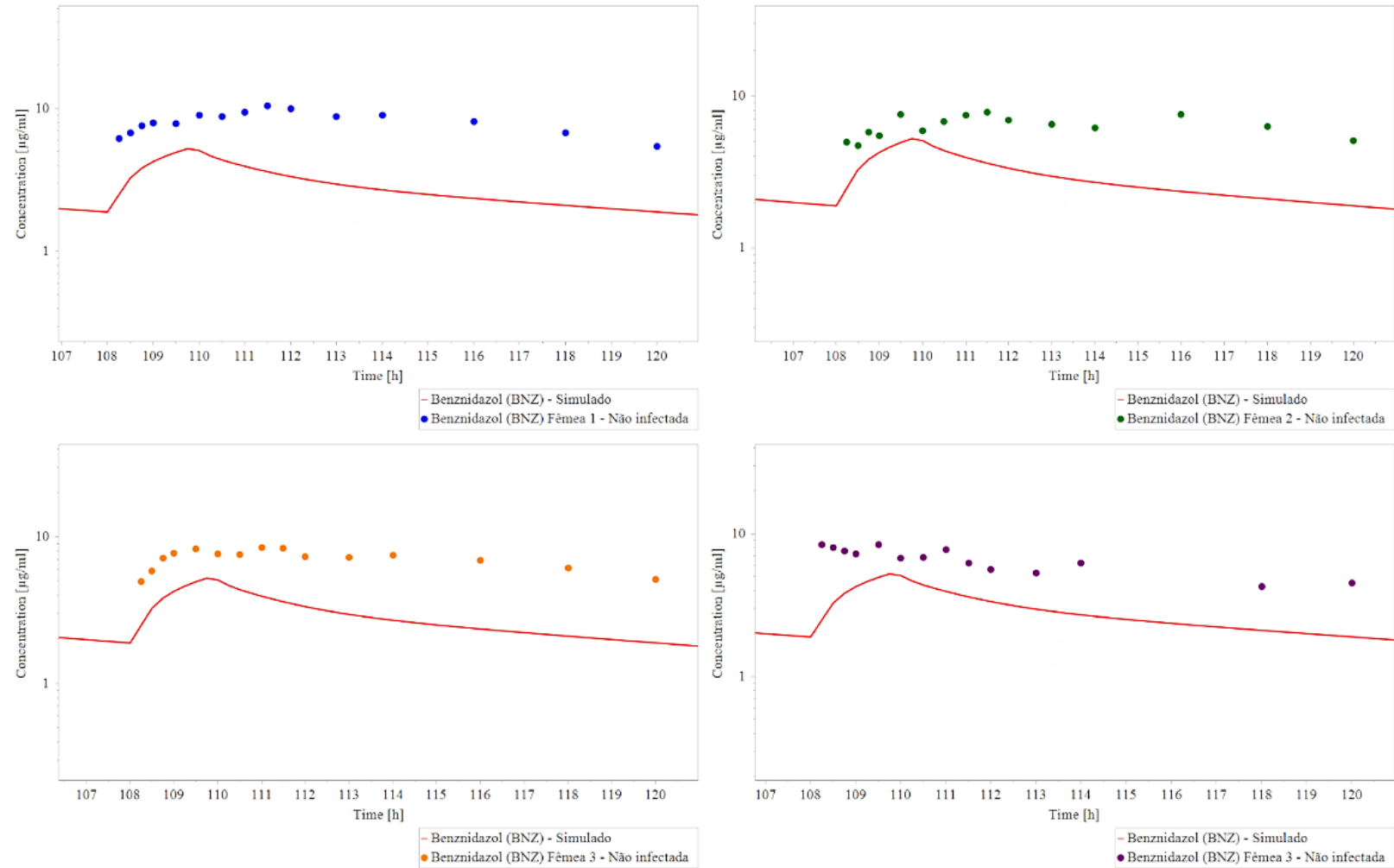
Diante disso, embora quarta simulação tenha promovido o aumento discreto da exposição sistêmica do BNZ, as concentrações simuladas permaneceram inferiores às observadas experimentalmente. Assim, foi realizada a quinta simulação, empregando os seguintes valores:

Tabela 8 - Parâmetros simulação 5

Parâmetros	Valor	Unidade
Lipofilicidade (LogP)	1.15	-
Fração não ligada ao plasma	40.2	%
Peso molecular	260.25	g/mol
pKa	Ácido: 13.68 Básico: 1.52	-
Solubilidade em água	0.325	mg/ml

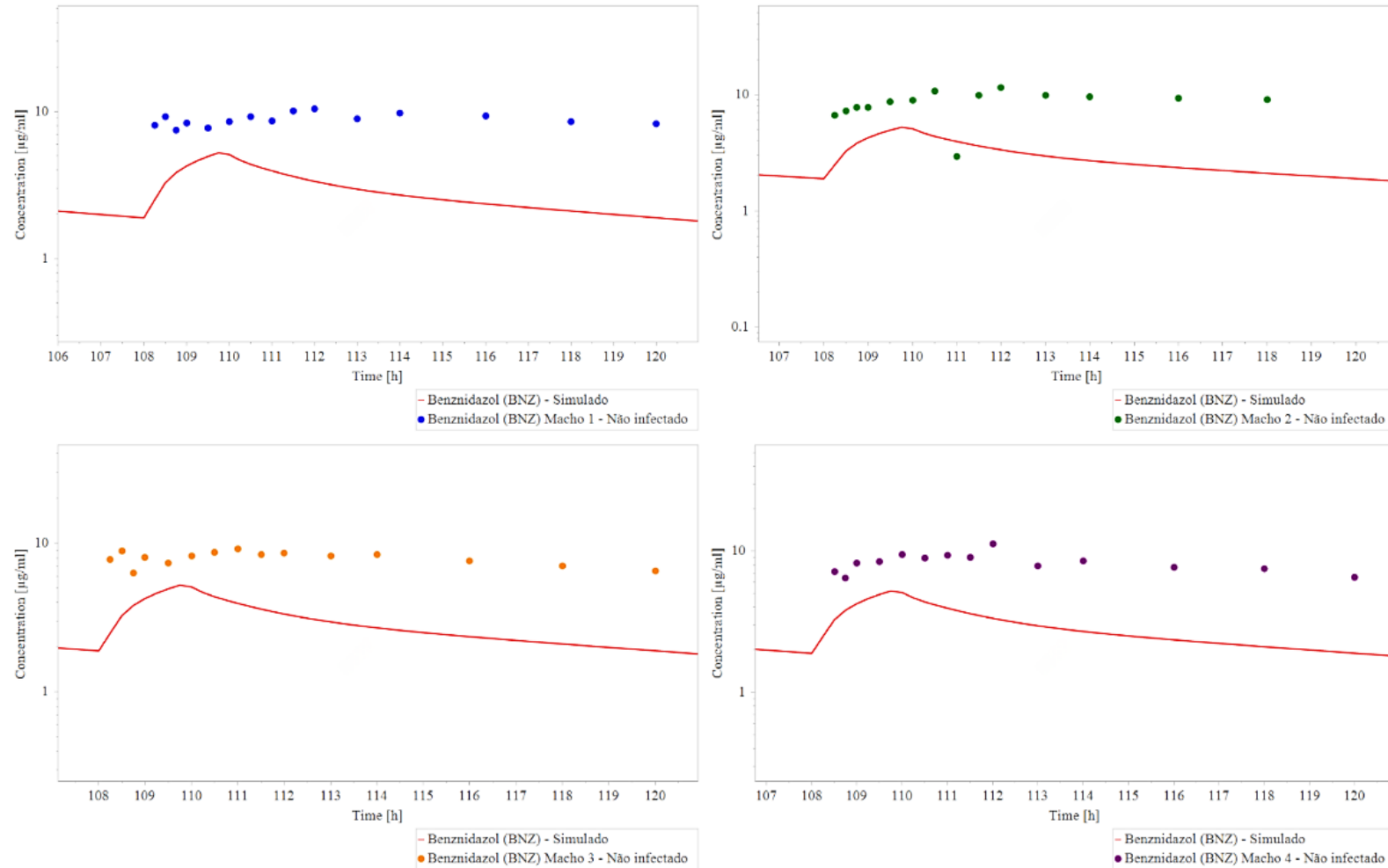
A partir dessa parametrização foi obtido o perfil farmacocinético apresentado a seguir.

