



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Modelizado y simulación para evaluar la biodisponibilidad y la bioequivalencia de medicamentos

María Alejandra Schiavo Parodi

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Doctor en Química

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

Noviembre, 2025

**Modelizado y simulación para evaluar la
biodisponibilidad y la bioequivalencia de
medicamentos**

Tribunal:

Dr. Nicolás Veiga

Prof. Rafael Alonso

Dr. Robin Michelet

Prof. Manuel Ibarra, Director

Prof. Libre Pietro Fagiolino, Director

Prof. Iñaki F. Trocóniz, Director

A mamá, siempre

Agradecimientos

A la Comisión Académica de Posgrado (CAP), el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA) y la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), cuyos programas de apoyo permitieron que realizara mis estudios de Doctorado.

A mis tutores Manuel, Pietro e Iñaki por su dedicación y su experiencia para guiarme en este proceso. A las profesoras Marta y Cecilia por sus conocimientos compartidos.

Al grupo de Farmacometría y Farmacología de Sistemas de la Universidad de Navarra por la oportunidad de realizar mi pasantía de investigación.

A mis compañeros del Área Biofarmacia y Terapéutica del Departamento de Ciencias Farmacéuticas: Mari, Yessi, Andrés, Pati, Nela, Nati, Martín, Juan, Sabri, Delfi, Flor, Fran y Marilú por hacer la rutina más divertida.

A mis amigas Giu y Euge por una vida compartida, por crecer y seguir unidas. A lo mejor que me dejó la Facultad de Química: Tati, Jessi, Mage y Ari, por esas largas horas de estudio, por las aventuras, las risas y el soporte emocional.

A Agu, por su amor y paciencia incondicional todos estos años. A mis gatos y mis perras por su silenciosa compañía y por alegrarme día a día. Sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

Modelizado y simulación para evaluar la biodisponibilidad y la bioequivalencia de medicamentos

María Alejandra Schiavo Parodi, Dra.

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

2025

DIRECTORES: Prof. Manuel Ibarra ¹, Prof. Libre Pietro Fagiolino ¹,

Prof. Iñaki F. Trocóniz ^{2, 3}

¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química,

Universidad de la República ² Unidad de Investigación de

Farmacometría y Farmacología de Sistemas, Departamento de

Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia y Nutrición,

Universidad de Navarra, España ³ Instituto de Investigación

Sanitaria de Navarra, España

Resumen

El estudio de bioequivalencia constituye el principal control de calidad biofarmacéutica exigido para autorizar la comercialización de medicamentos similares. Su finalidad es comparar la biodisponibilidad relativa frente a un producto que, conteniendo el mismo principio activo, este definido como referencia por la autoridad regulatoria. Los medicamentos de referencia suelen ser los medicamentos llamados originales o innovadores, para los cuales se ha obtenido la evidencia suficiente para respaldar su eficacia y seguridad durante el período de desarrollo, y con los cuales la sociedad genera experiencia de uso clínico. La bioequivalencia permite entonces que un producto similar pueda comercializarse respaldando su seguridad y eficacia en la demostrada para el producto original, y por lo tanto se disponibilice en el mercado farmacéutico con precios menores, mejorando el acceso de la sociedad.

Si bien la evaluación de bioequivalencia es relativamente simple, su implementación conlleva desafíos importantes al tratarse de un ensayo clínico realizado principalmente en voluntarios sanos. Por ejemplo, la evaluación de productos oncológicos u otros medicamentos conteniendo principios activos con importantes efectos adversos conlleva limitaciones éticas relevantes. A su vez, debido a los fines regulatorios del estudio, el análisis farmacocinético implementado, denominado análisis no compartimental, requiere de un muestreo de concentraciones intenso, el cual es muy difícil implementar en casos de medicamentos complejos como productos oftálmicos. Finalmente, los costos económicos asociados a la evaluación de bioequivalencia restringen la implementación de este control de calidad, sobre todo en países como el nuestro, donde históricamente se han otorgado registros de comercialización sin esta evaluación llevando a que más del 90% de los productos comercializados continúan siendo similares.

La farmacometría es una disciplina centrada en el desarrollo de modelos computacionales mecanísticos, que se ha consolidado como una herramienta clave en la investigación farmacéutica, con aplicaciones relevantes para el desarrollo eficiente de medicamentos. Aunque los modelos farmacométricos incorporan cierto grado de subjetividad, ofrecen ventajas que permiten evaluar

la bioequivalencia al realizar ensayos clínicos con diseños de muestreo limitado, así como realizar proyecciones en condiciones no evaluadas experimentalmente. Este enfoque puede contribuir a reducir los costos éticos y económicos asociados a estos estudios clínicos, y por lo tanto a facilitar la implementación de políticas de genéricos que aseguren la disponibilidad de medicamentos con comprobada calidad biofarmacéutica a la población.

La presente tesis busca implementar el modelizado y la simulación para abordar las situaciones en las que el análisis tradicional de bioequivalencia resulta difícil de aplicar y para guiar la toma de decisiones basadas en modelos en el desarrollo de medicamentos similares. De esta manera, se pretende contribuir tanto al ámbito académico, como a la industria farmacéutica nacional y regional, mediante la aplicación de enfoques farmacométricos al desarrollo eficiente de medicamentos similares y su evaluación biofarmacéutica y clínica, superando así las limitaciones asociadas a la realización de ensayos clínicos.

Los métodos de bioequivalencia basada en modelos permiten analizar datos ya existentes y predecir resultados en situaciones no evaluadas. Para explorar este enfoque, se desarrolló un modelo no lineal de efectos mixtos que integró los datos de un estudio de bioequivalencia en dosis única entre dos formulaciones de ácido valproico, incorporando además la información sobre su unión saturable a proteínas plasmáticas. El objetivo de este trabajo fue proyectar el desempeño relativo de las formulaciones en condiciones de estado estacionario, reduciendo así la necesidad de estudios clínicos adicionales con fines regulatorios. Se exploraron además estrategias de diseño óptimo de experimentos para proponer ensayos clínicos con muestreo limitado que permitan arribar a resultados concluyentes.

Asimismo, se desarrollaron modelos de farmacología de sistemas para evaluar la equivalencia terapéutica entre formulaciones. Estos modelos integran observaciones experimentales y herramientas computacionales para analizar las interacciones de un fármaco dentro de un sistema biológico. Para aplicar esta metodología, el modelo no lineal de efectos mixtos fue integrado en una estructura mecanística que describe la interacción de los metabolitos del ácido valproico con las vías metabólicas de carnitina y amonio. Esta estrategia permitió caracterizar la toxicidad inducida por ácido valproico y evaluar los efectos de la

suplementación con L-carnitina, tanto en administración aguda como en tratamientos crónicos. Además, permitió la identificación de subgrupos de pacientes potencialmente sensibles a los efectos adversos del fármaco, avanzando no solo en la comparación de bioequivalencia, sino también en la evaluación de la equivalencia terapéutica entre las formulaciones estudiadas.

Finalmente, se trabajó en estrategias de predicción de bioequivalencia para informar la toma de decisiones en el desarrollo de medicamentos bioequivalentes, dentro del enfoque denominado “bioequivalencia virtual”. Esta estrategia utiliza modelos farmacocinéticos de base fisiológica que permiten integrar características de principios activos, del organismo y de la formulación evaluadas *in vitro* e *in silico* para predecir la biodisponibilidad relativa de diferentes formulaciones previo a la realización de estudios *in vivo*, aportando una base predictiva sólida para la toma de decisiones y optimizando el uso de recursos. Este enfoque se aplicó a un proyecto de investigación orientado a respaldar la toma de decisiones en el desarrollo de formulaciones bioequivalentes de liberación inmediata y de liberación prolongada de un fármaco de clase II según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Los resultados obtenidos destacan la eficacia de integrar modelos mecanísticos, métodos estadísticos avanzados y ensayos biofarmacéuticos, resaltando su utilidad para guiar el diseño racional y científicamente fundamentado de medicamentos similares.

La presente tesis evidencia el amplio potencial de las herramientas farmacométricas exploradas en distintos ámbitos del desarrollo farmacéutico, promoviendo un diseño racional de medicamentos. Además, facilita la identificación de problemas de calidad biofarmacéutica y la optimización de estrategias de dosificación, favoreciendo terapias más seguras y efectivas.

Palabras clave: farmacometría, bioequivalencia, medicamentos similares, modelos no lineales de efectos mixtos, farmacología de sistemas, calidad biofarmacéutica.

**Modeling and simulation to evaluate the
bioavailability and bioequivalence
of drug products**

María Alejandra Schiavo Parodi, PhD.

Graduate Program in Chemistry, Facultad de Química

Universidad de la República

2025

DIRECTORS: Prof. Manuel Ibarra ¹, Prof. Libre Pietro Fagiolino ¹,
Prof. Iñaki F. Trocóniz ^{2, 3}

¹ Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Chemistry,
Universidad de la República ² Pharmacometrics and Systems
Pharmacology Research Unit, Department of Pharmaceutical
Sciences, School of Pharmacy and Nutrition, Universidad de
Navarra, Spain ³ Navarra Institute of Health Research, Spain

Abstract

Bioequivalence studies are the primary biopharmaceutical quality control required to authorize the marketing of similar drug products. Their purpose is to compare the relative bioavailability of a product that contains the same active ingredient as a reference product designated by the regulatory authority. Reference products are typically the original or innovative pharmaceutical products for which sufficient evidence of efficacy and safety has been generated during development, and for which extensive clinical use experience exists. Bioequivalence assessment enables a similar product to be marketed by allowing its safety and efficacy to be inferred from those of the original product. This makes the product available at a lower cost, thereby improving societal access.

Although bioequivalence evaluation is relatively simple, its implementation involves significant challenges, as it is a clinical trial conducted primarily in healthy volunteers. For example, the evaluation of oncological products or drug products containing active ingredients with substantial adverse effects poses important ethical limitations. Moreover, because the study has a regulatory purpose, the pharmacokinetic analysis employed, non-compartmental analysis, requires intensive concentration sampling, which is particularly difficult to implement in complex drug products such as ophthalmic formulations. Finally, the economic costs associated with bioequivalence evaluation limit the implementation of this quality control, especially in countries like ours, where marketing authorizations have historically been granted without such evaluation, resulting in more than 90% of marketed products remaining as similar products.

Pharmacometrics is a discipline focused on the development of mechanistic computational models and has become a key tool in pharmaceutical research, with important applications for the efficient development of drug products. Although pharmacometric models incorporate a certain degree of subjectivity, they offer advantages that enable the evaluation of bioequivalence using clinical trials with limited sampling designs, as well as the projection of outcomes under conditions not experimentally assessed. This approach can contribute to reducing the ethical and economic costs associated with these clinical studies and, consequently, facilitate the implementation of generic drug policies that

ensure the availability of drug products with proven biopharmaceutical quality for the population.

The present thesis aims to apply modeling and simulation to address situations in which traditional bioequivalence analysis is difficult to implement, and to support model-based decision-making in the development of similar products. In doing so, it seeks to contribute both to the academic field and to the national and regional pharmaceutical industry by applying pharmacometric approaches to the efficient development, biopharmaceutical assessment, and clinical evaluation of similar products, thereby helping to overcome the limitations associated with conducting clinical trials.

Model-based bioequivalence methods enable the analysis of existing data and the prediction of outcomes under conditions not experimentally evaluated. To explore this approach, a nonlinear mixed-effects model was developed that integrated data from a single-dose bioequivalence study comparing two valproic acid formulations, additionally incorporating information on its saturable plasma-protein binding. The objective of this work was to project the relative performance of the formulations under steady-state conditions, thereby reducing the need for additional clinical studies for regulatory purposes. Optimal experimental design strategies were also evaluated to propose clinical trials with limited sampling schemes capable of yielding conclusive results.

Additionally, systems pharmacology models were developed to evaluate therapeutic equivalence between formulations. These models integrate experimental observations with computational tools to analyze drug interactions within a biological system. To apply this methodology, the nonlinear mixed-effects model was incorporated into a mechanistic framework that describes the interaction of valproic acid metabolites with carnitine and ammonia metabolic pathways. This strategy enabled the characterization of valproic acid-induced toxicity and the assessment of the effects of L-carnitine supplementation under both acute administration and chronic treatment conditions. Moreover, it allowed the identification of patient subgroups potentially more sensitive to the drug's adverse effects, thereby advancing not only the comparison of bioequivalence but also the evaluation of therapeutic equivalence between the studied formulations.

Finally, strategies for predicting bioequivalence were developed to inform decision-making in the development of bioequivalent products, within the framework “virtual bioequivalence.” This approach uses physiologically based pharmacokinetic models that integrate characteristics of active ingredients, the organism, and *in vitro* and *in silico* formulation data to predict the relative bioavailability of different formulations prior to conducting *in vivo* studies. In this way, it provides a robust predictive basis for decision-making and helps optimize the use of resources. This methodology was applied to a research project aimed at supporting decision-making in the development of immediate-release and extended-release bioequivalent formulations of a Biopharmaceutics Classification System class II drug. The results demonstrate the effectiveness of integrating mechanistic models, advanced statistical methods, and biopharmaceutical assays, highlighting their value in guiding the rational and scientifically grounded design of similar drug products.

The present thesis demonstrates the broad potential of pharmacometric tools across multiple areas of pharmaceutical development, supporting the rational design of drug products. Moreover, these tools enable the identification of biopharmaceutical quality issues and the optimization of dosing strategies, ultimately contributing to safer and more effective therapies.

Keywords: pharmacometrics, bioequivalence, generic drugs, nonlinear mixed-effects models, quantitative systems pharmacology, biopharmaceutical quality.

Listado de Publicaciones

1. Schiavo A, Maldonado C, Vázquez M, et al (2023) Quantitative systems pharmacology Model to characterize valproic acid-induced hyperammonemia and the effect of L-carnitine supplementation. Eur J Pharm Sci 183:106399. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106399>
2. Schiavo A, Fagiolino P, Vázquez M, et al (2024) Model-Based Bioequivalence Analysis to Assess and Predict the Relative Bioavailability of Valproic Acid Formulations. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13318-024-00901-8>

Índice de contenido

Índice de contenido	xiv
Lista de tablas	xix
Lista de figuras	xxi
Lista de abreviaturas	xxv
1. Marco teórico introductorio	27
Introducción	27
Bioequivalencia	27
Farmacometría	31
Ácido valproico	37
Objetivo general	39
Bibliografía	39
2. Análisis de bioequivalencia basado en modelos para evaluar y predecir la biodisponibilidad relativa entre dos formulaciones conteniendo ácido valproico	
45	
Introducción	45
Objetivos	48
Metodología	48
Estudio de bioequivalencia en dosis única	49
Desarrollo del modelo no lineal de efectos mixtos	50
Evaluación del modelo no lineal de efectos mixtos	52
Análisis de bioequivalencia basada en modelos para concentraciones plasmáticas totales y libres	52
Evaluación de bioequivalencia basada en modelos	54
Predicción de bioequivalencia basada en modelos	54
Resultados	55
Desarrollo del modelo no lineal de efectos mixtos	55

Evaluación del modelo no lineal de efectos mixtos.....	58
Evaluación de bioequivalencia basada en modelos	62
Predicción de bioequivalencia basada en modelos	63
Discusión	66
Conclusiones	68
Bibliografía	68
3. Estrategias de muestreo limitado para el diseño óptimo de un estudio de bioequivalencia en paralelo entre dos formulaciones conteniendo ácido valproico	
72	
Introducción	72
Objetivos	75
Metodología	75
Simulaciones basadas en el modelo farmacocinético poblacional	75
Análisis de regresión múltiple	76
Análisis basado en modelos	78
Evaluación de bioequivalencia.....	79
Resultados	81
Análisis de regresión múltiple	81
Análisis basado en modelos no lineales de efectos mixtos	84
Evaluación de bioequivalencia.....	88
Discusión	89
Conclusiones	93
Bibliografía	93
4. Modelo de Farmacología de Sistemas para caracterizar la hiperamonemia inducida por ácido valproico y los beneficios de suplementar con L-carnitina .	96
Introducción	96
Objetivos	99
Metodología	99

Adquisición de datos.....	100
Modelo de farmacología de sistemas	101
Estimación de parámetros	102
Análisis de sensibilidad.....	104
Simulaciones y predicciones del modelo	105
Resultados	106
Modelo de farmacología de sistemas	106
Análisis de sensibilidad.....	110
Simulaciones y predicciones del modelo	112
Discusión	116
Conclusiones	118
Bibliografía	118
5. Modelo de Farmacología de Sistemas de la toxicidad del ácido valproico en poblaciones pediátricas y adultas: implicancias para la selección de formulaciones y la suplementación con L-carnitina	124
Introducción	124
Objetivos	126
Metodología	126
Adquisición de datos.....	126
Integración del efecto del sexo y la edad en los parámetros del modelo.	128
Evaluación del modelo.....	130
Aplicaciones del modelo	131
Resultados	132
Evaluación del modelo.....	132
Aplicaciones del modelo	135
Discusión	141
Conclusiones	146
Bibliografía	146

6. Modelizado y simulación para orientar el desarrollo de medicamentos de liberación inmediata y liberación prolongada.....	153
Introducción	153
Objetivos	156
Metodología	156
Datos aportados por el patrocinador.....	157
Análisis no compartimental de los datos de bioequivalencia	157
Modelo no lineal de efectos mixtos para las formulaciones de liberación inmediata	158
Deconvolución de perfiles de disolución in vivo de las formulaciones de liberación prolongada.....	158
Modelo biofarmacéutico de base fisiológica para las formulaciones	159
Bioequivalencia basada en modelos	159
Resultados	160
Análisis no compartimental de los datos de bioequivalencia	160
Análisis basados en modelos para las formulaciones de liberación inmediata	163
Deconvolución de perfiles de disolución in vivo de las formulaciones de liberación prolongada.....	170
Discusión	176
Conclusiones	179
Bibliografía	180
7. Discusión y conclusiones generales	183
8. Anexos.....	clxxxix
Anexo I: Código del modelo no lineal de efectos mixtos desarrollado en Monolix®	clxxxix
Anexo II: Código del entorno de R para el análisis de bioequivalencia basada en modelos	cxc
Anexo III: Ecuaciones finales de las regresiones lineales múltiples.....	cxciv

Anexo IV: Ecuaciones diferenciales ordinarias del modelo QSP	cc
Anexo V: Ecuaciones de las distintas vías de eliminación de ácido valproico	ccii
Anexo VI: Perfiles farmacocinéticos y diagramas de caja para las concentraciones de los componentes de la red	cciii

Lista de tablas

Tabla 2.1 Parámetros estimados del modelo farmacocinético poblacional	57
Tabla 2.2 Bioequivalencia de las concentraciones totales en dosis única usando el diseño de muestreo experimental.....	63
Tabla 2.3 Bioequivalencia basada en modelos para las concentraciones totales y libres, en dosis única usando y en estado estacionario.....	66
Tabla 3.1 Indicadores de desempeño de las ecuaciones de regresión lineal múltiple con 1, 2 y 3 tiempos de muestreo.	82
Tabla 3.2 Validación de las ecuaciones de regresión múltiple.....	83
Tabla 3.3 Indicadores de desempeño del enfoque basado en modelos para los distintos esquemas de muestreo.....	85
Tabla 3.4 Parámetros estimados del modelo no lineal de efectos mixtos en estado estacionario	87
Tabla 3.5 Resultados del estudio de bioequivalencia en dosis única	88
Tabla 3.6 Predicciones del estudio de bioequivalencia en estado estacionario	89
Tabla 4.1 Parámetros del modelo.....	106
Tabla 4.2 Resultados de análisis de sensibilidad	111
Tabla 4.3 Incidencia de hiperamonemia predicha por el modelo (N=1000).....	113
Tabla 5.1 Concentraciones de ácido valproico simuladas y reportadas para población pediátrica en estado estacionario	135
Tabla 5.2 Resumen de las razones de probabilidades de la incidencia de hiperamonemia entre Test y Referencia, dentro de cada grupo etario	137
Tabla 5.3 Resumen de las razones de probabilidades de la incidencia de hiperlipidemia entre Test y Referencia, dentro de cada grupo etario.....	139
Tabla 6.1 Resultados del análisis ANOVA para las formulaciones de liberación inmediata.....	161
Tabla 6.2 Resultados del análisis ANOVA para las formulaciones de liberación prolongada	162
Tabla 6.3 Valores estimados de los parámetros del modelo no lineal de efectos mixtos.....	164
Tabla 6.4 Propiedades del principio activo incluidas en el modelo final	168
Tabla 6.5 Predicción de bioequivalencia basada en modelos para la formulación Test.....	169

