



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ»

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΔΙΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΟΤΑΝ Η ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ
ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ WEIBULL**

Διπλωματική Εργασία

Σοφία Ι. Ηλιοπούλου
Χημικός Μηχανικός
Α.Μ. 180306

Αθήνα 2020



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ»

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΔΙΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΟΤΑΝ Η ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ
ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ WEIBULL

Διπλωματική Εργασία

Σοφία Ι. Ηλιοπούλου
Χημικός Μηχανικός
Α.Μ. 180306

Αθήνα 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μοίρα Συμιλλίδου (επιβλέπουσα καθηγήτρια)
Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Χρήστος Ρέππας
Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μαρία Βερτζώνη
Επικ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά τα έτη 2019-2020 στον Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας κας Μοίρας Συμιλλίδου.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας κα. Μοίρα Συμιλλίδου, όχι μόνο για την ανάθεση ενός τόσο ενδιαφέροντος θέματος, αλλά και για την καθοδήγησή και τις πολύτιμες συμβουλές της καθ' όλη την διάρκεια της συνεργασίας μας στα πλαίσια εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Η μεθοδικότητα και οι οργανωτικές της ικανότητες, η συνεχής υποστήριξη και η φιλική της διάθεση, καθώς και οι γνώσεις της στο ερευνητικό πεδίο αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης και συνεχούς προσπάθειας για μένα.

Επίσης, ξεχωριστές ευχαριστίες οφείλω στον Καθηγητή κο. Χρήστο Ρέππα και την Καθηγήτρια κα. Μαρία Βερτζώνη για την μελέτη και αξιολόγηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αλλά και για την καταλυτική τους παρουσία και συνεισφορά σε επίπεδο γνώσεων κατά την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους φίλους και την οικογένειά μου για όλη την στήριξη και την υπέρμετρη υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Ιούλιος 2020

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας αποτελούν τη δημοφιλέστερη μέθοδο για την απόδειξη θεραπευτικής ισοδυναμίας μεταξύ ενός πρωτότυπου και ενός γενοσήμου σκευάσματος. Παρόλα αυτά, τα τελευταία χρόνια γίνεται συνεχής προσπάθεια ανεύρεσης νέων προσεγγίσεων, οι οποίες θα μπορούν να εξασφαλίζουν την παρόμοια μεταξύ των συγκρινόμενων σκευασμάτων αποτελεσματικότητα και ασφάλεια με πιο οικονομικό, γρήγορο και χωρίς ηθικούς προβληματισμούς τρόπο. Μια εξ' αυτών των προσεγγίσεων αποτελεί και η δυνατότητα αξιοποίησης των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης, οι οποίοι μέχρι σήμερα χρησιμοποιούνται μόνο ως εργαλεία κατά τον *in vitro* ποιοτικό έλεγχο, μεταξύ του σκευάσματος αναφοράς και του σκευάσματος υπό έλεγχο. Έτσι, στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία μελετάται η θεωρητική ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης, f_1 (δείκτης διαφοράς), f_2 (δείκτης ομοιότητας), και ξ_1, ξ_2 (δείκτες Rescigno) στο να αντανakλούν τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο μεταξύ του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που υφίστανται με βάση τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους C_{max} (μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα) και $AUC_{T_{max},R}$ (μερική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα – χρόνου μέχρι το χρόνο μέγιστης συγκέντρωσης, T_{max} του σκευάσματος αναφοράς, R).

Με στόχο τη διερεύνηση πιθανής συμφωνίας μεταξύ ομοιότητας *in vitro* καμπυλών διάλυσης και *in vivo* βιοϊσοδυναμίας αναγεννήθηκαν *in vitro* αθροιστικά προσομοιωμένα δεδομένα διάλυσης για την εκτίμηση των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης μέχρι δύο συγκεκριμένους χρόνους αποκοπής (ref85 και fast85), καθώς και αντίστοιχα *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα για τον υπολογισμό των λόγων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ του σκευάσματος υπό έλεγχο προς το σκεύασμα αναφοράς. Στη συνέχεια, κατασκευάστηκαν διαγράμματα *in vitro* – *in vivo* συσχετίσεων (IVIVC) των δεικτών με τους λόγους των φαρμακοκινητικών αυτών παραμέτρων. Σε όλες τις προσομοιώσεις η κινητική διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία θεωρήθηκε ότι περιγράφεται από την συνάρτηση Weibull. Για τις προσομοιώσεις των *in vivo* δεδομένων θεωρήθηκε ότι η κινητική διάλυσης του φαρμάκου αντανakλά

πλήρως την είσοδο του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία και ότι τα φάρμακα ακολουθούν μονοδιαμερισματική κινητική κατανομής. Η αναγέννηση των *in vivo* δεδομένων έγινε με τη μέθοδο της αριθμητικής συνέλιξης. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν δύο ομάδες προσομοιώσεων: Μία κατά την οποία τόσο η σταθερά του ρυθμού διάλυσης/απορρόφησης (k_a) όσο και η τιμή της παραμέτρου σχήματος (u) της συνάρτησης Weibull του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει από τις αντίστοιχες τιμές του σκευάσματος αναφοράς (προσομοιώσεις A) και μία κατά την οποία διαφέρει μόνο η σταθερά του ρυθμού διάλυσης/απορρόφησης μεταξύ των δύο αυτών σκευασμάτων (προσομοιώσεις B). Για κάθε μία από τις δύο αυτές ομάδες προσομοιώσεων μελετήθηκαν περαιτέρω οι περιπτώσεις φαρμάκων που παρουσιάζουν ίδιο ρυθμό διάλυσης αλλά διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά απομάκρυνσής τους (k_{el}). Τέλος, ερευνήθηκε μια ειδική ομάδα προσομοιώσεων, Γ, για την περίπτωση σκευασμάτων υπό έλεγχο τα οποία έχουν ίδια τιμή παραμέτρου σχήματος, διαφορετική από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, ίδιο λόγο k_{aR}/k_{el} και ίδιους λόγους k_{aT}/k_{aR} ανά εξεταζόμενο ζεύγος διαφορετικών απόλυτων τιμών k_{aR} και k_{el} . Για όλες τις ομάδες προσομοιώσεων δόθηκε έμφαση στη συμφωνία ομοιότητας *in vitro* καμπυλών διάλυσης και *in vivo* βιοϊσοδυναμίας καθώς επίσης και στο κατά πόσο τα αποτελέσματα συμφωνούν ή όχι με τα συμπεράσματα που προέκυψαν στο πλαίσιο προγενέστερων μελετών όταν τα συγκρινόμενα σκευάσματα ακολουθούν πρωτοταξική κινητική διάλυσης/είσοδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν στην περίπτωση που τόσο η τιμή της παραμέτρου σχήματος όσο και η τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης του σκευάσματος υπό έλεγχο είναι διαφορετικές από αυτές του σκευάσματος αναφοράς (προσομοιώσεις A) δείχνουν ότι στην περίπτωση που $u_T < 1$ παρατηρείται συμφωνία με τα συμπεράσματα του πρωτοταξικού μοντέλου σε περισσότερες περιπτώσεις απ' ότι παρατηρείται όταν $u_T > 1$. Συγκεκριμένα, στις περιπτώσεις όπου $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$ η $AUC_{Tmax,R}$ φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη από την C_{max} όταν $k_{aT} > k_{aR}$, ενώ όταν $u_T > 1$ αυτό συμβαίνει μόνο για $u_T = 1.5$ όταν $k_{aT} < k_{aR}$. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η $AUC_{Tmax,R}$, ειδικά όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$, ανιχνεύει καλύτερα σε σχέση με την C_{max} τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, ενώ σε γενικές γραμμές και οι δείκτες, ειδικά οι δείκτες f_1 και f_2 , τις ανιχνεύουν, με αποτέλεσμα να παρατηρείται *in vitro-in vivo* συμφωνία κυρίως με βάση την $AUC_{Tmax,R}$ και κυρίως όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$. Υπάρχει

και μια περίπτωση ($u_T = 1.5$) όπου παρατηρείται αδυναμία των δεικτών να προβλέψουν διαφορές στην $AUC_{T_{max},R}$ (όταν $0.5 < k_{aT}/k_{aR} < 0.76$ και $k_{aR}/k_{el} < 1$).

Για τις παραπάνω τιμές της παραμέτρου σχήματος δεν παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο όσον αφορά τα υπόλοιπα σκευάσματα, δηλαδή τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$ στις περιπτώσεις όπου $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$ καθώς και τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$ στις περιπτώσεις όπου $u_T = 1.5$. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η $AUC_{T_{max},R}$ φαίνεται να καθίστανται πιο ευαίσθητη όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ και η C_{max} αντανακλά καλύτερα τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, όπως αυτές φαίνεται να ανιχνεύονται και από τους δείκτες, με αποτέλεσμα in vitro-in vivo συμφωνία να παρατηρείται κυρίως με βάση την C_{max} , ειδικά όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$. Ακόμη μεγαλύτερες αποκλίσεις από το πρωτοταξικό μοντέλο παρατηρούνται όταν η παράμετρος σχήματος του σκευάματος υπό έλεγχο διαφέρει περισσότερο ($u_T = 0.2, 2, 5$), όπου η C_{max} φαίνεται να είναι γενικά πιο αποτελεσματική στο να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, καθώς η $AUC_{T_{max},R}$ κυρίως για τις περιπτώσεις όπου $k_{aR}/k_{el} < 1$ παρουσιάζει χαμηλή ευαισθησία και συνεπώς αδυνατεί για ορισμένα σκευάσματα, ειδικά στις περιπτώσεις φαρμάκων με έντονα σιγμοειδή χαρακτηριστικά, να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση. Με βάση τα παραπάνω καθίστανται σαφής η καθοριστική σημασία της τιμής της παραμέτρου σχήματος του σκευάματος υπό έλεγχο για την in vitro-in vivo συμφωνία, δηλαδή συμφωνία μεταξύ ομοιότητας καμπυλών διάλυσης και βιοϊσοδυναμίας.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν στην περίπτωση που μόνο η τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης του σκευάματος υπό έλεγχο σε σχέση με αυτή του σκευάματος αναφοράς είναι διαφορετική (προσομοιώσεις B) δείχνουν ότι υπάρχει σχετική συμφωνία με τα συμπεράσματα του πρωτοταξικού μοντέλου, ειδικά όταν $u_R = u_T = 0.5$, με την διαφορά ότι σε αυτή την περίπτωση οι φαρμακοκινητικές παράμετροι εμφανίζονται πιο ευαίσθητες. Έτσι, η C_{max} , μόνο για $k_{aR}/k_{el} > 1$ δεν ανιχνεύει τις διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ οι ελαστικοί δείκτες ξ_1 και ξ_2 δεν ανιχνεύουν τις διαφορές όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$. Για $u_T = u_R = 2$ υπάρχει συμφωνία μόνο όταν οι διαφορές ανιχνεύονται με βάση την $AUC_{T_{max},R}$, καθώς οι παράμετροι, και κυρίως η C_{max} , εμφανίζονται λιγότερο ευαίσθητες σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο, με αποτέλεσμα κυρίως η C_{max} να αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο για ορισμένα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$ και

$k_{aT}/k_{aR} > 1.3$. Στην ειδική περίπτωση φαρμάκων με ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, η οποία είναι διαφορετική από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, ίδιο λόγο k_{aR}/k_{el} και ίδιους λόγους k_{aT}/k_{aR} ανά εξεταζόμενο ζεύγος απόλυτων τιμών k_{aR} και k_{el} (προσομοιώσεις Γ), τα αποτελέσματα που παρατηρούνται για ίδιους λόγους και διαφορετικές απόλυτες τιμές των σταθερών k_{aR} , k_{aT} και k_{el} δεν συμφωνούν απόλυτα μεταξύ τους. Επομένως, συμπεραίνεται ότι όταν η κινητική του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, η ευαισθησία τόσο των φαρμακοκινητικών παραμέτρων όσο και των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών εξαρτάται όχι μόνο από τους παραπάνω λόγους, αλλά και από τις απόλυτες τιμές αυτών των σταθερών. Τέλος, με βάση τις προσομοιώσεις που μελετήθηκαν παρατηρήθηκε ότι χαμηλότερες απόλυτες τιμές των παραμέτρων οδήγησαν σε καλύτερη in vitro-in vivo συμφωνία.

Λέξεις κλειδιά: δείκτης διαφοράς f_1 , δείκτης ομοιότητας f_2 , δείκτης Rescigno ξ_i , in vitro διάλυση, συνάρτηση Weibull, βιοϊσοδυναμία, φαρμακοκινητικές παράμετροι, in vitro – in vitro συσχετίσεις, IVIVC, C_{max} , $AUC_{T_{max,R}}$, απορρόφηση φαρμάκου

SUMMARY

Bioequivalence studies is the most popular method for demonstrating therapeutic equivalence between an original and a generic formulation. However, in recent years there has been an ongoing effort to find new approaches that can ensure comparable efficacy and safety between the two compared products in a more economical, fast and ethical way. One of these approaches is the ability to use the direct in vitro dissolution curve comparison indices (DCCIs), which to date are only used as tools in routine quality control, between reference and test formulations. Thus, the goal of the present postgraduate thesis is to examine the theoretical sensitivity of the in vitro dissolution curve comparison indices, namely f_1 (difference factor), f_2 (similarity factor), and ξ_1 , ξ_2 (Rescigno indices) in reflecting differences in early exposure, between the test and the reference formulations, based on the pharmacokinetic parameters C_{\max} (maximum drug concentration in blood) and $AUC_{T_{\max}, R}$ (partial area under the blood concentration - time curve up to the time of maximum concentration, T_{\max} of the reference formulation, R).

In order to investigate the eventual agreement between similarity of the in vitro dissolution curves and bioavailability, simulated cumulative in vitro dissolution and in vivo blood concentration-time data were regenerated. Direct curve comparison indices up to two specific cut-off points (ref85 and fast85) were calculated from in vitro data. The ratios test (T)/reference (R) of the pharmacokinetic parameters C_{\max} , T_{\max} and $AUC_{T_{\max}, R}$ were estimated from in vivo data. Finally, in vitro - in vivo correlation (IVIVC) graphs between the indices and the ratios of the pharmacokinetic parameters were constructed. In all cases dissolution/input kinetics are described by the Weibull function. In vivo data were generated assuming that dissolution of the drug fully reflects the drug input into the general circulation and that the drugs follow one-compartment distribution model kinetics. Simulation of in vivo data was performed by numerical convolution. Two scenarios of simulations were examined: in the first scenario (simulations A) both the dissolution/absorption rate constant (k_a) and the shape parameter (u) of the Weibull function values of the test formulation are different from the corresponding parameter values of the reference formulation. In the second scenario (simulations B) only the dissolution rate constant value between the

two formulations is different. For each of these two simulation scenarios, cases of drugs having the same dissolution rate but differing in their elimination characteristics (k_{el}) were further studied. Finally, a special case scenario of simulations (Γ) was investigated, in which different test formulations have the same shape parameter value, that is different from that of the reference formulation, the same k_{aR}/k_{el} ratio and the same k_{aT}/k_{aR} ratios per examined pair of absolute k_{aR} and k_{el} values. For all simulation scenarios focus was on whether or not there was agreement between in vitro dissolution curves similarity and bioequivalence, and also whether or not the results were consistent with the conclusions drawn in other recent studies where first order dissolution/input kinetics was assumed.

The results obtained when both the shape parameter and the dissolution rate constant values of the test formulation are different from those of the reference formulation (simulations A) show that when $u_T < 1$ there is agreement with the conclusions drawn from the first-order input model in more cases than for $u_T > 1$. Specifically, in cases where $u_T = 0.5$ and $u_T = 0.7$, $AUC_{T_{max,R}}$ appears to be more sensitive than C_{max} when $k_{aT} > k_{aR}$, whereas when $u_T > 1$ this applies only when $u_T = 1.5$ and $k_{aT} > k_{aR}$. In these cases, $AUC_{T_{max,R}}$, (especially when $k_{aR}/k_{el} < 1$), reflects the differences in early exposure better than C_{max} , whereas in general indices, especially f_1 and f_2 , also indicate dissimilarity in dissolution curves, resulting in in vitro-in vivo agreement, mostly based on $AUC_{T_{max,R}}$ and especially when $k_{aR}/k_{el} < 1$. Nevertheless, there is one case ($u_T = 1.5$) where in vitro indices do not detect differences in dissolution profiles, whereas $AUC_{T_{max,R}}$ shows differences in early exposure (when $0.5 < k_{aT}/k_{aR} < 0.76$ and $k_{aR}/k_{el} < 1$).

For the above shape parameter values results obtained regarding the other formulations, that is formulations when $k_{aT} < k_{aR}$ in cases where $u_T = 0.5$ and $u_T = 0.7$ as well as formulations when $k_{aT} > k_{aR}$ in cases where $u_T = 1.5$, are not in agreement with the first-order model. In those cases, $AUC_{T_{max,R}}$ seems to be more sensitive when $k_{aR}/k_{el} > 1$ and C_{max} better reflects differences in early exposure. These differences appear to be detectable by indices as well, resulting in in vitro-in vivo agreement, predominantly based on C_{max} , especially when $k_{aR}/k_{el} < 1$. Even greater deviations from the first-order model are observed when the shape parameter values of the test formulation differs substantially from the value of the reference

formulation ($u_T = 0.2, 2, 5$). In these cases C_{max} appears to be overall more effective in detecting differences in early exposure, as $AUC_{T_{max,R}}$, especially for cases where $k_{aR}/k_{el} < 1$ shows low sensitivity and therefore, mainly in the case of drugs with pronounced sigmoidal concentration-time curves fails to detect differences in early exposure. According to the above, it becomes evident that the shape parameter value of the test formulation is important for the in vitro-in vivo agreement.

The results obtained in case when only the dissolution rate constant value of the test formulation differs from that of the reference formulation (simulations B) show that there is general agreement with the conclusions of the first-order model, especially when $u_R = u_T = 0.5$, but in this case the pharmacokinetic parameters appear to be slightly more sensitive. Thus, C_{max} , fails to detect differences in early exposure only in some cases when $k_{aR} / k_{el} > 1$, whereas indices ξ_1 and ξ_2 do not detect differences when $k_{aR} / k_{el} < 1$. When $u_T = u_R = 2$ agreement is only observed when differences are detected based on $AUC_{T_{max,R}}$, as the parameters, and particularly C_{max} , appear less sensitive than in the case of the first-order model. Therefore mainly C_{max} fails to detect differences in early drug exposure for some formulations with $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$ and $k_{aT}/k_{aR} > 1.3$. In the specific case of drugs with the same shape parameter values of the test formulation which are different from that that of reference formulation, same k_{aR}/k_{el} ratio and same k_{aT}/k_{aR} ratios per pair of absolute k_{aR} and k_{el} values (simulations Γ), the results drawn from the same ratio values but different absolute rate constant values k_{aR} , k_{aT} and k_{el} are not in agreement. Therefore, it is concluded that when the kinetics of the test formulation differs from that of the reference formulation, the sensitivity of both the pharmacokinetic parameters and the direct curve comparison indices depends not only on the parameter ratios, but also on the absolute values of these rate constants. Finally, based on the simulations studied in this work, it was observed that lower parameter values led to a greater in vitro-in vivo agreement.

Keywords: difference factor f_1 , similarity factor f_2 , Rescigno indices ξ_i , in vitro dissolution comparison, Weibull function, bioequivalence, pharmacokinetic parameters, in vitro - in vitro correlations, IVIVC, C_{max} , $AUC_{T_{max,R}}$, drug absorption

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1	Γενόσημα σκευάσματα στην ελληνική και παγκόσμια αγορά	1
1.2	Βιοδιαθεσιμότητα- Βιοϊσοδυναμία.....	2
1.3	Μελέτες βιοϊσοδυναμίας - Φαρμακοκινητικές παράμετροι	5
1.3.1	Σχεδιασμός μιας μελέτης βιοϊσοδυναμίας	5
1.3.2	Περιπτώσεις βιοαπαλλαγής (biowaivers)	9
1.3.3	Εκτίμηση της έκτασης της απορρόφησης.....	13
1.3.4	Εκτίμηση του ρυθμού απορρόφησης	14
1.4	Δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών	18
1.4.1	Θεωρία των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών	18
1.4.2	Μελέτες στη βιβλιογραφία.....	27
1.5	Σκοπός της εργασίας.....	38
2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	40
2.1	Φαρμακοκινητικά μοντέλα προσομοίωσης.....	40
2.1.1	In vitro δεδομένα	40
2.1.2	In vivo δεδομένα	40
2.2	Υπολογισμός δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών διάλυσης	42
2.3	Υπολογισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων	43
2.4	Περιγραφή προσομοιώσεων	44
2.4.1	Προσομοιώσεις Α.....	44
2.4.2	Προσομοιώσεις Β.....	48
2.4.3	Προσομοιώσεις Γ	51
2.5	Λογισμικό	53

3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54
3.1	Προσομοιώσεις Α	54
3.1.1	Προσομοιώσεις in vitro δεδομένων: Α1 – Α7	54
3.1.2	Προσομοιώσεις in vivo δεδομένων: Α1(1-4) – Α7(1-4).....	58
3.1.3	In vitro-in vivo συσχετίσεις: Α1(1-4) – Α7(1-4).....	70
3.2	Προσομοιώσεις Β	81
3.2.1	Προσομοιώσεις in vitro δεδομένων: Β1 και Β2.....	81
3.2.2	Προσομοιώσεις in vivo δεδομένων: Β1(1-4) και Β2(1-4).....	86
3.2.3	In vitro-in vivo συσχετίσεις: Β1(1-4) και Β2(1-4).....	89
3.3	Προσομοιώσεις Γ.....	97
3.3.1	In vitro-in vivo συσχετίσεις Γ1 και Γ2.....	97
4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	104
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	109
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Προσομοιώσεις Α - In vitro καμπύλες διάλυσης και in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο	120
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: Προσομοιώσεις Α - In vitro-in vivo συσχετίσεις	128
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ: Προσομοιώσεις Β - In vitro καμπύλες διάλυσης και in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο	157
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV: Προσομοιώσεις Β - In vitro-in vivo συσχετίσεις	160
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V: Προσομοιώσεις Γ - In vitro καμπύλες διάλυσης, in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο και in vitro - in vivo συσχετίσεις	169

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενόσημα σκευάσματα στην ελληνική και παγκόσμια αγορά

Ολοένα και περισσότερο, σήμερα, η ανάγκη αντικατάστασης των πρωτότυπων φαρμακευτικών σκευασμάτων με τα γενόσημα τους σκευάσματα είναι επιτακτική για την βιωσιμότητα των συστημάτων υγείας. Όπως επισημαίνεται σε έρευνα του Ινστιτούτου Δηπειρωτικών Υπηρεσιών Marketing για την Πληροφορική της Υγείας (Intercontinental Marketing Services Institute, IMS, for Healthcare Informatics)¹, τα οφέλη μιας τέτοιας διαδικασίας είναι πολλαπλά. Η συνταγογράφηση και χρήση γενόσημων έναντι των πρωτότυπων σκευασμάτων συμβάλει στην εξοικονόμηση φαρμακευτικών δαπανών, οι οποίες μπορούν να επενδυθούν, πλέον, στην έρευνα και την ανάπτυξη νέων φαρμάκων και θεραπειών για την καταπολέμηση σοβαρών ασθενειών. Επιπλέον, είναι προφανές ότι με την είσοδο των γενόσημων στην αγορά εξασφαλίζεται η πρόσβαση μεγαλύτερης μερίδας του πληθυσμού σε ιατροφαρμακευτική περίθαλψη, είτε λόγω της μείωσης της τιμής των πρωτότυπων σκευασμάτων ως αποτέλεσμα του ανταγωνισμού, είτε λόγω αυτής καθεαυτής της επιλογής του γενόσημου για την θεραπεία της νόσου. Οι οικονομικοί και κοινωνικοί αυτοί λόγοι ωθούν συνεχώς τα κράτη σε νέες στρατηγικές προώθησης των αντιγράφων σκευασμάτων στην αγορά. Χαρακτηριστικά, αξίζει να σημειωθεί ότι μέσω της υιοθέτησης τέτοιων πρωτοβουλιών μόνο το 2014 υπήρξε εξοικονόμηση 100 δισεκατομμυρίων ευρώ σε ευρωπαϊκό επίπεδο.

Όσον αφορά την χώρα μας, τα γενόσημα σκευάσματα δεν κατέχουν σημαντικό μερίδιο της φαρμακευτικής αγοράς. Συγκεκριμένα, όπως αναφέρουν οι Xanthoroulou et. al, το 2014 η Ελλάδα κατανάλωσε τις υποδιπλάσιες ποσότητες αντιγράφων σκευασμάτων συγκριτικά με την υπόλοιπη Ευρώπη². Το φαινόμενο των χαμηλών αυτών ποσοστών οφείλεται εν μέρει στο χαμηλό, συγκριτικά με την υπόλοιπη Ευρώπη, κόστος των πρωτότυπων σκευασμάτων στην χώρα μας³, και αφετέρου στην καχυποψία γιατρών και ασθενών ως προς τα γενόσημα, σύμφωνα με ερωτηματολόγιο των Xanthoroulou et. al. Το γεγονός αυτό φανερώνει την έλλειψη εμπιστοσύνης στην εθνική αρμόδια αρχή έγκρισης φαρμάκων, τον ΕΟΦ, και την άμεση ανάγκη

ενημέρωσης και αλλαγής αντιλήψεων σχετικά με την παρεξηγημένη, στην χώρα μας, αγορά των γενόσημων.

Από τα παραπάνω, είναι σαφές ότι το θέμα των γενόσημων σκευασμάτων αποτελεί ένα θέμα έντονου ενδιαφέροντος για όλα τα συμβαλλόμενα μέρη. Από την πλευρά τους, οι κανονιστικές αρχές και οι φαρμακοβιομηχανίες πρέπει να εγγυηθούν την εξασφάλιση παρόμοιας αποτελεσματικότητας και ασφάλειας των αντιγράφων σε σχέση με τα πρωτότυπα σκευάσματα, κάτι που πραγματοποιείται εδώ και χρόνια μέσα από τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας. Ταυτόχρονα βέβαια, γίνεται συνεχής ερευνητική προσπάθεια για την εύρεση ολοένα πιο ασφαλών και επιστημονικά τεκμηριωμένων μεθόδων εξασφάλισης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ πρωτότυπων και γενόσημων σκευασμάτων.

1.2 Βιοδιαθεσιμότητα- Βιοϊσοδυναμία

Η έννοια της βιοδιαθεσιμότητας βασίζεται στις πρώτες παρατηρήσεις των ερευνητών, οι οποίοι, ήδη από τη δεκαετία του 1950, αντιλήφθηκαν ότι τα διάφορα εκ του στόματος χορηγούμενα σκευάσματα που περιέχουν το ίδιο δραστικό συστατικό στην ίδια περιεκτικότητα δύναται να έχουν διαφορετική θεραπευτική αποτελεσματικότητα. Αιτία αυτού του φαινομένου θεωρήθηκε η διαφορετική ποσότητα του εκάστοτε φαρμάκου από τα διάφορα σκευάσματα που φθάνει τελικά στην γενική κυκλοφορία. Με γνώμονα τα παραπάνω ευρήματα των επιστημόνων, άρχισαν να πραγματοποιούνται οι μελέτες βιοδιαθεσιμότητας, ώστε να καθίσταται δυνατός ο υπολογισμός της ποσότητας του φαρμάκου που τελικά απορροφάται, δηλαδή φθάνει στη γενική κυκλοφορία (έκταση απορρόφησης) , καθώς και το πόσο αργά ή γρήγορα αυτό απορροφάται (ρυθμός απορρόφησης)⁴.

Σύμφωνα με τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA) ως βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται ο ρυθμός και η έκταση με την οποία ένα δραστικό συστατικό ή ένας δραστικός παράγοντας (moiety) απορροφάται από ένα φαρμακευτικό σκεύασμα και καθίσταται διαθέσιμο στο τόπο δράσης. Πιο πρακτικά, για φαρμακευτικά σκευάσματα, τα οποία προορίζονται για συστηματική

δράση, η βιοδιαθεσιμότητα αντανακλάται στην ποσότητα του φαρμάκου που φθάνει τελικά στην γενική κυκλοφορία^{5,6}.

Οι μελέτες βιοδιαθεσιμότητας διακρίνονται σε μελέτες απόλυτης και σχετικής/συγκριτικής βιοδιαθεσιμότητας. Στις μελέτες απόλυτης βιοδιαθεσιμότητας επιχειρείται να εκτιμηθεί η ακριβής ποσότητα ενός εξωαγγειακά χορηγούμενου σκευάσματος που φθάνει στο αίμα. Συνεπώς στην περίπτωση αυτή, είναι απαραίτητη και η ενδοφλέβια χορήγηση του σκευάσματος, δεδομένου ότι μόνο έτσι το σύνολο της χορηγούμενης δόσης θα φθάσει τελικά στην γενική κυκλοφορία. Αντίθετα, οι μελέτες σχετικής βιοδιαθεσιμότητας αποσκοπούν στον υπολογισμό του ρυθμού και της έκτασης της απορρόφησης μιας δραστικής ουσίας από ένα φαρμακευτικό σκεύασμα σε σχέση με ένα άλλο σκεύασμα του ίδιου δραστικού συστατικού⁴. Ουσιαστικά, οι μελέτες συγκριτικής βιοδιαθεσιμότητας είναι μελέτες βιοϊσοδυναμίας, σύμφωνα με τις οποίες δύο σκευάσματα θεωρούνται βιοϊσοδύναμα όταν δεν διαφέρουν σημαντικά ως προς το ρυθμό και την έκταση της απορρόφησης του φαρμάκου, εφόσον χορηγούνται στην ίδια δόση⁷.

Ο Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA) και ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (European Medicines Agency, EMA) προσφέρουν κατευθυντήριες γραμμές σύμφωνα με τις οποίες συστήνεται να γίνεται η αξιολόγηση της βιοϊσοδυναμίας φαρμακευτικών σκευασμάτων. Παρακάτω παρατίθενται οι ορισμοί των όρων *φαρμακευτικά ισοδύναμα*, *φαρμακευτικά υποκατάστατα* και *βιοϊσοδύναμα σκευάσματα* σύμφωνα με τον FDA⁸:

Φαρμακευτικά Ισοδύναμα (Pharmaceutical Equivalents): Δύο per os χορηγούμενα φαρμακευτικά σκευάσματα, που περιέχουν το ίδιο δραστικό συστατικό στην ίδια χημική μορφή, στην ίδια περιεκτικότητα, στον ίδιο τεχνολογικά τύπο προϊόντος, αλλά όχι απαραίτητα με τα ίδια έκδοχα, και πληρούν τις προδιαγραφές της Φαρμακοποιίας όσον αφορά στη δόση, την καθαρότητα των συστατικών και, αν προβλέπεται, την ομοιομορφία στην περιεκτικότητα, την αποσάθρωση και τη διάλυση.

Φαρμακευτικά Υποκατάστατα (Pharmaceutical Alternatives): Δύο per os χορηγούμενα φαρμακευτικά προϊόντα, που περιέχουν τον ίδιο θεραπευτικό παράγοντα (moiety), όχι

απαραίτητα στην ίδια χημική μορφή ή στην ίδια περιεκτικότητα ή στον ίδιο τεχνολογικά τύπο προϊόντος, και πληρούν τις προδιαγραφές της Φαρμακοποιίας όσον αφορά στη δόση, την καθαρότητα των συστατικών και, αν προβλέπεται, την ομοιομορφία στην περιεκτικότητα, την αποσάθρωση και τη διάλυση.

Βιοϊσοδύναμα σκευάσματα (Bioequivalent drug products): Δύο per os χορηγούμενα φαρμακευτικά προϊόντα, που είναι φαρμακευτικά υποκατάστατα ή φαρμακευτικά ισοδύναμα και τόσο ο ρυθμός όσο και το ποσό που φθάνει στη γενική κυκλοφορία δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές, όταν χορηγούνται με απλή ή επαναλαμβανόμενη χορήγηση, στην ίδια μοριακή δόση της θεραπευτικά ενεργής ουσίας.

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων⁹ δύο per os χορηγούμενα σκευάσματα που περιέχουν το ίδιο δραστικό συστατικό, θεωρούνται *βιοϊσοδύναμα*, εάν είναι φαρμακευτικά ισοδύναμα ή φαρμακευτικά υποκατάστατα και η βιοδιαθεσιμότητα τους (ρυθμός και έκταση της απορρόφησης) μετά από χορήγηση της ίδιας μοριακής δόσης, βρίσκεται εντός των προκαθορισμένων αποδεκτών ορίων. Τα όρια αυτά καθορίζονται, έτσι ώστε να διασφαλίζεται συγκρίσιμη in vivo απόδοση, δηλαδή ομοιότητα όσον αφορά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα.

Η χρησιμότητα της αξιοποίησης των μελετών βιοϊσοδυναμίας είναι φανερή στην σύγκριση ενός πρωτότυπου σκευάσματος σε σχέση με ένα γενόσημο. Σύμφωνα με το άρθρο 10(2) της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 2001/83/EK ως γενόσημο προϊόν χαρακτηρίζεται το προϊόν που έχει την ίδια ποιοτική και ποσοτική σύνθεση σε δραστικές ουσίες, ίδια φαρμακοτεχνική μορφή και αποδεικνύεται ως βιοϊσοδύναμο με το φαρμακευτικό προϊόν αναφοράς σύμφωνα με κατάλληλες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας¹⁰. Δηλαδή ως γενόσημο μπορεί να χαρακτηριστεί το προϊόν που είναι φαρμακευτικά ισοδύναμο και βιοϊσοδύναμο με το προϊόν αναφοράς. Σύμφωνα με τον FDA^{11,12} ένα γενόσημο προϊόν πρέπει να είναι θεραπευτικά ισοδύναμο με το προϊόν αναφοράς.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν διαφοροποιήσεις στις οδηγίες των διάφορων ρυθμιστικών αρχών που εκτείνονται από απλά ζητήματα όπως ορισμούς¹³ μέχρι και πιο ουσιαστικά, όπως για παράδειγμα ποιες φαρμακοκινητικές παράμετροι πρέπει να

αξιολογούνται ώστε να ελεγχθεί η βιοϊσοδυναμία δύο φαρμακευτικών σκευασμάτων. Για το λόγο αυτό, παγκόσμιοι οργανισμοί όπως ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO) και το Διεθνές Συμβούλιο για την Εναρμόνιση Τεχνικών Απαιτήσεων Φαρμακευτικών Προϊόντων που προορίζονται για Ανθρώπινη Χρήση (International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) εκδίδουν οδηγίες που στόχο έχουν να γεφυρώσουν τυχόν διαφωνίες μεταξύ των κανονιστικών αρχών με απώτερο σκοπό την εναρμόνιση μεταξύ των διαφόρων κρατών και συνεπώς να υποβοηθήσουν την εύκολη και ομαλή έγκριση φαρμάκων^{12,13}. Έτσι σύμφωνα με τον ΠΟΥ¹⁴ ως γενόσημα χαρακτηρίζονται τα προϊόντα που είναι φαρμακευτικά ισοδύναμα ή φαρμακευτικά υποκατάστατα που αν είναι ταυτόχρονα και θεραπευτικά ισοδύναμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλάξιμα με τα προϊόντα αναφοράς.

Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας πέρα από την έγκριση γενόσημων σκευασμάτων χρησιμοποιούνται και κατά την ανάπτυξη νέων φαρμάκων στην διάρκεια κλινικών μελετών και μελετών σταθερότητας, καθώς και στην περίπτωση σύγκρισης σκευασμάτων πριν και μετά από μια αλλαγή στην παραγωγική διαδικασία για προϊόντα που έχουν ήδη πάρει άδεια κυκλοφορίας^{5,6}.

1.3 Μελέτες βιοϊσοδυναμίας - Φαρμακοκινητικές παράμετροι

1.3.1 Σχεδιασμός μιας μελέτης βιοϊσοδυναμίας

Οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας αποσκοπούν στην απόδειξη θεραπευτικής ισοδυναμίας μεταξύ ενός προϊόντος υπό έλεγχο και ενός προϊόντος αναφοράς χωρίς την απαίτηση να επαναληφθούν κλινικές μελέτες για το προϊόν υπό έλεγχο. Συνεπώς, η εξασφάλιση φαρμακευτικών προϊόντων με την ίδια αποτελεσματικότητα και ασφάλεια σε σχέση με τα πρωτότυπα τους σκευάσματα μέσα από τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι ηθικά επιθυμητή, καθώς μειώνεται ο απαιτούμενος αριθμός εθελοντών. Παράλληλα, οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι οικονομικά συμφέρουσες και λιγότερο χρονοβόρες από τις κλινικές μελέτες¹⁵. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας πραγματοποιούνται με βάση ένα τυχαίοποιημένο διασταυρωτό σχεδιασμό δύο περιόδων δύο εφάπαξ χορηγήσεων (2x2 crossover design). Τα πλεονεκτήματα του

σχεδιασμού αυτού, συγκριτικά με άλλους, είναι ο καλύτερος έλεγχος της ενδοατομικής μεταβλητότητας¹⁶ και κατά συνέπεια ο μικρότερος αριθμός εθελοντών που απαιτούνται. Έτσι, εξασφαλίζεται ότι οποιεσδήποτε διαφορές που εμφανίζονται μεταξύ των σκευασμάτων μπορούν να εντοπιστούν και να αποδοθούν ξεχωριστά στις αντίστοιχες πηγές μεταβλητότητας που τις προκαλούν^{5,9}. Μειονέκτημα της μεθόδου, βέβαια αποτελεί το γεγονός ότι ο σχεδιασμός αυτός δεν μπορεί να εκτιμήσει ξεχωριστά την ενδοατομική μεταβλητότητα των δύο σκευασμάτων¹⁷.

Σύμφωνα με τον παραπάνω σχεδιασμό, οι εθελοντές της μελέτης χωρίζονται τυχαία σε δύο ομάδες: στην πρώτη περίοδο η πρώτη ομάδα λαμβάνει το σκεύασμα υπό έλεγχο και η δεύτερη ομάδα το σκεύασμα αναφοράς, ενώ στην δεύτερη περίοδο η σειρά χορήγησης αντιστρέφεται. Μεταξύ των δύο αυτών περιόδων μεσολαβεί περίοδος έκπλυσης, με στόχο την διασφάλιση της πλήρους απομάκρυνσης του φαρμάκου που χορηγήθηκε κατά την πρώτη περίοδο. Τυπικά, σύμφωνα με τις οδηγίες τόσο του EMA όσο και του FDA, η περίοδος αυτή αντιστοιχεί σε τουλάχιστον πέντε χρόνους ημιζωής του χορηγούμενου φαρμάκου^{5,9}.

Παρόλο που ο παραπάνω σχεδιασμός θεωρείται ο πλέον διαδεδομένος, σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτείται η χρήση εναλλακτικών σχεδιασμών μελετών βιοϊσοδυναμίας. Για παράδειγμα, για φάρμακα με μεγάλο χρόνο ημιζωής, όπου η μεγάλη χρονικά περίοδος έκπλυσης θα οδηγούσε σε εξαιρετικά μεγάλη διάρκεια της μελέτης, αξιοποιούνται οι μελέτες με σχεδιασμό παράλληλων ομάδων (parallel group designs). Σε αυτή την περίπτωση, η κάθε ομάδα εθελοντών λαμβάνει είτε το σκεύασμα υπό έλεγχο είτε το σκεύασμα αναφοράς. Καθίσταται σαφές ότι στον σχεδιασμό αυτό απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός εθελοντών για την εξασφάλιση της ίδιας στατιστικής ισχύος συγκριτικά με μια διασταυρωτή μελέτη^{16,17}.

Επιπλέον, στις περιπτώσεις φαρμάκων υψηλής μεταβλητότητας (highly variable drugs, HVD) χρησιμοποιούνται μελέτες επαναλαμβανόμενου σχεδιασμού συνήθως τριών ή τεσσάρων περιόδων (three - or four - period replicate designs). Στις μελέτες αυτές, οι εθελοντές λαμβάνουν δύο φορές το σκεύασμα αναφοράς ή/και το σκεύασμα υπό έλεγχο, και σκοπό έχουν την ανεύρεση της ενδοατομικής μεταβλητότητας του σκευάσματος αναφοράς^{9,18}. Έτσι, στις περιπτώσεις των HVDs, οι κανονιστικές αρχές συνειδητοποιώντας την δυσκολία απόδειξης ισοδυναμίας ακόμα και για σκευάσματα

των οποίων η μέση διαφορά στις τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων είναι ελάχιστη, προτείνουν την διεύρυνση των κλασικών ορίων βιοϊσοδυναμίας^{7,15,19}. Διαφορετικά, μια μελέτη διασταυρωτού σχεδιασμού θα απαιτούσε υπερβολικά αυξημένο αριθμό εθελοντών για την απόδειξη βιοϊσοδυναμίας, γεγονός που θα δημιουργούσε ηθικούς προβληματισμούς και θα αύξανε το κόστος και την διάρκεια της μελέτης χωρίς κάτι τέτοιο να είναι απαραίτητο¹⁶.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η παραπάνω κατευθυντήρια γραμμή προέκυψε σταδιακά μέσα από διάφορες προτάσεις των κανονιστικών αρχών ανά τα χρόνια και έπειτα από συνεχείς έρευνες και την συμβολή της επιστημονικής κοινότητας^{15,19}. Ακόμα και σήμερα όμως παρατηρούνται διαφοροποιήσεις σχετικά με τον τρόπο προσέγγισης των HVDs στις διάφορες κατευθυντήριες γραμμές των μεγάλων κανονιστικών αρχών EMA και FDA²⁰. Πιο συγκεκριμένα, ο EMA προτείνει την κλιμάκωση των ορίων ανάλογα με την ενδοατομική μεταβλητότητα του σκεύασματος αναφοράς ξεκινώντας από την τιμή συντελεστή μεταβλητότητας (Coefficient of Variation) CV = 30% έως την τιμή CV = 50%, μετά την οποία τα όρια βιοϊσοδυναμίας διατηρούνται σταθερά. Βασικές προϋποθέσεις για την δυνατότητα κλιμάκωσης είναι το φάρμακο να διαθέτει μεγάλο θεραπευτικό εύρος και να υπάρχει ταυτόχρονα το κλασικό κριτήριο ελέγχου της διαφοράς των μέσων τιμών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων^{7,9}. Την ίδια κατευθυντήρια γραμμή προτείνει και ο WHO¹⁴. Σύμφωνα με τον FDA, προτείνεται παρόμοια μεθοδολογία, με την διαφορά ότι δεν καθορίζεται το ανώτερο επιτρεπτό όριο κλιμάκωσης²¹. Από την άλλη πλευρά, για φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος και μικρή μεταβλητότητα (Narrow Therapeutic Index Drugs, NTIDs), προτείνεται περιορισμός των κλασικών ορίων^{9,22}.

Όσον αφορά στους εθελοντές που συμμετέχουν σε μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας, απαραίτητο είναι να λαμβάνουν μέρος τουλάχιστον δώδεκα υγιείς ενήλικες (18 - 65 ετών) κανονικού βάρους, κατά προτίμηση μη καπνιστές και χωρίς ιστορικό κατάχρησης αλκοόλ ή φαρμάκων¹⁶. Σε εξαιρετικές μόνο περιπτώσεις, όπου η συμμετοχή υγιών εθελοντών καθίσταται ανέφικτη για λόγους ασφάλειας, χρησιμοποιούνται ασθενείς και η μελέτη πραγματοποιείται συνήθως στην σταθεροποιημένη κατάσταση^{9,14,16}. Ως προς το φύλο, συστήνεται συνήθως η συμμετοχή ίσου αριθμού ανδρών και γυναικών, εκτός αν υπάρχει λόγος για την επιλογή μόνο ανδρών ή γυναικών, για παράδειγμα όταν το φαρμακευτικό σκεύασμα

προορίζεται μόνο για το συγκεκριμένο φύλο. Στις μελέτες βιοϊσοδυναμίας δεν συμμετέχουν έγκυες, παιδιά και υπερήλικες, καθώς τυχόν τροποποιήσεις που παρατηρούνται στην απορρόφηση των φαρμάκων από αυτές τις ομάδες πληθυσμού, παραδείγματος χάριν λόγω ανατομικών ή φυσιολογικών διαφοροποιήσεων, θα οδηγούσε σε ανίχνευση διαφορών που δεν οφείλονται στα σκευάσματα και άρα ο σχεδιασμός δεν θα ήταν επιτυχής¹⁸. Επίσης, οι ομάδες αυτές αποκλείονται και για λόγους βιοηθικής. Όλοι οι εθελοντές που συμμετέχουν ενημερώνονται εκ των προτέρων σχετικά με το σκοπό, τη διαδικασία και την ισορροπία οφέλους/ρίσκου που αναλαμβάνουν με την συμμετοχή τους στην μελέτη και, εφόσον συμφωνούν, παρέχουν την γραπτή συγκατάθεσή τους^{9,14,16}.

Ένα άλλο σημείο προβληματισμού των κανονιστικών αρχών αποτελούν οι συνθήκες χορήγησης των σκευασμάτων. Γενικά, μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας πρέπει να διεξάγεται κατά την διαπεπτική περίοδο, οπότε και θεωρείται ότι παρατηρείται η μεγαλύτερη ευαισθησία για την ανίχνευση διαφορών μεταξύ των σκευασμάτων^{5,7,9}. Βέβαια, σε ορισμένα προϊόντα, όπως σκευάσματα τροποποιημένης αποδέσμευσης, μικρογαλακτώματα και στερεές διασπορές η βιοϊσοδυναμία ελέγχεται συνήθως και κατά την περίοδο πέψης^{9,16}. Ο λόγος είναι ότι στα σκευάσματα αυτά η τροφή ενδέχεται να επηρεάζει την αποδέσμευση και απορρόφηση του φαρμάκου^{5,14} και ειδικότερα στα σκευάσματα παρατεταμένης αποδέσμευσης απαιτείται και έλεγχος με επαναλαμβανόμενες χορηγήσεις²³. Ειδικά στα σκευάσματα τροποποιημένης αποδέσμευσης, συστήνεται η χρήση in vitro μεθόδων για την αξιολόγηση της επίδρασης αλκοολικών διαλυμάτων σε ορισμένα φάρμακα υψηλής διαλυτότητας σε αιθανόλη για λόγους ασφάλειας, καθώς σε αυτή την περίπτωση ο κίνδυνος άμεσης αποδέσμευσης της δόσης (dose dumping) μετά την συγχορήγηση με αλκοόλ είναι υψηλός^{23,24}. Στις κατευθυντήριες γραμμές των EMA και FDA παρέχονται τα πρωτόκολλα σύμφωνα με τα οποία θα πρέπει να διεξάγονται οι παραπάνω μελέτες^{5,9,23,13}.

Άλλα σημεία που περιλαμβάνονται στις οδηγίες των κανονιστικών αρχών σχετικά με τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι ο αριθμός των δειγμάτων που πρέπει να ληφθούν καθώς και τα χρονικά διαστήματα λήψης τους, η επικύρωση της μεθόδου ανάλυσης των δειγμάτων, θέματα προβληματισμού για την ανάλυση της δραστικής ουσίας ή/και του μεταβολίτη, το είδος της κινητικής εισόδου και κατανομής του φαρμάκου

στο σώμα, οι παράμετροι που εξετάζονται και η στατιστική τους επεξεργασία^{5,9}. Για την επιλογή και βελτιστοποίηση των παραπάνω, καθώς και για την εύρεση της ενδοατομικής μεταβλητότητας, δίνεται η δυνατότητα πραγματοποίησης πιλοτικής μελέτης με την συμμετοχή μικρού αριθμού εθελοντών πριν την διεξαγωγή της τελικής μελέτης βιοϊσοδυναμίας¹⁶. Σε αυτή την περίπτωση το μέγεθος της παρτίδας πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό των παρτίδων παραγωγής.

Η ανάλυση των δεδομένων σε μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας περιλαμβάνει φαρμακοκινητική και στατιστική επεξεργασία που αποσκοπεί στο συμπέρασμα για το αν τα δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα ή βιοανισοδύναμα⁷. Έτσι, οι φαρμακοκινητικές μελέτες αποτελούν την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των σκευασμάτων, καθώς θεωρείται ότι η ευαισθησία αυτής της μεθόδου είναι μεγαλύτερη. Στην περίπτωση που δεν είναι δυνατή η μέτρηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα, το πλάσμα ή τον ορό ακολουθούν με φθίνουσα σειρά προτίμησης: φαρμακοδυναμικές, κλινικές και *in vitro* μελέτες^{5,14}.

1.3.2 Περιπτώσεις βιοαπαλλαγής (biowaivers)

Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι δυνατή η απόδειξη βιοϊσοδυναμίας μόνο με τη χρήση *in vitro* μεθόδων. Τα πλεονεκτήματα της αξιοποίησης *in vitro* πειραμάτων διάλυσης έναντι των μελετών βιοϊσοδυναμίας, όποτε αυτό είναι δυνατό, είναι πολλαπλά. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με κάποιους ερευνητές²⁶:

- Η χρήση μόνο *in vitro* πειραμάτων μειώνει το κόστος παραγωγής του προϊόντος, συνεπώς αυξάνουν την πρόσβαση μεγαλύτερης μερίδας του πληθυσμού σε φάρμακα.
- Όταν χρησιμοποιούνται αξιόπιστες *in vitro* μέθοδοι, το αποτέλεσμα σχετικά με την διαφορά στο ρυθμό και την έκταση της απορρόφησης μεταξύ των σκευασμάτων είναι πιο άμεσο συγκριτικά με τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας, όπου η αξιολόγηση γίνεται έμμεσα μέσω φαρμακοκινητικών παραμέτρων.
- Τα *in vitro* πειράματα δεν εγείρουν ηθικούς προβληματισμούς, καθώς δεν περιλαμβάνουν τη συμμετοχή εθελοντών.

- Οι *in vitro* μέθοδοι μειώνουν τον χρόνο έγκρισης και παραγωγής του προϊόντος, συνεπώς κατοχυρώνουν τη γρήγορη πρόσβαση των ασθενών στη θεραπεία.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων *in vitro* μεθόδων αποτελούν οι βιοαπαλλαγές με βάση το Βιοφαρμακευτικό Σύστημα Ταξινόμησης Φαρμάκων (BCS-based biowaivers). Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον EMA, τα φάρμακα τάξης I και τάξης III μπορούν μόνο με μελέτες διάλυσης να αποδείξουν την βιοϊσοδυναμία με το πρωτότυπο, αρκεί το σκεύασμα υπό έλεγχο να έχει υψηλό²⁷ και πολύ υψηλό ρυθμό διάλυσης αντίστοιχα, καθώς και παρόμοιες ή πολύ παρόμοιες ποσότητες ίδιων εκδόχων, αντίστοιχα⁹. Αντίθετα, ο FDA επιτρέπει βιοαπαλλαγή μόνο σε φάρμακα τάξης I⁵. Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι ιδιαίτερη έμφαση θα πρέπει να δίνεται σε έκδοχα που έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα (κρίσιμα έκδοχα), όπως η σορβιτόλη, η μαννιτόλη και οι επιφανειοδραστικές ουσίες. Η ποσότητα των εκδόχων αυτών θα πρέπει να είναι ίδια μεταξύ των συγκρινόμενων σκευασμάτων²⁸.

Άλλη περίπτωση βιοαπαλλαγής αφορά στην περίπτωση έγκρισης ίδιων ποιοτικά σκευασμάτων χαμηλότερης περιεκτικότητας σε σχέση με ένα σκεύασμα υψηλότερης περιεκτικότητας που έχει αποδειχθεί βιοϊσοδύναμο με το πρωτότυπο μέσα από *in vivo* μελέτη βιοϊσοδυναμίας. Δεδομένου ότι υπάρχει αναλογία δόσεων (strength proportionality) μεταξύ του προϊόντος της υψηλότερης και αυτών της χαμηλότερης περιεκτικότητας, η ομοιότητα των καμπυλών διάλυσης εξασφαλίζει την βιοϊσοδυναμία τους^{5,9,14}. Αξίζει βέβαια να αναφερθεί, ότι υπάρχουν άρθρα που υποστηρίζουν ότι η προσέγγιση αυτή στερείται επιστημονικού υπόβαθρου και ότι η βιοαπαλλαγή θα πρέπει να εκτιμάται μελετώντας την κάθε περίπτωση ξεχωριστά²⁹.

Όσον αφορά την βιοαπαλλαγή για φάρμακα τάξης II, βιβλιογραφικά προτείνεται η δυνατότητα βιοαπαλλαγής στην περίπτωση φαρμάκων που είναι ασθενή οξέα τα οποία παρουσιάζουν χαμηλή διαλυτότητα στο στόμαχο, αλλά υψηλή στο λεπτό έντερο, όπου και θα απορροφηθούν^{19,20,30}. Μέχρι σήμερα, βέβαια, οι κανονιστικές αρχές δεν δέχονται φάρμακα τάξης II για βιοαπαλλαγή. Πάντως, γενικότερα, οι κανονιστικές κατευθυντήριες γραμμές των EMA και FDA προτρέπουν στην δημιουργία *in vitro* - *in vivo* συσχετίσεων (IVIVCs) για την επίτευξη

βιοαπαλλαγής^{5,9}. Μάλιστα σύμφωνα με τον FDA αποτελούν πλέον την δεύτερη προτιμότερη επιλογή για την απόδειξη βιοϊσοδυναμίας μετά τις φαρμακοκινητικές μελέτες^{13,25}. Οι συσχετίσεις αυτές στην ουσία είναι μαθηματικά μοντέλα που δείχνουν πως μια in vivo μέτρηση (εξαρτημένη μεταβλητή), π.χ. το κλάσμα της δόσης του φαρμάκου που απορροφάται, επηρεάζεται από μια in vitro ιδιότητα (ανεξάρτητη μεταβλητή), π.χ. το κλάσμα της δόσης του φαρμάκου που διαλύεται²³. Με τα μαθηματικά αυτά μοντέλα είναι δυνατό να υπάρξει βιοαπαλλαγή και μετά από μια μικρή αλλαγή στην παραγωγική διαδικασία²⁹. Περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με την διαδικασία πραγματοποίησης και επικύρωσης μιας IVIVC δίνονται στις κατευθυντήριες γραμμές του EMA σχετικά με τα προϊόντα τροποποιημένης αποδέσμευσης^{23,29}.

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι παρόλα τα πλεονεκτήματα των IVIVCs (απόδειξη βιοϊσοδυναμίας με πιο οικονομικό και γρήγορο τρόπο, δυνατότητα καθορισμού εξατομικευμένων για κάθε σκεύασμα προδιαγραφών διάλυσης³³ κλπ), η χρήση τους παραμένει σχετικά περιορισμένη λόγω των μικρών ποσοστών επιτυχίας, και συνεπώς αποδοχής τους από τις κανονιστικές αρχές (≈40% αποδοχή στην Αμερική)³⁴. Οι λόγοι αυτού του φαινομένου είναι διάφοροι και αφορούν κυρίως την έλλειψη αξιοποίησης μέσω διάλυσης που προσομοιώνουν τα γαστρεντερικά υγρά στα in vitro πειράματα³⁵ καθώς και την επιλογή σκευασμάτων με στενό εύρος διαφορετικών ρυθμών διάλυσης με αποτέλεσμα την αδυναμία χρήσης της συσχέτισης μετά από αλλαγές^{35,36}. Άλλες αιτίες αποτυχίας αφορούν την χρησιμοποιούμενη μεθοδολογία για την ανάπτυξη του μοντέλου (συνέλιξη ή αποσυνέλιξη), τη χρήση μέσω αντι μεμονωμένων in vivo δεδομένων κατά την δημιουργία του μοντέλου και άρα της αδυναμίας ενσωμάτωσης της υπάρχουσας μεταβλητότητας σε αυτό^{33,34,37}, καθώς και την ανικανότητα του μοντέλου να εμπεριέχει φυσική σημασία λόγω της ενσωμάτωσης μεγάλου αριθμού παραμέτρων (over parameterization)³⁴. Τέλος, οι κανονιστικές αρχές προτρέπουν στην δημιουργία συσχετίσεων τύπου σημείο προς σημείο των καμπυλών (point-to-point correlations), γνωστή και ως συσχέτιση επιπέδου A, αντί των συσχετίσεων επιπέδου B (συσχετίσεις μέσω χρόνων διάλυσης και απορρόφησης) ή C (συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων), καθώς οι επιπέδου A συσχετίσεις παρέχουν περισσότερη πληροφορία και άρα είναι πιο χρήσιμες^{34,35,37}. Πάντως, είναι σαφές ότι η αξιοποίηση υπολογιστικών μεθόδων (in silico methods) με λογισμικά τα οποία είναι σε θέση να προσομοιώνουν ολόένα και καλύτερα τις

συνθήκες στον ανθρώπινο οργανισμό¹⁵, καθώς και η αξιοποίηση μέσω των προσομοιώνων τα γαστρεντερικά υγρά (biorelevant media) στα in vitro πειράματα, θα επιτρέψουν την δημιουργία καλύτερων IVIVCs. Έτσι, καθίσταται δυνατή η καλύτερη πρόβλεψη της in vivo συμπεριφοράς, και άρα και η βιοαπαλλαγή³⁸, καθώς με αυτό τον τρόπο ο καθορισμός τόσο των συνθηκών όσο και των προδιαγραφών διάλυσης πραγματοποιείται έχοντας ως γνώμονα τα θεραπευτικά αποτελέσματα^{39,40}. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην βιβλιογραφία αναφέρονται πολλές έρευνες που μέσω των κατάλληλων μέσων αλλά και υπολογιστικών προσομοιώσεων επιτυγχάνουν να προβλέψουν ικανοποιητικά τα επίπεδα συγκέντρωσης φαρμάκων στο αίμα σε σχέση με το χρόνο^{41,42,43,44,45}.

Μια άλλη προσέγγιση που αναφέρεται στο άρθρο των Raw et. al⁴⁶ είναι η έννοια του "σχεδιασμού βιοϊσοδυναμίας" (equivalence by design). Σύμφωνα με την έννοια αυτή, ειδικά στις περιπτώσεις σύγκρισης προϊόντων τροποποιημένης αποδέσμευσης, τα οποία παρουσιάζουν συνήθως αυξημένη πολυπλοκότητα, η κλασική προσέγγιση της βιοϊσοδυναμίας (equivalence by testing) δεν είναι αρκετή. Βασικά σημεία που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά το σχεδιασμό του αντιγράφου προϊόντος είναι το σύνολο των χαρακτηριστικών ποιότητας του προϊόντος αναφοράς. Την ίδια προσέγγιση ακολουθούν και οι Dickinson et. al⁴⁷, οι οποίοι μελέτησαν τόσο in vitro όσο και in vivo την επίδραση ορισμένων βασικών χαρακτηριστικών μεγεθών που επηρεάζουν την διάλυση. Η βιοϊσοδυναμία μεταξύ των διαφόρων σκευασμάτων, παρά την in vitro ανομοιοποίητά τους, επιβεβαιώνει ότι ο σχεδιαστικός χώρος (design space) θα πρέπει να βασίζεται στην επιλογή μελέτης εκείνων των χαρακτηριστικών ποιότητας και μέσω της διάλυσης τα οποία να έχουν κλινική σημασία. Δεδομένου ότι ο σχεδιασμός ποιότητας (Quality by Design, QbD) αποτελεί βασικό κομμάτι κατά το σχεδιασμό και την ανάπτυξη προϊόντων στις φαρμακευτικές βιομηχανίες, η αξιοποίηση του "bioequivalence by design" αναμένεται ίσως να έχει απήχηση στα επόμενα χρόνια. Στο σημείο αυτό, αξίζει να επισημανθεί η ανάγκη συνεχούς επικοινωνίας και στενής συνεργασίας μεταξύ των φαρμακευτικών εταιρειών και των ρυθμιστικών αρχών, ώστε να είναι δυνατή η θέσπιση ενός ενιαίου πλαισίου που αφορά οδηγίες σχετικά με τη δημιουργία προδιαγραφών διάλυσης που να έχουν κλινική σημασία⁴⁰.

1.3.3 Εκτίμηση της έκτασης της απορρόφησης

Αναφορικά με τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας, η εκτίμηση της έκτασης της απορρόφησης, δηλαδή της ποσότητας του φαρμάκου που φθάνει στη γενική κυκλοφορία, γίνεται μέσω της παραμέτρου AUC (Area Under the Curve), που είναι η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα – χρόνου. Η σχέση (1.1) αντιστοιχεί στην περίπτωση per os χορήγησης φαρμάκου με μονοδιαμερισματική κινητική:

$$AUC = \frac{FD}{V_d k_{el}} = \frac{FD}{Cl} \quad (1.1)$$

όπου:

D: η χορηγηθείσα δόση

F: το κλάσμα της δόσης D που φθάνει τελικά στη γενική κυκλοφορία (συντελεστής βιοδιαθεσιμότητας)

k_{el} : η πρωτοταξική σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης του φαρμάκου

V_d : ο φαινόμενος όγκος κατανομής και

Cl: η ολική κάθαρση του φαρμάκου

Από τη σχέση (1.1) φαίνεται η αναλογία της βιοδιαθέσιμης δόσης FD σε σχέση με την παράμετρο AUC, δεδομένου βέβαια ότι η σωματική κάθαρση των εθελοντών κατά την χορήγηση ίδιων δόσεων των σκευασμάτων είναι η ίδια¹⁵. Εφόσον, η βιοδιαθέσιμη δόση εκφράζει το κλάσμα F της δόσης που φθάνει στην γενική κυκλοφορία, είναι αντιληπτό γιατί η AUC χρησιμοποιείται για να εκφράσει την έκταση της απορρόφησης εδώ και αρκετά χρόνια χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα. Εδώ, θα πρέπει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με τη θεώρηση της συστηματικής έκθεσης⁴⁸ η παράμετρος AUC αντανακλά την ολική έκθεση του ανθρώπου στο φάρμακο.

Η εκτίμηση της AUC πραγματοποιείται αξιοποιώντας τον απλό - γραμμικό ή, το λογαριθμικό - γραμμικό κανόνα των τραπεζιών⁷. Συγκεκριμένα, υπολογίζονται δύο μεγέθη:

- (i) η AUC_t , η οποία αντιστοιχεί στο άθροισμα των μερικών επιφανειών κάτω από την καμπύλη AUC_i μέχρι το τελευταίο μετρήσιμο πειραματικό σημείο n σε χρόνο t , σύμφωνα με την σχέση :

$$AUC_t = \sum_{i=1}^{n-1} AUC_i \quad (1.2)$$

- (ii) η AUC_∞ , η οποία υπολογίζεται μετά από προέκταση της καμπύλης συγκέντρωσης χρόνου μέχρι το άπειρο θεωρώντας εκθετική πτώση της συγκέντρωσης. Η τιμή της AUC_∞ προκύπτει από το άθροισμα της AUC_i και της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη από το τελευταίο πειραματικό σημείο n μέχρι το άπειρο. Τα παραπάνω φαίνονται στην σχέση:

$$AUC_\infty = \sum_{i=1}^{n-1} AUC_i + \frac{C_n}{\lambda_z} \quad (1.3)$$

όπου:

C_n : τιμή της τελευταίας συγκέντρωσης που μετράται στο αίμα

λ_z : σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης

Η εκτίμηση της σχέσης (1.3) θεωρείται αξιόπιστη όταν η $AUC_t \geq 80\%$ της AUC_∞ ⁷. Η εκτίμηση της σταθεράς λ_z γίνεται με γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης των τελευταίων τουλάχιστον 3-4 σημείων της καμπύλης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης $\ln C$ σε σχέση με το χρόνο. Η τιμή της κλίσης της παραπάνω ευθείας αντιστοιχεί στην παράμετρο λ_z ^{5,7}.

1.3.4 Εκτίμηση του ρυθμού απορρόφησης

Ο ρυθμός απορρόφησης εκφράζει το πόσο γρήγορα ή αργά φθάνει το φάρμακο που χορηγείται στην γενική κυκλοφορία. Αποτελεί, δηλαδή την χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα, $\frac{dC}{dt}$. Αντίθετα, λοιπόν, με την έκταση της απορρόφησης, η εύρεση ενός δείκτη για τον ρυθμό της απορρόφησης παρουσιάζει προβλήματα, καθώς αυτός στην πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν είναι ένας

σταθερός αριθμός, αλλά μεταβάλλεται από την χορήγηση του φαρμάκου μέχρι την ολοκλήρωση της εμφάνισής του στην γενική κυκλοφορία.

Εντούτοις, οι κανονιστικές αρχές έχουν θεσπίσει την χρήση της μέγιστης συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα, C_{max} , ως δείκτη του ρυθμού απορρόφησης^{5,9}. Πρακτικά, η C_{max} εκφράζει την μέγιστη έκθεση του ανθρώπου στο φάρμακο (#1) και άρα αποτελεί ένα σημαντικό κλινικό δείκτη για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του φαρμακευτικού σκευάσματος⁵. Ως μειονεκτήματα του δείκτη μπορούμε να αναφέρουμε την υψηλή στατιστική του απόκριση καθώς αποτελεί μέτρηση ενός και μόνο σημείου⁷, καθώς και την χαμηλή κινητική του ευαισθησία και τη μη εκλεκτικότητα του. Πιο επεξηγηματικά, ο δείκτης αυτός δεν παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στις αλλαγές του ρυθμού εμφάνισης του φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία, ειδικά όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός απορρόφησης σε σχέση με το ρυθμό απομάκρυνσης, και επιπλέον εξαρτάται και από το κλάσμα της δόσης που απορροφάται, άρα από την έκταση της απορρόφησης^{15,19}. Επιπλέον, δε συνδέεται γραμμικά με την σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, k_a , στην περίπτωση πρωτοταξικής κινητικής εμφάνισης του φαρμάκου στο αίμα και ασφαλώς εξαρτάται πολύ από το δειγματοληπτικό σχήμα.

Για τους παραπάνω λόγους, έχουν προταθεί διάφορες άλλες φαρμακοκινητικές παράμετροι ως δείκτες του ρυθμού απορρόφησης. Μια τέτοια παράμετρος είναι ο χρόνος που αντιστοιχεί στην μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα, T_{max} . Ο δείκτης αυτός, ναι μεν παρουσιάζει εκλεκτικότητα, ως μια καθαρά κινητική παράμετρος, όμως ορισμένα προβλήματα που παρατηρούνται με την C_{max} εξακολουθούν να υπάρχουν. Τέτοια προβλήματα είναι η έλλειψη γραμμικότητας με την σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, k_a , η εξάρτηση από το δειγματοληπτικό σχήμα και η χαμηλή κινητική ευαισθησία, ειδικά όταν οι ρυθμοί απορρόφησης και απομάκρυνσης έχουν παραπλήσιες τιμές^{7,24}. Παράλληλα, η φαρμακοκινητική παράμετρος T_{max} είναι μια διακριτή μεταβλητή, συνεπώς δεν μπορεί να επεξεργαστεί στατιστικά με τις συνήθεις, μεγαλύτερης ακρίβειας παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης¹⁴. Για το λόγο αυτό, ο δείκτης T_{max} δεν αναλύεται στατιστικά και χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την C_{max} ή και τον χρόνο υστέρησης t_{lag} ²⁴ για προϊόντα τροποποιημένης αποδέσμευσης, ώστε να εκφράσει την αρχική έκθεση του ανθρώπου στο φάρμακο^{9, 23}.

Μια άλλη παράμετρος που προτάθηκε από τους ερευνητές^{49,48} και υιοθετήθηκε από τον FDA για την εκτίμηση της αρχικής έκθεσης του ανθρώπου στο φάρμακο είναι η μερική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο (Partial Area Under the Curve, AUC_p). Αυτό συνέβη γιατί διαπιστώθηκε γρήγορα ότι σκευάσματα με διαφορετικό ρυθμό εισόδου στην γενική κυκλοφορία είναι δυνατό να εμφανίζουν παρόμοιες τιμές C_{max} και AUC⁴⁹. Συνεπώς, σκευάσματα που είναι πραγματικά βιοανισοδύναμα να φαίνονται βιοϊσοδύναμα²⁴. Ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η συνεισφορά του δείκτη στον έλεγχο βιοϊσοδυναμίας προϊόντων τροποποιημένης αποδέσμευσης, όπου απαιτείται πολύ γρήγορη έναρξη της δράσης ή καθυστέρηση αυτής για λόγους αποτελεσματικότητας της θεραπείας^{14,23}.

Πέρα από την μη γραμμικότητα και εκλεκτικότητα αυτού του δείκτη, το σημαντικό του μειονέκτημα είναι η εξάρτησή του από το χρόνο υστέρησης, το χρόνο αποκοπής και το δειγματοληπτικό σχήμα^{50,51,52}. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν διάφορες μελέτες σχετικά με το ποιος θεωρείται ο κατάλληλος χρόνος αποκοπής^{50,51}. Σύμφωνα με τους Zirkelbach et. al⁵³, οι οποίοι σύγκριναν δύο διαφορετικά σκευάσματα σε δύο διαφορετικούς χρόνους αποκοπής, ο χρόνος αυτός πρέπει να επιλέγεται κατά περίπτωση ανάλογα με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου και την φαρμακοτεχνική μορφή. Βέβαια, για λόγους μείωσης της μεταβλητότητας της παραμέτρου και καθιέρωσης μιας ενιαίας οδηγίας, έχει προταθεί από τις κανονιστικές αρχές ο χρόνος αυτός να αντιστοιχεί στην διάμεσο T_{max} του σκευάσματος αναφοράς⁵. Αξίζει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με μια έρευνα των Chen et. al⁵², η ευαισθησία της AUC_p για διάφορα σκευάσματα άμεσης και τροποποιημένης αποδέσμευσης αποδείχθηκε μεγαλύτερη από αυτήν της C_{max} σε όλες τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} που εξετάστηκαν.

Άλλοι δείκτες που έχουν προταθεί κατά καιρούς στην βιβλιογραφία είναι ο μέσος χρόνος παραμονής του φαρμάκου στον οργανισμό (Mean Residence Time, MRT)⁵⁴, η τομή της καμπύλης των λογαριθμικά τροποποιημένων δεδομένων της συγκέντρωσης συναρτήσεως του χρόνου ln(C/t)-χρόνου (Intercept_{C/t})⁵⁵, ο λόγος των δημοφιλέστερων παραμέτρων C_{max} και AUC (C_{max}/AUC)⁵⁶, καθένας με τα δικά του πλεονεκτήματα και αδυναμίες¹⁹. Η ερευνητική αναζήτηση για τον εντοπισμό καλύτερων δεικτών του ρυθμού απορρόφησης πραγματοποιείται συνεχώς. Επικρατεί, βέβαια, και η άποψη ότι

η έμμεση εκτίμηση της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης, k_a μέσω ορισμένων φαρμακοκινητικών παραμέτρων ίσως δεν αποτελεί σωστή τακτική, καθώς η k_a δεν αντανακλά τον πραγματικό ρυθμό, όταν μεταβάλλεται η ποσότητα του φαρμάκου που απορροφάται. Έτσι, ίσως θα ήταν πιο χρήσιμο η εκτίμηση του ρυθμού της απορρόφησης να αφορά το συνολικό προφίλ του ρυθμού. Βέβαια, μια τέτοια προσέγγιση δεν έχει υιοθετηθεί καθώς παρουσιάζονται πρακτικές δυσκολίες, όπως η ανάγκη ύπαρξης δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου και μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, η μη ύπαρξη κανονιστικού πλαισίου για την στατιστική ανάλυση κλπ⁵².

Τα παραπάνω προβλήματα των δεικτών ώθησαν τόσο τους επιστήμονες όσο και τις κανονιστικές αρχές να αναθεωρήσουν τον τρόπο προσέγγισης της παρόμοιας αποτελεσματικότητας και ασφάλειας μεταξύ δύο σκευασμάτων. Η έκταση και ο ρυθμός της απορρόφησης ουσιαστικά αντανακλούν την ολική και μέγιστη έκθεση του οργανισμού στο φάρμακο, αντίστοιχα⁴⁸. Σύμφωνα με τον FDA⁵ και τον EMA⁹, μια καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο μπορεί να αξιολογηθεί με τα εξής τρία χαρακτηριστικά:

1. την ολική έκθεση στο φάρμακο, η οποία εκτιμάται μέσω της φαρμακοκινητικής παραμέτρου AUC και είναι σημαντική σε όλες τις περιπτώσεις.
2. τη μέγιστη έκθεση στο φάρμακο, η οποία εκτιμάται μέσω της φαρμακοκινητικής παραμέτρου C_{max} . Στην περίπτωση αυτή η C_{max} δεν αποτελεί δείκτη εκτίμησης του ρυθμού, αλλά έναν αποτελεσματικό κλινικό δείκτη ασφάλειας. Ως δείκτης εκτίμησης του ρυθμού της απορρόφησης σε αυτή την περίπτωση μπορεί να θεωρηθεί η παράμετρος T_{max} ^{25,31}.
3. την αρχική έκθεση στο φάρμακο, η οποία εκτιμάται, σύμφωνα με τον FDA, μέσω της φαρμακοκινητικής παραμέτρου $AUC_{T_{max},R}$, ενώ σύμφωνα με τον EMA εκτιμάται μέσω του T_{max} . Η εκτίμηση της αρχικής έκθεσης θεωρείται σημαντική σε περιπτώσεις όπου απαιτείται γρήγορη έναρξη της δράσης του φαρμάκου και σε περιπτώσεις όπου αντίθετα απαιτείται αργή δράση του φαρμάκου λόγω ανεπιθύμητων ενεργειών.

Η φαρμακοκινητική ανάλυση των δεδομένων, δηλαδή η εύρεση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων AUC και C_{max} πρέπει πάντα να συνοδεύεται από λογαριθμική τροποποίηση των δεδομένων και την στατιστική επεξεργασία τους, ώστε

να προκύψει το συμπέρασμα για βιοϊσοδυναμία ή βιοανισοδυναμία μεταξύ των σκευασμάτων. Η στατιστική αξιολόγηση βασίζεται στον υπολογισμό του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης (CI) των λόγων των γεωμετρικών μέσων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων AUC και C_{max} του σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς. Στατιστικά, ισοδυναμεί με δύο μονόπλευρους έλεγχους (two-one sided tests) σε επίπεδο εμπιστοσύνης 5%^{14,57}. Δύο σκευάσματα θεωρούνται βιοϊσοδύναμα αν αυτό το διάστημα βρίσκεται εντός των αποδεκτών ορίων βιοϊσοδυναμίας 80.00% - 125.00%, όπως ορίζουν οι κανονιστικές αρχές EMA και FDA^{5,9,25,31}. Τα προκαθορισμένα αυτά όρια βασίζονται στην $\pm 20\%$ μέγιστη διαφορά στις μέσες τιμές των παραμέτρων μεταξύ των σκευασμάτων, η οποία προέκυψε εμπειρικά, με βάση τις κλινικές παρατηρήσεις των γιατρών¹⁵. Παράλληλα, υπολογίζονται και άλλες φαρμακοκινητικές παράμετροι όπως T_{max} , λ_z , $t_{1/2}$, MRT κλπ, που όμως δεν αξιολογούνται στατιστικά για την απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας^{9,31}.

Πέρα από την μέση βιοϊσοδυναμία, αξίζει να αναφερθεί ότι ο FDA προτείνει και δύο άλλες στατιστικές μεθόδους, την πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία (population bioequivalence) και την ατομική βιοϊσοδυναμία (individual bioequivalence), προκειμένου να εκτιμηθούν πέρα από τις μέσες τιμές και οι μεταβλητότητες των φαρμακοκινητικών παραμέτρων^{17,57}. Παρ' όλα αυτά η συνήθης πρακτική που ακολουθείται είναι η μέση βιοϊσοδυναμία (average bioequivalence), που αναφέρεται παραπάνω.

1.4 Δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών

1.4.1 Θεωρία των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών

Τα προβλήματα των δημοφιλέστερων φαρμακοκινητικών παραμέτρων AUC και C_{max} , οι οποίοι αποτελούν έμμεσους δείκτες της έκτασης και του ρυθμού απορρόφησης αντίστοιχα, ώθησαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, την επιστημονική κοινότητα στην προσπάθεια ανεύρεσης νέων προσεγγίσεων. Η συνειδητοποίηση ότι δύο φαρμακευτικά προϊόντα με την ίδια AUC και C_{max} μπορούν να έχουν διαφορετικούς ρυθμούς εισόδου, οδήγησε στην πρόταση της άμεσης σύγκρισης των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα – χρόνου^{58,59,7,60}. Σύμφωνα με αυτή την

μέθοδο, η βιοϊσοδυναμία δύο σκευασμάτων θα πρέπει να στηρίζεται στην εγγύτητα των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα που παρουσιάζουν τα σκευάσματα.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι μέχρι σήμερα η βασική εφαρμογή των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών αφορά στην σύγκριση *in vitro* δεδομένων διάλυσης για την εκτίμηση της ομοιότητας ή της διαφοράς τους και αξιοποιείται τόσο κατά την ανάπτυξη ενός προϊόντος όσο και στην ρουτίνα ενός ποιοτικού ελέγχου. Η σύγκριση των καμπυλών διάλυσης μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο με μεθόδους ανεξάρτητες μοντέλου, όσο και με μεθόδους όπου χρησιμοποιείται κάποιο μοντέλο. Παραδείγματα μοντέλων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ανάλογα με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου, την φαρμακοτεχνική μορφή και τον μηχανισμό δράσης, είναι: Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas, Baker-Lonsdale, Hopfenberg, μηδενικής τάξης, πρώτης τάξης και Weibull⁶¹. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συνάρτηση Weibull^{62,63,64} αξιοποιείται εκτενώς στην βιβλιογραφία, καθώς συνήθως παρουσιάζει καλή προσαρμογή^{65,66}. Από την άλλη πλευρά, οι μέθοδοι ανεξάρτητες μοντέλου στηρίζονται στη χρήση δεικτών, οι κυριότεροι εκ των οποίων είναι: ο δείκτης ομοιότητας f_2 (similarity factor) και ο δείκτης διαφοράς f_1 (difference factor)⁶⁷ καθώς και οι δείκτες ξ_1, ξ_2 (Rescigno indices)⁵⁸.

Όσον αφορά στο κανονιστικό πλαίσιο, υπάρχει μια σαφής προτίμηση των κανονιστικών αρχών στην αξιοποίηση δεικτών έναντι της χρήσης μοντέλων για την σύγκριση των *in vitro* καμπυλών διάλυσης⁹. Αιτία αυτού του φαινομένου αποτελεί το γεγονός ότι οι μέθοδοι ανεξάρτητες μοντέλου αποτελούν μια απλούστερη μεθοδολογία, η οποία στηρίζεται σε μία μόνο τιμή που αντανακλά την συνολική διαφορά μεταξύ των δύο σκευασμάτων για όλες τις χρονικές στιγμές. Αντίθετα, τα μοντέλα που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση δεδομένων διάλυσης/αποδέσμευσης φαρμάκων είναι συνήθως εμπειρικά και πολυπαραμετρικά, με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η σύγκριση των καμπυλών διάλυσης⁶¹. Επιπλέον, για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μοντέλων πρέπει να δίνεται ιδιαίτερα προσοχή στις παραδοχές που γίνονται κατά την ανάπτυξή τους⁶¹ καθώς και στον αριθμό των πειραματικών σημείων που χρησιμοποιούνται⁶⁷. Τέλος, η αξιολόγηση των μοντέλων πρέπει να γίνεται όχι μόνο με βάση στατιστικά κριτήρια ή κριτήρια προσαρμογής, αλλά σε συνδυασμό με την φυσική σημασία των εμπλεκόμενων στο μοντέλο παραμέτρων^{36,68}.