Figura 22 - Simulação 5: Fêmeas não infectadas



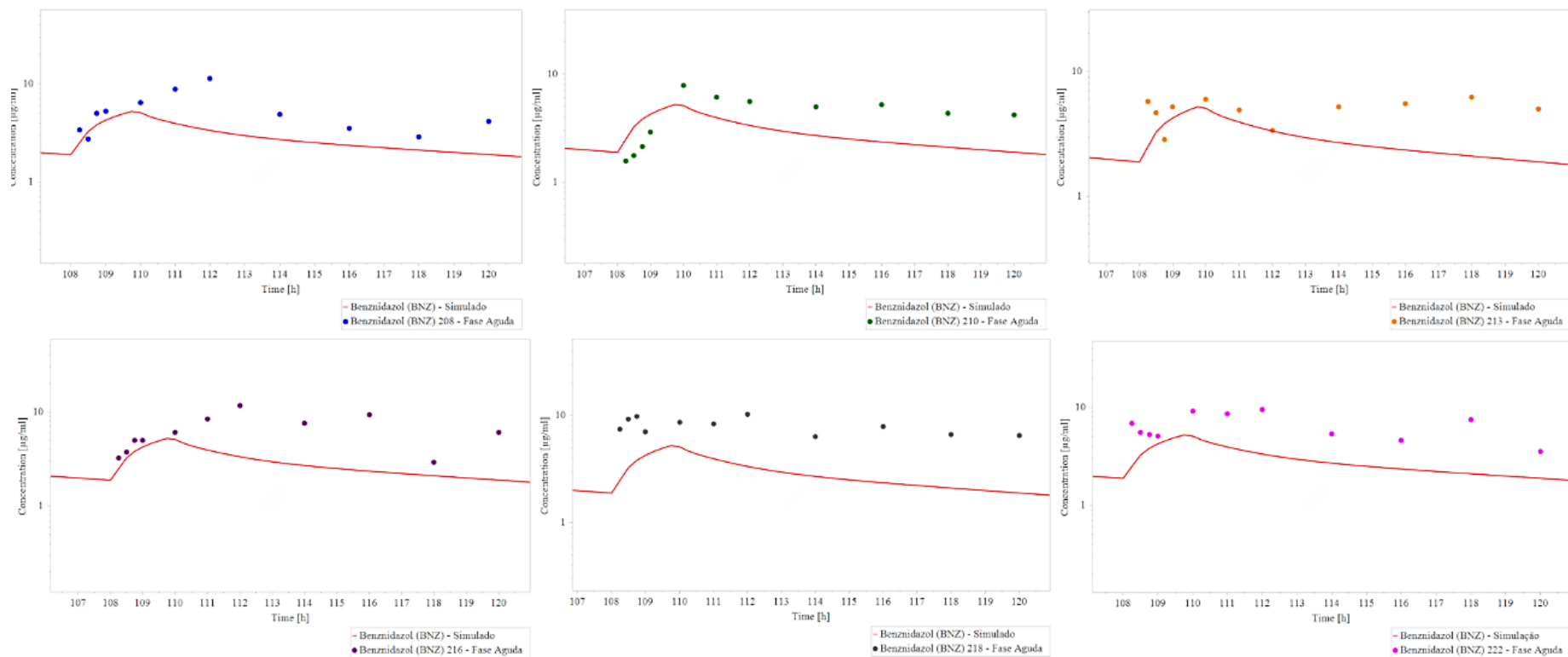
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 23 - Simulação 5: Machos não infectados