Tabla 6.6 Resultados del segundo estudio de bioequivalencia <i>in vivo</i> para las formulaciones de liberación inmediata	169
Tabla 6.7 Resultados del análisis de deconvolución de los perfiles farmacocinéticos obtenidos tras la administración de las formulaciones de liberación prolongada	171
Tabla 6.8 Propiedades del principio activo y del individuo incluidas en el modelo final para las formulaciones de liberación prolongada.....	172
Tabla 6.9 Resultados de la predicción de bioequivalencia <i>in silico</i> para la formulación Test 2	175
Tabla 6.10 Resultados del estudio de bioequivalencia <i>in vivo</i> para la formulación Test 2.....	176

Lista de figuras

Figura 1.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Descripción y ejemplos de cada clase.	30
Figura 1.2 Ilustración de la metodología para desarrollar modelos con los enfoques “bottom up” y “top down”	33
Figura 2.1 Flujo de trabajo metodológico seguido en este trabajo.	49
Figura 2.2 Método implementado para obtener el intervalo de confianza no paramétrico al 90%	54
Figura 2.3 Modelo farmacocinético poblacional de ácido valproico.....	56
Figura 2.4 Comprobación visual predictiva estratificada por formulación.....	58
Figura 2.5 Concentraciones plasmáticas totales en función de las concentraciones plasmáticas libres de ácido valproico	59
Figura 2.6 Concentraciones plasmáticas totales en función del tiempo tras dosis única y en estado estacionario de una administración oral de 900 mg (abajo) y 1000 mg (arriba) de ácido valproico cada 12 horas.	60
Figura 2.7 Concentraciones plasmáticas totales a pre-dosis en función del tiempo tras un tratamiento oral de 600/300/300 mg de ácido valproico al día.	61
Figura 2.8 Comparación posterior predictiva de las métricas relevantes de bioequivalencia para ambas formulaciones, usando el diseño de muestreo experimental.....	62
Figura 2.9 Comparación de los intervalos de confianza al 90% para los cocientes de medias geométricas Test/Referencia (IC90 T/R) para las concentraciones totales de ácido valproico tras dosis única	64
Figura 3.1 Flujo de trabajo metodológico implementado en el análisis de regresión múltiple	77
Figura 3.2 Flujo de trabajo metodológico implementado en el enfoque basado en modelos.....	79
Figura 3.3 Correlación entre las métricas obtenidas con muestreo intenso y las calculadas con ecuaciones de regresión múltiple para todos los individuos simulados	84
Figura 3.4 Correlación entre las métricas verdaderas y las estimadas con el enfoque basado en modelos para todos los individuos.....	86

Figura 4.1 Estructura molecular del ácido valproico y sus principales metabolitos	96
Figura 4.2 Red de farmacología de sistemas	99
Figura 4.3 Diagrama de flujo que describe los pasos seguidos en el desarrollo y aplicación del modelo	100
Figura 4.4 Concentraciones plasmáticas totales simuladas versus observadas en estado estacionario de ácido valproico y sus metabolitos tras la administración oral de 200 mg de ácido valproico cada 12 horas	109
Figura 4.5 Concentraciones basales simuladas versus observadas de carnitina y amonio en sujetos sin tratamiento con ácido valproico	110
Figura 4.6 Concentraciones simuladas para un paciente típico en función del tiempo para todos los componentes de la red del modelo después del inicio del tratamiento con ácido valproico (500 mg cada 12 horas) a las 100 horas	112
Figura 4.7 . Impacto de la suplementación con L-carnitina en las concentraciones simuladas de amonio durante el tratamiento crónico con ácido valproico y en casos de una ingesta aguda (sobredosis)	113
Figura 4.8 Efecto del tiempo de inicio del rescate con L-carnitina en las concentraciones de amonio de un paciente típico, tras una sobredosis aguda de ácido valproico	114
Figura 4.9 Diagramas de cajas de las concentraciones plasmáticas simuladas a predosis en estado estacionario de amonio (arriba) y ácido valproico libre (abajo) bajo diferentes tratamientos con ácido valproico y L-carnitina	115
Figura 5.1 Red de farmacología de sistemas adaptada	127
Figura 5.2 Contribución individual de cada vía de eliminación de ácido valproico al aclaramiento total en función de la edad, tras una dosis única	133
Figura 5.3 Aclaramiento plasmático total de ácido valproico normalizado por masa corporal en función de la edad	134
Figura 5.4 Incidencia de hiperamonemia en cada grupo etario luego de la administración de 35 mg/kg/día (infantes), 25 mg/kg/día (niños) y 15 mg/kg/día (adultos) de ácido valproico	136
Figura 5.5 Incidencia de hiperlipidemia en cada grupo etario luego de la administración de 35 mg/kg/día (infantes), 25 mg/kg/día (niños) y 15 mg/kg/día (adultos) de ácido valproico	138

Figura 5.6 Gráfico de barras para la mediana de la incidencia de hiperamonemia bajo diferentes posologías de ácido valproico y L-carnitina en estado estacionario	140
Figura 5.7 Gráfico de barras para la mediana de la incidencia de hiperlipidemia bajo diferentes posologías de ácido valproico y L-carnitina en estado estacionario	140
Figura 6.1 Objetivos e información necesaria para los enfoques de convolución (arriba) y deconvolución (abajo)	154
Figura 6.2 Flujo de trabajo realizado para guiar el desarrollo de formulaciones de liberación inmediata y liberación prolongada.....	157
Figura 6.3 Perfiles farmacocinéticos poblacionales, estratificados por formulación, para las formulaciones de liberación inmediata	160
Figura 6.4 Intervalos de confianza 90% para el cociente de medias geométricas, estratificado por sexo y para la muestra total de voluntarios, para las formulaciones de liberación inmediata	161
Figura 6.5 Perfiles farmacocinéticos poblacionales, estratificados por formulación, para las formulaciones de liberación prolongada.....	162
Figura 6.6 Intervalos de confianza 90% para el cociente de medias geométricas, estratificado por sexo y para la muestra total de voluntarios, para las formulaciones de liberación prolongada	163
Figura 6.7 Comprobación visual predictiva para el modelo final	165
Figura 6.8 Perfiles de disolución in vitro de las formulaciones de liberación inmediata, aportados por el laboratorio patrocinador	166
Figura 6.9 Ajuste del modelo publicado (adaptado a PK-Sim®) a los datos farmacocinéticos disponibles para el producto Referencia de liberación inmediata	167
Figura 6.10 Perfiles de disolución in vivo estimados con el análisis de deconvolución de los perfiles farmacocinéticos obtenidos tras la administración de las formulaciones de liberación prolongada	172
Figura 6.11 Concentración en función del tiempo de la formulación Referencia de liberación prolongada	173
Figura 6.12 Concentración en función del tiempo de la formulación Test de liberación prolongada	174

Figura 6.13 Perfiles de disolución en dos etapas ingresados en el modelo biofarmacéutico basado en fisiología para las formulaciones de liberación prolongada	175
---	-----

Lista de abreviaturas

AUC: área bajo la curva de concentraciones en función del tiempo (*del inglés, area under the curve*)

CEBIOBE: Centro de Evaluación de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos

BD: biodisponibilidad

BE: bioequivalencia

BW: masa corporal (*del inglés, body weight*)

DV: variable dependiente (*del inglés, dependent variable*)

IC90%: intervalo de confianza 90%

IIV: variabilidad interindividual (*del inglés, interindividual variability*)

IOV: variabilidad interocasión (*del inglés, interoccasion variability*)

GMR: cociente de medias geométricas (*del inglés, geometric mean ratio*)

LSS: estrategia de muestreo limitado (*del inglés, limited sample strategy*)

MAPE: error porcentual absoluto medio (*del inglés, mean absolute percentage error*)

MPE: error porcentual medio (*del inglés, mean absolute percentage error*)

MBBE: bioequivalencia basada en modelos (*del inglés, model-based bioequivalence*)

MRA: análisis de regresión múltiple (*del inglés, multiple regression analysis*)

NCA: análisis no compartimental (*del inglés, non-compartmental analysis*)

NLME: no lineal de efectos mixtos (*del inglés, non-linear mixed effects*)

OR: razón de probabilidades (*del inglés, Odds ratio*)

PBBM: biofarmacéutico de base fisiológica (*del inglés, physiologically-based biopharmaceutics*)

PBPK: farmacocinético de base fisiológica (*del inglés, physiologically-based pharmacokinetic*)

PopPK: farmacocinética poblacional (*del inglés, population pharmacokinetic*)

PPC: comprobación predictiva posterior (*del inglés, posterior predictive check*)

PTF: fluctuación pico-valle de concentraciones (*del inglés, peak to trough fluctuation*)

RSE: error relativo estándar (*del inglés, relative standard error*)

rRMSE: error cuadrático medio relativo (*del inglés, relative root mean square error*)

SD: dosis única (*del inglés, single dose*)

SS: estado estacionario (*del inglés, steady state*)

VPA: ácido valproico (*del inglés, valproic acid*)

VPC: comprobación predictiva visual (*del inglés, visual predictive check*)

Ypred: predicción del modelo

1. Marco teórico introductorio

Introducción

Bioequivalencia

La gran mayoría de los medicamentos elaborados y utilizados en el Uruguay se pueden clasificar como medicamentos similares. Así son denominadas las especialidades farmacéuticas desarrolladas a partir de una formulación original, previamente patentada y registrada por un laboratorio innovador, el cual debió reunir evidencia suficiente para demostrar su eficacia y seguridad en seres humanos. Los medicamentos similares suelen ser equivalentes farmacéuticos, lo que significa que contienen el mismo principio activo, en la misma dosis nominal y bajo idéntica forma farmacéutica que el medicamento original. En algunos casos, estos medicamentos pueden ser alternativas farmacéuticas, las cuales pueden contener una sal o éster diferente del principio activo o presentarse bajo una forma farmacéutica distinta [1].

Las diferencias en la tecnología de fabricación y la formulación (proporción y naturaleza de los excipientes utilizados) entre el medicamento original y el similar pueden impactar significativamente la biodisponibilidad relativa entre ellos. La biodisponibilidad, definida como la velocidad y la cantidad de principio activo que ingresa a circulación sistémica desde una administración extraparenteral, compromete directamente la exposición del organismo al principio activo. Por esta razón, un medicamento original y uno similar podrían diferir en los efectos provocados sobre un paciente, incluso cuando se administra la misma dosis del principio activo. Dado que el propósito de los medicamentos similares es favorecer la accesibilidad a los tratamientos, los requisitos regulatorios con los cuales deben cumplir para obtener el permiso de comercialización son significativamente más abreviados en comparación con los exigidos para el medicamento innovador. Los laboratorios que desarrollan estos medicamentos pueden basarse en la evidencia generada por el laboratorio innovador durante el desarrollo del medicamento original, y solo demostrar bioequivalencia entre las distintas formulaciones [2].

El estudio de bioequivalencia es el ensayo clínico que compara la biodisponibilidad que logra un medicamento similar “Test” frente a la disponibilidad de una “Referencia”, generalmente el medicamento original. Esta biodisponibilidad se determina a partir del análisis de las métricas farmacocinéticas derivadas del perfil de concentraciones plasmáticas obtenido *in vivo* en seres humanos tras la administración de ambos medicamentos. Por lo general, el estudio se realiza en una población homogénea de voluntarios sanos, bajo condiciones controladas, en dosis única y utilizando un diseño aleatorio, cruzado y compensado [3]. Este ensayo es el único control de calidad biofarmacéutica exigido a un medicamento similar para que sea reconocido como intercambiable, o genérico. No obstante, en ciertos casos donde la administración del fármaco en voluntarios sanos no es ética o viable, la biodisponibilidad relativa se puede evaluar de manera alternativa en pacientes, a través de ensayos de vigilancia sanitaria, en las condiciones de uso y con un diseño en paralelo.

A nivel regional, tanto la Organización Mundial de la Salud, la Federación Internacional de Farmacéuticos y la Organización Panamericana de la Salud han realizado constantes esfuerzos para armonizar la implementación de los estudios de bioequivalencia [4]. Esta exigencia ha sido incorporada paulatinamente desde inicios de siglo por la Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de Brasil, el Instituto de Salud Pública de Chile y la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología (ANMAT) de Argentina [5]. En Uruguay, esta situación no estuvo regulada hasta la promulgación del Decreto 12/2007 del Ministerio de Salud Pública, el cual estableció las recomendaciones técnicas para la realización de estudios de bioequivalencia en seres humanos, con el objetivo de garantizar la disponibilidad de medicamentos seguros y eficaces [6].

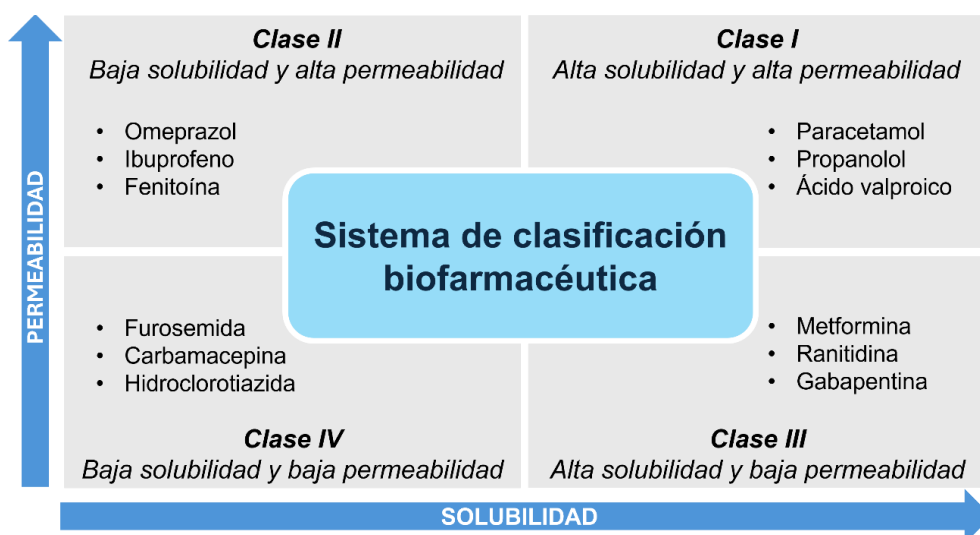
El análisis tradicional de bioequivalencia implica, como primer paso, la determinación de las métricas farmacocinéticas de cada voluntario y cada formulación, por métodos no compartimentales, es decir no asumiendo un modelo farmacocinético que describa el perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo. Bajo este enfoque, la concentración máxima (C_{\max}) corresponde a la máxima concentración plasmática observada, el tiempo

máximo (T_{\max}) será el tiempo al cual se obtenga dicha concentración, y el área bajo la curva de concentraciones en función del tiempo (AUC, *por su sigla en inglés*) se determinará por el método de los trapecios. Además, se recomienda transformar logarítmicamente estas métricas previo a realizar el análisis estadístico. Mediante el *Two – One – Side Test* (TOST) es posible determinar el intervalo de confianza 90% (IC90) para el cociente de medias geométricas para cada métrica de interés. Este enfoque es conocido como bioequivalencia promedio y establece que dos formulaciones son bioequivalentes si el IC90 se encuentra dentro del rango aceptado (80,00% - 125,00%) [7]. Finalmente, el análisis de varianzas (ANOVA) permite evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas entre el medicamento Test y el Referencia, considerando efectos como sujetos, tratamiento, período y secuencia. Este análisis es fundamental para identificar posibles fuentes de variabilidad que puedan influir en la bioequivalencia.

Los medicamentos conteniendo fármacos cuya absorción en el tracto gastrointestinal sea rápida y completa pueden ser bioeximidos de realizar estudios de bioequivalencia [8, 9]. Como se muestra en la Figura 1.1, el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica agrupa los fármacos en cuatro clases (I, II, III, IV) según su solubilidad acuosa en diferentes pH y su permeabilidad intestinal [10]. Para los fármacos de clase I, su alta solubilidad y permeabilidad permiten una absorción completa y, a menudo, una adecuada correlación *in vitro* – *in vivo* (IVIVC). De hecho, esta clase es la candidata ideal para la bioexención si la disolución *in vitro* de la formulación es rápida. Los fármacos de clase II presentan baja solubilidad y alta permeabilidad intestinal, por lo que la disolución suele ser el paso limitante de la absorción. Si bien es posible establecer IVIVC que permitan la bioexención, requieren estudios de bioequivalencia *in vivo*. En el caso de los fármacos de clase III, caracterizados por su alta solubilidad y baja permeabilidad, se espera que la absorción no esté limitada por el proceso de disolución, salvo que la forma farmacéutica tenga un perfil de liberación más lento que la permeabilidad intestinal. Para estos fármacos, las IVIVC son posibles, y en ciertos casos se permite la bioexención. Finalmente, los fármacos de clase IV poseen baja solubilidad y baja permeabilidad, por lo cual una IVIVC es poco probable [10]. Los fármacos de riesgo sanitario alto quedan excluidos

de la posibilidad de realizar bioexención, independientemente de su clasificación biofarmacéutica, debiendo realizar el ensayo de bioequivalencia *in vivo* [6]. En los casos donde se permita la bioexención, se requiere la realización de ensayos de disolución de los medicamentos en medios biorrelevantes, los cuales simulan *in vitro* las condiciones fisiológicas gastrointestinales. Estos ensayos permiten estimar la velocidad de absorción que tendrá el principio activo *in vivo*, y de ese modo, predecir la biodisponibilidad relativa entre diferentes marcas comerciales luego de ser administrados por vía oral [8, 9, 11].

Figura 1.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Descripción y ejemplos de cada clase.



Sin embargo, la implementación de la normativa de bioequivalencia a lo largo de los años ha sido muy limitada por razones éticas y económicas, alcanzando a un número muy reducido de principios activos (principalmente de alto riesgo sanitario) [3, 12]. Incluso en algunos casos, como fenitoína y ácido valproico (VPA), el decreto no se aplicó como tal, evaluando la biodisponibilidad de manera alternativa en pacientes en ensayos de vigilancia sanitaria. Como consecuencia, el mercado farmacéutico uruguayo está compuesto principalmente por medicamentos cuya calidad biofarmacéutica no ha sido evaluada.

Si bien el análisis de datos en bioequivalencia con fines regulatorios se realiza con enfoques no compartimentales [2], los métodos cuantitativos de modelizado y simulación farmacocinética y farmacodinámica están impulsando un cambio de paradigma en el desarrollo y autorización de medicamentos genéricos. Estos

métodos proporcionan una alternativa a la evaluación biofarmacéutica y a la demostración de equivalencia terapéutica, permitiendo optimizar la realización de ensayos clínicos y reducir los costos éticos y económicos asociados [13].

Farmacometría

A nivel mundial, la farmacometría, también conocida como farmacología cuantitativa, se ha consolidado como una disciplina esencial en la investigación farmacéutica [14–16]. Esta especialidad se enfoca en el desarrollo de modelos computacionales mecanicistas que integran características del principio activo, del medicamento y del paciente [14], con el objetivo de describir, interpretar y predecir procesos bioquímicos, fisiológicos y patológicos involucrados en la interacción medicamento – organismo y en la progresión de la enfermedad. Administrar un medicamento en una dosis que garantice efectividad y seguridad en cada paciente dentro de una determinada población es un desafío complejo, ya que diversos factores aportan variabilidad a la relación dosis – exposición – respuesta clínica. En este contexto, los modelos farmacométricos han demostrado ser herramientas clave para comprender cuantitativamente dicha relación, permitiendo realizar predicciones basadas en evidencia.