Αξίζει να αναφερθεί πάντως ότι ενδέχεται να παρατηρούνται διαφορετικά συμπεράσματα ανάλογα με την χρησιμοποιούμενη μέθοδο, συνεπώς η εναρμόνιση των κανονιστικών αρχών ως προς μια επιλεγόμενη μέθοδο είναι δικαιολογημένη^{69,70}.

Πιο συγκεκριμένα, οι Moore and Planner⁶⁷ πρότειναν το 1996 τους δείκτες διαφοράς f_1 και ομοιότητας f_2 για την σύγκριση των αθροιστικών καμπυλών διάλυσης δύο σκευασμάτων. Εναλλακτικά, οι δείκτες αυτοί καλούνται και "fit factors". Στην συνέχεια, αναλύονται ξεχωριστά.

Όσον αφορά τον δείκτη f_1 , ο δείκτης αυτός αντανακλά την μέση σχετική διαφορά μεταξύ ενός σκευάσματος υπό έλεγχο και ενός σκευάσματος αναφοράς, αθροίζοντας όλα τα δεδομένα διάλυσης από $i = 1$ έως n , το πλήθος δηλαδή των πειραματικών σημείων. Ο υπολογισμός του δείκτη διαφοράς πραγματοποιείται με την παρακάτω σχέση:

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{i=1}^n R_t} \times 100 \quad (1.4)$$

όπου:

R_t και T_t : η % διάλυση/αποδέσμευση του φαρμάκου από το σκεύασμα αναφοράς και υπό έλεγχο, αντίστοιχα, σε χρόνο t

n : το πλήθος των πειραματικών σημείων

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο δείκτης f_1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την σύγκριση in vivo καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο. Ο δείκτης f_1 μπορεί να υπολογισθεί και με την χρήση επιφανειών⁷¹, σύμφωνα με την σχέση:

$$f_1 = \frac{\int_0^{\infty} |C_r(t) - C_x(t)| dt}{\int_0^{\infty} C_r(t) dt} \times 100 \quad (1.5)$$

όπου:

$C_r(t)$ και $C_x(t)$: η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα σε χρόνο t μετά την χορήγηση του σκευάσματος αναφοράς και σκευάσματος υπό έλεγχο, αντίστοιχα

Όπως φαίνεται από τις παραπάνω σχέσεις, η τιμή 0 του δείκτη αντιστοιχεί στην πλήρη ταύτιση των καμπυλών διάλυσης ή συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα μεταξύ των δύο σκευασμάτων, ενώ η τιμή του δείκτη αυξάνεται γραμμικά με την διαφορά που εμφανίζουν οι δύο συγκρινόμενες καμπύλες. Με βάση τις κανονιστικές αρχές, δύο in vitro καμπύλες διάλυσης θεωρούνται όμοιες όταν $0 < f_1 < 0.15^{9,14}$, ενώ δύο in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο είναι όμοιες όταν $0 < f_1 < 0.20$ με το όριο αυτό να αντιστοιχεί στην εμπειρική $\pm 20\%$ μέγιστη διαφορά που μπορεί να υπάρχει μεταξύ δύο σκευασμάτων ώστε αυτά να θεωρούνται βιοϊσοδύναμα.

Για τον υπολογισμό του δείκτη, όπως φαίνεται στις σχέσεις (1.4) και (1.5) απαιτείται ο a priori ορισμός μιας εκ των δύο συγκρινόμενων καμπυλών ως καμπύλη αναφοράς, δεδομένου ότι η επιλογή αυτή επηρεάζει την τιμή του δείκτη⁶¹. Αυτό αποτελεί ένα μειονέκτημα του δείκτη διαφοράς. Αντίθετα, όπως φαίνεται παρακάτω στην σχέση (1.6), τέτοιο πρόβλημα δεν παρατηρείται κατά τον υπολογισμό του δείκτη f_2 . Αυτός είναι ίσως και ένας από τους λόγους που ο δείκτης ομοιότητας f_2 καθιερώθηκε ως ο βασικός δείκτης σύγκρισης δύο αθροιστικών % in vitro καμπυλών διάλυσης από τους κανονιστικούς οργανισμούς φαρμάκων EMA και FDA, καθώς και από τον WHO^{35,9,14}.

Συγκεκριμένα, ο δείκτης f_2 αποτελεί έναν αλγοριθμικό μετασχηματισμό του αντιστρόφου της τετραγωνικής ρίζας του αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών μεταξύ των σκευασμάτων υπό έλεγχο και αναφοράς για όλα τα χρονικά σημεία, σύμφωνα με τη σχέση:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n w_t (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (1.6)$$

όπου:

R_t και T_t : η % διάλυση/αποδέσμευση του φαρμάκου από το σκεύασμα αναφοράς και το σκεύασμα υπό έλεγχο, αντίστοιχα, σε χρόνο t

n : το πλήθος των πειραματικών σημείων

w_t : προαιρετικός συντελεστής βαρύτητας, που γενικά λαμβάνει τιμή ίση με τη μονάδα

Δεδομένου ότι σύμφωνα με την σχέση (1.6), η διαφορά των δύο σκευασμάτων εμφανίζεται στον παρονομαστή, ο δείκτης ομοιότητας αυξάνεται, και μάλιστα εκθετικά, όσο η διαφορά μεταξύ των δύο σκευασμάτων είναι μικρότερη, λαμβάνοντας την μέγιστη τιμή του $f_2 = 100$, όταν οι καμπύλες διάλυσης των συγκρινόμενων προϊόντων ταυτίζονται. Αντίθετα, για $f_2 = 0$ τα δύο σκευάσματα είναι πλήρως ανόμοια. Αξίζει, επίσης, να αναφερθεί ότι η σχέση (1.6) μπορεί να εφαρμοστεί μόνο όταν η μέση διαφορά του αθροιστικού ποσοστού διάλυσης μεταξύ των δύο σκευασμάτων είναι μικρότερη από 100^{67} , διαφορετικά απαιτείται κανονικοποίηση των δεδομένων ή τροποποίηση της εξίσωσης (1.6).

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές των FDA^{35,72} και EMA⁹, δύο καμπύλες διάλυσης θεωρούνται επαρκώς όμοιες όταν $50 \leq f_2 \leq 100$. Το κατώτατο όριο αποδοχής ($f_2 = 50$) θεωρείται ότι αντιστοιχεί σε 10% μέση απόλυτη διαφορά μεταξύ του σκευάσματος αναφοράς και του σκευάσματος υπό έλεγχο. Επιπλέον, οι κανονιστικές αρχές συστήνουν την χρήση τουλάχιστον 3 πειραματικών σημείων (εκτός του μηδενός) για τον υπολογισμό του δείκτη και 12 τουλάχιστον δισκίων (επαναλήψεων) σε κάθε χρονική στιγμή. Τέλος, ο συντελεστής μεταβλητότητας των δεδομένων στα αρχικά χρονικά σημεία θα πρέπει να είναι μικρότερος ή ίσος με 20% και στα επόμενα πειραματικά σημεία μικρότερος ή ίσος με 10%. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι αν και παρατηρείται συμφωνία των κανονιστικών αρχών FDA και EMA ως προς τα παραπάνω βασικά χαρακτηριστικά του δείκτη ομοιότητας, υπάρχουν χώρες π.χ. η Κίνα που θέτει τις δικές τις προϋποθέσεις. Για την εναρμόνιση μεταξύ των κανονιστικών αρχών, ο WHO επίσης προτείνει τα παραπάνω κριτήρια για την σωστή χρήση και υπολογισμό του δείκτη ομοιότητας^{14,73}.

Όσον αφορά το συντελεστή βαρύτητας w_t , ο ρόλος του είναι να "διορθώνει" την τιμή του δείκτη, προσδίδοντας μεγαλύτερη σημασία σε ορισμένα πειραματικά σημεία και υποβαθμίζοντας άλλα. Για παράδειγμα, χρησιμοποιείται όταν η τιμή της ολικής αθροιστικής διάλυσης του φαρμάκου από το σκεύασμα αναφοράς δεν είναι 100. Αυτό αποτελεί μειονέκτημα του δείκτη f_2 σε σχέση με τον f_1 , όπου δεν απαιτείται η χρήση συντελεστή βαρύτητας. Επίσης, ένα πρόσθετο μειονέκτημα του δείκτη ομοιότητας είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε *in vivo* καμπύλες συγκέντρωσης του

φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο, κάτι που καθιστά ανέφικτη την δημιουργία IVIVC και άρα την πρόβλεψη της in vivo συμπεριφοράς με βάση τον συγκεκριμένο δείκτη⁷⁴. Επιπλέον, η τιμή του δείκτη f_2 , όπως και του f_1 , (όταν αυτός δεν υπολογίζεται με επιφάνειες) επηρεάζεται από τον αριθμό των πειραματικών σημείων που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του και δεν λαμβάνει υπόψη του το σχήμα των καμπυλών διάλυσης και τα άνισα διαστήματα μεταξύ των χρονικών σημείων δειγματοληψίας⁶¹. Τέλος οι δείκτες f_1 και f_2 δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν με αξιοπιστία όταν τα δεδομένα διάλυσης παρουσιάζουν υψηλή μεταβλητότητα^{71, 36} (ανθρώπινα σφάλματα, σφάλματα μεθόδου και εξοπλισμού ή μορφοποίησης)⁷⁴, οπότε και σύμφωνα με την βιβλιογραφία και τις κανονιστικές αρχές, συστήνονται άλλες μέθοδοι, όπως η χρήση της μεθόδου bootstrap για τον υπολογισμό διαστημάτων εμπιστοσύνης του δείκτη ομοιότητας^{36,74,68,75,76}, η αξιοποίηση άλλων μεθόδων όπως η πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση (Multivariate Statistical Distance test, MSD)³⁵, καθώς και η εφαρμογή μεθόδων με χρήση μοντέλου^{9,35,68} με την τελευταία να προσανατολίζεται και στην αξιοποίηση πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής (μπαεσιανή προσέγγιση, Bayesian approach)⁶⁸.

Ειδικότερα, η κρισιμότητα του αριθμού των πειραματικών σημείων που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή της τιμής των δεικτών έγινε νωρίς αντιληπτή από τις κανονιστικές αρχές. Έτσι, σύμφωνα με τις κανονιστικές αρχές FDA και EMA, αλλά και σύμφωνα με τις οδηγίες του WHO, οι δείκτες f_1 και f_2 πρέπει να λαμβάνουν υπόψη όλα τα διαθέσιμα πειραματικά σημεία μέχρι το 85% της διάλυσης και ένα μόνο επιπλέον σημείο πέρα από αυτό το ποσοστό^{9,14,35}. Το σημείο αυτό αναφέρεται είτε στο σκεύασμα αναφοράς είτε στο σκεύασμα υπό έλεγχο, ανάλογα με το ποιο από τα δύο σκευάσματα παρουσιάζει υψηλότερο ρυθμό διάλυσης. Ο λόγος θέσπισης αυτού του κριτηρίου είναι προφανής, καθώς περισσότερα πειραματικά σημεία στην περιοχή του plateau θα οδηγούσαν σε μικρότερες διαφορές μεταξύ των σκευασμάτων, με κίνδυνο να αποδώσουν αποδεκτές τιμές των δεικτών, ενώ οι καμπύλες διάλυσης δεν θα είναι πραγματικά όμοιες.

Ένας άλλος δείκτης που προτάθηκε για πρώτη φορά το 1992 από τον Aldo Rescigno⁵⁸ αφορά στην εκτίμηση της διαφοράς δύο καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο μετά από εξωαγγειακή χορήγηση δύο

σκευασμάτων. Ο δείκτης αυτός, λόγω του δημιουργού του, καλείται δείκτης Rescigno ξ_i και δίνεται από την παρακάτω σχέση⁵⁸:

$$\xi_i = \left(\frac{\int_0^\infty |C_r(t) - C_x(t)|^i dt}{\int_0^\infty |C_r(t) + C_x(t)|^i dt} \right)^{\frac{1}{i}} \quad (1.7)$$

όπου:

$C_r(t)$ και $C_x(t)$: η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα σε χρόνο t μετά την λήψη του σκευάσματος αναφοράς και σκευάσματος υπό έλεγχο, αντίστοιχα

i : θετικός ακέραιος αριθμός

Εναλλακτικά, για την σύγκριση δύο *in vitro* καμπυλών διάλυσης, ο δείκτης ξ_i υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\xi_i = \left(\frac{\int_0^\infty |d_R(t) - d_T(t)|^i dt}{\int_0^\infty |d_R(t) + d_T(t)|^i dt} \right)^{\frac{1}{i}} \quad (1.8)$$

όπου:

$d_R(t)$ και $d_T(t)$: μεμονωμένο ή μέσο διαλυόμενο ποσοστό σε κάθε χρονική στιγμή των καμπυλών διάλυσης/αποδέσμευσης από το σκεύασμα αναφοράς και υπό έλεγχο, αντίστοιχα

Οι δείκτες ξ_i έχουν πεδίο τιμών μεταξύ 0 και 1. Η τιμή $\xi_i = 0$ αντιστοιχεί στην πλήρη ταύτιση των δύο συγκρινόμενων καμπυλών, ενώ για $\xi_i = 1$ θεωρείται ότι ένα από τα δύο σκευάσματα δεν έχει απορροφηθεί καθόλου⁵⁸. Για τιμές $\xi_i \leq 0.111$, τα δύο σκευάσματα θεωρούνται βιοϊσοδύναμα⁷. Ο θετικός ακέραιος αριθμός i λαμβάνει συνήθως τιμές 1 ή 2, ενώ στην βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί και άλλες τιμές του⁶⁰. Για $i = 1$, ο δείκτης ξ_1 αντανακλά την διαφορά επιφανειών, ενώ για $i = 2$, ο δείκτης ξ_2 αντανακλά την διαφορά των τετραγώνων των επιφανειών. Καθώς η τιμή του δείκτη i αυξάνεται, μεγαλύτερη σημασία δίνεται στην αλλαγή της συγκέντρωσης μεταξύ των σκευασμάτων, παρά στην διάρκεια αυτής της αλλαγής^{61,58}.

Πάντως, οι Rescigno et. al σύγκριναν διάφορα *in vivo* προφίλ με την κλασική φαρμακοκινητική ανάλυση και με την χρήση του δείκτη ξ_2 με στόχο την απόδειξη

βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των σκευασμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων ήταν παραπλήσια, γεγονός που καθιστά την χρήση των δεικτών Rescigno ως ένα χρήσιμο εργαλείο⁵⁹.

Μια εναλλακτική μορφή των σχέσεων (1.7) και (1.8) παρουσιάζεται στην σχέση (1.9). Η σχέση αυτή χρησιμοποιείται για διακριτές τιμές της συγκέντρωσης^{58, 61}:

$$\xi^* = \left(\frac{\sum_{j=1}^n w_j |C_r(t_j) - C_x(t_j)|^i}{\sum_{j=1}^n w_j |C_r(t_j) + C_x(t_j)|^i} \right)^{\frac{1}{i}} \quad (1.9)$$

όπου:

w_j : κατάλληλος συντελεστής βαρύτητα που αποδίδει μεγαλύτερη σημασία σε ορισμένα χρονικά σημεία. Η σχέση (1.9) εξαρτάται από την επιλογή των χρονικών σημείων t_j και από τα βάρη w_j ⁵⁸

Τα βασικά πλεονεκτήματα των δεικτών Rescigno αποτελούν η έλλειψη απαίτησης του a priori ορισμού μιας εκ των δύο καμπυλών ως καμπύλες αναφοράς και της μη ανάγκης χρήσης συντελεστή βαρύτητας όταν η διάλυση από το σκεύασμα αναφοράς δεν είναι πλήρης⁷¹.

Ένα βασικό πρόβλημα των δεικτών Rescigno σε σχέση με τους f_1 και f_2 είναι ότι η τιμή τους επηρεάζεται από την σχετική θέση του προφίλ του σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το προφίλ του σκευάσματος αναφοράς. Για παράδειγμα, αν το προφίλ του σκευάσματος υπό έλεγχο βρίσκεται πάνω από το προφίλ του σκευάσματος αναφοράς, ο δείκτης δίνει μεγαλύτερες τιμές από ότι αν το προφίλ του σκευάσματος υπό έλεγχο βρίσκεται κάτω από το προφίλ του σκευάσματος αναφοράς, παρόλο που οι διαφορές μεταξύ των δύο αυτών περιπτώσεων μπορεί να είναι ίδιες και συνεπώς θα έπρεπε να αποδώσουν ίδια τιμή του δείκτη⁶⁰. Επιπλέον, ένα ακόμη χαρακτηριστικό των δεικτών Rescigno όταν αυτοί υπολογίζονται από δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα είναι ότι δεν αντανακλούν γραμμικά τις μεταβολές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης του σκευάσματος υπό έλεγχο και μάλιστα με κινητική ευαισθησία που εξαρτάται από τον λόγο των φαρμακοκινητικών παραμέτρων k_a/k_{el} του σκευάσματος αναφοράς^{7,58}.

Όταν συγκρίνονται αθροιστικές in vitro καμπύλες διάλυσης, δεδομένου ότι η τιμή των δεικτών Rescigno στηρίζεται σε πειραματικά δεδομένα, η επιλογή των κατάλληλων χρόνων δειγματοληψίας είναι κρίσιμη για το αποτέλεσμα ομοιότητας ή όχι μεταξύ των εξεταζόμενων καμπυλών, ειδικά στην περίπτωση των σκευασμάτων τροποποιημένης αποδέσμευσης⁷⁴. Αυτό ισχύει για όλους τους δείκτες και φαίνεται από το γεγονός ότι η τιμή τους συνεχώς μεταβάλλεται ανάλογα με το τελευταίο σημείο δειγματοληψίας, προσεγγίζοντας σε άπειρο χρόνο το 0 για τους ξ_i και f_1 και το 100 για τον f_2 όταν υπάρχει πλήρης διάλυση, οπότε και συμπεραίνεται πλήρης ταύτιση των καμπυλών, αφού σε άπειρο χρόνο και τα δύο σκευάσματα θα παρουσιάζουν plateau συγκέντρωσης αφού θα έχουν διαλυθεί πλήρως⁷⁷. Για λόγους συμφωνίας μεταξύ των κανονιστικών αρχών, και σε αυτή την περίπτωση του δείκτη ξ_i ισχύει η επιλογή ενός μόνο σημείου μετά το 85% της διάλυσης και για τα δύο προφίλ. Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί ότι επειδή οι δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών αντιπροσωπεύουν με μια μόνο τιμή την συνολική διαφορά των πειραματικών δεδομένων στις διάφορες χρονικές στιγμές, είναι πάντα απαραίτητη η κατασκευή των προφίλ, καθώς ορισμένες μεγάλες διαφορές μπορεί να μην γίνουν αντιληπτές μέσα από μια μεμονωμένη τιμή ενός δείκτη⁶⁸. Τέλος, η στατιστική κατανομή των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών δεν είναι γνωστή, συνεπώς η στατιστική τους αξιολόγηση παρουσιάζει προβλήματα.

Οι κυριότερες εφαρμογές των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών, και συγκεκριμένα του δείκτη ομοιότητας f_2 σύμφωνα με τον FDA^{35,72}, είναι:

1. Σύγκριση καμπυλών διάλυσης μεταξύ ενός προϊόντος πριν και ενός προϊόντος μετά από μια αλλαγή στην παραγωγική διαδικασία ή στο μέγεθος της παρτίδας ή αλλαγή του χώρου παραγωγής
2. Σύγκριση καμπυλών διάλυσης μεταξύ προϊόντων χαμηλότερης περιεκτικότητας σε σχέση με προϊόν υψηλότερης περιεκτικότητας στο οποίο έχει πραγματοποιηθεί η μελέτη βιοϊσοδυναμίας
3. Σύγκριση καμπυλών διάλυσης μεταξύ ενός προϊόντος πριν και ενός προϊόντος μετά από μια μικρή αλλαγή στη σύνθεση του προϊόντος αναφοράς

Ένας άλλος δείκτης που έχει προταθεί στην βιβλιογραφία είναι ο δείκτης Kullback-Leibler (KLD) ή αλλιώς γνωστός ως σχετική εντροπία ή αριθμός πληροφορίας ή

απόσταση/απόκλιση Kullback-Leibler, ο οποίος βασίζεται στη θεωρία της πληροφορίας^{78,79,80,81,82}. Ουσιαστικά, ο δείκτης αυτός μετρά την απόσταση, δηλαδή την διαφορά, μεταξύ δύο συναρτήσεων πυκνότητας πιθανότητας (probability density function, pdf) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της διαφοράς των κατανομών των κλασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων AUC και C_{max} ⁸³ και τη μέτρηση της ετερογένειας στο ρυθμό διάλυσης⁸⁴. Το συγκριτικό του πλεονέκτημα έναντι των άλλων δεικτών που έχουν αναφερθεί έγκειται στο γεγονός ότι η τιμή του σταθεροποιείται σε σχέση με το χρόνο, συνεπώς θα μπορούσε να αξιοποιηθεί τόσο για την σύγκριση in vitro όσο και in vivo δεδομένων^{83,84,85,86}. Αξίζει πάντως να σημειωθεί ότι τα κριτήρια για ομοιότητα ή μη μεταξύ των καμπυλών δεν είναι σταθερά, αλλά θα πρέπει να ορίζονται κατά περίπτωση με βάση μια υπάρχουσα in vitro - in vivo συσχέτιση (IVIVC)^{85,86}.

Τέλος, ένας άλλος δείκτης που καλείται δείκτης Chinchilli (Chinchilli Metric) αφορά στην σύγκριση των in vivo προφίλ ενός σκευάσματος υπό έλεγχο και ενός σκευάσματος αναφοράς με βάση αποδεκτές περιοχές των δύο σκευασμάτων. Πιο συγκεκριμένα, κατασκευάζεται μια αποδεκτή περιοχή με βάση το προφίλ του σκευάσματος αναφοράς και μια άλλη με βάση το προφίλ του σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το προφίλ του σκευάσματος αναφοράς. Η σύγκριση του λόγου των αποδεκτών περιοχών ($area_{test}/area_{reference} \leq 1$) οδηγεί στην απόφαση για βιοϊσοδυναμία μεταξύ των σκευασμάτων^{87,60}.

1.4.2 Μελέτες στη βιβλιογραφία

Παρακάτω παρατίθενται ορισμένες μελέτες από τη βιβλιογραφία σχετικά με την χρήση των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών τόσο σε in vitro όσο και σε in vivo δεδομένα, καθώς επίσης και μελέτες με σκοπό την διερεύνηση της συμφωνίας μεταξύ της ομοιότητας in vitro διάλυσης και της βιοϊσοδυναμίας in vivo.

1.4.2.1 Έρευνες που μελετούν τη χρήση των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών

Στο κεφάλαιο αυτό δίνονται κάποια παραδείγματα εργασιών που μελετούν τη χρήση των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών in vitro και in vivo.

Μια πρώτη μελέτη⁶⁰ διερευνά την ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vivo* καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα χρόνου. Πιο αναλυτικά, οι δείκτες που εξετάστηκαν ήταν ο δείκτης Rescigno για τιμές $i = 3, 1$ και $1/3$, ο δείκτης διαφοράς f_1 και ο δείκτης Chinchilli με ανώτερα όρια 0.10, 0.20 και 1 αντίστοιχα για απόφαση βιοϊσοδυναμίας, ενώ υπολογίσθηκαν και τα διαστήματα εμπιστοσύνης των δεικτών κάνοντας χρήση διάμεσων αντί μέσων τιμών σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα 18 μελετών βιοϊσοδυναμίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (ομοιότητα με βάση το δείκτη και βιοανισοδυναμία σύμφωνα με τις κλασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους) αφορούσαν περιπτώσεις σκευασμάτων που διέφεραν ως προς το ρυθμό απορρόφησης και είχαν παρόμοιο ρυθμό απομάκρυνσης, με αποτέλεσμα ο συνυπολογισμός ολόκληρου του προφίλ να υπερεκτιμά την ομοιότητά τους. Αντίθετα, για σκευάσματα με πολλαπλές κορυφές οι δείκτες κατάφερναν να ανιχνεύσουν διαφορές που δεν γίνονταν αισθητές με βάση την κλασική φαρμακοκινητική ανάλυση. Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι δεν υπήρξε πλήρης συμφωνία μεταξύ των δεικτών άμεσης σύγκρισης σχετικά με το ποια συγκεκριμένα σκευάσματα κρίνονται βιοϊσοδύναμα με το πρωτότυπο, αν και ο αριθμός των βιοανισοδύναμων σκευασμάτων με βάση τους δείκτες ήταν παρόμοιος, αναδεικνύοντας έτσι την διαφορετική ευαισθησίας τους.

Σκοπός μιας άλλης μελέτης⁸⁸ είναι η αξιολόγηση της θεωρητικής ευαισθησίας των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών ξ_1 , ξ_2 και f_1 στο να αντανakλούν διαφορές μεταξύ των σκευασμάτων που υφίστανται *in vivo*. Για το σκοπό αυτό αξιοποιήθηκαν προσομοιωμένα *in vivo* δεδομένα, θεωρώντας πρωτοταξικό μοντέλο απορρόφησης και μονοδιαμερισματική κινητική. Έμφαση δόθηκε στην μέθοδο υπολογισμού του εκάστοτε δείκτη, καθώς και στο δειγματοληπτικό σχήμα. Σύμφωνα με την έρευνα, διαπιστώθηκαν τα εξής:

- i. ο υπολογισμός των δεικτών πρέπει να λαμβάνει υπόψη την συνολική καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα χρόνου, οπότε και η τιμή του δείκτη σταθεροποιείται, και επιπλέον να γίνεται με την χρήση επιφανειών, καθώς η μέθοδος αυτή επηρεάζεται λιγότερο από το δειγματοληπτικό σχήμα σε σχέση με τον υπολογισμό με σημεία
- ii. οι δείκτες δεν παρουσιάζουν γραμμικότητα σε σχέση τόσο με την έκταση (εξαιρέση αποτελεί ο δείκτης διαφοράς, f_1) όσο και με τον ρυθμό απορρόφησης,

- και η ευαισθησία τους εξαρτάται από τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά του σκευάσματος αναφοράς
- iii. για γρήγορα απορροφούμενα φάρμακα ($k_{aR}/k_{el} \geq 3$) παρατηρείται ελαστικότητα των δεικτών όταν αλλάζει ο ρυθμός και η έκταση της απορρόφησης προς την ίδια κατεύθυνση (ταυτόχρονη αύξηση ή μείωση και των δύο παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς), ενώ αντίθετα για αργά απορροφούμενα φάρμακα με κινητική "flip flop" ($k_{aR}/k_{el} < 1$) ο δείκτης ξ_2 είναι ελαστικός, επιτρέποντας αποκλίσεις της έκτασης της απορρόφησης ($F_T/F_R < 0.80$ και $F_T/F_R > 1.25$).

Καταληκτικά, και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται η ταυτόχρονη στατιστική αξιολόγηση των κλασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και AUC για τα γρήγορα και τα αργά απορροφούμενα φάρμακα, αντίστοιχα.

Σύμφωνα με άλλες δύο μελέτες^{89,90}, ερευνάται η εκτίμηση της βιοϊσοδυναμίας όταν η διαδικασία εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία περιγράφεται από την συνάρτηση Weibull, ενώ η κατανομή και διάθεση του φαρμάκου ακολουθεί μονοδιαμερισματική κινητική. Για το σκοπό της μελέτης, αναγεννήθηκαν 13 ομάδες in vivo προσομοιωμένων δεδομένων, μετά από αριθμητική συνέλιξη της συνάρτησης εισόδου με τη συνάρτηση διάθεσης του φαρμάκου, αξιοποιώντας διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος s (η οποία ισοδυναμεί με την παράμετρο u της παρούσας μελέτης), κλίμακας λ_a (η οποία ισοδυναμεί με την παράμετρο k_d της παρούσας μελέτης) και του κλάσματος F της δόσης, για την παραλαβή διαφόρων σκευασμάτων υπό έλεγχο. Στη συνέχεια, με βάση τα in vivo δεδομένα υπολογίσθηκαν οι λόγοι των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} , AUC, AUC_P και MRT για τα σκευάσματα υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς και αξιολογήθηκε η ευαισθησία των δεικτών στις μεταβολές του ρυθμού απορρόφησης και γενικά του σχήματος των καμπυλών. Σύμφωνα με την έρευνα αυτή, ο δείκτης ξ_2 φάνηκε ο πιο ευαίσθητος συγκριτικά με τους δείκτες ξ_1 και f_1 . Επιπλέον, για ταχέως απορροφούμενα φάρμακα, όπου οι διαφορές εντοπίζονταν σε ένα περιορισμένο, αρχικό τμήμα των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο, οι παράμετροι C_{max} και AUC_P αποδείχθηκαν ικανές να ανιχνεύσουν τις διαφορές των σκευασμάτων σε αντίθεση με τους δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών. Καταληκτικά, τα βασικά συμπεράσματα της μελέτης ήταν ότι οι φαρμακοκινητικές παράμετροι C_{max} , T_{max} και

AUC_P θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για το συμπέρασμα βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δύο φαρμακευτικών σκευασμάτων, καθώς κάθε καμπύλη παρουσιάζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά ανάλογα με τις μεταβολές των παραμέτρων της συνάρτησης Weibull. Επιπλέον, όσον αφορά την ευαισθησία των δεικτών, αυτοί δεν θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν τις επίσημες φαρμακοκινητικές παραμέτρους απόδειξης βιοϊσοδυναμίας, αλλά θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν ως δευτερεύοντες δείκτες. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με την προηγούμενη μελέτη.

Σε μια άλλη έρευνα, οι Vertzoni et. al⁷¹, εξέτασαν την αξιοποίηση των δεικτών άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης f_1 , f_2 και ξ_i , καθώς και το ενδεχόμενο αυτοί να χρησιμοποιηθούν όχι ως απλές τιμές, αλλά ως διαστήματα εμπιστοσύνης στην περίπτωση δεδομένων που παρουσιάζουν υψηλή μεταβλητότητα. Ο δείκτης ομοιότητας f_2 υπολογίστηκε με χρονικά σημεία, ενώ οι f_1 και ξ_i με επιφάνειες, ορίζοντας ως τελευταίο σημείο δειγματοληψίας ένα σημείο μετά το 85% του σκευάσματος αναφοράς, και ως μοντέλο διάλυσης θεωρήθηκε η συνάρτηση Weibull. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργήθηκαν προσομοιωμένα σετ δεδομένων διάλυσης για διάφορες τιμές των παραμέτρων σχήματος και κλίμακας, στα οποία προστέθηκαν διάφορα επίπεδα μεταβλητότητας ώστε να προσομοιάζουν πειραματικά δεδομένα. Πραγματοποιήθηκαν 3 ή 12 επαναλήψεις για κάθε επίπεδο μεταβλητότητας και οι τιμές από τα προσομοιωμένα προφίλ διάλυσης αξιοποιήθηκαν για την κατασκευή διαστημάτων εμπιστοσύνης, είτε μη παραμετρικών (κάνοντας χρήση διάμεσων τιμών), είτε αξιοποιώντας την τεχνική bootstrap (επαναδειγματοληψία τιμών με τυχαίο τρόπο, κάνοντας χρήση μέσων τιμών). Η παραπάνω μελέτη έδειξε ότι όταν οι δείκτες υπολογίζονται με επιφάνειες τα αποτελέσματα είναι πιο αξιόπιστα. Επιπλέον, όσον αφορά τον υπολογισμό των διαστημάτων εμπιστοσύνης των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών φάνηκε ότι η μέθοδος bootstrap αποτελεί την καλύτερη τεχνική για την κατασκευή διαστημάτων εμπιστοσύνης σε περίπτωση δεδομένων που παρουσιάζουν υψηλή μεταβλητότητα, καθώς τα μη παραμετρικά διαστήματα εμπιστοσύνης εξαρτώνται ισχυρά από τον αριθμό των επαναλήψεων ανά σετ δεδομένων και είναι γενικά στενότερα σε σχέση με αυτά που κατασκευάζονται με την τεχνική bootstrap.

Η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης in vivo καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα χρόνου εξετάζεται και σε μία άλλη επιστημονική μελέτη που

πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του 5^{ου} Συνεδρίου της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Φαρμακευτικών Επιστημών (5th WCDATD_EUFEPS 2013)⁹¹. Προκειμένου να μελετηθεί η ευαισθησία των ξ_1 , ξ_2 και f_1 στο να αντανakλούν διαφορές στην αρχική και ολική έκθεση του φαρμάκου, αυτοί υπολογίσθηκαν μέχρι το T_{max} του σκευάσματος αναφοράς και μέχρι το t_{last} . Η αναγέννηση των in vivo καμπυλών πραγματοποιήθηκε και πάλι μέσω αριθμητικής συνέλιξης της συνάρτησης Weibull (συνάρτηση εισόδου του φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία) με την συνάρτηση μονοδιαμερισματικής διάθεσης του φαρμάκου. Μεταβάλλοντας τις παραμέτρους της συνάρτησης Weibull του σκευάσματος αναφοράς αναγεννήθηκαν διάφορα in vivo προφίλ σκευασμάτων υπό έλεγχο και κατόπιν υπολογίσθηκαν οι λόγοι των γεωμετρικών μέσων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων του εκάστοτε σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς. Αρχικά, αξίζει να σημειωθεί ότι η ευαισθησία τόσο των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών όσο και των κλασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων είναι μεγαλύτερη στις περιπτώσεις με κινητική "flip flop" ($k_{aR}/k_{el} < 1$). Σύμφωνα με την μελέτη, συμπεραίνεται ότι η αξιοποίηση των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών μέχρι το T_{max} του σκευάσματος αναφοράς και μέχρι το t_{last} είναι αποτελεσματική στις περιπτώσεις που μεταβάλλεται ο ρυθμός (παραμέτροι κλίμακας και σχήματος) και η έκταση της απορρόφησης (κλάσμα δόσης), αντίστοιχα. Συνεπώς, οι δείκτες άμεσης σύγκρισης in vivo καμπυλών αποτελούν ένα ιδιαίτερα βοηθητικό εργαλείο, σε συνδυασμό βέβαια πάντα με την αξιοποίηση των κλασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και AUC, αλλά και των T_{max} και AUC_P.

Τέλος, η αξιοποίηση των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών σε δεδομένα που παρουσιάζουν υψηλή μεταβλητότητα μελετήθηκε, επίσης, από τους Paixão et. al⁷⁵, καθώς και τους Mangas-Sanjuan et. al⁷⁶. Οι πρώτοι μελέτησαν την αξιοποίηση τριών διαφορετικών μεθόδων σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης: του δείκτη ομοιότητας f_2 , της μεθόδου πολυπαραγοντικής στατιστικής απόστασης (Multivariate Statistical Distance, MSD) και της τεχνικής bootstrap για τον δείκτη ομοιότητας f_2 (bootstrap f_2). Οι δύο τελευταίες βασίζονται στην κατασκευή διαστημάτων εμπιστοσύνης για την αποδοχή ή απόρριψη της ομοιότητας των in vitro καμπυλών διάλυσης, με την βασική διαφορά ότι στην MSD το υπολογιζόμενο 90% διάστημα εμπιστοσύνης πρέπει να είναι μικρότερο από ένα προκαθορισμένο από τον FDA όριο ομοιότητας, ενώ στην μέθοδο bootstrap πρέπει το κατώτερο όριο του 90%

διαστήματος εμπιστοσύνης να είναι μεγαλύτερο από το όριο του δείκτη ομοιότητας $f_2 = 50$. Αρχικά, ως μοντέλο διάλυσης επιλέχθηκε η εξίσωση Noyes-Whitney και στις παραμέτρους του μοντέλου του σκευάσματος αναφοράς προστέθηκε τυχαία διατομική μεταβλητότητα για την εύρεση διαφορών σκευασμάτων υπό έλεγχο και συνεπώς διαφορών τιμών f_2 . Από τα αποτελέσματα προκύπτει, και πάλι, ότι η μέθοδος bootstrap διαφαίνεται ως η καλύτερη επιλογή, καθώς με τη χρήση της ο δείκτης f_2 παρουσιάζει την μεγαλύτερη ευαισθησία, είναι πιο αυστηρός και καταφέρνει να ανιχνεύσει τις διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των σκευασμάτων. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξε και η έρευνα των Mangas-Sanjuan et. al⁷⁶, εισάγοντας σε αυτή την περίπτωση στις παραμέτρους διάλυσης την μεταβλητότητα ως διατομική και ως μεταβλητότητα μεταξύ παρτίδων, προσθέτοντας επίσης υπόλοιπη μεταβλητότητα. Στην μελέτη αυτή τα μοντέλα διάλυσης που εξετάστηκαν είναι το πρωτοταξικό και η συνάρτηση Weibull.

1.4.2.2 Μελέτες που διερευνούν τη συμφωνία μεταξύ ομοιότητας in vitro διάλυσης και βιοϊσοδυναμίας

Στο πλαίσιο αυτών των μελετών, μια επιστημονική εργασία^{92,93} διερευνά την συμπεριφορά των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 , που υπολογίζονται από in vitro αθροιστικά προσομοιωμένα δεδομένα διάλυσης χωρίς σφάλμα σε σχέση με τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους που υπολογίζονται από προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα. Στόχος αυτής της μελέτης, ήταν η in vitro - in vivo συσχέτιση των αποτελεσμάτων, έχοντας ως απώτερο σκοπό την εκτίμηση της δυνατότητας πρόβλεψης της βιοϊσοδυναμίας με βάση την τιμή των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών. Όσον αφορά τη μεθοδολογία, χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά μοντέλα διάλυσης/απορρόφησης του φαρμάκου (πρωτοταξική κινητική και κινητική Weibull), διαφορετικά φαρμακοκινητικά μοντέλα κατανομής του φαρμάκου στο σώμα (μονοδιαμερισματικό και διδιαμερισματικό μοντέλο) και διάφορα επίπεδα τιμών των εμπλεκόμενων παραμέτρων των φαρμακοκινητικών μοντέλων. Η εκτίμηση των δεικτών έγινε μέχρι δύο συγκεκριμένους χρόνους αποκοπής (85% της διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς, $ref_{85\%}$ και 85% της διάλυσης του ταχύτερα διαλυόμενου υπό έλεγχο σκευάσματος, $fast_{85\%}$). Στη συνέχεια, για κάθε εξεταζόμενη περίπτωση, υπολογίστηκαν τα διαγράμματα συγκέντρωσης στο αίμα - χρόνου μέσω αριθμητικής

συνέλιξης της συνάρτησης διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου με την συνάρτηση κατανομής του φαρμάκου και υπολογίστηκαν οι λόγοι των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και AUC_p (έως το T_{max} του σκευάσματος αναφοράς). Με βάση την μελέτη αυτή, προέκυψε ότι η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών στο να αντανakλούν τις διαφορές που υφίστανται in vivo, εξαρτάται από τις τιμές των παραμέτρων του μοντέλου κατανομής. Συγκεκριμένα, στις περιπτώσεις φαρμάκων όπου η διαδικασία της απορρόφησης είναι πιο γρήγορη από τη διαδικασία απομάκρυνσης του φαρμάκου, οι δείκτες βρίσκονται σε συμφωνία έως και αυστηροί σε σχέση με τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους ενώ στις περιπτώσεις φαρμάκων με χαρακτηριστικά κινητικής “flip – flop”, οι δείκτες κάποιες φορές εμφανίζονται ελαστικοί.

Μια άλλη μελέτη που εξετάζει την συμφωνία της in vitro ομοιότητας με την in vivo βιοϊσοδυναμία πραγματοποιήθηκε από τους Duan et. al⁹⁴. Ως μοντέλο διάλυσης επιλέχθηκε η συνάρτηση Weibull, οι παράμετροι της οποίας μεταβάλλονταν για την παραλαβή διαφόρων σκευασμάτων υπό έλεγχο. Μέσω μιας μη γραμμικής in vitro - in vivo συσχέτισης υπολογίστηκε το προφίλ εισόδου του φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία, μέσω του οποίου και της συνάρτησης διάθεσης (Unit Impulse Response, UIR) ελήφθησαν τα διαγράμματα συγκέντρωσης στο αίμα - χρόνου με την μέθοδο της αριθμητικής συνέλιξης. Από την εύρεση των λόγων των γεωμετρικών μέσων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων AUC και C_{max} για τους διάφορους συνδυασμούς παραμέτρων διάλυσης υπολογίστηκε η περιοχή βιοϊσοδυναμίας, η οποία συγκρίθηκε με την περιοχή ομοιότητας σύμφωνα με τον δείκτη f_2 . Από την παραπάνω μελέτη διαπιστώθηκαν τα εξής:

- το ποσοστό in vitro ομοιότητας ήταν μεγαλύτερο όταν τα σκευάσματα υπό έλεγχο είχαν παρόμοια με το σκεύασμα αναφοράς τιμή του μέσου χρόνου διάλυσης (Mean Dissolution Time, MDT), συμπεραίνοντας ότι αυτή η παράμετρος του μοντέλου αποτελεί την πιο βασική παράμετρο για την in vitro ομοιότητα μεταξύ των σκευασμάτων.
- το ποσοστό της in vivo βιοϊσοδυναμίας ήταν μεγαλύτερο όταν τα σκευάσματα υπό έλεγχο είχαν παρόμοια με το σκεύασμα αναφοράς τιμή της παραμέτρου σχήματος (shape factor, B), συνεπώς αυτή η παράμετρος της συνάρτησης

Weibull είναι η καθοριστική παράμετρος για την *in vivo* βιοϊσοδυναμία μεταξύ των σκευασμάτων.

- το ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (συμπέρασμα για *in vitro* ομοιότητα και *in vivo* βιοανισοδυναμία) ήταν 23.3%, ενώ το ποσοστό των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων (συμπέρασμα για *in vitro* ανομοιότητα και *in vivo* βιοϊσοδυναμία) ήταν 11.1%.
- το υψηλό ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων παρατηρείται στις περιπτώσεις που οι παράμετροι D_{max} , μέγιστο ποσοστό διάλυσης και B , παράμετρος σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρουν αισθητά από τις αντίστοιχες τιμές του σκευάσματος αναφοράς.

Συμπεραίνεται, λοιπόν ότι μια μέγιστη διαφορά 10% στα plateaux των προφίλ και η προσεκτική αντιμετώπιση σε περίπτωση που τα δυο προφίλ διασταυρώνονται, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την σύγκριση των *in vitro* καμπυλών διάλυσης, καθώς υπάρχει κίνδυνος για ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Σε μια άλλη έρευνα, οι Gomez-Mantilla et. al⁹⁵ μελέτησαν, μέσω προσομοιωμένων μελετών βιοϊσοδυναμίας, την επίδραση διαφόρων παραμέτρων στον καθορισμό της περιοχής βιοϊσοδυναμίας (bioequivalence space), με σκοπό την εύρεση εξατομικευμένων για κάθε φάρμακο, περιοχών ομοιότητας *in vitro* (*in vitro* similarity space). Πιο αναλυτικά, ως μοντέλα διάλυσης και εισόδου του φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία επιλέχθηκαν η συνάρτηση Weibull για την πρραμιπεξόλη και το μοντέλο Hill για τις διλτιαζέμη και μετορφίνη. Οι παράμετροι διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς μεταβάλλονταν για την παραλαβή διαφόρων σκευασμάτων υπό έλεγχο και στα *in vitro* αυτά δεδομένα προστέθηκε σφάλμα ($CV = 10\%$) ώστε να προσομοιώνουν πειραματικά δεδομένα. Κατόπιν, οι προσομοιωμένες μελέτες βιοϊσοδυναμίας πραγματοποιήθηκαν θεωρώντας μονοδιαμερισματικό και διδιαμερισματικό μοντέλο κατανομής και διάθεσης του φαρμάκου για την πρραμιπεξόλη και τις διλτιαζέμη και μετορφίνη, αντίστοιχα. Ομοίως, στις παραμέτρους και αυτών των μοντέλων προστέθηκε σφάλμα, οριζόμενο ως διατομική μεταβλητότητα. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργήθηκαν διαγράμματα των *in vitro* παραμέτρων με περιγραμμικές καμπύλες που όριζαν την περιοχή βιοϊσοδυναμίας και περιοχή ομοιότητας. Διαπιστώθηκε, τελικά, ότι η περιοχή ομοιότητας διαφέρει

ουσιαστικά από φάρμακο σε φάρμακο, ενώ δεν υπάρχει πλήρης συμφωνία μεταξύ της *in vitro* ομοιότητας και της *in vivo* βιοϊσοδυναμίας, η οποία μάλιστα εξαρτάται έντονα, κυρίως για την C_{max} , από την διατομική μεταβλητότητα, το πλήθος των εθελοντών, την εισαγωγή ή όχι χρόνου υστέρησης στα *in vitro* μοντέλα και τον λόγο του ρυθμού απορρόφησης προς το ρυθμό απομάκρυνσης. Ειδικότερα, στην συγκεκριμένη μελέτη θεωρείται ότι *in vivo* διαφορές παρατηρούνται όταν $k_a/k_{el} < 5$.

Μια άλλη μελέτη πραγματοποιήθηκε και από τους Xie et. al⁹⁶, οι οποίοι επέλεξαν ως παράδειγμα προσομοίωσης ένα φάρμακο που ανήκει στην κατηγορία II του Βιοφαρμακευτικού Συστήματος Ταξινόμησης (Biopharmaceutical Classification System, BCS). Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν παρόμοια με αυτήν της μελέτης των Duan et. al⁹⁴, με την διαφορά ότι σε αυτή την περίπτωση εξετάστηκε το πρωτοταξικό μοντέλο ως μοντέλο διάλυσης και επιλέχθηκε διαφορετικός αλγόριθμος αριθμητικής συνέλιξης. Σε αυτή την έρευνα ο ρυθμός διάλυσης, και όχι το μέγιστο ποσοστό διάλυσης, φάνηκε να έχει την μεγαλύτερη επίδραση για την *in vitro* ομοιότητα, καθώς και την *in vivo* βιοϊσοδυναμία. Το ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ήταν 0% ενώ των ψευδώς αρνητικών 38.1%. Τα διαφορετικά συμπεράσματα που παρατηρούνται μεταξύ των δύο αυτών μελετών πιθανώς να οφείλονται αφενός στην διαφορετική μεθοδολογία (διαφορετικά μοντέλα προσομοίωσης) και αφετέρου στην επιλογή διαφορετικών σημείων δειγματοληψίας, αφού όπως έχει ήδη σχολιασθεί, η επιλογή αυτή επηρεάζει τον υπολογισμό του δείκτη ομοιότητας. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι ο δείκτης ομοιότητας είναι αυστηρός και προτείνεται η διεύρυνσή του κατώτερου ορίου του αντί για $f_2 = 50$ σε $f_2 = 35$, ώστε να εξασφαλιστεί η συμφωνία μεταξύ της *in vitro* ομοιότητας και της *in vivo* βιοϊσοδυναμίας. Βέβαια, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η "αυστηρότητα" των δείκτη f_2 ήταν αναμενόμενη και σχετίζεται με τις τιμές των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν^{92,93}.

Στο ίδιο συμπέρασμα για διεύρυνση του ορίου ομοιότητας του δείκτη f_2 κατέληξαν και άλλες δύο μελέτες που διερευνούν παρομοίως την σχέση *in vitro* ομοιότητας και *in vivo* βιοϊσοδυναμίας. Σύμφωνα με την πρώτη⁹⁷, πραγματοποιήθηκαν πειράματα διάλυσης με εμπορικό σκεύασμα μελοξικάμης (σκεύασμα αναφοράς) και δύο νέα σκευάσματα του ίδιου φαρμάκου (σκευάσματα υπό έλεγχο), το ένα με υψηλό και το άλλο με χαμηλό ρυθμό διάλυσης. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε μελέτη

βιοϊσοδυναμίας σε σκύλους, τα αποτελέσματα της οποίας αναλύθηκαν στατιστικά για την εύρεση των 90% διαστημάτων εμπιστοσύνης των γεωμετρικών μέσων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Τα δύο σκευάσματα υπό έλεγχο κρίθηκαν ανόμοια με το σκεύασμα αναφοράς σύμφωνα με την τιμή του δείκτη f_2 σε pH = 6.8 και 7.4, συνθήκες στις οποίες παρουσιάστηκαν και τα υψηλότερα ποσοστά διάλυσης όπως αναμενόταν, αφού η μελοξικάμη είναι ένα ασθενές οξύ. Παρόλα αυτά, το αποτέλεσμα βιοϊσοδυναμίας έδειξε ότι και τα δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα με το πρωτότυπο. Η έρευνα αυτή καταδεικνύει την σημασία των επιλεγόμενων εκδόχων και των πειραματικών συνθηκών διάλυσης για την αληθή απόφαση *in vitro* ομοιότητας και την ανάγκη για διεύρυνση του κατώτερου ορίου του δείκτη ομοιότητας f_2 . Στην δεύτερη μελέτη⁹⁸ κατασκευάστηκαν καψάκια ακεταμινοφαίνης, τα οποία διέφεραν ως προς το ποσοστό υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (hydroxypropylmethylcellulose, HPMC) που περιείχαν. Κατόπιν, προσδιορίστηκαν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι μέσω προσαρμογής βιβλιογραφικών *in vivo* δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου στο PKPlus καθώς και οι φυσικοχημικές παράμετροι οι οποίες βρέθηκαν στην βιβλιογραφία. Στη συνέχεια, αξιοποιώντας και τα *in vitro* δεδομένα πειραμάτων διάλυσης, πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις στο λογισμικό GastroPlus. Τα περισσότερα συγκρινόμενα σκευάσματα κρίθηκαν ανόμοια *in vitro* σε σχέση με το πρωτότυπο, γεγονός που δεν αποδείχτηκε στις προσομοιώσεις όπου τα σκευάσματα παρουσίασαν βιοϊσοδυναμία με το σκεύασμα αναφοράς. Το συμπέρασμα αυτό αποδόθηκε στο ότι παρότι το φάρμακο είναι υψηλής διαπερατότητας, ο συντελεστής διαπερατότητας P_{eff} καθορίζει τελικά το αποτέλεσμα της βιοϊσοδυναμίας, συνεπώς η παράμετρος αυτή, και όχι ο ρυθμός διάλυσης, είναι καθοριστική για την *in vivo* βιοϊσοδυναμία. Θεωρήθηκε, λοιπόν, ότι το κριτήριο του δείκτη ομοιότητας f_2 είναι υπερβολικά αυστηρό σε τέτοιες περιπτώσεις.

Αξίζει, επίσης, να αναφερθεί μια πρόσφατη μελέτη που εξετάζει την αποτελεσματικότητα των δεικτών διαφοράς f_1 και ομοιότητας f_2 , κάνοντας πρόβλεψη της *in vivo* βιοϊσοδυναμίας μέσω προσομοιώσεων στο λογισμικό GastroPlus⁹⁹. Συγκεκριμένα, τόσο *in vitro* πειραματικά δεδομένα σκευάσματος αναφοράς και σκευασμάτων υπό έλεγχο σε φυσιολογικό pH = 1.2, 4.5, 6.8 μαζί με φυσικοχημικά και φαρμακοκινητικά δεδομένα του εξεταζόμενου φαρμάκου αποτέλεσαν την είσοδο πληροφορίας για το λογισμικό. Τα αποτελέσματα, μετά τη βελτιστοποίηση ορισμένων παραμέτρων, έδειξαν ότι υπάρχει πλήρης συμφωνία μεταξύ της *in vitro*

και της *in vivo* συμπεριφοράς, καθώς οι εξεταζόμενοι δείκτες άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης έδειξαν ότι τα σκευάσματα είναι όμοια, κάτι που επιβεβαιώθηκε και *in vivo*, αφού το % σφάλμα πρόβλεψης μεταξύ *in vivo* προσομοιωμένων και πειραματικών δεδομένων (percent prediction error, PE%) βρέθηκε κάτω από 10%. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύει, περαιτέρω, την άποψη της αξιοποίησης λογισμικών για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς στον άνθρωπο και αναδεικνύει, επίσης, την αξία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης ως αποτελεσματικά εργαλεία ελέγχου.

Τέλος, σε δύο πρόσφατες εργασίες^{100,101} μελετήθηκε η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 , για δύο συγκεκριμένους χρόνους αποκοπής (85% της διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς, ref85% και 85% της διάλυσης του ταχύτερα διαλυόμενου υπό έλεγχο σκευάσματος, fast85%) στο να αντανakλούν διαφορές ανάμεσα στις αθροιστικές *in vitro* καμπύλες αποδέσμευσης του σκευάσματος αναφοράς και των σκευασμάτων υπό έλεγχο για σκευάσματα διφασικής αποδέσμευσης μεθυλφαινιδάτης όταν μεταβάλλονται ο ρυθμός ή/και η έκταση της απορρόφησης. Συγκεκριμένα, αναγεννήθηκαν θεωρητικά δεδομένα χωρίς σφάλμα με βάση ένα μοντέλο διφασικής αποδέσμευσης/απορρόφησης και μονοδιαμερισματικής κινητικής κατανομής της μεθυλφαινιδάτης και έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων ομοιότητας των *in vitro* καμπυλών αποδέσμευσης με βάση τους δείκτες, με τα αποτελέσματα βιοϊσοδυναμίας σύμφωνα με τα κριτήρια των κανονιστικών αρχών FDA¹⁰² και EMA²³ όπως αυτά υπολογίστηκαν για τα σκευάσματα διφασικής αποδέσμευσης υδροχλωρικής μεθυλφαινιδάτης σε προηγούμενη εργασία¹⁰³. Για το σκοπό αυτό, υπολογίστηκαν τα ποσοστά των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (ισχύει η *in vitro* ομοιότητα αλλά δεν ισχύει η *in vivo* βιοϊσοδυναμία) και των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων (δεν ισχύει η *in vitro* ομοιότητα αλλά ισχύει η *in vivo* βιοϊσοδυναμία). Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από αυτές τις μελέτες, ως προς την ομοιότητα των *in vitro* καμπυλών αποδέσμευσης, ο f_2 εμφανίζεται ο πιο αυστηρός δείκτης, ενώ ο δείκτης ξ_1 εμφανίζεται ο πιο ελαστικός. Επιπλέον, τη μεγαλύτερη ευαισθησία στο σημείο αποκοπής φαίνεται να έχει ο δείκτης f_2 , ενώ τη μικρότερη, ο δείκτης ξ_1 . Γενικά, παρατηρήθηκε ότι, με βάση το συγκεκριμένο μοντέλο προσομοίωσης, οι περιοχές αποδοχής της βιοϊσοδυναμίας βρίσκονται αρκετά κοντά αλλά δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις περιοχές ομοιότητας των *in vitro* καμπυλών αποδέσμευσης. Τη μεγαλύτερη

συμφωνία με τα *in vivo* δεδομένα εμφάνισαν οι δείκτες f_1 και f_2 . Συγκεκριμένα, οι δείκτες αυτοί παρουσίασαν τα μικρότερα ποσοστά ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων και τα μεγαλύτερα ποσοστά ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

1.5 Σκοπός της εργασίας

Από τις παραπάνω μελέτες καθίσταται σαφές ότι υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον αναφορικά με τους δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών, ειδικότερα σε *in vitro* δεδομένα, έτσι ώστε αυτοί να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της *in vivo* συμπεριφοράς. Σύμφωνα με τις διπλωματικές εργασίες της Α. Δαλμάρα^{92,93}, και της Σ. Περικλέους⁹⁹ προέκυψαν αξιόλογα συμπεράσματα αναφορικά με τη σύγκριση μεταξύ *in vitro* και *in vivo* αποτελεσμάτων, όπου μελετήθηκε η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 στο να αντανakλούν τις διαφορές που υφίστανται *in vivo* με τη χρήση προσομοιωμένων δεδομένων χωρίς σφάλμα και με σφάλμα, αντίστοιχα. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής είναι, με αφορμή την διπλωματική της Σ. Περικλέους, όπου η μελέτη πραγματοποιήθηκε για την περίπτωση που το φάρμακο ακολουθεί πρωτοταξική κινητική διάλυσης, να διερευνηθεί περαιτέρω η *in vitro* – *in vivo* συσχέτιση των αποτελεσμάτων όταν η κινητική διάλυσης/εισόδου στη γενική κυκλοφορία περιγράφεται από τη συνάρτηση Weibull.

Για το σκοπό αυτό θεωρείται ότι η διάλυση αντανakλά πλήρως την είσοδο του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία και ότι τα σκευάσματα ακολουθούν ίδια μονοδιαμερισματική κινητική κατανομή. Συγκεκριμένα, εξετάζονται:

- περιπτώσεις φαρμάκων που η παράμετρος σχήματος και η σταθερά του ρυθμού διάλυσης/εισόδου στη γενική κυκλοφορία του σκευάσματος υπό έλεγχο είναι διαφορετικές από αυτές του σκευάσματος αναφοράς
- περιπτώσεις φαρμάκων που έχουν ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος και διαφορετική τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης/εισόδου στη γενική κυκλοφορία για το σκευάσμα υπό έλεγχο σε σχέση με το σκευάσμα αναφοράς
- περίπτωση φαρμάκων με ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, η οποία είναι διαφορετική από αυτή του σκευάσματος αναφοράς,

ίδιο λόγο k_{aR}/k_{e1} και ίδιους λόγους k_{aT}/k_{aR} ανά εξεταζόμενο ζεύγος απόλυτων τιμών k_{aR} και k_{e1}

Για κάθε μία από τις δύο πρώτες περιπτώσεις εξετάζονται ταυτόχρονα οι περιπτώσεις φαρμάκων που παρουσιάζουν ίδιο ρυθμό διάλυσης αλλά διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά απομάκρυνσής τους. Σε κάθε περίπτωση, μελετάται μέσω in vitro-in vivo συσχετίσεων αφενός η ικανότητα των δεικτών άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 στο να προβλέψουν την βιοϊσοδυναμία και αφετέρου κατά πόσο υπάρχει συμφωνία με τα συμπεράσματα του πρωτοταξικού μοντέλου. Επιπλέον, διερευνάται η ευαισθησία των παραπάνω δεικτών αλλά και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων σε σχέση με το χρόνο αποκοπής και την τιμή της σταθεράς απομάκρυνσης, αντίστοιχα. Επίσης, ελέγχεται η επίδραση της διαφοράς στην κινητική διάλυσης, όπως αυτή εκφράζεται μέσω της τιμής της παραμέτρου σχήματος στη συμπεριφορά τόσο των δεικτών όσο και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Τέλος, στην τελευταία από τρεις περιπτώσεις που αναφέρονται πιο πάνω, διερευνάται το κατά πόσο τα αποτελέσματα των συσχετίσεων επηρεάζονται μόνο από τους λόγους των παραμέτρων ή αν εξαρτώνται και από τις απόλυτες τιμές των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται.

2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Φαρμακοκινητικά μοντέλα προσομοίωσης

2.1.1 In vitro δεδομένα

Κινητική διάλυσης Weibull

Η συνάρτηση που περιγράφει την κινητική διάλυσης του φαρμάκου θεωρήθηκε ότι αποδίδεται με τη συνάρτηση Weibull⁶³ και συνεπώς για την αναγέννηση των in vitro αθροιστικών δεδομένων διάλυσης χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση:

$$M = FD[1 - e^{-k_d(t)^u}] \quad (2.1)$$

όπου,

M: η αθροιστική ποσότητα του φαρμάκου που διαλύεται σε χρόνο t

D: η χορηγούμενη δόση του φαρμάκου

F: το κλάσμα της δόσης του φαρμάκου που διαλύεται

k_d : η σταθερά του ρυθμού διάλυσης (ή παράμετρος κλίμακας)

u: η παράμετρος σχήματος

Πρωτοταξική κινητική διάλυσης

Η συνάρτηση Weibull αποτελεί την γενικευμένη μορφή της εξίσωσης που περιγράφει την πρωτοταξική κινητική διάλυσης. Έτσι, στην περίπτωση που η τιμή της παραμέτρου σχήματος u είναι ίση με τη μονάδα ($u = 1$), η παραπάνω εξίσωση μεταπίπτει στο απλό εκθετικό μοντέλο:

$$M = FD(1 - e^{-k_d t}) \quad (2.2)$$

2.1.2 In vivo δεδομένα

Για την αναγέννηση των in vivo δεδομένων θεωρήθηκε ότι το φάρμακο ακολουθεί το κλασικό μονοδιαμερισματικό μοντέλο με ακαριαία κατανομή και πρωτοταξική απομάκρυνση. Επειδή η συνάρτηση Weibull αποδίδει την είσοδο του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία, η ολική απόκριση του συστήματος (οργανισμού), δηλαδή η

συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο μετά από per os χορήγηση, περιγράφεται από το ολοκλήρωμα της συνέλιξης¹⁰⁵:

$$R(t) = \int_0^t I(\theta) W(t - \theta) d\theta \quad (2.3)$$

όπου $\theta \in (0, t)$ και

$R(t)$: η συνάρτηση απόκρισης του συστήματος

$I(t)$: η συνάρτηση εισόδου

$W(t)$: η χαρακτηριστική συνάρτηση του συστήματος

Με βάση το κλασικό μονοδιαμερισματικό μοντέλο, η χαρακτηριστική συνάρτηση του συστήματος $W(t)$ αποδίδεται μαθηματικά ως η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα μετά από I.V. bolus χορήγηση μοναδιαίας δόσης¹⁰⁵, σύμφωνα με τη σχέση:

$$W(t) = \left(\frac{1}{V_d}\right) e^{-k_{el} t} \quad (2.4)$$

όπου,

$W(t)$: η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα μετά από I.V. bolus είσοδο μοναδιαίας δόσης (χαρακτηριστική συνάρτηση του συστήματος)

V_d : ο φαινόμενος όγκος κατανομής

k_{el} : η πρωτοταξική σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης του φαρμάκου

Όσον αφορά τη συνάρτηση εισόδου $I(t)$, αυτή εκφράζει το ρυθμό εισόδου του φαρμάκου, $\frac{dM}{dt}$, στη γενική κυκλοφορία και συνεπώς αποδίδεται με τη διαφορική μορφή της συνάρτησης Weibull¹⁰⁶ ως:

(2.5)

$$I(t) = \frac{dM}{dt} = FDuk_a t^{(u-1)} e^{-k_a t^u} \quad (2.5)$$

όπου,

D : η χορηγούμενη δόση του φαρμάκου

F : το κλάσμα της δόσης του φαρμάκου που απορροφάται

k_a : η σταθερά του ρυθμού απορρόφησης

u : η παράμετρος σχήματος

Δεδομένου ότι η αναλυτική επίλυση του ολοκληρώματος της σχέσης (2.3) στην περίπτωση της χρήσης της συνάρτησης Weibull ως ρυθμού εισόδου του φαρμάκου δεν είναι δυνατή, οι καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο (in vivo profiles) προέκυψαν με τη μέθοδο της αριθμητικής συνέλιξης (numerical convolution) της συνάρτησης εισόδου με την χαρακτηριστική συνάρτηση του συστήματος. Για το σκοπό αυτό αξιοποιήθηκε ρουτίνα-υπολογισμού (transform), που αναπτύχθηκε σύμφωνα με τον αλγόριθμο που προτάθηκε από τον F. Langenbucher¹⁰⁷.

Αξίζει, επίσης, να επισημανθεί ότι σε όλες τις προσομοιώσεις θεωρείται ότι η in vitro διάλυση του φαρμάκου εξομοιώνει πλήρως την in vivo διάλυση καθώς και ότι η διάλυση του φαρμακευτικού σκευάσματος αποτελεί το καθοριστικό βήμα για την εμφάνιση του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία. Για το λόγο αυτό τίθεται η παραδοχή ότι $k_d = k_a$. Επομένως, για όλες τις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν θεωρείται ότι ο ρυθμός διάλυσης αποτελεί και το ρυθμό εισόδου του φαρμάκου στο αίμα.

2.2 Υπολογισμός δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών διάλυσης

Οι δείκτες άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης που υπολογίστηκαν είναι οι f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 , σύμφωνα με τις σχέσεις (1.4), (1.6) και (1.9). Η εκτίμηση των δεικτών πραγματοποιήθηκε μέχρι δύο συγκεκριμένους χρόνους αποκοπής:

- ένα μόνο σημείο πέραν της 85% της διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς (ref85)
- ένα μόνο σημείο πέραν της 85% της διάλυσης του ταχύτερα διαλυόμενου σκευάσματος, είτε αυτό είναι το σκεύασμα υπό έλεγχο είτε το σκεύασμα αναφοράς (fast85)

Παράλληλα, για λόγους περαιτέρω επεξήγησης ορισμένων *in vitro* αποτελεσμάτων αναπτύχθηκε υπολογιστική ρουτίνα για την εκτίμηση των δεικτών f_1 και f_2 συναρτήσει του χρόνου t .

Συμπερασματικά, οι υπολογιζόμενοι δείκτες για κάθε συγκρινόμενο σκεύασμα υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς είναι οι $f_{1,ref85}$, $f_{2,ref85}$, $\xi_{1,ref85}$, $\xi_{2,ref85}$, $f_{1,fast85}$, $f_{2,fast85}$, $\xi_{1,fast85}$ και $\xi_{2,fast85}$.

2.3 Υπολογισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων

Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που εκτιμήθηκαν είναι οι AUC (επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης χρόνου μέχρι το τελευταίο σημείο δειγματοληψίας t_{last}), C_{max} (μέγιστη συγκέντρωση φαρμάκου στο αίμα), T_{max} (χρόνος στον οποίο εμφανίζεται η μέγιστη συγκέντρωση φαρμάκου στο αίμα) και $AUC_{T_{max},R}$ (επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης σε σχέση με το χρόνο μέχρι το σημείο T_{max} του σκευάσματος αναφοράς, R). Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων έγινε αριθμητικά χρησιμοποιώντας μικρό σταθερό βήμα χρόνου $step = 0.05$, ώστε ο προσδιορισμός να είναι όσο γίνεται πιο ακριβής. Η εκτίμηση των C_{max} και T_{max} πραγματοποιήθηκε με απλή παρατήρηση της μέγιστης συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και του χρόνου που αντιστοιχεί στη μέγιστη αυτή συγκέντρωση αντίστοιχα. Ο υπολογισμός των AUC και $AUC_{T_{max},R}$ έγινε με αριθμητική ολοκλήρωση, δηλαδή εκτιμήθηκε το άθροισμα των μερικών επιφανειών από την χρονική στιγμή μηδέν έως τη χρονική στιγμή t_{last} για τον υπολογισμό της AUC και έως την χρονική στιγμή T_{max} του σκευάσματος αναφοράς, R για τον υπολογισμό της $AUC_{T_{max},R}$. Στη συνέχεια αναπτύχθηκε υπολογιστική ρουτίνα για τον προσδιορισμό του λόγου των φαρμακοκινητικών αυτών παραμέτρων του εκάστοτε σκευάσματος υπό έλεγχο, T σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς, R, σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$AUC_{ratio} = \frac{AUC(T)}{AUC(R)} \quad (2.6)$$

$$C_{maxratio} = \frac{C_{max}(T)}{C_{max}(R)} \quad (2.7)$$

$$T_{maxratio} = \frac{T_{max}(T)}{T_{max}(R)} \quad (2.8)$$

$$AUC_{T_{max,R}ratio} = \frac{AUC_{T_{max,R}}(T)}{AUC_{T_{max,R}}(R)} \quad (2.9)$$

2.4 Περιγραφή προσομοιώσεων

2.4.1 Προσομοιώσεις A

2.4.1.1 Προσομοιώσεις in vitro δεδομένων όταν $u_T \neq u_R$

Στις συγκεκριμένες προσομοιώσεις μελετήθηκαν επτά διαφορετικές περιπτώσεις σύμφωνα με επτά διαφορετικές τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T της συνάρτησης Weibull, οι οποίες φαίνονται στον πίνακα 2.1. Η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος αναφοράς, u_R θεωρήθηκε σταθερή και ίση με την μονάδα ($u_R = 1$). Η περίπτωση με $u_T = u_R = 1$ έχει μελετηθεί στα πλαίσια προηγούμενης διπλωματικής εργασίας¹⁰⁴, αλλά παρουσιάζεται και στην παρούσα για λόγους σύγκρισης των περιπτώσεων με κινητική διάλυσης Weibull με την περίπτωση αυτή όπου η κινητική διάλυσης είναι πρωτοταξική.

Πίνακας 2.1 Τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο (u_T) που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις A1 - A7.

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ	u_T
Προσομοίωση A1	0,2
Προσομοίωση A2	0,5
Προσομοίωση A3	0,7
Προσομοίωση A4	1
Προσομοίωση A5	1,5
Προσομοίωση A6	2
Προσομοίωση A7	5

Για κάθε μία από τις τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T αναγεννήθηκαν in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης για ένα σκεύασμα αναφοράς και τριάντα τέσσερα σκευάσματα υπό έλεγχο, ανάλογα με την τιμή της σταθεράς διάλυσης, k_{dT} του εκάστοτε υπό έλεγχο σκευάσματος. Η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος αναφοράς θεωρήθηκε ίδια σε όλες τις προσομοιώσεις. Οι τιμές που επιλέχθηκαν ήταν:

k_{dR} (h^{-1}): 0.6

k_{dT} (h^{-1}): 0.21, 0.25, 0.30, 0.35, **0.40**, **0.42**, **0.45**, **0.46**, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75, **0.79**, **0.85**, **0.90**, 0.95, **1.00**, 1.05, 1.10, 1.15, 1.20, 1.25, 1.30, 1.35, 1.40, 1.45, 1.50, 1.55, 1.60, 1.65, 1.70, 1.75, 1.80

Η επιλογή ορισμένων εξ' αυτών των τιμών της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης (τιμές με έντονα γράμματα) βασίστηκε σε προγενέστερη μελέτη¹⁰⁴, όπου σύμφωνα με συσχετίσεις των λόγων T/R των παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ σε σχέση με τους δείκτες f_1 και f_2 για το πρωτοταξικό μοντέλο, οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε περιπτώσεις κοντά στα όρια ομοιότητας in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες και βιοϊσοδυναμίας.

Για τις παραπάνω προσομοιώσεις οι υπόλοιπες παράμετροι διάλυσης της συνάρτησης Weibull θεωρήθηκαν σταθερές με τιμές που φαίνονται στον πίνακα 2.2. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι το σταθερό βήμα χρόνου που χρησιμοποιήθηκε για την αναγέννηση των δεδομένων ήταν $step = 0.01h$ και η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε μέχρι τον οριζόμενο χρόνο $t_{last} = 48h$, ώστε το δειγματοληπτικό σχήμα που προκύπτει να είναι αρκετά πυκνό, για τη θεωρητική μελέτη.

Πίνακας 2.2 Σταθερές τιμές ορισμένων παραμέτρων διάλυσης του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις A1 - A7.

Παράμετροι διάλυσης	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)	Σκεύασμα αναφοράς (R)
D (A.M.)	100	100
F (-)	1	1

Μέσω της προσομοίωσης των *in vitro* δεδομένων μελετήθηκε η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης στους υπολογιζόμενους χρόνους *fast85* και *ref85* σε σχέση με την μεταβολή του λόγου k_{dT}/k_{dR} , καθώς και με την μεταβολή της εξεταζόμενης παραμέτρου σχήματος u_T . Υπενθυμίζεται στο σημείο αυτό ότι όπως σε όλες τις προσομοιώσεις έτσι και σε αυτή την περίπτωση εφαρμόζεται η παραδοχή $k_d = k_a$, με αποτέλεσμα η σταθερά του ρυθμού διάλυσης να αντανακλά πλήρως τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης του φαρμάκου.

2.4.1.2 Προσομοιώσεις *in vivo* δεδομένων όταν $u_T \neq u_R$

Στις προσομοιώσεις αυτές εξετάστηκαν σε συμφωνία με τις προσομοιώσεις των *in vitro* δεδομένων οι επτά διαφορετικές επιλεγόμενες περιπτώσεις που αντιστοιχούν στις επτά διαφορετικές τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T που παρουσιάζονται στον πίνακα 2.1. Η τιμή της παραμέτρου του σκευάσματος αναφοράς θεωρήθηκε και σε αυτή την περίπτωση σταθερή και ίση με την μονάδα ($u_R = 1$).

Ομοίως, η αναγέννηση των *in vivo* δεδομένων πραγματοποιήθηκε για κάθε μία από τις τιμές της παραμέτρου σχήματος, u_T χρησιμοποιώντας ένα σκεύασμα αναφοράς και τριάντα τέσσερα σκευάσματα υπό έλεγχο με τις ίδιες τιμές των σταθερών που αναφέρονται στην ενότητα 2.4.1.1. Σε αυτή την περίπτωση για κάθε u_T αναγεννήθηκαν με τη μέθοδο της αριθμητικής συνέλιξης τριάντα πέντε θεωρητικές καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο για κάθε μία από τις τέσσερις τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} όπως αυτές παρουσιάζονται στον πίνακα 2.3.

Πίνακας 2.3 Τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης (k_{el}) του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις A1(1-4) - A7(1-4).

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ	k_{el} (h^{-1})
Προσομοίωση A1(1) – A7(1)	0,1
Προσομοίωση A1(2) – A7(2)	0,2

Προσομοίωση A1(3) – A7(3)	0,8
Προσομοίωση A1(4) – A7(4)	1,21

Οι υπόλοιπες φαρμακοκινητικές παράμετροι θεωρήθηκαν σταθερές με τιμές που παρουσιάζονται στον πίνακα 2.4. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι το σταθερό βήμα χρόνου που χρησιμοποιήθηκε σε αυτές τις προσομοιώσεις ήταν $\text{step} = 0.05\text{h}$ και η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε συμφωνία με τις προσομοιώσεις των *in vitro* δεδομένων μέχρι τον οριζόμενο χρόνο $t_{\text{last}} = 48\text{h}$, με αποτέλεσμα την αναγέννηση ενός πυκνού δειγματοληπτικού σχήματος. Αναφορικά με την τιμή του step , αυτή επιλέχθηκε μετά από διάφορες δοκιμές τιμών βημάτων χρόνου, καθώς είναι γνωστό ότι το βήμα αυτό επηρεάζει τον τρόπο με τον οποίο θα γίνει η αριθμητική συνέλιξη. Συγκεκριμένα, οι τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που προκύπτουν από την προσομοίωση των *in vivo* δεδομένων εξαρτώνται έντονα από το βήμα χρόνου που θα χρησιμοποιηθεί στις περιπτώσεις όπου $u_T < 0.5$ ειδικά όταν $k_{aT} > k_{aR}$, ενώ φαίνεται ότι το βήμα χρόνου δεν επηρεάζει σχεδόν καθόλου τις περιπτώσεις όπου $u_T > 1$. Στις παραπάνω περιπτώσεις με $u_T < 0.5$ μικρότερο βήμα χρόνου θα δώσει πιο ακριβείς τιμές των παραμέτρων. Παράλληλα, όμως, ένα πολύ μικρό βήμα χρόνου αφενός δεν ανταποκρίνεται σε ρεαλιστικές συνθήκες και αφετέρου αυξάνει πάρα πολύ τον χρόνο που απαιτείται για τους υπολογισμούς. Συνεπώς η παραπάνω τιμή επιλέχθηκε για πρακτικούς λόγους και για να υπάρχει ένας καλός συμβιβασμός μεταξύ υπολογιστικού χρόνου και ακρίβειας.

Πίνακας 2.4 Σταθερές τιμές ορισμένων φαρμακοκινητικών παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις A1(1-4) - A7(1-4).

Φαρμακοκινητικές παράμετροι	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)	Σκεύασμα αναφοράς (R)
D (A.M.)	100	100
V_d (A.M.)	10	10
F (-)	1	1

Στις προσομοιώσεις αυτές μελετήθηκε η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{T_{\text{max}},R}$ σε σχέση με την μεταβολή τόσο του λόγου

k_{aT}/k_{aR} όσο και κυρίως της τιμής της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{el} για κάθε μία τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T .

2.4.1.3 In vitro – in vivo συσχετίσεις όταν $u_T \neq u_R$

Αναπτύχθηκαν συσχετίσεις των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 με τις τιμές του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ και μελετήθηκε η επίδραση όλων των παραπάνω παραμέτρων δηλαδή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης k_d (ή στην περίπτωση μας σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, k_a), της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{el} και της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T στην συμφωνία μεταξύ in vitro και in vivo αποτελεσμάτων και την σύγκριση αυτών με την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου ($u_T = u_R = 1$).

2.4.2 Προσομοιώσεις B

2.4.2.1 Προσομοιώσεις in vitro δεδομένων όταν $u_T = u_R$

Στις προσομοιώσεις αυτές θεωρήθηκε ότι η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T είναι ίδια με την παράμετρο σχήματος του σκευάσματος αναφοράς, u_R και μελετήθηκαν δύο διαφορετικές περιπτώσεις σύμφωνα με δύο διαφορετικές τιμές της παραμέτρου της συνάρτησης Weibull, οι οποίες φαίνονται στον πίνακα 2.5.

Πίνακας 2.5 Τιμές της παραμέτρου σχήματος που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις B1 και B2.

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ	$u_T = u_R$
Προσομοίωση B1	0,5
Προσομοίωση B2	2

Για κάθε μία από τις παραπάνω τιμές της παραμέτρου σχήματος αναγεννήθηκαν σε αναλογία με τις προσομοιώσεις A in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης για ένα σκεύασμα αναφοράς και τριάντα τέσσερα σκευάσματα υπό έλεγχο με ίδιες τιμές της σταθεράς διάλυσης, k_d με αυτές που παρουσιάζονται στην ενότητα 2.4.1.1. Ομοίως, οι υπόλοιπες παράμετροι διάλυσης της συνάρτησης Weibull θεωρήθηκαν σταθερές με τιμές ίδιες με αυτές της προσομοίωσης A, οι οποίες φαίνονται αντίστοιχα στον πίνακα 2.6. Για την εξασφάλιση πυκνού δειγματοληπτικού σχήματος, το βήμα χρόνου που

επιλέχθηκε για την αναγέννηση των δεδομένων καθώς και ο τελευταίος χρόνος δειγματοληψίας είναι επίσης σε συμφωνία με τις προσομοιώσεις A δηλαδή $step = 0.01h$ και $t_{last} = 48h$, αντίστοιχα.

Πίνακας 2.6 Σταθερές τιμές ορισμένων παραμέτρων διάλυσης του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις B1 και B2.

Παράμετροι διάλυσης	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)	Σκεύασμα αναφοράς (R)
D (A.M.)	100	100
F (-)	1	1

Μέσω της προσομοίωσης των *in vitro* δεδομένων στην περίπτωση αυτή μελετήθηκε η ευαισθησία των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης στους υπολογιζόμενους χρόνους $fast85$ και $ref85$ σε σχέση με την μεταβολή του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Όπως σε όλες τις προσομοιώσεις έτσι και σε αυτή την περίπτωση ισχύει ότι η σταθερά του ρυθμού διάλυσης είναι ίση με τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης του φαρμάκου. Επιπλέον, η ευαισθησία των δεικτών εξετάστηκε σε συνδυασμό και με την μεταβολή της εξεταζόμενης παραμέτρου σχήματος u .