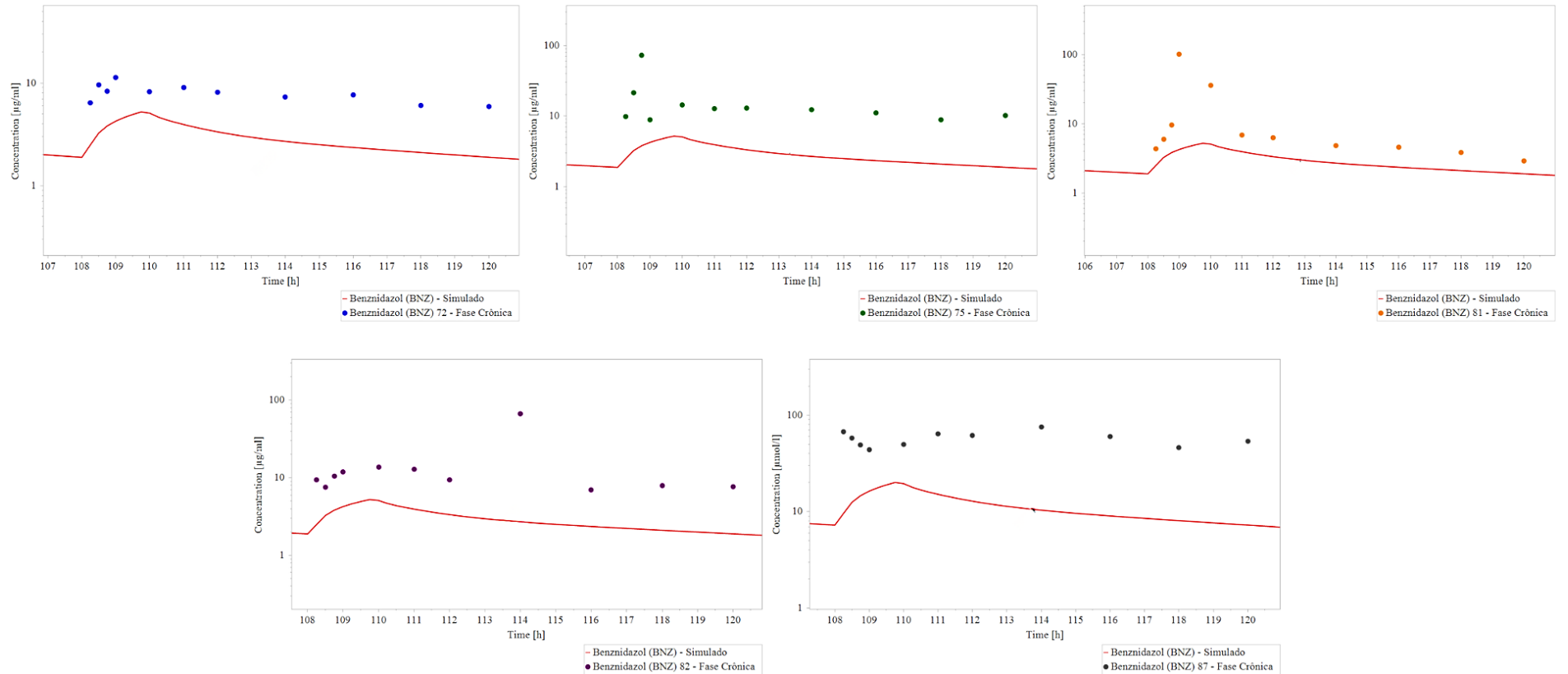
Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 24 - Simulação 5: Fase Aguda



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

Figura 25 - Simulação 5: Fase Crônica



Fonte: Software PK-Sim® (versão 12.3)

O perfil de concentração *versus* tempo gerado na quinta simulação revelou um aumento expressivo das concentrações plasmáticas de benznidazol, estabelecendo um pico máximo ($C_{máx}$) evidente entre 109 e 110 horas. Após o pico, a curva assume uma trajetória de decaimento gradual, compatível com a fase de eliminação do fármaco. Em contraste com as outras simulações, esse perfil de parâmetros demonstrou uma capacidade de maior predição à morfologia da curva, delineando melhor as fases de absorção e eliminação.

A quinta simulação demonstrou uma melhora na capacidade preditiva do modelo PBPK, com formação de um pico de concentração máxima ($C_{máx}$) mais pronunciado quando comparado às simulações anteriores. Entretanto, apesar desse avanço a curva simulada permaneceu subestimando as concentrações experimentais ao longo do intervalo avaliado, indicando que ainda existem limitações na parametrização do modelo.

Segundo Lin e colaboradores (2022) um modelo PBPK é definido por dois pilares: o modelo fisiológico (parâmetros do sistema) e o modelo da droga (parâmetros específicos do fármaco). A qualidade das predições depende de todos os dados disponíveis, incluindo dados *in vitro* (metabolismo, transportadores), *in silico* (coeficientes de partição) e *in vivo*, permitindo adequada caracterização dos parâmetros relacionados ao fármaco e ao sistema biológico, sendo a comparação entre dados simulados e experimentais uma etapa indispensável para identificar as principais fontes de incerteza e direcionar o refinamento do modelo. Dessa forma, a persistente subestimação observada na quinta simulação sugere que, além dos valores de LogP e de fração não ligada ao plasma outros parâmetros farmacocinéticos podem necessitar de otimização para representar de forma mais fiel a farmacocinética do benznidazol.

Uma revisão realizada por Huang e colaboradores (2024) afirma que a falta de parâmetros específicos de cada espécie, continua sendo um dos principais desafios na construção e robustez de modelos PBPK. Os modelos PBPK são altamente sensíveis a parâmetros relacionados à droga (incluindo ADME), e a escassez ou incerteza desses parâmetros constitui uma das principais limitações para a construção de modelos com elevada capacidade preditiva, especialmente em estudos de extrapolação entre espécies e em condições fisiopatológicas distintas. Para a doença de Chagas, não foram encontrados estudos que mostram quais as alterações fisiológicas acontecem no organismo após a infecção por *T. cruzi*, em ambas as fases da doença, dificultando a caracterização do modelo PBPK.

Nesse contexto, embora a quinta simulação tenha promovido melhor concordância entre as concentrações simuladas e experimentais, a permanência de diferença entre as curvas reforça a necessidade de novos refinamentos do modelo, incorporando parâmetros experimentais mais robustos e estratégias adicionais de calibração, aumentando a aplicabilidade na predição farmacocinética do benznidazol.

6.4- Análises farmacocinéticas e estatísticas

Embora a observação visual das curvas de concentração plasmática *versus* tempo tenha permitido avaliar qualitativamente o impacto das diferentes parametrizações sobre o perfil cinético do benznidazol, uma comparação foi conduzida quantitativamente por meio dos principais parâmetros farmacocinéticos. Foram avaliadas variáveis como concentração máxima ($C_{máx}$), tempo para atingir a concentração máxima ($T_{máx}$), área sob a curva (AUC), meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$), o que possibilitou mensurar as divergências entre os cenários e verificar sua precisão frente aos dados experimentais. Complementarmente, foi realizada uma análise estatística, o cálculo de *average fold error* (AFE), para verificar se as diferenças entre os valores simulados e experimentais eram estatisticamente significativas.

Os valores correspondem às médias dos parâmetros farmacocinéticos estimados pelo PK-Sim® para cada população simulada, permitindo a comparação global entre os diferentes cenários fisiopatológicos.