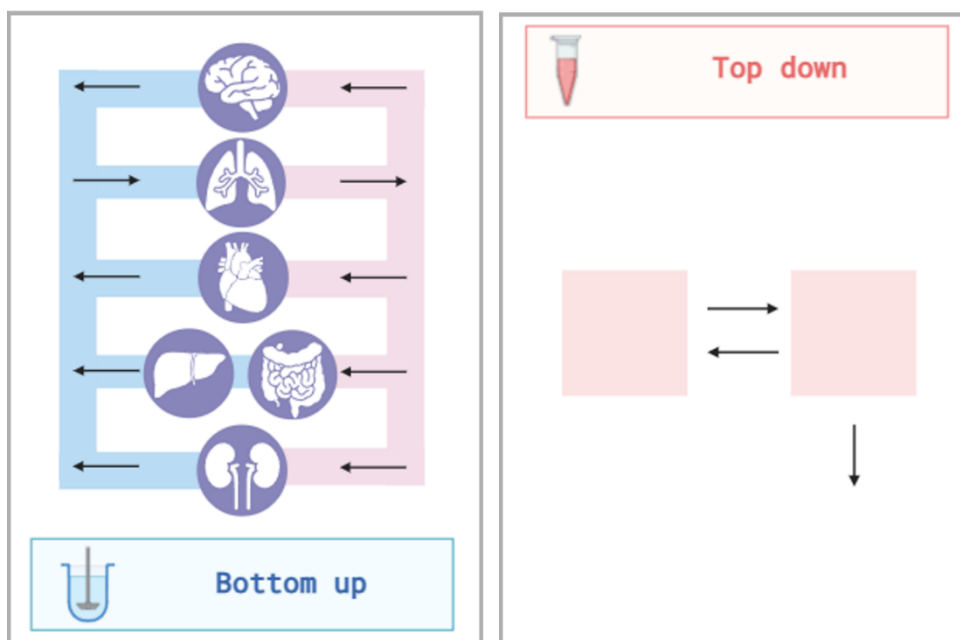
La industria farmacéutica innovadora emplea la farmacometría para apoyar la toma de decisiones claves durante el desarrollo de medicamentos, optimizando la realización de ensayos clínicos y explotando al máximo la información disponible, lo que reduce los costos éticos y económicos del proceso. En los últimos años, la mayoría de las solicitudes de registro de nuevos medicamentos presentadas a las agencias reguladoras de renombre mundial han documentado el uso de análisis farmacométricos. Además, la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos y la *European Medicines Agency* (EMA) han incorporado guías de farmacocinética poblacional para la industria y consideran el análisis farmacométrico como sustento de varios tipos de ensayos, como las interacciones entre fármacos y la predicción de efectos en pacientes pediátricos a partir de ensayos realizados en adultos [17, 18].

La farmacometría ha sido recientemente incorporada a la práctica clínica, situándose en el centro de la Medicina de Precisión mediante el enfoque “dosificación de precisión informada con modelos” [19]. Los modelos

farmacométricos permiten integrar información clínica de diversa naturaleza, permitiendo realizar recomendaciones de dosificación personalizada que aumentan la probabilidad de eficacia y seguridad en los tratamientos. Estudios prospectivos han demostrado que este paradigma mejora los resultados clínicos, reduciendo la incidencia de eventos adversos, las interacciones farmacológicas, la duración de los tratamientos y las hospitalizaciones [20, 21].

En el modelizado farmacocinético y farmacodinámico se emplean principalmente dos enfoques (esquemáticos en la Figura 1.2) : "*bottom-up*" y "*top-down*" [22, 23]. El enfoque "*bottom-up*" se basa en la construcción de modelos a partir de datos preexistentes, como características fisicoquímicas y farmacocinéticas del fármaco, parámetros obtenidos de estudios de disolución *in vitro* e información fisiológica específica del sistema, incluido el crecimiento y la ontogenia [23]. Estos modelos, conocidos como modelos farmacocinéticos de base fisiológica (*PBPK*, por su sigla en inglés), permiten predecir la distribución y el comportamiento de un fármaco en el organismo antes de disponer de datos clínicos. Por otro lado, el enfoque "*top-down*" utiliza datos observados de concentraciones plasmáticas y efectos clínicos medidos en función del tiempo. Este enfoque, que incluye modelos farmacocinéticos poblacionales (*PopPK*), se centra en describir y analizar la farmacocinética y farmacodinámica en poblaciones específicas, considerando la variabilidad entre individuos. Sin embargo, la descripción y el análisis carecen de interpretabilidad mecanicista y solo pueden ser predictivos para escenarios ya cubiertos por los datos utilizados [22]. Cabe mencionar que estas estrategias no son mutuamente excluyentes, sino que pueden combinarse mediante un enfoque "*middle-out*", cuya implementación es útil cuando existe poca información de los mecanismos farmacocinéticos subyacentes [24].

Figura 1.2 Ilustración de la metodología para desarrollar modelos con los enfoques “bottom up” y “top down”



Bajo el primer enfoque, el sistema se describe a partir de información preexistente para predecir los perfiles farmacocinéticos. Bajo el segundo enfoque, los datos farmacocinéticos observados in vivo son utilizados para describir el sistema. Imagen hecha en BioRender.

Modelos no lineales de efectos mixtos

La farmacocinética poblacional es el área de la farmacología clínica dedicada a la evaluación cuantitativa de los parámetros farmacocinéticos poblacionales y su variabilidad interindividual, interocasión (intraindividual) y residual que explican los procesos de absorción, distribución y eliminación de un fármaco. Esta disciplina permite, bajo un enfoque “*top-down*”, caracterizar la influencia de diferentes covariables, como la edad, el peso, la función renal o la presencia de comorbilidades, en los parámetros farmacocinéticos, facilitando así la optimización de la dosificación en distintos grupos de pacientes.

El modelizado no lineal de efectos mixtos (*NLME*, por su sigla en inglés) en farmacocinética poblacional permite analizar los perfiles de concentraciones de un fármaco en tejidos o fluidos biológicos en función del tiempo mediante modelos empíricos. Estos modelos agrupan órganos y fluidos con cinética de distribución del fármaco similar en espacios comunes denominados

compartimentos, asumiendo que las concentraciones del fármaco en estos órganos y tejidos presentan el mismo cambio relativo a lo largo del tiempo, aunque las concentraciones no sean necesariamente iguales entre ellos [25].

Bajo este enfoque, la distribución de los fármacos en el cuerpo se describe generalmente mediante uno, dos o tres compartimentos. En muchos casos, se puede asumir que el fármaco presenta rápida transferencia entre la sangre y los sitios extravasculares, lo que permite describir la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas con un modelo monocompartimental. Este modelo, aplicado a una administración intravenosa instantánea, se define con dos parámetros: el aclaramiento y el volumen de distribución, lo que facilita su interpretación y aplicación. Por otro lado, los modelos multicompartimentales generalmente consideran el plasma sanguíneo y los tejidos con una cinética similar dentro del compartimento central, donde ocurre la entrada del fármaco. Los compartimentos periféricos, en contraste, representan los tejidos en los que la distribución del fármaco, desde y hacia el plasma sanguíneo, es más lenta [26].

En el modelizado farmacocinético poblacional mediante modelos NLME, la cantidad y calidad de los datos disponibles determinan directamente la complejidad del modelo que puede ajustarse a partir de ellos, así como la precisión en la estimación de sus parámetros [27]. Estos modelos se describen a través de tres componentes [23, 27]: un componente estructural, que representa el valor poblacional; un componente estadístico, que captura la variabilidad interindividual; y un componente aleatorio, que refleja la discrepancia entre el valor individual estimado y el observado, y depende, entre otros factores de los errores asociados a la medición.

El enfoque “*top down*” también puede aplicarse al modelizado farmacodinámico mediante modelos NLME cuando se dispone de datos del efecto terapéutico o de marcadores clínicos que reflejen la progresión de la enfermedad. Además, estos modelos pueden desarrollarse a partir de esquemas optimizados de muestreo limitado, lo que facilita su aplicación en subpoblaciones especiales, como personas de tercera edad, pacientes críticos y neonatos [28]. A su vez, el seguimiento farmacoterapéutico, a través de la evaluación clínica y la medición de concentraciones del fármaco en sangre, permite mejorar continuamente las

predicciones de exposición y respuesta, proporcionando información esencial para individualizar la terapia medicamentosa [29, 30].

Modelos farmacocinéticos de base fisiológica

Los modelos PBPK, que adoptan un enfoque “*bottom up*”, se construyen integrando parámetros conocidos a partir de ensayos *in vitro* e información disponible, en lugar de utilizar datos farmacocinéticos observados [31]. Esta herramienta permite simular y predecir perfiles farmacocinéticos, y las observaciones posteriores sirven para validar estos modelos mediante un proceso de aprendizaje y confirmación. Por ejemplo, la absorción de un principio activo administrado por vía oral puede simularse a nivel poblacional considerando las características del medicamento (como perfil de disolución en fluidos gastrointestinales), las propiedades fisicoquímicas y biológicas del principio activo y las particularidades del tracto gastrointestinal de la población, entre otros. Los modelos PBPK son significativos para diseñar formas de dosificación complejas, como formulaciones orales de liberación prolongada. En estos casos, la información sobre la disolución y la permeabilidad puede predecir dónde se libera y se absorbe de manera óptima el fármaco. Además, estos modelos pueden extenderse para predecir la respuesta farmacodinámica y evaluar las implicancias clínicas de diversos factores relacionados con la población y el medicamento, con el fin de sugerir posologías óptimas en términos de eficacia y seguridad [31]. Una ventaja valiosa de esta estrategia es que permiten extrapolar no solo de animales a humanos, sino también de voluntarios adultos sanos a poblaciones especiales como los niños o los obesos, y en escenarios complejos como las interacciones entre fármacos, el deterioro orgánico y la progresión de la enfermedad [32].

La complejidad de los modelos PBPK depende en gran medida de la cantidad y calidad de los datos disponibles [31]. Cuando la información es limitada, es posible desarrollar modelos simplificados, como el mostrado en la Figura 1.2, que representa de manera generalizada los principales compartimentos corporales. Por otro lado, con datos más detallados, se pueden construir modelos más complejos que incluyan compartimentos específicos como huesos, tejido adiposo y componentes sanguíneos, e incluso la variabilidad en la

expresión enzimática. Esta flexibilidad permite adaptar el nivel de detalle del modelo a los objetivos específicos del estudio y a la disponibilidad de datos [24].

La historia de los modelos PBPK comienza en 1937, cuando Torsten Teorell publica dos artículos pioneros sobre la cinética de distribución de sustancias administradas al cuerpo humano [33, 34]. El avance de las capacidades computacionales en las décadas posteriores permitió abordar la complejidad inherente a estos modelos, facilitando su aplicación y desarrollo. En la actualidad, estas herramientas son fundamentales en el descubrimiento y desarrollo de fármacos, ya que permiten realizar extrapolaciones mecanicistas a escenarios no estudiados clínicamente, optimizando así la toma de decisiones en el ámbito farmacéutico [24].

Modelos de farmacología de sistemas

Un sistema se define como una entidad que mantiene su existencia a través de las interacciones entre todas sus partes. Una red, la forma de representar dicho sistema, se conforma por nodos y aristas, que representan los componentes del sistema y la relación entre ellos, respectivamente [35]. Esta relación se puede expresar en términos cualitativos o cuantitativos, según la información disponible y los objetivos buscados en el análisis.

La farmacología de sistemas (*QSP, por su sigla en inglés*) es una disciplina emergente dentro de la farmacología que integra observaciones experimentales y herramientas computacionales para analizar las interacciones de un fármaco dentro de un sistema biológico [36]. El análisis de estas interacciones es fundamentalmente útil para describir mecanismos de acción complejos y la progresión de enfermedades, en especial cuando los fármacos afectan múltiples componentes de la red biológica.

El desarrollo de este tipo de modelos requiere un esfuerzo significativo para identificar los componentes y las interacciones clave que deben incluirse para cumplir con los objetivos del modelizado. La información incorporada en el modelo puede derivarse de literatura científica, obtenerse a partir de resultados experimentales propios, o una combinación de ambas estrategias. Este enfoque permite modelar de manera precisa y predictiva el impacto cuantitativo del fármaco en la fisiopatología humana, mejorando la comprensión mecanística de

sus efectos terapéuticos y adversos, a nivel molecular y en el organismo en su totalidad.

La visión sistémica de esta disciplina no solo facilita la identificación de efectos no previstos derivados de la modulación de un componente dentro de una red de señalización biológica, sino que también permite la predicción de cómo estas interacciones pueden cambiar en respuesta a diferentes condiciones biológicas o tratamientos. La farmacología de sistemas se utiliza cada vez más para guiar el desarrollo de nuevos medicamentos, dado su potencial para aumentar la probabilidad de éxito y reducir los costos asociados a ese proceso [36]. Más aún, este tipo de modelos puede ayudar a descubrir biomarcadores de respuesta a fármacos, diseñar combinaciones terapéuticas, optimizar regímenes de dosificación e identificar a los pacientes que responderán mejor al tratamiento [37–39].

Es fundamental reconocer las dificultades que ha enfrentado el Ministerio de Salud en la implementación del Decreto 012/007 [6], emitido en un contexto en donde, históricamente, los medicamentos similares se han comercializado sin evaluación *in vivo*. En un mercado pequeño como el uruguayo, los laboratorios nacionales han señalado que el costo de los estudios de bioequivalencia estándar resulta inviable. Ante esta situación, es crucial buscar estrategias más económicas, enfocadas en la formación de recursos humanos especializados en modelizado y simulación, y en la adquisición de herramientas computacionales avanzadas para el análisis de datos. En este sentido, el VPA, listado en el Anexo III del Decreto 012/007, es un fármaco ideal para demostrar el potencial de las herramientas farmacométricas, anteriormente desarrolladas, en la evaluación de la calidad biofarmacéutica de los medicamentos comercializados en Uruguay.

Ácido valproico

El VPA (ácido 2-propil-pentanoico), ácido graso ramificado de cadena corta, es ampliamente recetado para el tratamiento de la epilepsia, trastornos psiquiátricos y migraña [40]. Este fármaco fue inicialmente sintetizado en 1882 por Beverly Burton, pero no se conocía ningún uso clínico hasta que su actividad anticonvulsiva fue descubierta fortuitamente por Pierre Eymard en 1962 [41]. Dos años más tarde se publicaron los primeros resultados de los ensayos clínicos

que respaldan los beneficios anticonvulsivos del valproato de sodio en pacientes epilépticos. Este fármaco salió al mercado 1967 en Francia, bajo el nombre de “Depakine”, y posteriormente se comenzó a comercializar en más de 100 países [41]. Ensayos posteriores reportaron su eficacia en indicaciones no relacionadas con la epilepsia, incluyendo episodios maníacos en el trastorno bipolar y la profilaxis de la migraña [42]. Actualmente, el VPA se comercializa bajo sal sódica, sal de magnesio y divalproato de sodio, una combinación equimolar de VPA y valproato de sodio. El divalproato de sodio, aprobado por la *Food and Drug Administration* en 1983, presenta un amplio espectro anticonvulsivo, y es eficaz en el manejo de episodios depresivos agudos del trastorno bipolar, así como en episodios maníacos o mixtos graves [43].

Este fármaco tiene múltiples mecanismos de acción, aunque los mismos no están completamente comprendidos. Es capaz de inhibir los canales de sodio dependientes de voltaje, bloqueando la entrada de iones sodio a las neuronas. Esto evita la generación y propagación de impulsos eléctricos anómalos responsables de desencadenar convulsiones [44]. El VPA estimula la acción del ácido gamma-aminobutírico (GABA), neurotransmisor inhibitorio, mediante dos mecanismos: aumentando su síntesis e inhibiendo su degradación [44–46]. Como resultado, se potencia la inhibición neuronal y se reduce la susceptibilidad a convulsiones. También puede regular la expresión génica de proteínas relacionadas con la plasticidad neuronal, la neurogénesis, la neuroprotección y la inflamación [46]. El VPA modula la actividad de varios tipos de canales de calcio que desempeñan un papel crucial en la señalización neuronal, la liberación de neurotransmisores, la expresión génica y la supervivencia celular. Este mecanismo podría explicar los efectos del fármaco en la crisis de ausencia, dolor neuropático y migraña [44].

Objetivo general

El objetivo principal de esta investigación es implementar herramientas farmacométricas integradas a ensayos de disolución *in vitro*, datos bibliográficos y resultados de estudios de bioequivalencia para:

1. Profundizar en los mecanismos que regulan la biodisponibilidad oral de fármacos.
2. Analizar y predecir los resultados de bioequivalencia promedio de medicamentos similares administrados por vía oral, en diferentes condiciones y poblaciones.
3. Evaluar el impacto terapéutico de las diferencias observadas en función de la relación existente entre la farmacocinética y la farmacodinamia.
4. Explorar las metodologías para el diseño óptimo de experimentos.

Se pretende aportar conocimiento a la línea proactiva desarrollada por el Centro de Evaluación de la Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos (CEBIOBE, Universidad de la República) en cuanto a detectar potenciales problemas terapéuticos con la utilización de medicamentos similares comercializados en Uruguay.

Bibliografía

1. Perez L, Chavez A (2014) Medicamentos de patente, genéricos intercambiables y similares. In: Chavez A (ed) Farmacología general. Una guía de estudio. McGraw-Hill Education
2. Cristofolletti R, Rowland M, Lesko LJ, et al (2018) Past, Present, and Future of Bioequivalence: Improving Assessment and Extrapolation of Therapeutic Equivalence for Oral Drug Products. J Pharm Sci 107:2519–2530. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.06.013>
3. Fagiolino P, Vázquez M, Ibarra M (2010) Biodisponibilidad y bioequivalencia de medicamentos. In: Tópicos de actualización en neurobiología, 1st ed. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México
4. World Health Organization (2015) WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations.