2.4.2.2 Προσομοιώσεις *in vivo* δεδομένων όταν $u_T = u_R$

Στις προσομοιώσεις αυτές αναγεννήθηκαν σε συμφωνία με τις προσομοιώσεις των *in vitro* δεδομένων *in vivo* δεδομένα για τις δύο περιπτώσεις που αντιστοιχούν στις δύο εξεταζόμενες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T και του σκευάσματος αναφοράς, u_R που παρουσιάζονται στον πίνακα 2.5. Η αναγέννηση των *in vivo* δεδομένων πραγματοποιήθηκε για κάθε μία από τις τιμές της παραμέτρου σχήματος, $u_T = u_R$ χρησιμοποιώντας ένα σκεύασμα αναφοράς και τριάντα τέσσερα σκευάσματα υπό έλεγχο με τις ίδιες τιμές των σταθερών που αναφέρονται στην ενότητα 2.4.1.1. Με όμοιο τρόπο όπως στις προσομοιώσεις A, για κάθε $u_T = u_R$ και κάθε μία από τις τέσσερις τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{el} , όπως αυτές παρουσιάζονται για τις προσομοιώσεις B στον πίνακα 2.7, αναγεννήθηκαν τριάντα πέντε θεωρητικές καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο.

Πίνακας 2.7 Τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης (k_{el}) του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις B1(1-4) και B2(1-4).

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ	k_{el} (h^{-1})
Προσομοίωση B1(1) – B2(1)	0,1
Προσομοίωση B1(2) – B2(2)	0,2
Προσομοίωση B1(3) – B2(3)	0,8
Προσομοίωση B1(4) – B2(4)	1,21

Οι υπόλοιπες φαρμακοκινητικές παράμετροι θεωρήθηκαν σταθερές με τιμές ίδιες με αυτές της προσομοίωσης A και παρουσιάζονται για την προσομοίωση B στον πίνακα 2.8. Ομοίως, το σταθερό βήμα χρόνου και το σημείο της τελευταίας δειγματοληψίας επιλέχθηκαν ως $step = 0.05h$ και $t_{last} = 48h$, αντίστοιχα σε συμφωνία με τις προηγούμενες προσομοιώσεις. Και σε αυτή την περίπτωση το συγκεκριμένο βήμα χρόνου επιλέχθηκε για τους ίδιους λόγους που επιλέχθηκε και στην περίπτωση των προσομοιώσεων A.

Πίνακας 2.8 Σταθερές τιμές ορισμένων φαρμακοκινητικών παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τις προσομοιώσεις B1(1-4) και B2(1-4).

Φαρμακοκινητικές παράμετροι	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)	Σκεύασμα αναφοράς (R)
D (A.M.)	100	100
V_d (A.M.)	10	10
F (-)	1	1

Στις προσομοιώσεις αυτές μελετήθηκε η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ σε σχέση με την μεταβολή τόσο του λόγου k_{aT}/k_{aR} όσο και κυρίως της τιμής της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{el} για κάθε μία τιμή της παραμέτρου σχήματος $u_T = u_R$.

2.4.2.3 In vitro – in vivo συσχετίσεις όταν $u_T = u_R$

Σε αντιστοιχία με τις προσομοιώσεις A απεικονίστηκαν οι συσχετίσεις των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 με τις τιμές του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ και μελετήθηκε η επίδραση των παραπάνω παραμέτρων δηλαδή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης k_d (ή στην περίπτωση μας σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, k_a), της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{el} και της παραμέτρου σχήματος, $u_T = u_R$ στην συμφωνία μεταξύ in vitro και in vivo αποτελεσμάτων και την σύγκριση αυτών με την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου ($u_T = u_R = 1$).

2.4.3 Προσομοιώσεις Γ

Στις προσομοιώσεις αυτές αναγεννήθηκαν in vitro και in vivo δεδομένα για δύο διαφορετικές τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T (προσομοιώσεις Γ1 και Γ2). Στόχος ήταν η διερεύνηση του κατά πόσο τα αποτελέσματα των συσχετίσεων επηρεάζονται μόνο από τους λόγους των παραμέτρων ή αν εξαρτώνται και από τις απόλυτες τιμές των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται. Έτσι, για κάθε μία από τις εξεταζόμενες παραμέτρους σχήματος, u_T ο λόγος της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης του σκευάσματος αναφοράς προς την σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης, k_{aR}/k_{el} διατηρείται σταθερός και επιλέγονται δύο σταθεροί λόγοι της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης του σκευάσματος υπό έλεγχο προς τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης του σκευάσματος αναφοράς, k_{aT}/k_{aR} ανά επιλεγόμενο ζεύγος k_{aR} και k_{el} . Συγκεκριμένα, στην προσομοίωση Γ1 επιλέγεται λόγος $k_{aR}/k_{el} = 0.496$ που προκύπτει από δύο διαφορετικά ζεύγη απόλυτων τιμών των παραμέτρων και σταθεροί λόγοι k_{aT}/k_{aR} (2 και 3), δηλαδή με $k_{aT} > k_{aR}$. Στην προσομοίωση Γ2 (με διαφορετικά u_T από ότι στην προσομοίωση Γ1) επιλέγονται δύο περιπτώσεις: μία με ίδιους λόγους με την παραπάνω προσομοίωση [προσομοίωση Γ2(i)] και μια δεύτερη με λόγο $k_{aR}/k_{el} = 3$ και σταθερούς λόγους k_{aT}/k_{aR} (0.5 και 0.75), δηλαδή με $k_{aT} < k_{aR}$ [προσομοίωση Γ2(ii)]. Ο λόγος που επιλέγεται να μελετηθεί η σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, k_a βασίζεται στην παραδοχή $k_d = k_a$ που εφαρμόστηκε σε όλες τις προσομοιώσεις. Και σε αυτές τις προσομοιώσεις, η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος αναφοράς, u_R θεωρείται σταθερή και ίση με τη μονάδα ($u_R = 1$). Οι επιλεγόμενες απόλυτες τιμές των

σταθερών για τις προσομοιώσεις Γ1, Γ2(i) και Γ2(ii) φαίνονται στους πίνακες 2.9, 2.10 και 2.11 αντίστοιχα.

Πίνακας 2.9 Τιμές των παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση Γ1.

Φαρμακοκινητικές παράμετροι	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)		Σκεύασμα αναφοράς (R)	
u	0,2		1	
k_a (h⁻¹)	1,2	0,1984	0,6	0,0992
	1,8	0,2976		
k_{el} (h⁻¹)	1,21	0,2	1,21	0,2

Πίνακας 2.10 Τιμές των παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση Γ2(i).

Φαρμακοκινητικές παράμετροι	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)		Σκεύασμα αναφοράς (R)	
u	2		1	
k_a (h⁻¹)	1,2	0,1984	0,6	0,0992
	1,8	0,2976		
k_{el} (h⁻¹)	1,21	0,2	1,21	0,2

Πίνακας 2.11 Τιμές των παραμέτρων του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση Γ2(ii).

Φαρμακοκινητικές παράμετροι	Σκεύασμα υπό έλεγχο (T)		Σκεύασμα αναφοράς (R)	
u	2		1	
k_a (h⁻¹)	0,3	0,15	0,6	0,3
	0,45	0,225		
k_{el} (h⁻¹)	0,2	0,1	0,2	0,1

Σε αυτή την ομάδα προσομοιώσεων απεικονίστηκαν οι συσχετίσεις των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 με τις τιμές του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ και μελετήθηκε η επίδραση των απόλυτων τιμών των εξεταζόμενων

σταθερών (εφόσον οι λόγοι των παραμέτρων k_{aR}/k_{eI} ήταν σταθεροί) στην εκτίμηση τόσο των δεικτών άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης όσο και των παραπάνω φαρμακοκινητικών παραμέτρων.

2.5 Λογισμικό

Για την αναγέννηση των in vitro και in vivo προσομοιωμένων δεδομένων, τον υπολογισμό των δεικτών άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης, των φαρμακοκινητικών παραμέτρων καθώς και του λόγου αυτών των παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν υπολογιστικές ρουτίνες/προγράμματα (transforms) που αναπτύχθηκαν με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή στο περιβάλλον του λογισμικού SigmaPlot® (SigmaPlot® 11.0 for Windows, Systat Software Inc.). Τέλος, και η κατασκευή όλων των διαγραμμάτων έγινε με ίδιο λογισμικό.

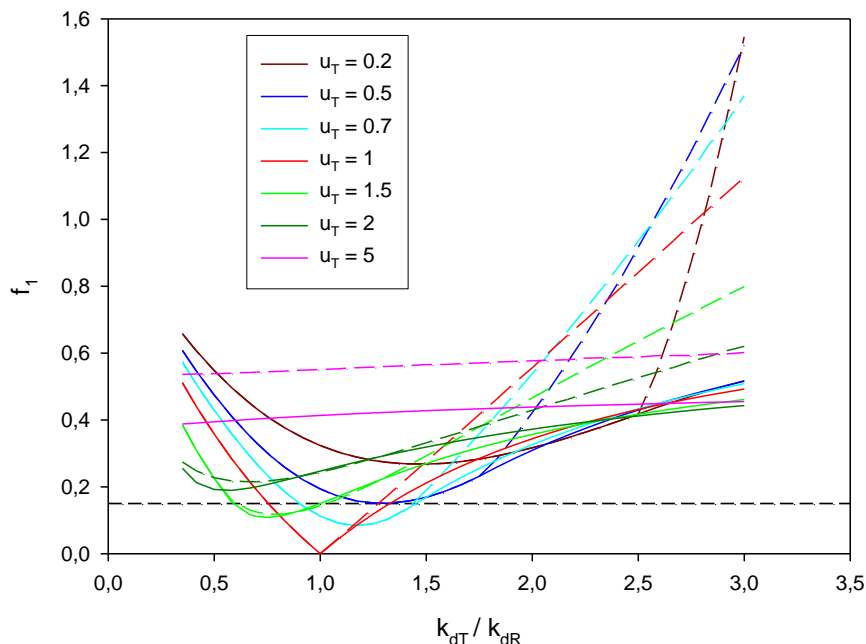
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Προσομοιώσεις A

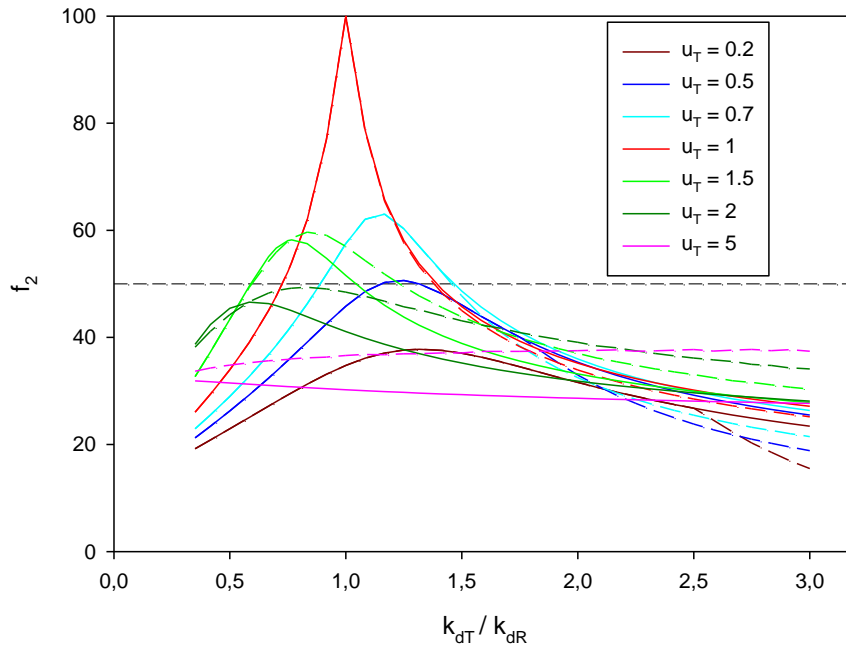
Στο Παράρτημα I παρουσιάζονται, για κάθε τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T της συνάρτησης Weibull, οι προσομοιωμένες in vitro αθροιστικές καμπύλες διάλυσης, καθώς και οι αντίστοιχες προσομοιωμένες in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο για τις τέσσερις τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} που επιλέχθηκαν.

3.1.1 Προσομοιώσεις in vitro δεδομένων: A1 – A7

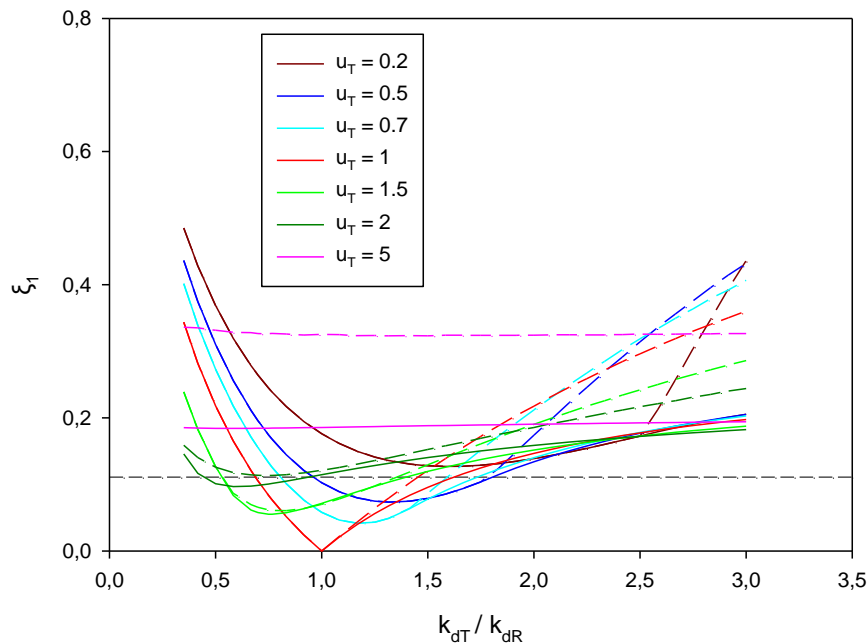
Στα σχήματα 3.1 - 3.4 που ακολουθούν, παρουσιάζονται αντίστοιχα οι δείκτες άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 , οι οποίοι υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης για τις διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T της συνάρτησης Weibull που επιλέχθηκαν, σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Όλοι οι δείκτες υπολογίστηκαν μέχρι δύο χρόνους αποκοπής, ref85 και fast85.



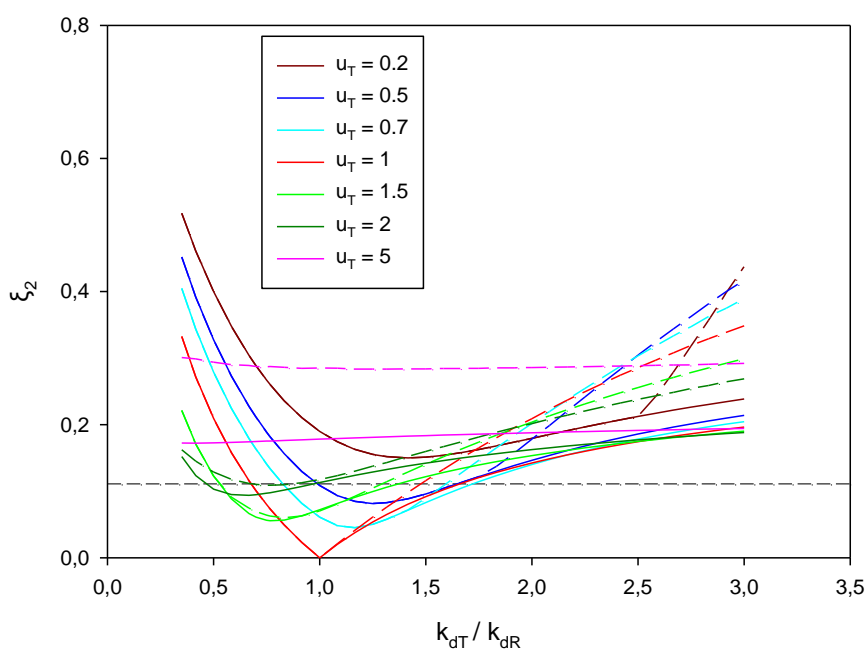
Σχήμα 3.1: Ο δείκτης f_1 που υπολογίζεται από in vitro δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{1fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.



Σχήμα 3.2: Ο δείκτης f_2 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{2ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{2fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.



Σχήμα 3.3: Ο δείκτης ξ_1 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: ξ_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $\xi_{1fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.

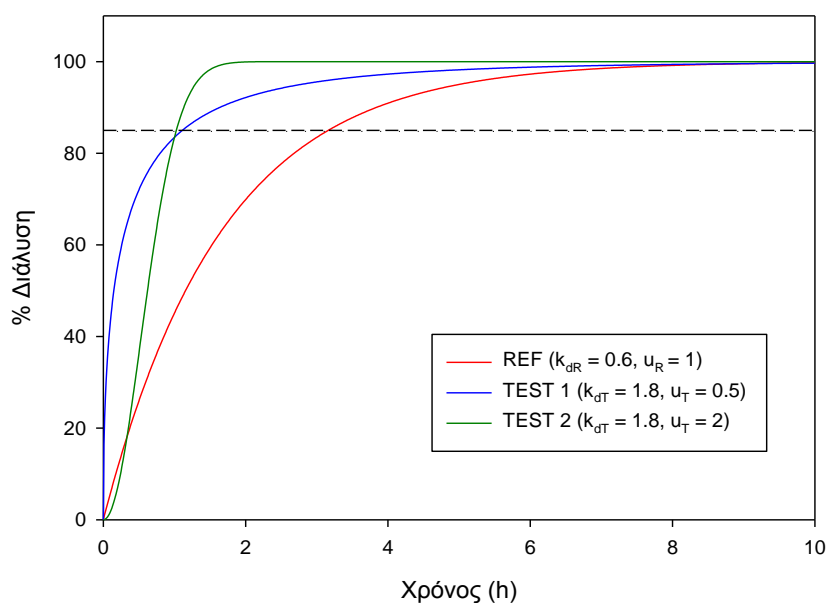


Σχήμα 3.4: Ο δείκτης ξ_2 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: ξ_{2ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $\xi_{2fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.

Στα σχήματα 3.1 – 3.4 παρατηρείται ότι όσο η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T αποκλίνει από την μονάδα, δηλαδή από την παράμετρο σχήματος του σκευάσματος αναφοράς, τόσο οι δείκτες που υπολογίζονται είναι εκτός ορίων. Χαρακτηριστικά, για τις προσομοιώσεις με $u_T = 5$ και $u_T = 0.2$ φαίνεται ότι κανένα σκεύασμα υπό έλεγχο δεν είναι όμοιο με το σκεύασμα αναφοράς, σύμφωνα με όλους τους υπολογιζόμενους δείκτες, ακόμα και στις περιπτώσεις όπου ο λόγος k_{dT}/k_{dR} είναι πολύ κοντά ή ακόμα και ίσος με τη μονάδα.

Όσον αφορά την ευαισθησία των δεικτών αναφορικά με το σημείο αποκοπής, μεγαλύτερη ευαισθησία παρατηρείται για χρόνο αποκοπής *fast85* σε όλες τις προσομοιώσεις με $u_T < 1$ και το φαινόμενο αυτό είναι ιδιαίτερα έντονο στην περίπτωση των δεικτών ξ_1 , ξ_2 και f_1 . Για τις προσομοιώσεις με $u_T > 1$ η ευαισθησία των δεικτών ξ_1 , ξ_2 και f_1 είναι μεγαλύτερη όταν ο υπολογισμός τους γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής *fast85*, ενώ η ευαισθησία του δείκτη f_2 είναι μεγαλύτερη όταν η εκτίμησή του γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής *ref85*. Η διαφορετική συμπεριφορά

του δείκτη f_2 οφείλεται στο ότι στις περιπτώσεις όπου $u_T > 1$ οι απόλυτες αθροιστικές διαφορές εξακολουθούν να είναι μεγάλες μετά τον χρόνο αποκοπής fast85. Αυτό φαίνεται χαρακτηριστικά στο σχήμα 3.5 όπου απεικονίζονται οι καμπύλες διάλυσης για το σκεύασμα αναφοράς, καθώς και για δύο υπό έλεγχο σκευάσματα με ίδια σταθερά του ρυθμού διάλυσης k_d αλλά διαφορετική τιμή της παραμέτρου σχήματος u_T . Παρατηρείται ότι μετά το χρόνο αποκοπής fast85 οι διαφορές του σκευάσματος υπό έλεγχο με $u_T = 2$ σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες διαφορές του σκευάσματος με $u_T = 0.5$.



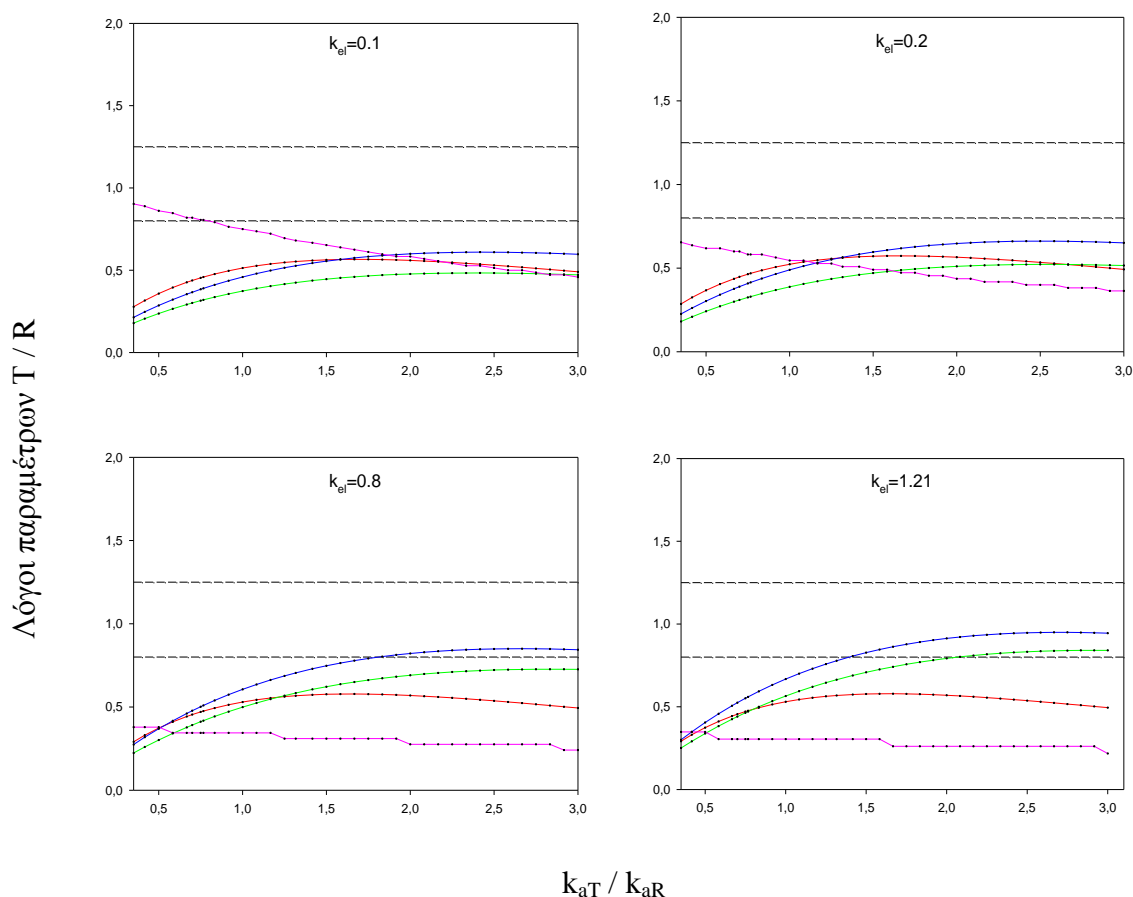
Σχήμα 3.5 *In vitro* καμπύλες διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και δύο υπό έλεγχο σκευασμάτων τα οποία διαφέρουν μόνο ως προς την τιμή της παραμέτρου σχήματος u_T . Διακεκομμένη γραμμή: Ποσοστό στο οποίο επιτυγχάνεται το 85% της διάλυσης.

Συνολικά σε όλες τις προσομοιώσεις, πιο αυστηροί εμφανίζονται οι δείκτες f_1 και f_2 και πιο ελαστικοί, οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 . Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου^{93,104}.

3.1.2 Προσομοιώσεις in vivo δεδομένων: A1(1-4) – A7(1-4)

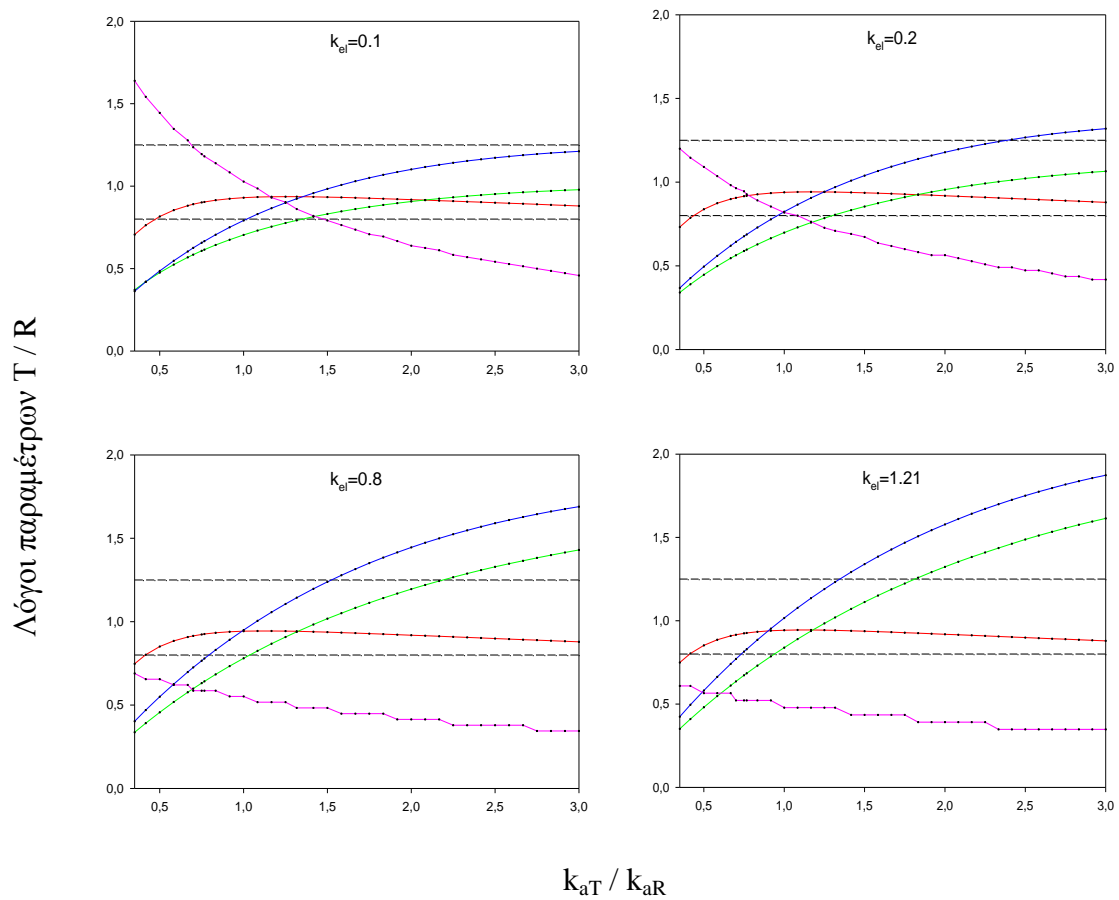
Στα σχήματα 3.6 - 3.12 απεικονίζονται οι λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Πιο συγκεκριμένα, κάθε σχήμα αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T και στα τέσσερα γραφήματα που το απαρτίζουν εξετάζεται πως μεταβάλλονται οι λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων σε σχέση με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} .

3.1.2.1 Προσομοιώσεις A1(1-4): $u_R = 1$, $u_T = 0.2$



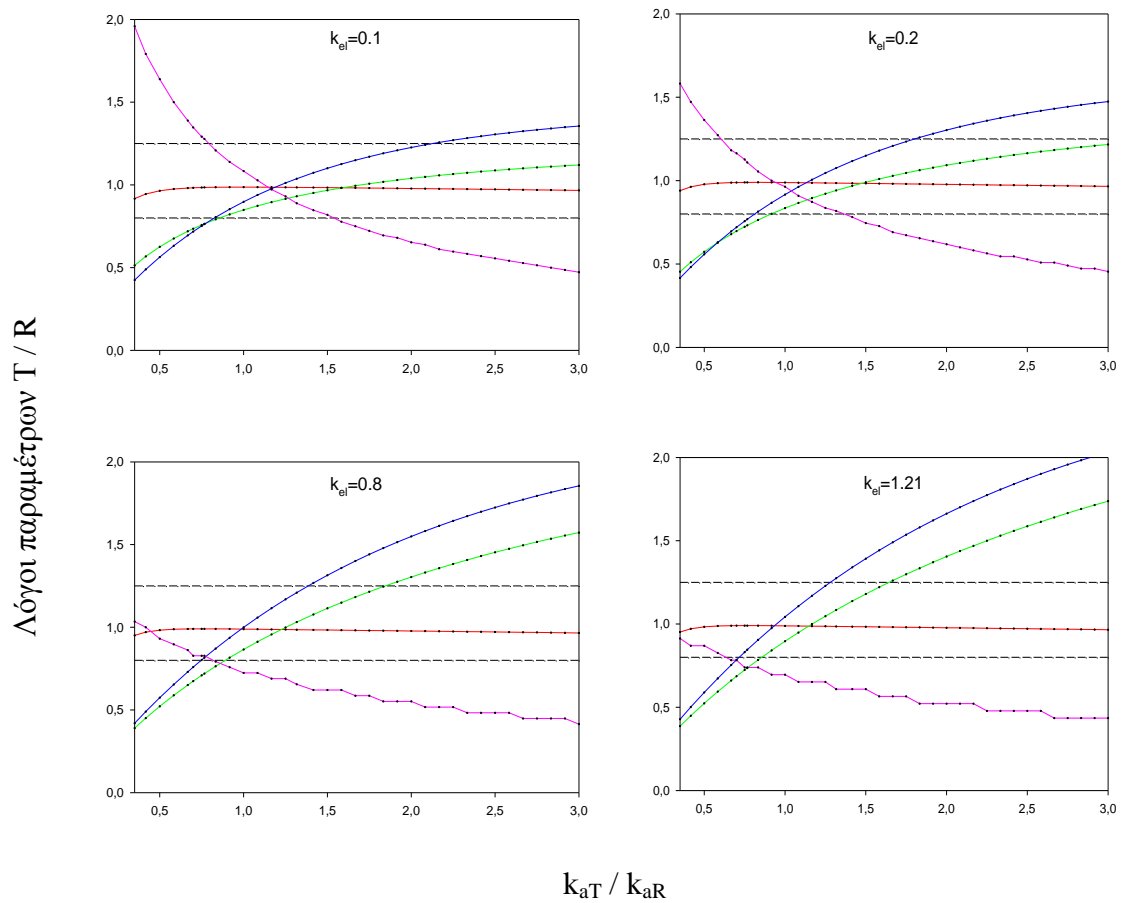
Σχήμα 3.6: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 0.2$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.2 Προσομοιώσεις A2(1-4): $u_R = 1, u_T = 0.5$



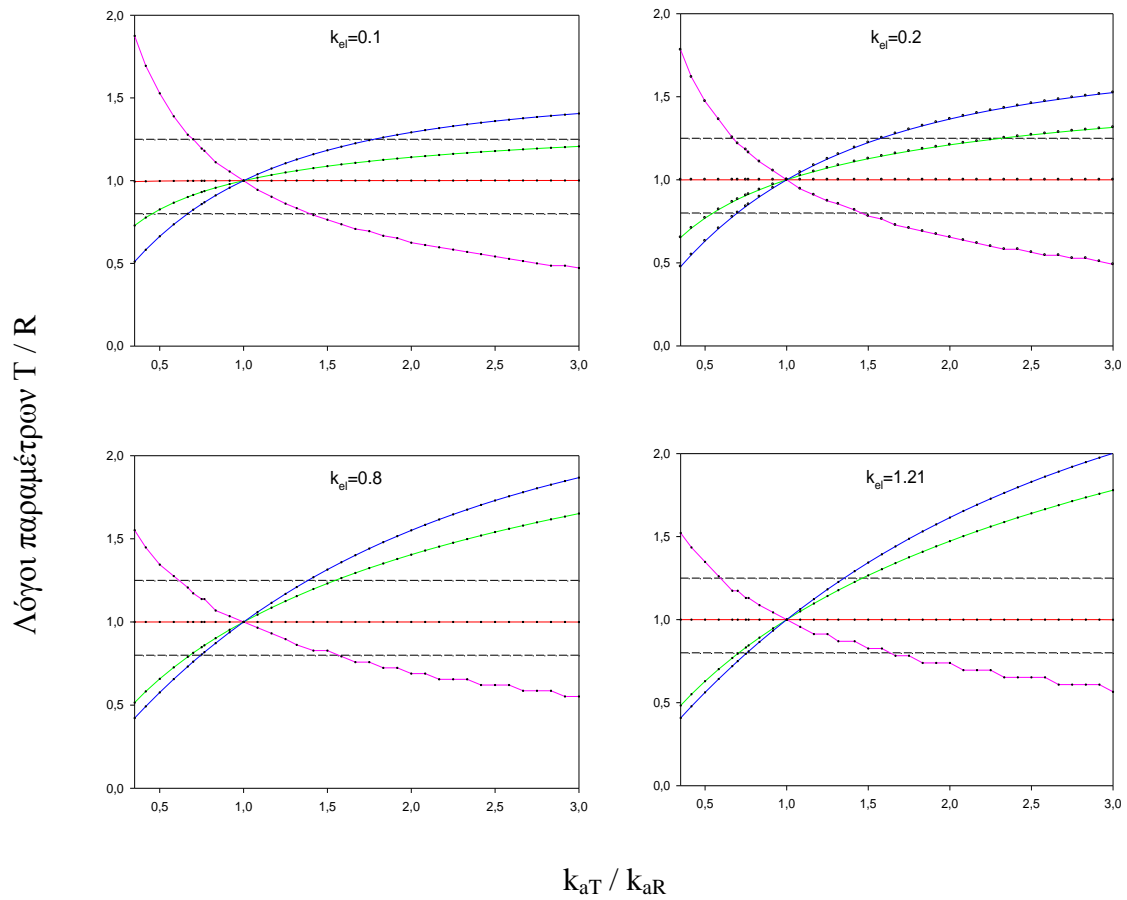
Σχήμα 3.7: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 0.5$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.3 Προσομιώσεις A3(1-4): $u_R = 1, u_T = 0.7$



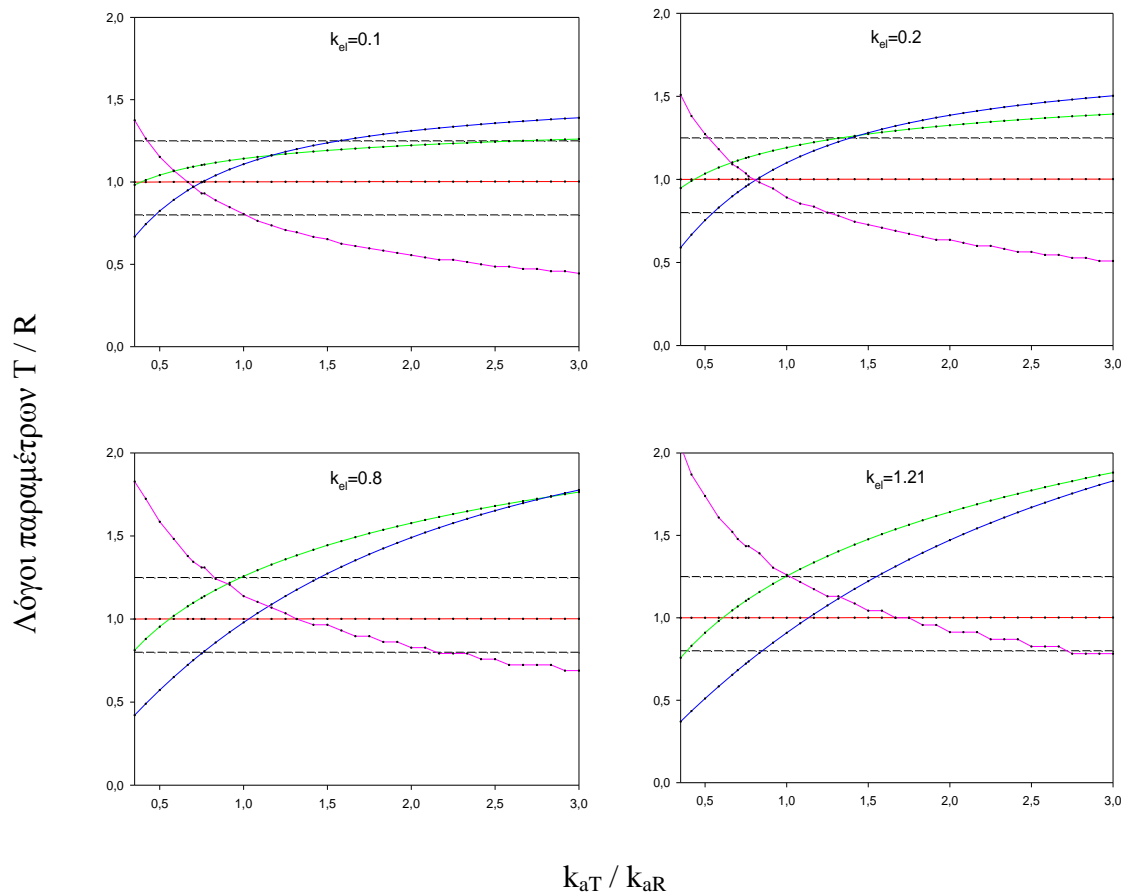
Σχήμα 3.8: Λόγοι των φαρμακοκινητικών παραμέτρων T/R που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 0.7$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.4 Προσομοιώσεις A4(1-4): $u_R = u_T = 1$



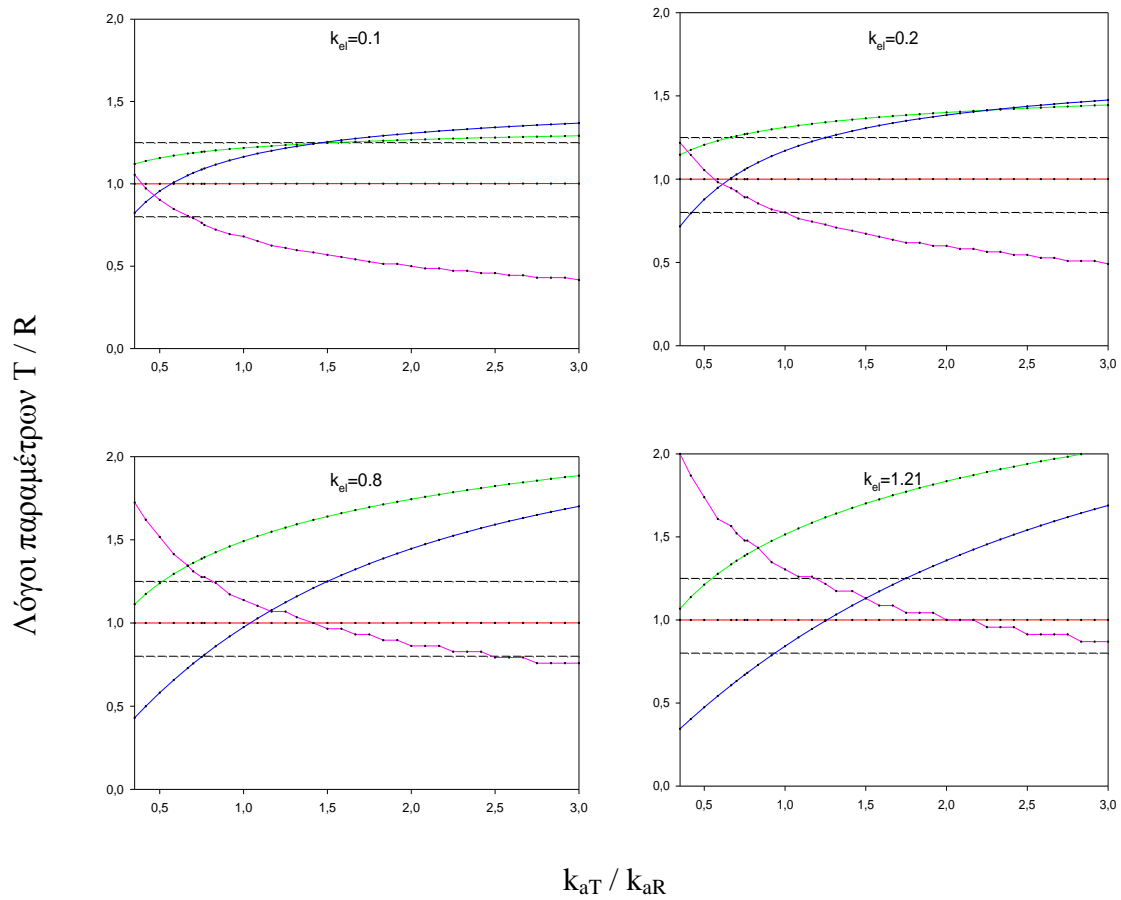
Σχήμα 3.9: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 1$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.5 Προσομοιώσεις A5(1-4): $u_R = 1, u_T = 1.5$



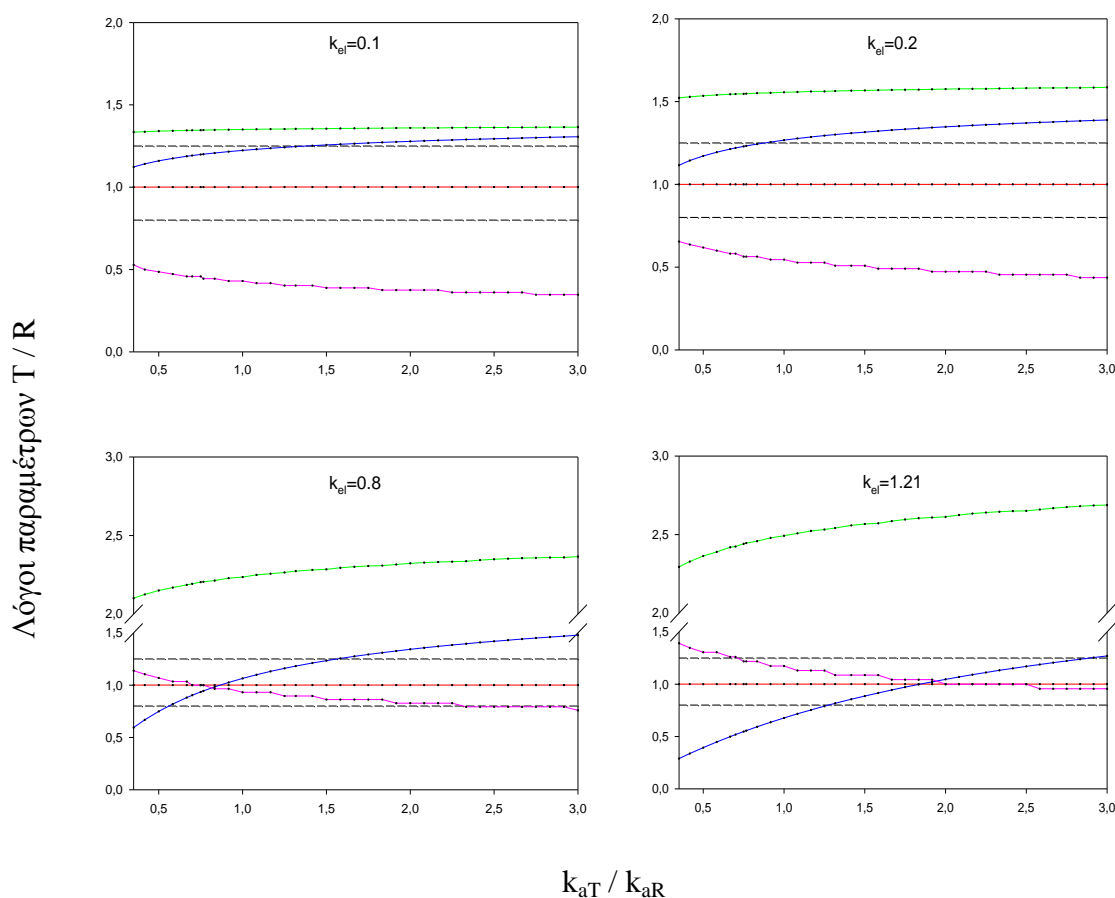
Σχήμα 3.10: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 1.5$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.6 Προσομιώσεις A6(1-4): $u_R = 1, u_T = 2$



Σχήμα 3.11: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 2$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.1.2.7 Προσομοιώσεις A7(1-4): $u_R = 1, u_T = 5$



Σχήμα 3.12: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u_T = 5$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

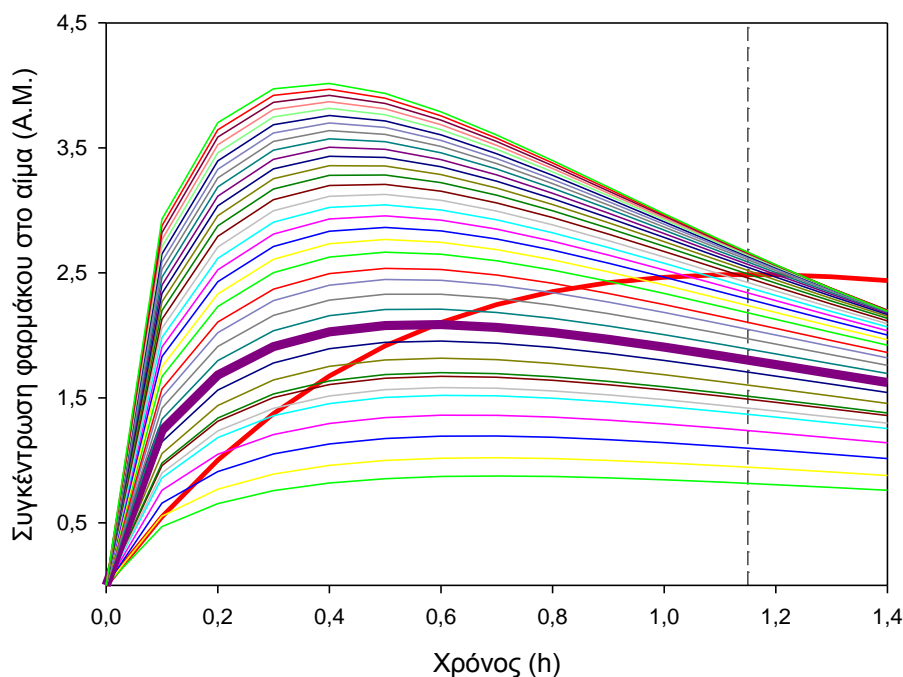
Σύμφωνα με τα σχήματα 3.6 – 3.12 παρατηρείται ότι η ευαισθησία του λόγου των φαρμακοκινητικών παραμέτρων εξαρτάται από την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . Στην περίπτωση της πρωτοταξικής κινητικής, όπου $u_R = u_T = 1$, η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ αυξάνεται με την αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , και συνεπώς με τη μείωση του λόγου k_{aR}/k_{el} , με την $AUC_{Tmax,R}$ να είναι πιο αποτελεσματική σε σχέση με την C_{max} στο να ανιχνεύσει τις *in vivo* διαφορές. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί πλήρως με αντίστοιχα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών^{93,104}.

Στην περίπτωση που η κινητική του σκευάσματος αναφοράς διαφέρει από εκείνη του σκευάσματος υπό έλεγχο, δηλαδή όταν $u_R = 1$ αλλά $u_T \neq 1$, τα αποτελέσματα μπορεί να διαφοροποιούνται. Σε γενικές γραμμές, όπως και στην περίπτωση της πρωτοταξικής κινητικής της εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία, έτσι και στην περίπτωση που $u_T \neq 1$, η κινητική ευαισθησία του λόγου των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$, δηλαδή η μεταβολή του λόγου τους T/R σε σχέση με τη μεταβολή του λόγου k_{aT}/k_{aR} , αυξάνεται στις περιπτώσεις που υπάρχει μείωση της τιμής του λόγου k_{aR}/k_{el} . Αυτό είναι πιο εμφανές όταν η τιμή της παραμέτρου σχήματος u_T δεν αποκλίνει πολύ από τη μονάδα, π.χ. $0.7 < u_T < 1.5$. Συγκεκριμένα, αξίζει να σημειωθεί ότι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η φαρμακοκινητική παράμετρος $AUC_{Tmax,R}$ φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη κινητική ευαισθησία σε σχέση με την C_{max} , ενώ συνολικά η κινητική ευαισθησία των φαρμακοκινητικών αυτών παραμέτρων είναι μεγαλύτερη όταν $k_{aT} < k_{aR}$, καθώς και όταν $k_{aR} < k_{el}$. Επιπλέον, όσο u_T αποκλίνει από την μονάδα παρατηρείται ότι η κινητική ευαισθησία των in vivo φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ μειώνεται, ειδικά όταν $u_T > 1$.

Όμως, οι καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο, και ειδικότερα το σχήμα τους κατά την αρχική φάση έκθεσης στο φάρμακο, δεν εξαρτάται μόνο από την παράμετρο k_{aT} αλλά και από το συνδυασμό των παραμέτρων που εμπλέκονται, δηλαδή k_{aT} , u_T και k_{el} . Έτσι, είναι δυνατό μια παράμετρος με σχετικά υψηλή κινητική ευαισθησία ως προς το λόγο k_{aT}/k_{aR} να μην αποτελεί ευαίσθητο δείκτη για την ανίχνευση διαφορών στην αρχική έκθεση στο φάρμακο.

Όταν $u_T < 1$, και συγκεκριμένα όταν $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$, η $AUC_{Tmax,R}$ παρουσιάζεται πιο ευαίσθητος φαρμακοκινητικός δείκτης σε σχέση με την C_{max} για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$ και σε αυτές τις περιπτώσεις υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο. Αντίθετα, για $k_{aT} < k_{aR}$, η C_{max} καταφέρνει στην πλειοψηφία των περιπτώσεων να ανιχνεύσει καλύτερα σε σχέση με την $AUC_{Tmax,R}$ τις in vivo διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο. Για παράδειγμα, στο σχήμα 3.13 παρουσιάζονται οι καμπύλες συγκέντρωσης στο αίμα – χρόνου, οι οποίες προκύπτουν για $u_T = 0.5$, $k_{el} = 1.21$ και διάφορες τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Με βάση το σχήμα αυτό φαίνεται ότι το σκεύασμα με τιμή $k_{aT} = 0.6$ (μωβ παχιά γραμμή) και το σκεύασμα

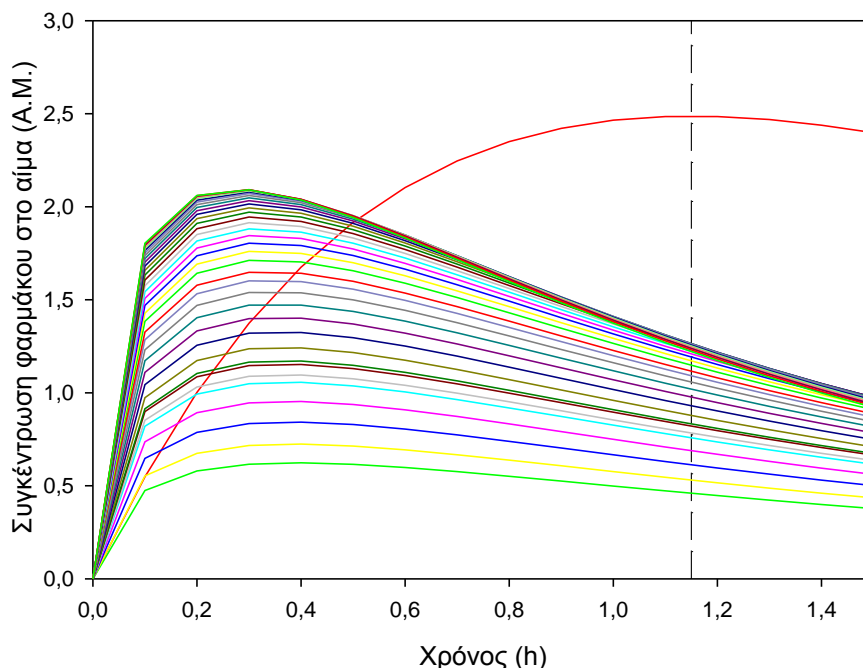
αναφοράς (κόκκινη παχιά γραμμή) θα έχουν σχεδόν ίδιες τιμές $AUC_{T_{max,R}}$ αλλά αρκετά διαφορετικές τιμές C_{max} . Όντως, με βάση τις προσομοιώσεις προκύπτει $AUC_{T_{max,R}}(T)/AUC_{T_{max,R}}(R) = 1.0165$ και $C_{max}(T)/C_{max}(R) = 0.8388$.



Σχήμα 3.13: Μεγέθυνση στο αρχικό τμήμα των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα-χρόνου που προκύπτουν για $u_T = 0.5$, $k_{el} = 1.21$ και διάφορες τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Κάθετη διακεκομμένη γραμμή: χρόνος ίσος με $T_{max,R}$. Παχιά μωβ γραμμή: σκεύασμα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.6$ για το οποίο $AUC_{T_{max,R}}(T)/AUC_{T_{max,R}}(R) = 1.0165$

Όταν $u_T = 0.2$, και οι δύο φαρμακοκινητικές παράμετροι C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ καταφέρνουν να ανιχνεύσουν τις in vivo διαφορές όταν $k_{aR} > k_{el}$. Όμως, όταν $k_{aR} < k_{el}$ για ορισμένα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} > 1.3$ η $AUC_{T_{max,R}}$ αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις διαφορές, ενώ στην ειδική περίπτωση που $k_{el} = 1.21$ για $k_{aT}/k_{aR} > 2$, ούτε η C_{max} αντανακλά διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί βλέποντας τις καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο στο σχήμα 3.14. Για $u_T = 0.2$ και $k_{el} = 1.21$ τα υπό έλεγχο σκευάσματα με μεγάλες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης φτάνουν στις μέγιστες συγκεντρώσεις τους πολύ πιο γρήγορα από το σκεύασμα αναφοράς και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα σκευάσματα αυτά να παρουσιάζουν παρόμοιες με το σκεύασμα αναφοράς τιμές $AUC_{T_{max,R}}$. Επίσης, στο σχήμα αυτό παρατηρείται πως οι τιμές της C_{max} ορισμένων εξ αυτών των σκευασμάτων υπό έλεγχο δεν έχουν μεγάλη διαφορά από αυτή του

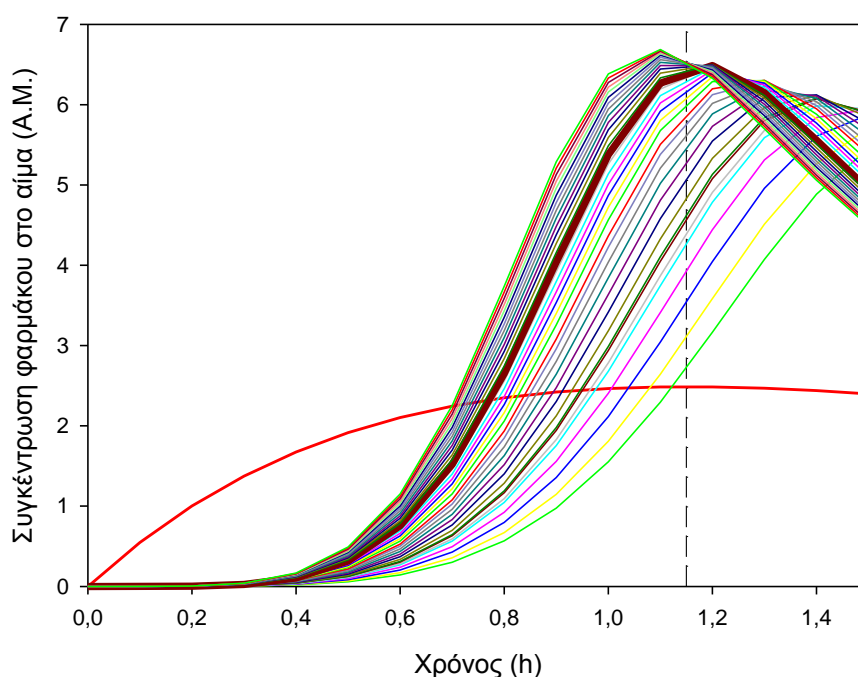
σκευάσματος αναφοράς, με αποτέλεσμα οι λόγοι που θα προκύψουν να είναι εντός του διαστήματος βιοϊσοδυναμίας. Σε αυτή την περίπτωση, μόνο η παράμετρος T_{max} αντανακλά τις in vivo διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο.



Σχήμα 3.14: Μεγέθυνση στο αρχικό τμήμα των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα-χρόνου που προκύπτουν για $u_T = 0.2$, $k_{el} = 1.21$ και διάφορες τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Κάθετη διακεκομμένη γραμμή: χρόνος ίσος με $T_{max,R}$.

Για $1 < u_T < 2$, δηλαδή στις περιπτώσεις καμπυλών με ήπια σιγμοειδή χαρακτηριστικά, η $AUC_{T_{max,R}}$ παρουσιάζεται πιο ευαίσθητος φαρμακοκινητικός δείκτης στο να αντανακλά διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο σε σχέση με την C_{max} για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$. Έτσι, σε αυτές τις περιπτώσεις υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο. Αντίθετα, η C_{max} είναι πιο ευαίσθητη σε σχέση με την $AUC_{T_{max,R}}$ για τις περιπτώσεις με $k_{aT} > k_{aR}$ όταν $k_{aR} < k_{el}$. Ειδικότερα, στις προσομοιώσεις με $u_T = 2$ και $u_T = 5$, δηλαδή στις περιπτώσεις καμπυλών με έντονα σιγμοειδή χαρακτηριστικά, η παράμετρος C_{max} είναι ικανή να ανιχνεύσει καλύτερα τις in vivo διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο σε όλες τις περιπτώσεις. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί βλέποντας τις καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα - χρόνου όταν $u_T = 5$ και $k_{el} = 1.21$ (σχήμα 3.15): Τα σκευάσματα υπό έλεγχο, λόγω της τιμής της παραμέτρου σχήματος, παρουσιάζουν καθυστερημένα αλλά απότομα μεγαλύτερα μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης φαρμάκου

στο αίμα σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς. Επομένως, στο σημείο αποκοπής $T_{max,R}$, κάποια υπό έλεγχο σκευάσματα παρουσιάζουν παρόμοιες με το σκεύασμα αναφοράς τιμές $AUC_{T_{max,R}}$. Συγκεκριμένα, ως παράδειγμα στο σχήμα 3.15 μπορεί να αναφερθεί το σκεύασμα με τιμή $k_{aT} = 1.15$ (καφέ παχιά γραμμή) όπου φαίνεται ότι το συγκεκριμένο σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς θα έχουν σχεδόν ίδιες τιμές $AUC_{T_{max,R}}$. Όντως, με βάση τις προσομοιώσεις προκύπτει $AUC_{T_{max,R}}(T)/AUC_{T_{max,R}}(R) = 1.0223$, ενώ ο λόγος $C_{max}(T)/C_{max}(R) = 2.6087$. Συμπερασματικά, παρατηρείται ότι τα αποτελέσματα που προκύπτουν στις περιπτώσεις όπου $u_T < 1$ συμφωνούν με τα αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου για τα περισσότερα από τα εξεταζόμενα σκευάσματα, όμως όσον αφορά τα αποτελέσματα των περιπτώσεων με $u_T > 1$ και της πρωτοταξικής κινητικής, συμφωνία παρατηρείται για λίγα μόνο σκευάσματα.



Σχήμα 3.15: Μεγέθυνση στο αρχικό τμήμα των καμπυλών συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα-χρόνος που προκύπτουν για $u_T = 5$, $k_{el} = 1.21$ και διάφορες τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Κάθετη διακεκομμένη γραμμή: χρόνος ίσος με $T_{max,R}$. Παχιά καφέ γραμμή: σκεύασμα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 1.15$ για το οποίο $AUC_{T_{max,R}}(T)/AUC_{T_{max,R}}(R) = 1.0223$

Επίσης, για τις περιπτώσεις προσομοιώσεων όπου $u_T \ll 1$ παρατηρείται το παράδοξο ότι ενώ δεν μεταβάλλεται η έκταση της απορρόφησης οι λόγοι T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου AUC δεν παραμένουν σταθεροί και ίσοι με την

μονάδα. Αυτό οφείλεται αφενός στο ότι, λόγω της αργής διάλυσης ειδικά στα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα στον οριζόμενο χρόνο $t_{last} = 48$ δεν τείνει στο μηδέν, με αποτέλεσμα κατά τον υπολογισμό της AUC να μην λαμβάνεται υπόψη η συνολική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης – χρόνου και αφετέρου στο βήμα χρόνου (step) της προσομοίωσης. Πιο συγκεκριμένα, κυρίως όταν $u_T < 0.5$, ειδικά στις μεγάλες τιμές του k_{aT} , η τιμή τόσο της AUC όσο και των υπόλοιπων φαρμακοκινητικών παραμέτρων επηρεάζεται από το βήμα χρόνου της προσομοίωσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πιο μικρό βήμα χρόνου κατά τη διαδικασία της συνέλιξης θα δώσει ακόμα μεγαλύτερη σημασία στον αρχικό ρυθμό εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία και έτσι θα προκύψουν μεγαλύτερες τιμές της συγκέντρωσης στο αίμα και κατ' επέκταση μεγαλύτερες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Όμως, ένα πολύ μικρό βήμα χρόνου είναι πολύ πιο μακριά από ρεαλιστικές συνθήκες δειγματοληψίας και αυξάνει κατά πολύ τον υπολογιστικό χρόνο της προσομοίωσης. Το βήμα χρόνου που χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις προσομοιώσεις της παρούσας μελέτης (step = 0.05) αποτελεί ένα καλό συμβιβασμό μεταξύ των παραπάνω χαρακτηριστικών.

Τέλος, όσον αφορά την ευαισθησία της φαρμακοκινητικής παραμέτρου T_{max} , αυτή καταφέρνει να αντανakλά καλύτερα διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο σε σχέση με τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ σε όλες τις περιπτώσεις όπου $k_{aR} > k_{el}$ για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$ και ειδικότερα για τις περιπτώσεις όπου $u_T < 1$, αυτό συμβαίνει και όταν $k_{aR} < k_{el}$ για όλα τα σκευάσματα. Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι σε πολλές περιπτώσεις, ειδικά όταν $u_T < 1$, η T_{max} φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική από τις C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ στο να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο.

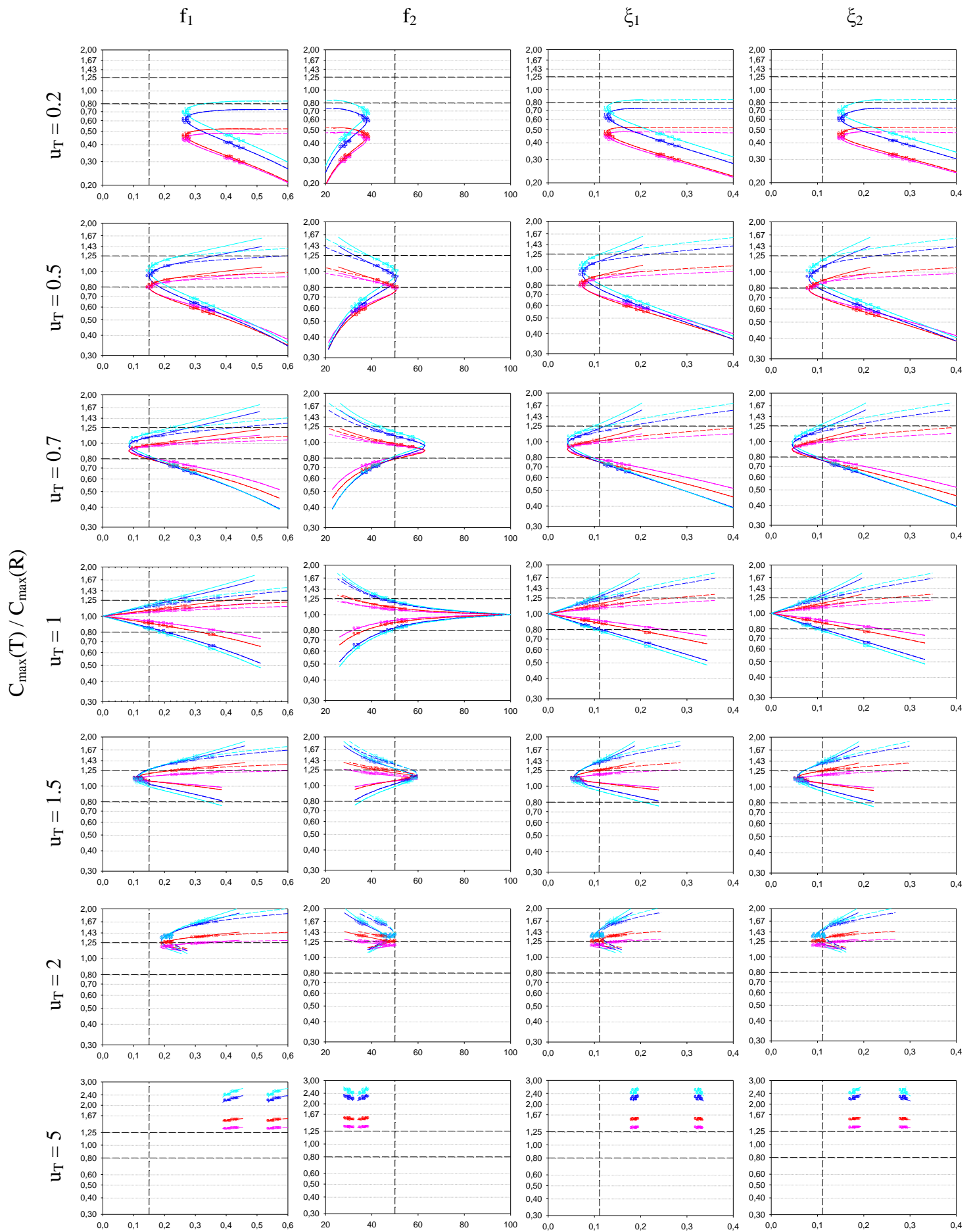
3.1.3 In vitro-in vivo συσχετίσεις: A1(1-4) – A7(1-4)

Στο Παράρτημα II απεικονίζονται οι συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης. Συγκεκριμένα, για κάθε τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, παρουσιάζονται τέσσερα σχήματα: Στα δύο πρώτα φαίνονται οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου C_{max} και στα άλλα δύο οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου $AUC_{T_{max,R}}$. Σε κάθε σχήμα φαίνεται για κάθε εξεταζόμενο σκεύασμα υπό έλεγχο η επίδραση της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} στη τιμή του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, όταν δεν μεταβάλλεται ο ρυθμός εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία. Επίσης, πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} απεικονίζονται ορισμένοι αριθμοί - σύμβολα που αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων που προκύπτουν για οκτώ ορισμένες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης k_{aT} . Πιο συγκεκριμένα, για πρωτοταξική κινητική οι τιμές αυτές αποδίδουν τιμές που βρίσκονται κοντά στα όρια τόσο ομοιότητας των in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες άμεσης σύγκρισης όσο και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ ¹⁰⁴. Συνεπώς, παρουσιάζονται ως ιδιαίτερα βοηθητικές, ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση με το πρωτοταξικό μοντέλο και να αναδειχθεί έτσι πως επηρεάζεται η συσχέτιση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων με τους δείκτες όταν αλλάζει η κινητική και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T . Στα σχήματα αυτά φαίνεται πώς για τις ειδικές αυτές περιπτώσεις συσχετίσεων τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$ αντιστοιχούν στις συσχετίσεις που παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές των λόγων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Τέλος, ειδικά στα σχήματα αυτά, για κάθε θεωρητική καμπύλη της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , φαίνονται και οι συσχετίσεις που προκύπτουν για το σκεύασμα με τιμή $k_{aT} = k_{aR}$, οι οποίες δείχνουν άμεσα την επίδραση μόνο της τιμής της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο.

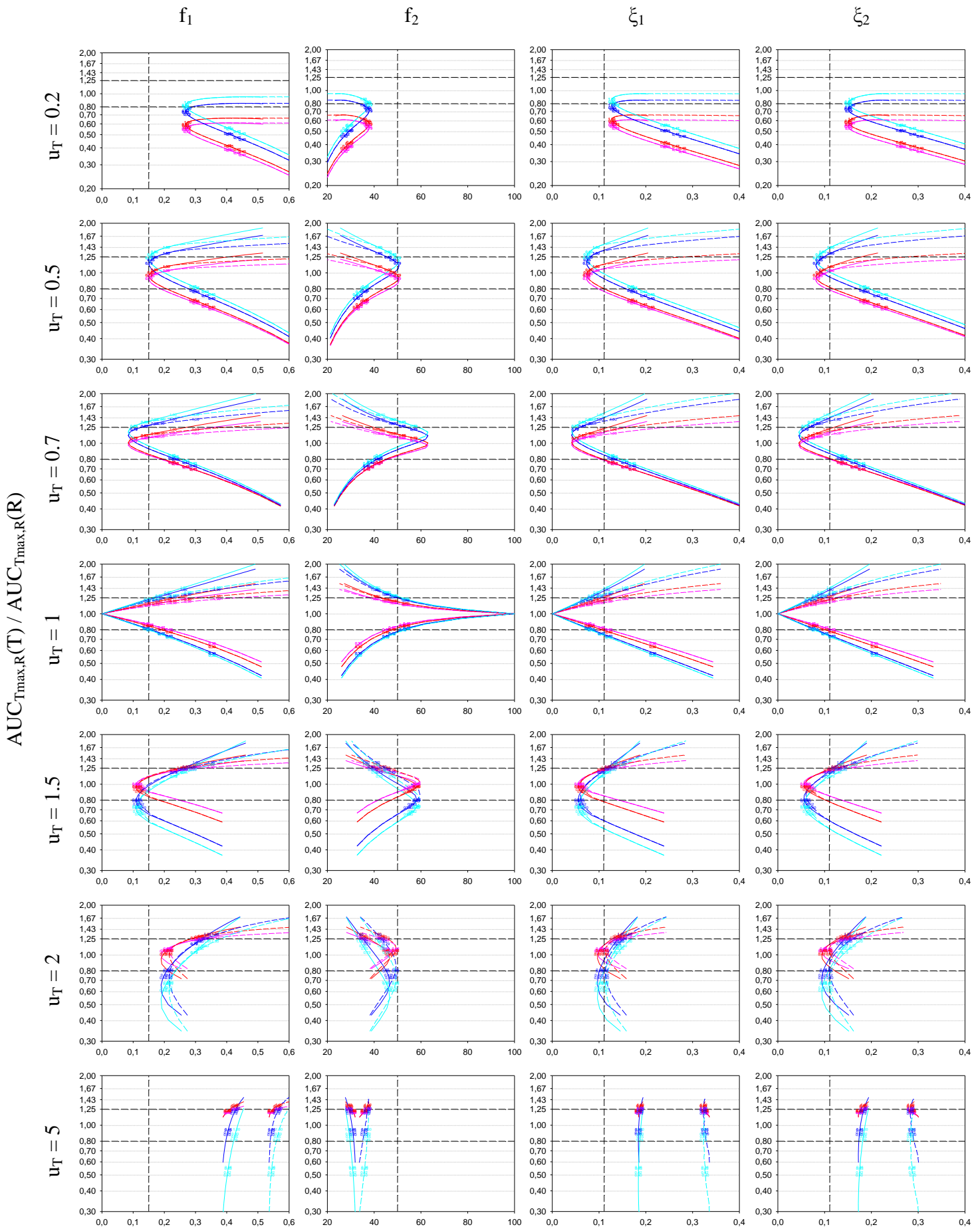
Οι παραπάνω συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 παρουσιάζονται αντίστοιχα συγκεντρωτικά και σε σμίκρυνση στα σχήματα 3.16 και 3.17, ώστε να υποβοηθηθεί η συγκριτική μελέτη τους, τόσο μεταξύ δεικτών για την ίδια κινητική (u_T), όσο και ανά δείκτη για κάθε τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο. Αν και παραπάνω μελετάται η ευαισθησία της φαρμακοκινητικής παραμέτρου T_{max} , δεδομένου ότι αυτή χρησιμοποιείται σύμφωνα με τον EMA⁹ ως φαρμακοκινητικός δείκτης της αρχικής έκθεσης στο φάρμακο, δεν εξετάζονται περαιτέρω οι συσχετίσεις της T_{max} με τους δείκτες, καθώς αυτή αποτελεί μια διακριτή μεταβλητή και σύμφωνα με τον FDA δεν αξιολογείται περαιτέρω στατιστικά²⁵.

Με βάση τα σχήματα του Παραρτήματος II καθώς και τα συγκεντρωτικά σχήματα 3.16 και 3.17, φαίνεται η διαφοροποίηση των καμπυλών IVIVC, όπως και στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου διάλυσης και εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία, τόσο ανάλογα με τη φαρμακοκινητική παράμετρο (C_{max} , $AUC_{T_{max},R}$) όσο και ανάλογα με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , έστω και αν, για τις τέσσερις περιπτώσεις k_{aR}/k_{el} που μελετήθηκαν, η είσοδος του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία δεν μεταβάλλεται. Βέβαια, τόσο οι διαφορετικές καμπύλες που αντιστοιχούν σε διαφορετικές τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} όσο και οι ειδικές περιπτώσεις των IVIVC, φαίνεται να "μετακινούνται" σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο, παρόλο που οι τιμές των παραμέτρων k_{aT} , k_{aR} και k_{el} που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι ίδιες. Δηλαδή, παρατηρώντας τις συσχετίσεις που προκύπτουν για τις τιμές των ειδικών περιπτώσεων, διαπιστώνεται ότι αυτές δεν βρίσκονται πλέον περίπου συμμετρικά κοντά στα όρια ομοιότητας των *in vitro* καμπυλών με βάση τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 , ξ_2 και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$, όπως επιλέχθηκαν για το πρωτοταξικό μοντέλο. Αυτό οφείλεται αποκλειστικά στη διαφοροποίηση της τιμής της u_T , δηλαδή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο της συνάρτησης Weibull, η οποία καθορίζει και το είδος της κινητικής διάλυσης και εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία. Το γεγονός αυτό γίνεται εύκολα εμφανές αν παρατηρήσει κανείς τη "μετακίνηση" του σημείου που αντιστοιχεί στην ειδική περίπτωση όπου $k_{aT} = k_{aR}$ (Παράρτημα I). Όπως αναμενόταν, το φαινόμενο είναι πιο έντονο όσο η παράμετρος σχήματος u_T αποκλίνει από τη μονάδα, γεγονός

που υπογραμμίζει τη σημασία αυτής της παραμέτρου, αφού αυτή επηρεάζει τη συμφωνία ή όχι που παρατηρείται μεταξύ ομοιότητας *in vitro* καμπυλών διάλυσης, όπως προκύπτει με βάση τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 , ξ_2 και βιοϊσοδυναμίας που εκτιμάται με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$. Ειδικά όσον αφορά την εξάρτηση της *in vivo* συμπεριφοράς από την τιμή της παραμέτρου σχήματος, τα αποτελέσματα που προκύπτουν στην παρούσα μελέτη έρχονται σε συμφωνία με το συμπέρασμα που προκύπτει από τη μελέτη των Duan et. al⁹⁴, σύμφωνα με την οποία η *in vivo* βιοϊσοδυναμία μεταξύ του σκευάσματος υπό έλεγχο και του σκευάσματος αναφοράς παρατηρείται κυρίως στις περιπτώσεις όπου τα σκευάσματα υπό έλεγχο είχαν παρόμοια με το σκευάσμα αναφοράς τιμή της παραμέτρου σχήματος. Αξίζει, βέβαια να σημειωθεί ότι στην συγκεκριμένη μελέτη η είσοδος του φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία υπολογίζεται μέσω μιας μη-γραμμικής *in vitro* - *in vivo* συσχέτισης και συνεπώς το μοντέλο εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία διαφέρει από αυτό της παρούσας μελέτης, όπου η διάλυση του φαρμάκου αντανακλά και την είσοδό του στην γενική κυκλοφορία.



Σχήμα 3.16: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R της C_{\max} σε σχέση με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 , ξ_2 . $k_{aR}=0.6$, $u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. ---- όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).



Σχήμα 3.17: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R της παραμέτρου $AUC_{Tmax,R}$ σε σχέση με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 , ξ_2 . $k_{aR}=0.6, u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. -----όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).

3.1.3.1 In vitro-in vivo συσχετίσεις A1(1-4): $u_R = 1, u_T = 0.2$

Γενικά παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία, με εξαίρεση μόνο ορισμένες περιπτώσεις οι οποίες αφορούν περίπου τα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} > 2$ όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$. Σε αυτές τις περιπτώσεις, λόγω των τιμών των παραμέτρων φαίνεται να υφίσταται διαφορά στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, κάτι που όμως δεν προβλέπεται από τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους, αλλά προβλέπεται από τους δείκτες. Ειδικά η $AUC_{Tmax,R}$ φαίνεται να είναι λιγότερο ευαίσθητη σε σχέση με την C_{max} στο να ανιχνεύσει αυτές τις διαφορές, κάτι που εξηγείται παρατηρώντας τις καμπύλες στο σχήμα 3.14, όπου φαίνεται η αδυναμία της $AUC_{Tmax,R}$ να αντανakλά τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο. Επιπλέον, συνολικά δεν υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, αφού στις περιπτώσεις με $k_{aR}/k_{el} < 1$ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ είναι λιγότερο ευαίσθητες στο να αντανakλούν τις in vivo διαφορές σε σχέση με τις περιπτώσεις με $k_{aR}/k_{el} > 1$.

3.1.3.2 In vitro-in vivo συσχετίσεις A2(1-4): $u_R = 1, u_T = 0.5$

Όσον αφορά τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ παρατηρείται συνολικά in vitro-in vivo συμφωνία, ενώ όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ υπάρχει συμφωνία με βάση την C_{max} , ενώ η $AUC_{Tmax,R}$ φαίνεται ότι σε κάποιες περιπτώσεις δεν μπορεί να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου (περίπου για σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} > 0.75$), κάτι που όμως οι δείκτες, καθώς και η C_{max} , καταφέρνουν να προβλέψουν. Αυτό παρατηρείται και στο σχήμα 3.13, όπου είναι εμφανής η αδυναμία της $AUC_{Tmax,R}$ να αντανakλά διαφορές στην αρχική έκθεση για τα ορισμένα αυτά σκευάσματα. Σε αυτές ειδικά τις περιπτώσεις δεν παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο.