Para a primeira simulação foram encontrados os seguintes valores:

Tabela 9 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 1

Parâmetros	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min/l}$] (Simulado)	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min/l}$] (Observado)	C_{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Simulado)	C_{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Observado)	T_{máx} [h] (Simulado)	T_{máx} [h] (Observado)	Meia vida [h] (Simulado)	Meia vida [h] (Observado)
Fêmeas não infectadas	46949,09	18564,41	8,9	33,78	110,75	110,43	13,11	6,78
Machos não infectados	46949,09	21903,67	8,9	40,74	110,75	117,75	13,11	35,70
Fase Aguda	46949,09	16457,87	8,9	33,78	110,75	112,66	13,11	15,99
Fase Crônica	46949,09	37891,16	8,9	169,32	110,75	110,65	13,11	37,05

Para os valores de AUC, o cálculo do *Average Fold Error* (AFE) resultou em valor superior a 2,0, indicando uma super predição acentuada da exposição sistêmica simulada em relação aos dados experimentais. Em contrapartida, a $C_{\text{máx}}$ apresentou AFE inferior a 0,5, evidenciando uma importante sub-predição desse parâmetro. Por sua vez, o $T_{\text{máx}}$ e a meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$) apresentara valores compreendidos entre 0,8 e 1,25, caracterizando excelente concordância entre os valores simulados e experimentais. Segundo Li *et al.* (2020), as discrepâncias entre os valores previstos e experimentais durante as etapas iniciais do desenvolvimento do modelo são esperadas e representam uma importante ferramenta para identificação dos parâmetros que necessitam de refinamento.

Em alguns animais, a estimativa da meia-vida de eliminação apresentou valores negativos devido à impossibilidade de ajuste adequado da fase terminal da curva concentração *versus* tempo. Esses resultados foram considerados artefatos matemáticos decorrentes da elevada variabilidade experimental e da ausência de uma fase terminal bem definida, não sendo utilizados para interpretação farmacocinética.

Dessa forma, considerando a super predição observada na segunda simulação, evidenciada pelo valor de AUC, a segunda simulação mostrou o impacto das modificações dos parâmetros de entrada no perfil farmacocinético.

Tabela 10 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 2

Parâmetros	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{l}$] (Simulado)	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{l}$] (Observado)	C_{máx} [$\mu\text{mol}/\text{L}$] (Simulado)	C_{máx} [$\mu\text{mol}/\text{L}$] (Observado)	T_{máx} [h] (Simulado)	T_{máx} [h] (Observado)	Meia vida [h] (Simulado)	Meia vida [h] (Observado)
Fêmeas não infectadas	4892,36	18474,19	2,44	33,76	73,75	110,56	4,99	6,78
Machos não infectados	4892,36	21903,42	2,44	29,15	73,75	117,75	4,99	35,70
Fase Aguda	4892,36	16715,48	2,44	31,73	73,75	112,66	4,99	26,93
Fase Crônica	4892,36	36741,55	2,44	210,47	73,75	110,95	4,99	37,173

Na segunda simulação, o cálculo do AFE resultou em valores inferiores a 0,5 para a AUC e a meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$), indicando sub-predição desses parâmetros em relação aos dados experimentais. Em contrapartida, os valores de $C_{\text{máx}}$ e $T_{\text{máx}}$ permaneceram dentro da faixa de aceitabilidade (AFE entre 0,5 e 2,0), demonstrando concordância satisfatória entre os resultados simulados e experimentais. Esses resultados indicam que as modificações implementadas na segunda simulação otimizaram a predição dos parâmetros associados ao processo de absorção. Porém, ainda persistem limitações na estimativa da eliminação do fármaco e da sua exposição sistêmica total.

Em Chenel e colaboradores (2026), estabelecer os critérios de aceitação é indispensável para garantir a integridades e a transparência da validação, sendo que o rigor das métricas deve refletir o contexto de aplicação do modelo. No presente cenário, a adequação de $C_{\text{máx}}$ e $T_{\text{máx}}$ reflete uma modelagem bem-sucedida na fase de absorção. Contudo, a sub-predição de AUC e meia de vida de eliminação reforçam que a parametrização ainda precisa de refinamento. Essa dualidade, reforça Al-Qassabi *et al.* (2024) que a conformidade dos parâmetros ao critério de duas vezes não traduz necessariamente a robustez total do modelo, pois pode encobrir falhas em outros processos farmacocinéticos. Dessa forma, a segunda simulação tem um comportamento aceitável, compatível com modelos em estágio de desenvolvimento, mas que necessitam de ajustes.

Diante das limitações, na terceira simulação com ajustes de novos parâmetros de entrada. O objetivo foi reduzir as discrepâncias entre os valores preditos e observados, aprimorando capacidade preditiva do modelo.

Tabela 11 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 3

Parâmetros	AUC [μmol*min/l] (Simulado)	AUC [μmol*min/l] (Observado)	C_{máx} [μmol/L] (Simulado)	C_{máx} [μmol/L] (Observado)	T_{máx} [h] (Simulado)	T_{máx} [h] (Observado)	Meia vida [h] (Simulado)	Meia vida [h] (Observado)
Fêmeas não infectadas	262,22	18564,195	0,06	33,75	113,25	110,56	5,79	6,78
Machos não infectados	262,22	21903,42	0,06	40,74	113,25	111,75	5,79	35,70
Fase Aguda	262,22	16715,48	0,06	36,39	113,25	112,66	5,79	26,93
Fase Crônica	262,22	36741,55	0,06	210,47	113,25	110,95	5,79	37,34

Na terceira simulação, os valores de AUC, $C_{\text{máx}}$ e meia-vida de eliminação apresentaram AFE inferior a 0,5, indicando sub-predição desses parâmetros em relação aos dados experimentais. Em contrapartida, o $T_{\text{máx}}$ apresentou AFE igual a 1,0, evidenciando concordância perfeita entre o valor simulado e o observado, o que demonstra elevada capacidade do modelo em prever o tempo necessário para atingir a concentração plasmática máxima.

De acordo com Kuepfer e colaboradores (2016), a construção de modelos PBPK fundamenta-se na integração de parâmetros do organismo e do fármaco, onde a sensibilidade do modelo a cada variável de entrada é heterogênea, ou seja, diferenças entre parâmetros farmacocinéticos durante o desenvolvimento de modelos PBPK são esperadas, uma vez que a influência de cada parâmetro de entrada sobre o perfil concentração-tempo não é uniforme. Assim, por mais que a predição perfeita de $T_{\text{máx}}$ na terceira simulação sugere resultados satisfatórios nos processos relacionados a absorção, a sub-predição da AUC, $C_{\text{máx}}$ e da meia-vida de eliminação evidencia que parâmetros associados à distribuição e à eliminação do benznidazol ainda demandam refinamento.