5. Storpirtis S, Gai MN, Cristofolletti R (2014) Generic and similar products in Latin American countries: Current aspects and perspectives on bioequivalence and biowaivers. *Pharm Policy Law* 16:225–248. <https://doi.org/10.3233/PPL-140386>
6. Ministerio de Salud Pública (2007) Decreto 012/007 Aprobación de las recomendaciones técnicas para la realización de estudios de bioequivalencia contenidas en el documento “intercambiabilidad de medicamentos.” Uruguay
7. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (2022) Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence
8. Saavedra IS, Iturriaga V V, Ávila LM, Quiñones LS (2011) Estudios de bioexención (in vitro) para establecer equivalencia de medicamentos Biowaiver studies (in vitro) to establish equivalence of drugs. *Cuad Méd Soc* 51:66–79
9. FDA (2000) Guidance for Industry Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System
10. Chilukiri DM, Sunkara G, Young D (2007) Pharmaceutical Product Development: In Vitro-In Vivo Correlation, Informa He. New York
11. Lemos H de, Prado LD, Rocha HVA (2022) Use of biorelevant dissolution media in dissolution tests as a predictive method of oral bioavailability. *Brazilian J Pharm Sci* 58:. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e19759>
12. Ministerio de Salud Pública (2016) Decreto 87/016 Modificación del art. 15 del decreto 12/007 relativo a las recomendaciones técnicas para la realización de estudios de bioequivalencia contenidas en el documento “intercambiabilidad de medicamentos.” Uruguay
13. Fang L, Kim MJ, Li Z, et al (2018) Model-Informed Drug Development and Review for Generic Products: Summary of FDA Public Workshop. *Clin Pharmacol Ther* 104:27–30. <https://doi.org/10.1002/cpt.1065>

14. Barrett JS, Fossler MJ, Cadieu KD, Gastonguay MR (2008) Pharmacometrics: A Multidisciplinary Field to Facilitate Critical Thinking in Drug Development and Translational Research Settings. *J Clin Pharmacol* 48:632–649. <https://doi.org/10.1177/0091270008315318>
15. Pillai G, Davies G, Denti P, et al (2013) Pharmacometrics: Opportunity for Reducing Disease Burden in the Developing World: The Case of Africa. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2:1–4. <https://doi.org/10.1038/psp.2013.45>
16. Holford N, Karlsson MO (2007) Time for Quantitative Clinical Pharmacology: A Proposal for a Pharmacometrics Curriculum. *Clin Pharmacol Ther* 82:103–105. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100231>
17. FDA (1999) Guidance for Industry Population Pharmacokinetics
18. Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency (2007) Guideline on Reporting the Results of Population Pharmacokinetic Analyses. 1–11
19. Keizer RJ, ter Heine R, Frymoyer A, et al (2018) Model-Informed Precision Dosing at the Bedside: Scientific Challenges and Opportunities. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 7:785–787. <https://doi.org/10.1002/psp4.12353>
20. Vinks AA, Peck RW, Neely M, Mould DR (2020) Development and Implementation of Electronic Health Record–Integrated Model-Informed Clinical Decision Support Tools for the Precision Dosing of Drugs. *Clin Pharmacol Ther* 107:129–135. <https://doi.org/10.1002/cpt.1679>
21. Neely MN, Kato L, Youn G, et al (2018) Prospective Trial on the Use of Trough Concentration versus Area under the Curve To Determine Therapeutic Vancomycin Dosing. *Antimicrob Agents Chemother* 62:. <https://doi.org/10.1128/AAC.02042-17>
22. Duwal S, von Kleist M (2016) Top-down and bottom-up modeling in system pharmacology to understand clinical efficacy: An example with NRTIs of HIV-1. *Eur J Pharm Sci* 94:72–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.01.016>

23. Jorga K, Chavanne C, Frey N, et al (2016) Bottom-up meets top-down: Complementary PBPK and PopPK modeling for regulatory approval of a dosing algorithm of valganciclovir in very young children. *J Manag Stud* 2–43
24. Ibarra M, Schiavo A, Lesko LJ (2021) Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling: Definition and History. In: *The ADME Encyclopedia*. Springer International Publishing, pp 1–9
25. Currie GM (2018) Pharmacology, part 2: Introduction to pharmacokinetics. *J Nucl Med Technol* 46:221–230. <https://doi.org/10.2967/jnmt.117.199638>
26. Fagiolino P (2017) *Farmacocinética y Biofarmacia. Parte I: Principios Fundamentales*, Primera ed. Gráfica Mosca, Montevideo
27. Mould DR, Upton RN (2012) Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 1:. <https://doi.org/10.1038/psp.2012.4>
28. Ting LSL, Partovi N, Levy RD, et al (2006) Limited sampling strategy for predicting area under the concentration-time curve of mycophenolic acid in adult lung transplant recipients. *Pharmacotherapy* 26:1232–1240. <https://doi.org/10.1592/phco.26.9.1232>
29. Berezowska M, Hayden IS, Brandon AM, et al (2024) Recommended approaches for integration of population pharmacokinetic modelling with precision dosing in clinical practice. *Br J Clin Pharmacol* 1–16. <https://doi.org/10.1111/bcp.16335>
30. Taylor ZL, Poweleit EA, Paice K, et al (2023) Tutorial on model selection and validation of model input into precision dosing software for model-informed precision dosing. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 12:1827–1845. <https://doi.org/10.1002/psp4.13056>
31. Kuepfer L, Niederalt C, Wendl T, et al (2016) Applied Concepts in PBPK Modeling: How to Build a PBPK/PD Model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 5:516–531
32. Tsamandouras N, Rostami-Hodjegan A, Aarons L (2015) Combining the

- 'bottom up' and 'top down' approaches in pharmacokinetic modelling: fitting PBPK models to observed clinical data. *Br J Clin Pharmacol* 79:48–55. <https://doi.org/10.1111/bcp.12234>
33. Teorell T (1937) Kinetics of distribution of substances administered to the body II: The intravascular modes of administration. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 57:226–240
 34. Teorell T (1937) Kinetics of distribution of substances administered to the body I: The extravascular modes of administration. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 57:205–225
 35. Berger SI, Iyengar R (2009) Network analyses in systems pharmacology. *Bioinformatics*
 36. Azer K, Kaddi CD, Barrett JS, et al (2021) History and Future Perspectives on the Discipline of Quantitative Systems Pharmacology Modeling and Its Applications. *Front Physiol* 12:. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.637999>
 37. Boran A, Iyengar R (2010) Systems Pharmacology. *Mt Sinai J Med* 77:333–344. <https://doi.org/10.1002/MSJ>
 38. Sorger PK, Allerheiligen SRB, Abernethy DR, et al (2011) Quantitative and Systems Pharmacology in the Post-genomic Era: New Approaches to Discovering Drugs and Understanding Therapeutic Mechanisms. *QSP Work Gr* 0–47
 39. Chan JR, Allen R, Boras B, et al (2022) Current practices for QSP model assessment: an IQ consortium survey. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. <https://doi.org/10.1007/s10928-022-09811-1>
 40. Perucca E (2002) Pharmacological and therapeutic properties of valproate: A summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 16:695–714. <https://doi.org/10.2165/00023210-200216100-00004>
 41. Loscher W (1999) The discovery of valproate
 42. Terbach N, Williams RSB (2009) Structure-function studies for the panacea, valproic acid. *Biochem Soc Trans* 37:1126–1132. <https://doi.org/10.1042/BST0371126>

43. Cipriani A, Reid K, Ah Y, Geddes MK (2013) Valproic acid, valproate and divalproex in the maintenance treatment of bipolar disorder (Review)
44. Löscher W (2002) Basic pharmacology of valproate: A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs* 16:669–694. <https://doi.org/10.2165/00023210-200216100-00003>
45. Salas-Puig J (2005) Farmacología del valproato sódico. *Emergencias (St Vicenç dels Horts)* 79–82
46. Ghodke-Puranik Y, Thorn CF, Lamba JK, et al (2013) Valproic acid pathway: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 23:236–241. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2>

2. Análisis de bioequivalencia basado en modelos para evaluar y predecir la biodisponibilidad relativa entre dos formulaciones conteniendo ácido valproico

La investigación descrita en el presente capítulo dio lugar a la publicación del artículo científico 2 del Listado de Publicaciones.

Introducción

La normativa actual para la evaluación de bioequivalencia en medicamentos administrados por vía oral implica un análisis en dos etapas: en primer lugar, las métricas farmacocinéticas se estiman mediante un análisis no compartimental (*NCA*, por su sigla en inglés); posteriormente, se aplica una prueba estadística para evaluar las diferencias relacionadas con el producto [1]. Este análisis no compartimental ofrece simplicidad, rapidez y objetividad en la obtención de resultados, lo cual lo convierte en una opción útil desde una perspectiva regulatoria. No obstante, su aplicación se limita a estudios clínicos con diseños de muestreo extenso que aseguren una adecuada caracterización del perfil farmacocinético individual. En situaciones en las cuales un estudio de estas características implica grandes costos éticos y/o económicos, son necesarios enfoques alternativos.

La bioequivalencia basada en modelos (*MBBE*, por su sigla en inglés) implica el uso de modelos NLME en el análisis de bioequivalencia, facilitando la estimación de métricas farmacocinéticas para evaluar el rendimiento biofarmacéutico relativo entre dos o más medicamentos. La implementación de estos modelos poblacionales permite la estimación de valores típicos y descriptores de variabilidad para los parámetros farmacocinéticos primarios. Posteriormente, se obtienen los parámetros individuales mediante una estimación empírica Bayesiana, y se calculan las métricas de exposición simulando perfiles de concentración individual en función del tiempo.

Si bien el enfoque MBBE requiere de recursos humanos especializados en modelizado y simulación, y conllevan cierto grado de subjetividad en el proceso, se ha evidenciado el potencial de esta herramienta para evaluar la calidad

biofarmacéutica en escenarios donde los enfoques de bioequivalencia estándar no son aplicables [2]. Diversos grupos de investigación y agencias regulatorias están evaluando su aplicación como alternativa a estudios donde no es posible realizar muestreos farmacocinéticos densos, y están desarrollando métodos específicos para este fin [3–7].

Una ventaja adicional del análisis MBBE es su capacidad para manejar observaciones por debajo del límite de cuantificación (*BQL, below quantification limit*), lo que permite aprovechar al máximo los datos obtenidos. En enfoques tradicionales, estas observaciones suelen descartarse o imputarse de manera arbitraria, lo que puede introducir sesgos en el análisis. En cambio, en un enfoque basado en modelos, es posible incorporarlas en la modelización mediante métodos estadísticos específicos. Por ejemplo, en un modelo NLME, las observaciones BQL pueden tratarse utilizando métodos como la censura estadística, donde se indica al modelo que el valor real de la observación está, con cierta probabilidad, comprendido en un intervalo (en general, entre 0 y el límite de cuantificación). Estos métodos permiten que el modelo utilice toda la información disponible sin introducir sesgos ni reducir la precisión de las estimaciones [8].

El VPA, ácido graso ramificado de cadena corta, es ampliamente recetado para el tratamiento de la epilepsia, trastornos psiquiátricos y migraña [9]. Aunque el VPA presenta baja solubilidad, su alta permeabilidad y la alta solubilidad de sus sales justifican su clasificación como fármaco de clase I en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Su biodisponibilidad varía entre el 96% y el 100%, y es favorecida por la ingesta de alimentos, especialmente aquellos ricos en grasas, los que pueden además aumentar el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima en plasma [10]. Este fármaco presenta una alta afinidad por las proteínas plasmáticas, principalmente la albúmina, con una tasa de unión aproximada del 90 %. Esta unión es dependiente de la concentración y disminuye a medida que aumenta la concentración plasmática [11, 12]. El volumen de distribución del VPA es relativamente bajo, entre 0,1-0,4 L/kg de masa corporal, lo que sugiere que el fármaco se distribuye principalmente en el líquido extracelular. Actualmente, existen disponibles en el mercado uruguayo diversas formulaciones conteniendo VPA, algunas de las cuales logran una

liberación prolongada del fármaco. Esta característica ayuda a evitar los picos plasmáticos, asociados con la toxicidad inducida por VPA, lo que podría reducir la incidencia de efectos adversos. En este sentido, el laboratorio innovador Abbot desarrolló y comercializa Depakote® DR (Valcote® en América Latina), una formulación de liberación retardada conteniendo divalproato de sodio, la cual es considerada la formulación Referencia en estudios de bioequivalencia. Además, este laboratorio es el responsable del desarrollo de Depakote® ER, una formulación de liberación prolongada conteniendo divalproato de sodio que mostró menor biodisponibilidad que su homóloga de liberación retardada [13, 14], y fue retirada del mercado uruguayo. La ausencia de una formulación de liberación prolongada conteniendo divalproato de sodio en Uruguay llevó al desarrollo local de DiDPA®, actualmente producido por el laboratorio MegaLabs.

Un estudio de bioequivalencia promedio en dosis única, realizado en voluntarios sanos en condiciones de ayunas, confirmó que DiDPA-LP® tiene una cantidad de fármaco absorbido comparable a la de Valcote®, pero una velocidad de absorción significativamente menor. Sin embargo, la autoridad regulatoria de salud de Uruguay también solicitó al patrocinador evaluar el desempeño relativo de los medicamentos en el estado estacionario, bajo el supuesto que este estudio de bioequivalencia podría aportar información adicional sobre las propiedades de liberación prolongada de la formulación local, mediante la comparación de la concentración mínima y la fluctuación pico-valle (PTF). La realización de un estudio *in vivo* de estas características en voluntarios sanos no cuenta con el aval de los comités de ética para investigación en seres humanos debido a los riesgos que implican administrar este fármaco en individuos sanos. Un desafío adicional en el diseño experimental de este estudio de bioequivalencia es la selección de los tiempos de muestreo óptimos para capturar las métricas farmacocinéticas de interés, especialmente considerando que el mismo compara la biodisponibilidad relativa de formulaciones de liberación modificada. En estos casos, la presencia de tiempos de latencia influye en la variabilidad interindividual de la concentración máxima. Además, debido a las diferencias en los perfiles de liberación del fármaco, podría ser necesario un diseño de muestreo específico para cada formulación.

La alternativa que se propone en este trabajo es utilizar las observaciones previas disponibles para desarrollar un modelo NLME con el cual implementar un análisis MBBE para predecir la biodisponibilidad relativa de la formulación local de liberación prolongada conteniendo VPA (DiDPA-LP®) en comparación con la formulación de referencia de liberación retardada (Valcote®) en estado estacionario. Si bien la reglamentación de bioequivalencia indica que el análisis se realice sobre las métricas derivadas de concentraciones plasmáticas totales, se puede obtener información más precisa al considerar las concentraciones plasmáticas libres. En la práctica, esto no suele realizarse debido a que cuantificar las concentraciones libres implica de técnicas analíticas más sensibles, y muchas veces más costosas. El modelo se desarrollará para simular no solo las concentraciones plasmáticas totales, sino también las concentraciones plasmáticas libres, aplicando este enfoque a escenarios poco favorables de realizarse *in vivo*. Dado que el VPA presenta una unión a proteínas saturable, las concentraciones libres podrían reflejar de manera más precisa las diferencias en biodisponibilidad entre los distintos medicamentos, especialmente en estado estacionario, donde se esperan niveles plasmáticos más elevados.

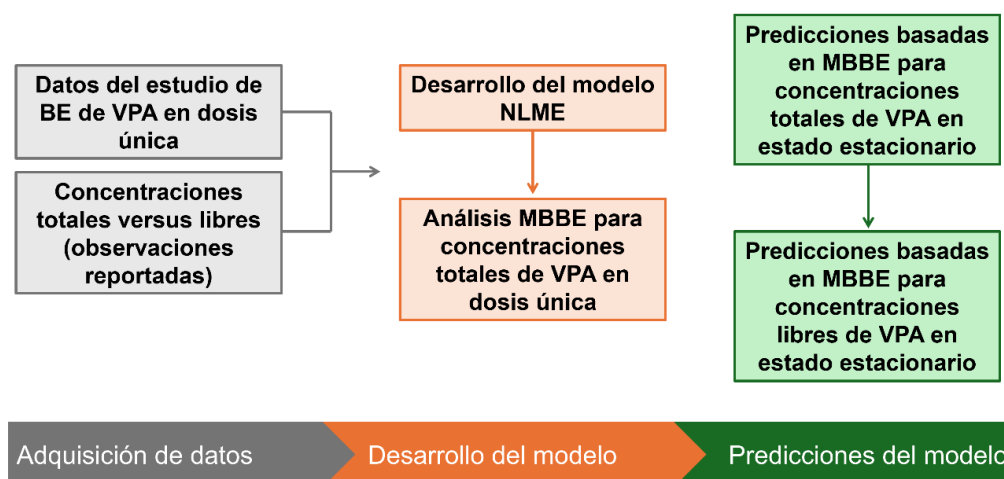
Objetivos

El objetivo del trabajo es predecir la biodisponibilidad relativa de DiDPA-LP® en estado estacionario, utilizando la información disponible de un estudio de bioequivalencia en dosis única mediante el enfoque MBBE. Dadas las características farmacocinéticas del fármaco, es especialmente interesante analizar las diferencias en los resultados de bioequivalencia que podrían surgir al comparar las concentraciones totales y libres de VPA en plasma.

Metodología

La Figura 2.1 muestra el flujo metodológico seguido en este trabajo para predecir la biodisponibilidad relativa entre las marcas comerciales DiDPA-LP® y Valcote® en dosis única y estado estacionario, para las concentraciones totales y libres de VPA. Cada paso se describe en detalle a continuación.

Figura 2.1 Flujo de trabajo metodológico seguido en este trabajo.



Rectángulos grises: pasos de adquisición de datos. Rectángulos naranjas: pasos del desarrollo del modelo. Rectángulos verdes: pasos de predicciones del modelo. BE: bioequivalencia. NLME: no lineal de efectos mixtos. MBBE: bioequivalencia basada en modelos. VPA: ácido valproico.

Estudio de bioequivalencia en dosis única

En 2009 se llevó a cabo en el CEBIOBE un estudio cruzado, aleatorizado y compensado de bioequivalencia en dosis única, que comparó DiDPA-LP® (formulación Test) con Valcote® (formulación Referencia). El protocolo del estudio, junto con el consentimiento informado, fueron diseñados conforme a las pautas éticas para investigaciones en humanos y aprobados por el Comité de Ética en Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Química de la Universidad de la República. Todos los participantes de los estudios recibieron un folleto con los detalles del protocolo y firmaron el consentimiento informado antes de su inclusión.

En el estudio fueron enrolados 14 voluntarios sanos (7 mujeres y 7 hombres) entre 19 y 35 años, con una media \pm desviación estándar de masa corporal de $59 \pm 8,3$ kg (mujeres) y $79 \pm 9,7$ kg (hombres). Dos de las mujeres participantes estaban bajo tratamiento anticonceptivo. Siguiendo la normativa local para la evaluación de bioequivalencia y las recomendaciones del Comité de Ética, se administró a cada voluntario una dosis de 500 mg de VPA en ayunas. La ingesta de alimentos fue estandarizada y programada a las 4, 8, 12 y 24 horas después de la administración de la dosis (posdosis).

Se recogieron 15 muestras por paciente y formulación a las 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 16, 24, 36 y 48 horas posdosis. Las concentraciones totales de VPA en plasma fueron cuantificadas mediante una técnica reportada de HPLC/UV, validada con mínimas modificaciones [15]. El límite inferior de cuantificación de VPA fue 1,50 mg/L. La exactitud y precisión del método fueron evaluadas entre 1,50 y 70 mg/L.

Desarrollo del modelo no lineal de efectos mixtos

El modelo farmacocinético poblacional, utilizado para describir las concentraciones totales de VPA ($C_{T,VPA}$) y estimar las concentraciones libres ($C_{L,VPA}$) tras la administración de una dosis única, fue desarrollado con el software Monolix® 2024R1 (Lixoft, una empresa de SimulationPlus). Como se mencionó anteriormente, solo se disponía de las concentraciones totales del fármaco, por lo que se implementó la Ec. 2.1 para predecir las concentraciones libres:

$$C_{T,VPA} = C_{L,VPA} \times \left(1 + \frac{B_{max}}{(k_d + C_{L,VPA})} \right) \quad (2.1)$$

Donde B_{max} representa la capacidad máxima de unión a proteínas plasmáticas y k_d es la concentración libre de VPA a la cual se alcanza la mitad de dicha capacidad. Ambos parámetros fueron estimados utilizando la función nlr del paquete “gnlm” en el entorno de R [16, 17], antes de iniciar el desarrollo del modelo NLME. Las fracciones libres de VPA en función de las concentraciones plasmáticas totales se obtuvieron de observaciones previamente reportadas [12], y se utilizaron para estimar la relación entre las concentraciones plasmáticas libres y totales del fármaco. Los parámetros estimados fueron integrados como valores fijos en el modelo NLME.

Los modelos estructurales probados fueron monocompartimental y bicompartimental, con ingreso de primer orden y con ingreso de orden cero, además de evaluar el tiempo de latencia. Se probaron tres modelos de error residual (aditivo, proporcional y combinado) para definir la variabilidad no explicada por el modelo, agregándolos a la función de concentración según la siguiente ecuación (Ec. 2.2):

$$DV = Y_{pred} \times (1 + prop) + add \quad (Ec. 2.2)$$

Siendo DV la variable dependiente, o en otras palabras el valor de la concentración observada. La variable Ypred es la predicción del modelo, *prop* y *add* son los parámetros del modelo de error residual proporcional y error residual aditivo, respectivamente. Se asume distribución normal para los parámetros del modelo de error residual con media cero y varianza σ^2 .

El impacto de la masa corporal sobre los parámetros de disposición se incorporó en el modelo base siguiendo la teoría alométrica, aplicando un coeficiente de 0,75 para los aclaramientos de eliminación y distribución, y un coeficiente de 1 para los volúmenes de distribución [18]. La variabilidad interindividual (IIV) y la variabilidad interocasión (IOV) se evaluaron en todos los parámetros farmacocinéticos utilizando una distribución logarítmica normal siguiendo la siguiente ecuación (Ec. 2.3):

$$CL_i = CL_{pop} \times \left(\frac{BW_i}{70}\right)^{0,75} \times e^{\eta_i} \times e^{\gamma_i} \quad (2.3)$$

Donde CL_i representa el aclaramiento de eliminación del sujeto i, CL_{pop} es el aclaramiento típico para un adulto de 70 kg, BW_i es la masa corporal del sujeto i. Los exponenciales η_i y γ_i son la variabilidad interindividual e interocasión, y se asume que siguen una distribución normal con media cero y varianza ω^2 y π^2 , respectivamente.