Όσον αφορά τις περιπτώσεις σκευασμάτων με $k_{aT} > k_{aR}$, όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ υπάρχει συνολικά in vitro-in vivo ασυμφωνία, με τους δείκτες, ειδικά τους f_1 και f_2 να προβλέπουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση όπως αυτές φαίνεται να υφίστανται για τα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} > 1.3$, ενώ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι αποτυγχάνουν να τις ανιχνεύσουν. Παράλληλα, φαίνεται η αδυναμία των δεικτών ξ_1 και ξ_2 , ειδικά του ξ_1 , να ανιχνεύσουν τις διαφορές για κάποια σκευάσματα με παραπλήσιες τιμές k_{aT} και k_{aR} (περίπου για σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 1.3$). Αντίθετα, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ στην

πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία με βάση την $AUC_{T_{max,R}}$, όπου αυτή φαίνεται να αντανakλά τις διαφορές που υπάρχουν στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, όπως αυτό προβλέπεται και από τους δείκτες, ειδικά τους f_1 και f_2 , κάτι που όμως δεν καταφέρνει πάντα η C_{max} . Επιπλέον, είναι εμφανής η αδυναμία των δεικτών ξ_1 και ξ_2 , ειδικά του ξ_1 , να ανιχνεύσουν τις διαφορές που υφίστανται για σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 1.67$. Σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, ειδικά η $AUC_{T_{max,R}}$, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ καταφέρνουν να ανιχνεύσουν καλύτερα τις in vivo διαφορές που υφίστανται στην αρχική έκθεση.

3.1.3.3 In vitro-in vivo συσχετίσεις A3(1-4): $u_R = 1, u_T = 0.7$

Για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, τόσο όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ όσο και όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$, παρατηρείται συνολικά in vitro-in vivo συμφωνία με βάση την C_{max} , και κάπως λιγότερο με την $AUC_{T_{max,R}}$, αφού σε κάποιες λίγες περιπτώσεις φαίνεται ότι δεν μπορεί να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου (περίπου για κάποια σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} > 0.75$), κάτι που όμως οι δείκτες καταφέρνουν να προβλέψουν. Αυτό δικαιολογείται με βάση τις καμπύλες συγκέντρωσης – χρόνου στο Παράρτημα I, όπου φαίνεται η αδυναμία της $AUC_{T_{max,R}}$ να αντανakλά τις διαφορές στην αρχική έκθεση για τα ορισμένα αυτά σκευάσματα. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, καθώς η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, ειδικά της $AUC_{T_{max,R}}$ στο να αντανakλούν διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου φαίνεται να μην διαφοροποιείται ουσιαστικά ανάλογα με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} και μάλιστα αυτές φαίνεται να καθίστανται ελάχιστα πιο ευαίσθητες όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$.

Όσον αφορά τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$, όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ υπάρχει συνολικά in vitro-in vivo ασυμφωνία, με τους δείκτες, ειδικά τους f_1 και f_2 να προβλέπουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση που υφίστανται λόγω των τιμών των παραμέτρων για τα σκευάσματα περίπου με $k_{aT}/k_{aR} > 1.4$, ενώ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, και σε μεγαλύτερο βαθμό η C_{max} , αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν αυτές τις διαφορές. Αντίθετα, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ στην πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία με βάση την $AUC_{T_{max,R}}$, όπου αυτή φαίνεται να αντανakλά τις διαφορές που υπάρχουν στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, όπως αυτό προβλέπεται

και από τους δείκτες, ειδικά τους f_1 και f_2 , κάτι που όμως δεν καταφέρνει πάντα η C_{max} . Παράλληλα, όλοι οι δείκτες και κυρίως οι ξ_1 και ξ_2 φαίνονται να αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν διαφορές στην αρχική έκθεση για σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 1.67$. Σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, ειδικά η $AUC_{Tmax,R}$, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ καταφέρνουν να ανιχνεύσουν καλύτερα τις διαφορές στην αρχική έκθεση.

3.1.3.4 In vitro-in vivo συσχετίσεις A4(1-4): $u_R = u_T = 1$

Αναφορικά με την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, συνολικά παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία. Ασυμφωνία συνολικά παρατηρείται όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$, όπου οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, ιδίως η C_{max} , δεν καταφέρνουν να προβλέψουν τις διαφορές που υπάρχουν στην αρχική έκθεση, ενώ αυτές προβλέπονται από τους δείκτες. Παράλληλα, οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ φαίνεται ότι αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση για κάποια λίγα σκευάσματα με $0.67 < k_{aT}/k_{aR} < 0.75$ και $1.3 < k_{aT}/k_{aR} < 1.67$, όπως αυτές αντανακλώνται με βάση την $AUC_{Tmax,R}$. Συνολικά, λοιπόν, η ευαισθησία των παραμέτρων να αντανακλούν διαφορές στην αρχική έκθεση είναι αυξημένη όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ (φαινόμενο “flip-flop”), με την αύξηση αυτή να είναι πιο έντονη στην περίπτωση της παραμέτρου C_{max} , που συνολικά είναι λιγότερο ευαίσθητη. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας της Σ. Περικλέους¹⁰⁴.

3.1.3.5 In vitro-in vivo συσχετίσεις A5(1-4): $u_R = 1, u_T = 1.5$

Για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, τόσο όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ όσο και όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$, παρατηρείται συνολικά in vitro-in vivo συμφωνία κυρίως με βάση την $AUC_{Tmax,R}$, αφού φαίνεται ότι η C_{max} αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου (περίπου για τα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$), κάτι που όμως κυρίως οι δείκτες f_1 και f_2 καταφέρνουν να προβλέψουν. Επιπλέον, για ορισμένα σκευάσματα με $0.5 < k_{aT}/k_{aR} < 0.76$ όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ φαίνεται η αδυναμία των δεικτών, ειδικά των ξ_1 και ξ_2 , να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου. Σε αυτές τις περιπτώσεις υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο όσον αφορά την

ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων και η $AUC_{T_{max,R}}$, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ καταφέρνει να ανιχνεύσει καλύτερα τις διαφορές στην αρχική έκθεση.

Όσον αφορά τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$, όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ υπάρχει σε γενικές γραμμές in vitro-in vivo συμφωνία μόνο με βάση την $AUC_{T_{max,R}}$, με εξαίρεση μόνο κάποια σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 1.4$, όπου η $AUC_{T_{max,R}}$ δεν καταφέρνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου που αναμένονται να υπάρχουν με βάση τις τιμές των παραμέτρων, ενώ η C_{max} , κυρίως για $k_{aR}/k_{el} = 6$, αποτυγχάνει οριακά να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, κάτι που όμως κυρίως οι δείκτες f_1 και f_2 καταφέρνουν να προβλέψουν. Αντίθετα, όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία με βάση την C_{max} , αφού η $AUC_{T_{max,R}}$ φαίνεται ότι για σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 1.5$ δεν αντανακλά τις διαφορές που φαίνεται να υπάρχουν στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, ενώ αυτές καταφέρνουν να ανιχνευθούν από τους δείκτες f_1 και f_2 , και κυρίως τον f_1 . Σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρείται ασυμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και η C_{max} φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη στο να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση, καθώς η ευαισθησία της παραμέτρου $AUC_{T_{max,R}}$ στο να αντανακλά αυτές τις διαφορές φαίνεται να μην διαφοροποιείται ουσιαστικά ανάλογα με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} και μάλιστα αυτή φαίνεται να καθίστανται σε ορισμένες περιπτώσεις ελάχιστα πιο ευαίσθητη όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$.

3.1.3.6 In vitro-in vivo συσχετίσεις A6(1-4): $u_R = 1$, $u_T = 2$

Για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$ υπάρχει συνολικά in vitro-in vivo ασυμφωνία, καθώς λόγω των τιμών των παραμέτρων φαίνεται να υπάρχει διαφορά στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, κάτι που δεν φαίνεται συνολικά από τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους, (με εξαίρεση την C_{max} όταν $k_{aR}/k_{el} = 3$ για κάποια σκευάσματα με παραπλήσιες τιμές k_{aT} και k_{aR}) αλλά φαίνεται από τους δείκτες, κυρίως τους f_1 και f_2 . Όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ υπάρχει in vitro-in vivo συμφωνία κυρίως με βάση την C_{max} , αφού η $AUC_{T_{max,R}}$ φαίνεται ότι δεν μπορεί να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου (περίπου για σκευάσματα με $0.75 < k_{aT}/k_{aR} < 1$), κάτι που όλοι οι δείκτες, εκτός των ελαστικών $\xi_{1,ref85}$ και $\xi_{2,ref85}$, με τον ξ_2 να είναι πιο ελαστικός από τον ξ_1 , καταφέρνουν να προβλέψουν. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, καθώς αν και οι

φαρμακοκινητικές παράμετροι καθίστανται πιο ευαίσθητες όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$, είναι εμφανής η αδυναμία της φαρμακοκινητικής παραμέτρου $AUC_{Tmax,R}$, στο να αντανakλά διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου.

Για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$, τόσο για $k_{aR}/k_{el} > 1$ όσο και για $k_{aR}/k_{el} < 1$ υπάρχει συνολικά in vitro-in vivo συμφωνία με βάση την C_{max} , με τους δείκτες, ειδικά τους f_1 και f_2 να προβλέπουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση όπως αυτές φαίνεται να υφίστανται, ενώ η $AUC_{Tmax,R}$ αποτυγχάνει να τις ανιχνεύσει, ειδικά στην περίπτωση που $k_{aR}/k_{el} < 1$. Σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρείται ασυμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και η C_{max} καταφέρνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση συνολικά καλύτερα από την $AUC_{Tmax,R}$, της οποίας η ευαισθησία στο να αντανakλά αυτές τις διαφορές, ειδικά όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$, είναι χαμηλή.

3.1.3.7 In vitro-in vivo συσχετίσεις A7(1-4): $u_R = 1$, $u_T = 5$

In vitro-in vivo συμφωνία υπάρχει μόνο με βάση την C_{max} , η οποία καταφέρνει σε όλες τις περιπτώσεις να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση που λόγω των τιμών των παραμέτρων φαίνεται να υπάρχουν, κάτι που προβλέπεται και από όλους τους δείκτες. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρούνται σχεδόν ίδιες διαφορές από σκεύασμα σε σκεύασμα, κάτι που αναμένεται καθώς όλα τα σκευάσματα υπό έλεγχο φαίνεται να έχουν την ίδια περίπου μεγάλη διαφορά σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς. Αντίθετα, η $AUC_{Tmax,R}$ αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις υφιστάμενες αυτές διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, ειδικά όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ και $k_{aT} > k_{aR}$, όπως αυτό είναι εμφανές και στο σχήμα 3.15. Συνολικά, λοιπόν, δεν παρατηρείται συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και η C_{max} είναι πιο αποτελεσματική στο να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου σε σχέση με την $AUC_{Tmax,R}$, της οποίας μάλιστα η ευαισθησία όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ είναι χαμηλή. Εξαιρέση σε αυτό αποτελεί μόνο η περίπτωση με $k_{aR}/k_{el} = 0.5$ για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$ όπου η $AUC_{Tmax,R}$ καταφέρνει να ανιχνεύσει τις διαφορές.

Συμπερασματικά με βάση όλες τις προσομοιώσεις A, η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάματος υπό έλεγχο, u_T σε σχέση με αυτή του σκευάματος αναφοράς επηρεάζει αισθητά, τόσο την τιμή του λόγου των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, όσο και των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών και συνεπώς την

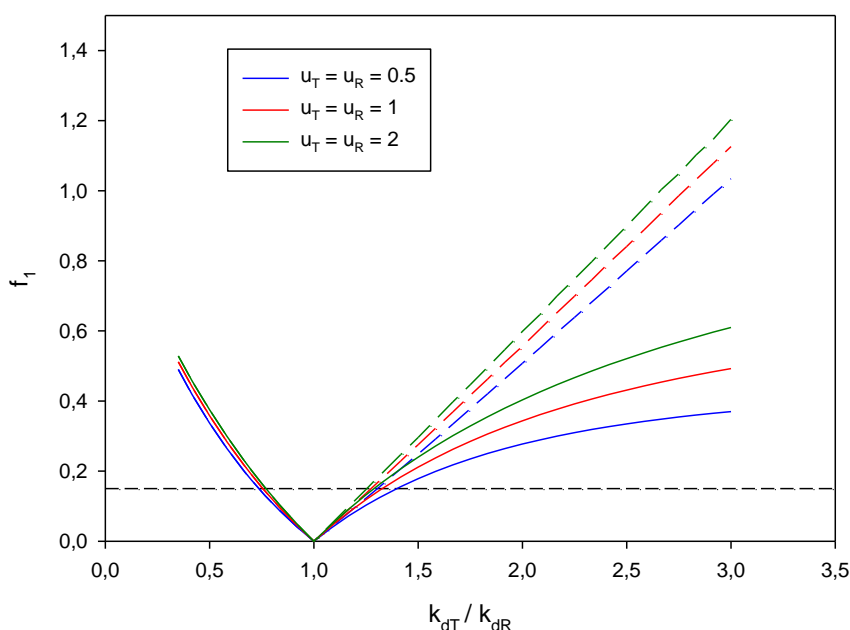
μεταξύ τους συσχέτιση. Συνοπτικά, όσον αφορά την συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, παρατηρείται ότι όταν $u_T < 1$, και συγκεκριμένα $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$ υπάρχει γενικά συμφωνία μόνο για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$, ενώ στην περίπτωση που η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει ακόμη περισσότερο από αυτή του σκευάσματος αναφοράς ($u_T = 0.2$) παρατηρούνται μεγαλύτερες αποκλίσεις. Στις περιπτώσεις με $u_T > 1$ παρατηρείται μεγαλύτερη ασυμφωνία με τα αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου. Μόνο για $u_T = 1.5$ όταν $k_{aT} < k_{aR}$ υπάρχει συμφωνία. Έτσι όταν η κινητική εισόδου του σκευάσματος υπό έλεγχο στην γενική κυκλοφορία είναι διαφορετική σε σχέση με την πρωτοταξική κινητική εισόδου του σκευάσματος αναφοράς, τα αποτελέσματα που προκύπτουν δεν μπορούν να γενικευθούν ενιαία και εξαρτώνται από την εκάστοτε παράμετρο σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο. Για τον λόγο αυτό, στην προσομοίωση B εξετάζεται η περίπτωση που και τα δύο σκευάσματα, το σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς, έχουν την ίδια τιμή της παράμετρο σχήματος και μεταβάλλεται μόνο η τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης/απορρόφησης του σκευάσματος υπό έλεγχο.

3.2 Προσομοιώσεις B

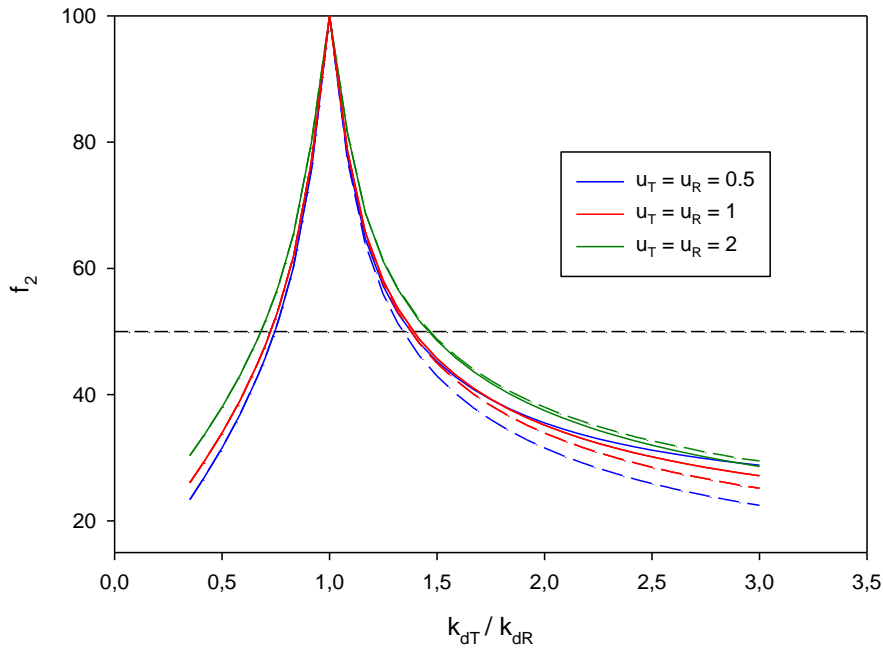
Στο Παράρτημα III παρουσιάζονται, για κάθε εξεταζόμενη τιμή της παραμέτρου σχήματος u της συνάρτησης Weibull, οι προσομοιωμένες *in vitro* αθροιστικές καμπύλες διάλυσης, καθώς και οι αντίστοιχες προσομοιωμένες *in vivo* καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο για τις τέσσερις τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} που επιλέχθηκαν.

3.2.1 Προσομοιώσεις *in vitro* δεδομένων: B1 και B2

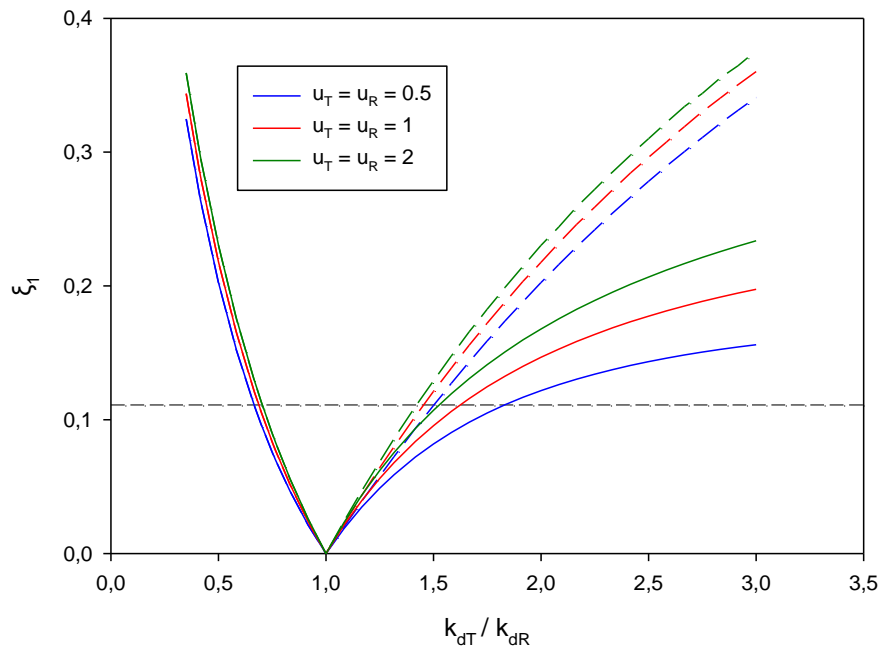
Στα σχήματα 3.18 - 3.21 παρουσιάζονται αντίστοιχα οι δείκτες άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών διάλυσης f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 , οι οποίοι υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα *in vitro* αθροιστικά δεδομένα διάλυσης για τις δύο τιμές της παραμέτρου σχήματος της συνάρτησης Weibull που επιλέχθηκαν (προσομοίωση B1, $u = 0.5$ και προσομοίωση B2, $u = 2$), σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Όλοι οι δείκτες υπολογίστηκαν μέχρι δύο χρόνους αποκοπής, *ref85* και *fast85*. Επιπλέον, στα σχήματα αυτά παρουσιάζονται για λόγους σύγκρισης τα αντίστοιχα διαγράμματα για $u_R = u_T = 1$.



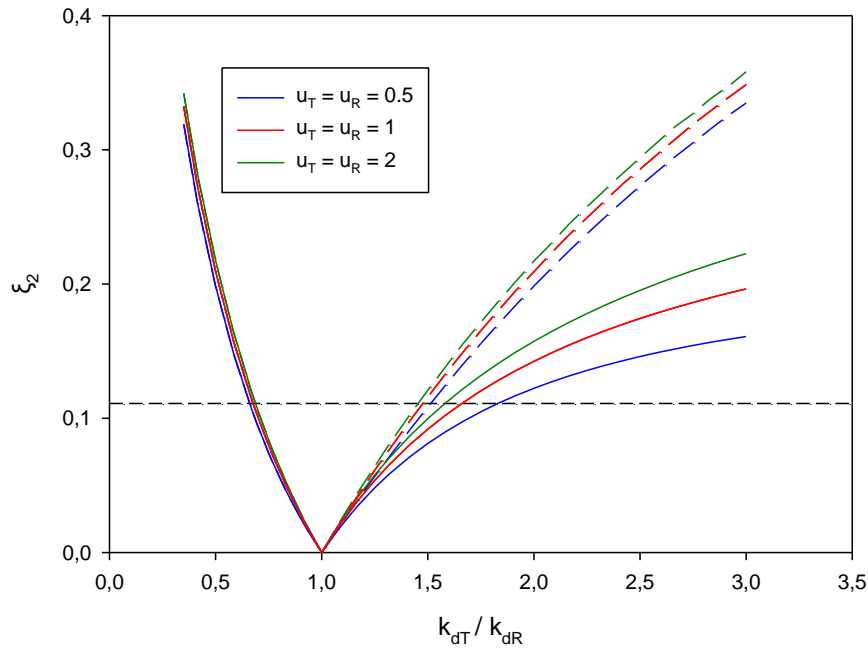
Σχήμα 3.18: Ο δείκτης f_1 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{1fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.



Σχήμα 3.19: Ο δείκτης f_2 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{2ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{2fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.

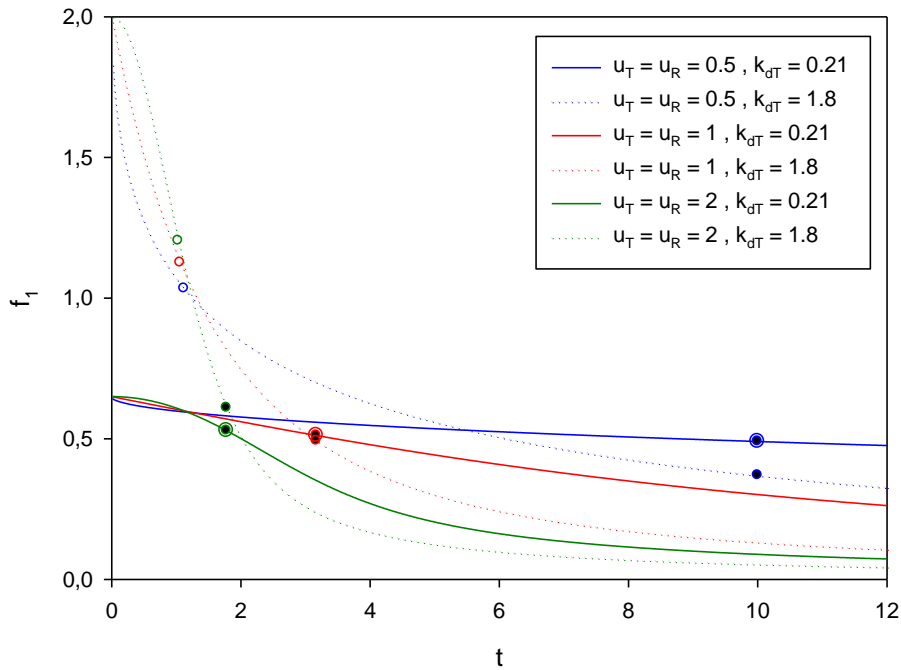


Σχήμα 3.20: Ο δείκτης ξ_1 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: ξ_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $\xi_{1fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.

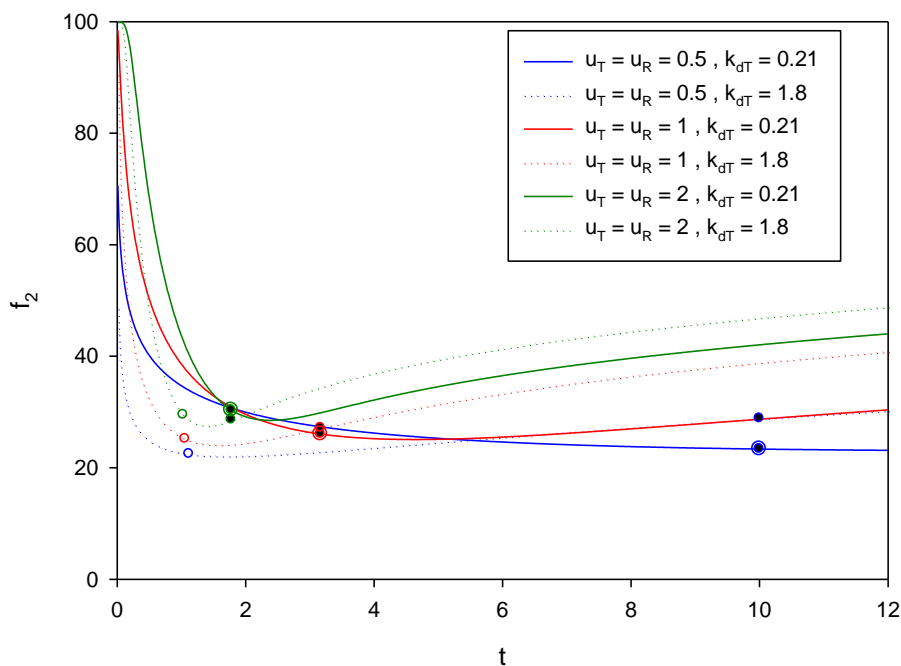


Σχήμα 3.21: Οι δείκτης ξ_2 που υπολογίζεται από *in vitro* δεδομένα διάλυσης για διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{dT}/k_{dR} . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: ξ_{2ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $\xi_{2fast85}$. ----- όριο δείκτη για ομοιότητα καμπυλών.

Σύμφωνα με τα σχήματα 3.18 – 3.21, οι δείκτες φαίνεται να είναι συνολικά πιο ευαίσθητοι στο να αντανakλούν διαφορές του λόγου k_{dT}/k_{dR} όταν $u_R = u_T = 2$ από ότι όταν $u_R = u_T = 0.5$, με εξαίρεση τον δείκτη f_2 , του οποίου η ευαισθησία για $u_R = u_T = 0.5$ είναι μεγαλύτερη. Επιπλέον, για τα σκευάσματα με $k_{dT} < k_{dR}$ η ευαισθησία των δεικτών f_1 , ξ_1 και ξ_2 είναι παραπλήσια και σχεδόν ανεξάρτητη από την τιμή της παραμέτρου σχήματος. Τα παραπάνω αποτελέσματα αναφορικά με τους δείκτες f_1 και f_2 δικαιολογούνται βλέποντας τα σχήματα 3.22 και 3.23, στα οποία απεικονίζεται η χρονική μεταβολή των δεικτών f_1 και f_2 για δύο σκευάσματα υπό έλεγχο που έχουν επιλεγθεί με $k_{dT} = 0.21$ και $k_{dT} = 1.8$ σε σχέση με το σκευάσμα αναφοράς.



Σχήμα 3.22: Χρονική μεταβολή του δείκτη f_1 για τις διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u και δύο σκευάσματα υπό έλεγχο ανά παράμετρο σχήματος. Κλειστός κύκλος: f_{1ref85} . Ανοιχτός κύκλος : $f_{1fast85}$.



Σχήμα 3.23: Χρονική μεταβολή του δείκτη f_2 για τις διάφορες τιμές της παραμέτρου σχήματος u και δύο σκευάσματα υπό έλεγχο ανά παράμετρο σχήματος. Κλειστός κύκλος: f_{2ref85} . Ανοιχτός κύκλος: $f_{2fast85}$.

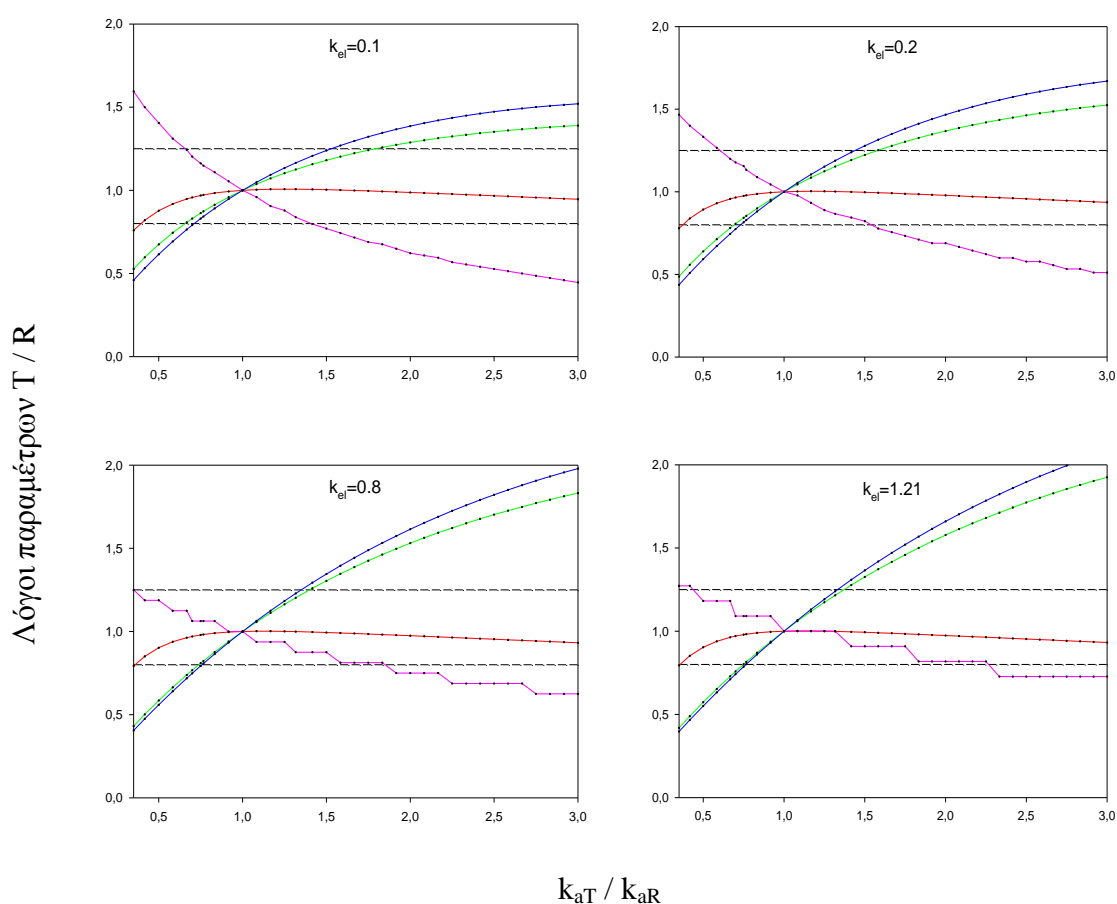
Όσον αφορά την ευαισθησία των δεικτών αναφορικά με το σημείο αποκοπής, όταν το σκεύασμα υπό έλεγχο είναι πιο αργό σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς οι υπολογισμοί σε fast85 και ref85 ταυτίζονται, αφού πάντα το σκεύασμα αναφοράς θα είναι το ταχύτερα διαλυόμενο. Όταν, όμως, το σκεύασμα υπό έλεγχο είναι ταχύτερο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς, παρατηρείται μεγαλύτερη ευαισθησία όταν ο υπολογισμός των δεικτών γίνεται με βάση το fast85, όπως στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, με εξαίρεση τον δείκτη f_2 όπου η ευαισθησία σε χρόνο αποκοπής ref85 όταν $u_R = u_T = 2$ είναι ελάχιστα μεγαλύτερη σε σχέση με αυτήν για fast85. Σε αυτή την περίπτωση, όπως φαίνεται και στο σχήμα 3.23, οι χρόνοι αποκοπής fast85 και ref85 δεν διαφέρουν πολύ μεταξύ τους και μάλιστα βρίσκονται γύρω από το σημείο όπου ο δείκτης f_2 παίρνει την ελάχιστη τιμή του.

Σε όλες τις προσομοιώσεις, πιο αυστηροί εμφανίζονται οι δείκτες f_1 και f_2 και πιο ελαστικοί, οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 . Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που αφορούν την περίπτωση της πρωτοταξικής κινητικής^{93,104}.

3.2.2 Προσομοιώσεις in vivo δεδομένων: B1(1-4) και B2(1-4)

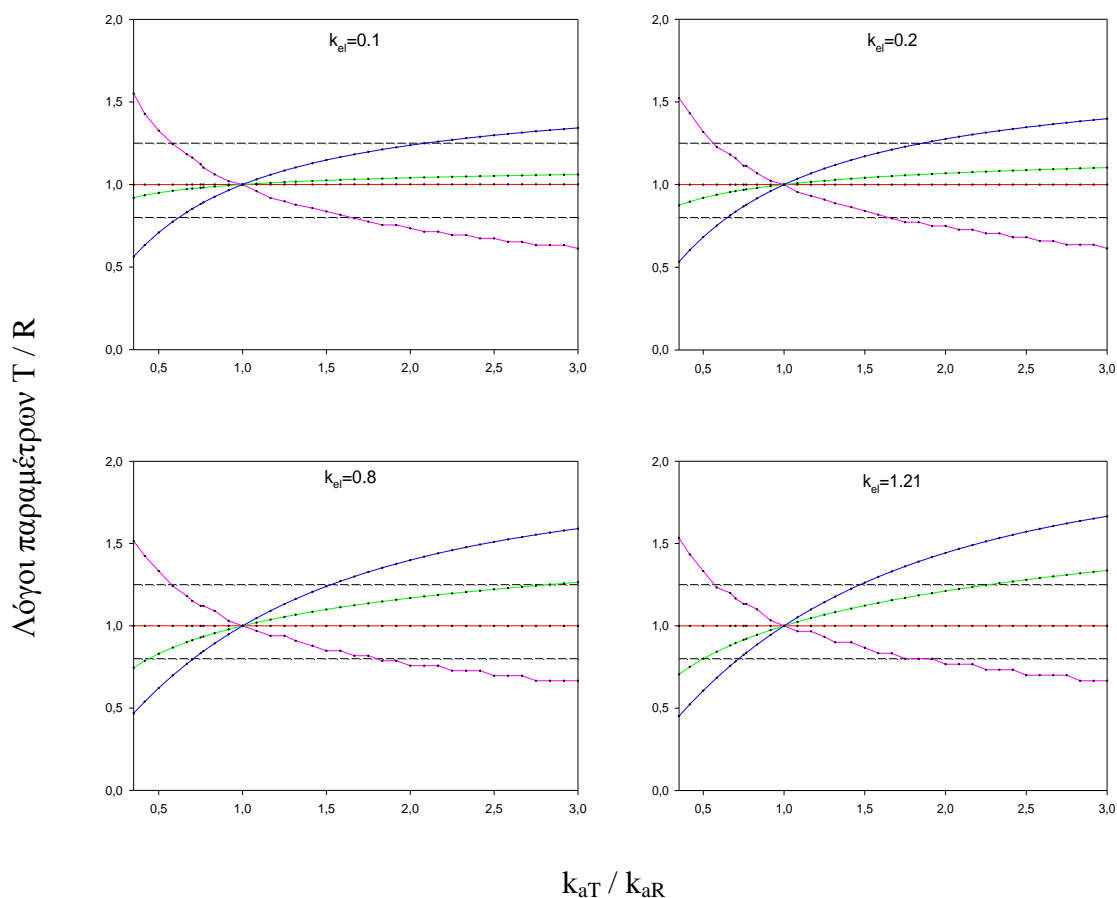
Στα σχήματα 3.24 και 3.25 παρουσιάζονται οι λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} , T_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} . Συγκεκριμένα, κάθε σχήμα αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη τιμή της παραμέτρου σχήματος u και στα τέσσερα γραφήματα που το απαρτίζουν εξετάζεται πως μεταβάλλονται οι φαρμακοκινητικές παράμετροι ανάλογα με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} .

3.2.2.1 Προσομοιώσεις B1(1-4): $u_R = u_T = 0.5$



Σχήμα 3.24: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u = 0.5$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

3.2.2.2 Προσομοιώσεις B2(1-4): $u_R = u_T = 2$



Σχήμα 3.25: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που υπολογίζονται από *in vivo* δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με τις τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} με $u = 2$ για διάφορες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . (— AUC , — C_{max} , — $AUC_{Tmax,R}$, — T_{max} , ---- όρια βιοϊσοδυναμίας).

Όπως φαίνεται στα σχήματα 3.24 και 3.25, η ευαισθησία του λόγου των φαρμακοκινητικών παραμέτρων εξαρτάται από την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} . Συγκεκριμένα, η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ αυξάνεται με την αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , και συνεπώς με τη μείωση του λόγου k_{aR}/k_{el} , με την $AUC_{Tmax,R}$ να είναι πιο ευαίσθητη φαρμακοκινητική παράμετρος σε σχέση με την C_{max} στο να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση. Όσον αφορά τη κινητική ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, δηλαδή τη μεταβολή του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ σε σχέση μόνο με τη μεταβολή

του λόγου k_{aT}/k_{aR} , αυτή φαίνεται να είναι μεγαλύτερη όταν το σκεύασμα υπό έλεγχο είναι πιο αργό σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν πλήρως με τα αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου^{93,104}.

Η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ φαίνεται να είναι μεγαλύτερη όταν $u_R = u_T = 0.5$. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί βλέποντας τις καμπύλες συγκέντρωσης-χρόνου στο Παράρτημα III: όταν $u_R = u_T = 0.5$, οι καμπύλες συγκέντρωσης-χρόνου των διαφόρων σκευασμάτων υπό έλεγχο στο αρχικό τμήμα τους είναι πιο «απομακρυσμένες» η μια από την άλλη και έτσι οι διαφορές που παρατηρούνται από σκεύασμα σε σκεύασμα, σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς, είναι μεγαλύτερες. Όσον αφορά την παράμετρο T_{max} , για $u_R = u_T = 2$ αυτή καταφέρει να ανιχνεύσει συνολικά καλύτερα τις in vivo διαφορές στην αρχική έκθεση σε σχέση με την C_{max} και παρόμοια ή ελαφρώς καλύτερη σε σχέση με την $AUC_{Tmax,R}$ όταν $k_{aR} > k_{el}$ για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$.

Για $u_R = u_T = 0.5$ παρατηρείται επίσης το παράδοξο ότι ενώ δεν μεταβάλλεται η έκταση της απορρόφησης οι λόγοι T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου AUC δεν παραμένουν σταθεροί και ίσοι με την μονάδα. Αυτό οφείλεται αφενός στο ότι λόγω της αργής διάλυσης ειδικά για τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$, η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα στον οριζόμενο χρόνο $t_{last} = 48$ δεν τείνει στο μηδέν, με αποτέλεσμα να μην λαμβάνεται υπόψη η συνολική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου και αφετέρου στο βήμα χρόνου (step) της προσομοίωσης. Πιο συγκεκριμένα, όπως στην περίπτωση των προσομοιώσεων A, έτσι και σε αυτή την περίπτωση το βήμα χρόνου κατά τη διαδικασία της συνέλιξης επηρεάζει τη τιμή της AUC, αλλά και των υπόλοιπων φαρμακοκινητικών παραμέτρων, ειδικά στις μεγάλες τιμές του λόγου k_{aT}/k_{aR} , καθώς πιο μικρό βήμα χρόνου θα δώσει μεγαλύτερη σημασία στον αρχικό ρυθμό εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία και έτσι θα προκύψουν μεγαλύτερες τιμές της συγκέντρωσης και συνεπώς μεγαλύτερες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Σε αυτές τις προσομοιώσεις χρησιμοποιήθηκε το ίδιο βήμα χρόνου με τις προσομοιώσεις A, ώστε αυτό να μπορεί να εξασφαλίζει ρεαλιστικές συνθήκες δειγματοληψίας σε ικανοποιητικό υπολογιστικό χρόνο με την καλύτερη δυνατή ακρίβεια.

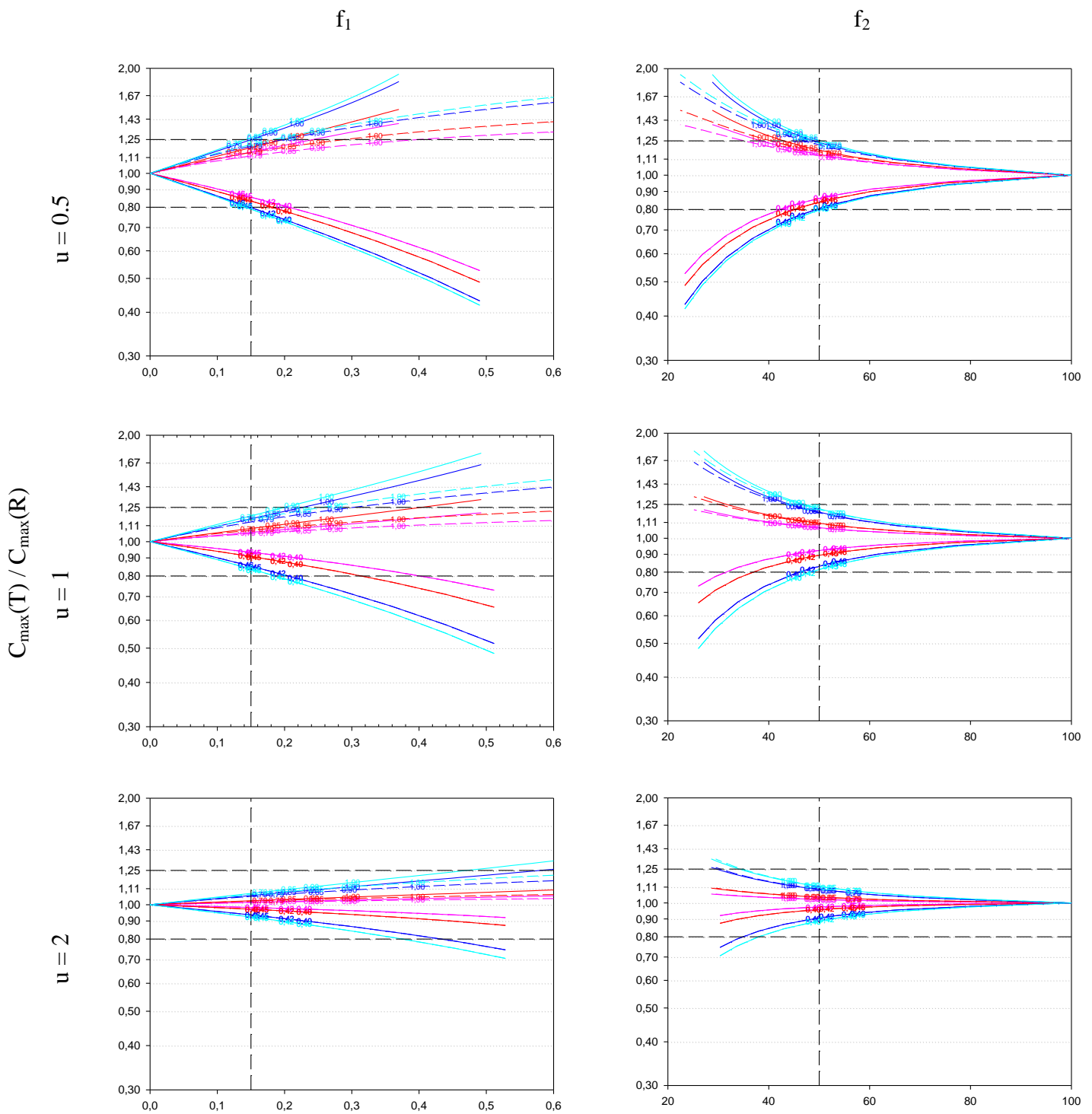
3.2.3 In vitro-in vivo συσχετίσεις: B1(1-4) και B2(1-4)

Στο Παράρτημα IV απεικονίζονται για τις δύο τιμές της παραμέτρου σχήματος που επιλέχθηκαν (προσομοίωση B1, $u = 0.5$ και προσομοίωση B2, $u = 2$) οι συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης. Ειδικότερα, για κάθε τιμή της παραμέτρου σχήματος, παρουσιάζονται τέσσερα σχήματα: Στα δύο πρώτα παρουσιάζονται οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου C_{max} και στα άλλα δύο οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου $AUC_{T_{max},R}$. Σε κάθε σχήμα φαίνεται για κάθε εξεταζόμενο σκεύασμα υπό έλεγχο η επίδραση της τιμής της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} στη τιμή του λόγου T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, όταν δεν μεταβάλλεται ο ρυθμός εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία.

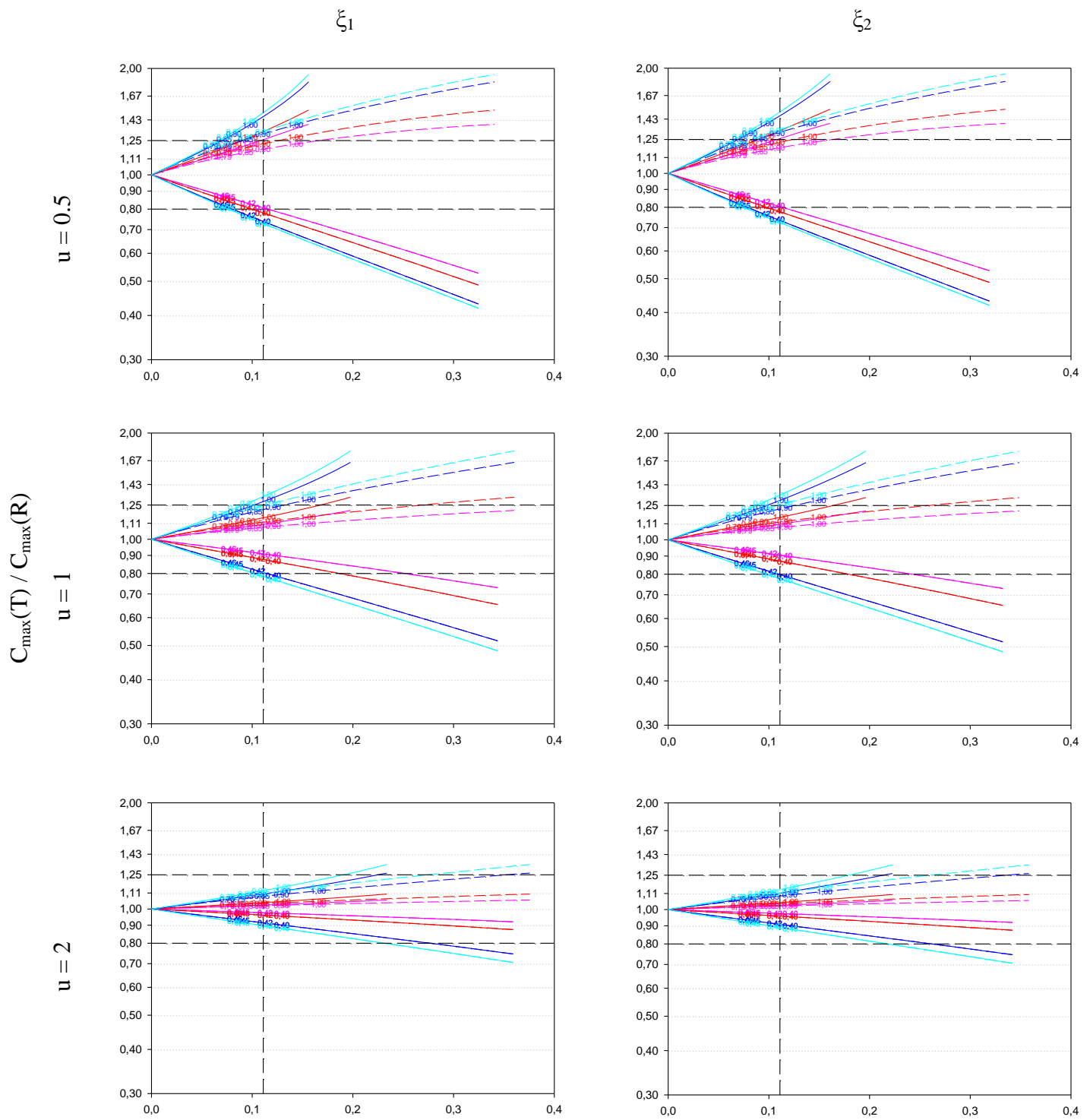
Επίσης, πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} απεικονίζονται οι ίδιοι με την περίπτωση των προσομοιώσεων A αριθμοί – σύμβολα, οι οποίοι αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων που προκύπτουν για οκτώ ορισμένες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης k_{aT} . Συγκεκριμένα, υπενθυμίζεται ότι για πρωτοταξική κινητική οι τιμές αυτές αποδίδουν τιμές που βρίσκονται κοντά στα όρια τόσο ομοιότητας των in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες άμεσης σύγκρισης όσο και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ ¹⁰⁴. Συνεπώς, οι τιμές αυτές εμφανίζονται ως ιδιαίτερα βοηθητικές ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση με την περίπτωση της πρωτοταξικής κινητικής και να φανεί πως επηρεάζεται η συσχέτιση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων με τους δείκτες όταν αλλάζει η κινητική και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος, u . Στα σχήματα αυτά φαίνεται πώς για τις ειδικές αυτές περιπτώσεις συσχετίσεων, όπως και στις προσομοιώσεις A, έτσι και εδώ τα σκευάσματα με $k_{aT} < k_{aR}$ αντιστοιχούν στις συσχετίσεις που παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές των λόγων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων.

Οι παραπάνω συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 παρουσιάζονται αντίστοιχα συγκεντρωτικά και σε σμίκρυνση στα σχήματα 3.26 - 3.29 ώστε να υποβοηθηθεί η συγκριτική μελέτη τους, τόσο μεταξύ δεικτών για την ίδια κινητική (u), όσο και ανά δείκτη για ορισμένη τιμή της παραμέτρου σχήματος, u. Αναλυτικότερα, στα σχήματα 3.26 και 3.27 παρουσιάζονται οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου C_{max} και στα σχήματα 3.28 και 3.29 οι συσχετίσεις των δεικτών (f_1 και f_2 , ξ_1 και ξ_2) με τις τιμές των λόγων T/R της φαρμακοκινητικής παραμέτρου $AUC_{T_{max,R}}$. Για λόγους σύγκρισης στα σχήματα αυτά φαίνονται επίσης οι συσχετίσεις που προέκυψαν κατά τις προσομοιώσεις A και αφορούν την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου ($u_R = u_T = 1$). Και σε αυτή την περίπτωση ενώ μελετάται η ευαισθησία της φαρμακοκινητικής παραμέτρου T_{max} , δεν εξετάζονται περαιτέρω οι συσχετίσεις της T_{max} με τους δείκτες, καθώς αυτή αποτελεί μια διακριτή μεταβλητή και σύμφωνα με τον FDA δεν αξιολογείται περαιτέρω στατιστικά²⁵.

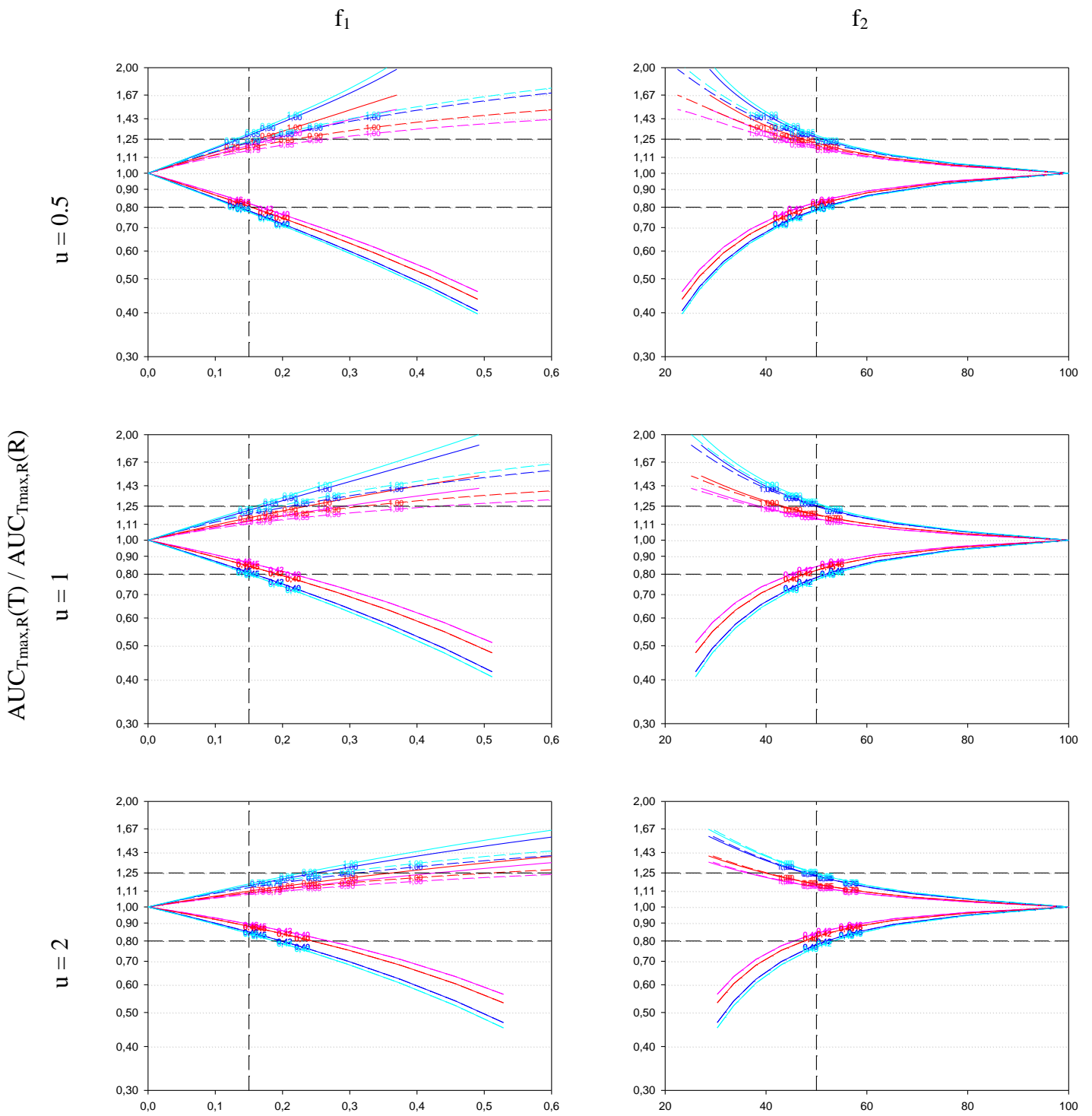
Με βάση τα σχήματα του Παραρτήματος IV καθώς και τα συγκεντρωτικά σχήματα 3.26 – 3.29, φαίνεται η διαφοροποίηση των καμπυλών IVIVC, όπως και στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου διάλυσης και εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία, τόσο ανάλογα με τη φαρμακοκινητική παράμετρο (C_{max} , $AUC_{T_{max,R}}$) όσο και ανάλογα με την τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , έστω και αν, για τις τέσσερις περιπτώσεις k_{aR}/k_{el} που μελετήθηκαν, η είσοδος του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία δεν μεταβάλλεται. Παρατηρείται ότι σε αυτή την περίπτωση, τόσο οι διαφορετικές καμπύλες που αντιστοιχούν σε διαφορετικές τιμές της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} όσο και οι ειδικές περιπτώσεις των IVIVC, φαίνεται να μην "μετακινούνται" σημαντικά (όσον αφορά τη γενική τους τάση) σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο, δεδομένου ότι αφενός οι τιμές των παραμέτρων k_{aT} , k_{aR} και k_{el} που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι ίδιες και αφετέρου τα σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς έχουν την ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος. Δηλαδή, παρατηρώντας τις συσχετίσεις που προκύπτουν για τις τιμές των ειδικών περιπτώσεων, διαπιστώνεται ότι αυτές βρίσκονται περίπου συμμετρικά και κατά περίπτωση σχετικά κοντά στα όρια ομοιότητας των in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 , ξ_2 και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$, όπως επιλέχθηκαν για το πρωτοταξικό μοντέλο.



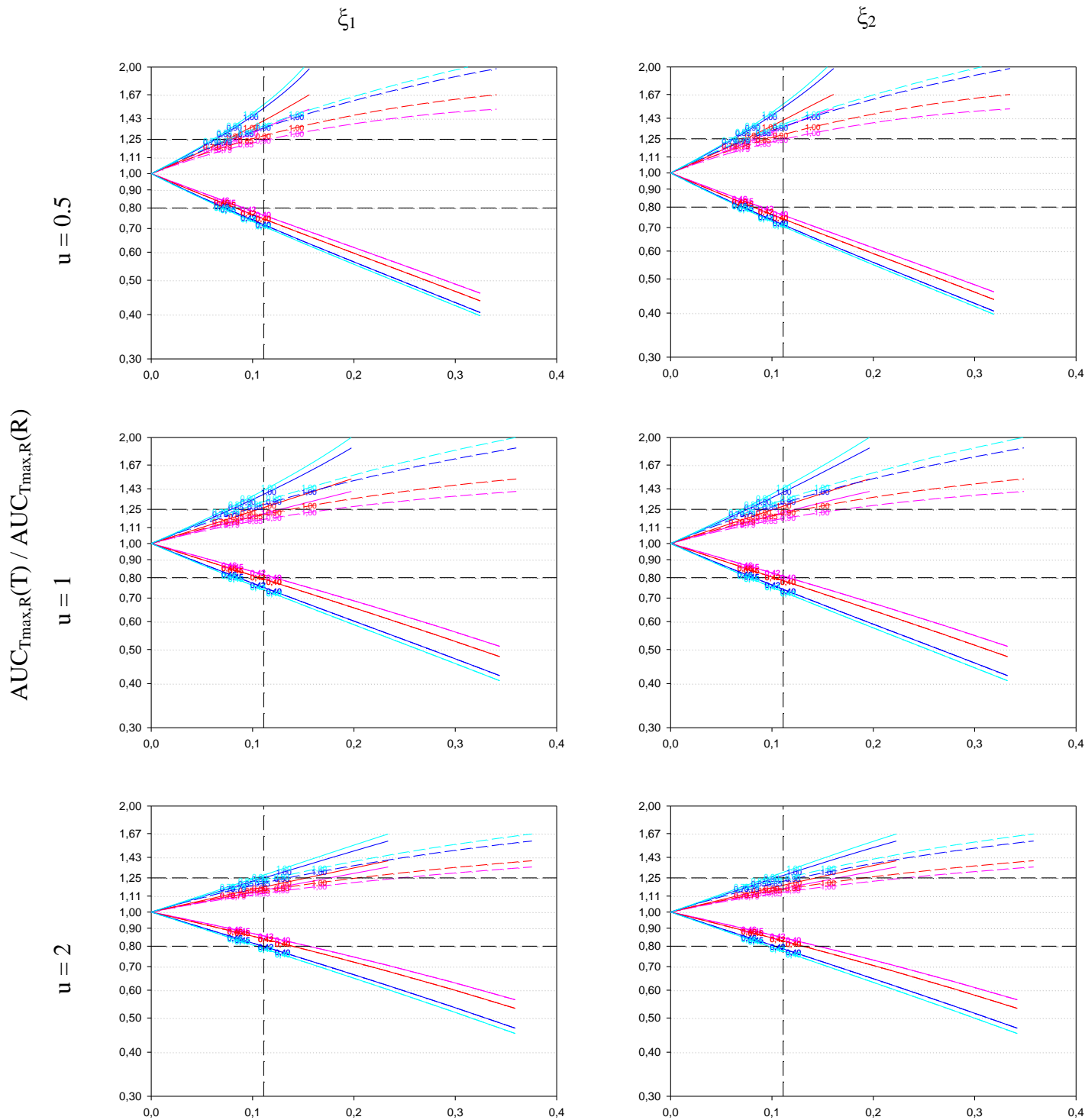
Σχήμα 3.26: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R της C_{\max} σε σχέση με τους δείκτες f_1 και f_2 , $k_{aR}=0.6$, $u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. ---- όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).



Σχήμα 3.27: In vitro – in vivo συσχετίσεις: Λόγοι T/R της C_{\max} σε σχέση με τους δείκτες ξ_1 και ξ_2 . $k_{aR}=0.6$, $u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. ---- όρια ομοιότητας in vitro καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).



Σχήμα 3.28: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R της παραμέτρου $AUC_{T_{max,R}}$ σε σχέση με τους δείκτες f_1 και f_2 . $k_{aR}=0.6, u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. ----όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).



Σχήμα 3.29: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R της παραμέτρου $AUC_{T_{max,R}}$ σε σχέση με τους δείκτες ξ_1 και ξ_2 . $k_{aR}=0.6, u_R=1$ — $k_{el}=0.1(k_{aR}/k_{el}=6)$ — $k_{el}=0.2(k_{aR}/k_{el}=3)$ — $k_{el}=0.8(k_{aR}/k_{el}=0.75)$ — $k_{el}=1.21(k_{aR}/k_{el}=0.5)$. Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. ----όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων για ορισμένες τιμές k_{aT} (βλέπε επεξήγηση στο κείμενο).

3.2.3.1 In vitro-in vivo συσχετίσεις B1(1-4) : $u_R = u_T = 0.5$

Στην περίπτωση αυτή, όπου το σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς έχουν την ίδια τιμή παραμέτρου σχήματος $u_R = u_T = 0.5$, παρατηρείται ότι η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων αυξάνεται με την αύξηση της τιμής της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , και συνεπώς με τη μείωση του λόγου k_{aR}/k_{el} . Η αύξηση αυτή είναι πιο έντονη στην περίπτωση της παραμέτρου C_{max} , που συνολικά είναι λιγότερο ευαίσθητη. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί πλήρως με τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών για την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, όπου όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ (φαινόμενο “flip-flop”) οι in vivo παράμετροι είναι πιο ευαίσθητες^{93,104}.

Ειδικότερα, φαίνεται πως συνολικά οι φαρμακοκινητικές παράμετροι είναι ελάχιστα πιο ευαίσθητες σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο. Ως αποτέλεσμα, ενώ συνολικά παρατηρείται in vitro-in vivo συμφωνία, ασυμφωνία παρατηρείται μόνο για σκευάσματα με $0.67 < k_{aT}/k_{aR} < 0.75$ και $1.3 < k_{aT}/k_{aR} < 1.67$. Πιο συγκεκριμένα, οι ελαστικοί δείκτες ξ_1 και ξ_2 αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές που φαίνεται να υφίστανται in vivo και ανιχνεύονται τόσο με βάση την C_{max} όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ όσο και με βάση την $AUC_{Tmax,R}$ για όλες τις τιμές της σταθεράς του απομάκρυνσης. Επίσης, οι παράμετροι όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$, κυρίως η C_{max} , δεν καταφέρνουν να προβλέψουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ αυτές προβλέπονται από τους δείκτες, κυρίως τους δείκτες f_1 και f_2 . Συγκριτικά δηλαδή με το πρωτοταξικό μοντέλο, λόγω της μεγαλύτερης ευαισθησίας των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, σε αυτή την περίπτωση αυτές αποτυγχάνουν σε λιγότερες περιπτώσεις να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ οι ελαστικοί δείκτες ξ_1 και ξ_2 αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν τις in vivo υφιστάμενες διαφορές σε περισσότερες περιπτώσεις. Συμπερασματικά, υπάρχει σχετική συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο.

3.2.3.2 In vitro-in vivo συσχετίσεις B2(1-4) : $u_R = u_T = 2$

Στην περίπτωση αυτή, όπου το σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς έχουν την ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος $u_R = u_T = 2$ (σιγμοειδείς καμπύλες), παρατηρείται ότι η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων αυξάνεται με την αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , και συνεπώς με τη μείωση του

λόγου k_{aR}/k_{el} . Η αύξηση αυτή είναι πιο έντονη σε αυτή την περίπτωση από ότι όταν $u_R = u_T = 0.5$, ειδικότερα στην περίπτωση της παραμέτρου C_{max} , που συνολικά είναι λιγότερο ευαίσθητη. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, όπου όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ (φαινόμενο “flip-flop”) οι *in vivo* παράμετροι είναι πιο ευαίσθητες^{93,104}.

Συγκεκριμένα, φαίνεται όμως πως συνολικά οι φαρμακοκινητικές παράμετροι είναι λιγότερο ευαίσθητες σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο και σε σχέση με την περίπτωση $u_R = u_T = 0.5$. Επιπλέον, παρατηρείται ότι σε αυτήν την περίπτωση πιο ευαίσθητος είναι ο δείκτης f_1 και ακολουθούν με μικρές διαφορές σε φθίνουσα σειρά οι ξ_1, ξ_2 και f_2 . Η μικρότερη ευαισθησία του δείκτη f_2 μπορεί να δικαιολογηθεί από τα *in vitro* αποτελέσματα, όπου ο δείκτης f_2 φαίνεται ότι για $u_R = u_T = 2$ είχε χαμηλή ευαισθησία. Ως αποτέλεσμα, ασυμφωνία παρατηρείται για ορισμένα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$ και $k_{aT}/k_{aR} > 1.3$, όπου κυρίως η C_{max} δεν ανιχνεύει διαφορές στην αρχική έκθεση, οι οποίες όμως ανιχνεύονται από τους δείκτες, ειδικά τον $f_{1,fast85}$. Αυτό συμβαίνει και στην περίπτωση της $AUC_{Tmax,R}$ όμως πολύ λιγότερο και κυρίως όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$. Συγκριτικά δηλαδή με το πρωτοταξικό μοντέλο, λόγω της μικρότερης ευαισθησίας των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, κυρίως η C_{max} , στις περισσότερες περιπτώσεις δεν ανιχνεύει διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ κανένας δείκτης δεν αποτυγχάνει να ανιχνεύσει διαφορές. Δηλαδή οι δείκτες, και κυρίως f_1 , εμφανίζονται αυστηροί σε σχέση με το λόγο T/R της C_{max} . Πιο καλή συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο παρατηρείται μόνο στην περίπτωση της $AUC_{Tmax,R}$.

Συμπερασματικά με βάση τις προσομοιώσεις B, παρατηρείται ότι όταν το σκεύασμα υπό έλεγχο και το σκεύασμα αναφοράς διαφέρουν μόνο ως προς τη τιμή της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης συνολικά υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο. Ειδικότερα, μεγαλύτερη συμφωνία παρατηρείται όταν $u_R = u_T = 0.5$, καθώς όταν $u_R = u_T = 2$ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι και ιδίως η C_{max} καθίστανται λιγότερο ευαίσθητες σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο, με αποτέλεσμα για την πλειοψηφία των σκευασμάτων αυτές και ειδικά η C_{max} να μην δείχνουν διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου, και έτσι οι δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών να εμφανίζονται αυστηροί.

3.3 Προσομοιώσεις Γ

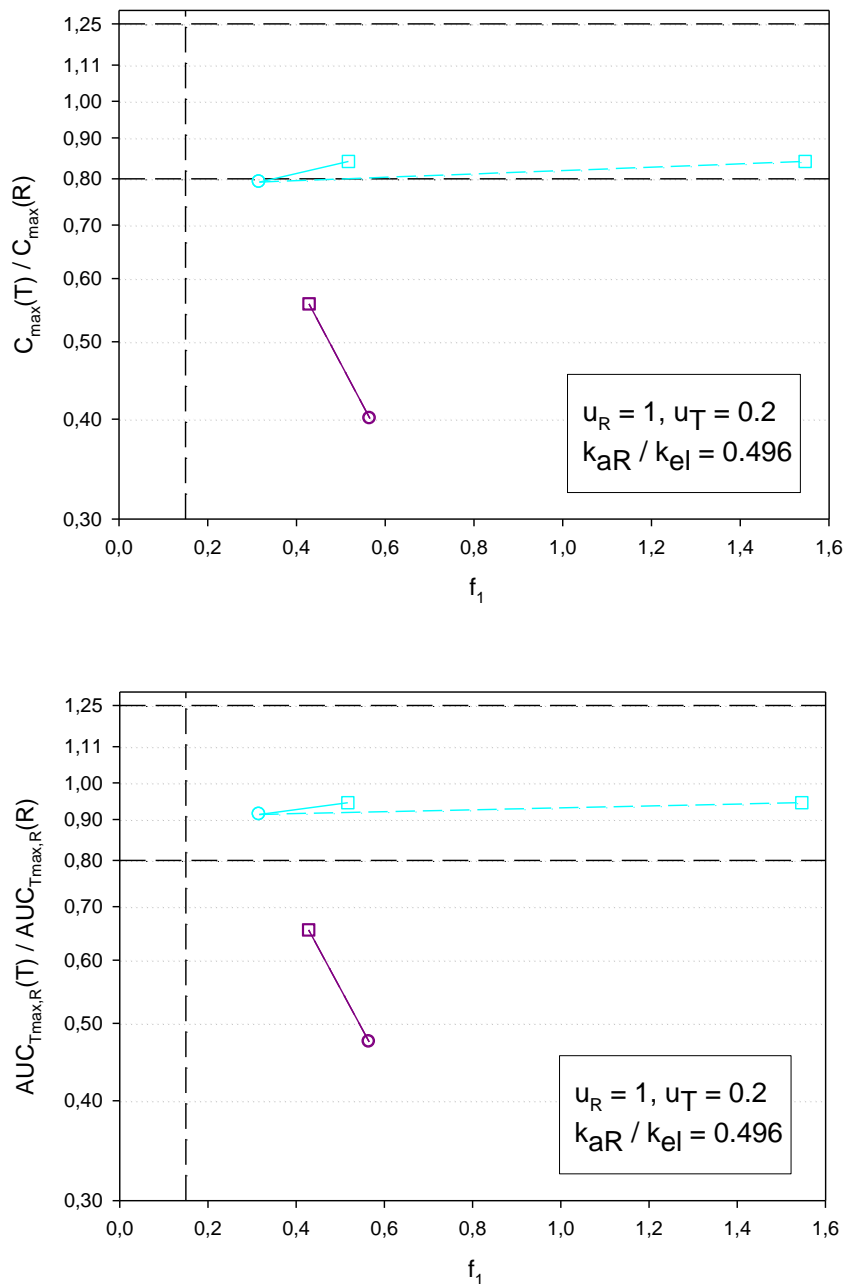
Η ομάδα των προσομοιώσεων αυτών έχει ως σκοπό να εξηγήσει περαιτέρω τα αποτελέσματα που παρατηρούνται για τις προσομοιώσεις Α. Έτσι, για κάθε μια από τις προσομοιώσεις Γ που μελετήθηκαν εξετάζεται κατά πόσο η τιμή τόσο των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών όσο και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων εξαρτάται πέρα από τις τιμές των λόγων και από τις απόλυτες τιμές των σταθερών ρυθμού διάλυσης/απορρόφησης και απομάκρυνσης του φαρμάκου από τον οργανισμό. Ιδιαίτερο έναυσμα για την περαιτέρω μελέτη αποτέλεσε αρχικά η μη αναμενόμενη συμπεριφορά που παρατηρείται κατά την προσομοίωση Α1 (προσομοίωση με $u_R = 1$, $u_T = 0.2$), όπου στις περιπτώσεις με $k_{aR}/k_{el} < 1$ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, και κυρίως η $AUC_{Tmax,R}$, έδιναν αποδεκτές τιμές βιοϊσοδυναμίας για ορισμένα σκευάσματα περίπου με $k_{aT}/k_{aR} > 2$. Υπενθυμίζεται πως αρχικά στις προσομοιώσεις αυτές επιλέγονται δύο διαφορετικές τιμές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης του σκευάσματος αναφοράς k_{aR} και της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , ώστε να διατηρείται σταθερός λόγος $k_{aR}/k_{el} = 0.496$. Στη συνέχεια, για κάθε έναν από τους δύο αυτούς συνδυασμούς k_{aR} και k_{el} εξετάζονται δύο διαφορετικοί σταθεροί λόγοι k_{aT}/k_{aR} με $k_{aT} > k_{aR}$ ($k_{aT}/k_{aR} = 2$ και 3 , προσομοίωση Γ1). Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται και για $u_T = 2$. Σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιούνται δύο προσομοιώσεις: Μία με ίδιους λόγους με την παραπάνω προσομοίωση [προσομοίωση Γ2(i)] και μια με λόγο $k_{aR}/k_{el} = 3$ και σταθερούς λόγους k_{aT}/k_{aR} όπου $k_{aT} < k_{aR}$ [$k_{aT}/k_{aR} = 0.5$ και 0.75 , προσομοίωση Γ2(ii)].

3.3.1 In vitro-in vivo συσχετίσεις Γ1 και Γ2

3.3.1.1 In vitro-in vivo συσχετίσεις Γ1: $u_R = 1$, $u_T = 0.2$

Στο Παράρτημα V παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι προσομοιωμένες in vitro αθροιστικές καμπύλες διάλυσης, οι προσομοιωμένες in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο, καθώς και οι συσχετίσεις των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ που υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 οι τιμές των οποίων υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης. Στο σχήμα 3.30 παρουσιάζονται ενδεικτικά οι

συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ και του δείκτη f_1 .

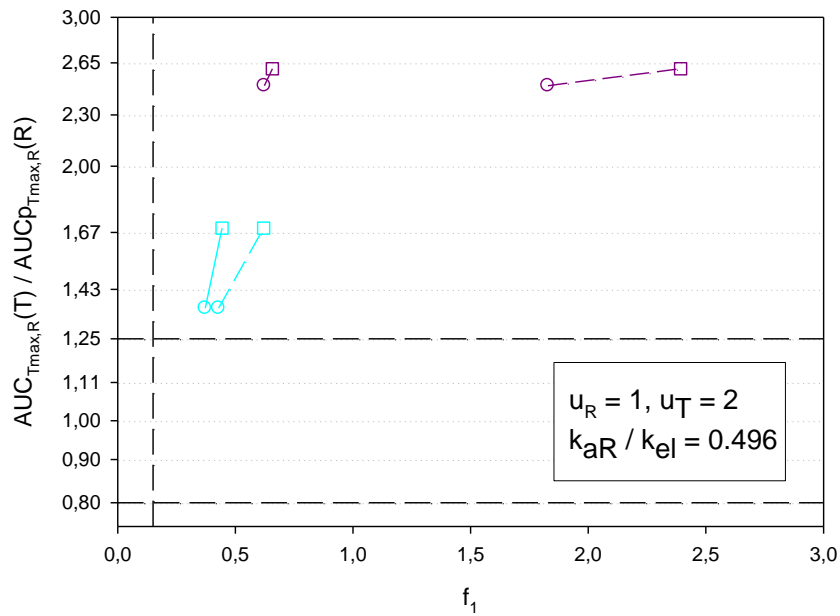
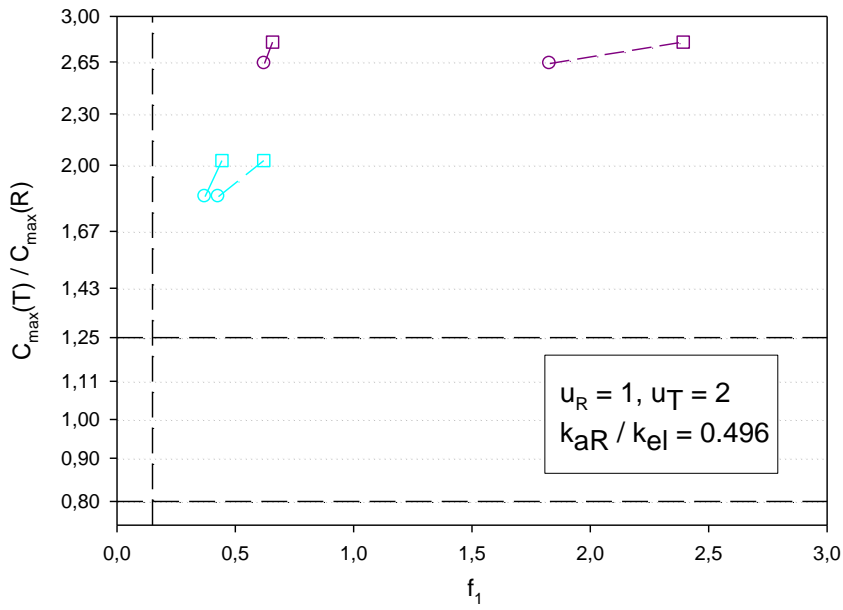


Σχήμα 3.30: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω σχήμα) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω σχήμα) σε σχέση με τον δείκτη f_1 ($u_T = 0.2$). \circ $k_{aT} / k_{aR} = 2$ ($k_{aR} = 0.6, k_{eI} = 1.21$) \square $k_{aT} / k_{aR} = 3$ ($k_{aR} = 0.6, k_{eI} = 1.21$) \circ $k_{aT} / k_{aR} = 2$ ($k_{aR} = 0.0992, k_{eI} = 0.2$) \square $k_{aT} / k_{aR} = 3$ ($k_{aR} = 0.0992, k_{eI} = 0.2$). Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{1fast85}$. ----- όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας.

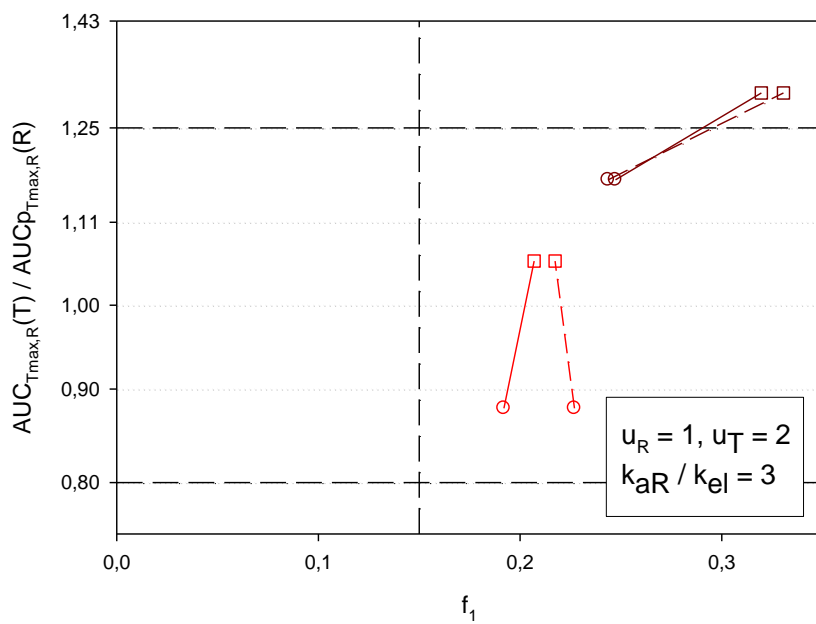
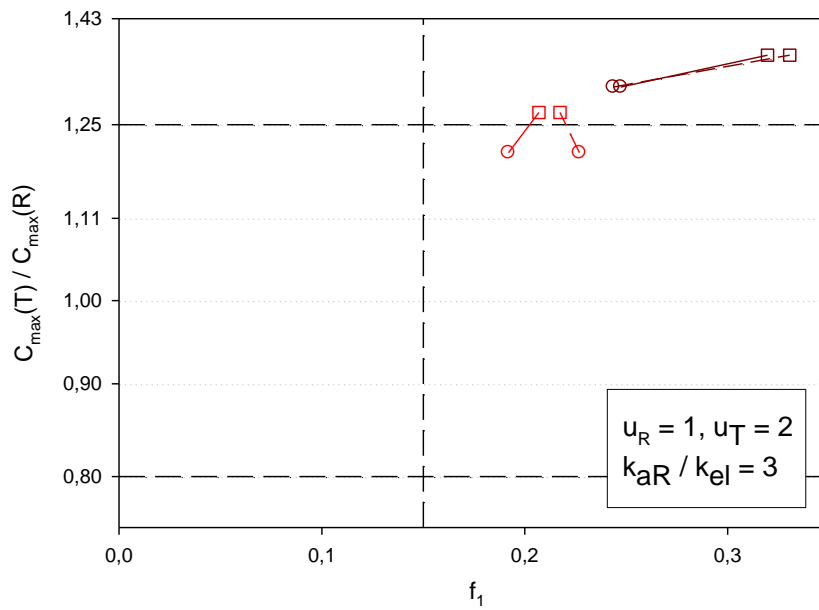
Επιλέγοντας συγκεκριμένες απόλυτες τιμές των παραμέτρων ίδιες με αυτές της προσομοίωσης A1, παρατηρούνται τα ίδια αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στο κεφ. 3.1: Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι και ιδίως η $AUC_{T_{max,R}}$ δεν καταφέρνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση όπως αυτές φαίνεται να υπάρχουν με βάση τα φαρμακοκινητικά προφίλ, αλλά ο δείκτης f_1 τις ανιχνεύει. Έτσι, όπως έχει ήδη αναφερθεί δεν φαίνεται να υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, όπου για τις ίδιες τιμές των παραμέτρων k_{aR} , k_{aT} και k_{el} αλλά με $u_T = 1$ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι καταφέρνουν να ανιχνεύσουν διαφορές στην αρχική έκθεση. Συνεπώς, είναι εμφανής η μεγάλη επίδραση της παραμέτρου σχήματος τόσο στην τιμή των δεικτών όσο και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Όταν οι λόγοι των παραμέτρων διατηρούνται ίδιοι, αλλά οι απόλυτες τιμές τους είναι χαμηλότερες, φαίνεται ότι οι φαρμακοκινητικές παράμετροι καταφέρνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές, οι οποίες είναι πιο έντονες με βάση τα φαρμακοκινητικά προφίλ (παράρτημα V, σχήμα Π.V.2). Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι ίδια για όλους τους δείκτες, οι οποίοι παρουσιάζονται στο Παράρτημα V. Επομένως, παρατηρείται ότι, όταν αλλάζει η κινητική, και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T , η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων εξαρτάται όχι μόνο από τους λόγους k_{aR}/k_{el} και k_{aT}/k_{aR} , αλλά και από τις απόλυτες τιμές αυτών των σταθερών.