Diante desses resultados, foram realizados novos ajustes nos parâmetros de entrada, dando origem à quarta simulação, com o objetivo de melhorar a capacidade preditiva do modelo, visando reduzir discrepâncias. Os resultados foram os seguintes:

Tabela 12 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 4

Parâmetros	AUC [$\mu\text{mol}\cdot\text{min/l}$] (Simulado)	AUC [$\mu\text{mol}\cdot\text{min/l}$] (Observado)	C_{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Simulado)	C_{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Observado)	T_{máx} [h] (Simulado)	T_{máx} [h] (Observado)	Meia vida [h] (Simulado)	Meia vida [h] (Observado)
Fêmeas não infectadas	3751,77	18564,19	0,68	33,75	113,5	110,56	5,79	6,78
Machos não infectados	3751,77	21903,42	0,68	40,74	113,5	111,75	5,79	35,70
Fase Aguda	3751,77	16715,48	0,68	36,39	113,5	112,66	5,79	726,93
Fase Crônica	3751,77	36741,55	0,68	210,47	113,5	110,95	5,79	27,10

Na quarta simulação, os resultados permaneceram praticamente inalterados em relação à terceira simulação. Os parâmetros de AUC, $C_{\text{máx}}$ e meia-vida de eliminação continuaram apresentando valores de AFE inferior a 0,5, evidenciando a persistência da subpredição desses parâmetros. Da mesma forma, o $T_{\text{máx}}$ manteve AFE igual a 1,0, indicando predição perfeita desse parâmetro. Esses resultados sugerem que as modificações implementadas na quarta simulação não exerceram impacto significativo sobre a capacidade preditiva do modelo.

Segundo Shebley e colaboradores (2018), o desenvolvimento de modelos PBPK baseia-se em um processo iterativo de “prever, aprender e confirmar”, no qual as modificações implementadas devem ser avaliadas de forma integrada, considerando ao mesmo tempo os parâmetros farmacocinéticos e a capacidade do modelo em reproduzir o perfil concentração-tempo observado. Nesse sentido, a manutenção dos resultados entre a terceira e quarta simulações indica que os ajustes realizados não foram suficientes para melhorar a representação sistêmica do BNZ, enfatizando a necessidade de novos refinamentos nos parâmetros com maior influência sobre AUC, $C_{\text{máx}}$ e meia-vida de eliminação.

A partir dessas constatações, teve o reajuste dos parâmetros de entrada na quinta simulação, buscando elevar o poder preditivo do modelo e aproximá-lo do perfil experimental, gerando os seguintes resultados:

Tabela 13 - Parâmetros farmacocinéticos da simulação 5

Parâmetros	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min/l}$] (Simulado)	AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{min/l}$] (Observado)	C _{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Simulado)	C _{máx} [$\mu\text{mol/L}$] (Observado)	T _{máx} [h] (Simulado)	T _{máx} [h] (Observado)	Meia vida [h] (Simulado)	Meia vida [h] (Observado)
Fêmeas não infectadas	79617,77	18564,19	20,11	33,77	109,75	110,56	13,03	6,78
Machos não infectados	79617,77	21903,42	20,11	40,74	109,75	11,75	13,03	35,70
Fase Aguda	79617,77	16715,48	20,11	36,39	109,75	112,66	13,03	26,93
Fase Crônica	79617,77	36741,55	20,11	210,47	109,75	110,95	13,03	37,05

Na quinta simulação, a AUC apresentou AFE superior a 2,0, revelando uma super predição da exposição sistêmica do benznidazol. Em contrapartida, a $C_{m\acute{a}x}$ permaneceu subestimada com AFE inferior a 0,5. Já o $T_{m\acute{a}x}$ e a meia-vida de eliminação exibiram valores de AFE entre 0,8-1,25, o que demonstra excelente concordância entre os dados simulados e experimentais. Esses achados sugerem que o modelo representou bem as fases de absorção e terminal da eliminação, mas falhou em estimar o pico e a exposição sistêmica total.

A ocorrência de super predição da AUC associada à sub-predição da $C_{m\acute{a}x}$ sugere que o perfil concentração-tempo simulado apresentou concentrações mais distribuídas ao longo do tempo, com pico inferior ao observado (fig. 23-26), mas as concentrações plasmáticas foram suficientes para elevar a exposição total. Esse comportamento pode estar relacionado a limitações na representação da absorção intestinal, distribuição tecidual e depuração do benznidazol (Kuepfer *et al.*, 2016). Embora a concordância de $T_{m\acute{a}x}$ e meia-vida de eliminação indiquem proximidade adequada, não exclui imprecisões na estimativa da depuração sistêmica ou na biodistribuição do fármaco.

Uma limitação importante do modelo é a ausência de dados experimentais de biodisponibilidade em cães infectados por *Trypanosoma cruzi*. Na falta dessas informações, os processos de absorção foram representados com base em parâmetros da literatura, estimativas *in silico* e de dados de animais saudáveis. Entretanto, infecção pode alterar a função gastrointestinal, modificando tanto a fração absorvida quanto a velocidade de chegada do fármaco à circulação sistêmica. Assim, o uso de um único valor de biodisponibilidade ou de parâmetros de absorção derivados de animais saudáveis pode não captar adequadamente as alterações fisiopatológicas presentes em cães infectados.

A sub-predição de $C_{m\acute{a}x}$ também sugere necessidade de calibração mais precisa da permeabilidade intestinal, parâmetro que influencia diretamente a velocidade de absorção e o pico plasmático (FDA, 2020a). De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica da FDA, a absorção oral é governada por duas propriedades intrínsecas: solubilidade em água e permeabilidade do fármaco através da membrana intestinal. A solubilidade é limitante para a biodisponibilidade oral por viabilizar a dissolução da molécula no lúmen gástrico (AZMAN *et al.*, 2022). Dessa forma, uma permeabilidade subestimada pode retardar ou limitar a entrada do fármaco na circulação, reduzindo a $C_{m\acute{a}x}$ mesmo quando a quantidade total absorvida ao longo do tempo permanece elevada.

Outro aspecto relevante é a influência do *clearance* hepático. A depuração hepática influencia diretamente a exposição sistêmica do fármaco, além de determinar

parâmetros como dose, meia-vida e biodisponibilidade (SODHI; BENET, 2021). Como a AUC é inversamente proporcional à depuração sistêmica, sua super predição pode decorrer de uma estimativa reduzida do *clearance*, levando à permanência excessiva do fármaco na circulação (KUEPFER *et al.*, 2016). Alterações hepáticas associadas à infecção, ao processo inflamatório e à progressão da doença podem afetar o fluxo sanguíneo hepático, a expressão e atividade de enzimas metabolizadoras e, consequentemente, a capacidade de eliminação do benznidazol.