La construcción del modelo se basó en diversas métricas de diagnóstico, como el criterio de información de Akaike (*AIC*), los gráficos de bondad de ajuste y diagnósticos basados en simulación, como los gráficos de comprobación de predicción visual (*VPC*, *por su sigla en inglés*). Además, se consideró la magnitud de la incertidumbre en la estimación de los parámetros, que se expresó en términos de error estándar relativo (*RSE*, *por su sigla en inglés*). Esta herramienta es clave para evaluar la confiabilidad de los parámetros estimados y puede ayudar a decidir si es necesario mejorar el modelo, recolectar más datos o simplificar la parametrización.

Después de definir el modelo base, se realizó un análisis de covariables para evaluar el impacto del sexo y las formulaciones en la farmacocinética del VPA. Se empleó el método de inclusión paso a paso y eliminación hacia atrás [19], en el que las covariables se incorporaron individualmente como efectos fijos,

afectando un parámetro a la vez. Una covariable se consideró significativa si reducía el valor de la función de objetivo en al menos 3,84 unidades y si la estimación de su coeficiente (β_{cc}) resultaba significativamente diferente de 0 ($p < 0,05$, prueba de Wald). Las covariables significativas se mantuvieron en el modelo hasta conformar un modelo completo, a partir del cual se inició su eliminación individual, evaluando el incremento en la función objetivo. Una covariable se incluyó en el modelo final si su eliminación del modelo completo generaba un aumento superior a 6,63 unidades en la función objetivo. En este paso también fue dirigido por la implementación de diagnósticos gráficos. La parametrización de las variables continuas y categóricas agregadas al modelo, así como la distribución log-normal utilizada para describir los efectos aleatorios, se presenta en la siguiente ecuación (Ec. 2.4):

$$CL_i = CL_{pop} \times \left(\frac{BW_i}{70}\right)^{0,75} \times e^{\eta_i} \times e^{\gamma_i} \times e^{\beta_{cc}} \quad (2.4)$$

Donde β_{cc} es el efecto estimado de la covariable categórica en el aclaramiento típico.

Evaluación del modelo no lineal de efectos mixtos

La capacidad del modelo para predecir las concentraciones plasmáticas de VPA tras la administración de dosis múltiples, considerando el modelo de saturación de unión a proteínas plasmáticas, fue validada mediante la comparación gráfica de observaciones *in vivo* previamente reportadas en la bibliografía.

Se realizó una comprobación predictiva posterior (*PPC*, por su sigla en inglés) para evaluar el desempeño del modelo NLME en la estimación de las medianas de las métricas farmacocinéticas C_{max} y AUC_{48} (de 0 a 48 horas posdosis) para cada formulación, así como en los intervalos de confianza no paramétricos de estas.

Análisis de bioequivalencia basada en modelos para concentraciones plasmáticas totales y libres

El modelo farmacocinético poblacional desarrollado fue utilizado para computar y predecir las métricas farmacocinéticas de interés tras simular 500 réplicas del estudio de bioequivalencia en Simulx® 2024R1 (Lixoft, una empresa de SimulationPlus). En este contexto, una réplica es una nueva muestra simulada

de datos individuales generada a partir del modelo final, manteniendo la misma estructura experimental del conjunto de datos original. Para ello, se consideró la incertidumbre en la estimación de los parámetros, lo que permitió generar un nuevo conjunto de valores de parámetros poblacionales en cada réplica simulada. A partir de estos valores, se simularon perfiles individuales, asegurando que cada réplica reflejara posibles variaciones dentro del marco del modelo ajustado.

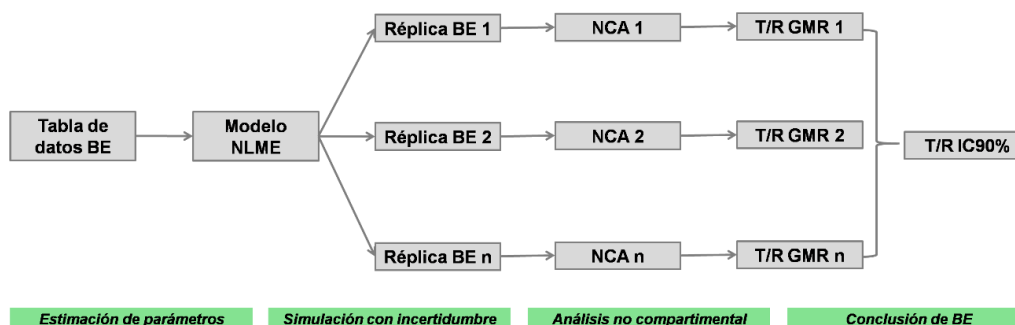
Para los estudios en dosis única se derivaron las métricas C_{max} y AUC_{48} para cada formulación y cada sujeto simulado utilizando el entorno de R [17]. El AUC extrapolado a infinito no se consideró en el análisis, ya que el área extrapolada representó menos del 10% del AUC_{48} según el NCA. Para los estudios en estado estacionario se utilizaron las métricas concentración máxima ($C_{max, ss}$), concentración mínima ($C_{min, ss}$), AUC_{12} (en el intervalo interdosis) y la fluctuación pico-valle (PTF). El PTF se calculó mediante la Ec. 2.3:

$$PTF(\%) = \frac{100 \times (C_{max,ss} - C_{min,ss})}{C_{ss}} \quad (2.3)$$

Donde C_{ss} es la concentración media en estado estacionario, obtenida al dividir AUC_{12} sobre el intervalo de dosis.

Se implementó un método previamente desarrollado, descrito en la Figura 2.2, para evaluar el enfoque MBBE, el cual se basa en la simulación de réplicas del estudio de bioequivalencia [7]. En resumen, para cada réplica simulada del estudio de bioequivalencia, se realizó un NCA para estimar las métricas de exposición de interés, y se calculó el cociente de medias geométricas Test/Referencia (T/R). A partir de estos cocientes ($n = 500$) se determinó el IC90 no paramétrico tomando los percentiles 5 y 95. Este procedimiento se aplicó tanto para las concentraciones totales simuladas como para las concentraciones libres simuladas de VPA.

Figura 2.2 Método implementado para obtener el intervalo de confianza no paramétrico al 90%



Método implementado para obtener el IC90 no paramétrico de las métricas de interés, a partir de la distribución de cocientes de medias geométricas T/R ($n = 500$).

Evaluación de bioequivalencia basada en modelos

En la evaluación del enfoque MBBE se compararon los resultados del método propuesto con los resultados del método tradicional, utilizando el mismo diseño de muestreo experimental para estimar las métricas de interés. Dado que los datos experimentales de bioequivalencia eran extensos, el objetivo de esta evaluación fue determinar la capacidad del método para replicar los resultados obtenidos a través del enfoque estándar (NCA-ANOVA).

Predicción de bioequivalencia basada en modelos

Después de la evaluación, este enfoque se implementó en su máxima capacidad para estimar las métricas farmacocinéticas a partir de las curvas de concentración en función del tiempo simuladas de forma continua (a intervalos de 0,1 h), tanto para las concentraciones libres como totales de VPA, tras la administración de una dosis única. Este proceso se realizó utilizando el mismo conjunto de parámetros individuales para las 500 réplicas del estudio, con el objetivo de evaluar cómo el análisis MBBE podría superar las limitaciones asociadas con el diseño experimental original. Posteriormente, este enfoque se utilizó para predecir el resultado de bioequivalencia entre las formulaciones en estudio en estado estacionario.

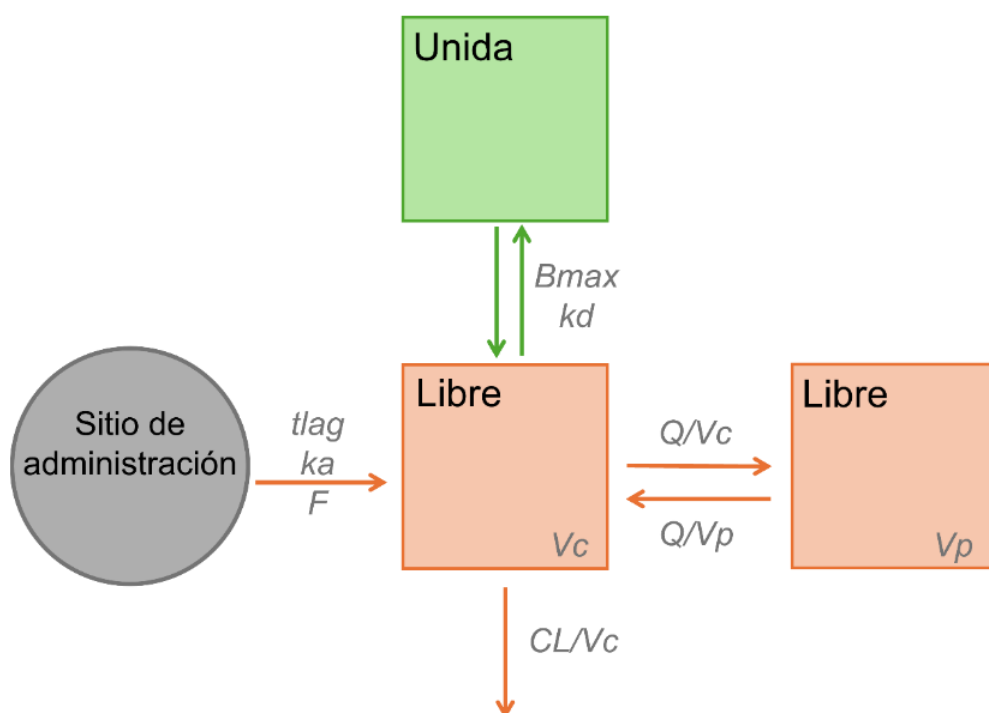
Resultados

Desarrollo del modelo no lineal de efectos mixtos

Un modelo bicompartimental, con absorción de primer orden y eliminación lineal desde el compartimento central, mostró el mejor ajuste a los datos observados. Los parámetros estimados para cada sujeto y cada formulación fueron: constante de absorción aparente, tiempo de latencia, aclaramiento, volumen del compartimento central, aclaramiento de distribución y volumen del compartimento periférico. Se implementó un modelo de error proporcional para describir la variabilidad residual no explicada. La Figura 2.3 esquematiza el modelo PopPK desarrollado. El código implementado en Monolix para la estimación de los parámetros se muestra en el Anexo I.

Se detectó una diferencia significativa en la biodisponibilidad conseguida por las formulaciones conteniendo VPA. De acuerdo con reportes anteriores, la biodisponibilidad de la formulación de liberación retardada se fijó en 1, mientras que la formulación de liberación prolongada mostró una biodisponibilidad relativa de 87,8%. Además, la constante de absorción estimada para la formulación de liberación prolongada fue de 0,31 h (semivida de 2,2 h), significativamente menor que 0,94 h (semivida de 0,74 h), valor estimado para la formulación de liberación retardada. El tiempo de latencia se incluyó solo para describir la absorción de la formulación anterior, ya que no se esperaba retraso en la absorción luego de administrar la formulación de liberación prolongada. El sexo de los sujetos afectó significativamente el aclaramiento del fármaco: los hombres y las mujeres bajo tratamiento anticonceptivo presentaron un aclaramiento 64,5% mayor en comparación con el aclaramiento de las mujeres sin tratamiento anticonceptivo, con valores de 9,36 y 5,69 L/h, respectivamente.

Figura 2.3 Modelo farmacocinético poblacional de ácido valproico.



Abreviaturas: Sitio de administración: donde se coloca la dosis a tiempo 0; tlag, tiempo de latencia; ka, constante de absorción de primer orden; F, biodisponibilidad; Vc y Vp, volúmenes aparentes de distribución del compartimiento central y periférico, respectivamente; CL, aclaramiento aparente; Q, aclaramiento de distribución; Bmax, capacidad máxima de unión a proteínas plasmáticas; kd, la concentración libre de ácido valproico a la cual se alcanza la mitad de Bmax.

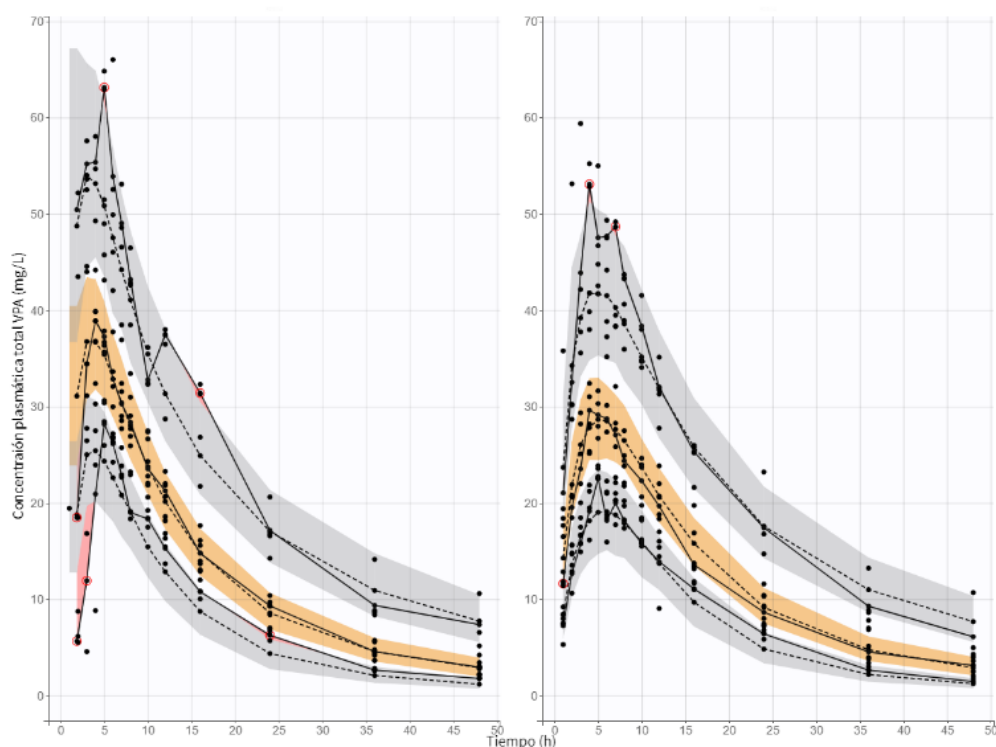
Todos los parámetros estimados se resumen en la Tabla 2.1, mientras que el VPC estratificada por formulación del modelo final se muestra en la Figura 2.4.

Tabla 2.1 Parámetros estimados del modelo farmacocinético poblacional

Parámetro	Valor típico (RSE %)	IC95 (%)
t_{lag} (h)	0,690 (19,0)	0,48 – 0,99
β_{form_tlag}	-7 (Fijo)	Fijo
k_a (h ⁻¹)	0,940 (26,1)	0,57 – 1,53
β_{form_ka}	-1,11 (17,5)	-1,49 – -0,73
V_c (L)	96,8 (9,25)	80,8 – 116
CL (L/h)	5,69 (8,72)	4,80 – 6,75
β_{sex_CL}	0,500 (20,4)	0,300 – 0,700
V_p (L)	44,8 (17,8)	31,85 – 63,05
Q (L/h)	2,81 (22,8)	1,83 – 4,33
B_{max} (mg/L) *	157 (2,32)	Fijo
k_d (mg/L) *	13,5 (7,33)	Fijo
F	1 (Fijo)	Fijo
β_{form_F}	-0,130 (33,3)	-0,220 – -0,045
IIV k_a (%)	31,2 (26,1)	19,7 – 50,0
IIV V_c (%)	25,1 (21,9)	16,1 – 38,2
IIV CL (%)	17,8 (20,1)	11,8 – 25,7
Error proporcional (%)	19,0 (3,93)	17,0 – 20,0

Abreviaturas: t_{lag} , tiempo de latencia para la formulación de liberación retardada; β_{form_tlag} , efecto de la formulación de liberación prolongada en el t_{lag} ; k_a , constante de absorción de primer orden para la formulación de liberación retardada; β_{form_ka} , efecto de la formulación de liberación prolongada en la k_a ; V_c y V_p , volúmenes aparentes de distribución del compartimiento central y periférico, respectivamente; CL, aclaramiento aparente; β_{sex_CL} , efecto del sexo y el tratamiento anticonceptivo en CL; Q, aclaramiento de distribución; B_{max} , capacidad máxima de unión a proteínas plasmáticas; k_d , la concentración libre de ácido valproico a la cual se alcanza la mitad de B_{max} ; F, biodisponibilidad de la formulación de liberación retardada; β_{form_F} , efecto de la formulación de liberación prolongada en F; IIV, variabilidad interindividual. IC95%: intervalo de confianza 95% para el valor poblacional. * B_{max} y k_d fueron estimados usando la función *nls* del paquete “*gnlm*” en el entorno de R antes de comenzar el proceso de construcción del modelo, y luego fueron fijados en posteriores etapas del desarrollo del modelo. Las concentraciones libres y totales de ácido valproico utilizadas en la estimación fueron obtenidas de Nasreddine et al. [12].

Figura 2.4 Comprobación visual predictiva estratificada por formulación

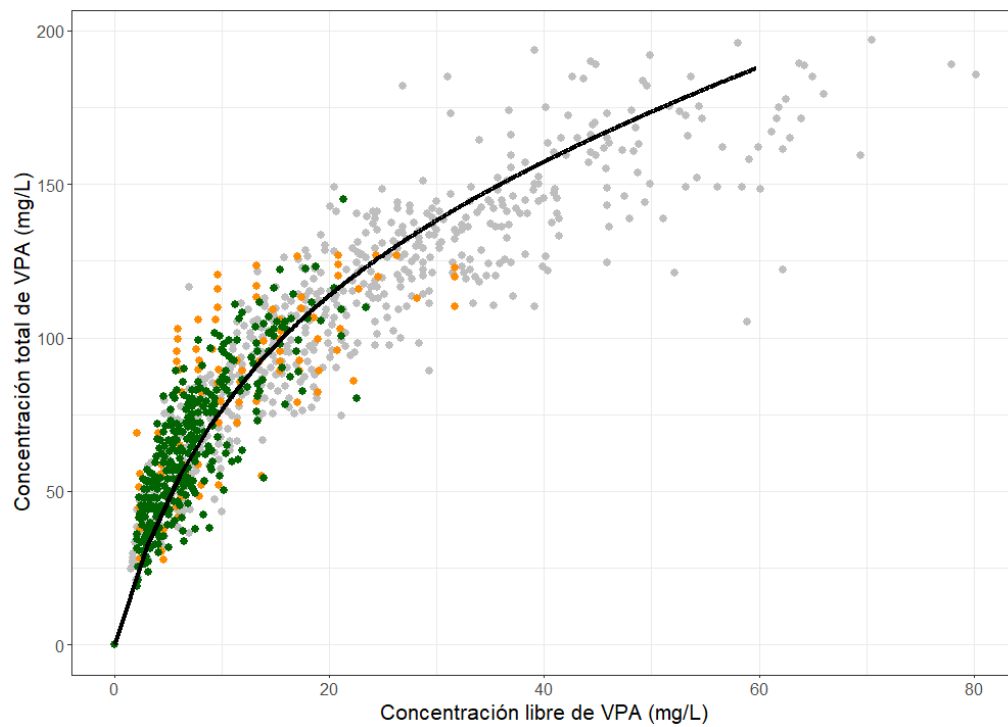


Izquierda: liberación retardada, derecha: liberación prolongada. Puntos: observaciones individuales. Líneas continuas y punteadas: percentiles 5%, 50% y 95% observados y simulados, respectivamente. Áreas sombreadas: intervalo de predicción del 90% de los percentiles simulados. Círculos y áreas rojas: discrepancias entre los datos observados y las predicciones del modelo. VPA: ácido valproico.