3.3.1.2 In vitro-in vivo συσχετίσεις Γ2: $u_R = 1$, $u_T = 2$

Στο Παράρτημα V απεικονίζονται συγκεντρωτικά οι προσομοιωμένες in vitro αθροιστικές καμπύλες διάλυσης, οι προσομοιωμένες in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο, καθώς και οι συσχετίσεις των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ οι οποίες υπολογίστηκαν από τα προσομοιωμένα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και των δεικτών f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 οι τιμές των οποίων ελήφθησαν από τα προσομοιωμένα in vitro αθροιστικά δεδομένα διάλυσης. Στα σχήματα 3.31 και 3.32 φαίνονται για τις προσομοιώσεις Γ2(i) και Γ2(ii) αντίστοιχα μόνο οι συσχετίσεις μεταξύ των λόγων T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ και του δείκτη f_1 .



Σχήμα 3.31: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω σχήμα) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω σχήμα) σε σχέση με τον δείκτη f_1 ($u_T = 2$). \circ $k_{aT}/k_{aR} = 2$ ($k_{aR} = 0.6$, $k_{el} = 1.21$) \square $k_{aT}/k_{aR} = 3$ ($k_{aR} = 0.6$, $k_{el} = 1.21$)
 \circ $k_{aT}/k_{aR} = 2$ ($k_{aR} = 0.0992$, $k_{el} = 0.2$) \square $k_{aT}/k_{aR} = 3$ ($k_{aR} = 0.0992$, $k_{el} = 0.2$).
 Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{1fast85}$. ----- όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας.



Σχήμα 3.32: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω σχήμα) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω σχήμα) σε σχέση με τον δείκτη f_1 ($u_T = 2$). \circ $k_{aT}/k_{aR} = 0.5$ ($k_{aR} = 0.6$, $k_{el} = 0.2$) \square $k_{aT}/k_{aR} = 0.75$ ($k_{aR} = 0.6$, $k_{el} = 0.2$) \circ $k_{aT}/k_{aR} = 0.5$ ($k_{aR} = 0.3$, $k_{el} = 0.1$) \square $k_{aT}/k_{aR} = 0.75$ ($k_{aR} = 0.3$, $k_{el} = 0.1$). Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: f_{1ref85} . Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: $f_{1fast85}$. ---- όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας.

Προσομοίωση Γ2(i)

Επιλέγοντας συγκεκριμένες απόλυτες τιμές των παραμέτρων ίδιες με αυτές της προσομοίωσης Α6, παρατηρούνται τα ίδια αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στο κεφ. 3.1: Τόσο ο δείκτης f_1 όσο και οι φαρμακοκινητικές παράμετροι καταφέρνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση του φαρμάκου και υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, όπου για τις ίδιες τιμές παραμέτρων k_{aR} , k_{aT} και k_{el} αλλά με $u_T = 1$ υπάρχει επίσης *in vitro-in vivo* συμφωνία. Αντίθετα, όταν οι λόγοι αυτών των παραμέτρων διατηρούνται ίδιοι, αλλά οι απόλυτες τιμές τους είναι μικρότερες, φαίνεται ότι εξακολουθεί να υπάρχει *in vitro-in vivo* συμφωνία, όμως οι διαφορές που παρατηρούνται τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* είναι μεγαλύτερες. Τα παραπάνω αποτελέσματα που αναφέρθηκαν σχετικά με τον δείκτη f_1 είναι ίδια για όλους τους υπολογιζόμενους δείκτες, οι οποίοι παρουσιάζονται στο Παράρτημα V. Επομένως, παρατηρείται ότι όταν αλλάζει η κινητική, και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T , η ευαισθησία τόσο των φαρμακοκινητικών παραμέτρων όσο και των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών εξαρτάται πέρα από τους εξεταζόμενους λόγους k_{aR}/k_{el} και k_{aT}/k_{aR} , και από τις απόλυτες τιμές αυτών των σταθερών.

Προσομοίωση Γ2(ii)

Επιλέγοντας κάποιες συγκεκριμένες απόλυτες τιμές των παραμέτρων ίδιες με αυτές της προσομοίωσης Α6, παρατηρούνται τα ίδια αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στο κεφ. 3.1: στην περίπτωση του σκευάσματος υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.3$, όλοι οι δείκτες, με εξαίρεση μόνο τους ελαστικούς $\xi_{1,ref85}$ και $\xi_{2,ref85}$, καταφέρνουν να ανιχνεύσουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση, όπως φαίνεται στην περίπτωση του δείκτη f_1 , ενώ οι φαρμακοκινητικές παράμετροι αποτυγχάνουν να τις ανιχνεύσουν. Για $k_{aT} = 0.45$ η C_{max} και οι δείκτες f_1 και f_2 , καθώς και ο $\xi_{1,fast85}$, ανιχνεύουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ η $AUC_{Tmax,R}$ και οι ελαστικοί δείκτες $\xi_{1,ref85}$ και $\xi_{2,ref85}$, καθώς ο $\xi_{2,fast85}$ αποτυγχάνουν να τις ανιχνεύσουν. Αντίθετα, στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, παρατηρείται συνολικά *in vitro-in vivo* συμφωνία. Συνεπώς, και σε αυτή την περίπτωση είναι εμφανής η μεγάλη επίδραση της παραμέτρου σχήματος τόσο στην τιμή των δεικτών όσο και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, καθώς για τις

ίδιες τιμές των σταθερών k_{aR} , k_{aT} και k_{el} αλλά με $u_T = 1$ παρατηρούνται διαφορετικά αποτελέσματα.

Όταν οι λόγοι των παραμέτρων διατηρούνται ίδιοι, αλλά οι απόλυτες τιμές τους είναι χαμηλότερες, παρατηρείται ότι για τον ίδιο λόγο $k_{aT}/k_{aR} = 0.5$ η $AUC_{Tmax,R}$ αν και οριακά δεν καταφέρνει να ανιχνεύει τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, κάτι που τόσο η C_{max} όσο και οι δείκτες καταφέρνουν, ενώ για τον ίδιο λόγο $k_{aT}/k_{aR} = 0.75$ υπάρχει *in vitro* - *in vivo* συμφωνία και τόσο οι δείκτες όσο και οι φαρμακοκινητικές παράμετροι αντανακλούν τις διαφορές, όπως φαίνεται ενδεικτικά στην περίπτωση του δείκτη f_1 . Επομένως, παρατηρείται ότι όταν αλλάζει η κινητική, και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο u_T , η ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων και των δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών εξαρτάται όχι μόνο από τους λόγους k_{aR}/k_{el} και k_{aT}/k_{aR} , αλλά και από τις απόλυτες τιμές αυτών των σταθερών.

Συμπερασματικά με βάση τις προσομοιώσεις Γ , παρατηρείται ότι όταν η κινητική εισόδου του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, οι συσχετίσεις των δεικτών άμεσης σύγκρισης των *in vitro* καμπυλών και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων εξαρτώνται πέρα από τους λόγους k_{aR}/k_{el} και k_{aT}/k_{aR} και από την απόλυτη τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} , καθώς και τις απόλυτες τιμές των σταθερών απορρόφησης του σκευάσματος υπό έλεγχο k_{aT} και του σκευάσματος αναφοράς k_{aR} . Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι, με βάση τις συγκεκριμένες προσομοιώσεις που μελετήθηκαν, όταν οι σταθερές του ρυθμού έχουν χαμηλότερες απόλυτες τιμές, οι διαφορές στα φαρμακοκινητικά προφίλ εμφανίζονται εντονότερες, ενώ παράλληλα παρατηρείται μεγαλύτερη *in vitro*-*in vivo* συμφωνία.

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στις περιπτώσεις φαρμάκων όπου τόσο η τιμή της παραμέτρου σχήματος όσο και η τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία για το σκεύασμα υπό έλεγχο είναι διαφορετικές από αυτές του σκευάσματος αναφοράς συμπεραίνονται τα ακόλουθα:

- Τα αποτελέσματα των *in vitro* προσομοιώσεων έρχονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα αποτελέσματα για την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου. Έτσι, πιο αυστηροί εμφανίζονται οι δείκτες f_1 και f_2 και πιο ελαστικοί, οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 , ενώ η ευαισθησία των δεικτών φαίνεται να είναι μεγαλύτερη για χρόνο αποκοπής *fast85*. Εξάιρεση αποτελεί μόνο ο δείκτης f_2 όταν $u_T > 1$, του οποίου η ευαισθησία είναι μεγαλύτερη για χρόνο αποκοπής *ref85*, καθώς σε αυτές τις περιπτώσεις φαίνεται ότι οι *in vitro* διαφορές εξακολουθούν να είναι μεγάλες μετά τον χρόνο αποκοπής *fast85*.
- Όσον αφορά την ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$ στο να αντανakλούν διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, όταν τα σκευάσματα υπό έλεγχο έχουν ίδιο ρυθμό διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία αλλά διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά απομάκρυνσής τους, παρατηρείται ότι τα αποτελέσματα που προκύπτουν στις περιπτώσεις όπου $u_T < 1$ συμφωνούν με τα αντίστοιχα *in vitro* αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου για την πλειοψηφία των εξεταζόμενων σκευασμάτων. Συγκεκριμένα, στις προσομοιώσεις όπου $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$ η $AUC_{T_{max,R}}$ φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη από την C_{max} όταν $k_{aT} > k_{aR}$, ενώ όταν $u_T > 1$ αυτό συμβαίνει μόνο για $u_T = 1.5$ όταν $k_{aT} < k_{aR}$. Στις περιπτώσεις που η παράμετρος σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει αρκετά από αυτήν του σκευάσματος αναφοράς ($u_R = 1$ και $u_T = 0.2, 2, 5$), η C_{max} φαίνεται να είναι συνολικά πιο αποτελεσματική στο να ανιχνεύει τις διαφορές στην αρχική έκθεση σε σχέση με την $AUC_{T_{max,R}}$. Όσον αφορά την παράμετρο T_{max} , αυτή καταφέρνει σε πολλές περιπτώσεις να ανιχνεύσει διαφορές στην αρχική έκθεση καλύτερα σε σχέση με τις C_{max} και $AUC_{T_{max,R}}$, ειδικά στις περιπτώσεις όπου $u_T < 1$. Συγκεκριμένα, αυτό συμβαίνει σε όλες τις περιπτώσεις όπου $k_{aR} > k_{el}$ για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$ και ειδικότερα για τις περιπτώσεις όπου $u_T < 1$, αυτό συμβαίνει και όταν $k_{aR} < k_{el}$ για όλα τα σκευάσματα.

Για τις παραπάνω περιπτώσεις φαρμάκων, αναφορικά με τις *in vitro* - *in vivo* συσχετίσεις συμπεραίνονται τα ακόλουθα:

- Η καθοριστική σημασία της τιμής της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο στην απόφαση για *in vitro*-*in vivo* συμφωνία είναι εμφανής, καθώς οι συσχετίσεις που προκύπτουν για τις ίδιες με το πρωτοταξικό μοντέλο τιμές των παραμέτρων k_{aT} , k_{aR} και k_{el} φαίνεται να "μετακινούνται" σε σχέση με την περίπτωση της πρωτοταξικής κινητικής, και μάλιστα το φαινόμενο είναι πιο έντονο όσο η παράμετρος σχήματος u_T αποκλίνει από τη μονάδα. Ειδικότερα, η άμεση επίδραση της παραμέτρου σχήματος u_T στην συσχέτιση των δεικτών με τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους φαίνεται όταν $k_{aT} = k_{aR}$, όπου η μεταβολή μόνο του u_T επηρεάζει αισθητά τόσο τη τιμή του λόγου των φαρμακοκινητικών παραμέτρων όσο και των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών. Βέβαια, όπως και στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου, έτσι και εδώ, στην περίπτωση του μοντέλου Weibull, παρατηρείται διαφοροποίηση της συμπεριφοράς των *in vivo* παραμέτρων όταν τα σκευάσματα υπό έλεγχο έχουν τον ίδιο ρυθμό διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία αλλά διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά απομάκρυνσής τους, έστω και αν αυτό δε γίνεται πάντοτε ως προς την ίδια κατεύθυνση όπως στο πρωτοταξικό μοντέλο.
- Για το πρωτοταξικό μοντέλο, τα αποτελέσματα που προκύπτουν έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στα πλαίσια της προγενέστερης διπλωματικής εργασίας¹⁰⁴. Έτσι, οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, ειδικά η $AUC_{T_{max,R}}$, είναι πολύ πιο ευαίσθητες όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ (φαινόμενο "flip-flop") και γενικά παρατηρείται *in vitro*-*in vivo* συμφωνία. Ασυμφωνία παρατηρείται μόνο για ορισμένα σκευάσματα με $0.67 < k_{aT}/k_{aR} < 0.75$ και $1.3 < k_{aT}/k_{aR} < 1.67$, όπου αφενός όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$ οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 φαίνεται ότι αποτυγχάνουν να ανιχνεύσουν διαφορές στην αρχική έκθεση όπως αυτές αντανακλώνονται με βάση την $AUC_{T_{max,R}}$, και αφετέρου οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, ιδίως η C_{max} όταν $k_{aR}/k_{el} > 1$, δεν δείχνουν πάντα τις διαφορές στην αρχική έκθεση, ενώ αυτές προβλέπονται από τους δείκτες, ειδικά τους δείκτες f_1 και f_2 .
- Όταν $u_T = 0.2$, δεν παρατηρείται συμφωνία των αποτελεσμάτων με το πρωτοταξικό μοντέλο. Έτσι φαίνεται σε γενικές γραμμές να υπάρχει *in vitro*-*in*

- νίνο συμφωνία, εκτός από κάποιες περιπτώσεις (π.χ. περίπου για $k_{aT}/k_{aR} > 2$ όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$) όπου οι παράμετροι C_{max} και κυρίως η $AUC_{T_{max},R}$ δεν δείχνουν τη διαφορά στην αρχική έκθεση στο φάρμακο που φαίνεται να υπάρχει, κάτι που προβλέπουν οι δείκτες άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης.
- Όταν $u_T = 0.5$ και $u_T = 0.7$, υπάρχει σχετική συμφωνία με τα αποτελέσματα του πρωτοταξικού μοντέλου, κυρίως όταν $k_{aT} > k_{aR}$. Επίσης, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρείται και in vitro-in vivo συμφωνία. Εξαιρέση αποτελούν οι περιπτώσεις με $k_{aT} > k_{aR}$ όταν όμως $k_{aR}/k_{el} > 1$ και κυρίως για την C_{max} , η οποία δεν μπορεί να δείξει τη διαφορά στην αρχική έκθεση στο φάρμακο, την οποία δείχνει η $AUC_{T_{max},R}$ και οι δείκτες άμεσης σύγκρισης in vitro καμπυλών διάλυσης.
 - Όταν $u_T = 1.5$ υπάρχει γενικά συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, και κυρίως για $k_{aT} < k_{aR}$. Τα in vitro-in vivo αποτελέσματα κυρίως στην περίπτωση της C_{max} δείχνουν συμφωνία μόνο όταν $k_{aT} > k_{aR}$, ενώ όταν περίπου $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$ η C_{max} δεν μπορεί να δείξει τις διαφορές στην αρχική έκθεση που προβλέπουν οι δείκτες από τα in vitro δεδομένα. Οι διαφορές σε αυτήν την περίπτωση προβλέπονται από την $AUC_{T_{max},R}$. Εδώ αξίζει να σημειωθεί και μία περίπτωση όπου παρατηρείται αδυναμία των δεικτών να προβλέψουν τις διαφορές στην $AUC_{T_{max},R}$ για σκευάσματα με $0.5 < k_{aT}/k_{aR} < 0.76$ όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$.
 - Όταν $u_T = 2, 5$ δηλαδή για σκευάσματα υπό έλεγχο με έντονα σιγμοειδή χαρακτηριστικά παρατηρούνται μεγαλύτερες αποκλίσεις από το πρωτοταξικό μοντέλο. Η C_{max} παρουσιάζεται γενικά ως καλύτερος φαρμακοκινητικός δείκτης της αρχικής έκθεσης, καθώς η $AUC_{T_{max},R}$ σε αρκετές περιπτώσεις (π.χ. όταν περίπου $0.67 < k_{aT}/k_{aR} < 1.67$ αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει ούτε και in vitro-in vivo συμφωνία.

Στις περιπτώσεις φαρμάκων όπου μόνο η τιμή της σταθεράς του ρυθμού διάλυσης/εισόδου φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία είναι διαφορετική για το σκεύασμα υπό έλεγχο από αυτή του σκευάσματος αναφοράς συμπεραίνονται τα ακόλουθα:

- Σύμφωνα με τα in vitro αποτελέσματα, υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο, καθώς μεγαλύτερη ευαισθησία παρατηρείται στο χρόνο αποκοπής fast85, με εξαίρεση τον δείκτη f_2 για $u_R = u_T = 2$, του οποίου η ευαισθησία σε

χρόνο αποκοπής ref_{85} είναι ελάχιστα μεγαλύτερη σε σχέση με αυτήν σε $fast_{85}$, ενώ και σε αυτές τις προσομοιώσεις πιο αυστηροί εμφανίζονται οι δείκτες f_1 και f_2 και πιο ελαστικοί, οι δείκτες ξ_1 και ξ_2 . Επίσης, οι δείκτες φαίνεται να είναι συνολικά πιο ευαίσθητοι όταν $u_R = u_T = 2$, με εξαίρεση τον δείκτη f_2 , του οποίου η ευαισθησία είναι μεγαλύτερη όταν $u_R = u_T = 0.5$.

- Όσον αφορά την ευαισθησία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, όταν τα σκευάσματα υπό έλεγχο έχουν ίδιο ρυθμό διάλυσης/εισόδου του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία αλλά διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά απομάκρυνσής τους, αυτή αυξάνεται με τη μείωση του λόγου k_{aR}/k_{el} , όπως συμβαίνει στην περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου. Μάλιστα η ευαισθησία είναι μεγαλύτερη και στις δύο φαρμακοκινητικές παραμέτρους όταν $u_R = u_T = 0.5$. Όσον αφορά τη παράμετρο T_{max} , για $u_R = u_T = 2$ αυτή είναι πιο ευαίσθητη σε σχέση με την $AUC_{T_{max,R}}$, όταν $k_{aR} > k_{el}$ για τα σκευάσματα με $k_{aT} > k_{aR}$.
- Αναφορικά με τις *in vitro* - *in vivo* συσχετίσεις, παρατηρείται ότι υπάρχει συμφωνία με το πρωτοταξικό μοντέλο και γενικά μεταξύ φαρμακοκινητικών παραμέτρων και δεικτών. Ειδικά όταν $u_R = u_T = 0.5$, οι παράμετροι είναι ελάχιστα πιο ευαίσθητες, με αποτέλεσμα αυτές, και κυρίως η C_{max} , μόνο για κάποιες τιμές $k_{aR}/k_{el} > 1$ να μην ανιχνεύουν τις διαφορές στην αρχική έκθεση που προβλέπονται από την $AUC_{T_{max,R}}$ και τους f_1, f_2 , ενώ οι ελαστικοί δείκτες ξ_1 και ξ_2 αποτυγχάνουν σε αρκετές περιπτώσεις να ανιχνεύσουν τις διαφορές όταν $k_{aR}/k_{el} < 1$. Αντίθετα, για $u_T = u_R = 2$ υπάρχει *in vitro-in vivo* συμφωνία στην πλειοψηφία των περιπτώσεων μόνο όταν οι διαφορές ανιχνεύονται με βάση την $AUC_{T_{max,R}}$, καθώς οι φαρμακοκινητικές παράμετροι, και κυρίως η C_{max} , εμφανίζονται λιγότερο ευαίσθητες σε σχέση με το πρωτοταξικό μοντέλο, με αποτέλεσμα κυρίως η C_{max} να αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις διαφορές στην αρχική έκθεση στο φάρμακο για ορισμένα σκευάσματα με $k_{aT}/k_{aR} < 0.67$ και $k_{aT}/k_{aR} > 1.3$.

Στην ειδική περίπτωση φαρμάκων με ίδια τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, η οποία είναι διαφορετική από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, ίδιο λόγο k_{aR}/k_{el} και ίδιους λόγους k_{aT}/k_{aR} ανά εξεταζόμενο ζεύγος απόλυτων τιμών k_{aR} και k_{el} , τα αποτελέσματα που παρατηρούνται για ίδιες τιμές των λόγων αλλά διαφορετικές απόλυτες τιμές των σταθερών k_{aR} , k_{aT} και k_{el} δεν βρίσκονται σε απόλυτη συμφωνία μεταξύ τους. Επομένως, συμπεραίνεται ότι όταν η

κινητική του σκευάσματος υπό έλεγχο διαφέρει από αυτή του σκευάσματος αναφοράς, η ευαισθησία τόσο των φαρμακοκινητικών παραμέτρων όσο και των δεικτών άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών εξαρτάται όχι μόνο από τους παραπάνω λόγους, αλλά και από τις απόλυτες τιμές αυτών των σταθερών. Με βάση τις προσομοιώσεις που μελετήθηκαν παρατηρήθηκε ότι όταν οι σταθερές ρυθμού έχουν χαμηλότερες απόλυτες τιμές, οι διαφορές στα φαρμακοκινητικά προφίλ είναι εντονότερες και παράλληλα παρατηρείται μεγαλύτερη *in vitro-in vivo* συμφωνία.

Από τα παραπάνω συμπεράσματα φαίνεται ότι περιπτώσεις όπου η διάλυση/είσοδος δύο συγκρινόμενων σκευασμάτων στη γενική κυκλοφορία περιγράφεται από τη συνάρτηση Weibull, ειδικά όταν διαφέρει ο τύπος της κινητικής του σκευάσματος υπό έλεγχο σε σχέση με το σκεύασμα αναφοράς, εμφανίζουν ιδιαίτερη πολυπλοκότητα, καθώς τόσο οι δείκτες άμεσης σύγκρισης *in vitro* καμπυλών όσο και οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που θα προκύψουν εξαρτώνται άμεσα και από τον εκάστοτε τύπο της κινητικής. Έτσι, θα ήταν χρήσιμη η περαιτέρω μελέτη της συμπεριφοράς των δεικτών και των φαρμακοκινητικών παραμέτρων με προσομοιωμένα *in vitro* και *in vivo* δεδομένα με σφάλμα, ώστε να καθίσταται δυνατή η φαρμακοκινητική και στατιστική ανάλυση όπως αυτή πραγματοποιείται στις μελέτες βιοϊσοδυναμίας, και κατ' επέκταση η πιθανή αξιοποίηση των δεικτών ως εργαλείο πρόβλεψης της βιοϊσοδυναμίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. European Generics Association (EGA), Internal Survey 2014, IMS Institute for Healthcare Informatics, The role of generic medicines in sustaining healthcare systems: a European perspective (2015)
2. S. Xanthopoulou, K. Katsaliaki “Policies and perceptions on generic drugs: The case of Greece.” *Health services management research*, 0(0):1-8 (2018)
3. GaBI Online, Generics and Biosimilars Initiative. The Greek problem of generics pricing [www.gabionline.net]. Mol, Belgium: Pro Pharma Communications International (2018). Available from: <http://www.gabionline.net/Generics/Research/The-Greek-problem-of-generics-pricing>
4. Π. Μαχαίρας, Μ. Συμιλλίδου, Φαρμακοκινητική, Πανεπιστημιακές σημειώσεις, ΕΚΠΑ, Αθήνα (2016 – 2017)
5. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations. Revised March 2003. Available from: <https://www.fda.gov/media/76764/download>
6. M. L. Chen, V. Shah, R. Patnaik, W. Adams, A. Hussain, D. Conner, M. Mehta, H. Malinowski, J. Lazor, S. M. Huang, *et al.* “Bioavailability and bioequivalence: an FDA regulatory overview”, *Pharm Res.*18(12): 1645–1650 (2001)
7. Μ. Συμιλλίδου, Μελέτες Βιοϊσοδυναμίας: Φαρμακοκινητική - Στατιστική ανάλυση, στις σημειώσεις του μεταπτυχιακού μαθήματος "Προχωρημένη Βιοφαρμακευτική - Φαρμακοκινητική" του Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2018)
8. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), CFR - Code of Federal Regulations Title 21. Last Revised April 2018. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=320.1>
9. European Medicines Agency (EMA), CHMP, Guideline on the Investigation of Bioequivalence, January 2010. Available from:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf

10. Ε. Νικολαΐδη, Κανονιστικές οδηγίες EMA - Εγκρίσεις Φαρμάκων, διαφάνειες στα πλαίσια των σεμιναρίων του Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2017)
11. Electronic orange book. US Food and Drug Administration, Silver Spring. 2012. Available form: <https://www.fda.gov/media/71474/download>
12. B. Davit, A. C. Braddy, D. P. Conner, & L. X. Yu “International guidelines for bioequivalence of systemically available orally administered generic drug products: a survey of similarities and differences.” *The AAPS journal*, 15(4): 974–990 (2013)
13. C. Langer, D. Diaz, L. Van Alstine et al. “Analysis of the Regulatory Divergence of Comparative Dissolution Requirements for Post-Approval Manufacturing Changes of Modified Release Solid Oral Dosage Forms.”, *AAPS J*, 22: 2 (2020)
14. World Health Organization (WHO), Multisource (generic) pharmaceutical products: Guidelines on registration requirements to establish interchangeability, Technical Report Series No. 937, Annex 7 (2006)
15. V. Karalis, M. Symillides, P. Macheras, “Novel methods to assess bioequivalence”, *Drug Metab. Toxicol.*, 7(1): 79–88 (2011)
16. Χ. Ρέππας, In vivo μεθοδολογίες για την εκτίμηση της διαδικασίας άφιξης ενός μορίου στη γενική κυκλοφορία μετά από per os χορήγηση σε προκλινικό επίπεδο και στον άνθρωπο, στις σημειώσεις του μεταπτυχιακού μαθήματος "Προχωρημένη Βιοφαρμακευτική - Φαρμακοκινητική" του Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2018)
17. Shein-Chung Chow, “Bioavailability and Bioequivalence in Drug Development.” *Wiley interdisciplinary reviews. Computational statistics*, 6 (4) (2014)
18. European Medicines Agency (EMA), EMA/618604/2008 Rev. 13: Questions & Answers: positions on specific questions addressed to the Pharmacokinetics Working Party (PKWP). November 2015. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-positions-specific-questions-addressed-pharmacokinetics-working-party_en.pdf
19. Alexander T. Florence, Juergen Siepmann “Modern Pharmaceutics, Volume 2: Applications and Advances.” 5th Edition, CRC Press, Printed in New York, USA, Published on May 22 (2009)

20. A. García-Arieta, J. Gordon, “Bioequivalence requirements in the European Union: critical discussion.” *The AAPS journal*, 14(4): 738–748 (2012)
21. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research, Draft Guidance on Progesterone. Draft Guidance revised on February 2011. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Progesterone_caps_19781_RC02-11.pdf
22. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research, Draft Guidance on Warfarin Sodium. Draft Guidance recommended on December 2012. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Warfarin_Sodium_tab_09218_RC12-12.pdf
23. European Medicines Agency (EMA), EMA/CPMP/EWP/280/96 Corr1: Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms. November 2014. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmacokinetic-clinical-evaluation-modified-release-dosage-forms_en.pdf
24. R. Wang, D. P. Conner, B. V. Li, “Bioavailability and bioequivalence aspects of oral modified-release drug products.” *The AAPS Journal*, 19(2):360–366 (2017)
25. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Bioavailability Studies Submitted in NDAs or INDs — General Considerations. Draft Guidance February 2019. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioavailability-studies-submitted-ndas-or-inds-general-considerations>
26. J. E. Polli “In vitro studies are sometimes better than conventional human pharmacokinetic in vivo studies in assessing bioequivalence of immediate-release solid oral dosage forms. ” *The AAPS journal*, 10(2):289–299 (2008)
27. H. Korteljärvi, R. Shawahna, A. Koski, J. Malkki, K. Ojala, M. Yliperttula “Very rapid dissolution is not needed to guarantee bioequivalence for biopharmaceutics classification system (BCS) I drugs. ” *J Pharm Sci.* 99(2): 621–625 (2010)

28. Alfredo García-Arieta, “Interactions between active pharmaceutical ingredients and excipients affecting bioavailability: impact on bioequivalence.” *Eur. J. Pharm. Sci.*, 65: 89–97 (2014)
29. Z. Lin, D. Zhou, S. Hoag, & Y. Qiu “Influence of Drug Properties and Formulation on In Vitro Drug Release and Biowaiver Regulation of Oral Extended Release Dosage Forms.” *The AAPS journal*, 18(2), 333–345 (2016).
30. M. Kwon, D. Yeom, N.A. Kim, D.H. Choi, J. Park, H. Wang, S.D. Yoo & S.H. Jeong “Bioequivalence of tacrolimus formulations with different dynamic solubility and in-vitro dissolution profiles.” *Archives of Pharm. Research*, 38, 73-80 (2015)
31. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Bioavailability Studies Submitted in NDAs or INDs — General Considerations. Draft Guidance March 2014. Available from:
<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioavailability-and-Bioequivalence-Studies-Submitted-in-NDAs-or-INDs-%E2%80%94-94-General-Considerations.pdf>
32. European Medicines Agency (EMA), EMA/CHMP/QWP/428693/2013: Guideline on quality of oral modified release products. March 2014. Available from:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-oral-modified-release-products_en.pdf
33. I. González-García, A. García-Arieta,, M. Merino-Sanjuan, V. Mangas-Sanjuana,,M. Bermejo. “Defining level A IVIVC dissolution specifications based on individual in vitro dissolution profiles of a controlled release formulation.” *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 119, 200–207 (2018)
34. Sandra Suarez-Sharp, Min Li, John Duan, Heta Shah, Paul Seo, “Regulatory Experience with In Vivo In Vitro Correlations (IVIVC) in New Drug Applications.” *The AAPS Journal* (2016)
35. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, Revised August 1997. Available from:
<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070237.pdf>
36. M. Vertzoni, A. Iliadis, E. Nicolaidis, M. Symillides, and C. Reppas. “Orally administered drug products: Dissolution data analysis with a view to in vitro – in vivo

- correlation.” In *Pharmaceutical Dissolution Testing*, J.B. Dressman and J. Kraemer, Taylor and Francis (ISBN 0-8247-5467-0) New York, USA, pp. 229-249 (2005)
37. V. R. Uppoor “Regulatory perspectives on in vitro (dissolution)/in vivo (bioavailability) correlations.” *J. Control Release*, 72(1-3): 127–132 (2001)
38. J. E. Polli, J. A. Cook, B. M. Davit, P. A. Dickinson, D. Argenti, N. Barbour, García-Arieta et al., “Summary Workshop Report: Facilitating oral product development and reducing regulatory burden through novel approaches to assess bioavailability/bioequivalence.” *The AAPS Journal*, 14(3):627–638 (2012)
39. K. Feng , R. H. Leary, M. Dunlavey , A. Rostami-Hodjegan “Selecting in Vitro Dissolution Tests Using Population Pharmacokinetic Modeling to Help Bioequivalence Studies”, Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, Montreux, Switzerland, May 29 - June 1 (2018)
40. M. McAllister, T. Flanagan, K. Boon, X. Pepin, C. Tistaert, M. Jamei, A. Abend, E. Kotzagiorgis, C. Mackie “Developing Clinically Relevant Dissolution Specifications for Oral Drug Products—Industrial and Regulatory Perspectives.”, *Pharmaceutics* , 12:19 (2020)
41. E. Nicolaidis, M. Symillides, J.B. Dressman, and C. Reppas. “Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration.” *Pharm. Res.* 18:380-388 (2001)
42. D.Y. Usta, Ö. Demirtaş, C. Ökçelik, A. Uslu & Z.Ş. Teksin, “Evaluation of in vitro Dissolution Characteristics of Flurbiprofen , a BCS Class IIa Drug” *FABAD J. Pharm. Sci.*, 43 (2), 117-124 (2018)
43. B. Mistry, N. Patel, M. Jamei, A. Rostami-Hodjegan & M.N. Martinez “Examining the Use of a Mechanistic Model to Generate an In Vivo/In Vitro Correlation: Journey through a Thought Process.” *The AAPS Journal*, 18, 1144-1158 (2016)
44. A. Mitra, F. Kesisoglou & P. Dogterom “Application of absorption modeling to predict bioequivalence outcome of two batches of etoricoxib tablets.” *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 16(1), 76–84 (2015)
45. David C. Sperry, Steven J. Thomas, Evelyn Lobo. “Dissolution Modeling of Bead Formulations and Predictions of Bioequivalence for a Highly Soluble, Highly Permeable Drug” , *Molecular Pharmaceutics* ,7(5), 1450-1457 (2010)

46. A. S. Raw, R. Lionberger and L. X. Yu, "Pharmaceutical Equivalence by Design for Generic Drugs: Modified-Release Products." *Pharm Res*, 28:1445–1453 (2011)
47. P.A. Dickinson, W.W. Lee, P.W. Stott, A.I. Townsend, J.P. Smart, P. Ghahramani, T. Hammett, L. Billett, S. Behn, R.C. Gibb et al. "Clinical Relevance of Dissolution Testing in Quality by Design.", *AAPS J.*, 10: 380 (2008)
48. T. N. Tozer, F. Y. Bois, W. W. Hauck, M-L. Chen, and R. L. Williams. "Absorption rate vs. exposure: which is more useful for bioequivalence testing?" *Pharm. Res.* 13:453-456 (1996)
49. M-L Chen. "An alternative approach for the assessment of rate of absorption in bioequivalent studies." *Pharm. Res.* 9:1380-1385 (1992)
50. P. Macheras, M. Symillides, and C. Reppas. "The cutoff time point of the partial area method for assessment of rate of absorption in bioequivalence studies." *Pharm. Res.* 11:831-834 (1994)
51. L. Endrenyi, F. Csizmadia, L. Tothfalusi, A. H. Balch, and M-L. Chen. "The duration of measuring partial AUCs for the assessment of bioequivalence." *Pharm. Res.* 15:399-404 (1998)
52. M. L. Chen, B. Davit, R. Lionberger, Z. Wahba, H. U. Ahn, L. X. Yu, "Using partial area for evaluation of bioavailability and bioequivalence." *Pharm. Research.*, 28:1939-1947 (2011)
53. J. F. Zirkelbach, A. J. Jackson, Y. Wang, D. J. Schuirmann, "Use of partial AUC (PAUC) to evaluate bioequivalence - A case study with complex absorption: methylphenidate." *Pharm. Research*, 30:191–202 (2013)
54. K. Yamaoka, T. Nakagawa and T. Uno. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 6:547 (1978)
55. P. Macheras, M. Symillides, and C. Reppas. "An improved intercept method for the assessment of absorption rate in bioequivalence studies." *Pharm. Res.* 13:1755-1758 (1996)
56. L. Endrenyi, S. Fritsch, and W. Yan. "C_{max}/AUC is a clearer measure than C_{max} for absorption rates in investigations of bioequivalence." *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 29:394-399 (1991)
57. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence Revised January

2001. Available from:
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070244.pdf>
58. A. Rescigno, "Bioequivalence." *Pharmaceutical Research*, 9(7):925–928 (1992)
 59. A. Rescigno, A. Marzo, U. Thyroff-Friesinger, "Mefenamic acid bioequivalence assessment with a new statistical procedure." *Pharmacological Research*, 34(3/4):149–152 (1996)
 60. S. A. Marston, J. E. Polli, "Evaluation of direct curve comparison metrics applied to pharmacokinetic profiles and relative bioavailability and bioequivalence." *Pharmaceutical Research* 14(10):1363–1369 (1997)
 61. P. Costa, J. M. S. Lobo, "Modeling and comparison of dissolution profiles." *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13:123-133 (2001)
 62. W. Weibull. "A statistical distribution of wide applicability." *J. Appl. Mechan.* 18:293-297 (1951)
 63. F. Langenbucher, "Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution", *J. Pharm. Pharmac.*, 24: 979-981 (1972)
 64. F. Langenbucher, "Parametric Representation of Dissolution – Rates Curves by the RRSBW Distribution", *Pharm. Ind.*, 38:472-477 (1976)
 65. Laura D. Simionato, Luciana Petrone, Mariela Baldut, Silvina L. Bonafede and Adriana Inés Segall. "Comparison between the dissolution profiles of nine meloxicam tablet brands commercially available in Buenos Aires, Argentina." *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 26 (4): 578-584 (2018)
 66. S. Zhai, T. Mathew & Y. Huang, "Comparison of drug dissolution profiles: a proposal based on tolerance limits." *Statistics in medicine*, 35 (29), 5464-5476 (2016)
 67. J. W. Moore, H. H. Flanner, "Mathematical comparison of dissolution profiles." *Pharmaceutical Technology*, 20:64-74 (1996)
 68. D. LeBlond, "In Vitro Dissolution Testing: Statistical Approaches and Issues." In: Zhang L. (eds) *Nonclinical Statistics for Pharmaceutical and Biotechnology Industries. Statistics for Biology and Health*. Springer, Cham (2016)
 69. M. Jasińska-Stroschein, U. Kurczewska, D. Orszulak-Michalak, "Statistical considerations concerning dissimilar regulatory requirements for dissolution

similarity assessment. The example of immediate release dosage forms”, *J. Pharm. Sci.*, 106(5):1275-1284 (2017)

70. Nemanja B. Todorović, Svetlana S. Goločorbin-Kon, Kristina N. Kermeci, Jelena N. Jovičić Bata, Nebojša M. Pavlović, Boris Ž. Milijašević, Mladena N. Lalić-Popović. “Influence of Immediate Release Tablet Formulation on Dissolution. Profile of Paracetamol.” *Hospital Pharmacology*, 5(3), 705-714 (2018)

71. M. Vertzoni, M. Symillides, A. Iliadis, E. Nicolaidis, and C. Reppas. “Comparison of simulated cumulative drug vs. time data sets with indices.” *Eur. J. Pharm. Biopharmac.*, 56, 421-428 (2003)

72. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center of Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Immediate release solid oral dosage forms. Scale up and post approval changes: Chemistry, manufacturing, and controls; In vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence documentation. Revised November 1995. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/supac-ir-immediate-release-solid-oral-dosage-forms-scale-and-post-approval-changes-chemistry>

73. D. A. Diaz, S. T. Colgan, C. S. Langer, N. T. Bandi, M. D. Likar & L. Van Alstine, “Dissolution Similarity Requirements: How Similar or Dissimilar Are the Global Regulatory Expectations?” *The AAPS journal*, 18(1): 15–22 (2015)

74. R. E. Stevens, V. Gray, A. Dorantes, L. Gold & L. Pham, “Scientific and regulatory standards for assessing product performance using the similarity factor, f_2 .” *The AAPS journal*, 17(2): 301–306 (2015)

75. P.L. Paixão, L.F. Gouveia, N.M. Silva, & J.A. Morais “Evaluation of dissolution profile similarity - Comparison between the f_2 , the multivariate statistical distance and the f_2 bootstrapping methods.” *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 112, 67-74 (2017)

76. Victor Mangas-Sanjuan, Sarin Colon-Useche, Isabel Gonzalez-Alvarez, Marival Bermejo, Alfredo Garcia-Arieta, “Assessment of the Regulatory Methods for the Comparison of Highly Variable Dissolution Profiles”, *The AAPS Journal*, 18 (6) (2016)

77. N. Yuksel, A. E. Kanik, T. Baykara, "Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA based, model-dependent and -independent methods." *International Journal of Pharmaceutics*, 209:57–67 (2000)
78. S. Kullback and R. A. Leibler. "On information and sufficiency." *Annals of Mathematical Statistics* 22:79-86 (1951)
79. S. Kullback. "Information Theory and Statistics. Wiley, New York (1959)
80. T. M. Cover and J. A. Thomas. "Elements of Information Theory". John Wiley and Sons Inc. New York (1991)
81. E. S. Soofi. "Capturing the intangible concept of information." *J. Am. Stat. Assoc.* 89:1243-1254 (1994)
82. S. Ihara. "Information Theory for Continuous Systems." World Scientific Publishing. Singapore. pp 20-34 (1993)
83. V. Dragalin, V. Fedorov, S. Patterson, and B. Jones. "Kullback-Leibler divergence for evaluating bioequivalence." *Statist. Med.* 22:913-930 (2003)
84. P. Lansky and M. Weiss. "Classification of dissolution profiles in terms of fractional dissolution rate and a novel measure of heterogeneity." *J. Pharm. Sci.* 92:1632-1647 (2003)
85. Ε. Κρητιώτη. Σύγκριση καμπυλών in vitro δεδομένων διάλυσης με χρήση της απόστασης Kullback-Leibler. Διπλωματική εργασία Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2006)
86. Γ. Καφίρη. Εκτίμηση της Βιοϊσοδυναμίας φαρμακευτικών σκευασμάτων με χρήση της απόστασης Kullback-Leibler. Διπλωματική εργασία Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2009)
87. V. M. Chinchilli and R. K. Elswick, "The multivariate assessment of bioequivalence", *J. Biopharm. Stat.*, 7: 113-123 (1997)
88. E. Dimitrakopoulou, M. Symillides, C. Reppas, P. Macheras, "Direct Curve Comparison Indices for the Assessment of Bioequivalence", International Symposium on Scientific and Regulatory Aspects of Dissolution and Bioequivalence, Athens, Greece, April 12-14 (2002)
89. Π. Παπαδοπούλου. Η χρήση της συνάρτησης Weibull για την περιγραφή της απορρόφησης του φαρμάκου σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας. Διπλωματική Εργασία, ΜΔΕ "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2003)
90. Ε. Μίχου. Εκτίμηση της βιοϊσοδυναμίας Φαρμακευτικών μορφών με τη χρήση δεικτών άμεσης σύγκρισης καμπυλών, όταν η απορρόφηση περιγράφεται με βάση τη

συνάρτηση Weibull. Διπλωματική Εργασία, ΜΔΕ "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2003)

91. M. Symillides, E. Michou, P. Papadopoulou, C. Reppas, "Pharmacokinetic profile comparison: Sensitivity of metrics and curve comparison indices in reflecting differences in early and overall exposure." 5th WCDATD EUFEPS, Uppsala, Sweden, June 24-26 (2013)

92. A. Dalmara, C. Reppas, M. Symillides. "In vitro dissolution profile comparison and in vivo bioequivalence: The impact of in vivo input and disposition kinetics of the drug. AAPS Annual Meeting and Exposition", Chicago, IL., October 14-18 (2012)

93. Α. Δαλμάρα, Εκτίμηση της βιοϊσοδυναμίας φαρμακευτικών σκευασμάτων από in vitro δεδομένα αποδέσμευσης: Δείκτες άμεσης σύγκρισης καμπυλών και σημασία της κινητικής της αποδέσμευσης και διάθεσης του φαρμάκου στο σώμα, Διπλωματική Εργασία, Μ.Δ.Ε "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2010)

94. J.Z. Duan, K. Riviere & P. Marroum, "In Vivo Bioequivalence and In Vitro Similarity Factor (f₂) for Dissolution Profile Comparisons of Extended Release Formulations: How and when do they match?" *Pharmaceutical Research*, 28, 1144-1156 (2011)

95. J. D. Gomez-Mantilla, U. F. Schaefer, V. G. Casabo, T. Lehr & C. M. Lehr, "Statistical comparison of dissolution profiles to predict the bioequivalence of extended release formulations." *The AAPS journal*, 16(4), 791–801 (2014)

96. F. Xie, S. Ji, Z. Cheng, "In vitro dissolution similarity factor (f₂) and in vivo bioequivalence criteria, how and when do they match? Using a BCS class II drug as a simulation example", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66: 163-172 (2015)

97. C. Jin, C. Zhao, D. Shen, W. Dong, H. Liu & Z. He, "Evaluating bioequivalence of meloxicam tablets: is in-vitro dissolution test over discriminating?" *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 70 (2), 250-258 (2018)

98. J. Al-Gousous, M.B. Bolger, F. Díez, J. Kalafat & P. Langguth, "Similar or Not? Comparison of Dissolution Profiles of Different Hydroxypropylmethyl Cellulose (HPMC) Capsules." *Dissolution Technologies*, (2018)

99. A.N. Zaid, N. Shraim, A. Radwan, N.A. Jaradat, S. Hirzallah, I.J. Issa & A. Khraim, "Does GastroPlus Support Similarity and Dissimilarity Factors of in vitro-in

vivo Prediction in Biowaiver Studies? A lower Strength Amlodipine as a Model Drug.” *Drug research*, 68 (11), 625-630 (2018)

100. Ε. Αλεξανδρή, Ομοιότητα in vitro καμπυλών διφασικής αποδέσμευσης και βιοϊσοδυναμία των φαρμακευτικών σκευασμάτων όταν μεταβάλλονται παράλληλα ο ρυθμός και η έκταση της απορρόφησης, Πτυχιακή Εργασία, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2018)

101. Ρ. Μ. Παναγόπουλος, Ομοιότητα in vitro καμπυλών διφασικής αποδέσμευσης και βιοϊσοδυναμία των φαρμακευτικών σκευασμάτων όταν μεταβάλλεται ο ρυθμός απορρόφησης του φάρμακου, Πτυχιακή Εργασία, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2018)

102. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research Draft Guidance on Methylphenidate Hydrochloride. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Methylphenidate%20Hydrochloride_draft_Oral%20tab%20ER_RLD%2021121_RC07-18.pdf

103. Σ. Κουταλίδη, Εκτίμηση της Βιοϊσοδυναμίας φαρμακευτικών σκευασμάτων διφασικής αποδέσμευσης, Διπλωματική Εργασία, ΜΔΕ "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2016)

104. Σ. Περικλέους, Ομοιότητα καμπυλών διάλυσης και βιοϊσοδυναμία φαρμακευτικών σκευασμάτων, Διπλωματική Εργασία, Μ.Δ.Ε "Βιομηχανική Φαρμακευτική", ΕΚΠΑ (2019)

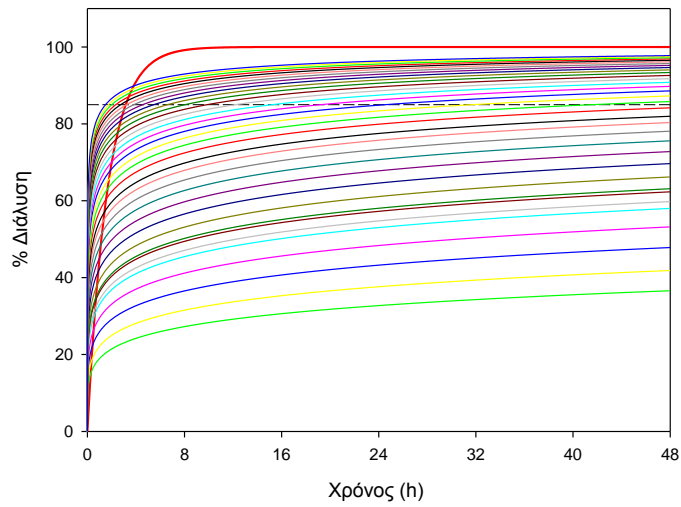
105. Μ. Συμιλλίδου, Μη διαμερισματική φαρμακοκινητική ανάλυση: Συνέλιξη - Στατιστικές ροπές, στις σημειώσεις του μεταπτυχιακού μαθήματος "Προχωρημένη Βιοφαρμακευτική - Φαρμακοκινητική" του Μ.Δ.Ε. "Βιομηχανική Φαρμακευτική", Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (2018)

106. V. K. Piotrovski. "The use of Weibull distribution to describe the in vivo absorption kinetics." *J. Pharmacokin. Biopharm.* 15:681-686 (1987)

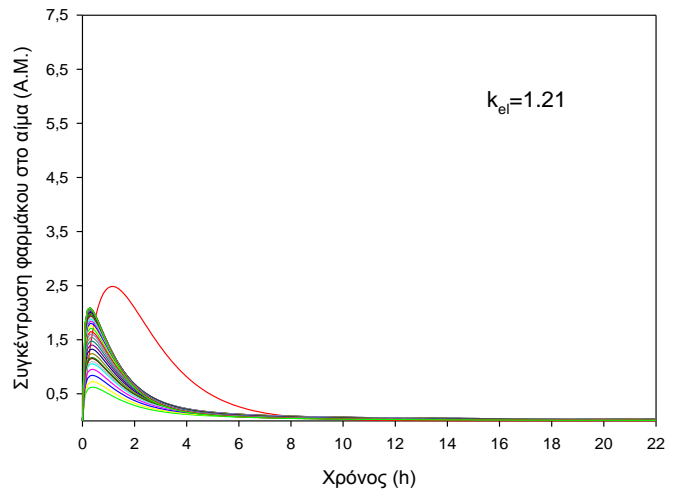
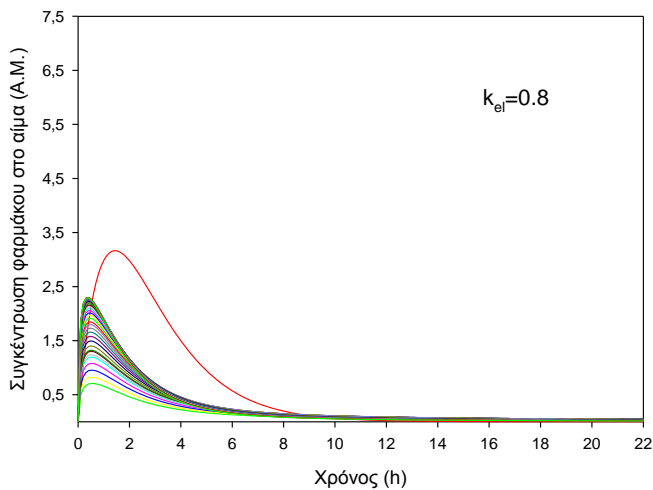
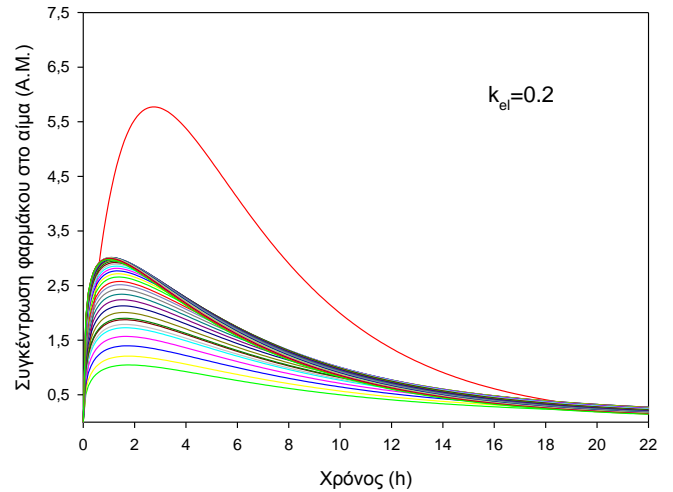
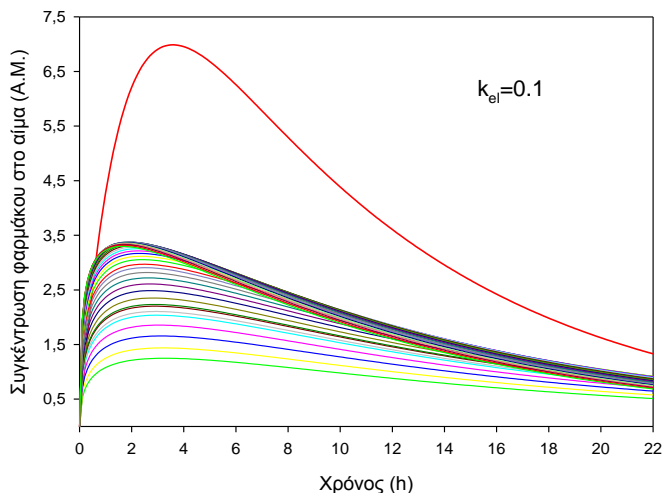
107. F. Langenbucher "Numerical Convolution/Deconvolution as a Tool for Correlating in Vitro with in Vivo Drug Availability", *Pharm. Ind.*, 44: 1166 (1982)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Προσομοιώσεις Α - In vitro καμπύλες διάλυσης και in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο

Π. Ι. 1 Προσομοίωση A1: $u_R = 1, u_T = 0.2, k_{aR} = 0.6, k_{aT} = [0.21-1.8]$

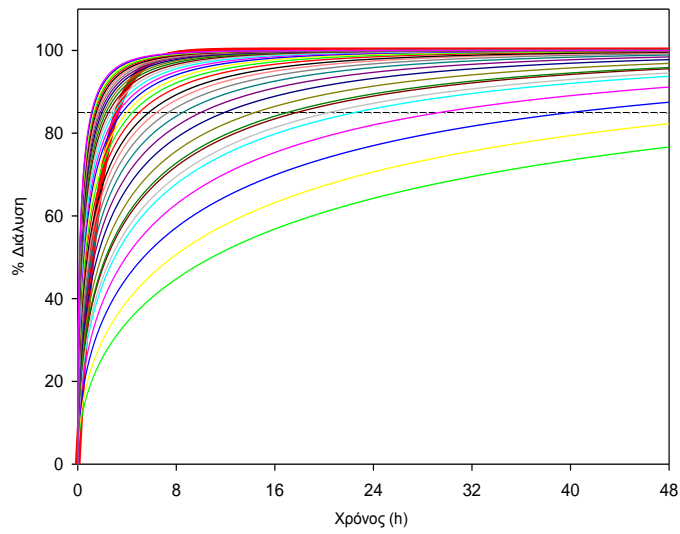


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

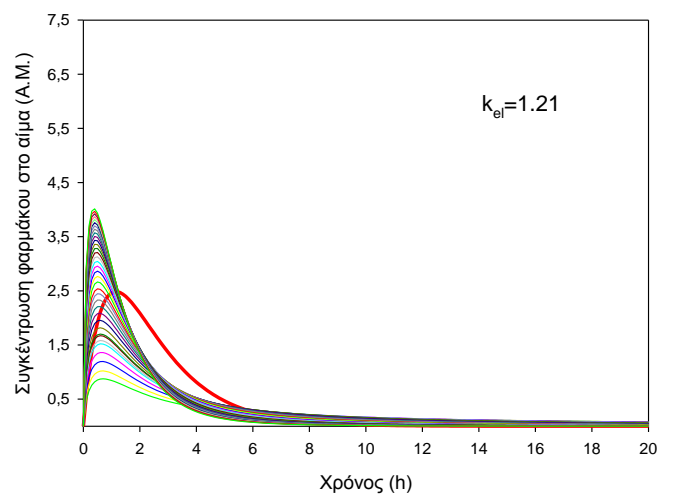
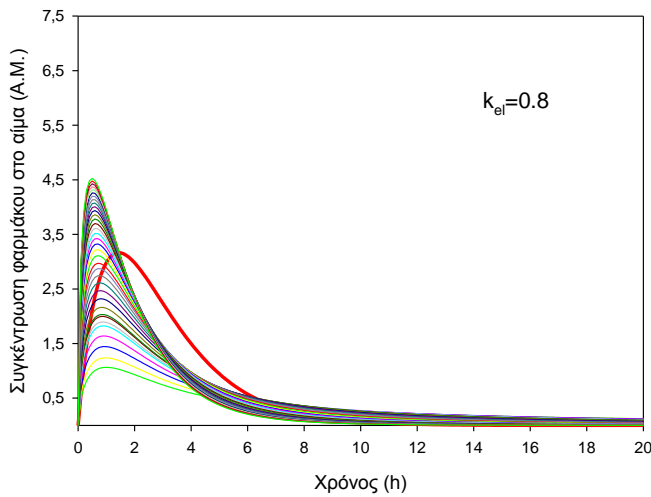
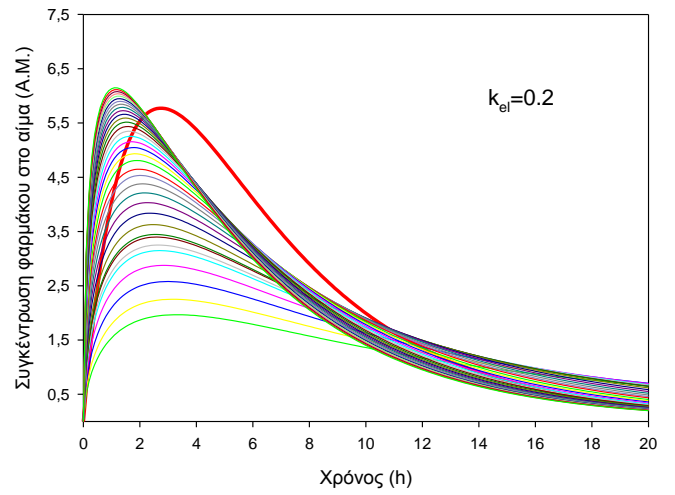
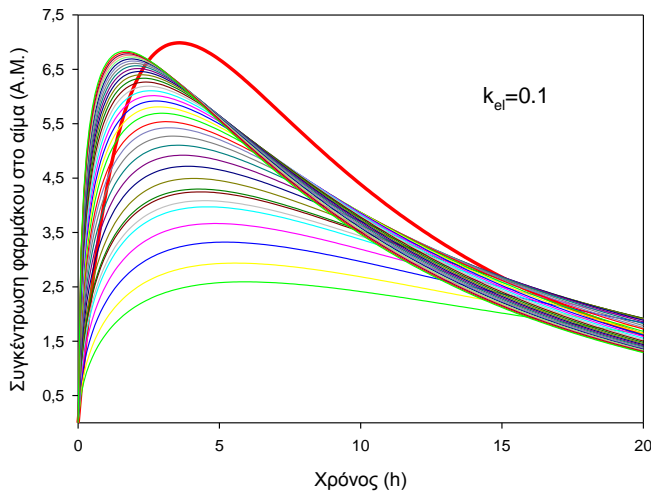


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 2 Προσομοίωση A2: $u_R = 1$, $u_T = 0.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

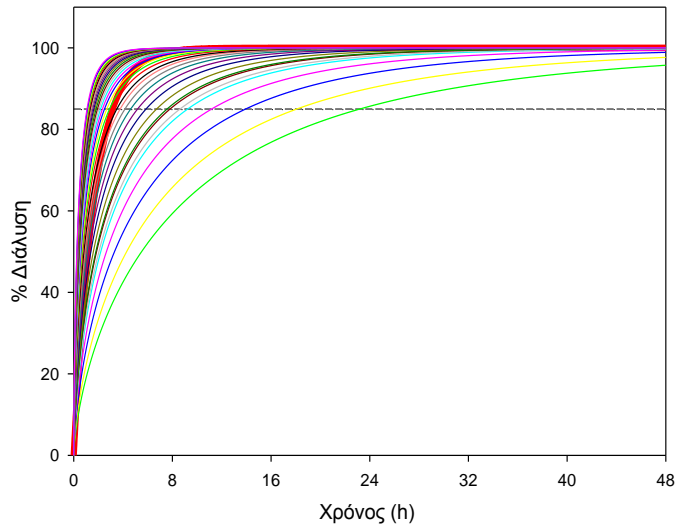


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

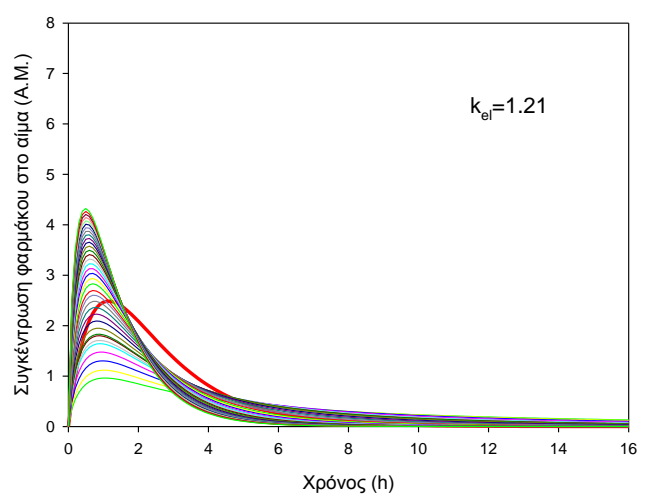
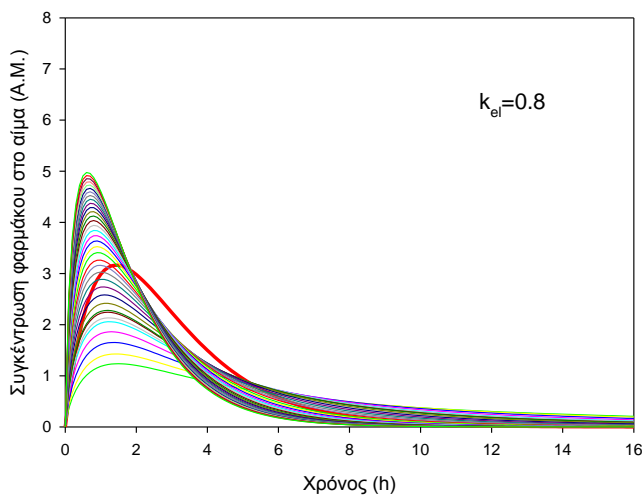
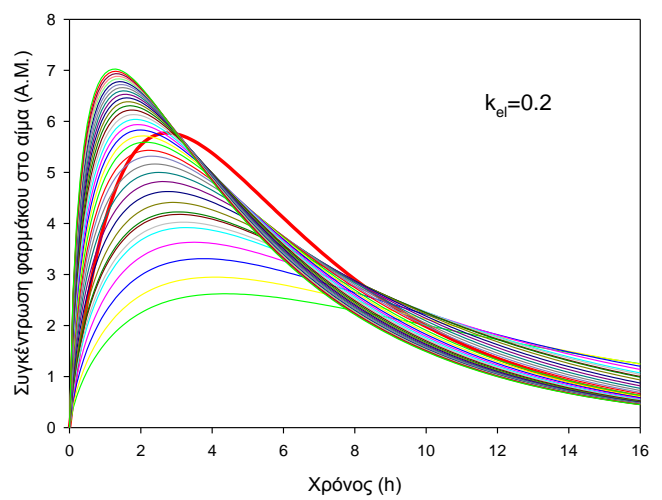
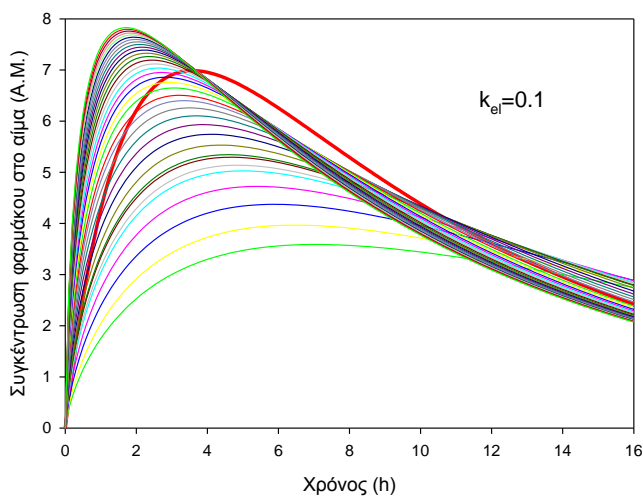


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 3 Προσομοίωση Α3: $u_R = 1, u_T = 0.7, k_{aR} = 0.6, k_{aT} = [0.21-1.8]$

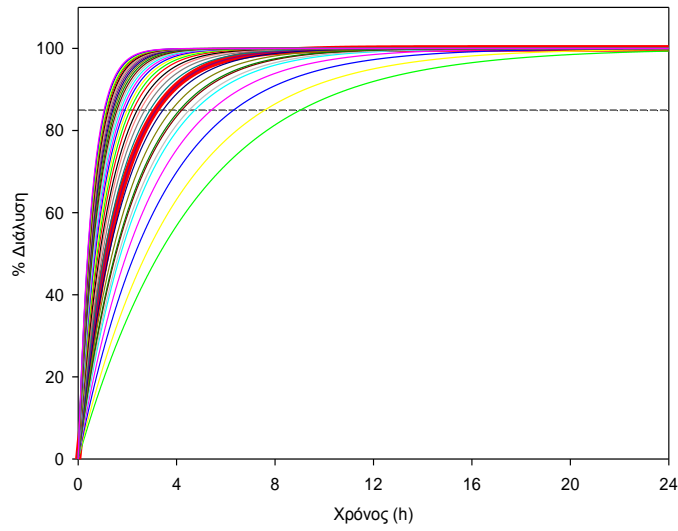


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

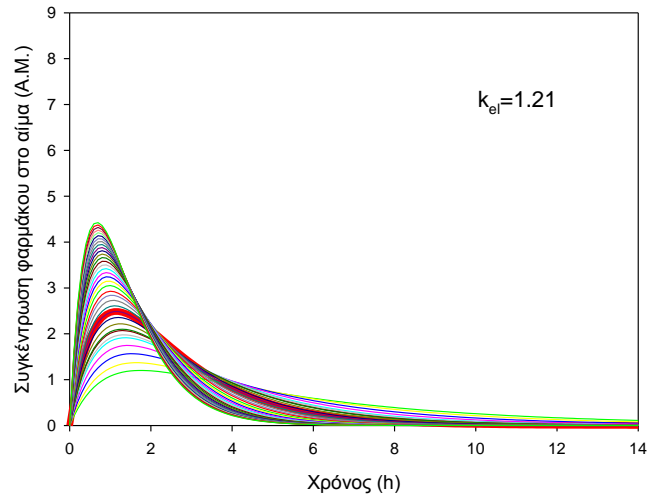
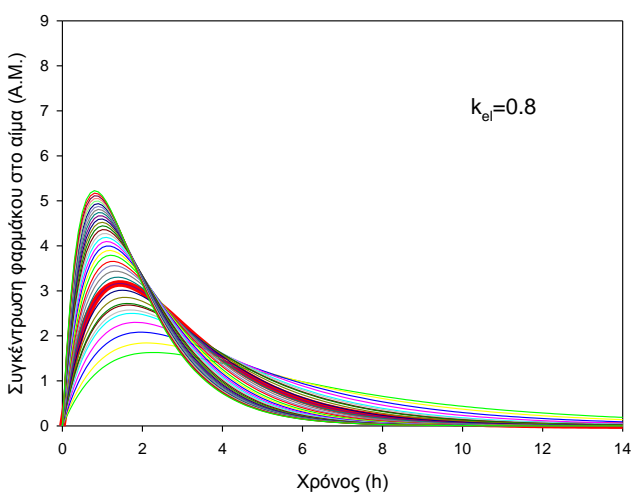
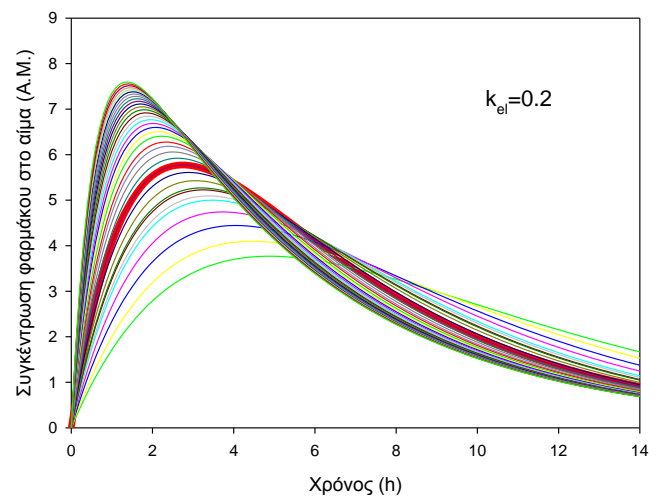
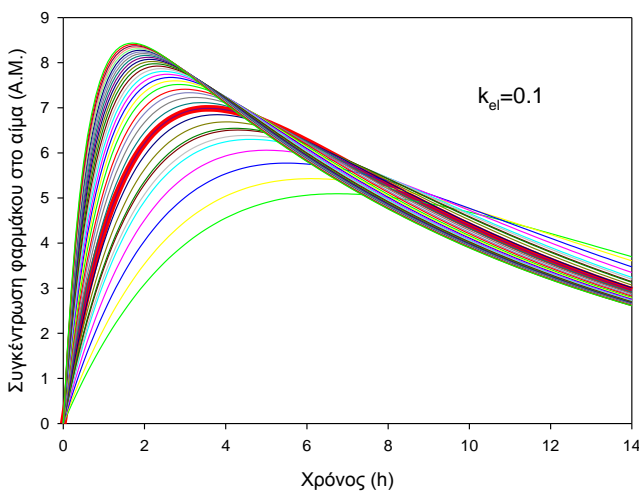


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 4 Προσομοίωση Α4: $u_R = 1$, $u_T = 1$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

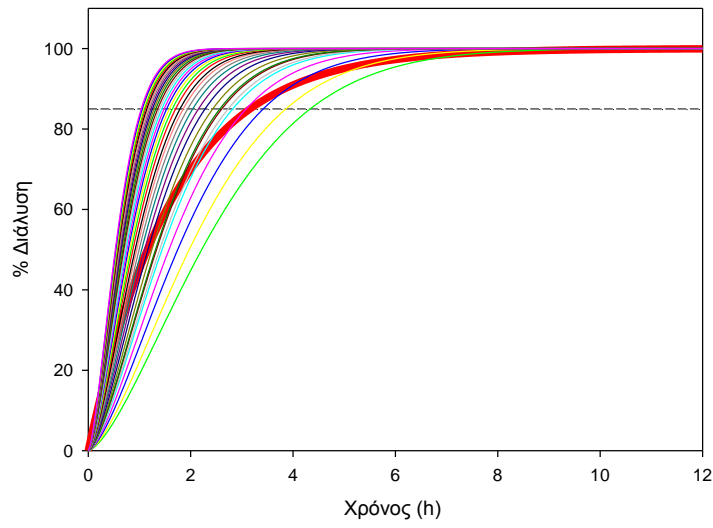


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

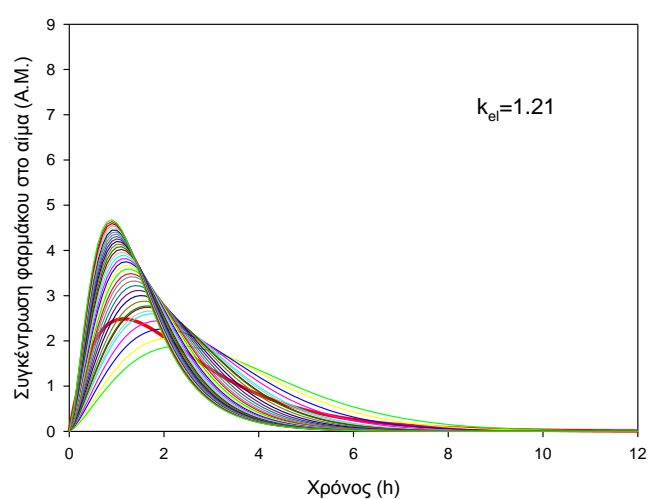
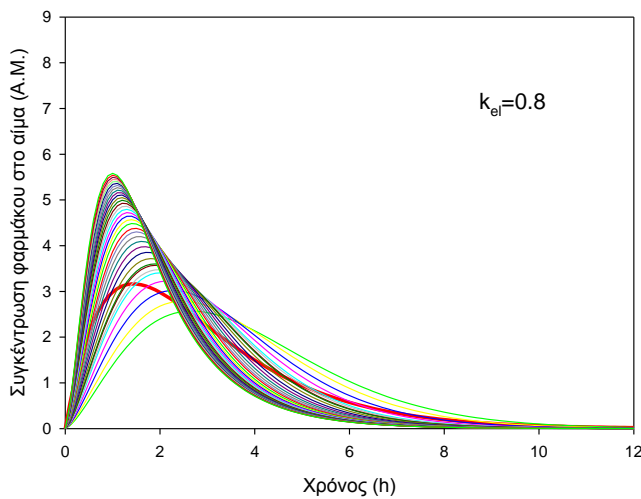
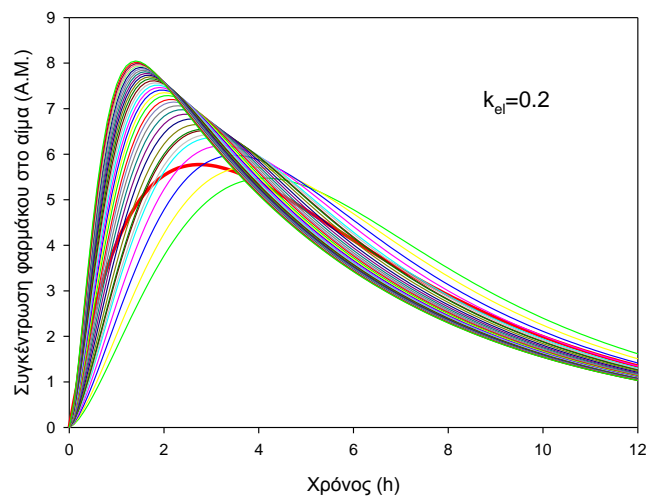
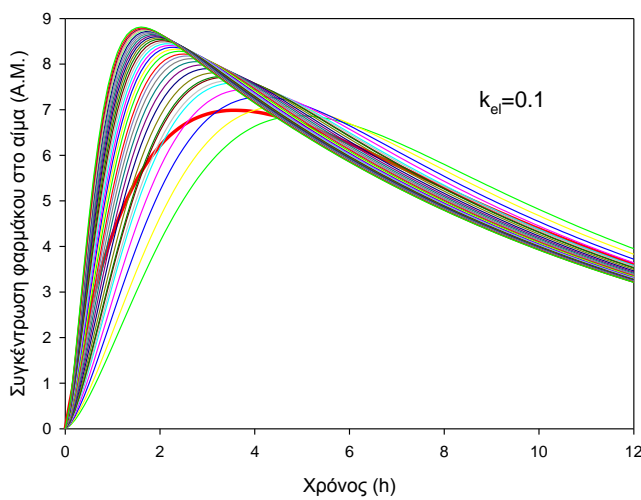


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 5 Προσομοίωση A5: $u_R = 1$, $u_T = 1.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

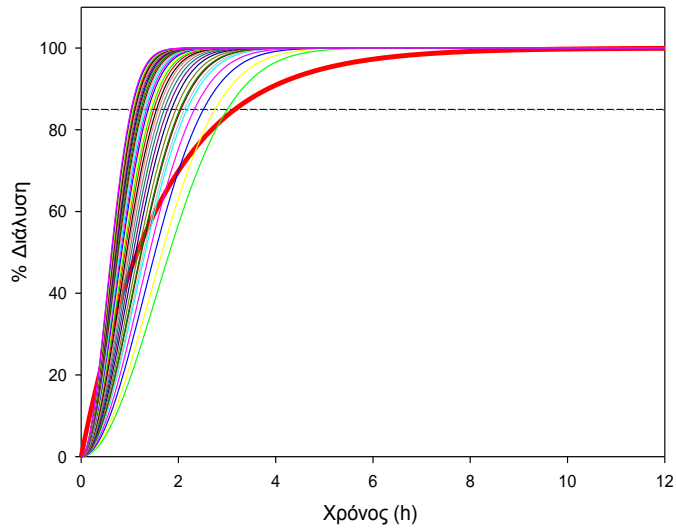


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

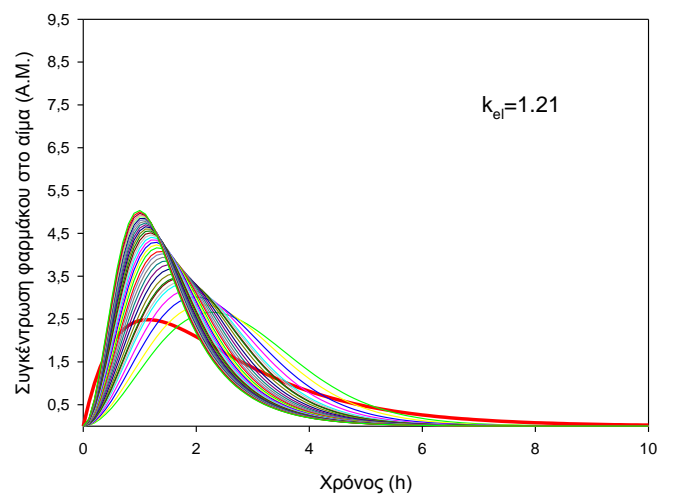
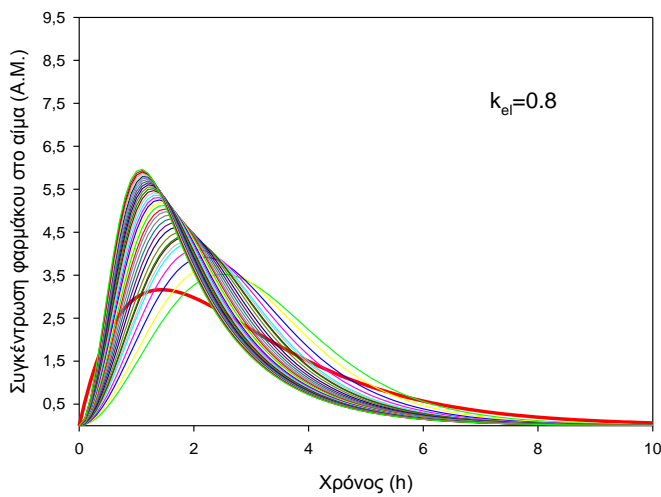
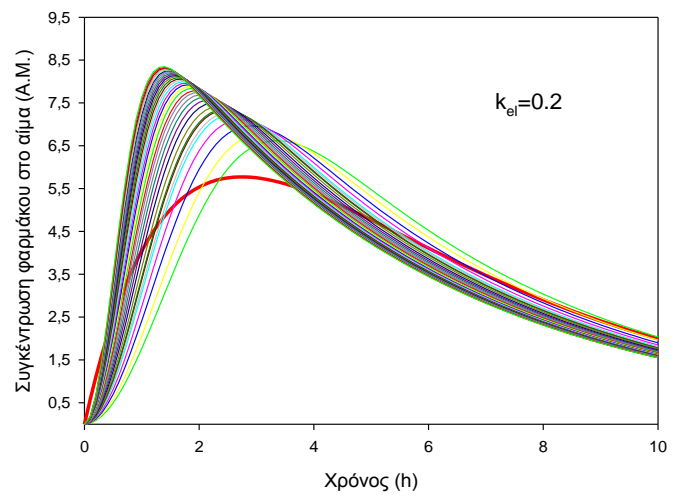
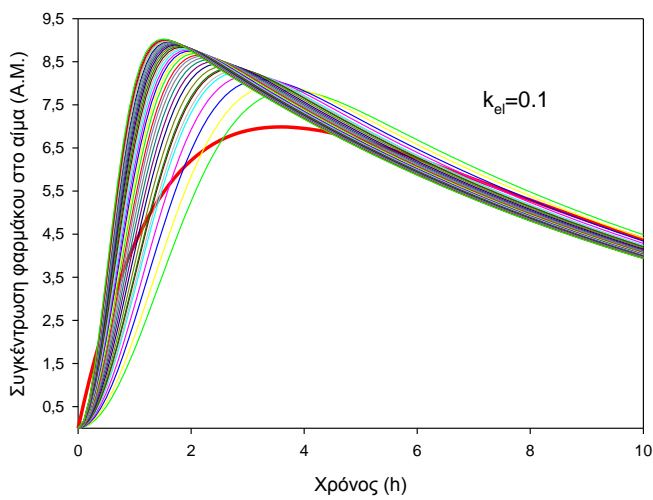