As distinções fisiopatológicas entre os estágios da infecção por *T.cruzi* são determinantes para a disposição cinética do BNZ, exigindo que o modelo PBPK considere as particularidades de cada fase. Em Bandeira e colaboradores (2026), o artigo de base deste trabalho, mostrou que a fase aguda apresenta elevada parasitemia e resposta inflamatória sistêmica, demonstrou que a farmacocinética do BNZ nesse estágio permanece semelhante à de animais saudáveis, sugerindo que os níveis de IL-6 não são suficientes para alterar significativamente o perfil cinético do fármaco. Em contrapartida, a fase crônica é marcada por estado inflamatório persistente, com níveis de IL-6 elevados aproximadamente 7 vezes superior ao apresentado na fase aguda, associado também a mudanças drásticas nos parâmetros de exposição. Nesse estágio, observa-se aumento expressivo de $C_{máx}$ e da AUC, acompanhado por redução no volume de distribuição (V_d) e no *clearance* aparente (Cl). Tais alterações indicam maior exposição sistêmica, possivelmente resultante da modulação de enzimas e proteínas de efluxo, como a P-gp, mediada pelas altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, para refinamento sucessivo de modelos PBPK, em cães, nas fases aguda e crônica não devem ser tratados como fisiologicamente equivalentes.

Assmus e colaboradores (2025) demonstraram que a exposição ao BNZ, representada principalmente pela AUC e $C_{máx}$, está diretamente relacionada a cura parasitológica, reforçando que as limitações nas estimativas desses parâmetros podem comprometer a capacidade do modelo em prever a eficácia terapêutica. Embora o presente estudo tenha empregado um modelo PBPK, e não modelo PK/PD, os resultados obtidos corroboram a importância da correta predição dos parâmetros farmacocinéticos.

Considerando a crescente importância da ferramenta PBPK junto às agências regulatórias para a aprovação de novos medicamentos ou regimes posológicos, torna-se imperativo discutir essa temática no contexto da doença de Chagas, cujos resultados da quinta simulação deve ser interpretados como um avanço parcial na modelagem, e não como uma validação definitiva. Embora a concordância obtida para $T_{máx}$ e meia vida

indique que esses componentes essenciais foram adequadamente representados, as diferenças observadas em AUC e $C_{\text{máx}}$ expõem o desafio de realizar refinamentos futuros.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que o modelo desenvolvido constitui uma relevante aplicação de PBPK na doença de Chagas e o POP proposto fornece uma metodologia padronizada aplicável a futuros estudos com outros fármacos e cenários fisiopatológicos. Apesar da necessidade de refinamentos e de incorporação de dados específicos das fases aguda e crônica, este trabalho estabelece uma base sólida para o desenvolvimento de modelos PBPK mais robustos e contribui para o avanço da farmacometria na doença de Chagas, com potencial para otimização de esquemas terapêuticos.

8. REFERÊNCIAS

- ABOUIR, K. *et al.* Reviewing Data Integrated for PBPK Model Development to Predict Metabolic Drug-Drug Interactions: Shifting Perspectives and Emerging Trends. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 708299, p. 1-22, 2021.
- ALMEIDA, M.C. *et al.* Knowledge about Chagas disease among Primary Health Care professionals in a municipality located in northeastern Brazil, **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 20, n. 2, 00114000, 2026.
- AL-QASSABI, J. *et al.* Facing the Facts of Altered Plasma Protein Binding: Do Current Models Correctly Predict Changes in Fraction Unbound in Special Populations? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 113, n. 8, p. 1664-1673, 2024.
- AMER, B. *et al.* Omics-Driven Biotechnology for Industrial Applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 613307, 2021.
- ASSMUS, F. *et al.* Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of benznidazole and its antitrypanosomal activity in a murine model of chronic Chagas disease, **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, e0012968, 2025.
- AZMAN, M. *et al.* Intestinal Absorption Study: Challenges and Absorption Enhancement Strategies in Improving Oral Drug Delivery, **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, 2022.
- BANDEIRA, L. C. *et al.* Influence of Chagas Disease on the Pharmacokinetics of Benznidazole in the Dog Model. **ACS Pharmacology & Translational Science**, v. 9, p. 596-607, 2026.
- BANDEIRA, L.C. *et al.* Pharmacometrics: The Already-Present Future of Precision Pharmacology. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, v. 57, p. 57-6957-59, 2022.
- BARRET, J.S. *et al.* Pharmacometrics: A Multidisciplinary Field to Facilitate Critical Thinking in Drug. Development and Translational Research Settings. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 5, p. 632-649, 2008.
- BOHNERT, T.; GAN, L.S. Plasma protein binding: from discovery to development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 9, p. 2953–2994, 2013.
- CANÇADO, J. R. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 1, p. 29– 37, 2002.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **DPDx - American Trypanosomiasis**. Atlanta: CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/americantrypanosomiasis/>>. Acesso em: 5 ago. 2026.
- CHANDRA, L. *et al.* Derivation of adult canine intestinal organoids for translational research in gastroenterology. **BMC Biology**, v. 17, n. 33, 2019.

CHENEL, M. *et al.* Best Practices in Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 15, n. 7, e70295, 2026.

Comer, J.; and Tam, K. Lipophilicity Profiles: Theory and Measurement. **In Pharmacokinetic Optimization in Drug Research: Biological, Physicochemical, and Computational Strategies**, Zürich: Verlag Helvetica Chimica Acta; Weinheim: Wiley-VCH, p. 275-304, 2001.

CROFT, S. L. *In vitro* screens in the experimental chemotherapy of leishmaniasis and trypanosomiasis. **Parasitology Today**, v. 2, n. 3, p. 64-69, 1986.

CRUZ, C.V. *et al.* Adverse events associated with benznidazole treatment for Chagas disease in children and adults, **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 90, n. 12, p. 3334-3347, 2024.

DE LANA, M. Experimental Studies of Chagas Disease in animal models. **American Trypanosomiasis Chagas Disease**, p. 299-320, 2017.

LANA, M. *et al.* Caracterização biológica comparativa das cepas Berenice e Berenice-78 de *Trypanosoma cruzi* isoladas da mesma paciente em diferentes períodos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 3, p. 247–253, 1986.

DE SOUSA, A.S. *et al.*, VERMEJI, D., RAMOS JR, A.N.R., LUQUETTI, A.O. Chagas Disease, **The Lancet**, v. 403, 2024.

DI, L. An update on the importance of plasma protein binding in drug discovery and development, **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 16, n. 12, p. 1453-1465, 2021.

DIAS, J. C. P. Evolution of Chagas disease screening programs and control programs: historical perspective. **Global Heart**, v. 10, n. 3, p. 193-202, 2015.

DRESSMAN, J.B. Comparison of Canine and Human Gastrointestinal Physiology. **Pharmaceutical Research**, v.3, n. 3, 1986.