Evaluación del modelo no lineal de efectos mixtos

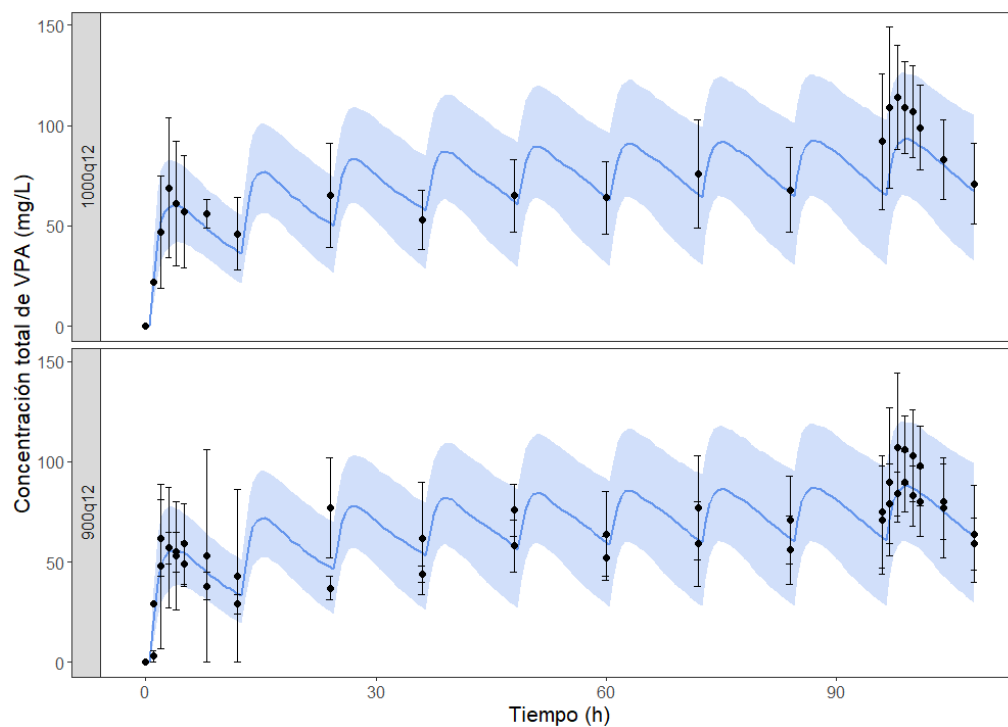
Las Figuras 2.5 a 2.7 muestran evaluaciones externas del modelo de saturación de unión a proteínas plasmáticas, incluyendo gráficos de concentraciones totales versus libres de VPA (Figura 2.5), concentraciones totales del fármaco tras diferentes dosis orales únicas y múltiples (Figura 2.6) y concentraciones posdosis reportadas tras la administración de una formulación de liberación retardada (Figura 2.7).

Figura 2.5 Concentraciones plasmáticas totales en función de las concentraciones plasmáticas libres de ácido valproico



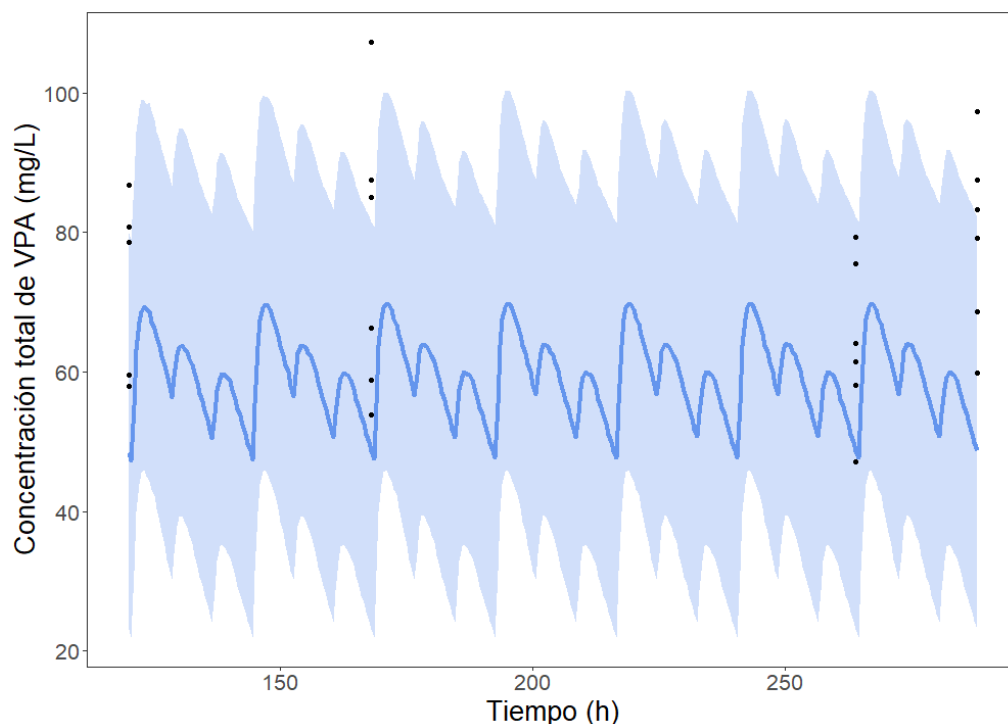
Línea continua: medianas de las concentraciones simuladas. Puntos: observaciones individuales de pacientes (gris: Nasreddine et al., 2018, naranja: Cramer et al., 1986, verde: Cloyd et al., 2003). VPA: ácido valproico.

Figura 2.6 Concentraciones plasmáticas totales en función del tiempo tras dosis única y en estado estacionario de una administración oral de 900 mg (abajo) y 1000 mg (arriba) de ácido valproico cada 12 horas.



Líneas y áreas azules: mediana e intervalo de confianza 90% no paramétrico de las predicciones. Puntos y barras de error: media \pm desviación estándar de las observaciones (Nitsche et al., 1982). VPA: ácido valproico.

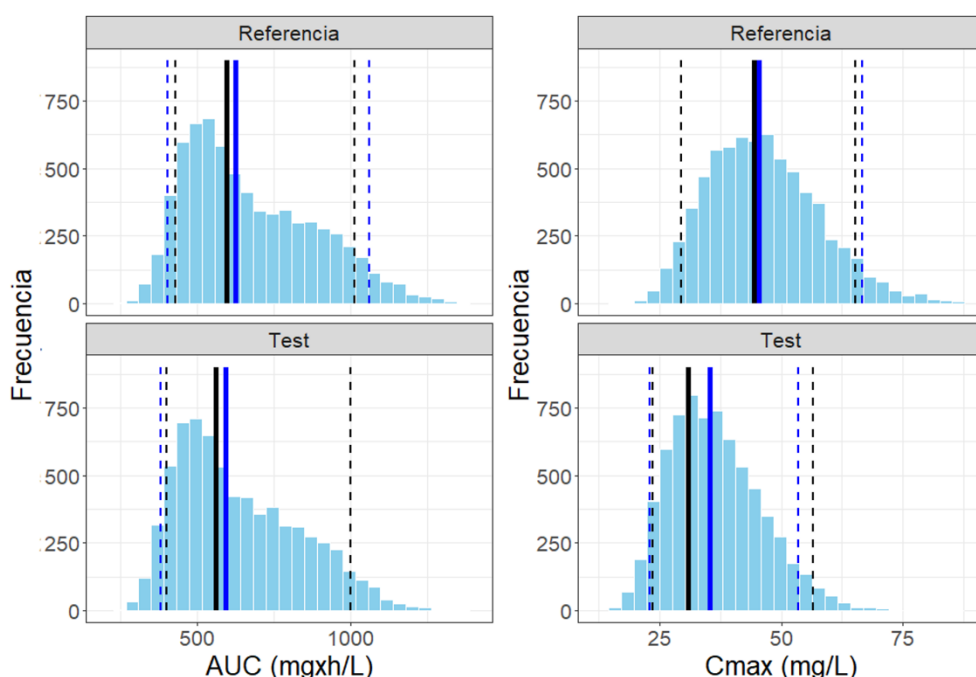
Figura 2.7 Concentraciones plasmáticas totales a pre-dosis en función del tiempo tras un tratamiento oral de 600/300/300 mg de ácido valproico al día.



Líneas y áreas azules: mediana e intervalo de confianza 90% no paramétrico de las predicciones. Puntos: observaciones individuales (Gugler et al., 1977). VPA: ácido valproico.

La Figura 2.8 presenta los resultados del PPC para AUC_{48} y C_{max} , tanto para la formulación Referencia como para la formulación Test. En la misma se muestra la distribución de las métricas simuladas individuales para cada formulación ($n = 7000$), junto con los percentiles observados y simulados (5%, 50% y 95%) de dicha distribución. Dada la gran similitud entre esos percentiles se puede concluir que el modelo replica con precisión las métricas de exposición *in vivo* relevantes para la evaluación de bioequivalencia, cuando se emplea el mismo diseño de muestreo.

Figura 2.8 Comparación posterior predictiva de las métricas relevantes de bioequivalencia para ambas formulaciones, usando el diseño de muestreo experimental



Líneas continuas: medianas (negro: observado, azul: simulado). Líneas discontinuas: percentiles 5% y 95% (negro: observado, azul: simulado). AUC: área bajo la curva concentración total de ácido valproico en función del tiempo desde 0 a 48 horas postdosis. Cmax: concentración total máxima de ácido valproico

Evaluación de bioequivalencia basada en modelos

La Tabla 2.2 resume los resultados observados en el estudio de bioequivalencia en dosis única, tanto siguiendo el enfoque NCA-ANOVA como mediante el análisis de MBBE, usando el diseño de muestreo experimental para computar las métricas farmacocinéticas. El código desarrollado en el entorno de R para el análisis de las simulaciones se resume en el Anexo II.

De acuerdo con los resultados del análisis de bioequivalencia, el IC90 del cociente de medias geométricas de AUC_{48} se encuentra dentro del rango de especificación de bioequivalencia (0,80 – 1,25), indicando que la formulación Test alcanza una biodisponibilidad oral comparable con la de la formulación Referencia en términos de cantidad de fármaco absorbido. Como era de esperarse, Test mostró una menor velocidad de absorción de VPA, lo cual tendió

a reducir su C_{max} . El IC90 del cociente de medias geométricas de C_{max} fue 0,72 – 0,87.

Tabla 2.2 Bioequivalencia de las concentraciones totales en dosis única usando el diseño de muestreo experimental

	Test	Referencia	T/R GMR	IC90%		CV (%)
Enfoque estándar de bioequivalencia						
AUC ₄₈ (mg*h/L)	603	623	0,967	0,908	1,03	9,35
AUC _{inf} (mg*h/L)	662	686	0,965	0,904	1,03	9,72
C _{max} (mg/L)	34,6	43,7	0,791	0,720	0,870	14,2
MBBE con el diseño de muestreo experimental						
AUC ₄₈ (mg*h/L)	608	644	0,945	0,900	0,991	8,82
C _{max} (mg/L)	35,1	45,0	0,784	0,723	0,848	12,1

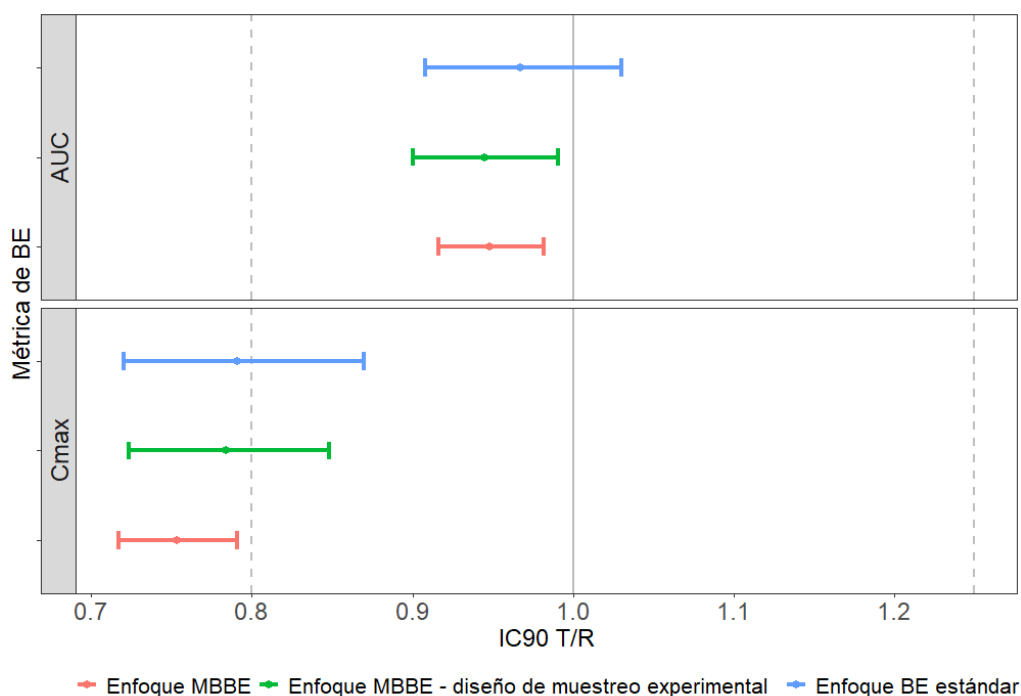
Abreviaturas: Test: media geométrica de la formulación Test para cada métrica; Referencia: media geométrica de la formulación Referencia para cada métrica; T/R GMR: cociente de medias geométricas Test/Referencia (para MBBE corresponde a la mediana de la distribución de T/R GMR). IC90%: intervalo de confianza al 90% para T/R GMR (para MBBE corresponde a los percentiles 5% y 95% de T/R GMR). CV (%): coeficiente de variación obtenido con el análisis no compartimental y ANOVA (enfoque estándar de bioequivalencia) y a partir de la distribución no paramétrica (MBBE); MBBE: bioequivalencia basada en modelos; AUC₄₈: área bajo la curva concentraciones totales en función de tiempo desde 0 a 48 horas posdosis; AUC_{inf}: área bajo la curva concentraciones totales en función de tiempo desde 0 a infinito. C_{max} : concentración total máxima.

Predicción de bioequivalencia basada en modelos

Tras confirmar que el modelo desarrollado reproduce adecuadamente los resultados obtenidos con el NCA utilizando el diseño de muestreo experimental, se procedió a realizar predicciones de MBBE. Este procedimiento implica computar las métricas de exposición a partir de perfiles farmacocinéticos simulados de forma continua, aprovechando plenamente las ventajas del enfoque basado en modelos. La Figura 2.9 presenta la comparación entre los resultados de bioequivalencia obtenidos mediante distintos enfoques: el NCA-ANOVA con los datos observados, el enfoque basado en modelos usando el diseño de muestreo experimental y el enfoque basado en modelos usando perfiles farmacocinéticos continuos simulados.

Si bien se obtuvieron resultados notablemente similares entre los dos primeros enfoques, el uso del enfoque basado en modelos con perfiles farmacocinéticos continuos permitió una mayor discriminación entre las formulaciones, especialmente para C_{max} . Estos resultados destacan el potencial de este enfoque para superar las limitaciones inherentes al diseño experimental, el cual fue el mismo para ambas formulaciones, a pesar de que éstas presentaban distintos perfiles de liberación de fármaco.

Figura 2.9 Comparación de los intervalos de confianza al 90% para los cocientes de medias geométricas Test/Referencia (IC90 T/R) para las concentraciones totales de ácido valproico tras dosis única



Azul: enfoque estándar de bioequivalencia (análisis no compartimental y ANOVA) aplicado a los resultados observados in vivo. Verde: enfoque basado en modelos realizado con el diseño de muestreo experimental. Rojo: enfoque basado en modelos realizado con simulaciones continuas. BE: bioequivalencia. MBBE: bioequivalencia basada en modelos. AUC: área bajo la curva concentraciones totales en función del tiempo desde 0 a 48 horas postdosis. Cmax: concentración total máxima.

La Tabla 2.3 resume las predicciones de MBBE entre las formulaciones Test y Referencia, tanto para concentraciones totales como para concentraciones libres, tras dosis única y en estado estacionario (500 mg cada 12 horas). El IC90 para el cociente de medias geométricas T/R predicho para el AUC₁₂ en estado

estacionario es comparable al de AUC_{48} tras dosis única, tanto para la estimación puntual como para la variabilidad residual. Estos resultados indican, como era de esperar, que la cantidad relativa de VPA absorbido entre las formulaciones se mantiene en estado estacionario.

Las predicciones en estado estacionario muestran un cambio en la comparación de C_{max} , ya que el cociente T/R es superior al estimado para una dosis única. Esto podría atribuirse a la acumulación del fármaco en estado estacionario, dado que los parámetros que afectan la absorción permanecen constantes. Sin embargo, las predicciones basadas en modelos indican un PTF significativamente menor para Test, tanto en concentraciones plasmáticas libres como totales, lo que resalta las propiedades de la formulación de liberación prolongada.

Tabla 2.3 Bioequivalencia basada en modelos para las concentraciones totales y libres, en dosis única usando y en estado estacionario

	Test	Referencia	T/R GMR	IC90%		CV (%)
<i>Dosis única</i>						
AUC (mg*h/L)	602	634	0,948	0,916	0,982	6,43
C _{max} (mg/L)	29,5	39,2	0,753	0,717	0,791	7,12
AUC _i (mg*h/L)	51,3	55,5	0,926	0,890	0,959	6,97
C _{max, i} (mg/L)	2,70	3,81	0,708	0,666	0,752	8,33
<i>Estado estacionario</i>						
AUC (mg*h/L)	565	592	0,955	0,929	0,982	5,06
C _{max} (mg/L)	52,8	61,0	0,864	0,836	0,893	5,52
C _{min} (mg/L)	37,8	35,3	1,08	1,02	1,14	9,57
PTF (%)	27,8	47,4	0,589	0,529	0,651	12,0
AUC _i (mg*h/L)	58,4	62,5	0,933	0,899	0,968	6,72
C _{max, i} (mg/L)	5,61	6,89	0,816	0,780	0,853	7,14
C _{min, i} (mg/L)	3,70	3,53	1,04	0,989	1,10	10,8
PTF _i (%)	36,2	59,8	0,606	0,549	0,665	11,4

Abreviaturas: Test: media geométrica de la formulación Test para cada métrica; Referencia: media geométrica de la formulación Referencia para cada métrica; T/R GMR: mediana de la distribución de cocientes de medias geométricas. IC90%: intervalo de confianza no paramétrico al 90% de la distribución de cocientes de medias geométricas (percentiles 5% y 95%). CV (%): coeficiente de variación obtenido a partir de la distribución no paramétrica; MBBE: bioequivalencia basada en modelos; AUC y AUC_i: área bajo la curva concentraciones en función de tiempo desde 0 a 48 horas posdosis (dosis única) y desde 0 a 12 horas posdosis (estado estacionario), para concentraciones totales y libres, respectivamente; C_{max} y C_{max, i}: concentración máxima total y libre, respectivamente; C_{min} y C_{min, i}: concentración mínima total y libre, respectivamente; PTF y PTF_i: fluctuación pico-valle de concentraciones totales y libres, respectivamente.

Discusión

La construcción del modelo se basó en la premisa de lograr el modelo estructural más simple que ofreciera una buena descripción del desempeño relativo entre ambas formulaciones. Se incluyó un parámetro que cuantifica la cantidad relativa de fármaco absorbido, y la formulación fue evaluada como covariable en los parámetros de absorción. El modelo desarrollado fue evaluado adicionalmente

con datos extraídos de bibliografía [11, 12, 20] para analizar la predicción de las concentraciones plasmáticas totales y libres de VPA. Los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad interindividual estimados en este trabajo fueron comparables a los previamente reportados para VPA en pacientes y voluntarios sanos [21–23].

El modelo desarrollado se utilizó para simular los perfiles farmacocinéticos individuales, considerando la incertidumbre en la estimación de los parámetros, para computar las métricas de interés para cada formulación, y para estimar el IC90 del cociente de medias geométricas T/R a través de una distribución no paramétrica. Esto se realizó inicialmente para concentraciones plasmáticas totales en un escenario de dosis única, comparando los resultados de bioequivalencia obtenidos frente a los estimados mediante el enfoque estándar. Si bien los resultados mostraron una notable similitud cuando se utilizó el mismo esquema de tiempos de muestreo, se logró una mayor discriminación entre las formulaciones cuando se usaron perfiles farmacocinéticos simulados de forma continua. Esto resalta el potencial de este enfoque para superar las limitaciones inherentes al diseño experimental, el cual fue el mismo para ambas formulaciones, a pesar de sus diferencias en los perfiles de liberación de fármaco. En este contexto, el análisis MBBE con perfiles simulados de forma continua permite capturar parámetros clave, como el tiempo de latencia de la formulación Referencia y la absorción más lenta de la formulación Test. Por lo tanto, este enfoque puede superar las limitaciones del diseño experimental al aprovechar los datos *in vivo* “escasos” para calcular las métricas de exposición con mayor precisión.