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 6 Προσομοίωση Α6: $u_R = 1, u_T = 2, k_{aR} = 0.6, k_{aT} = [0.21-1.8]$

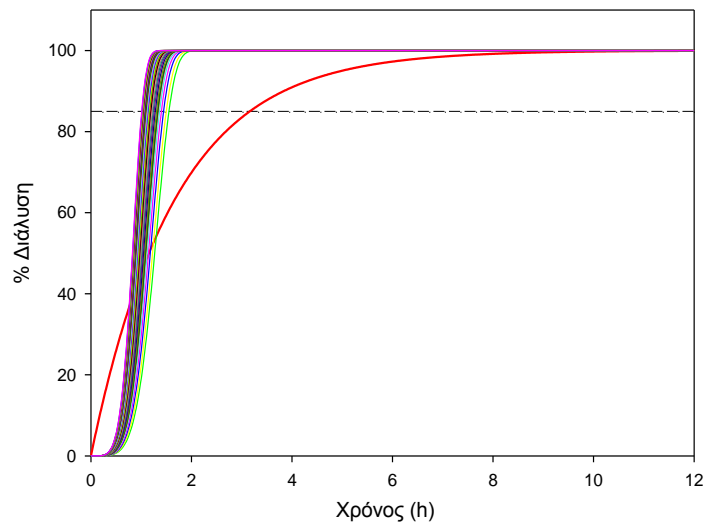


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

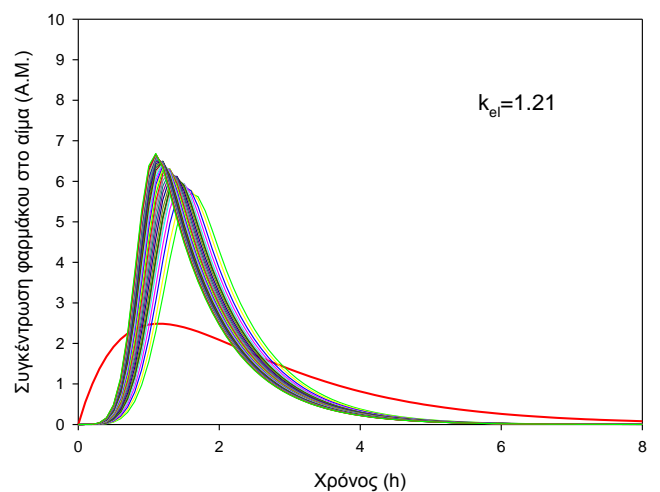
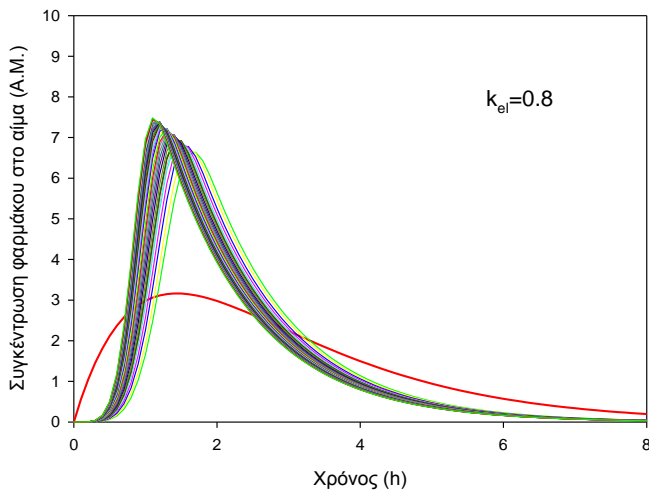
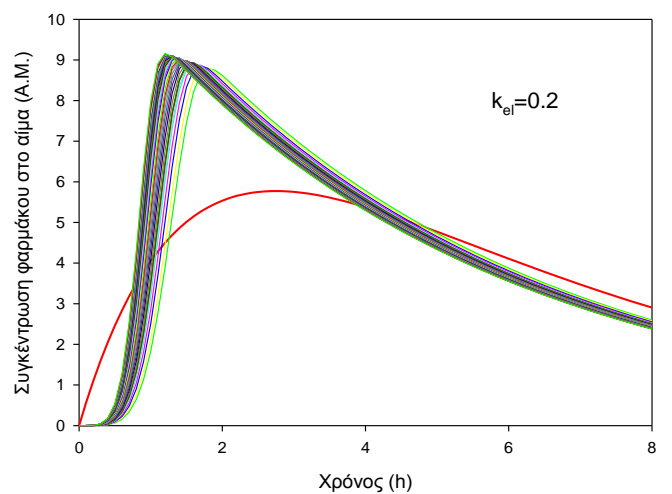
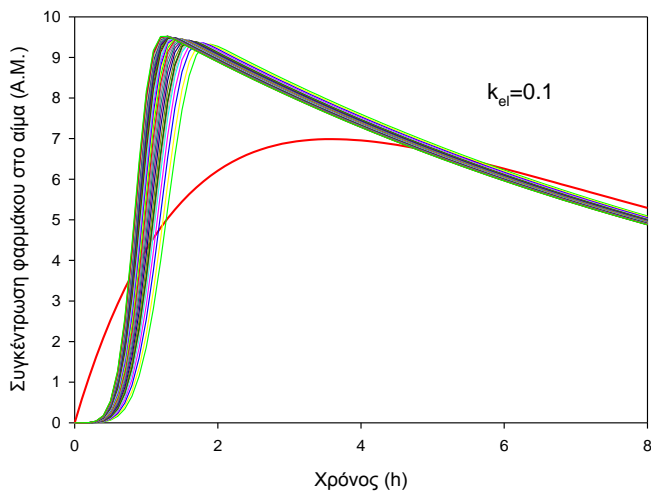


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. Ι. 7 Προσομοίωση A7: $u_R = 1$, $u_T = 5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$



In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)



In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

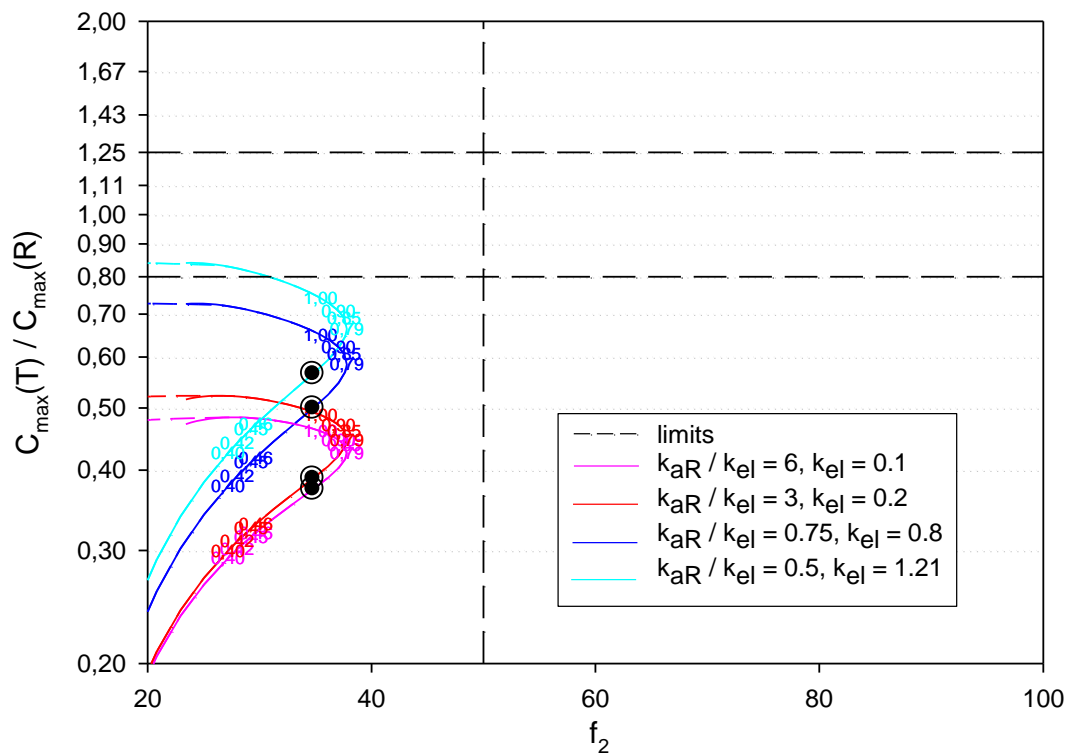
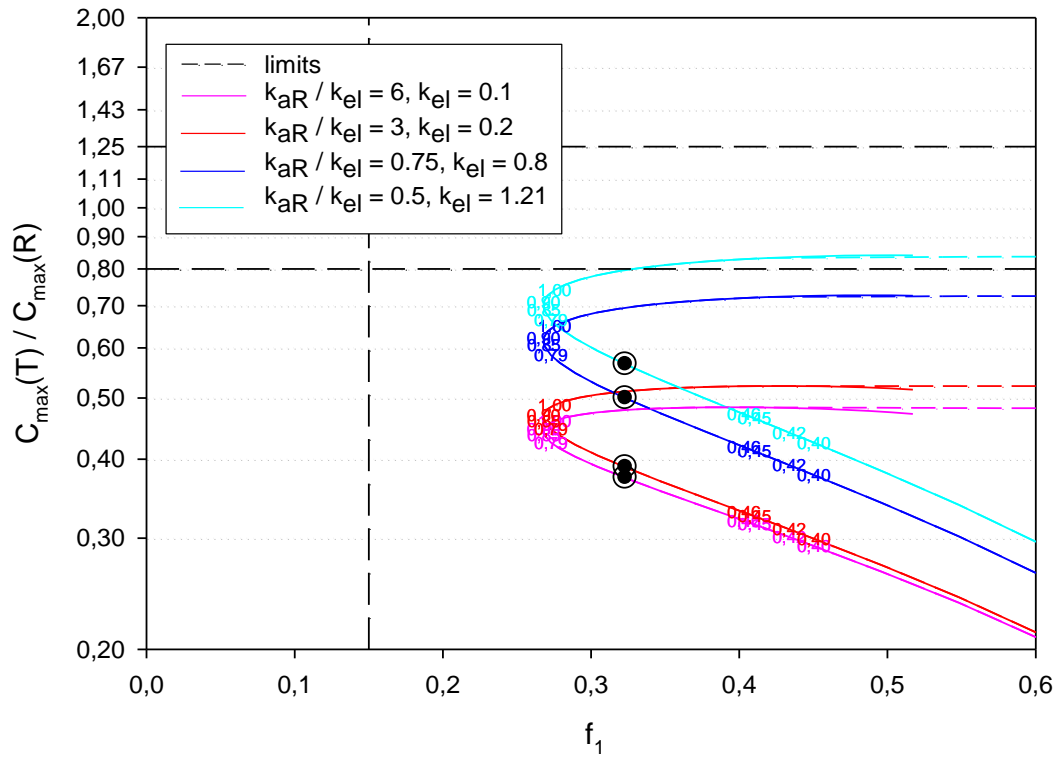
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: Προσομοιώσεις A - In vitro-in vivo συσχετίσεις

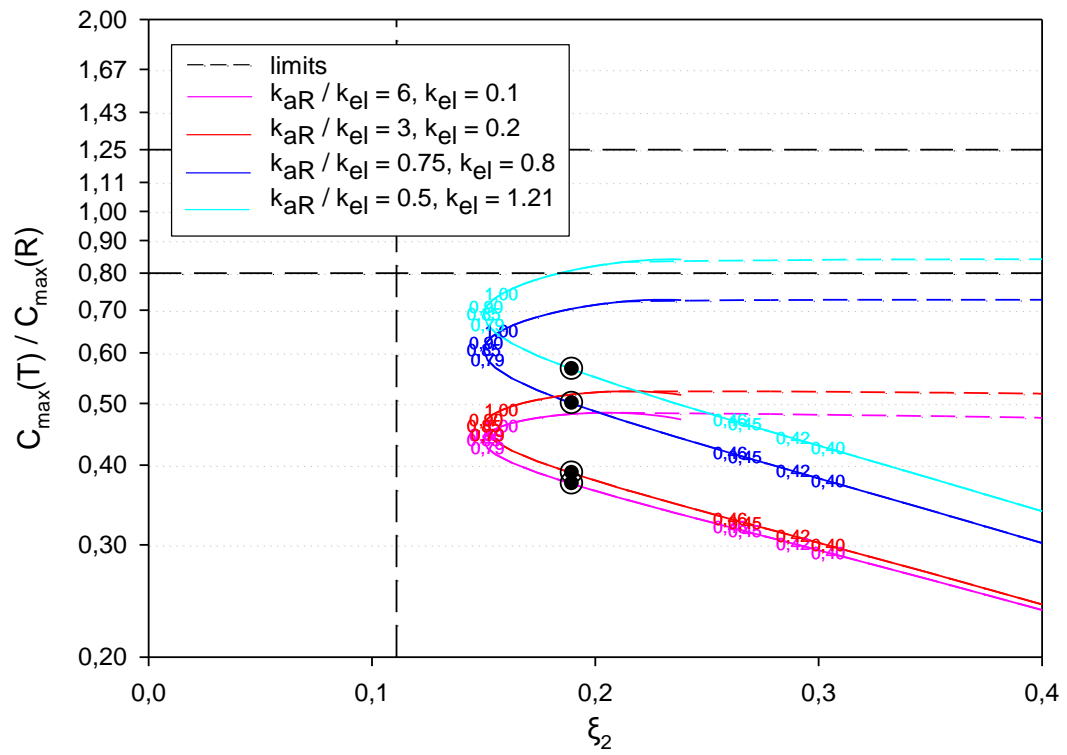
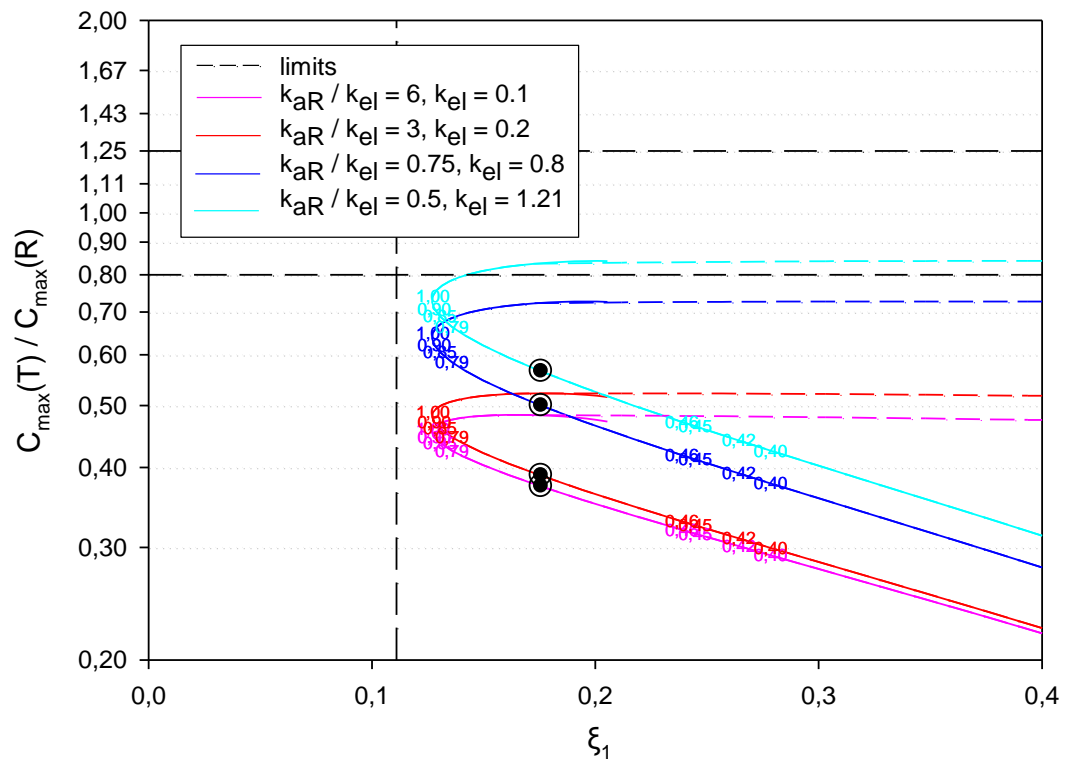
Στα σχήματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ που υπολογίζονται από τα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα για διάφορες τιμές k_{aT} και k_{el} , σε σχέση με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 που υπολογίζονται από τα in vitro δεδομένα διάλυσης. Σε κάθε σχήμα οι συνεχείς έγχρωμες γραμμές αντιστοιχούν στις περιπτώσεις όπου ο υπολογισμός των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής ref85, ενώ οι διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές στις περιπτώσεις όπου ο υπολογισμός των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής fast85. Οι μαύρες διακεκομμένες γραμμές αντιστοιχούν στα όρια ομοιότητας in vitro καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Ο κλειστός κύκλος αντιστοιχεί στις συσχετίσεις που προκύπτουν για το σκεύασμα υπό έλεγχο με $k_{aT} = k_{aR}$ όταν η εκτίμηση των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής ref85, ενώ ο ανοιχτός κύκλος στις συσχετίσεις που προκύπτουν για το σκεύασμα υπό έλεγχο με $k_{aT} = k_{aR}$ όταν η εκτίμηση των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής fast85. Οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} αντιστοιχούν σε οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων που προκύπτουν για τις παρακάτω οκτώ ορισμένες τιμές του ρυθμού απορρόφησης:

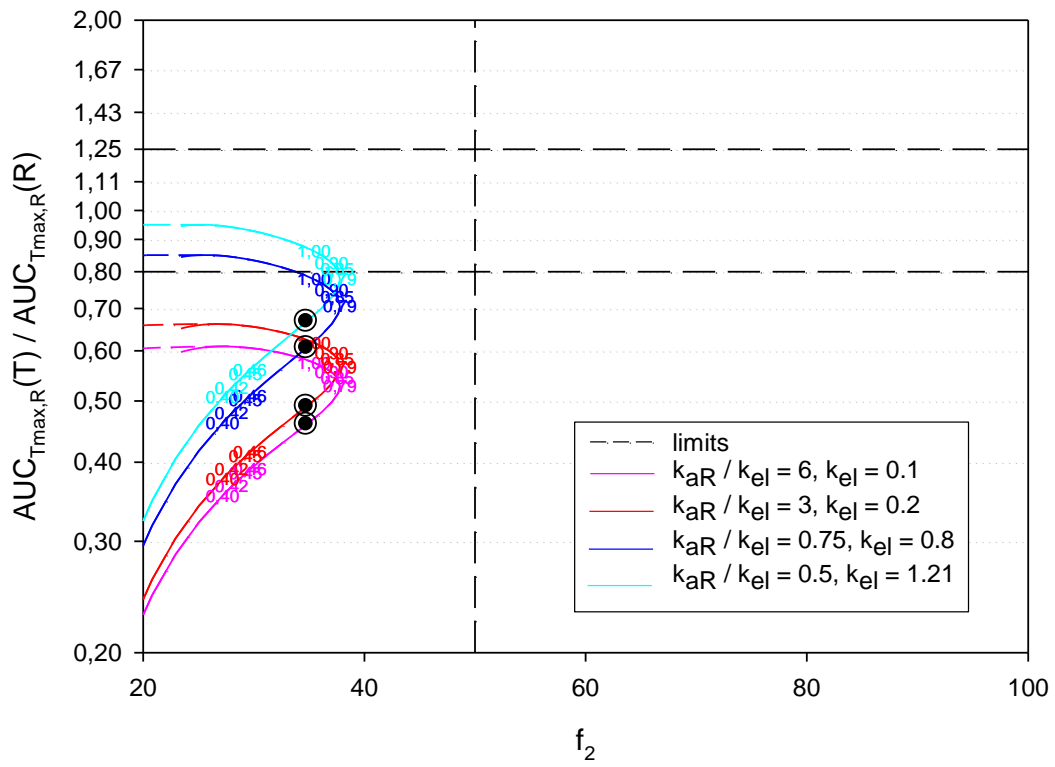
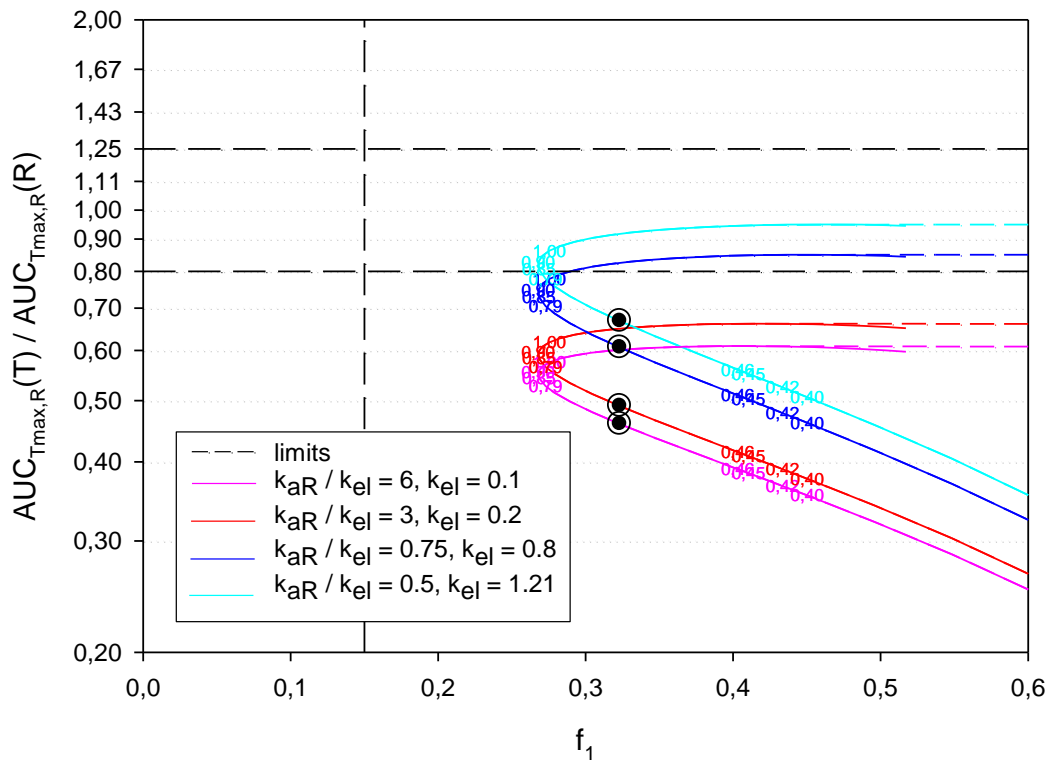
k_{aT} (h^{-1}): 0.40, 0.42, 0.45, 0.46, 0.79, 0.85, 0.90, 1.00

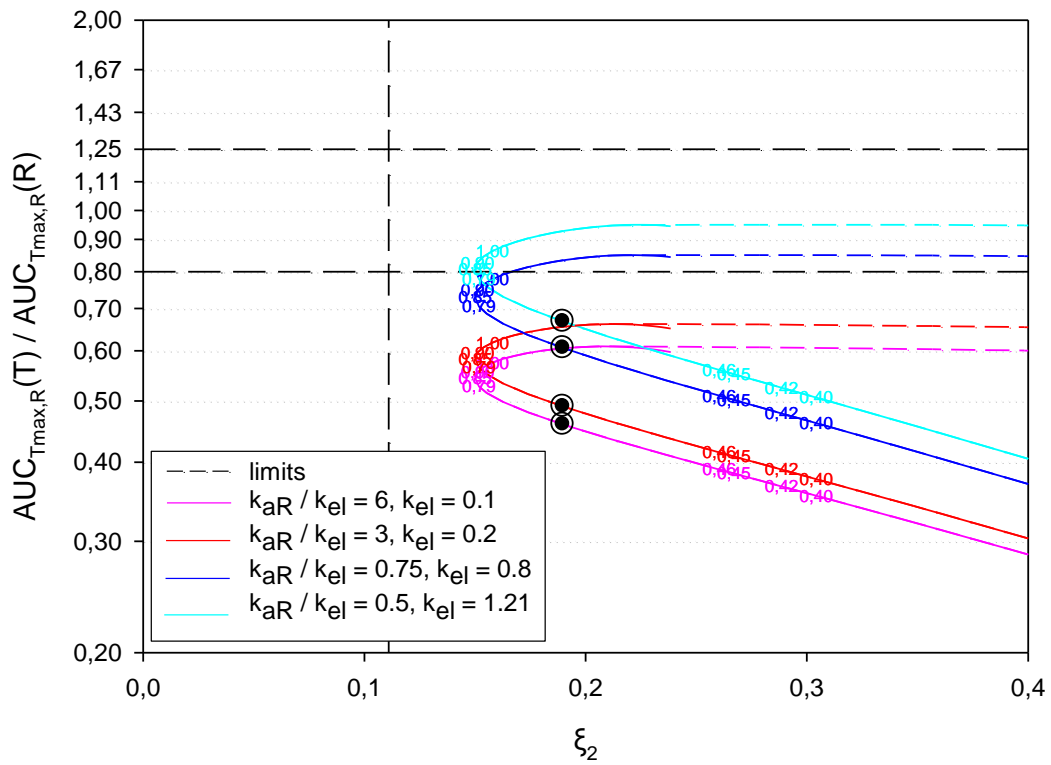
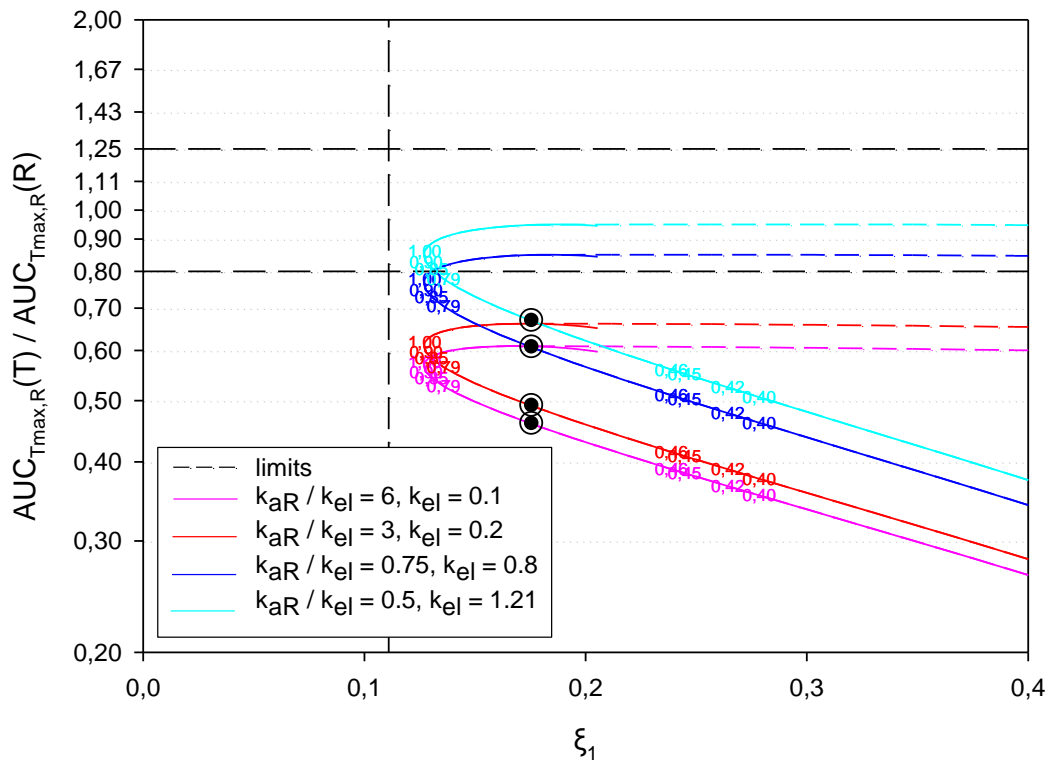
Υπενθυμίζεται ότι για πρωτοταξική κινητική οι συγκεκριμένες τιμές αποδίδουν τιμές που βρίσκονται κοντά στα όρια τόσο ομοιότητας των in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες άμεσης σύγκρισης όσο και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{Tmax,R}$ ¹⁰⁴ και αξιοποιούνται ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση των νέων συσχετίσεων με την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου και να αναδειχθεί έτσι πως επηρεάζεται η συσχέτιση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων με τους δείκτες όταν αλλάζει η κινητική και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T .

II. II. 1 In vitro-in vivo συσχετίσεις A1: $u_R = 1$, $u_T = 0.2$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

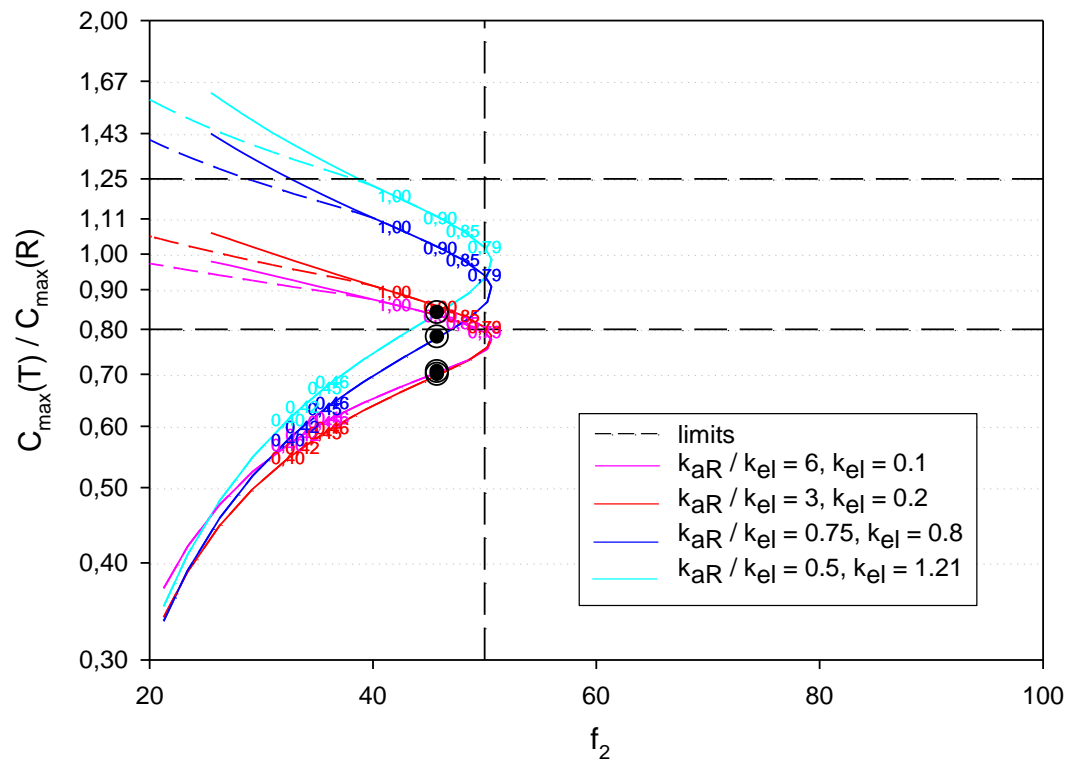
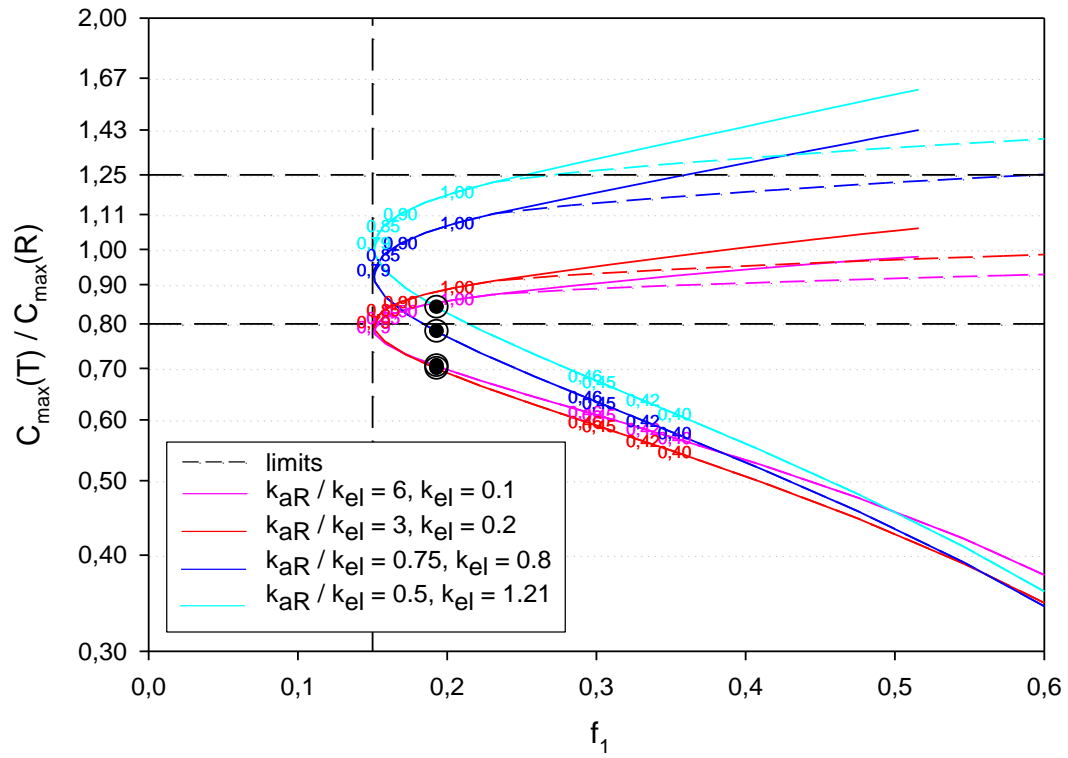


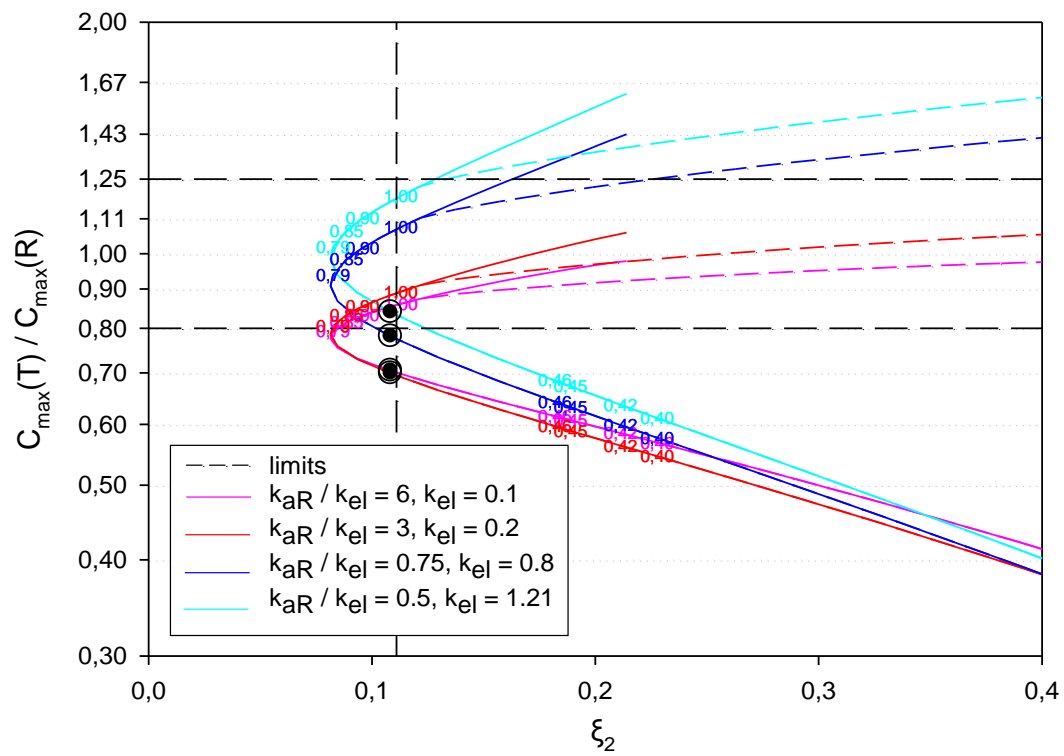
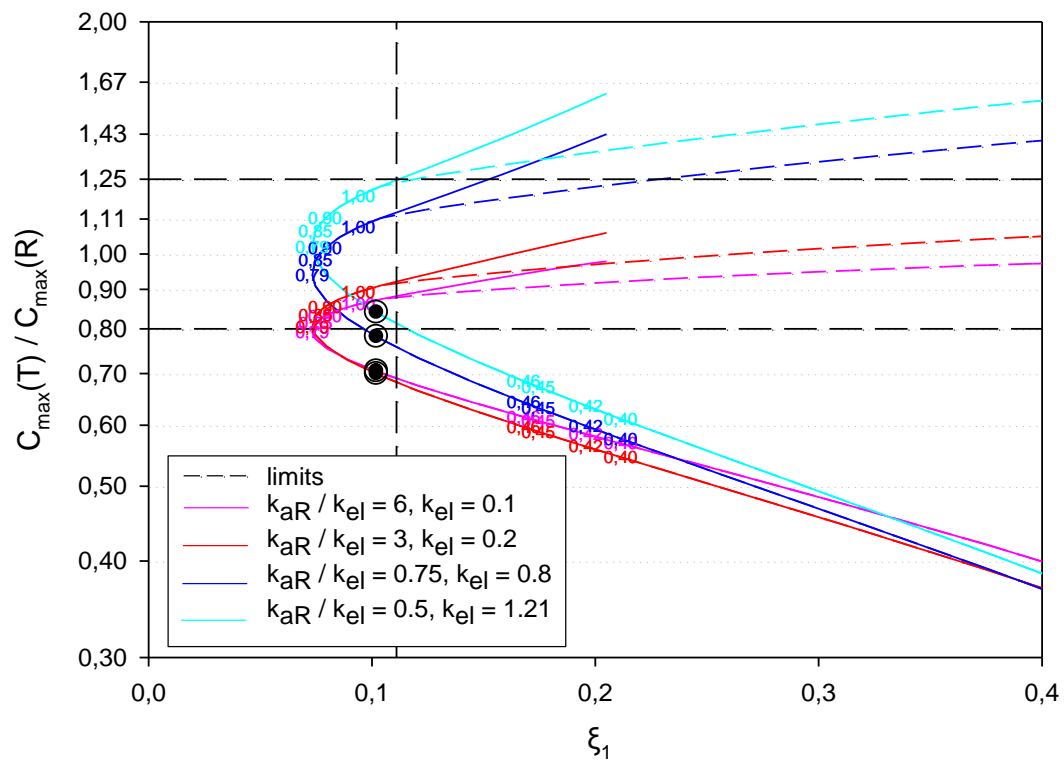


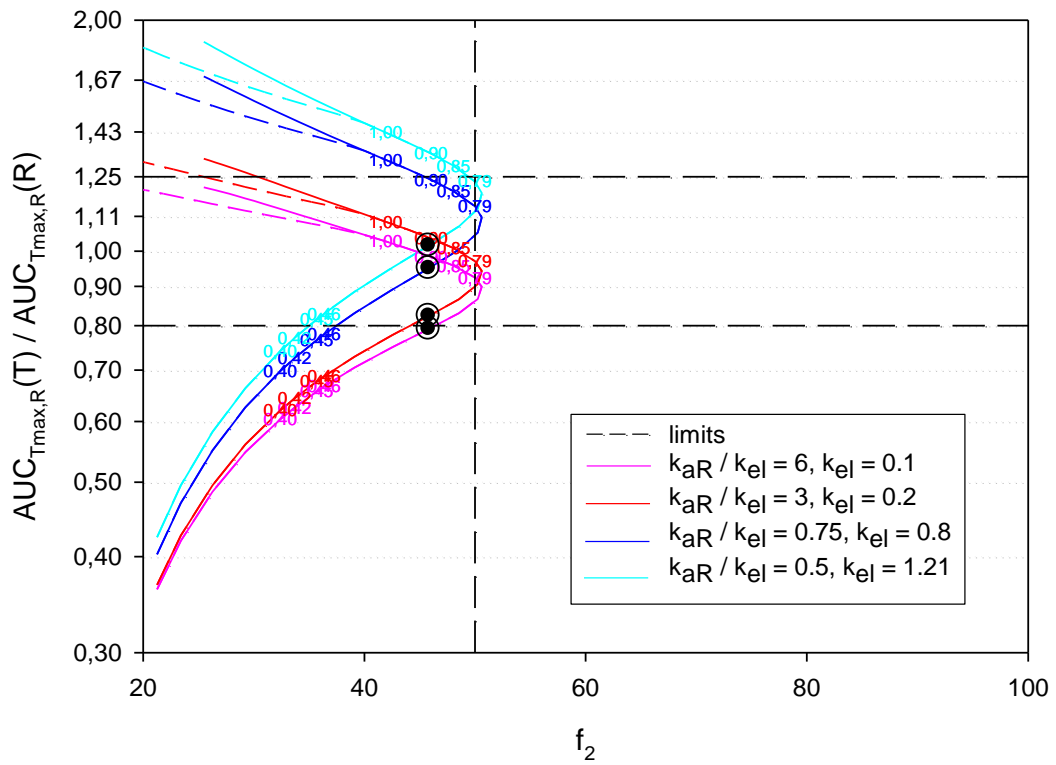
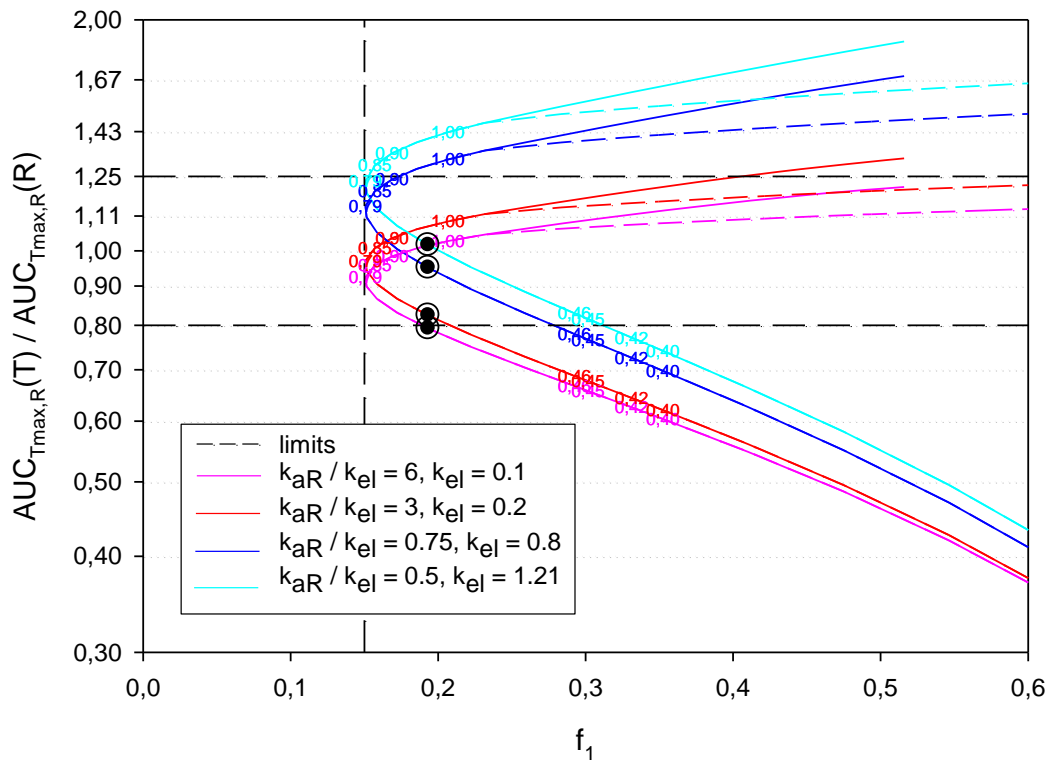


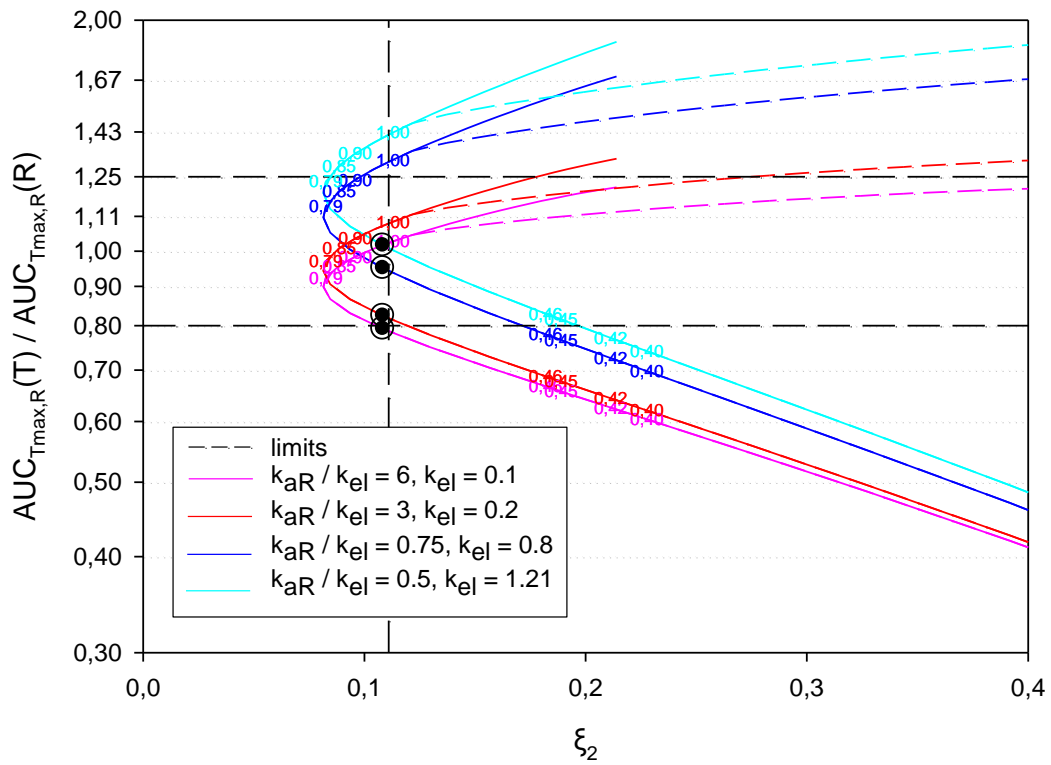
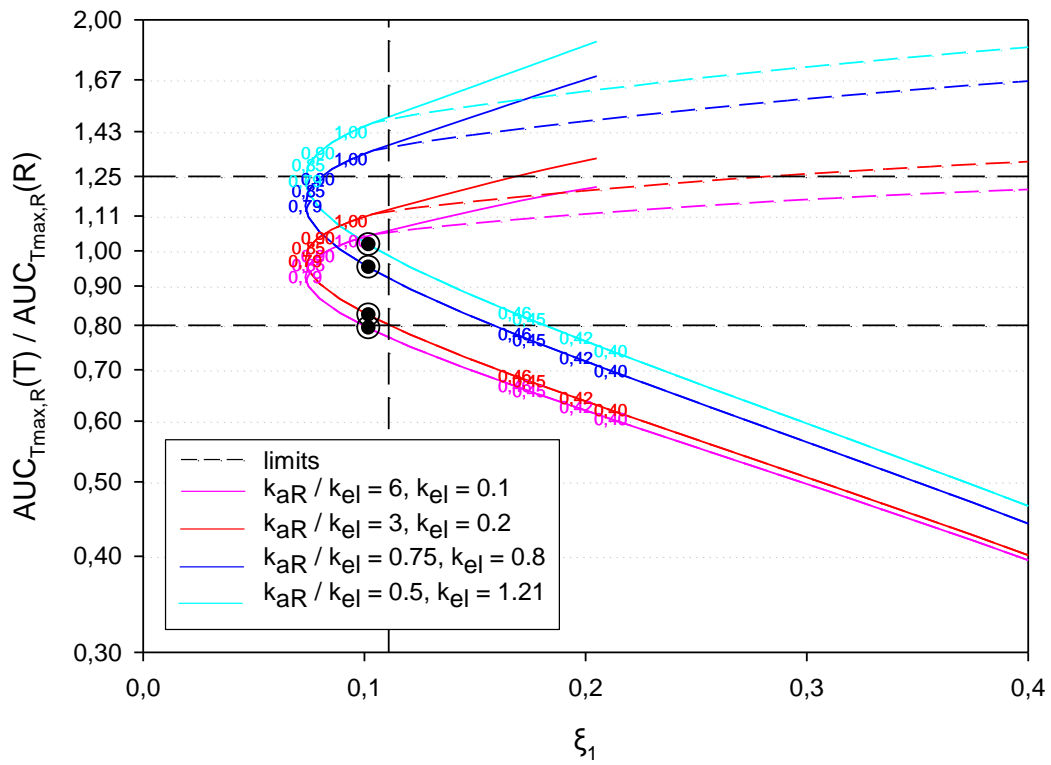


II. II. 2 In vitro-in vivo συσχετίσεις A2: $u_R = 1$, $u_T = 0.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

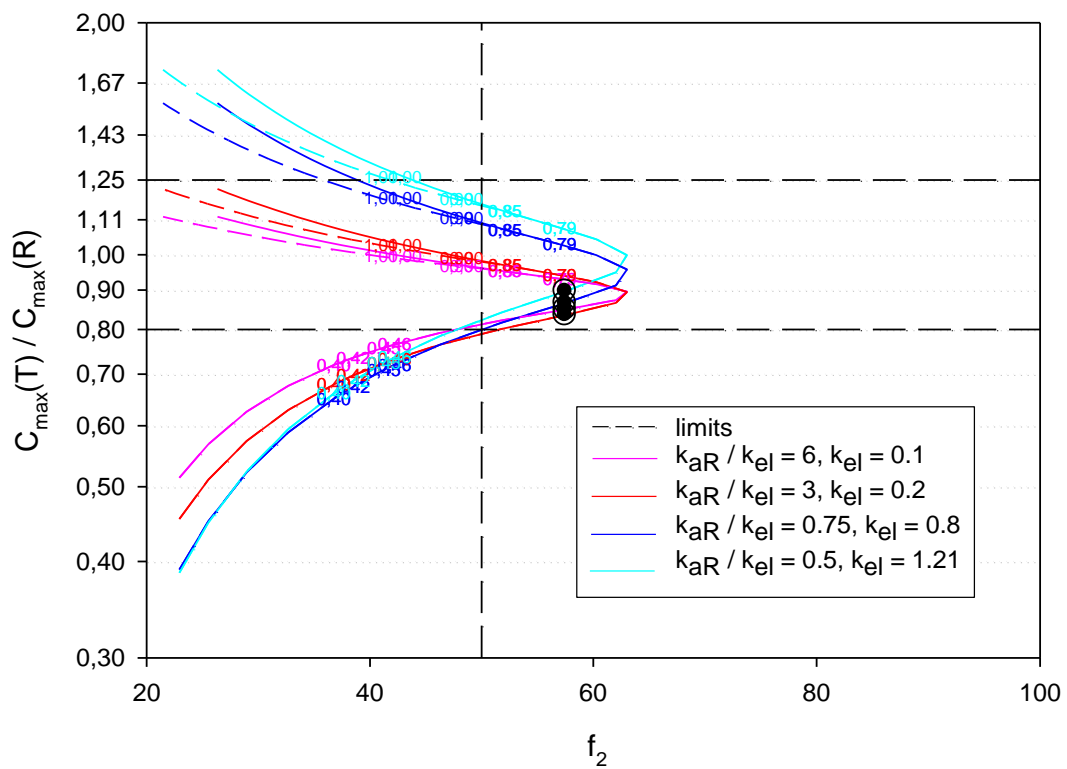
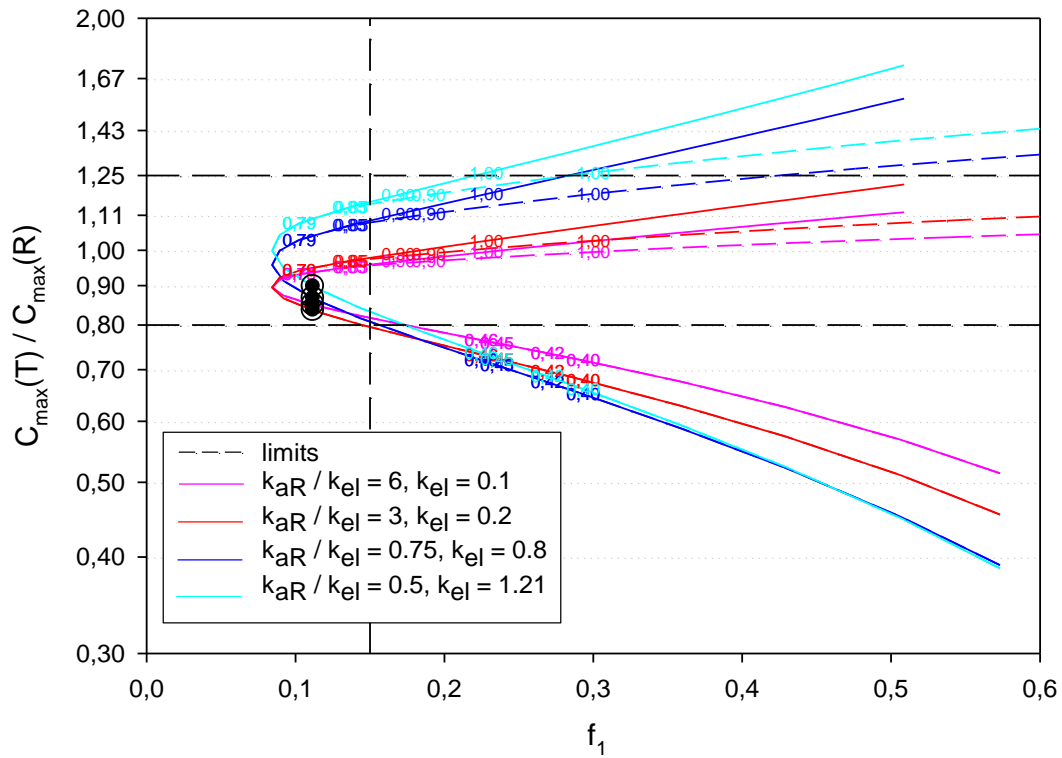


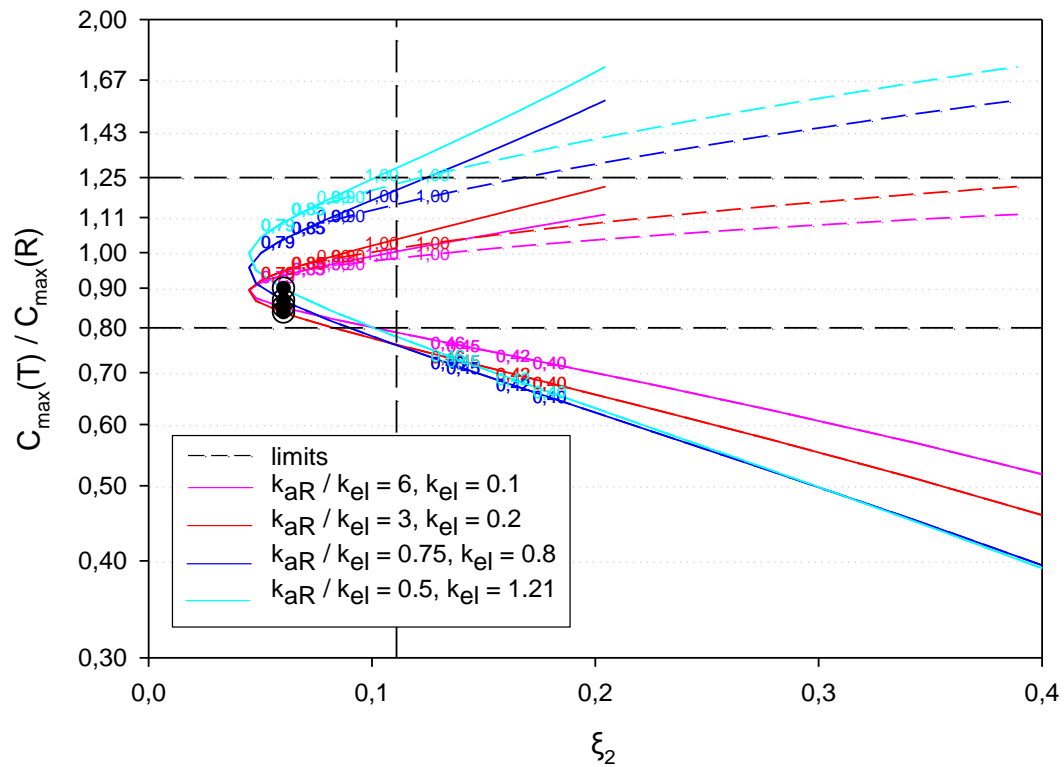
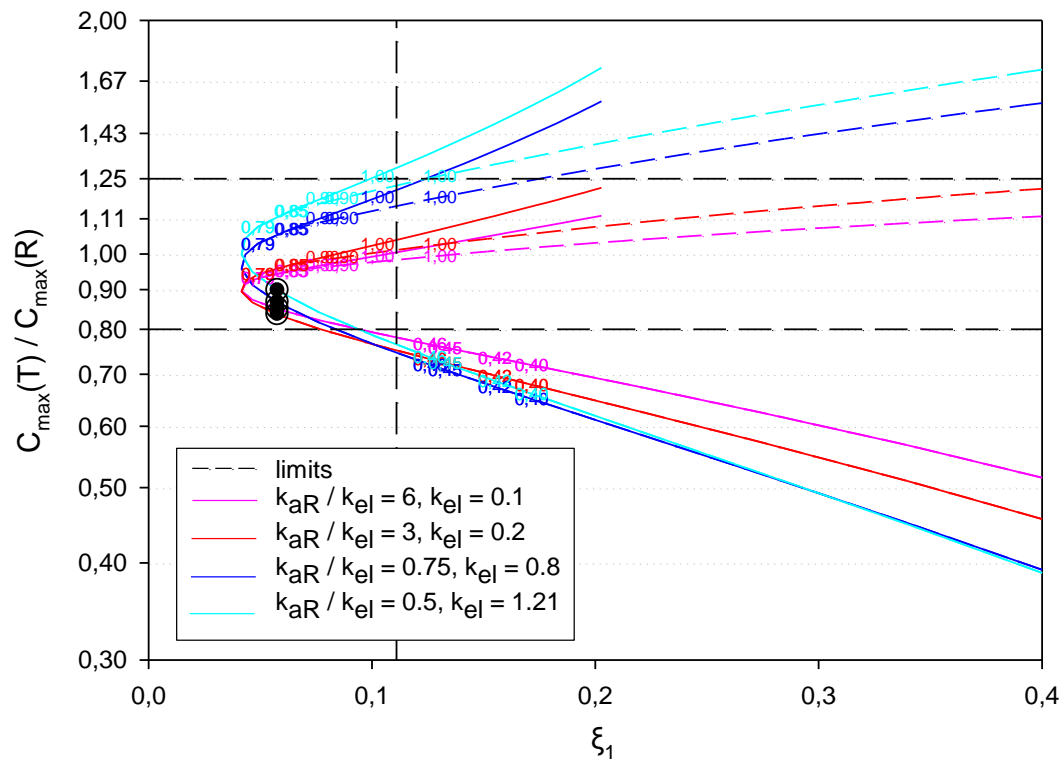


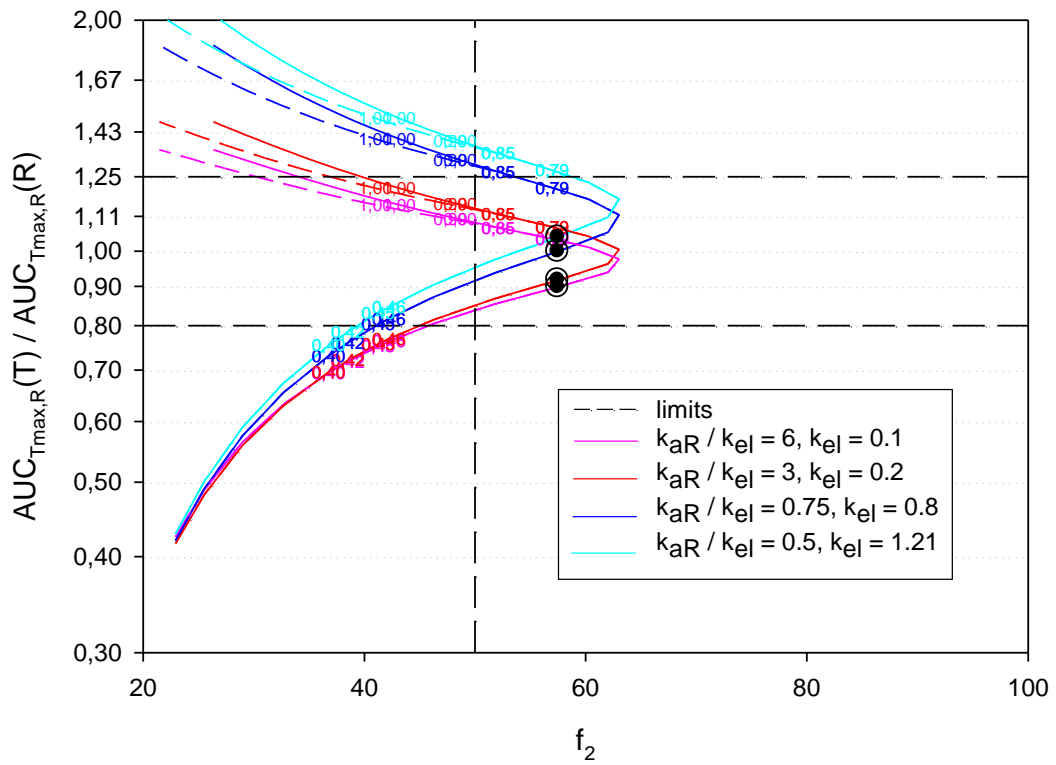
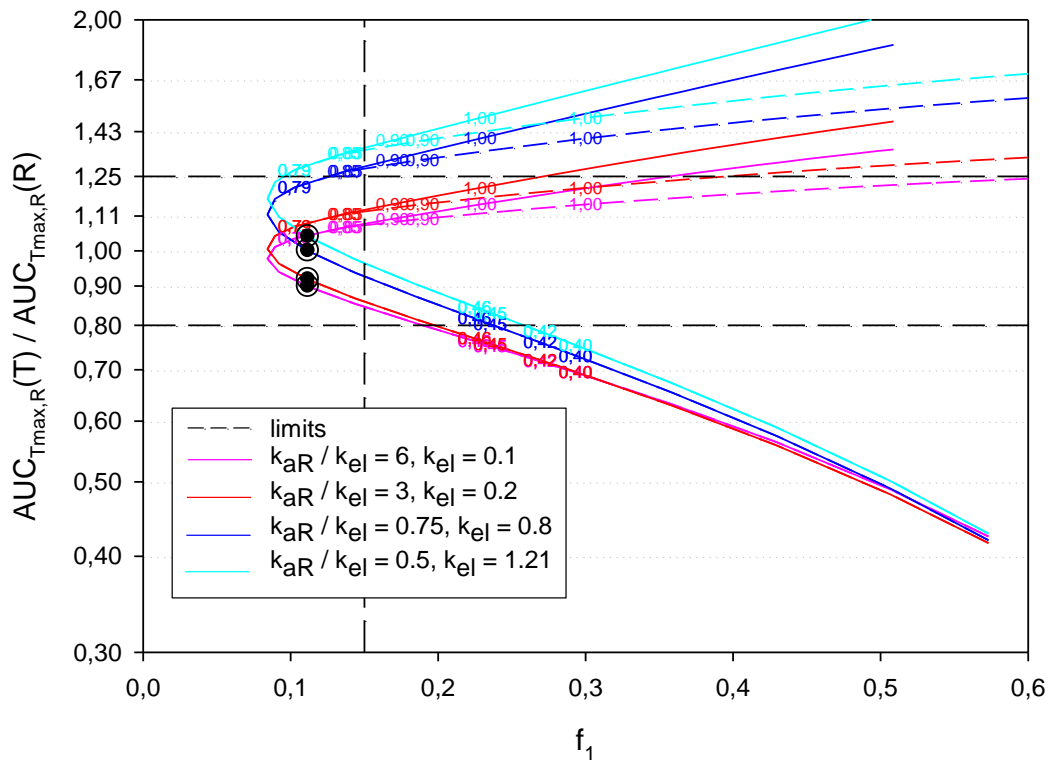


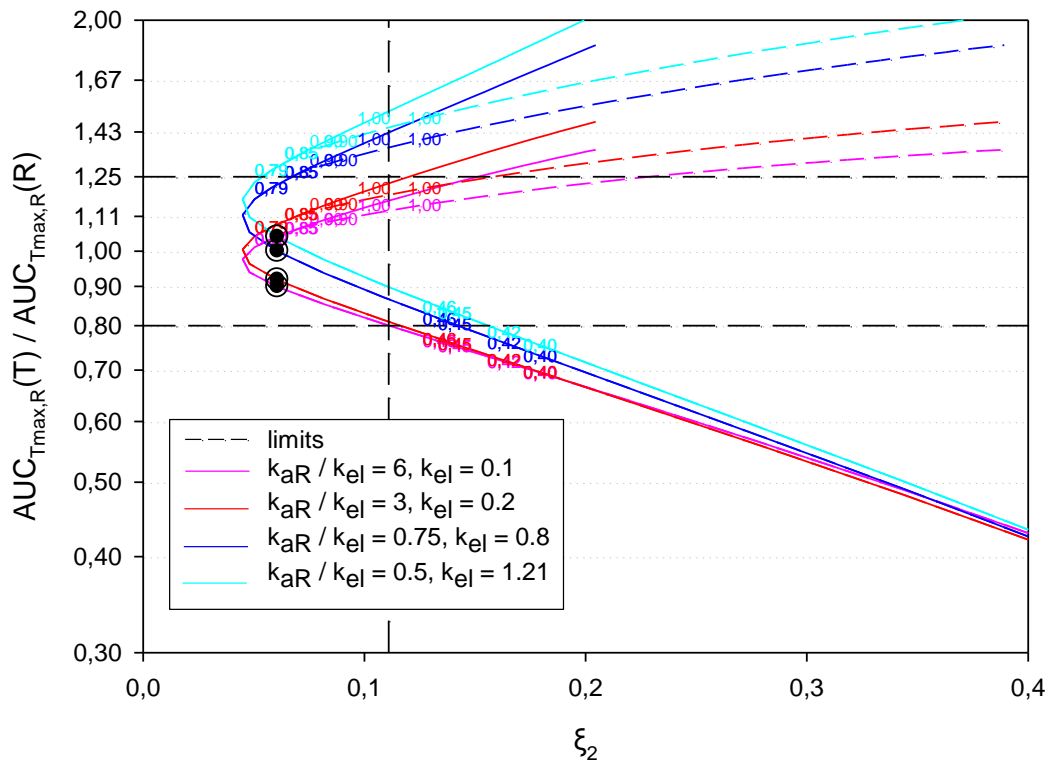
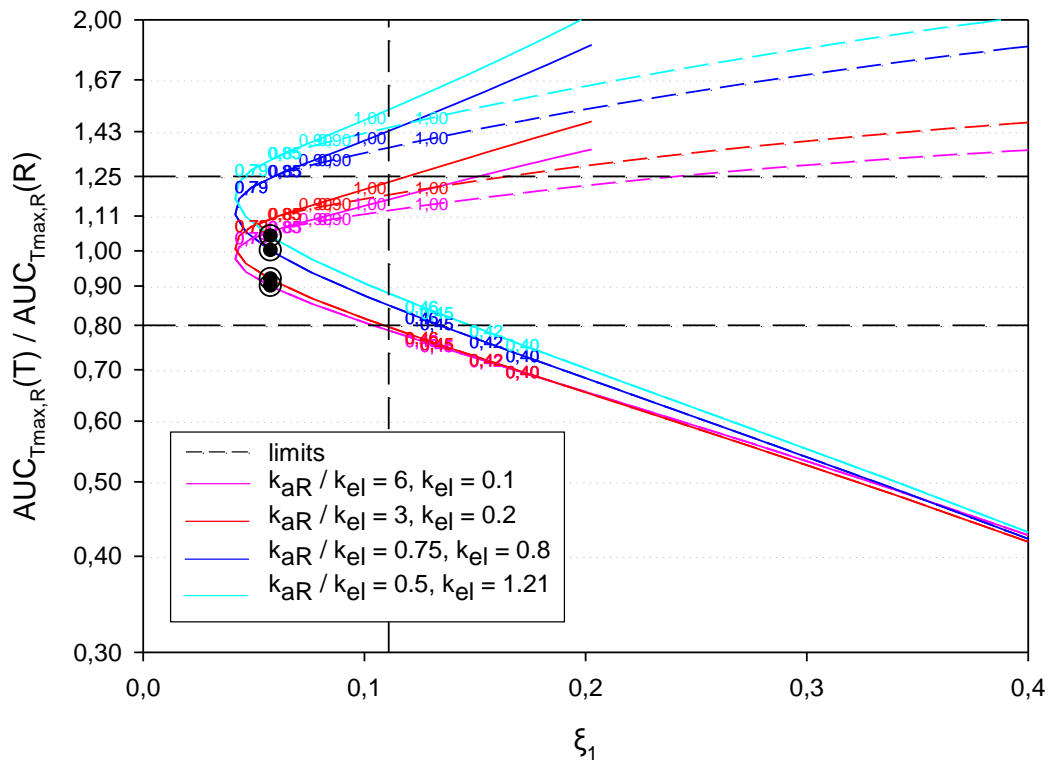


II. II. 3 In vitro-in vivo συσχετίσεις A3: $u_R = 1$, $u_T = 0.7$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

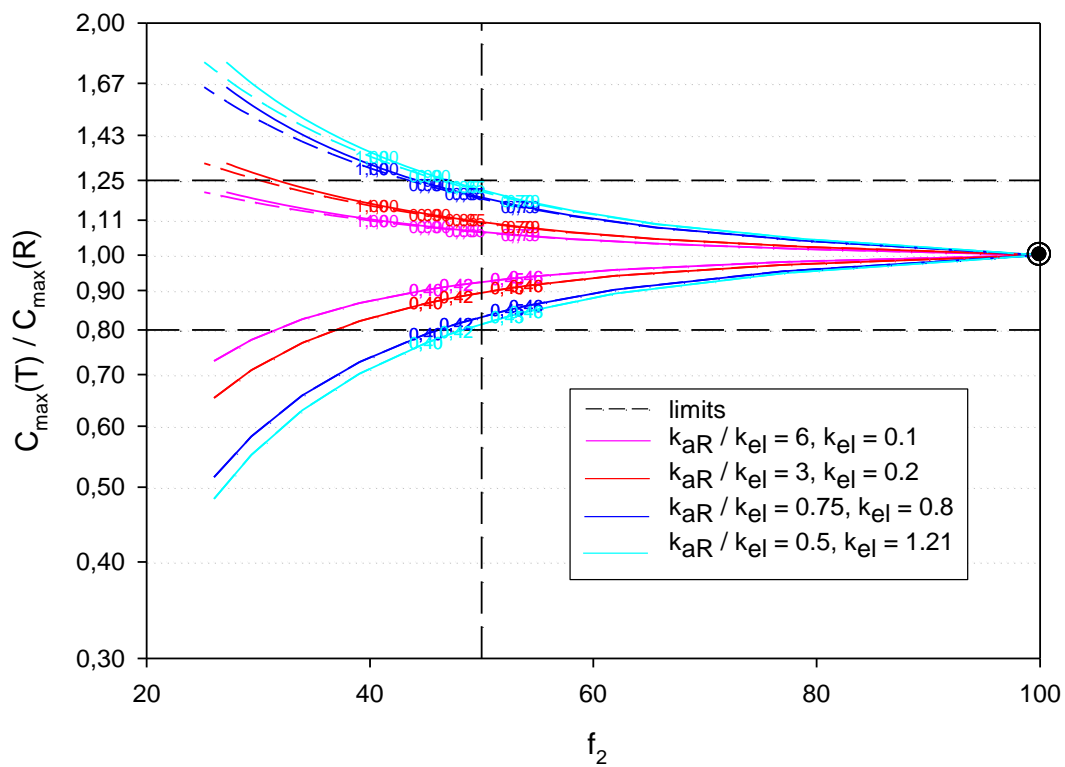
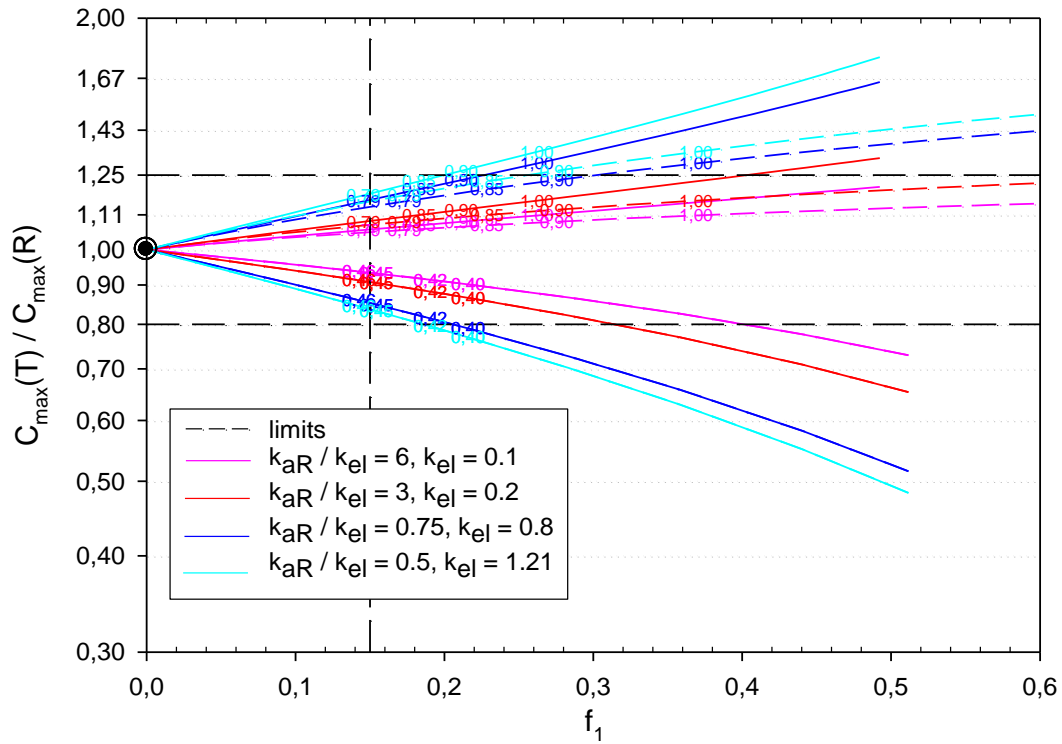


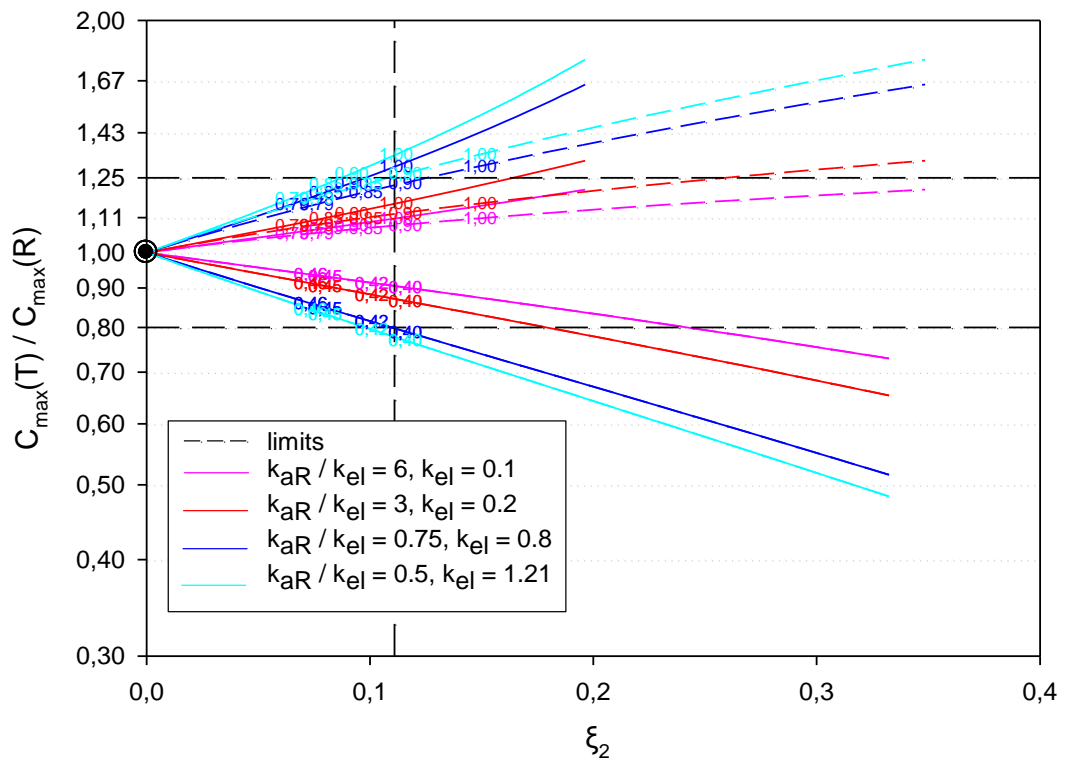
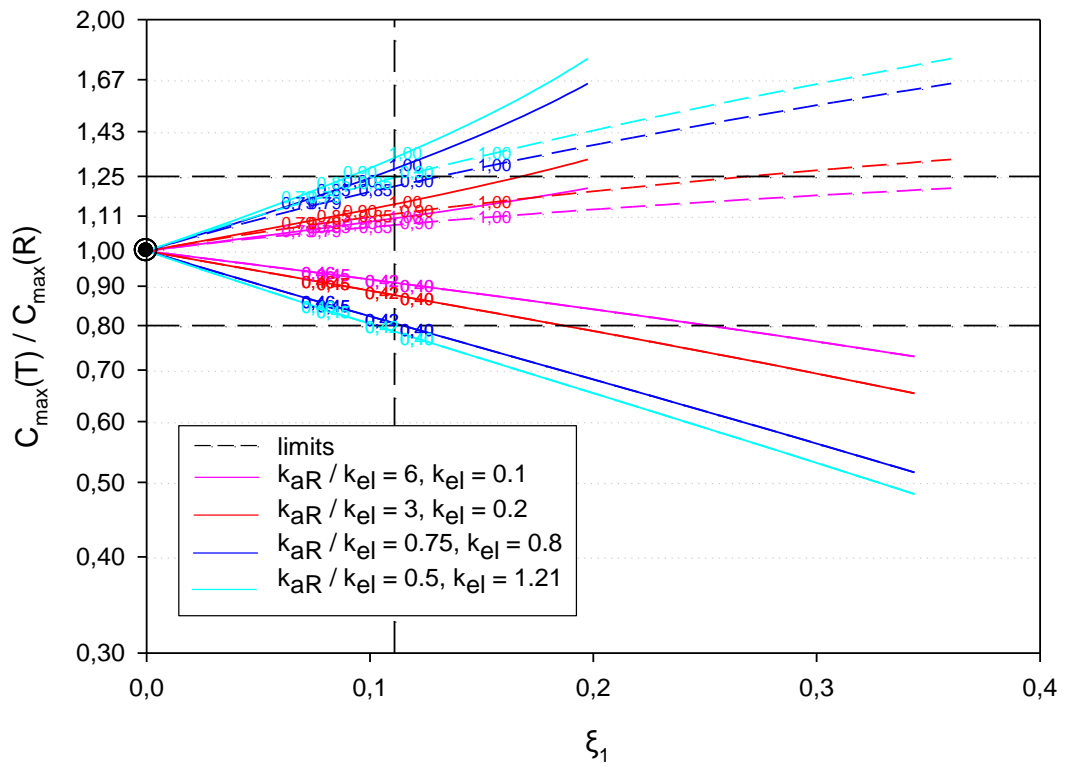