ESQLABS. *ESQlabs Learning Platform*. Disponível em: <https://learn.esqlabs.com/index/>. Acesso em: 05/08/2026.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). The use of physiologically based pharmacokinetic analyses — biopharmaceutics applications for oral drug product development, manufacturing changes, and controls: guidance for industry, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/guidance-compliance-regulatory-information/guidances-drugs>. Acesso em: 26/01/2026.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a

Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry, 2020a. Disponível em: <[Guidances | Drugs | FDA](#)>. Acesso em: 05/08/2026.

FOUNTZILAS, E. *et al.* Clinical trial design in the era of precision medicine, **Genome Medicine**, v. 14, n. 101, 2022.

GAUDELET, T. *et al.* Utilizing graph machine learning within drug Discovery and development, **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 6, p. 1-22, 2021.

HEFTI, F. F. Requirements for a lead compound to become a clinical candidate. **BMC Neuroscience**, v. 9, n. 3, 2008.

HUANG, H. *et al.* Recent Progress on Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Model: A Review Based on Bibliometrics. **Toxics**, v. 12, n. 6, art. 433, p. 1-21, 2024.

ISOHERRANEN, N. Physiologically based pharmacokinetic modeling of small molecules: How much progress have we made? **Drug Metabolism and Disposition**, v. 53, n.1, 100013, 2024.

KLIMOSZEK, D. *et al.* Study of the Lipophilicity and ADMET Parameters of New Anticancer Diquinotiazines with Pharmacophore Substituents, **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 6, p. 725, 2024.

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

LAFEPE, BENZNIDAZOL. Responsável técnico: Leduar Guedes de Lima. Recife: LAFEPE, Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco, 2013.

LAMAS, M. C. *et al.* Development of parenteral formulations and evaluation of the biological activity of the trypanocide drug benznidazole. **International Journal of pharmaceuticals**, v. 307, n. 2, p. 239-243, 2006.

LANA, M. *et al.* Caracterização biológica comparativa das cepas Berenice e Berenice-78 de *Trypanosoma cruzi* isoladas da mesma paciente em diferentes períodos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 3, p. 247–253, 1986.

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.

LIN, W. *et al.* Applications, Challenges, and Outlook for PBPK Modeling and Simulation: A Regulatory, Industrial and Academic Perspective. **Pharmaceutical Research**, v. 39, p. 1701-1731, 2022.

LIN, Y. *et al.* Global burden and trends of neglected tropical diseases from 1990 to 2019, **Journal of Travel Medicine**, v. 29, n. 3, p. 1-11, 2022.

MALAFAIA, G. A importância do encorajamento de estudos sobre as doenças tropicais negligenciadas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 609–610, 2009

MARQUES, L. *et al.* Advancing Precision Medicine: A Review of Innovative In Silico Approaches for Drug Development, Clinical Pharmacology and Personalized Healthcare, **Pharmaceutics**, v. 16, n. 3, 2024.

MAXIMIANO, F. P. *et al.* Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 8, p. 1714-19, 2010.

MOREIRA DA SILVA, R. *et al.* Preclinical monitoring of drug association in experimental chemotherapy of Chagas' disease by a new HPLC-UV method. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 6, p. 3344-48, 2012.

MORENO, M. *et al.* Trypanosoma cruzi benznidazole susceptibility *in vitro* does not predict the therapeutic outcome of human Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, n. 7, p. 918-924, 2010.

NEELY, M. *et al.* Pharmacometric modeling and simulation is essential to pediatric clinical pharmacology, **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 58, p. S73-S85, 2018.

NUNES, M.C.P. *et al.* Clinical features of Chagas disease progression and severity. **The Lancet Regional Health – Americas**, v. 37, 100832, 2024.

OECD. Guidance Document on the Characterisation, Validation and Reporting of Physiologically Based Kinetic (PBK) Models for Regulatory Purposes. **OECD Series on Testing and Assessment**, 2021. Disponível em: <[Guidance document on the characterisation, validation and reporting of Physiologically Based Kinetic \(PBK\) models for regulatory purposes | OECD](https://www.oecd.org/publications/guidance-document-on-the-characterisation-validation-and-reporting-of-physiologically-based-kinetic-pbk-models-for-regulatory-purposes/)>. Acesso em: 05/08/2026.

OPEN SYSTEMS PHARMACOLOGY. **Open Systems Pharmacology Suite Manual & Copyright**. Disponível em: <<https://www.open-systems-pharmacology.org/>>. Acesso em: 18 jul. 2026.

PANSARI, A. *et al.* A tutorial on physiologically based pharmacokinetic approaches in lactation research. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 13, n. 11, p. 1841-1855, 2024.

PERDOMO, V. G. *et al.* Modulation of biotransformation systems and ABC transporters by Benznidazole in rats. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, v. 57, n. 10, p. 4894–4902, 2013.

PÉREZ-MOLINA, J.A. *et al.* Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. ***Journal of Antimicrobial Chemotherapy***, v. 64, n. 6, p. 1139-1147, 2009.

PERIN, L. *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of benznidazole after oral administration in mice. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, v. 61, n. 4, 0241016, 2017.

RAAFLAUB, J. Multiple-dose kinetics of the trypanosomicide benznidazole in man. ***Arzneimittel-forschung***, v. 30, n. 12, p. 2192-2194, 1980.

RIBEIRO, C.M. *et al.* Antioxidant therapy attenuates oxidative insult caused by benznidazole in chronic Chagas' heart disease. ***International Journal of Cardiology***, v. 145, n. 1, p. 27-33, 2010.

ROLIM, L.A. **Estudo da degradação do fármaco benznidazol utilizado no combate à doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação**, 2010. Dissertação (Mestrado) Inovação Terapêutica, Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SANCHEZ, J.M. *et al.* Biopharmaceutical optimization in neglected diseases for paediatric patients by applying the provisional paediatric biopharmaceutical classification system. ***British Journal of Clinical Pharmacology***, v. 84, n. 10, p. 2231-41, 2018.

SANTOS, F.M. *et al.* Chagas cardiomyopathy: The potential effect of benznidazol treatment on diastolic dysfunction and cardiac damage in dogs chronically infected with *Trypanosoma cruzi*, ***Acta Tropica***, v. 161, p. 44-54, 2016.

SHEBLEY, M. *et al.* Physiologically Based Pharmacokinetic Model Qualification and Reporting Procedures for Regulatory Submissions: A Consortium Perspective. ***Clinical Pharmacology & Therapeutics***, v. 104, n. 1, p. 88-110, 2018.

SILVEIRA, G.P.E. *et al.* Benznidazole pharmacokinetics in patients with chronic Chagas disease: association with demographic factors and adverse drug reactions, ***Journal of Antimicrobial Chemotherapy***, v. 81, 2026.