La biodisponibilidad relativa entre las formulaciones se evaluó adicionalmente con el enfoque basado en modelos para las concentraciones plasmáticas libres de VPA tras una dosis única, así como para las concentraciones plasmáticas totales y libres en estado estacionario. Los resultados indican que DiDPA-LP® seguiría mostrando un perfil de liberación prolongada tras múltiples dosis, dado que se proyecta un IC90 para el PTF por debajo de 0,8, tanto para las concentraciones totales como para las libres de VPA. Las predicciones también mostraron que ambas formulaciones serían bioequivalentes en cuanto a la fracción de fármaco absorbido, a pesar de estimarse una biodisponibilidad

reducida para el producto de liberación prolongada. Se espera que estos resultados permitan evitar o disminuir la experimentación en voluntarios sanos.

En el próximo capítulo se aplican estrategias de muestreo limitado para el diseño óptimo de un estudio de bioequivalencia en pacientes en estado estacionario, dado que DiDPA-LP® ya está prescrito en el mercado uruguayo. Una comparación *a posteriori* de los resultados obtenidos en dicho estudio con las predicciones realizadas en este trabajo podría respaldar el método basado en modelos como una herramienta valiosa para anticipar los resultados de bioequivalencia en escenarios clínicos específicos, con menores costos éticos y económicos.

Conclusiones

Este trabajo expone la implementación del enfoque MBBE como una solución para abordar las limitaciones experimentales de los estudios clínicos de medicamentos. Entre estas limitaciones se destacan el diseño de muestreo poco adecuado para comparar dos formulaciones con diferentes perfiles de liberación de fármaco, así como las restricciones éticas y económicas asociadas a los estudios de bioequivalencia en dosis múltiples en voluntarios sanos. Este enfoque contribuye a reducir el riesgo de obtener conclusiones incorrectas al evaluar la biodisponibilidad relativa a partir de concentraciones totales de fármacos con capacidad limitada de unión a proteínas plasmáticas. El análisis MBBE predijo que DiDPA-LP® mostraría características de liberación prolongada en estado estacionario, respaldando su utilidad clínica. Estos resultados podrían ser presentados a la autoridad regulatoria local para su consideración.

Bibliografía

1. FDA (2000) Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence
2. Seng Yue C, Ozdin D, Selber-Hnatiw S, Ducharme MP (2019) Opportunities and Challenges Related to the Implementation of Model-Based Bioequivalence Criteria. Clin Pharmacol Ther 105:350–362. <https://doi.org/10.1002/cpt.1270>
3. Fang L, Kim MJ, Li Z, et al (2018) Model-Informed Drug Development and

- Review for Generic Products: Summary of FDA Public Workshop. Clin Pharmacol Ther 104:27–30. <https://doi.org/10.1002/cpt.1065>
4. Dubois A, Gsteiger S, Balser S, et al (2012) Pharmacokinetic similarity of biologics: Analysis using nonlinear mixed-effects modeling. Clin Pharmacol Ther 91:234–242. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.216>
 5. Dubois A, Lavielle M, Gsteiger S, et al (2011) Model-based analyses of bioequivalence crossover trials using the stochastic approximation expectation maximisation algorithm. Stat Med 30:2582–2600. <https://doi.org/10.1002/sim.4286>
 6. Möllenhoff K, Loingeville F, Bertrand J, et al (2020) Efficient model-based bioequivalence testing. Biostatistics. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxaa026>
 7. Chen X, Nyberg HB, Donnelly M, et al (2024) Development and comparison of model-integrated evidence approaches for bioequivalence studies with pharmacokinetic end points. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol 1734–1747. <https://doi.org/10.1002/psp4.13216>
 8. Beal SL (2001) Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. J Pharmacokinet Pharmacodyn 28:481–504. <https://doi.org/10.1023/A:1012299115260>
 9. Perucca E (2002) Pharmacological and therapeutic properties of valproate: A summary after 35 years of clinical experience. CNS Drugs 16:695–714. <https://doi.org/10.2165/00023210-200216100-00004>
 10. Salas-Puig J (2005) Farmacología del valproato sódico. Emergencias (St Vicenç dels Horts) 79–82
 11. Cramer J., Mattson R., Bennet D., Swick C. (1986) Variable Free and Total Valproic Acid Concentrations in Sole- and Multi-Drug Therapy. Ther Drug Monit 8:411–415. <https://doi.org/10.1097/00007691-198612000-00005>
 12. Nasreddine W, Dirani M, Atweh S, et al (2018) Determinants of free serum valproate concentration: A prospective study in patients on divalproex sodium monotherapy. Seizure 59:24–27.

<https://doi.org/10.1016/j.seizure.2018.04.012>

13. Dutta S, Zhang Y (2004) Bioavailability of divalproex extended-release formulation relative to the divalproex delayed-release formulation. *Biopharm Drug Dispos* 25:345–352. <https://doi.org/10.1002/bdd.420>
14. Abbott Laboratories (2011) Depakote ER (divalproex sodium) Tablet, Extended Release for oral use FDA Approved Labeling Text
15. Amini H, Javan M, Ahmadiani A (2006) Development and validation of a sensitive assay of valproic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography without prior derivatization. *J Chromatogr B* 830:368–371. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.11.028>
16. Swihart B, Lindsey J (2019) gnlm: Generalized Nonlinear Regression Models R package
17. R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org>
18. Holford NHG, Anderson BJ (2017) Allometric size: The scientific theory and extension to normal fat mass. *Eur J Pharm Sci* 109:S59–S64. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.056>
19. Ahamadi M, Largajolli A, Diderichsen PM, et al (2019) Operating characteristics of stepwise covariate selection in pharmacometric modeling. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 46:273–285. <https://doi.org/10.1007/s10928-019-09635-6>
20. Cloyd JC, Dutta S, Cao G, et al (2003) Valproate unbound fraction and distribution volume following rapid infusions in patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 53:19–27. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(02\)00251-6](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(02)00251-6)
21. Gugler R, Schell A, Eichelbaum M, et al (1977) Disposition of Valproic Acid in Man
22. Gidal BE, Pitterle ME, Spencert NW, Maly MM (1995) Relationship between valproic acid dosage, plasma concentration and clearance in adult monotherapy patients with epilepsy

23. Ibarra M, Vázquez M, Fagiolino P, Derendorf H (2013) Sex related differences on valproic acid pharmacokinetics after oral single dose. J Pharmacokinet Pharmacodyn. <https://doi.org/10.1007/s10928-013-9323-3>

3. Estrategias de muestreo limitado para el diseño óptimo de un estudio de bioequivalencia en paralelo entre dos formulaciones conteniendo ácido valproico

Introducción

El análisis poblacional de datos farmacocinéticos y farmacodinámicos constituye una herramienta fundamental para abordar preguntas complejas en el desarrollo y la evaluación de medicamentos, incluyendo, en este caso, los enfoques MBBE. La estimación confiable de los parámetros que describen estos procesos y las métricas de exposición al fármaco requiere disponer de datos experimentales adecuados, obtenidos en momentos oportunos tras la administración del medicamento, que permitan caracterizar con precisión las distintas fases de la farmacocinética y la farmacodinámica. Si bien un mayor número de muestras por paciente proporciona información más robusta para el análisis, este enfoque implica mayores costos económicos y éticos, además de dificultades prácticas en poblaciones vulnerables como neonatos o pacientes pediátricos. Para enfrentar estos desafíos, se desarrollaron los métodos de diseño óptimo, cuyo objetivo es identificar los tiempos de muestreo que aportan la mayor cantidad de información para la estimación de los parámetros del modelo y de las métricas derivadas [1]. Dentro de este marco, se encuentran las estrategias de muestreo limitado (*LSS, por su sigla en inglés*) que consisten en seleccionar un número reducido de tiempos de muestreo que permitan estimar con precisión las métricas farmacocinéticas de exposición al fármaco [2, 3].

Estas estrategias contribuyen a optimizar la planificación de los ensayos clínicos, reduciendo los costos asociados, la carga de los procedimientos invasivos y, en muchos casos, la permanencia de los voluntarios en los centros hospitalarios. Además, diversos trabajos han documentado su aplicabilidad en el diseño de estudios farmacocinéticos en población adulta y su extrapolación a la población pediátrica [5, 6]. Dichas ventajas resultan especialmente relevantes en los estudios de bioequivalencia, donde la eficiencia en el diseño de muestreo se traduce en un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles sin comprometer la potencia estadística de los resultados [4]. Existen dos métodos

principales para desarrollar LSS: el análisis de regresión lineal múltiple (*MRA*, *por su sigla en inglés*) y los enfoques basados en la utilización de modelos NLME (de ahora en más, enfoque basado en modelos).

El MRA emplea técnicas de regresión lineal para correlacionar las concentraciones de fármaco obtenidas en momentos específicos con valores de métricas farmacocinéticas obtenidos a partir de muestreos extensos [7]. De esta manera, se puede utilizar la información previa obtenida en una población tras un estudio con muestreo extenso para identificar los tiempos de muestreo más informativos, es decir, aquellos momentos que proporcionan mayor precisión en la estimación de las métricas de interés, optimizando así el diseño del estudio de muestreo limitado.

Las LLS basadas en modelos suelen apoyarse en la estimación máxima a posteriori (*MAP*, *por su sigla en inglés*) de los parámetros farmacocinéticos poblacionales. Este enfoque utiliza observaciones obtenidas con un número reducido de muestras por sujeto, junto con parámetros poblacionales derivados de la misma población mediante un esquema de muestreo más extenso (conocidos como *priors*), que sirven como referencia para reestimar la distribución de parámetros poblacionales. De este modo, se obtienen los parámetros poblacionales para la nueva población, posibilitando la evaluación de la precisión de estos parámetros bajo diferentes esquemas de muestreo limitado y la optimización de la información obtenida en estudios clínicos.

La ventaja principal del MRA radica en la simplicidad de las ecuaciones resultantes, ya que no requieren suposiciones intrínsecas sobre modelos compartimentales, permitiendo su implementación por investigadores no familiarizados con la modelización y simulación farmacométrica [4, 7, 8]. Por otro lado, el enfoque basado en modelos brinda flexibilidad, ya que el modelo PopPK puede corregir las desviaciones en el momento de toma de las muestras, y permite integrar las características del voluntario como sexo, edad y función renal, conduciendo a una estimación más precisa de las métricas de interés [4, 9]. Además, posibilita simular respuestas farmacocinéticas y realizar cálculos de dosis de manera sencilla [4].

Los métodos de muestreo limitado descritos pueden aplicarse de manera independiente o combinarse de forma secuencial, aprovechando las fortalezas de cada enfoque y mitigando sus respectivas limitaciones. El enfoque basado en modelos requiere información adicional sobre la selección adecuada de los tiempos de muestreo, que permitan estimar los parámetros farmacocinéticos con suficiente precisión. En este contexto, resulta lógico proponer un esquema de muestreo basado en el MRA [6]. No obstante, el uso exclusivo de esta estrategia no contemplaría posibles desviaciones en la toma de muestras ni las características individuales de los sujetos, limitando así la precisión de las predicciones del método.

En farmacometría, se suele distinguir entre la variable dependiente (DV), que representa la observación de las concentraciones, y la predicción del modelo (Y_{pred}) para un tiempo dado. Estas concentraciones están relacionadas como indica la siguiente ecuación (Ec. 3.1):

$$DV = Y_{pred} + \text{error residual} \quad (3.1)$$

Donde el error residual es la diferencia entre la concentración observada y la predicha por el modelo, una vez considerados los efectos fijos y aleatorios. En otras palabras, es la variabilidad de los datos que no puede ser explicada por el modelo estructural ni por las diferencias entre los individuos, y que por lo tanto se atribuye principalmente a errores clínicos o bioanalíticos. Este error puede modelarse de distintas formas, según cómo se comporta la variabilidad en los datos experimentales. Los modelos más comunes son el aditivo, el proporcional y el combinado.

En el MRA, el objetivo es encontrar relaciones estadísticas entre las concentraciones observadas y las métricas farmacocinéticas de interés. Por esta razón, en este enfoque se utiliza la DV, ya que corresponde a los datos que efectivamente se obtendrán en el estudio clínico. En cambio, en el enfoque basado en modelos se emplea la DV como entrada del modelo NLME para estimar los parámetros farmacocinéticos y generar las predicciones de concentración. Estas predicciones pueden utilizarse posteriormente para calcular las métricas farmacocinéticas con mayor precisión.

Objetivos

El objetivo del presente trabajo es evaluar y comparar LSS dentro del marco de diseño óptimo de un estudio de bioequivalencia en paralelo, orientado a caracterizar el rendimiento relativo de dos formulaciones que contienen VPA en un contexto clínico estandarizado.

Metodología

Las concentraciones de VPA ($n_{\text{muestras}} = 448$) de un estudio de biodisponibilidad relativa en dosis única, que comparó los medicamentos Valcote® (Referencia) y Di-DPA® (Test), fueron utilizados para desarrollar un modelo NLME y predecir el desempeño relativo entre las formulaciones en estado estacionario mediante un enfoque basado en modelos [10]. Este modelo permitió generar perfiles de concentración en función del tiempo utilizando un intervalo de simulación de 0,5 horas, a partir de los cuales se calcularon las métricas farmacocinéticas de referencia. Estas métricas de referencia se emplearon para validar las LSS evaluadas. De este modo, fue posible optimizar el diseño de muestreo para garantizar estimaciones confiables de las métricas farmacocinéticas con un número reducido de observaciones por sujeto.

Simulaciones basadas en el modelo farmacocinético poblacional

El modelo previamente desarrollado se utilizó para generar los perfiles farmacocinéticos ($n_{\text{sujetos}} = 200$, 50% para cada formulación) de la predicción (Y_{pred}) y de la variable dependiente (DV) tras la administración de 500 mg de VPA cada 12 horas, utilizando Simulix (Monolix Suites® 2024R1, Simulation Plus) con un intervalo de simulación de 0,5 horas, excluyendo los periodos correspondientes al sueño nocturno de los voluntarios. Este conjunto de datos se utilizó para desarrollar y evaluar los métodos de muestreo limitado propuestos.

Se calcularon la C_{max} , la C_{min} y el AUC, para las primeras 48 h postdosis única y para 12 h postdosis en estado estacionario, para cada sujeto y formulación simulados, utilizando RStudio [11]. Además, se calculó el PTF en el estado estacionario, usando la Ec. 3.2.

$$PTF = \frac{(C_{\text{max}} - C_{\text{min}}) \times \tau}{AUC_0^\tau} \quad (3.2)$$

El τ representa el intervalo interdosis y AUC_0^τ el área bajo la curva concentraciones en función del tiempo entre los tiempos cero y τ .

Posteriormente, se simuló otro conjunto de perfiles farmacocinéticos ($n_{\text{sujeitos}} = 50$, 50% para cada formulación), en las mismas condiciones de administración del fármaco que el conjunto anterior, pero con el diseño óptimo de muestreo limitado determinado, para predecir el resultado de un estudio de bioequivalencia en estado estacionario.

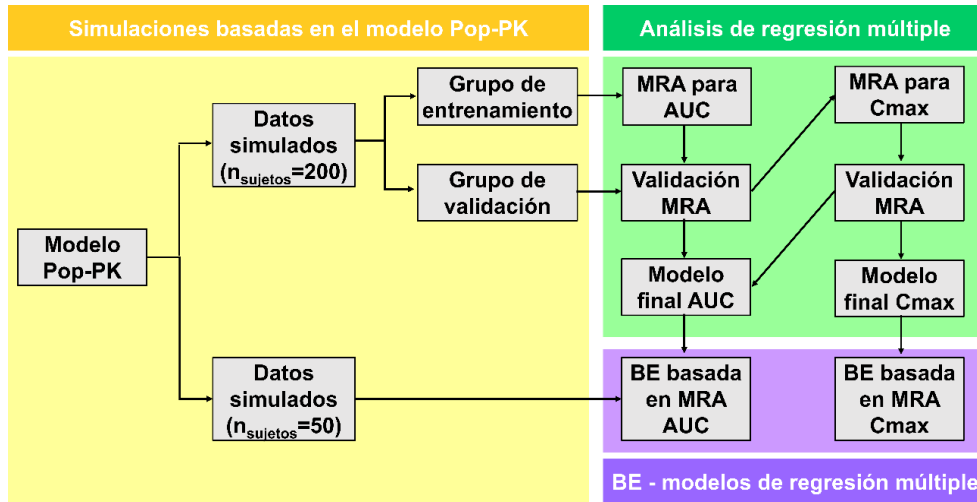
Análisis de regresión múltiple

El primer conjunto de datos simulados ($n_{\text{sujeitos}} = 200$), descrito en la sección anterior, se dividió en un grupo de entrenamiento (75%) y un grupo de validación (25%), para desarrollar y evaluar el MRA en la determinación de las métricas de interés para cada formulación. El flujo de trabajo utilizado para el escenario de dosis única se describe en la Figura 3.1. De manera independiente, se aplicó un flujo de trabajo análogo para el escenario de estado estacionario, incluyendo el MRA para la concentración mínima.

Se simularon un total de cuarenta concentraciones plasmáticas entre 0 y 48 h postdosis (con un intervalo de 0,5 h, excluyendo las horas de descanso de los voluntarios) para estimar el AUC tras una dosis única, y veinticinco concentraciones plasmáticas entre 0 y 12 h postdosis (con un intervalo de 0,5 h) para estimar el AUC en estado estacionario. Se establecieron combinaciones de tres concentraciones, que fueron incorporadas en la siguiente ecuación (Ec. 3.3):

$$AUC = A_0 + A_1xC_1 + A_2xC_2 + A_3xC_3 \quad (3.3)$$

Figura 3.1 Flujo de trabajo metodológico implementado en el análisis de regresión múltiple



Área amarilla: simulaciones basadas en modelos farmacocinéticos poblacionales (Pop-PK). Área verde: análisis de regresión múltiple (MRA) para el área bajo la curva de concentración versus tiempo (AUC) y la concentración máxima (Cmax). Área violeta: evaluación de bioequivalencia (BE) basada en modelos de regresión múltiple.

Para cada ecuación, se calcularon el error porcentual medio (MPE,) el error absoluto medio (MAPE) y el error cuadrático medio relativo (rRMSE) de acuerdo con las siguientes ecuaciones (Ec. 3.4, Ec. 3.5 y Ec. 3.6):

$$MPE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{y_i - \hat{y}_i}{\hat{y}_i} \quad (3.4)$$

$$MAPE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|y_i - \hat{y}_i|}{\hat{y}_i} \quad (3.5)$$

$$rRMSE(\%) = \sqrt{\frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i)^2}} \quad (3.6)$$

Las ecuaciones de regresión múltiple se clasificaron en función de los indicadores de desempeño del AUC para seleccionar los tiempos de muestreo óptimos para el MRA de C_{\max} (tanto en dosis única como en estado estacionario) y C_{\min} (en estado estacionario). Para estas métricas, se establecieron combinaciones de dos concentraciones, que fueron incorporadas en la siguiente ecuación (Ec. 3.7):

$$C = B_0 + B_1 x C_1 + B_2 x C_2 \quad (3.7)$$

Los modelos finales de regresión múltiple fueron seleccionados considerando los indicadores de desempeño de C_{\max} y C_{\min} , así como aspectos experimentales relacionados con la conveniencia de los tiempos de muestreo en la práctica clínica. Posteriormente, se utilizaron estos modelos para predecir los resultados de bioequivalencia de un estudio en paralelo.