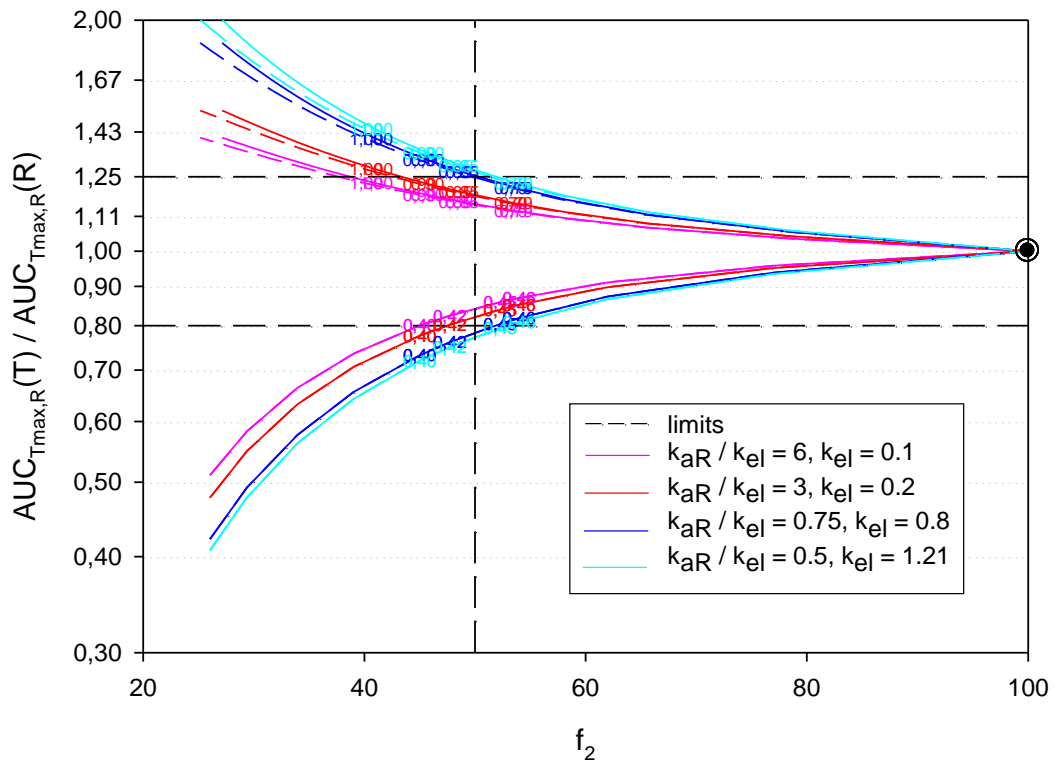
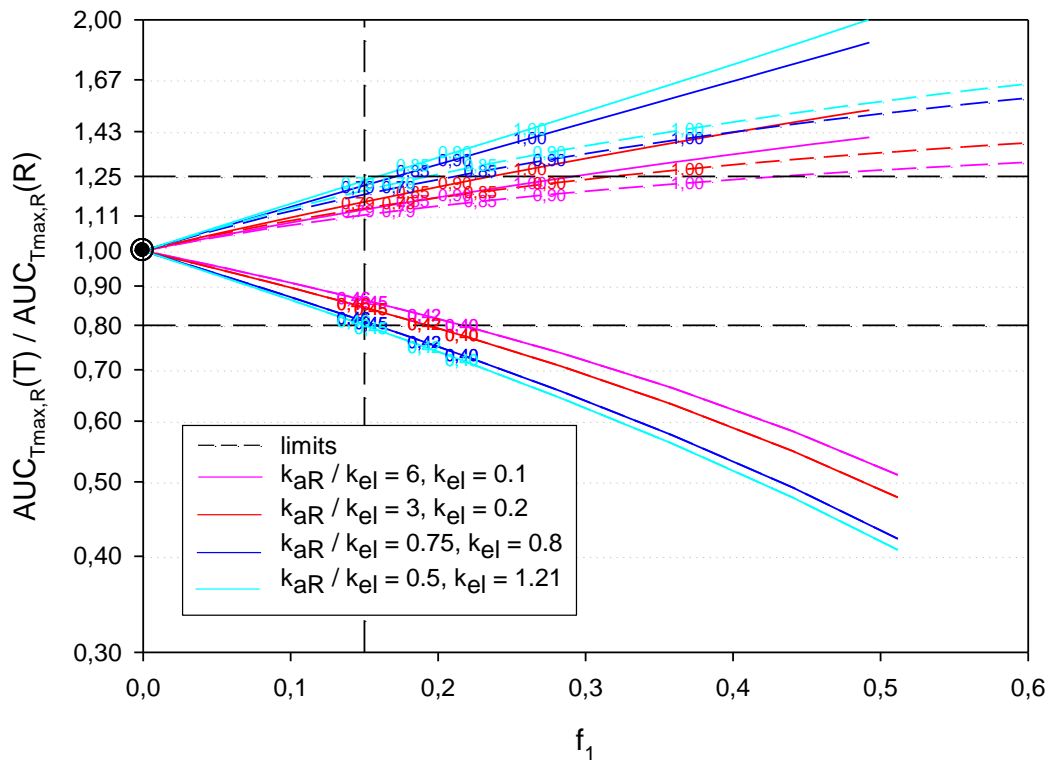


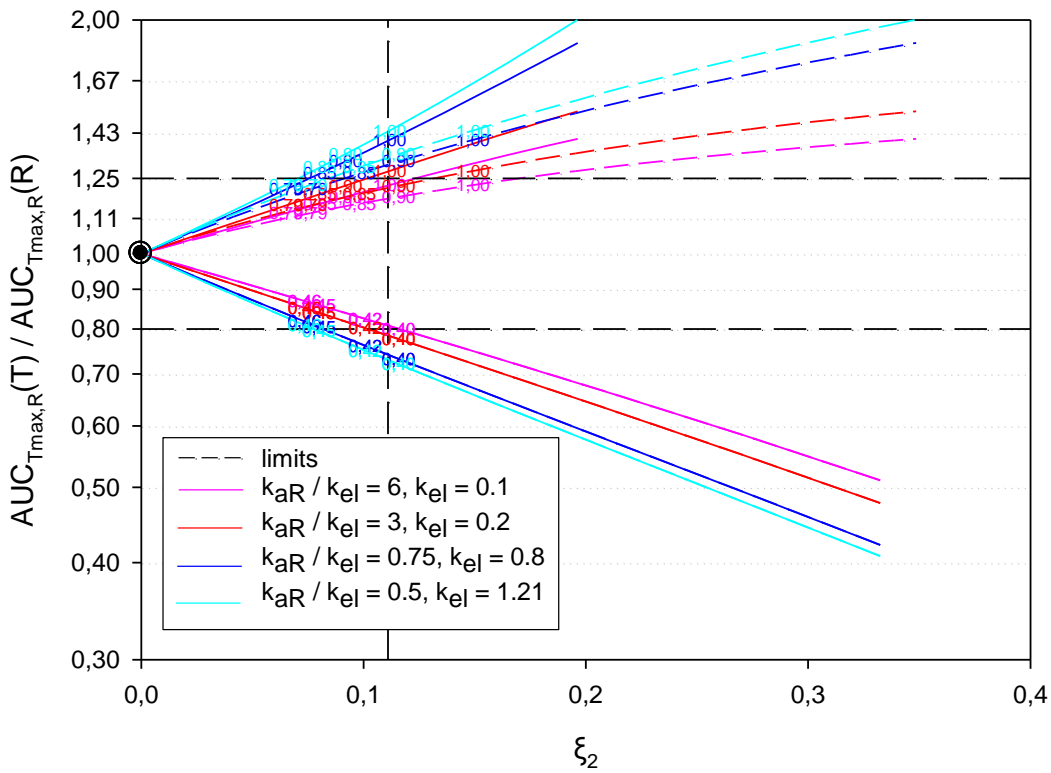
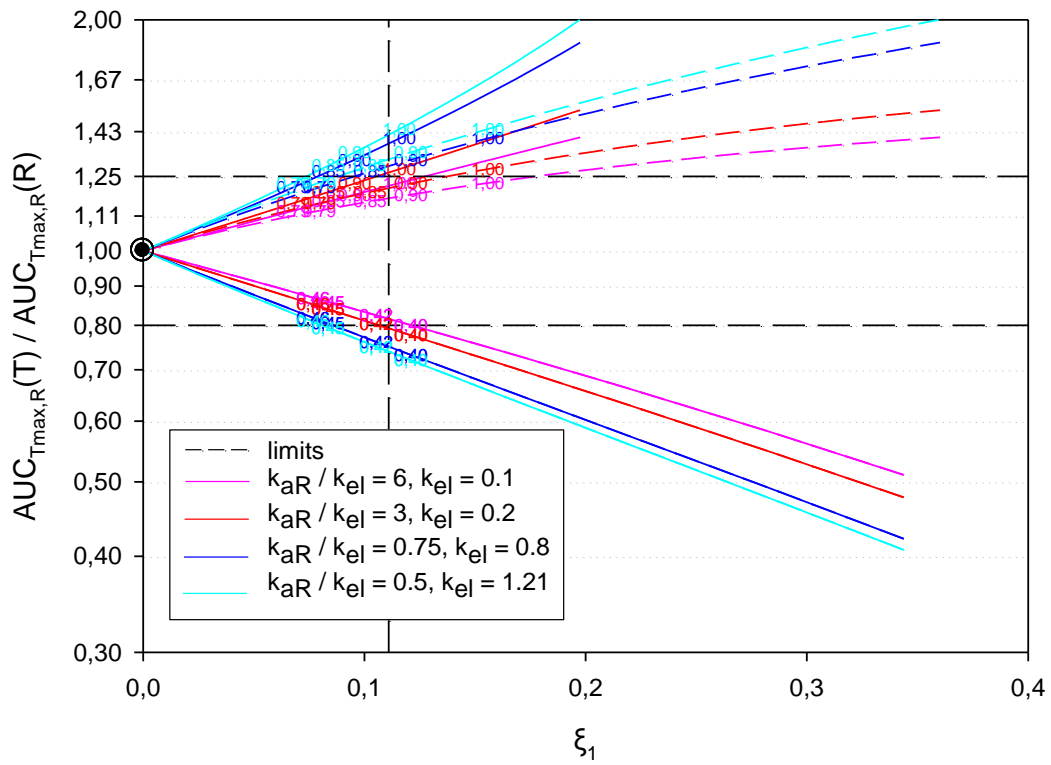


II. II. 4 In vitro-in vivo συσχετίσεις A4: $u_R = 1$, $u_T = 1$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

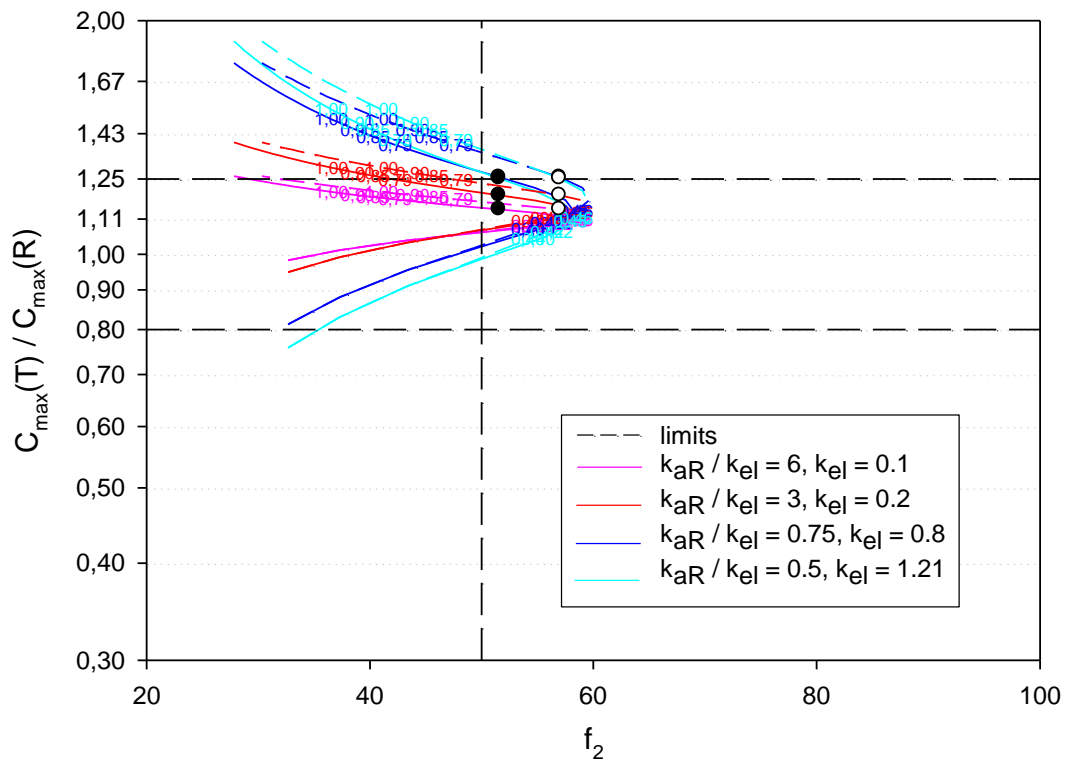
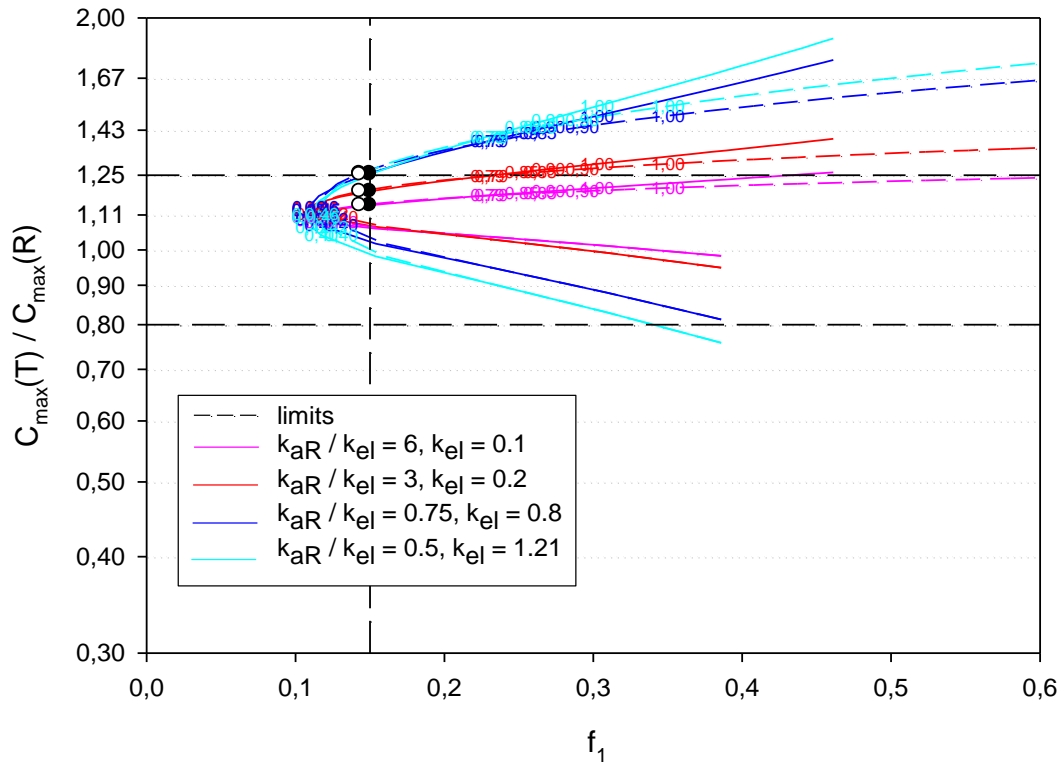


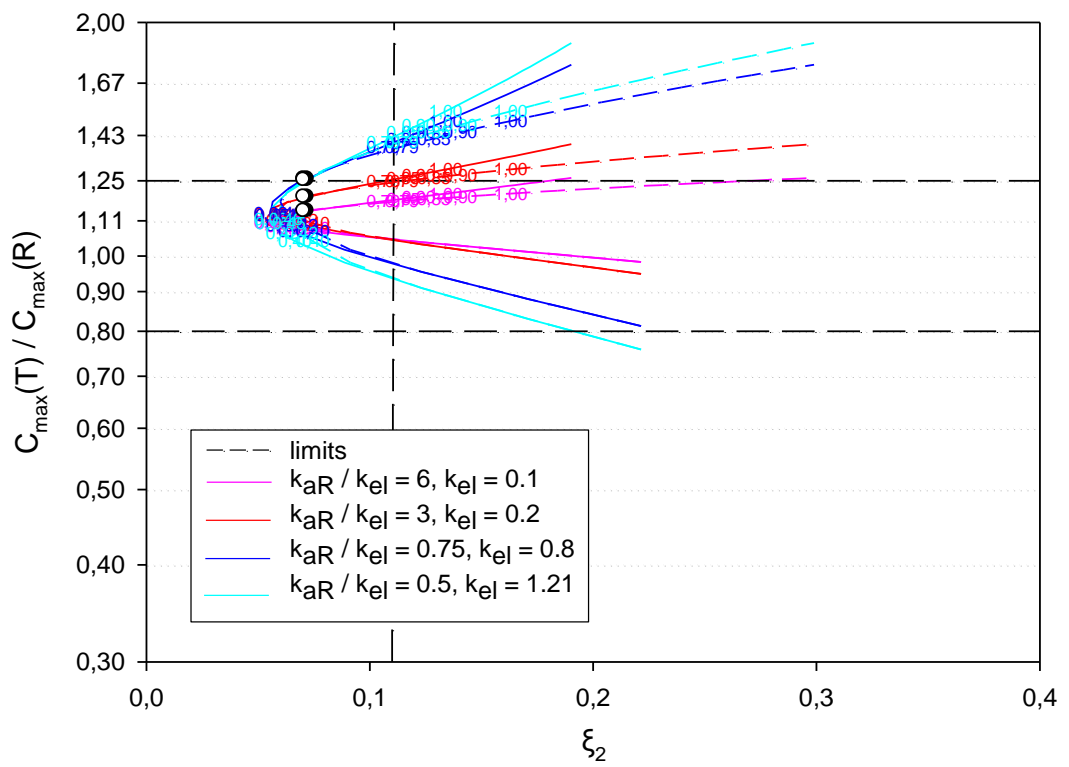
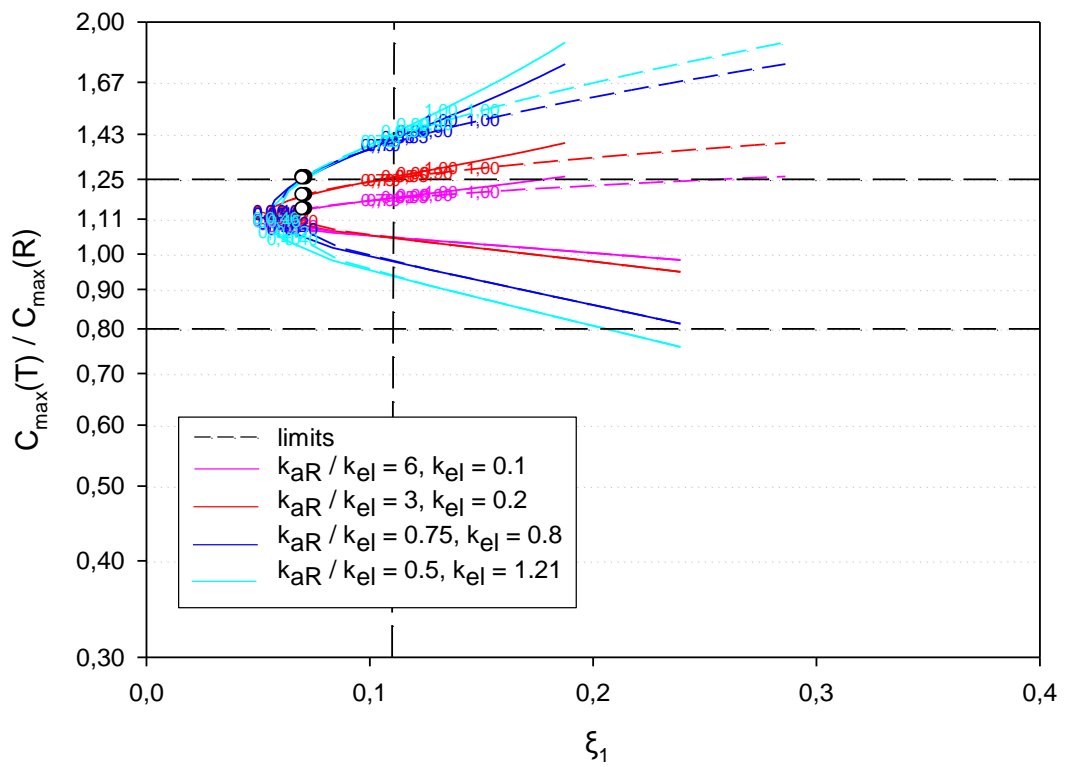


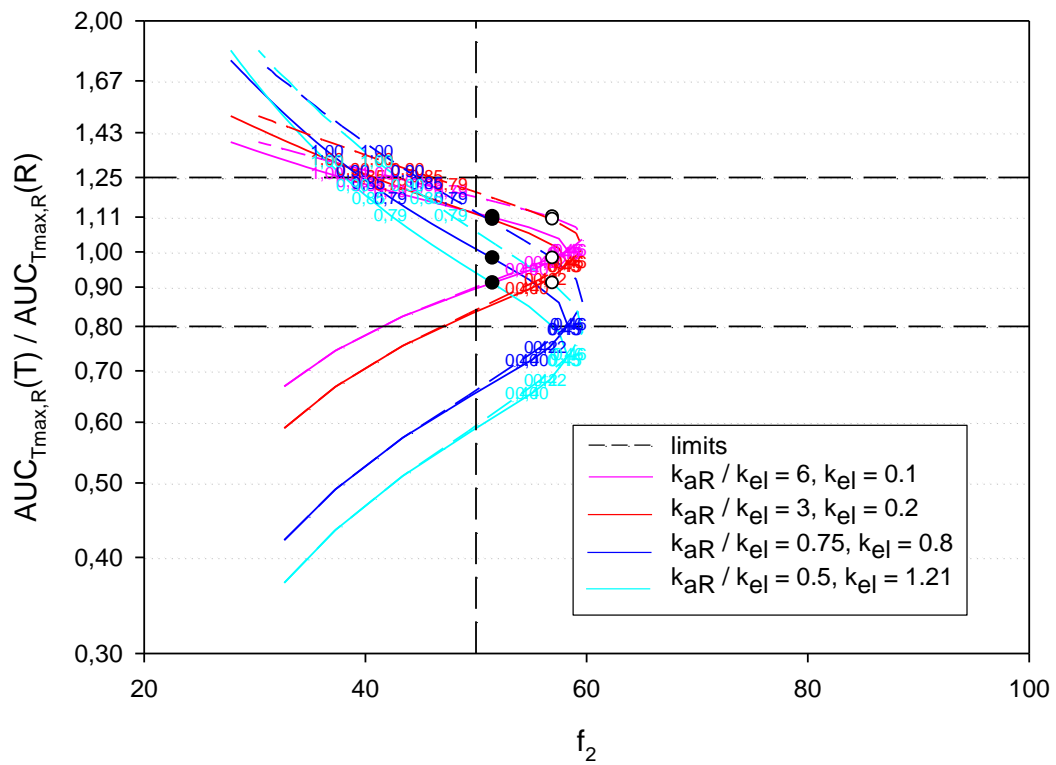
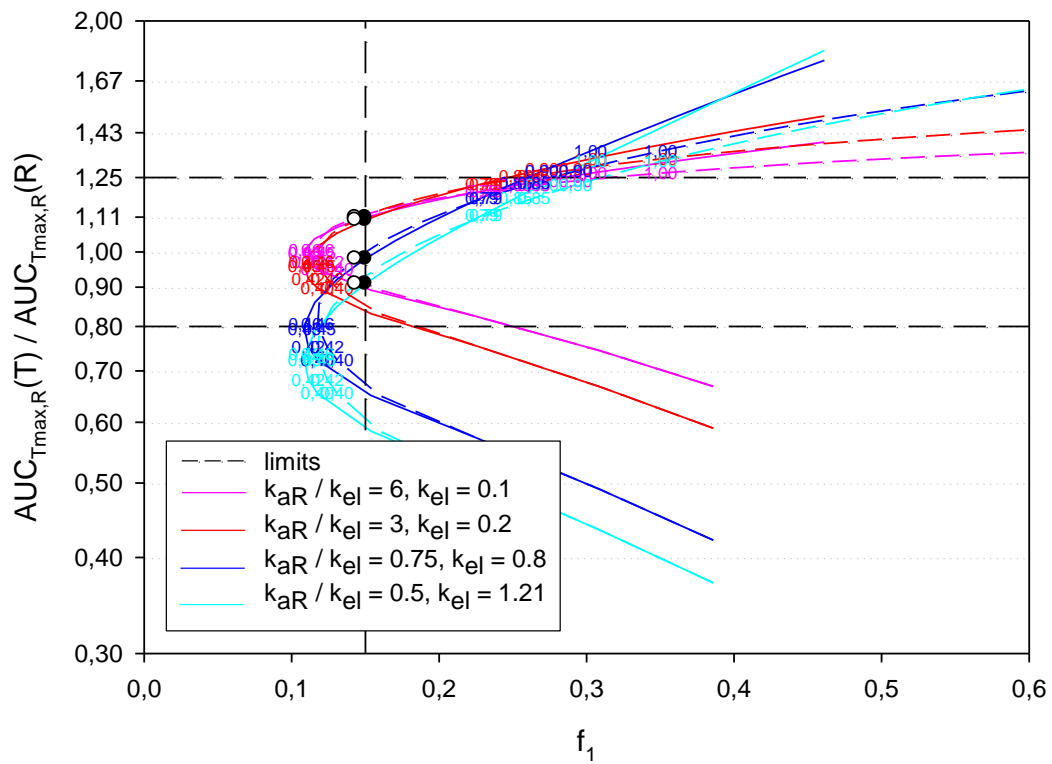


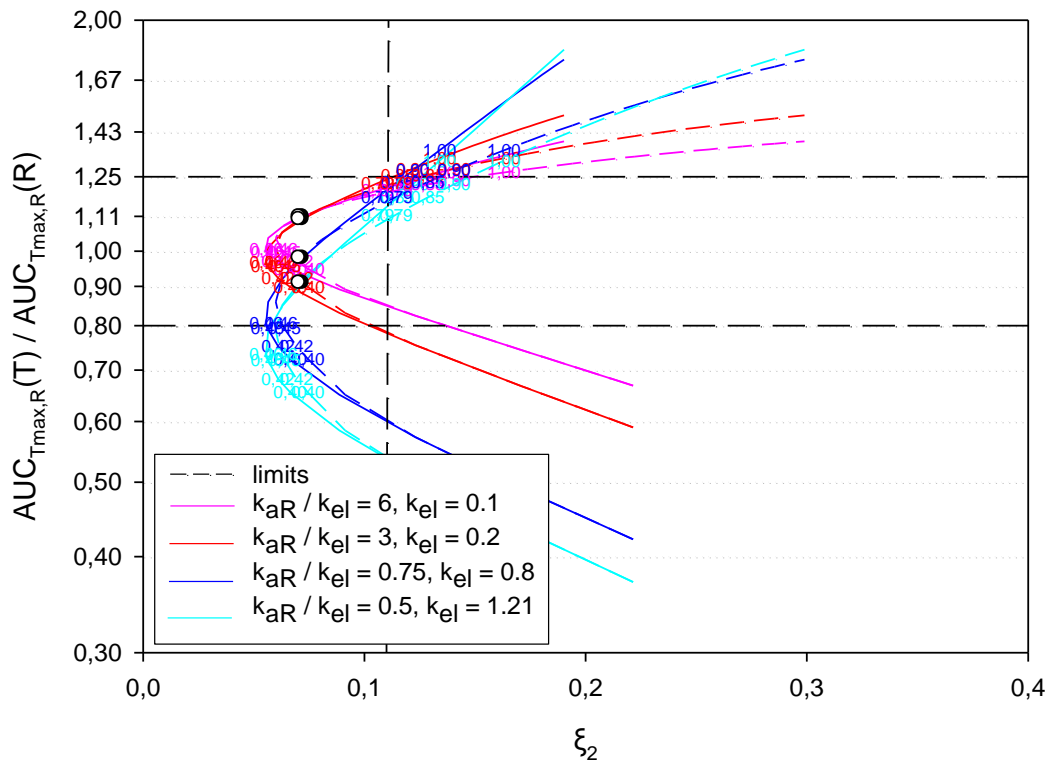
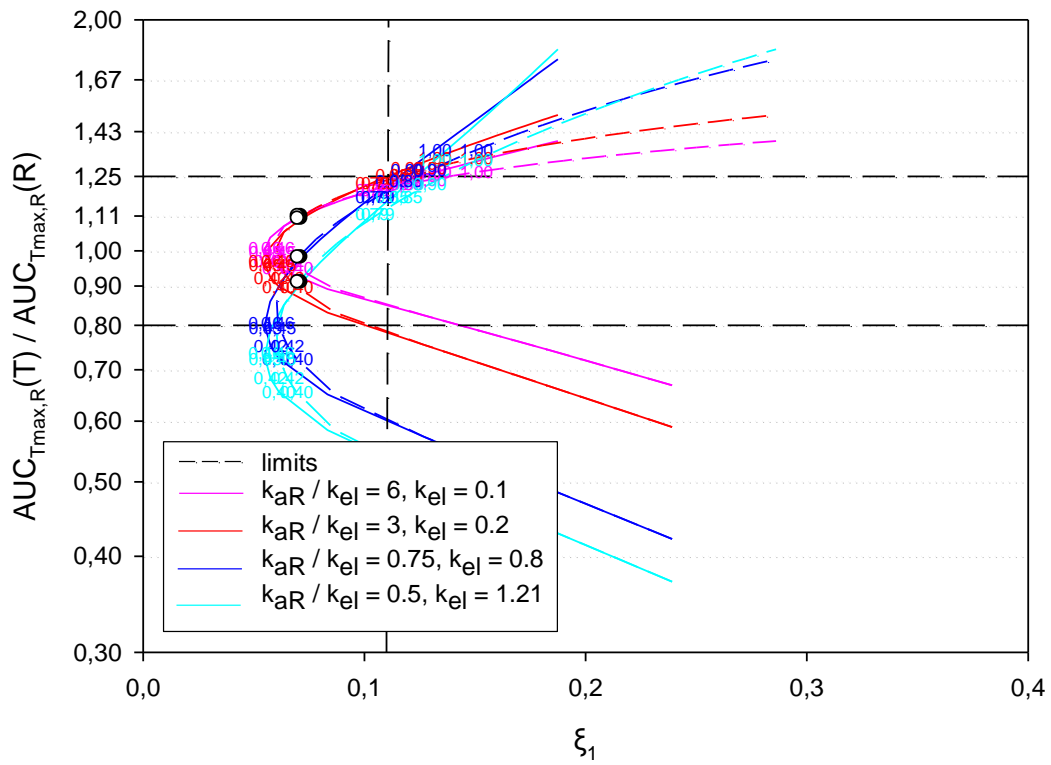


II. II. 5 In vitro-in vivo συσχετίσεις A5: $u_R = 1$, $u_T = 1.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

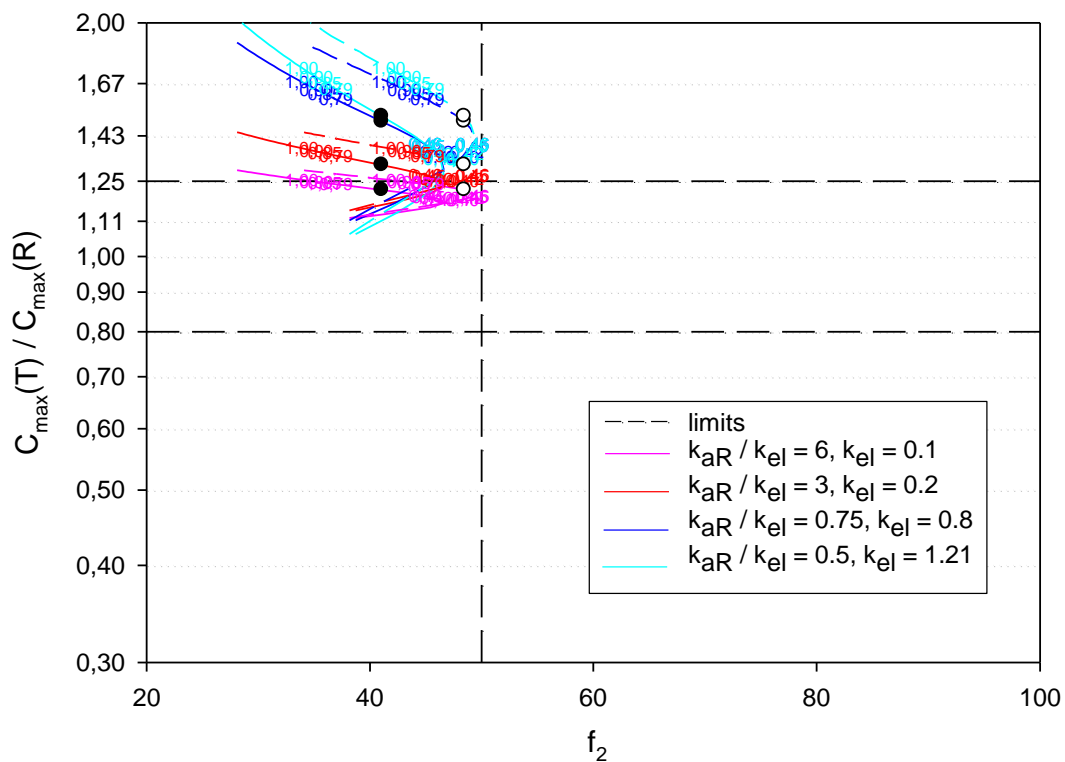
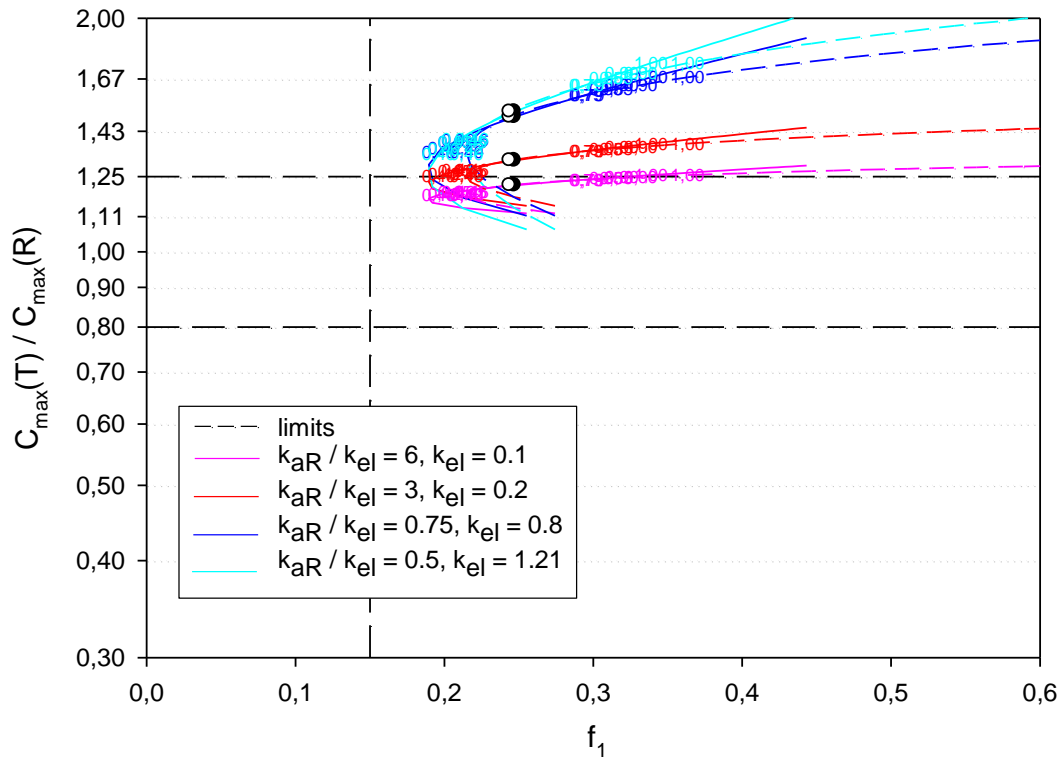


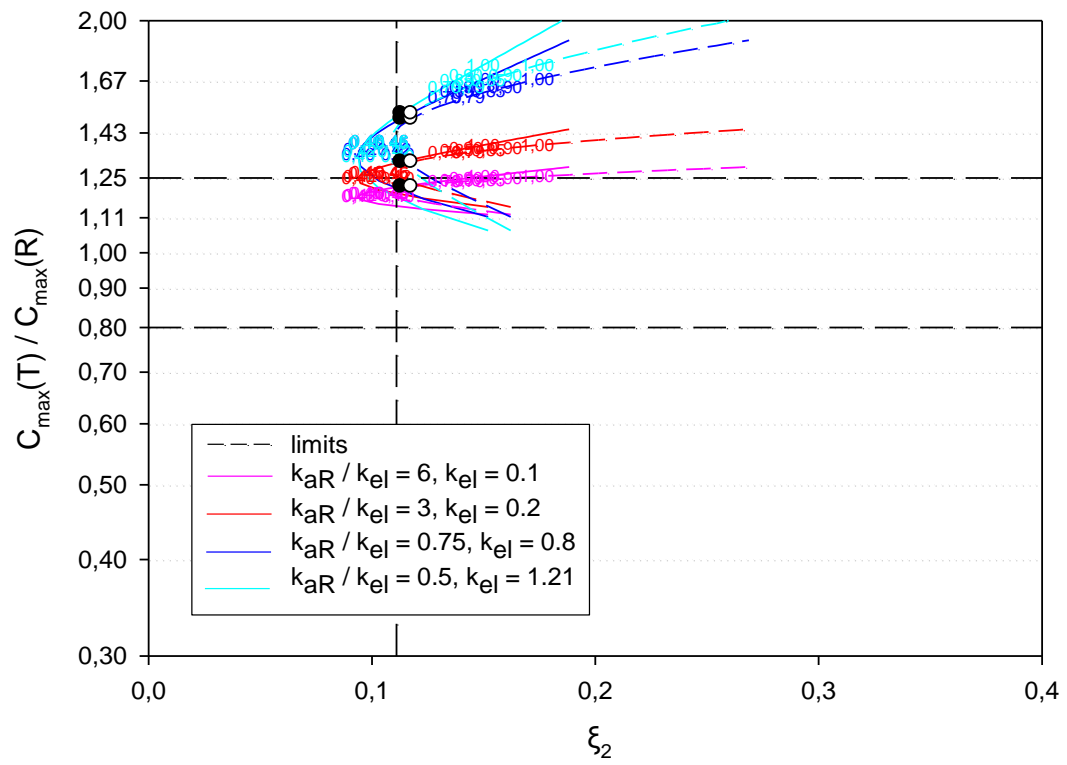
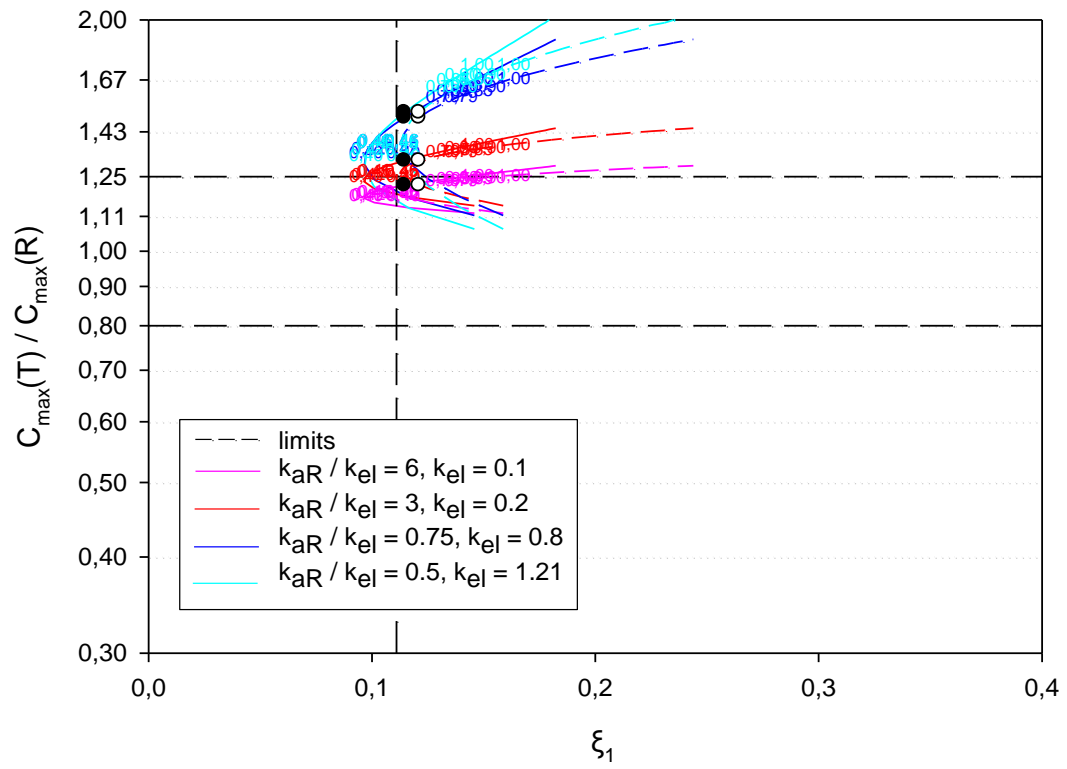


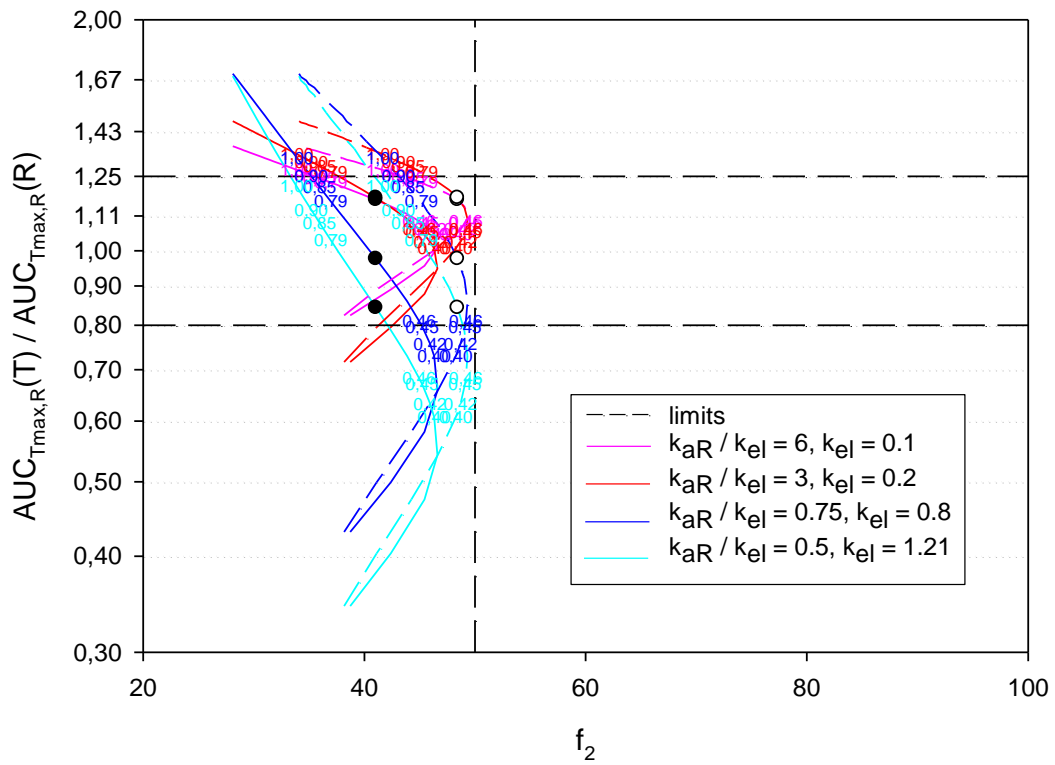
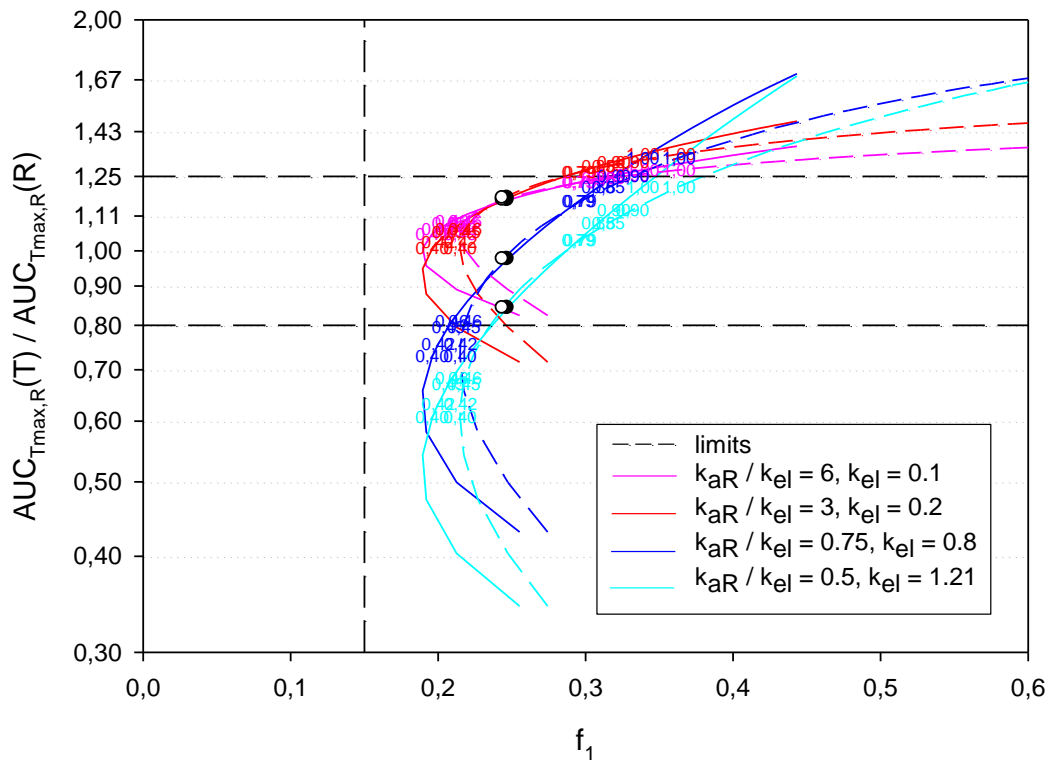


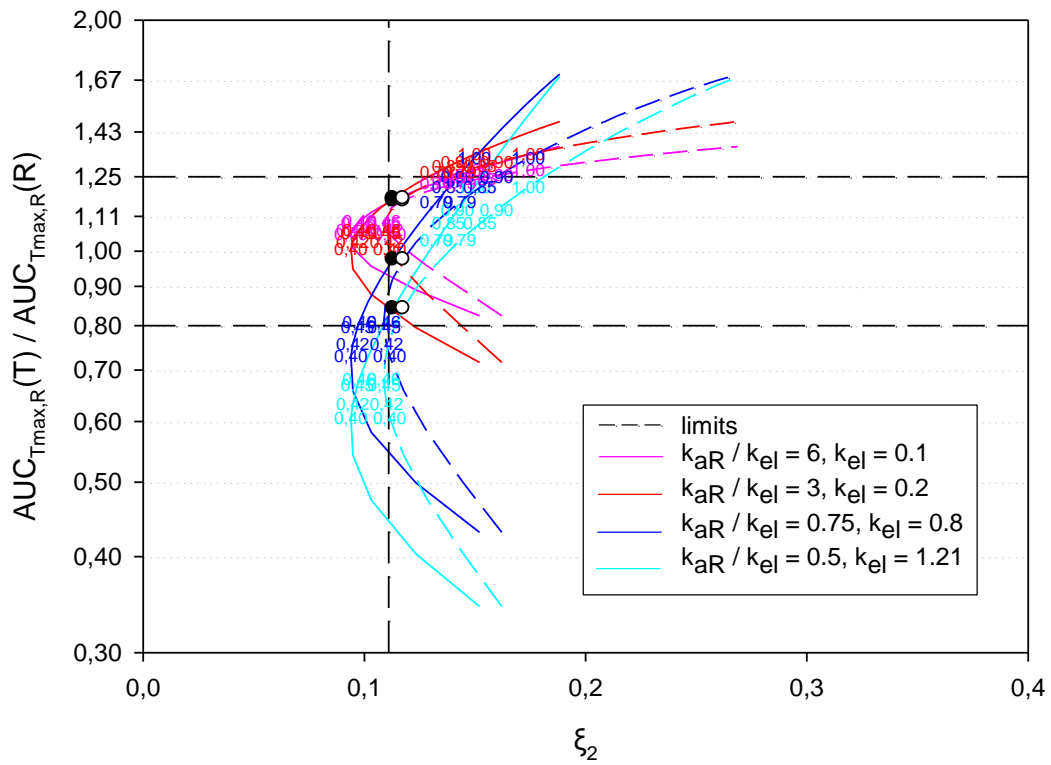
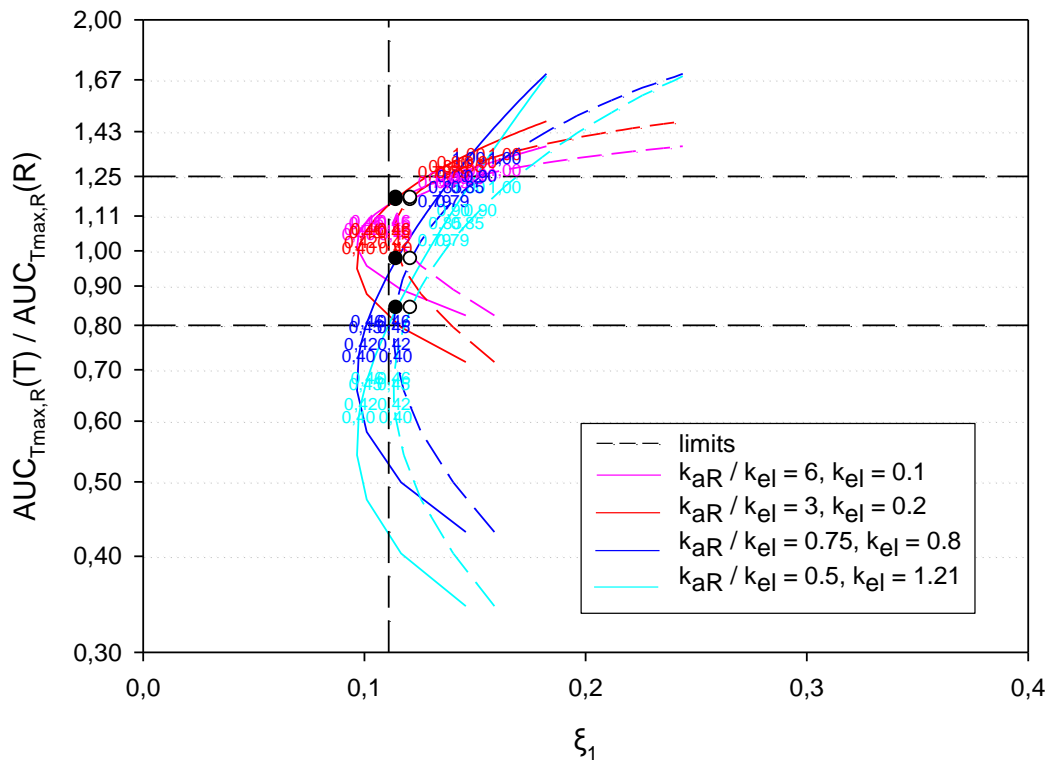


II. II. 6 In vitro-in vivo συσχετίσεις A6: $u_R = 1$, $u_T = 2$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

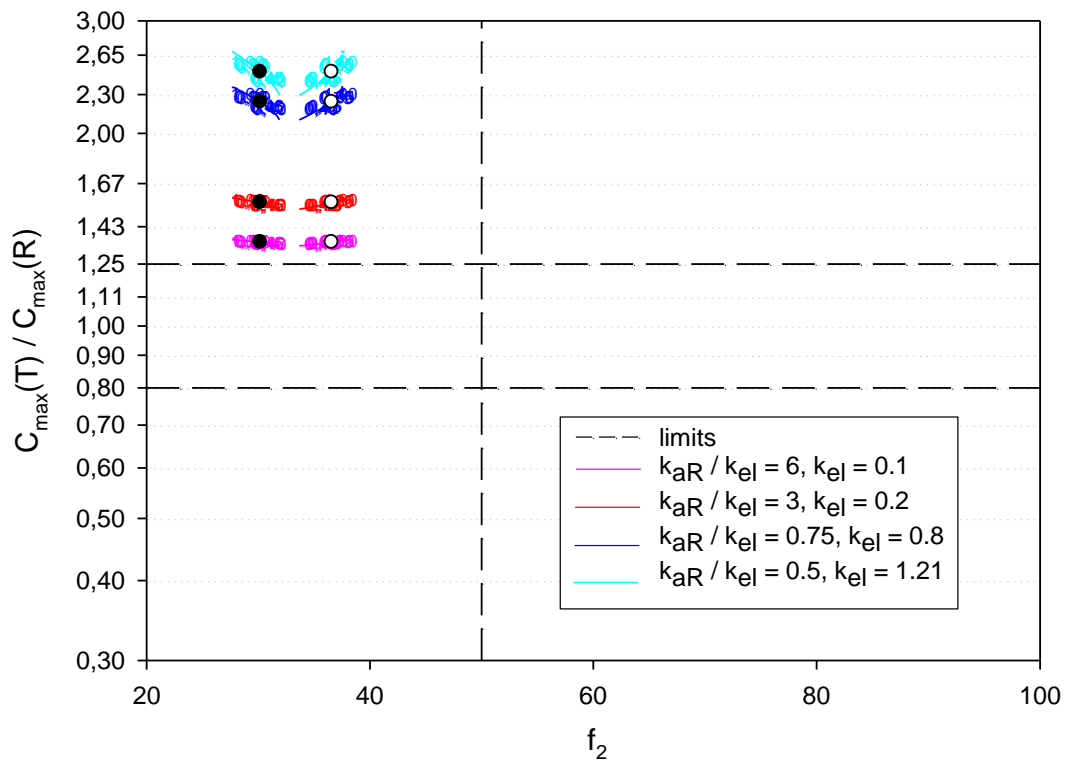
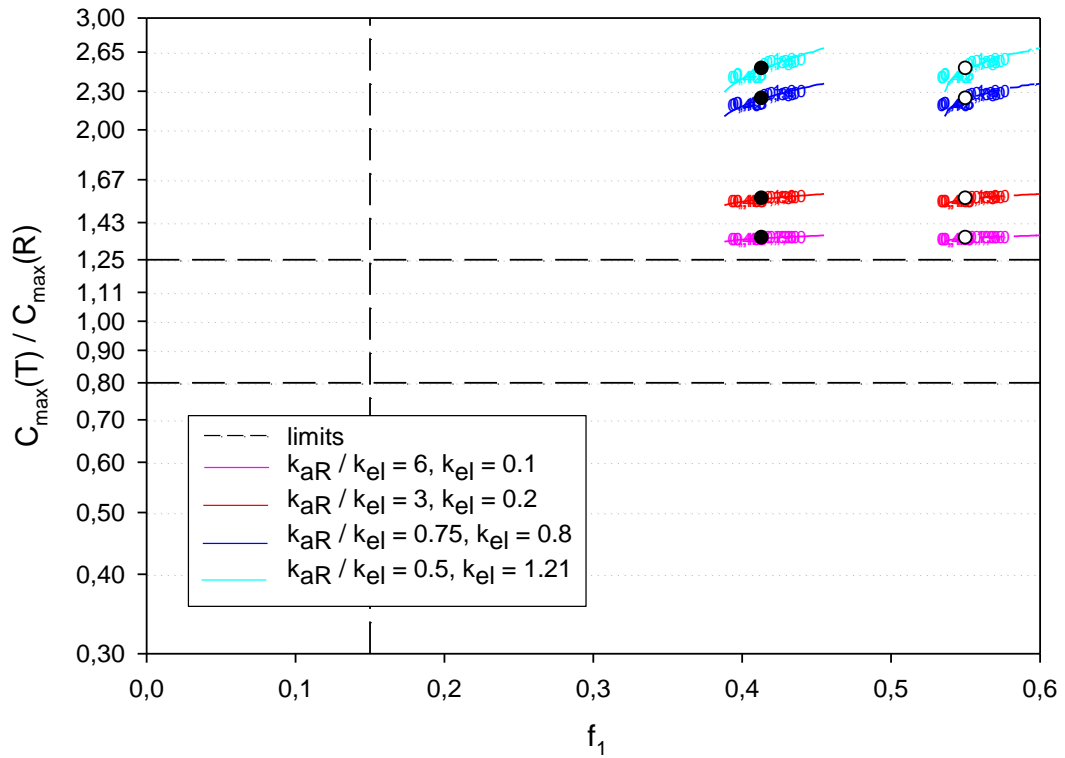


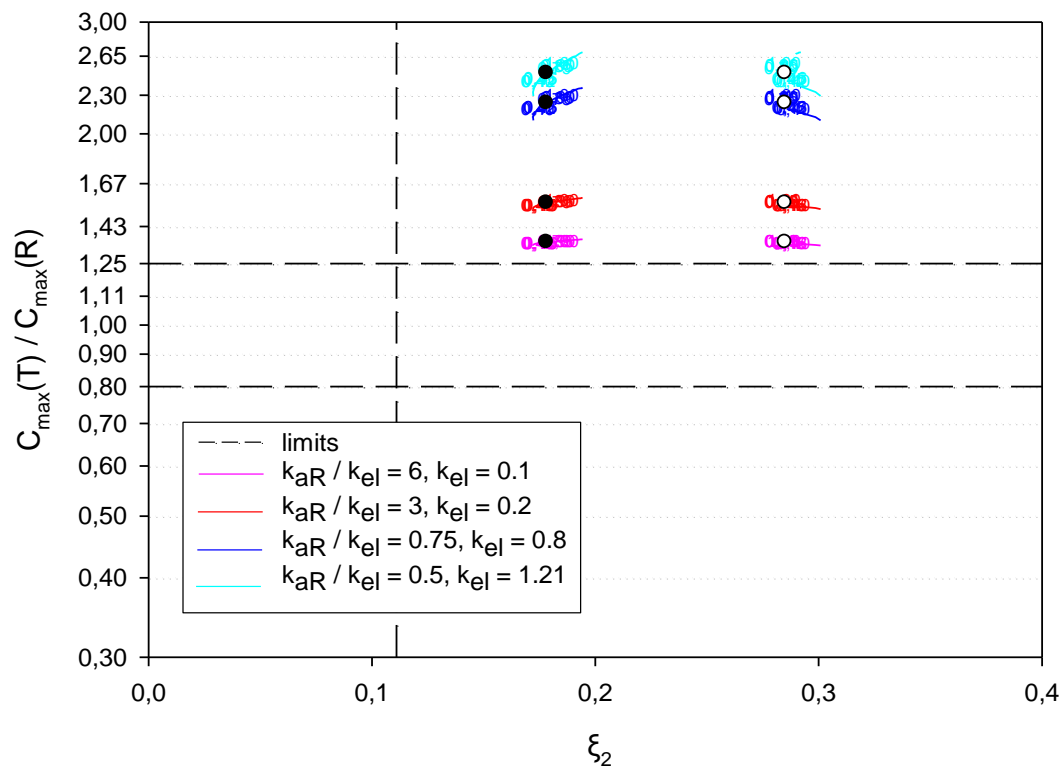
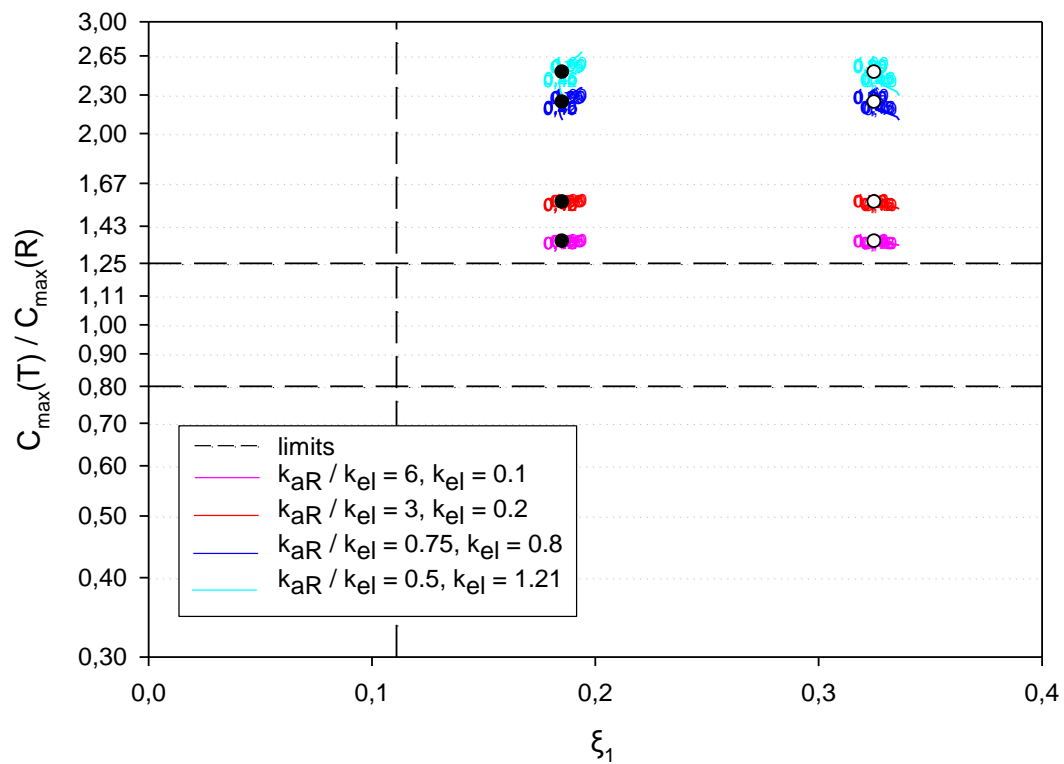


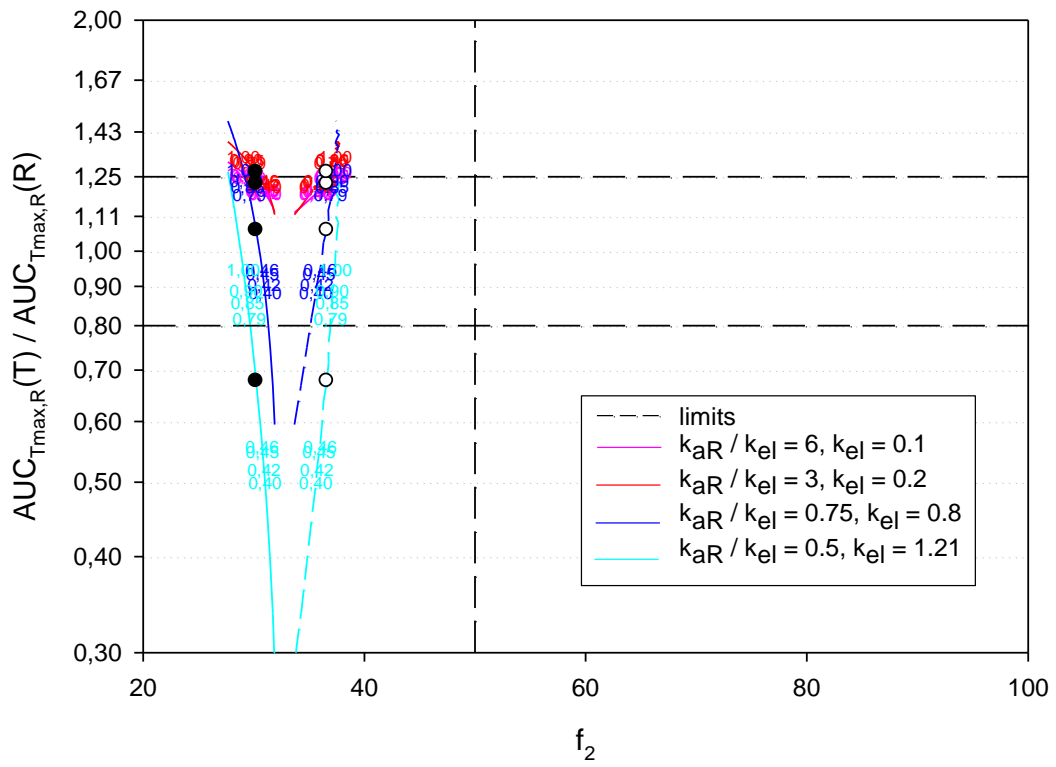
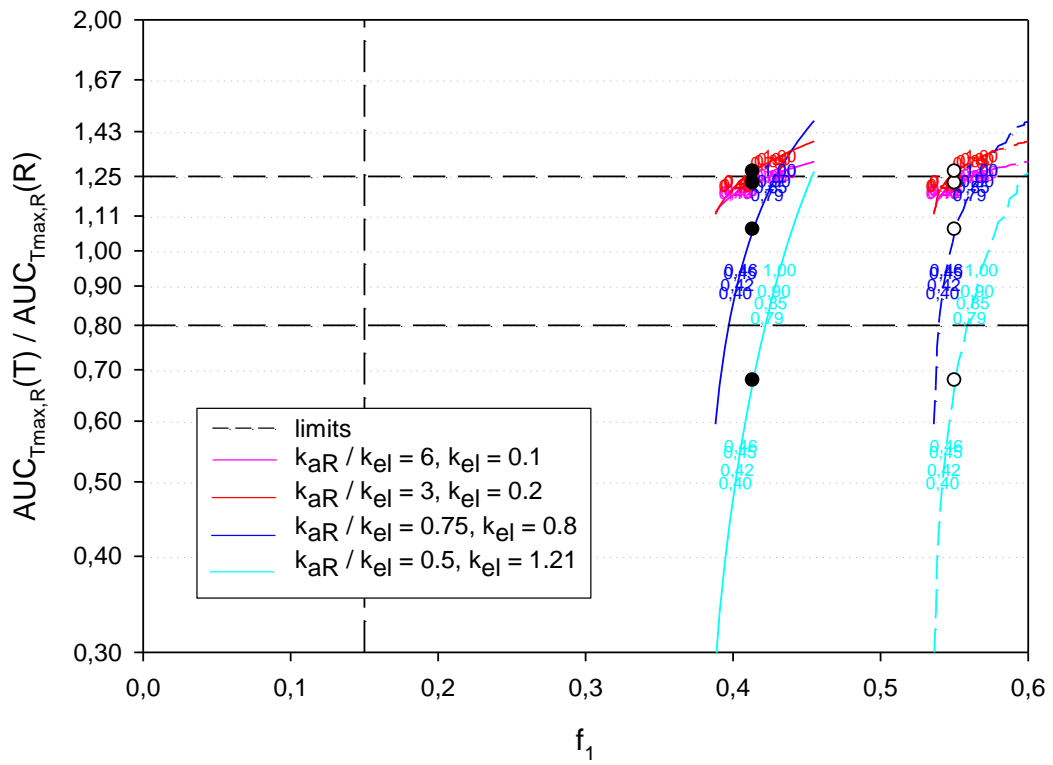


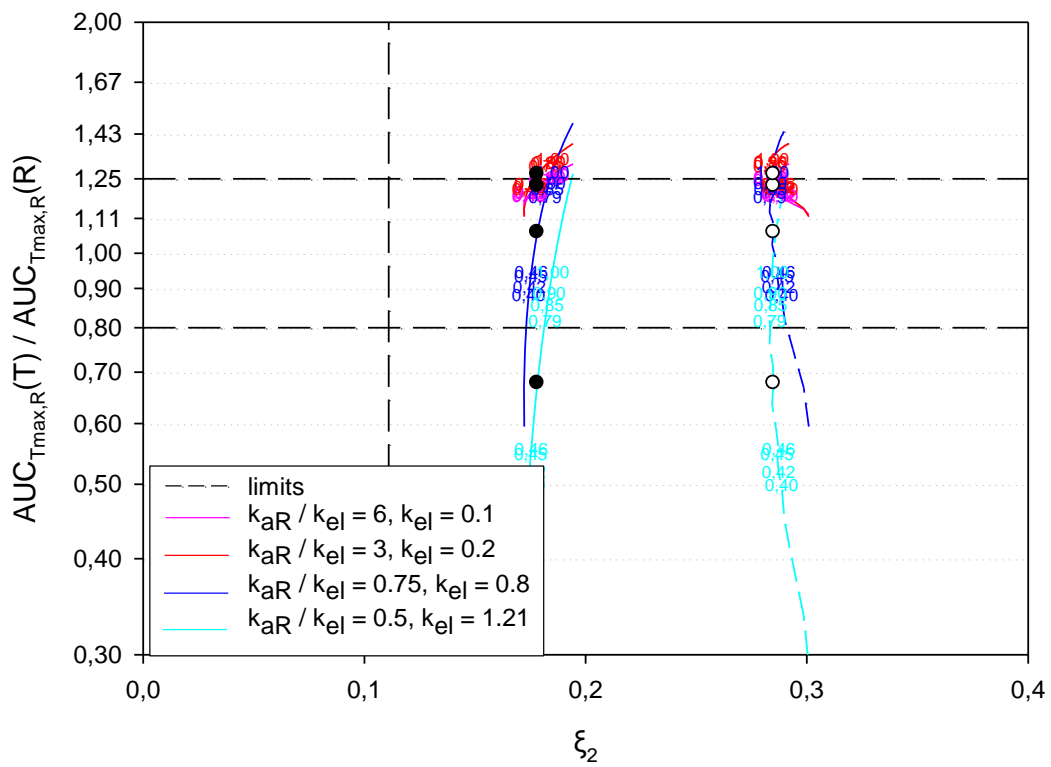
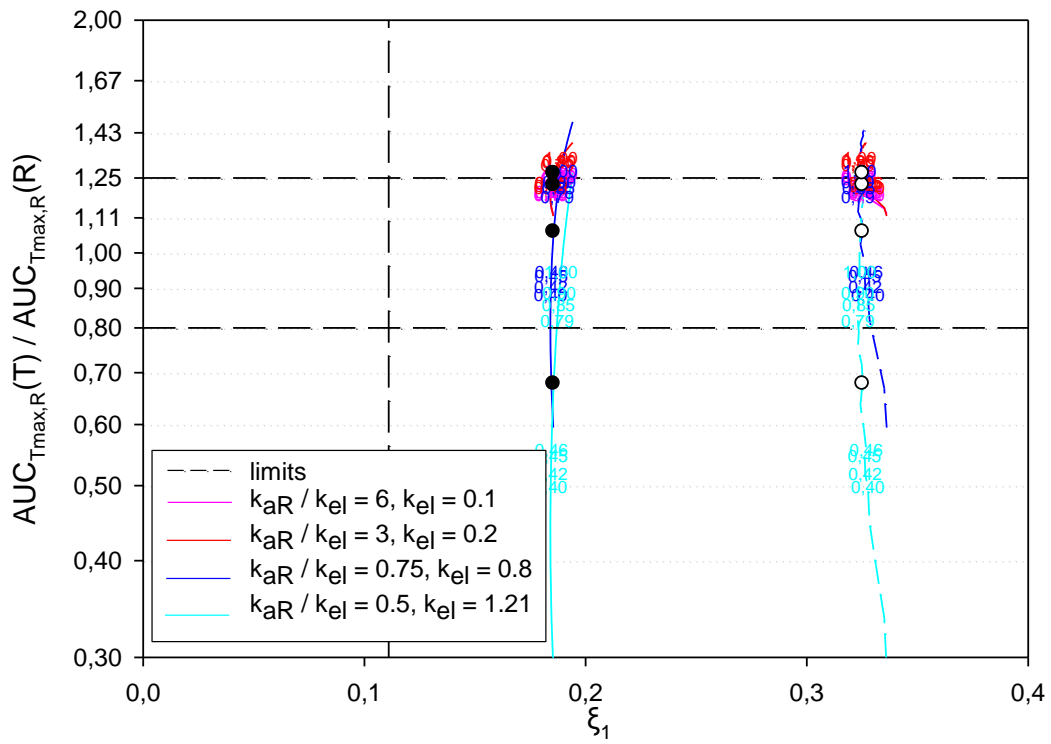


II. II. 7 In vitro-in vivo συσχετίσεις A7: $u_R = 1$, $u_T = 5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$



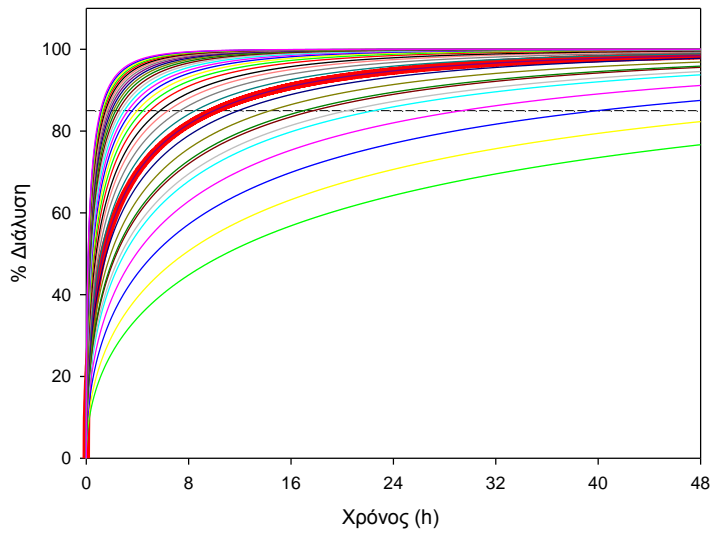




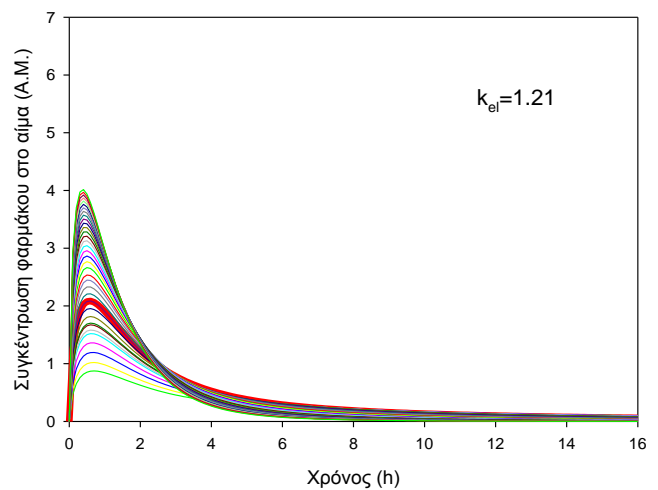
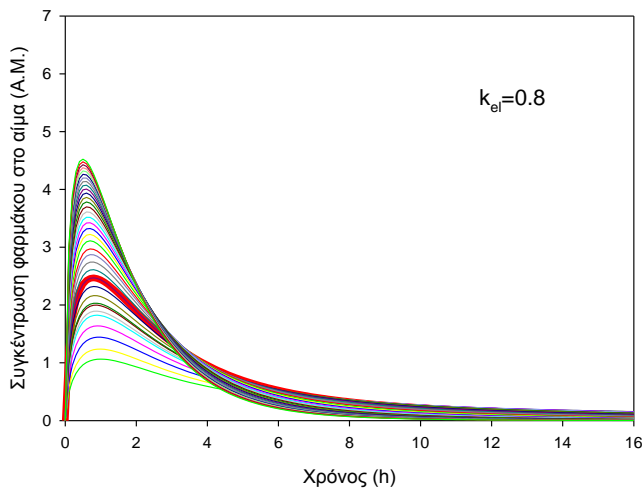
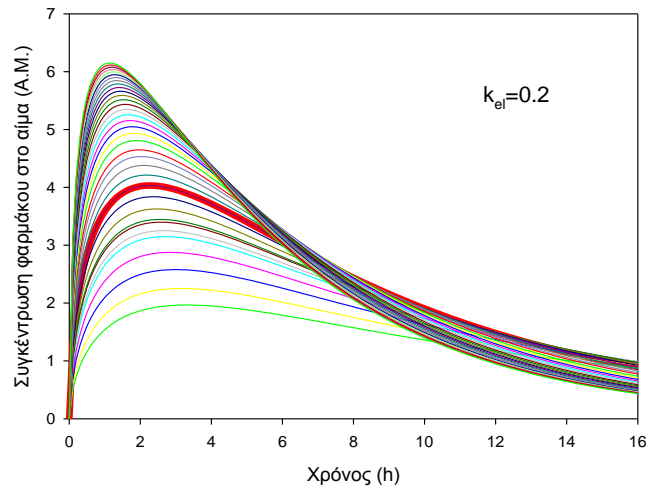
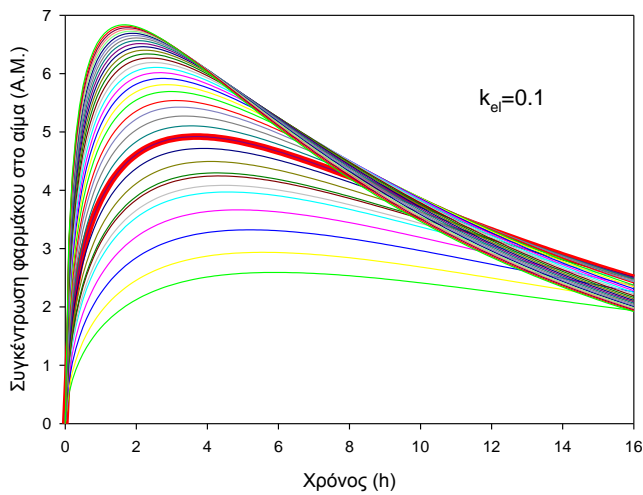