SODHI, J.K., BENET, L.Z. Successful and Unsuccessful Prediction of Human Hepatic Clearance for Lead Optimization, ***Journal of Medicinal Chemistry***, v. 64, n. 7, p. 3546-3559, 2021.

SOHLENIUS-STERNEBECK, A.K.; TERELIUS, Y. Evaluation of ADMET Predictor in Early Discovery Drug Metabolism and Pharmacokinetics Project Work, **Drug Metabolism and Disposition**, v. 50, n. 2, p. 95-104, 2022.

SWE, M.M.M. *et al.* A systematic review of neglected tropical diseases (NTDs) in Myanmar, **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 11, 0011706, 2023.

URBINA, J.A. Specific chemotherapy of Chagas disease: relevance, current limitations and new approaches. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 55-68, 2010.

USMAN, M. *et al.* Pharmacometrics: A New Era of Pharmacotherapy and Drug Development in Low -and Middle-Income Countries. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2023, 3081422, 2023.

VELOSO, V.M. *et al.* Variation in Susceptibility to Benznidazol in Isolates Derived from Trypanosoma cruzi Parental Strains, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 1005-1011, 2011.

VITOLO, Michele. **Biotecnologia aplicada**. São Paulo: Editora Blucher, 2024. E-book, capítulo 1, p.9. ISBN 9788521221067.

VITOLO, Michele. **Biotecnologia farmacêutica**. São Paulo: Editora Blucher, 2015. E-book, capítulo 1, p.22. ISBN 9788521208105.

WATT, K.M. *et al.* Physiologically based pharmacokinetic approach to determine dosing on extracorporeal life support: Puconazole in children on ECMO. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 7, n. 10, p. 629–637, 2018.

World Health Organization (WHO, 2026). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/chagas-disease>>. Acesso em: 16/05/2025

ZHANG, X.; LIONBERGER, R. A.; DAVIT, B. M.; YU, L. X. Utility of physiologically based absorption modeling in implementing Quality by Design in drug development. **The AAPS Journal**, v. 13, n. 1, p. 59–71, 2011.

ZINGALES, B. Trypanosoma cruzi genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta Tropica**, v. 184, p. 38-52, 2018.

ANEXO I

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO (POP)

Procedimento para coleta, organização e inserção de dados físico-químicos e farmacocinéticos no software PK-Sim® para construção de modelos PBPK.

1. Objetivo: Padronizar o processo de levantamento, avaliação, organização e inserção de parâmetros físico-químicos, biofarmacêuticos e farmacocinéticos no software PK-Sim®, visando à construção de modelos farmacocinéticos baseados em fisiologia (PBPK).

2. Campo de aplicação: Este procedimento aplica-se aos estudos de modelagem PBPK desenvolvidos pelo grupo de pesquisa, utilizando o software PK-Sim® para simulação farmacocinética de fármacos.

3. Responsabilidades:

- Pesquisador responsável: supervisionar a seleção dos parâmetros e validar os dados utilizados.
- Bolsista/aluno: realizar a busca bibliográfica, organizar os dados e inserir as informações no software.
- Equipe de pesquisa: revisar e aprovar os parâmetros adotados no modelo.

4. Materiais e softwares

- PK-Sim® (Open Systems Pharmacology)
- Microsoft Excel®
- PubMed®
- DrugBank®
- ChEMBL®
- PubChem®
- Artigos científicos indexados

5. Procedimento

5.1 Levantamento bibliográfico

- Realizar busca sistemática das informações do fármaco utilizando descritores específicos.

Exemplo:

- “Benznidazole physicochemical properties”
- “Benznidazole pharmacokinetics”

- “Benznidazole plasma protein binding”
- “Benznidazole permeability”

➤ Registrar todas as fontes consultadas.

5.2 Coleta dos parâmetros

➤ Registrar em planilha eletrônica:

Parâmetro| Unidade| Valor| Fonte

- Massa molecular (g/mol)
- pKa
- LogP
- Solubilidade (mg/mL)
- Fração livre plasmática (%)
- Razão sangue/plasma
- Permeabilidade intestinal (cm/s)
- *Clearance* (L/h/kg)

5.3 Avaliação crítica dos dados

➤ Quando existirem múltiplos valores para um mesmo parâmetro:

- priorizar dados experimentais;
- priorizar estudos mais recentes;
- comparar valores obtidos em diferentes fontes;
- justificar a escolha do valor adotado.

5.4 Inserção dos dados no PK-Sim®

➤ Criar composto no PK-Sim®.
 ➤ Inserir os parâmetros nas seguintes abas:
 ➤ *Basic Physico-Chemistry*

- Massa molecular
- pKa
- LogP
- Fração livre plasmática

➤ ADME → *Absorption*

- Permeabilidade intestinal

➤ ADME → *Distribution*

- Método de cálculo da distribuição

➤ ADME → *Metabolism*

- *Clearance* hepático
- Enzimas metabolizadoras (quando disponíveis).

➤ ADME → *Excretion*

- *Clearance* renal (quando disponível).

5.5 Verificação dos dados inseridos

➤ Após a inserção:

- Conferir unidades;
- Verificar consistência dos valores;
- Salvar versão do projeto;
- Registrar data da inserção.

5.6 Documentação

➤ Todos os parâmetros utilizados deverão ser documentados em planilha específica contendo:

- Valor utilizado;
- Unidade;
- Referência bibliográfica;
- Justificativa da escolha.

6. Controle de qualidade

➤ Antes da execução das simulações:

- ✓ Conferir unidades de todos os parâmetros;
- ✓ Verificar coerência fisiológica dos valores;
- ✓ Confirmar espécie utilizada;
- ✓ Confirmar protocolo de administração;

✓ Registrar versão do software PK-Sim® utilizada.

7. Registros

- Planilha de parâmetros do fármaco;
- Arquivo PK-Sim®;
- Relatório de modelagem;
- Referências bibliográficas utilizadas.

8. Referências

- OPEN SYSTEMS PHARMACOLOGY. PK-Sim® User Guide.
- Artigos científicos e bases de dados utilizadas na obtenção dos parâmetros.

USO DE IA

Durante a preparação deste documento, eu MIKAELLA CÂNDIDO COSTA, estudante de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – BACHARELADO declaro o uso de IAGen (Consensus e ChatGPT – versão 5.5), para busca e identificação de literatura científica e geração de imagens. Após o uso desta ferramenta (Consensus e ChatGPT - versão 5.5), a pessoa autora revisou e editou o conteúdo em conformidade com os princípios éticos para o uso de IAGen (resolução CONPEP 143) e com os acordos estabelecidos com a pessoa orientadora da pesquisa. Dessa forma, assumo total responsabilidade pelo conteúdo da publicação.