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ: Προσομοιώσεις Β - In vitro καμπύλες διάλυσης και in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο

Π. ΙΙΙ. 1 Προσομοίωση B1: $u_R = 0.5$, $u_T = 0.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

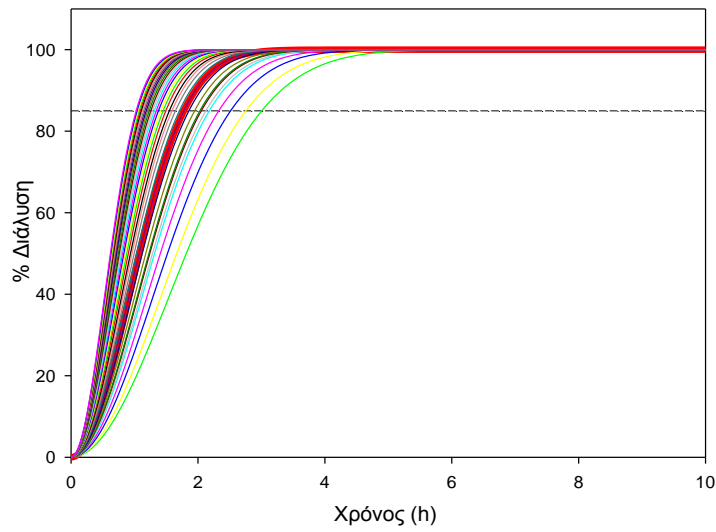


In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)

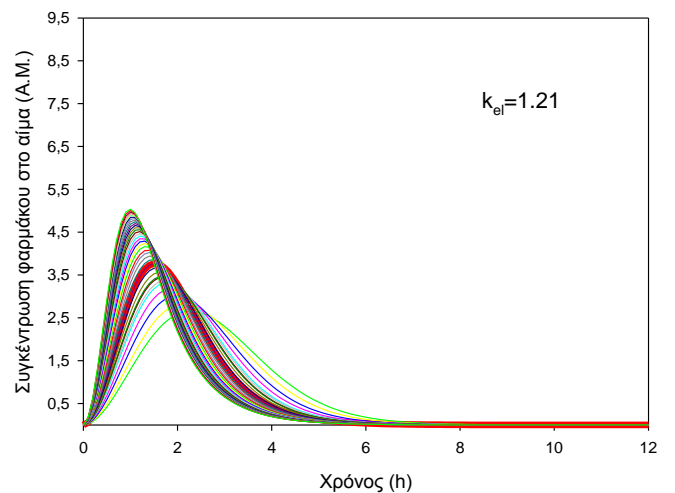
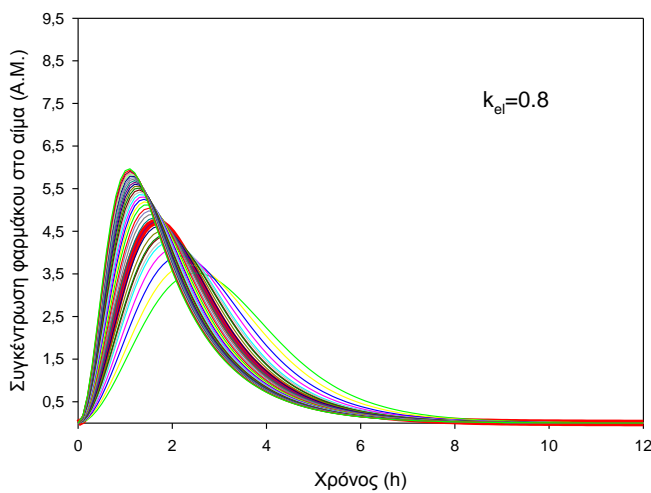
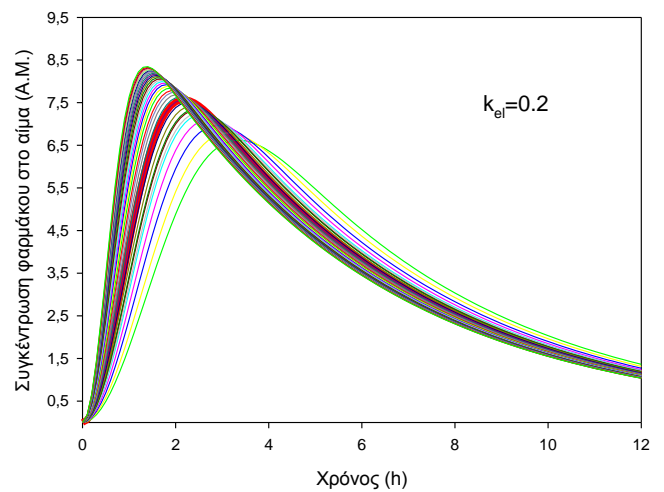
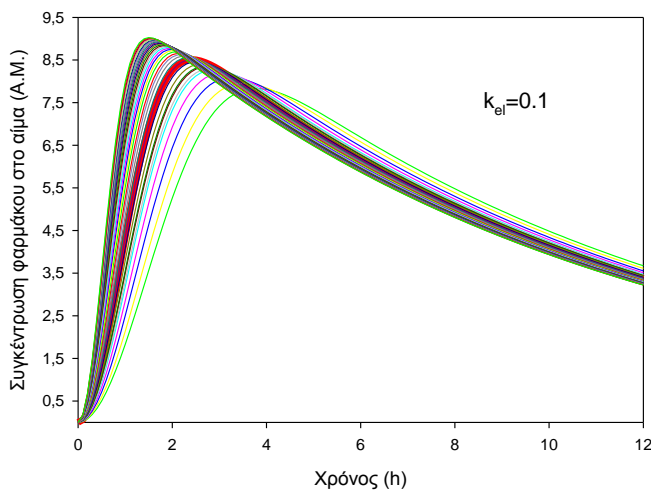


In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

Π. ΙΙΙ. 2 Προσομοίωση B2: $u_R = 2$, $u_T = 2$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$



In vitro καμπύλες διάλυσης (---- 85% διάλυση)



In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα για τέσσερα διαφορετικά k_{el}

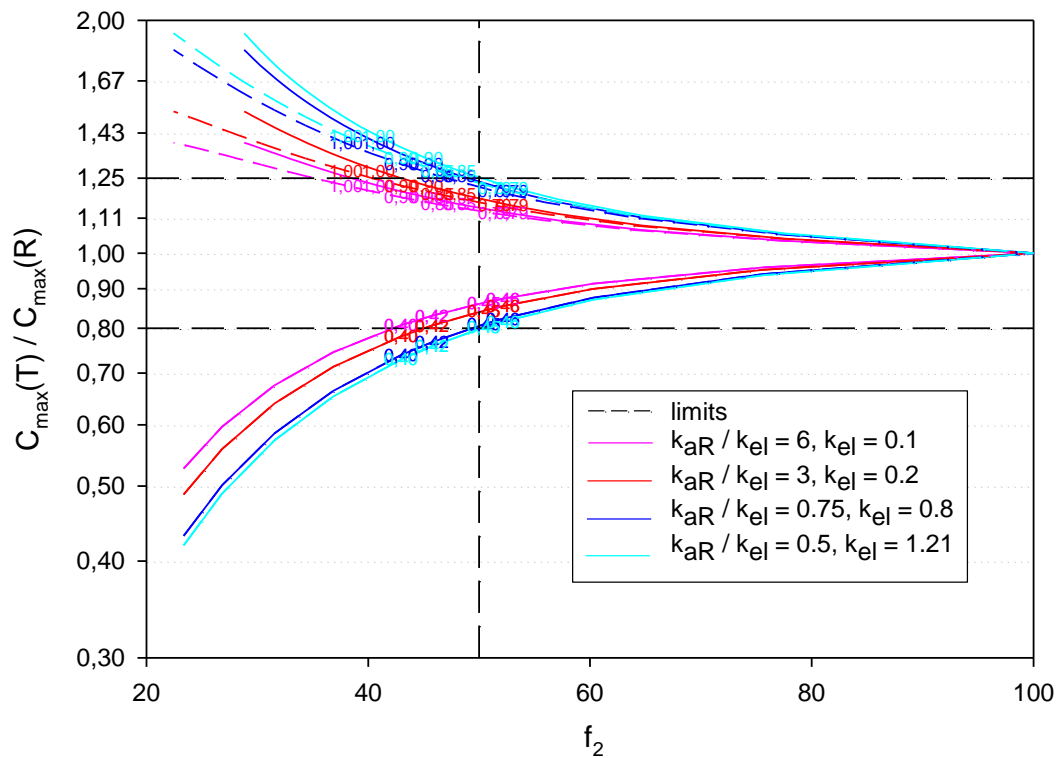
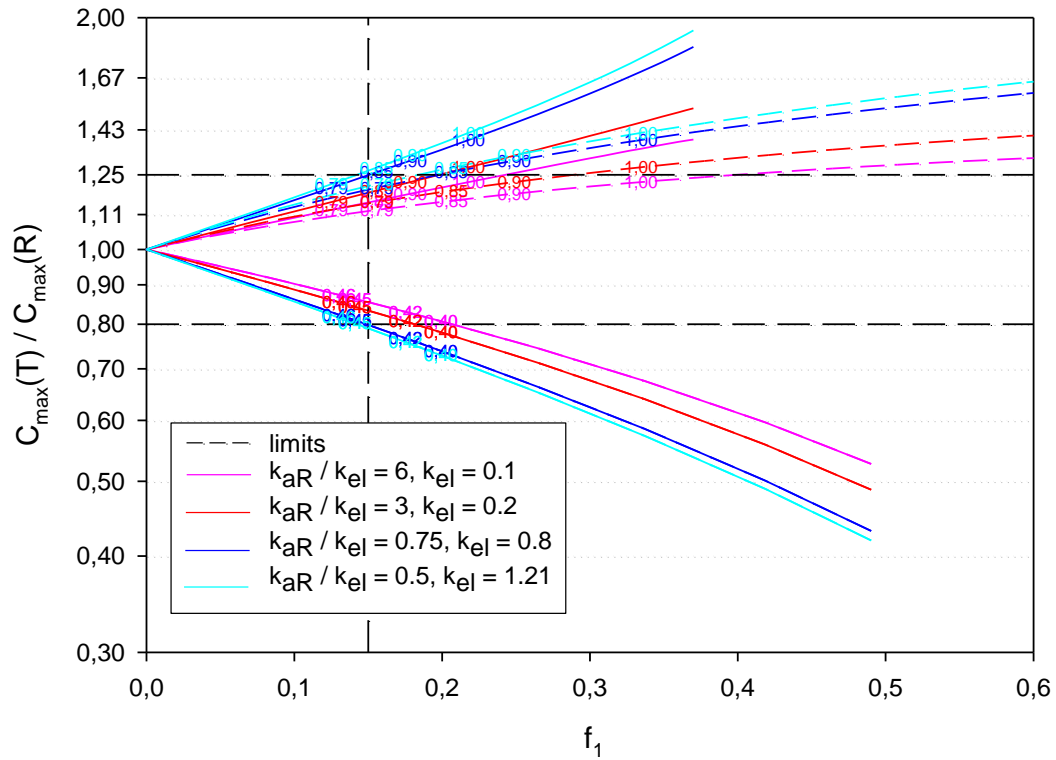
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV: Προσομοιώσεις B - In vitro-in vivo συσχετίσεις

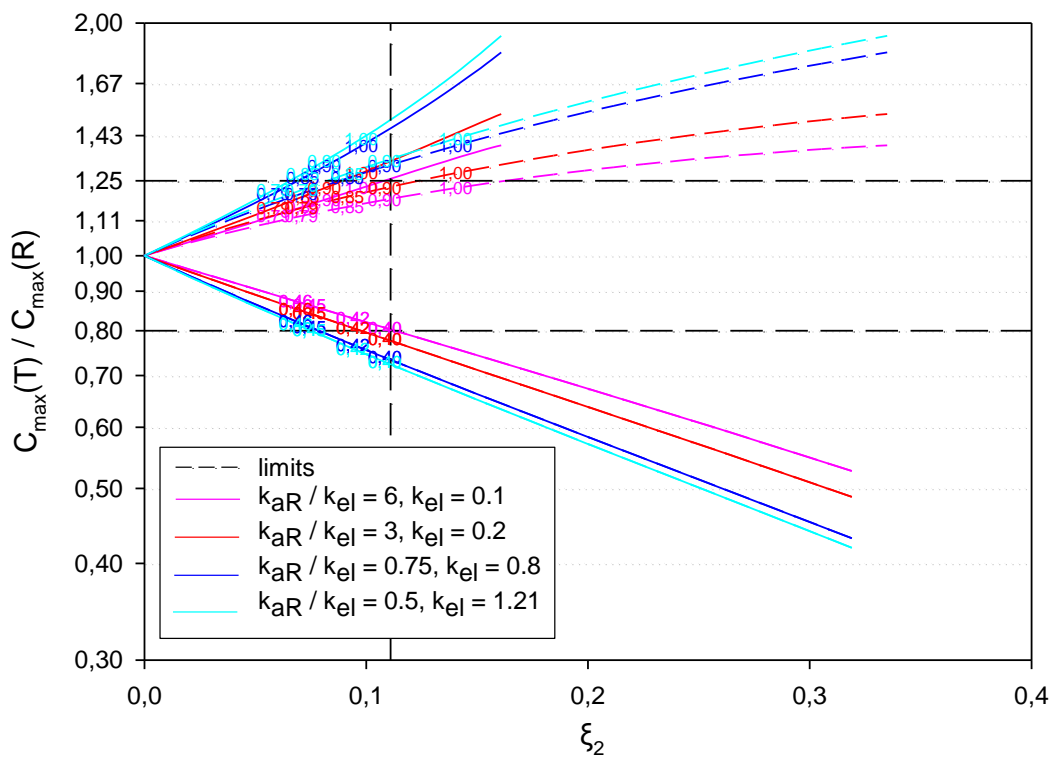
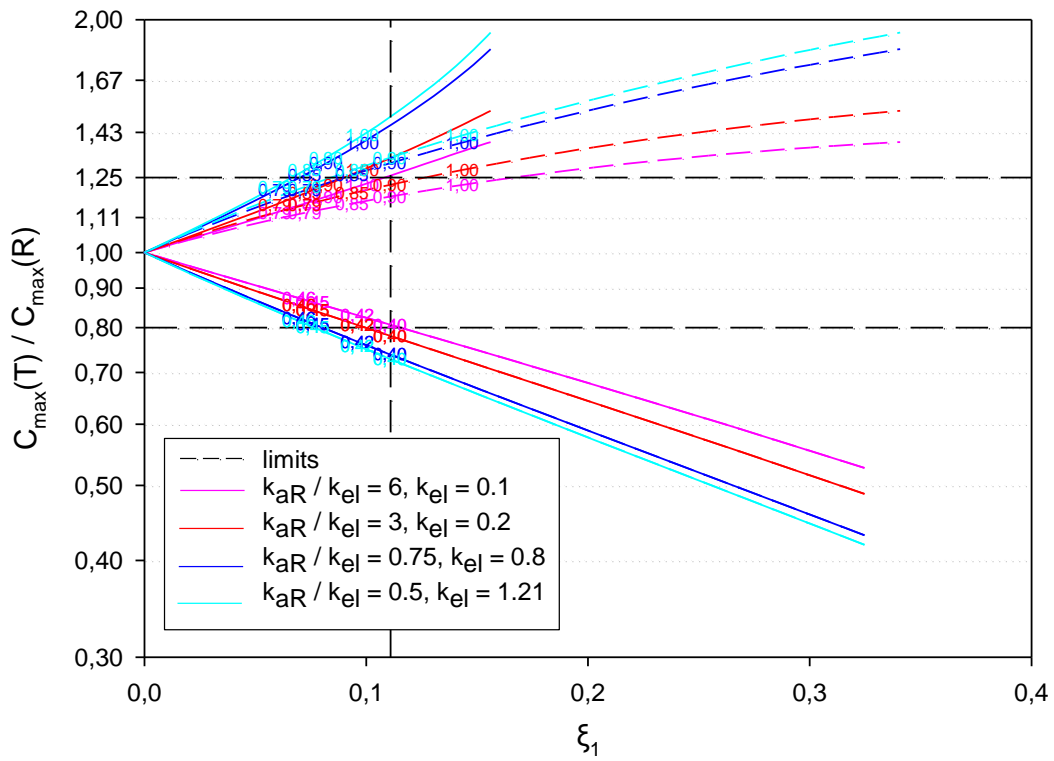
Στα σχήματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ που υπολογίζονται από τα in vivo δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα για διάφορες τιμές k_{aT} και k_{el} , σε σχέση με τους δείκτες f_1 , f_2 , ξ_1 και ξ_2 που υπολογίζονται από τα in vitro δεδομένα διάλυσης. Σε κάθε σχήμα οι συνεχείς έγχρωμες γραμμές αντιστοιχούν στις περιπτώσεις όπου ο υπολογισμός των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής ref85, ενώ οι διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές στις περιπτώσεις όπου ο υπολογισμός των δεικτών γίνεται με βάση το χρόνο αποκοπής fast85. Οι μαύρες διακεκομμένες γραμμές αντιστοιχούν στα όρια ομοιότητας in vitro καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας. Και σε αυτές τις προσομοιώσεις οι αριθμοί - σύμβολα πάνω στις θεωρητικές καμπύλες για κάθε τιμή της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης k_{el} αντιστοιχούν στις οκτώ ειδικές περιπτώσεις συσχετίσεων που προκύπτουν για τις παρακάτω οκτώ ορισμένες τιμές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης:

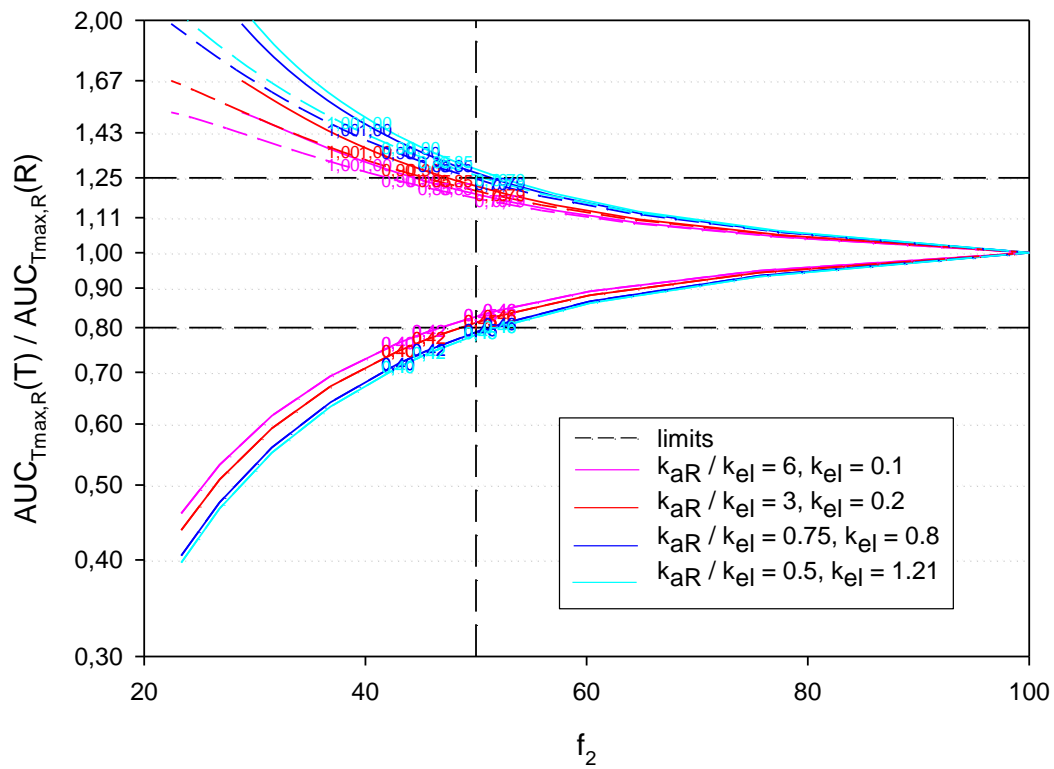
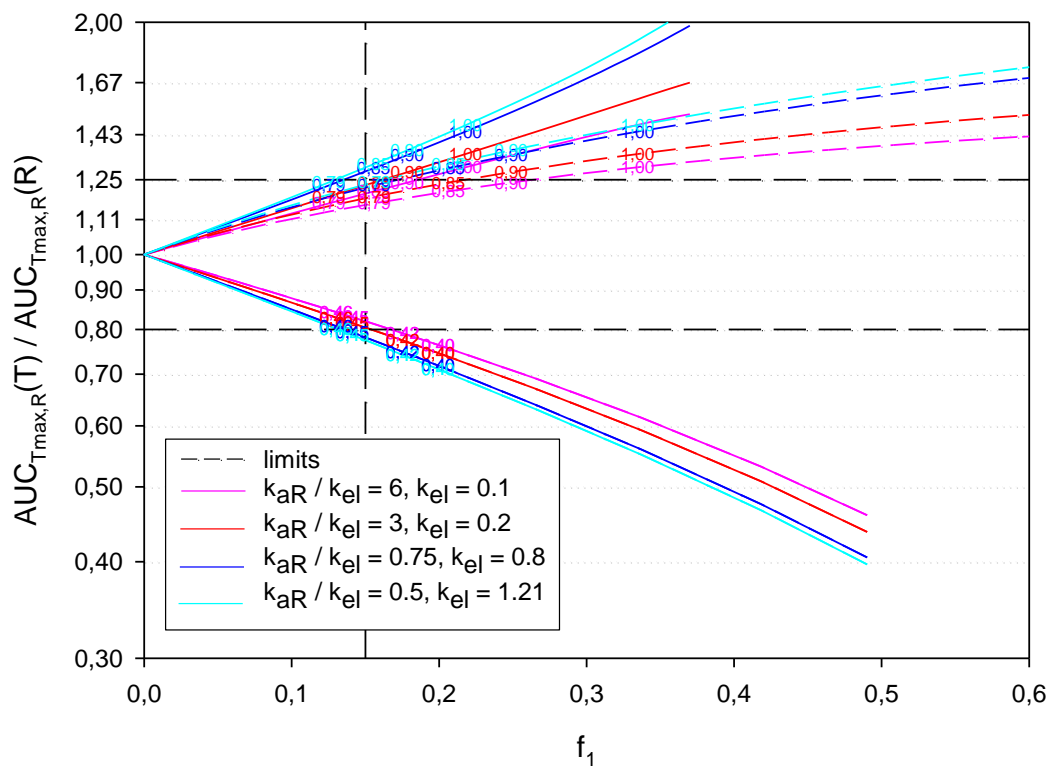
k_{aT} (h^{-1}): 0.40, 0.42, 0.45, 0.46, 0.79, 0.85, 0.90, 1.00

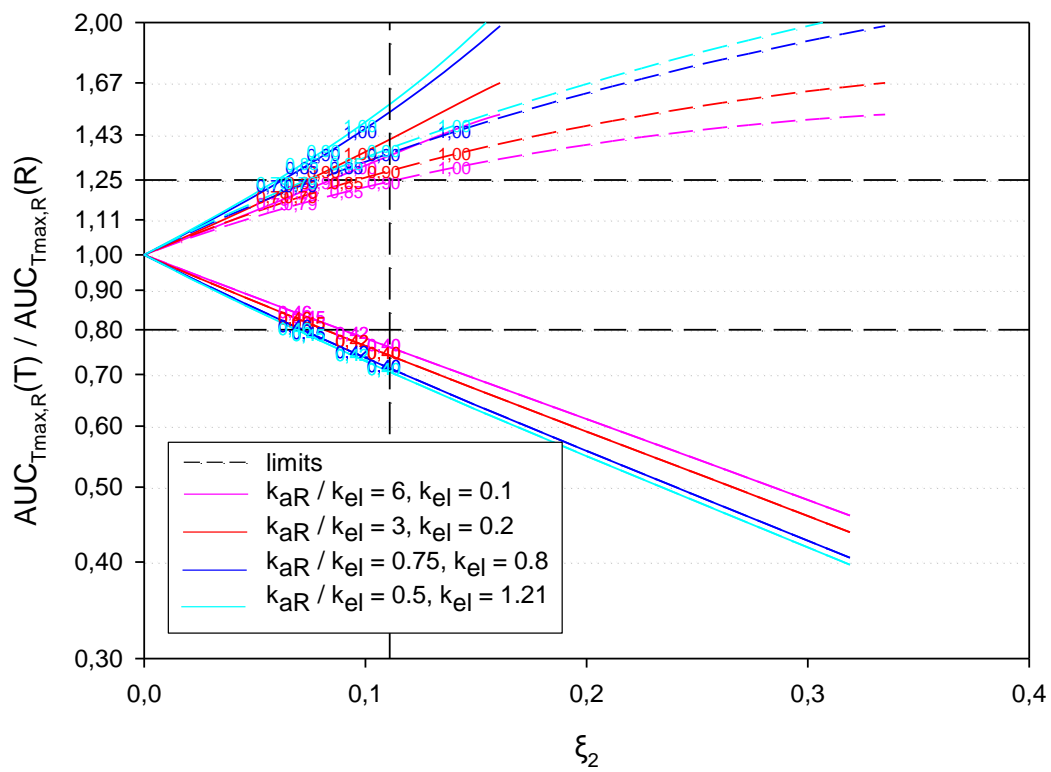
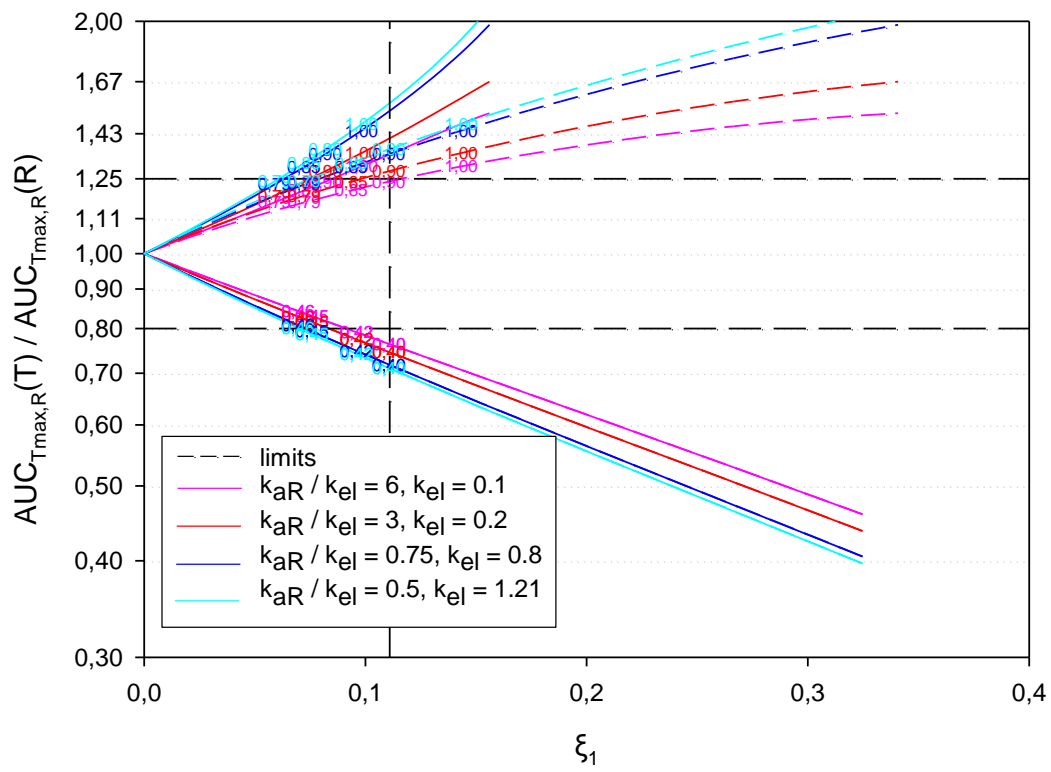
Υπενθυμίζεται ότι για πρωτοταξική κινητική οι συγκεκριμένες τιμές αποδίδουν τιμές που βρίσκονται κοντά στα όρια τόσο ομοιότητας των in vitro καμπυλών με βάση τους δείκτες άμεσης σύγκρισης όσο και βιοϊσοδυναμίας με βάση τις παραμέτρους C_{max} και $AUC_{T_{max},R}$ ¹⁰⁴ και αξιοποιούνται ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση των νέων συσχετίσεων με την περίπτωση του πρωτοταξικού μοντέλου και να αναδειχθεί έτσι πως επηρεάζεται η συσχέτιση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων με τους δείκτες όταν αλλάζει η κινητική και συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου σχήματος του σκευάσματος υπό έλεγχο, u_T .

II. IV. 1 In vitro-in vivo συσχετίσεις B1: $u_R = u_T = 0.5$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$

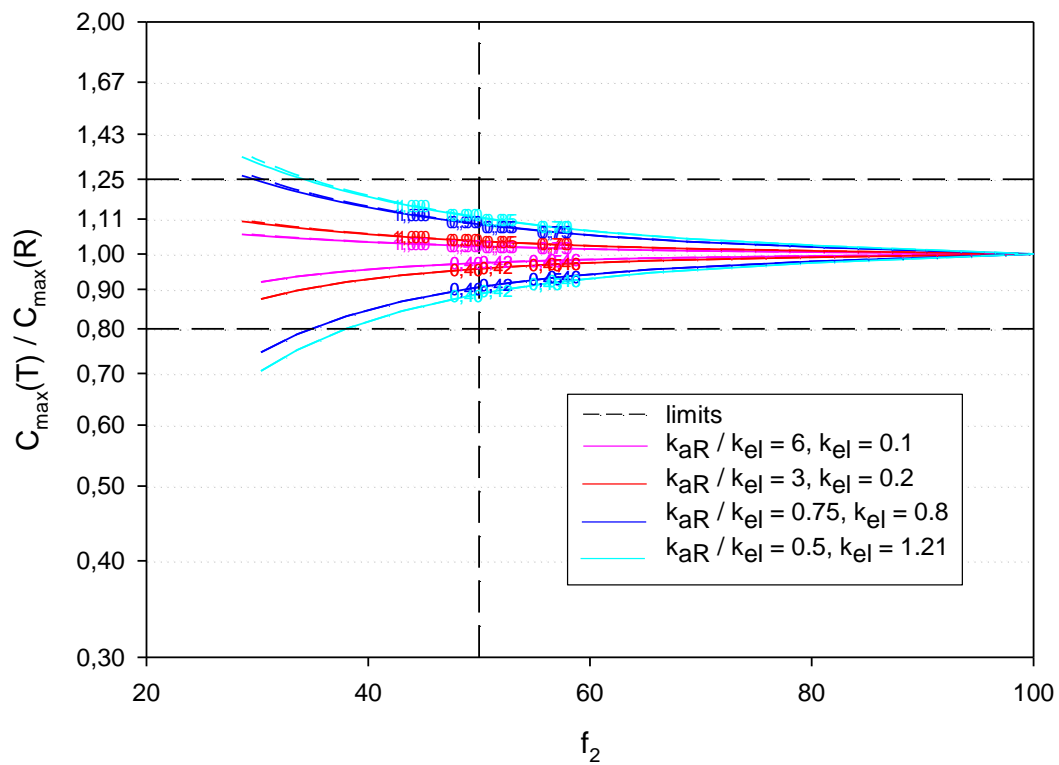
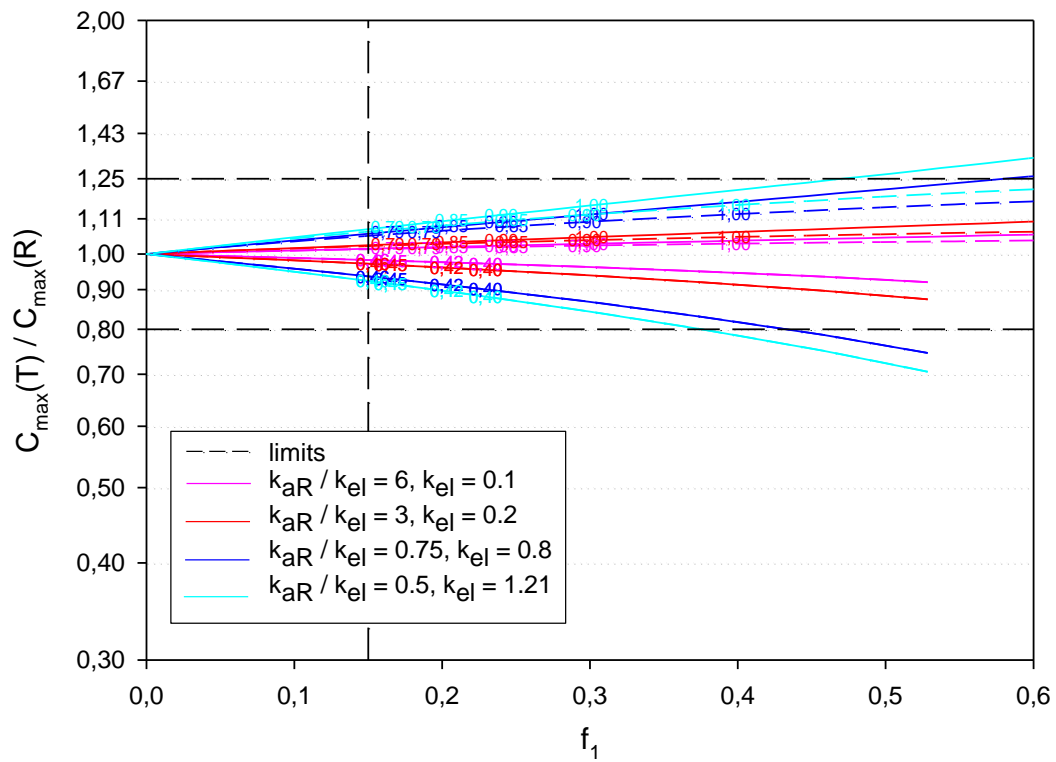


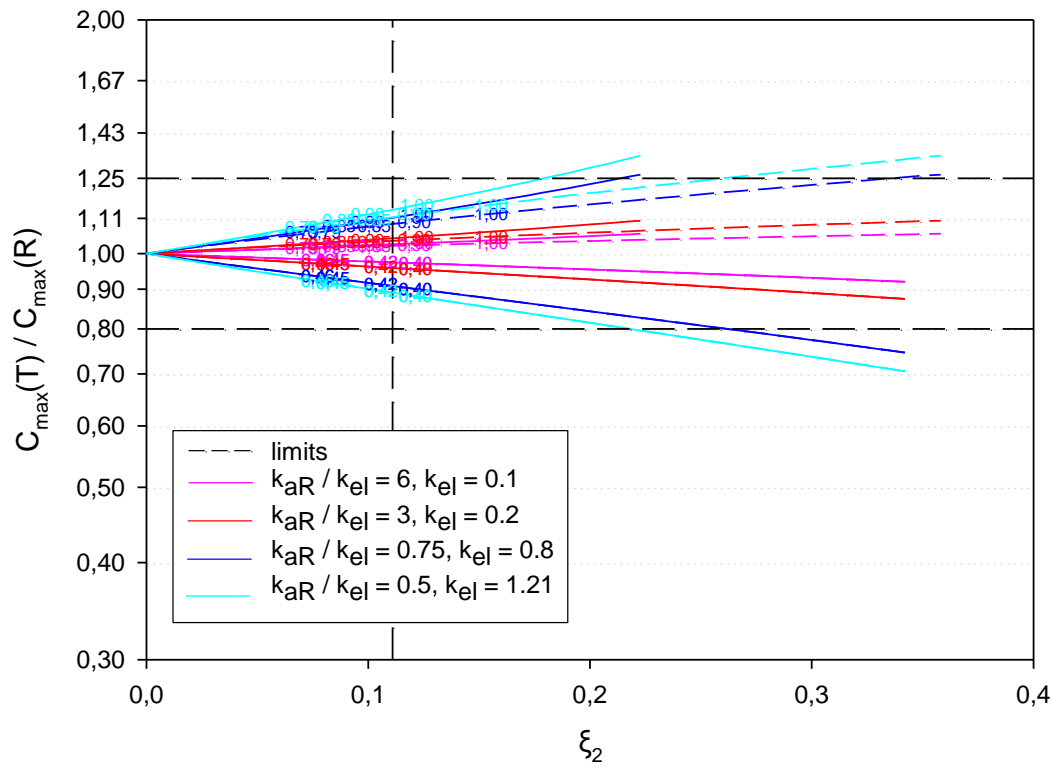
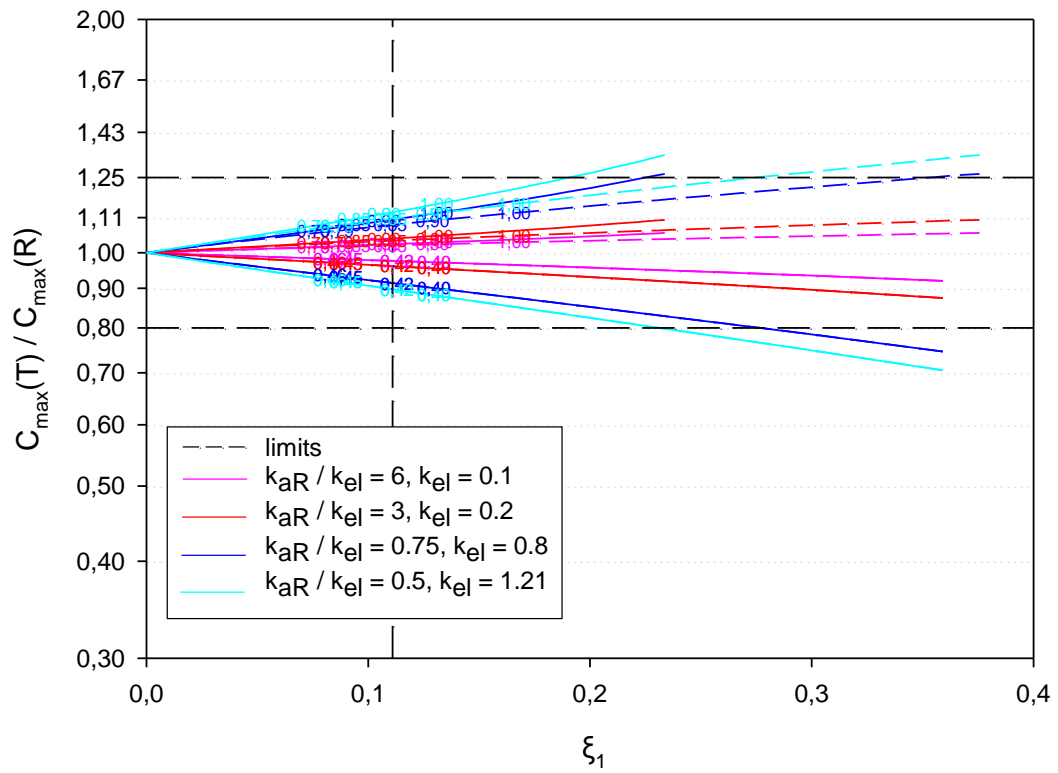


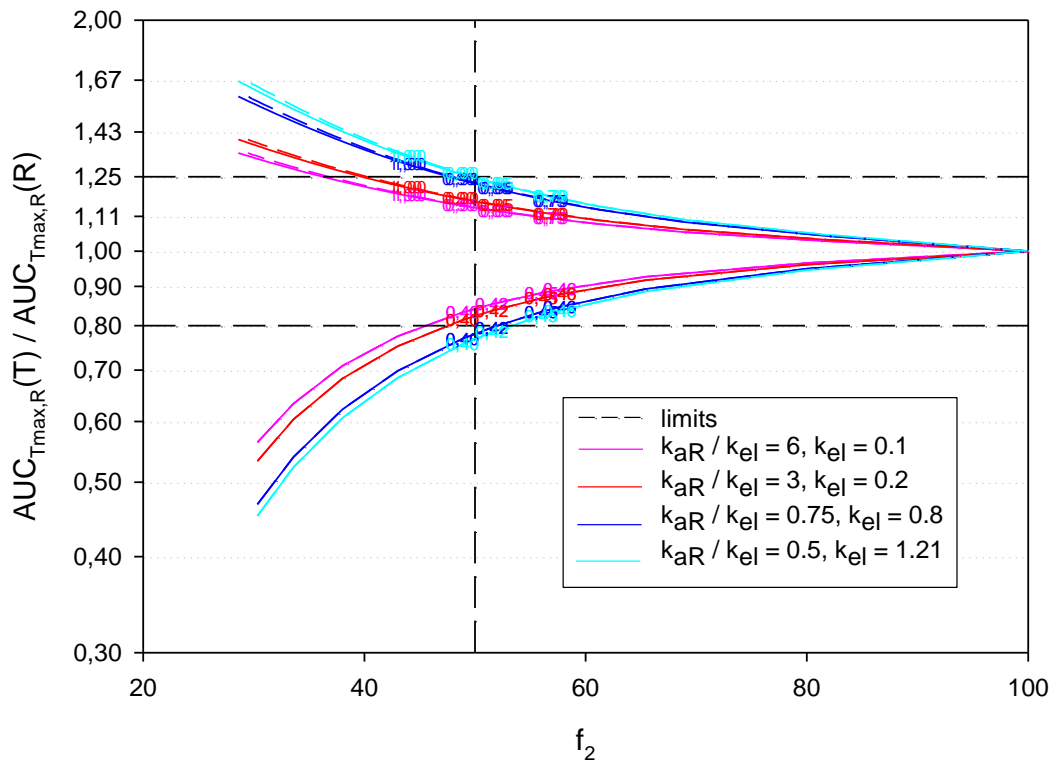
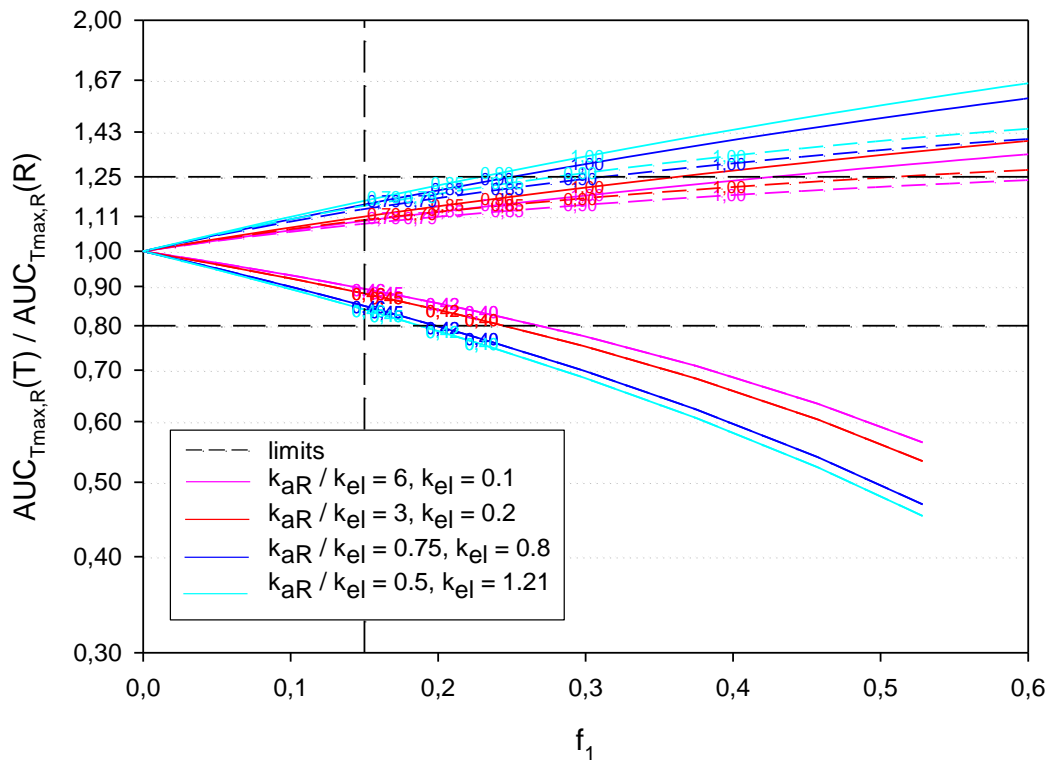


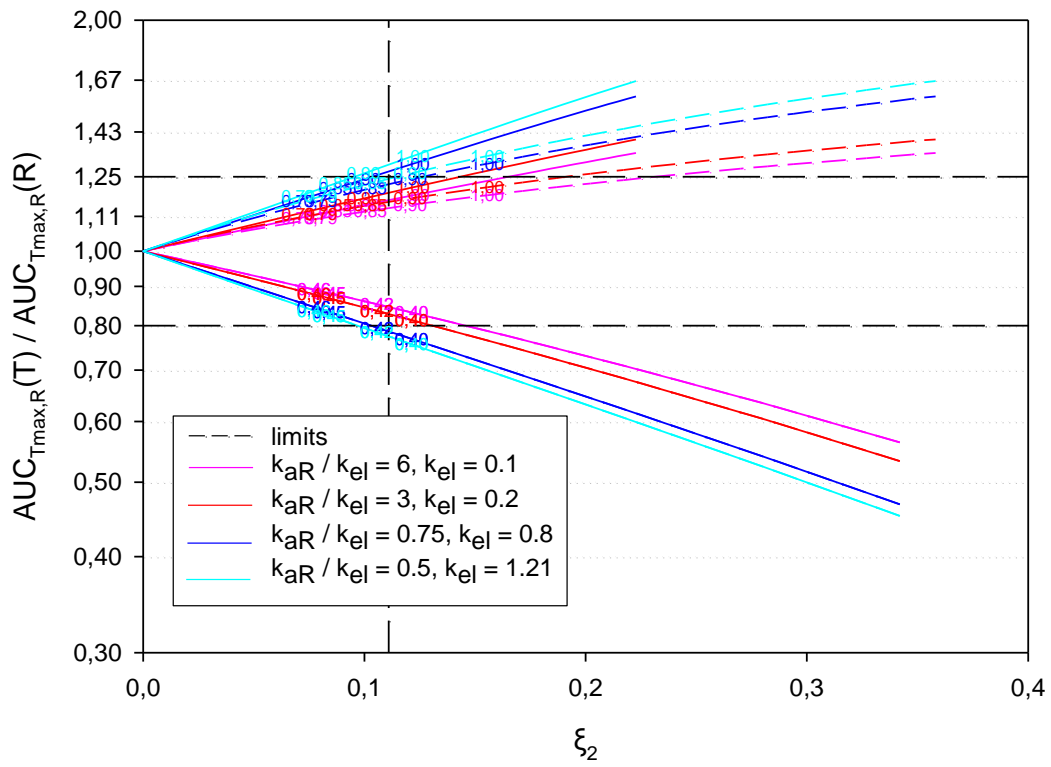
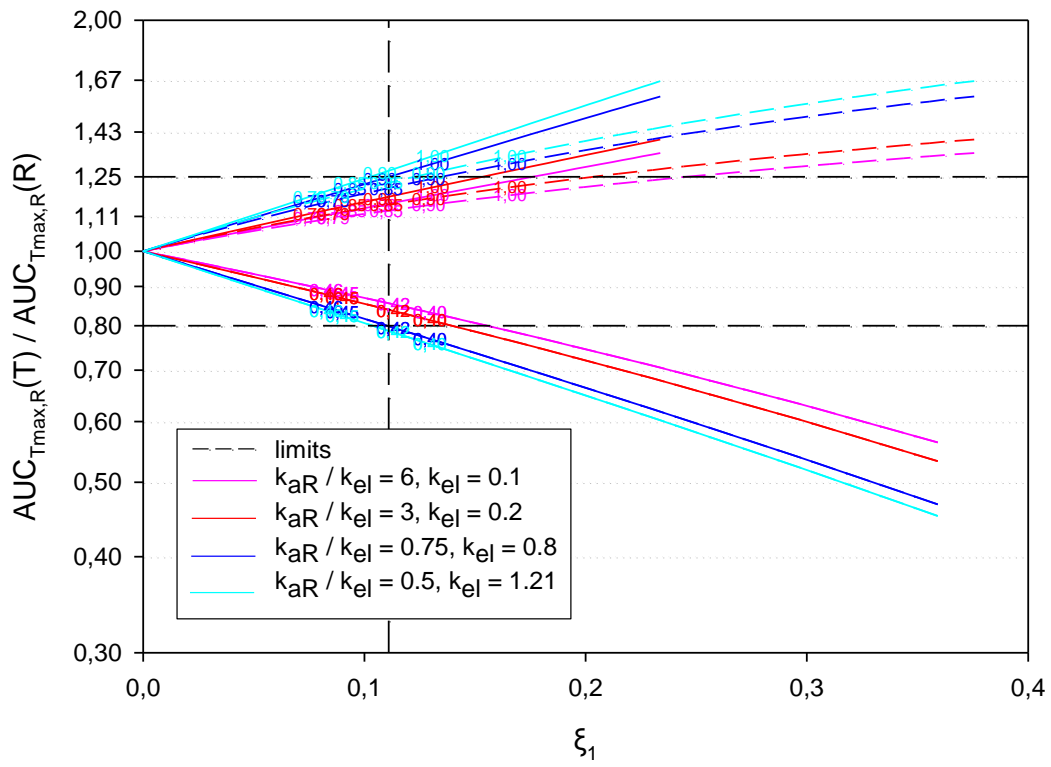


II. IV. 2 In vitro-in vivo συσχετίσεις B2: $u_R = u_T = 2$, $k_{aR} = 0.6$, $k_{aT} = [0.21-1.8]$



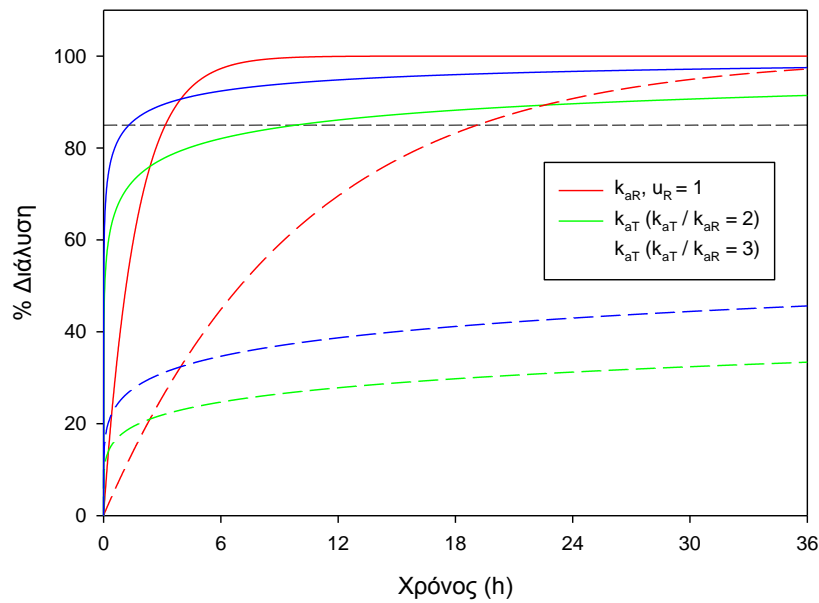




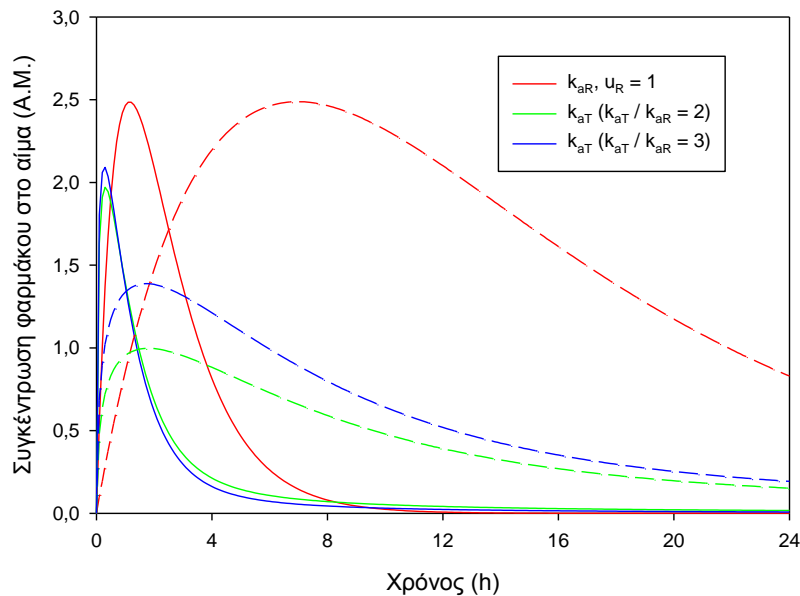


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V: Προσομοιώσεις Γ - In vitro καμπύλες διάλυσης, in vivo καμπύλες συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο και in vitro - in vivo συσχετίσεις

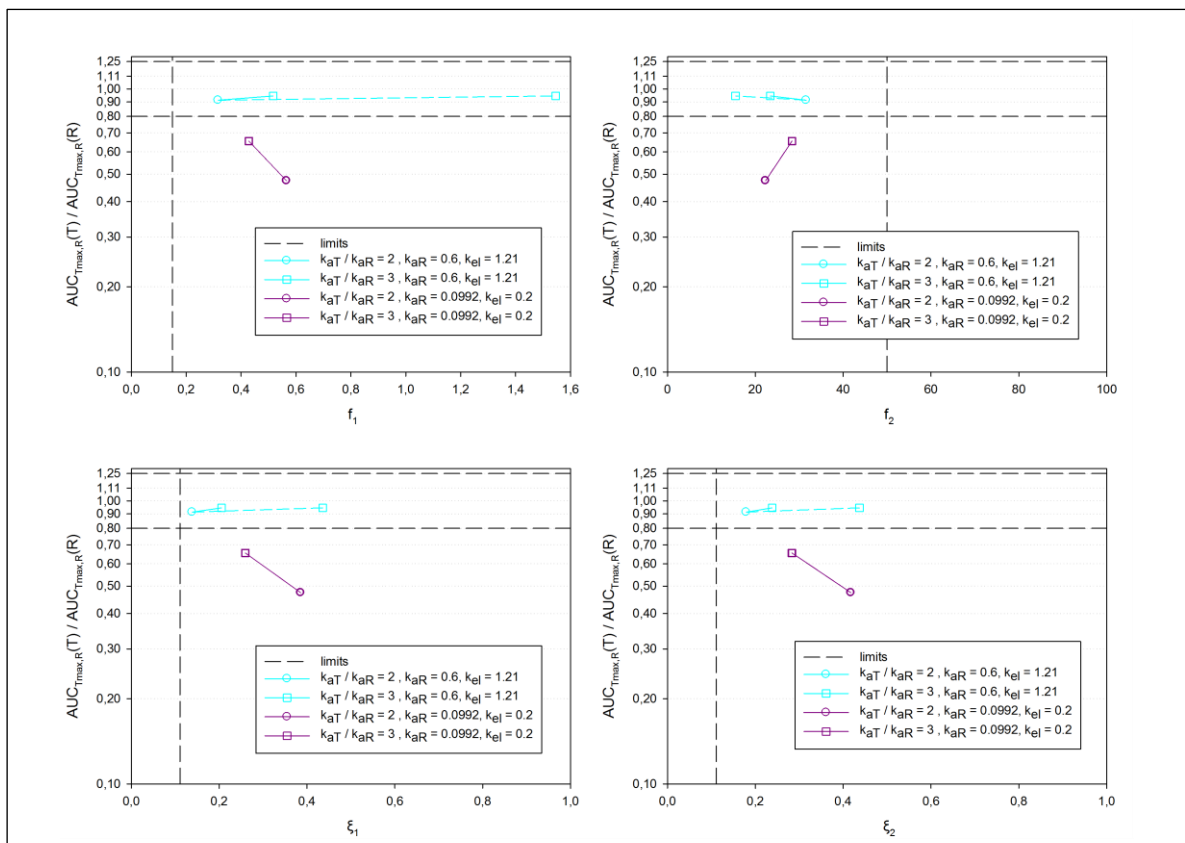
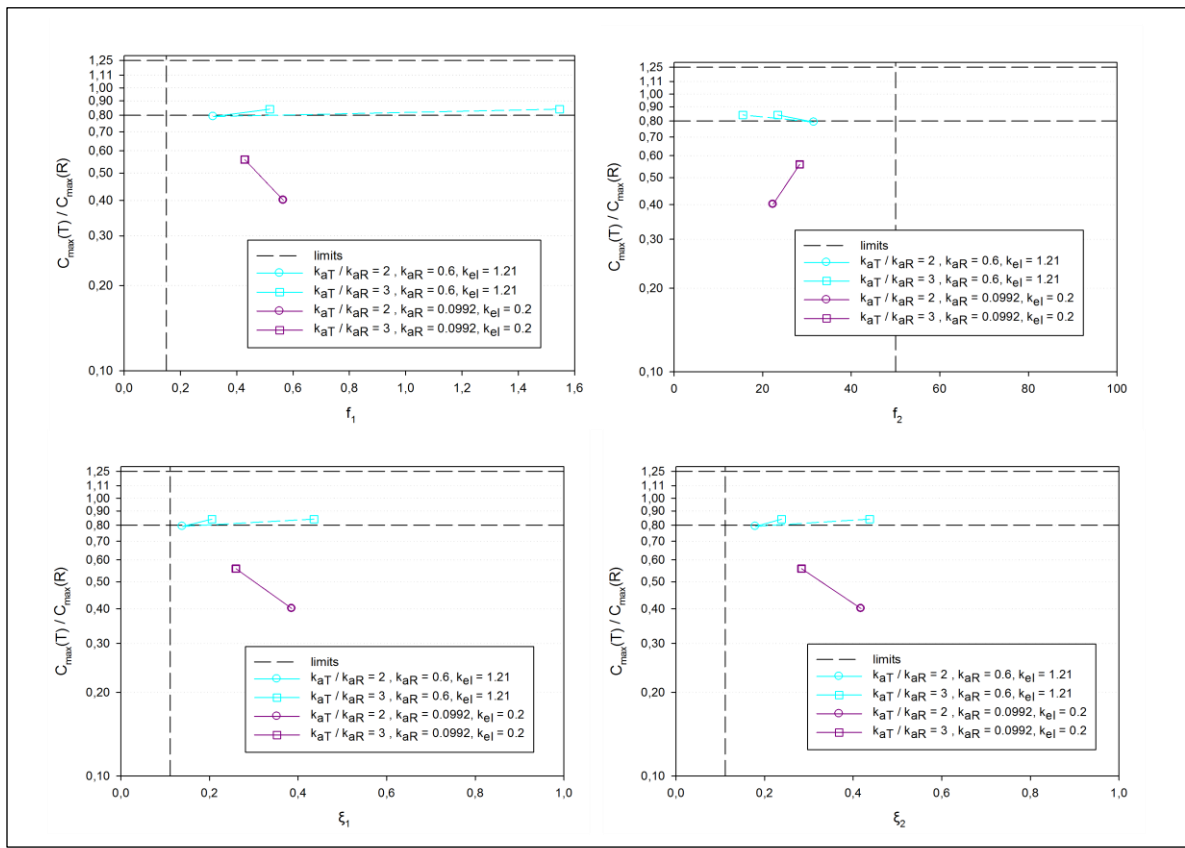
Π. V. 1 Προσομοίωση Γ1: $u_R = 1, u_T = 0.2, k_{aT}/k_{aR} = 2$ και $3, k_{aR}/k_{el} = 0.496$



Σχήμα Π.V.1: In vitro καμπύλες διάλυσης που προκύπτουν διατηρώντας το λόγο k_{aT}/k_{aR} σταθερό για δύο διαφορετικές τιμές της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 1.2$ και $k_{aT} = 1.8$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.1984$ και $k_{aT} = 0.2976$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.0992$.

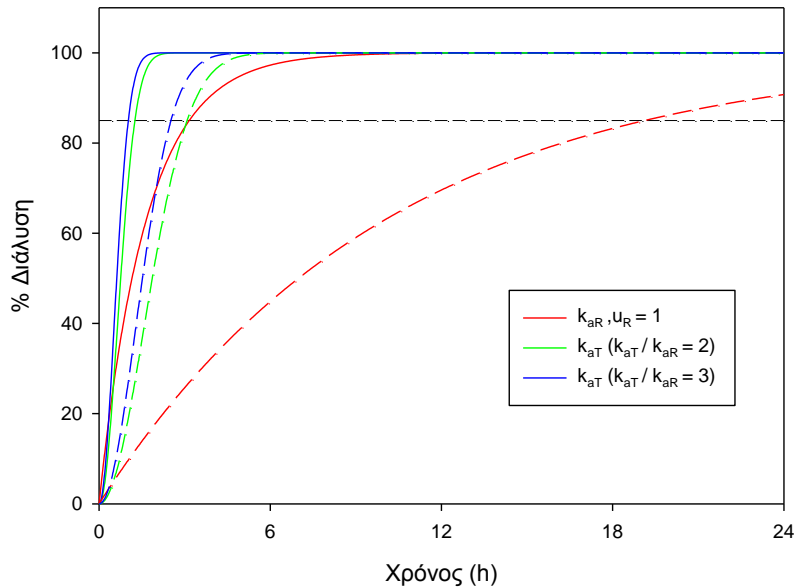


Σχήμα Π.V.2: In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{el} = 0.496$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 1.2$ και $k_{aT} = 1.8$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6, k_{el} = 1.21$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο $k_{aT} = 0.1984$ και $k_{aT} = 0.2976$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.0992, k_{el} = 0.2$.

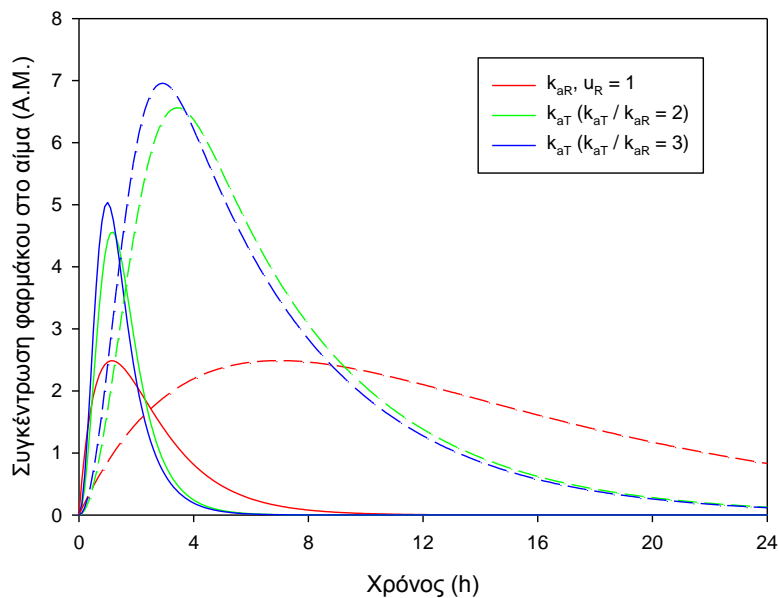


Σχήμα Π.Ν.3: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω) που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{el} = 0.496$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης, σε σχέση με τους δείκτες f_1, f_2, ξ_1, ξ_2 . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. Μαύρες διακεκομμένες γραμμές: όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας

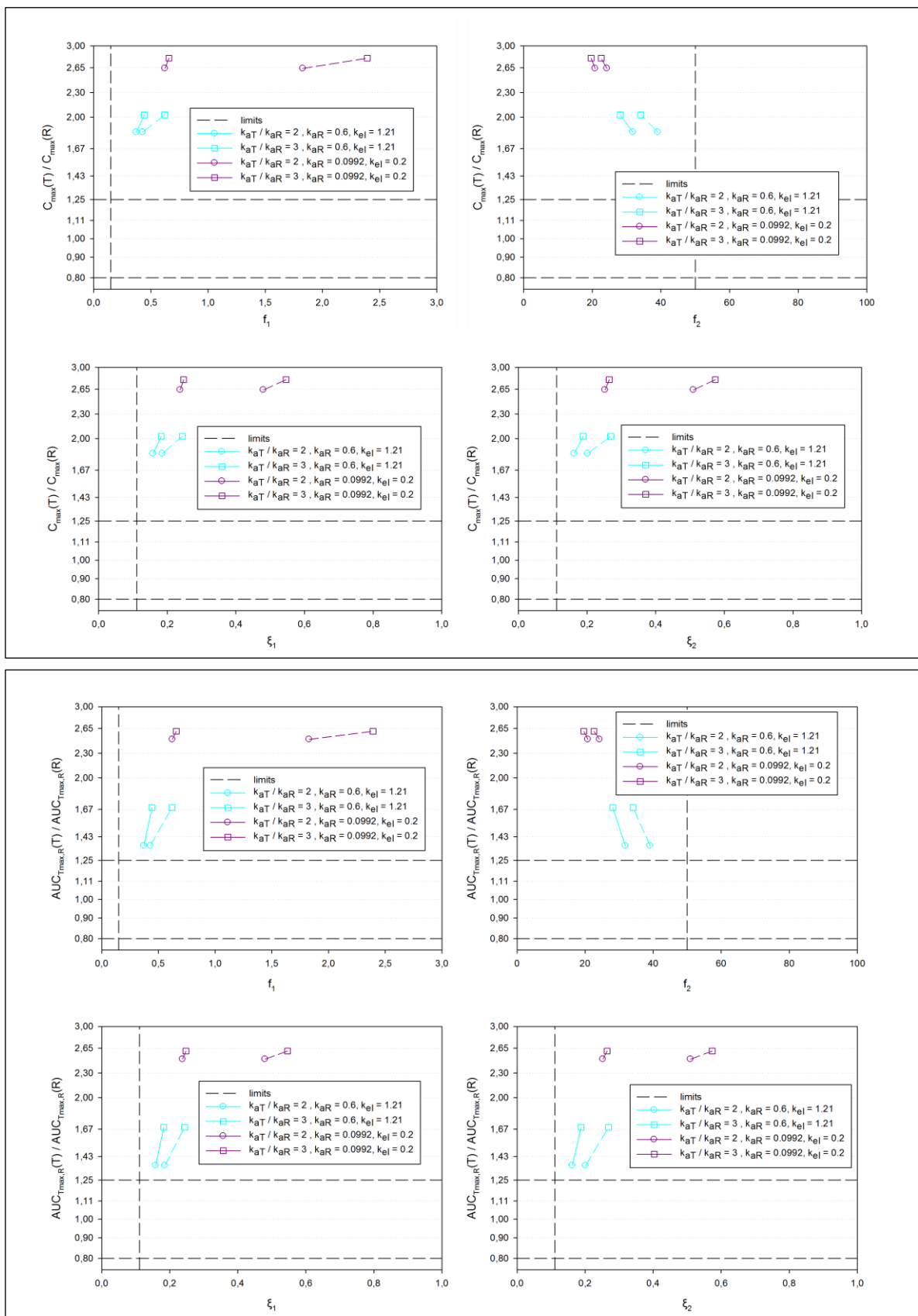
Π. V. 2(i) Προσομοίωση Γ2(i): $u_R = 1$, $u_T = 2$, $k_{aT}/k_{aR} = 2$ και 3 , $k_{aR}/k_{el} = 0.496$



Σχήμα Π.V.4: In vitro καμπύλες διάλυσης που προκύπτουν διατηρώντας το λόγο k_{aT}/k_{aR} σταθερό για δύο διαφορετικές τιμές της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 1.2$ και $k_{aT} = 1.8$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.1984$ και $k_{aT} = 0.2976$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.0992$.

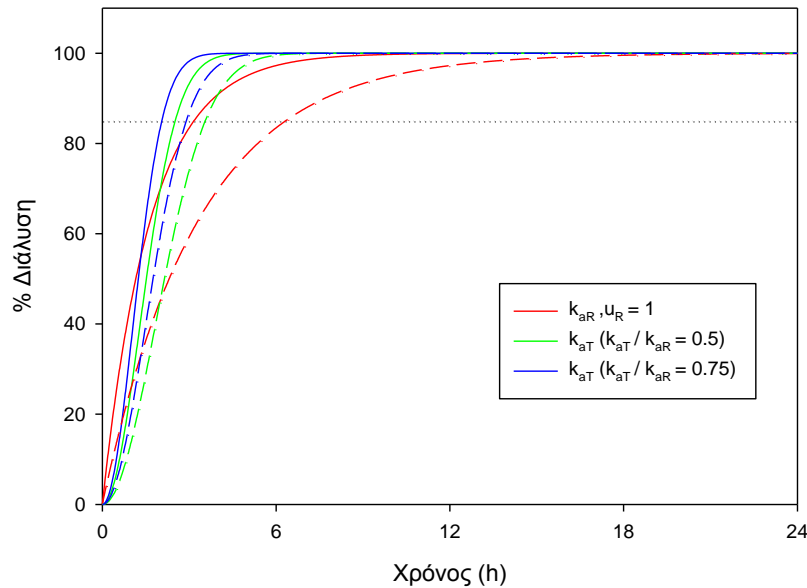


Σχήμα Π.V.5: In vivo καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{el} = 0.496$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 1.2$ και $k_{aT} = 1.8$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6$, $k_{el} = 1.21$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο $k_{aT} = 0.1984$ και $k_{aT} = 0.2976$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.0992$, $k_{el} = 0.2$.

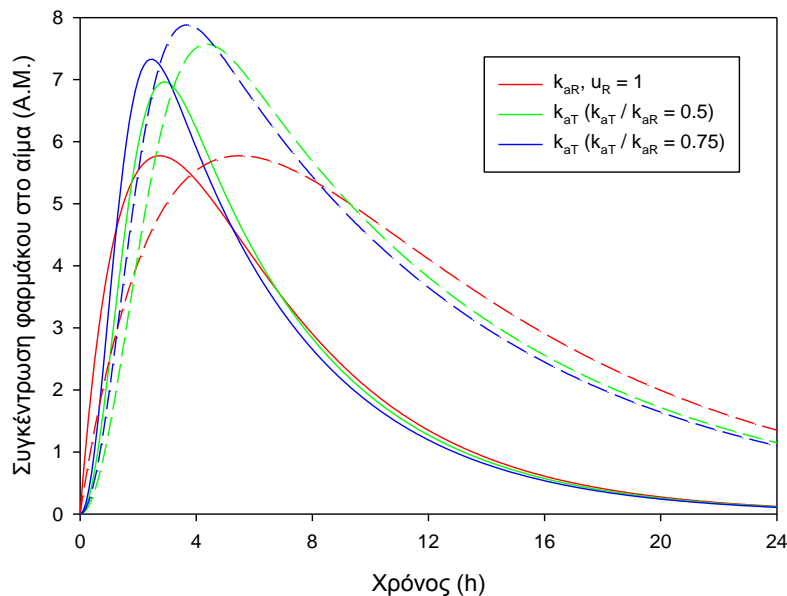


Σχήμα II.V.6: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω) που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{el} = 0.496$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης, σε σχέση με τους δείκτες f_1, f_2, ξ_1, ξ_2 . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. Μαύρες διακεκομμένες γραμμές: όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας

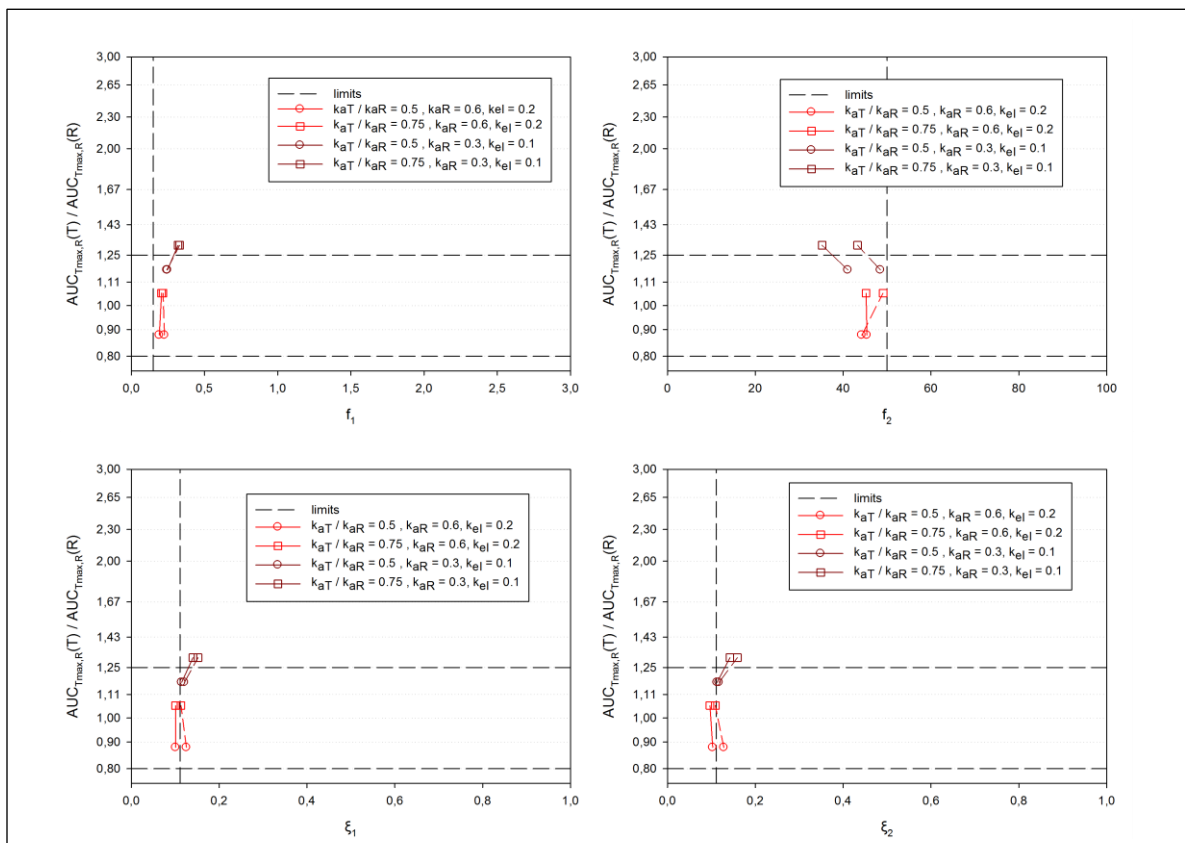
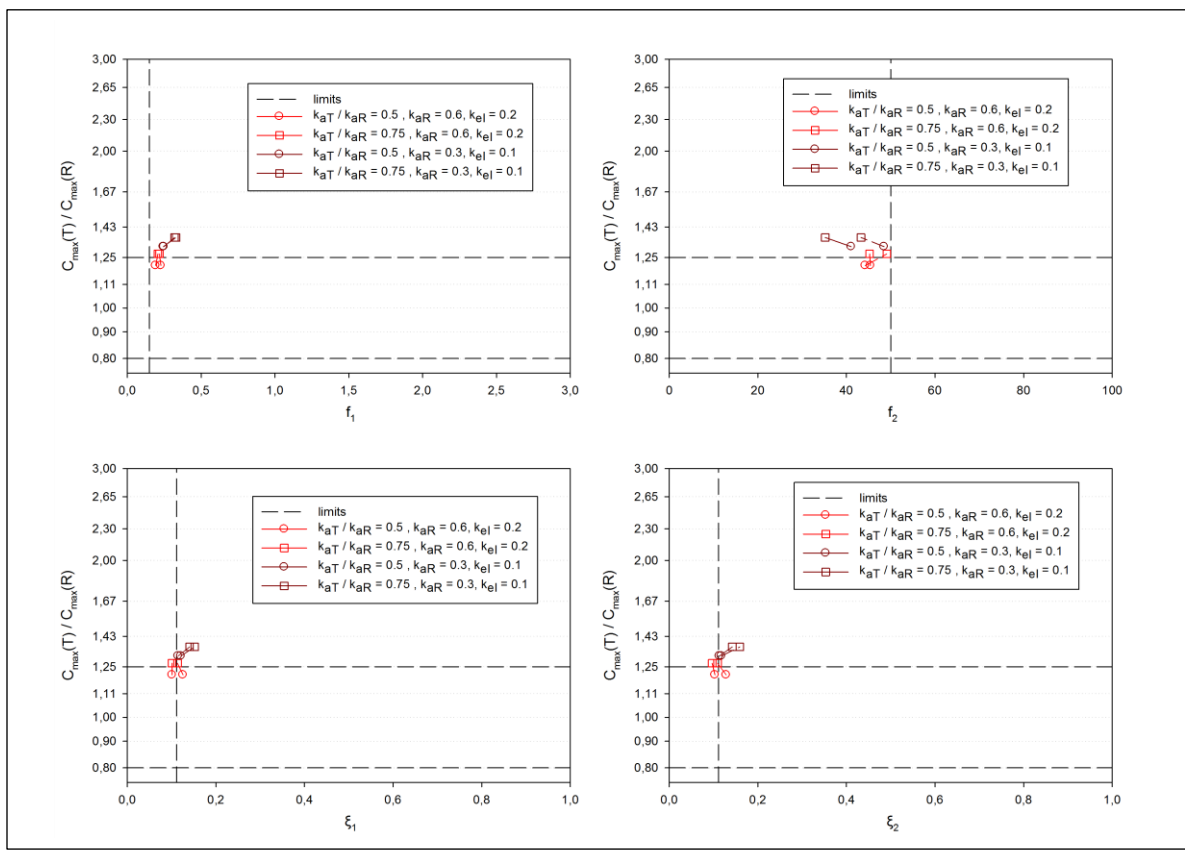
Π .V. 2(ii) Προσομοίωση Γ2(ii): $u_R = 1, u_T = 2, k_{aT}/k_{aR} = 0.5$ και $0.75, k_{aR}/k_{el} = 3$



Σχήμα Π.V.7: *In vitro* καμπύλες διάλυσης που προκύπτουν διατηρώντας το λόγο k_{aT}/k_{aR} σταθερό για δύο διαφορετικές τιμές της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.3$ και $k_{aT} = 0.45$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.15$ και $k_{aT} = 0.225$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.3$.



Σχήμα Π.V.8: *In vivo* καμπύλες συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{el} = 3$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης. Συνεχείς γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο με $k_{aT} = 0.3$ και $k_{aT} = 0.45$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.6, k_{el} = 0.2$. Διακεκομμένες γραμμές: Σκευάσματα υπό έλεγχο $k_{aT} = 0.15$ και $k_{aT} = 0.225$ και αναφοράς με $k_{aR} = 0.3, k_{el} = 0.1$.



Σχήμα Π.Ν.9: *In vitro* – *in vivo* συσχετίσεις: Λόγοι T/R των φαρμακοκινητικών παραμέτρων C_{max} (πάνω) και $AUC_{Tmax,R}$ (κάτω) που προκύπτουν διατηρώντας τον λόγο $k_{aR}/k_{eI} = 3$ για δύο διαφορετικούς συνδυασμούς τιμών της σταθεράς διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς και της σταθεράς απομάκρυνσης, σε σχέση με τους δείκτες f_1, f_2, ξ_1, ξ_2 . Συνεχείς έγχρωμες γραμμές: *ref85*. Διακεκομμένες έγχρωμες γραμμές: *fast85*. Μαύρες διακεκομμένες γραμμές: όρια ομοιότητας *in vitro* καμπυλών και βιοϊσοδυναμίας.