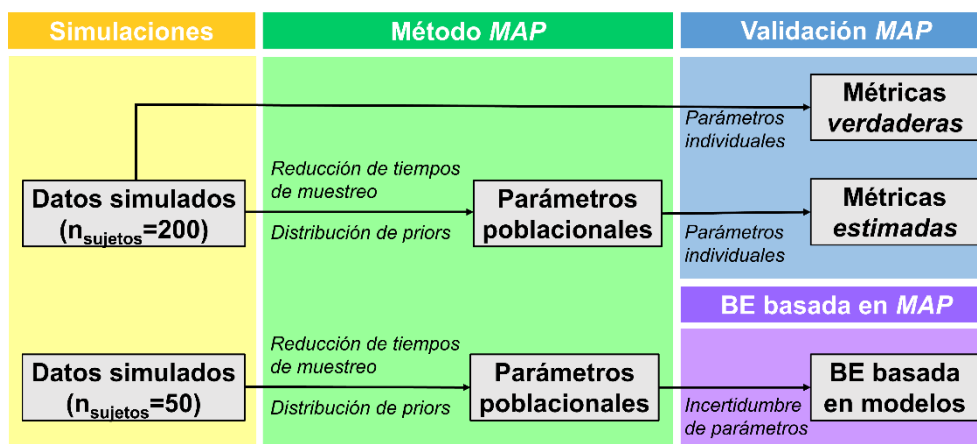
Análisis basado en modelos

Se evaluaron cuatro esquemas distintos de reducción de tiempos de muestreo para el primer conjunto de datos simulados ($n_{\text{sujetos}} = 200$):

- i) Esquema 1: todos los sujetos comparten los mismos tiempos de muestreo, que coinciden con los tiempos del MRA.
- ii) Esquema 2: cada sujeto tiene un diseño de muestreo diferente, establecido de manera aleatoria, con dos tiempos de muestreos en la fase de absorción y un tiempo de muestreo en la fase de disposición.
- iii) Esquema 3: cada sujeto tiene un diseño de muestreo diferente, establecido de manera aleatoria, con un tiempo de muestreo en la fase de absorción y dos tiempos de muestreos en la fase de disposición.
- iv) Esquema 4: cada sujeto tiene un diseño de muestreo diferente, establecido de manera completamente aleatoria.

Los diferentes conjuntos de datos generados tras la reducción de tiempos de muestreo se integraron al modelo poblacional previamente desarrollado. Dicho modelo partió de los parámetros poblacionales estimados a partir de los datos *in vivo*. A continuación, mediante la opción de estimación por “máximo *a posteriori*” implementada en Monolix®, se reestimaron los parámetros poblacionales y se obtuvieron los parámetros individuales para cada sujeto bajo cada esquema de reducción de tiempos de muestreo. Posteriormente, estos parámetros individuales fueron utilizados en Simulx® para simular perfiles continuos de concentración en función del tiempo y calcular las métricas farmacocinéticas de exposición de interés, tal como se ilustra en la Figura 3.2.

Figura 3.2 Flujo de trabajo metodológico implementado en el enfoque basado en modelos



Área amarilla: simulaciones basadas en modelos farmacocinéticos poblacionales. Área verde: enfoque basado en modelos máximo a posteriori (MAP). Área azul: validación del enfoque bayesiano máximo a posteriori. Área violeta: evaluación de bioequivalencia (BE) basada en modelos, tras aplicar el enfoque bayesiano máximo a posteriori.

La elección del mejor esquema de reducción de tiempos de muestreo se basó en la comparación de los errores de estimación de los parámetros farmacocinéticos y en el análisis de los indicadores de desempeño (Ec. 3.4, Ec. 3.5 y Ec. 3.6) para las métricas de interés entre los distintos esquemas evaluados. Finalmente, también se consideraron aspectos prácticos relacionados con el diseño del ensayo de bioequivalencia.

Evaluación de bioequivalencia

Se empleó el paquete *PowerTOST* de RStudio para estimar el tamaño de muestra necesario para concluir bioequivalencia con una potencia del 80% en un estudio con diseño en paralelo [12]. Las funciones de este paquete determinan la variabilidad total esperada en un estudio en paralelo, considerando la variabilidad inter e intraindividual observadas en el estudio de bioequivalencia cruzado y compensado. Para este cálculo, se asumió que los pacientes bajo tratamiento con VPA presentan una variabilidad similar a la de los voluntarios sanos participantes del estudio de bioequivalencia. Sin embargo, sería esperable observar una variabilidad mayor en los pacientes debido a la heterogeneidad de esta población. Se determinó que el tamaño de muestra requerido entre los grupos de las dos formulaciones es de 50 sujetos, bajo la suposición de un

coeficiente de variación total del 24% en AUC, donde se espera obtener un cociente de medias geométricas Test/Referencia cercano a 0,95.

De acuerdo con el valor anterior, se simuló un diseño de estudio en paralelo tras dosis única y en estado estacionario, en pacientes ($n_{\text{sujetos}} = 50$, 50% para cada formulación) bajo tratamiento con 500 mg de VPA cada 12 horas, según se detalló en el apartado “Simulaciones basadas en el modelo farmacocinético poblacional”. Esta simulación se empleó para evaluar las LSS previamente desarrolladas, contrastando su capacidad de reproducir los resultados del estudio de bioequivalencia en dosis única. Asimismo, se utilizó esta simulación para proyectar la evaluación de bioequivalencia en estado estacionario.

Los IC90 del cociente de medias geométricas T/R, para evaluar la biodisponibilidad relativa entre formulaciones, fueron calculados a partir de las métricas derivadas de las LSS. El análisis de bioequivalencia de las métricas obtenidas mediante MRA se realizó utilizando las Ec. 3.8 y Ec. 3.9. En cambio, para las métricas derivadas del enfoque basado en modelos, se aplicó el método MBBE desarrollado en el Capítulo 2.

$$IC90\% = e^{\left[\ln(\overline{T}) - \ln(\overline{R}) \pm t_{0.10}^{n_T+n_R-2} x S_p x \sqrt{\frac{n_T+n_R}{n_T x n_R}} \right]} \quad (3.8)$$

$$S_p = \frac{(n_T-1)xS_T + (n_R-1)xS_R}{n_T + n_R - 2} \quad (3.9)$$

Donde $\ln(\overline{T})$ y $\ln(\overline{R})$ son las medias geométricas de la formulación Test y Referencia, respectivamente; n_T y n_R representan el número de sujetos de la formulación Test y Referencia, respectivamente; $t_{0.10}^{n_T+n_R-2}$ es el estadístico de la distribución de Student para $\alpha=0.10$ y $n_T + n_R - 2$ grados de libertad; S_T y S_R son las desviaciones estándar de la formulación Test y Referencia, respectivamente. El IC90 observado *in vivo*, y obtenido por el enfoque NCA-ANOVA, fue usado como referencia para evaluar la aplicación de los métodos de muestreo limitado en estudios de bioequivalencia.

Resultados

Análisis de regresión múltiple

Los perfiles de la variable dependiente del conjunto de datos de entrenamiento ($n_{\text{sujetos}} = 150$, 50% para cada formulación) se utilizaron para identificar los tiempos de muestreo más informativos. Se emplearon tres muestras para estimar el AUC y dos para estimar C_{max} (en dosis única y en estado estacionario) y C_{min} (en estado estacionario). Para el AUC, se generaron 9139 combinaciones (C_{40}^3) para el escenario de dosis única y 2300 (C_{25}^3) para el estado estacionario, lo que dio lugar al mismo número de ecuaciones de regresión lineal múltiple para cada caso. Posteriormente, se calcularon los indicadores de desempeño de cada ecuación, utilizando las fórmulas descritas en las Ec. 3.4 Ec. 3.5 y Ec. 3.6, para seleccionar las ecuaciones de regresión lineal múltiple más veraces y precisas.

Las ecuaciones candidatas fueron ordenadas de manera creciente según los valores de sus indicadores de desempeño, y de forma decreciente según su valor del coeficiente de determinación (r^2). Se consideraron aceptables aquellas con un valor MPE próximo a cero, un valor MAPE menor al 6%, un valor de rRMSE menor al 8% y un r^2 mayor a 0,8. A partir de este criterio, las 9139 ecuaciones iniciales para estimar el AUC en el escenario de dosis única se redujeron a 6 para Referencia y 10 para Test. De manera análoga, las 2300 ecuaciones iniciales del estado estacionario se redujeron a 6 para Referencia y 15 para Test.

Las ecuaciones lineales múltiples seleccionadas para AUC se emplearon posteriormente en la determinación de los tiempos de muestreo óptimos para estimar las respectivas ecuaciones para C_{max} y C_{min} , de manera que los mismos tres tiempos seleccionados permitieran estimar simultáneamente las tres métricas. Al aumentar el número de puntos de muestreo de uno a dos, se observó un incremento del r^2 entre un 3% y un 22%, independientemente de la formulación y del escenario (dosis única o estado estacionario). Estos resultados sugieren que, para lograr una precisión aceptable en la estimación de C_{max} y C_{min} , son necesarios al menos dos tiempos de muestreo. La única excepción fue la formulación Referencia tras una dosis única, donde el incremento fue mínimo (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Indicadores de desempeño de las ecuaciones de regresión lineal múltiple con 1, 2 y 3 tiempos de muestreo.

Métrica	Muestras	MPE (%)	MAPE (%)	rRMSE (%)	r^2
<i>C_{max}_{R-SD}</i>	1	-1,5	9,2	11	0,723
	2	-0,89	9,0	11	0,726
	3	-0,50	9,1	11	0,740
<i>C_{max}_{T-SD}</i>	1	-0,64	14	16	0,585
	2	-1,2	9,8	11	0,785
	3	-1,3	10	12	0,782
<i>C_{max}_{R-SS}</i>	1	-5,1	11	12	0,637
	2	-4,1	7,7	11	0,785
	3	-3,0	7,2	10	0,821
<i>C_{max}_{T-SS}</i>	1	0,06	10	13	0,756
	2	0,80	7,2	8,8	0,879
	3	-1,4	7,2	8,2	0,906
<i>C_{min}_{R-SS}</i>	1	-1,9	16	19	0,774
	2	-1,5	8,4	10	0,898
	3	-1,8	7,9	11	0,904
<i>C_{min}_{T-SS}</i>	1	0,97	13	16	0,752
	2	-3,3	9,9	13	0,883
	3	-2,1	8,1	9,9	0,900

Abreviaturas. C_{max}: concentración máxima; C_{min}: concentración mínima; R: formulación Referencia; T: formulación Test; SD: dosis única (single dose); SS: estado estacionario (steady state); MPE: error porcentual medio; MAPE: error porcentual absoluto medio; rRMSE: error cuadrático medio relativo; r²: coeficiente de determinación.

Para la estimación de C_{max} tras una dosis única se seleccionaron 6 ecuaciones de regresión múltiple para Referencia y 3 para Test. En el estado estacionario se obtuvieron 10 ecuaciones para cada formulación, tanto para C_{max} como para C_{min}. El criterio final de selección buscó privilegiar concentraciones obtenidas en momentos clínicamente convenientes y reducir el intervalo de permanencia de los voluntarios en el centro clínico. Las ecuaciones finales para cada métrica se presentan en el Anexo III. Los resultados de la validación del MRA se resumen en la Tabla 3.2, mientras que la Figura 3.3 muestra la correlación entre las

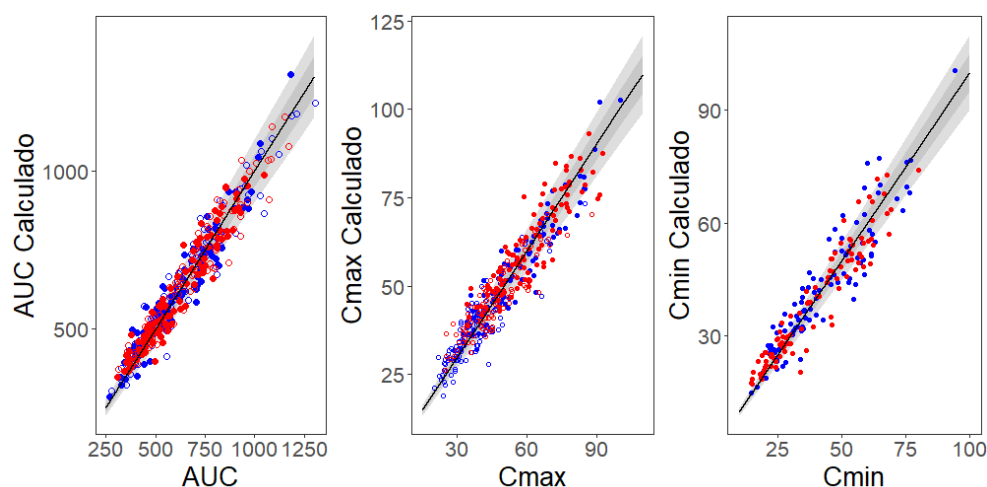
métricas derivadas del muestreo intensivo y las obtenidas mediante los modelos de regresión múltiple desarrollados.

Tabla 3.2 Validación de las ecuaciones de regresión múltiple.

Métrica	Tiempos de muestreo (h)	MPE (%)	MAPE (%)	rRMSE (%)	r²
<i>AUC_{R-SD}</i>	3,0; 9,5; 33	-0,37	5,3	6,9	0,921
<i>AUC_{T-SD}</i>	3,0; 10,5; 36	-1,2	5,6	7,3	0,934
<i>Cmax_{R-SD}</i>	3,0	-1,5	9,2	11	0,723
<i>Cmax_{T-SD}</i>	3,0; 10,5	-1,2	9,8	12	0,785
<i>AUC_{R-SS}</i>	0; 1,5; 11	-1,8	5,6	7,4	0,918
<i>AUC_{T-SS}</i>	0; 4,0; 8,0	-1,4	5,5	6,9	0,918
<i>Cmax_{R-SS}</i>	0; 1,5	-4,1	7,7	11	0,785
<i>Cmax_{T-SS}</i>	4,0; 8,0	0,80	7,2	8,8	0,879
<i>Cmin_{R-SS}</i>	0; 11	-1,5	8,4	10	0,898
<i>Cmin_{T-SS}</i>	0; 8,0	-3,3	9,9	13	0,883

Abreviaturas: *AUC*: área bajo la curva de concentraciones en función del tiempo; *C_{max}*: concentración máxima; *C_{min}*: concentración mínima; *R*: formulación Referencia; *T*: formulación Test; *SD*: dosis única (single dose); *SS*: estado estacionario (steady state). *MPE*: error porcentual medio; *MAPE*: error porcentual absoluto medio; *rRMSE*: error cuadrático medio relativo; *r²*: coeficiente de determinación.

Figura 3.3 Correlación entre las métricas obtenidas con muestreo intenso y las calculadas con ecuaciones de regresión múltiple para todos los individuos simulados



Azul: formulación Test. Rojo: formulación Referencia. Círculos abiertos: dosis única. Círculos cerrados: estado estacionario. Línea continua: identidad. Área gris clara: intervalo de confianza 80%. Área gris oscura: intervalo de confianza 90%. AUC: área bajo la curva concentración-tiempo. C_{max} : concentración máxima. C_{min} : concentración mínima

Análisis basado en modelos no lineales de efectos mixtos

Se redujeron los tiempos de muestreo de los perfiles farmacocinéticos de la variable dependiente en el primer conjunto de datos simulados ($n_{\text{sujetos}} = 200$), según los cuatro esquemas propuestos. Para el esquema 1, los tiempos seleccionados son los resumidos en la Tabla 3.2, de acuerdo con el escenario y la formulación correspondiente. Para los esquemas 2 y 3, se definieron dos ventanas de muestreo separadas por el tiempo en el que se alcanza la concentración máxima (T_{max}): a las 4 horas posdosis para la formulación Referencia y a las 5 horas posdosis para la formulación Test. Finalmente, en el esquema 4 no se aplicó ninguna restricción en la selección de los tiempos de muestreo. Las tablas de datos resultantes de la reducción de los tiempos de muestreo se integraron al modelo PopPK, utilizando como *priors* los parámetros poblacionales previamente estimados a partir de los datos observados y aplicando el método “máximo *a posteriori*”. Dado que el modelo empleado incluye un número considerable de parámetros, su estimación a partir de solo tres muestras por sujeto no permite obtener valores poblacionales con un grado de

incertidumbre aceptable, particularmente para el aclaramiento intercompartimental y el volumen de distribución del compartimento periférico; por esta razón, estos parámetros se fijaron en los valores de sus respectivos *priors*. A continuación, se empleó la moda de los parámetros individuales estimados *a posteriori* para simular los perfiles farmacocinéticos con un muestreo extenso, y poder computar las métricas de interés para evaluar la capacidad del enfoque basado en modelos para el diseño óptimo de experimentos, tanto en dosis única como en estado estacionario.

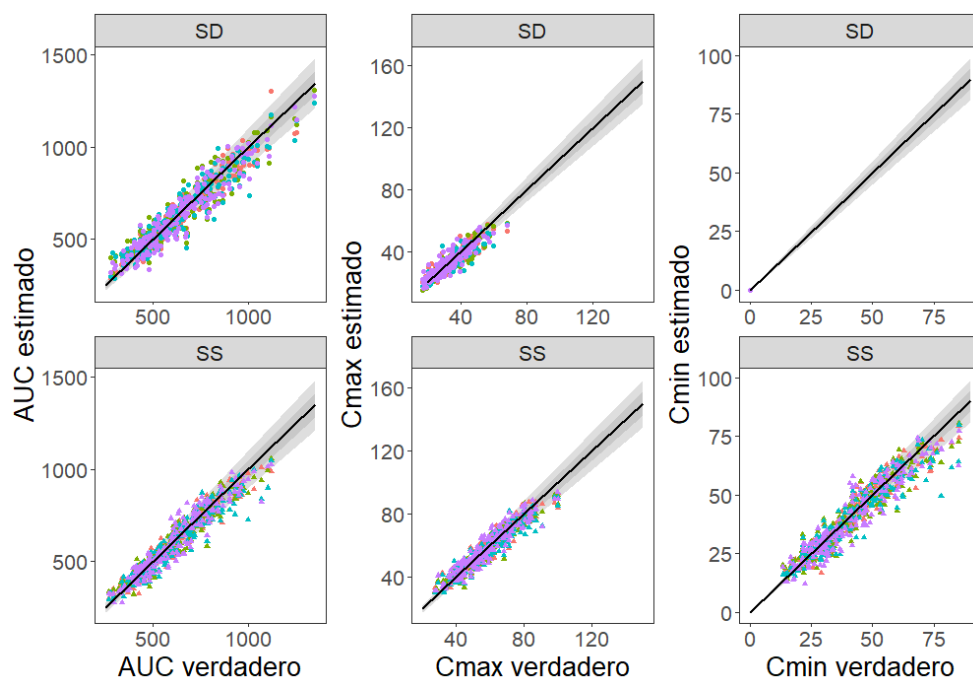
Los resultados de la validación del enfoque evaluado se presentan en la Tabla 3.3, mientras que en la Figura 3.4 se muestra la relación entre las métricas estimadas a partir de los muestreos limitados y aquellas obtenidas a partir de un muestreo extenso (verdaderas). Se aceptó que una diferencia porcentual menor al 20% entre ambas estimaciones es adecuada, especialmente considerando que los cálculos se realizaron con esquemas de muestreo reducido. Bajo este umbral, ningún esquema propuesto presentó más del 16% de diferencias que superaran el 20% en valor absoluto para las métricas evaluadas.

Tabla 3.3 Indicadores de desempeño del enfoque basado en modelos para los distintos esquemas de muestreo.

Esq	AUC			Cmax			Cmin		
	MPE (%)	MAPE (%)	rRMSE (%)	MPE (%)	MAP E (%)	rRMSE (%)	MPE (%)	MAPE (%)	rRMSE (%)
<i>Dosis única</i>									
1	0,08	6,07	7,52	1,34	8,88	11,5	-	-	-
2	1,46	9,36	12,0	-0,30	7,59	9,73	-	-	-
3	0,46	8,35	10,9	-1,59	8,08	10,7	-	-	-
4	-0,09	8,60	10,7	1,05	9,54	12,8	-	-	-
<i>Estado estacionario</i>									
1	-0,50	5,90	7,55	0,23	6,14	8,09	-1,33	8,75	11,1
2	-0,43	6,82	8,50	-0,15	6,66	8,30	-0,41	10,6	13,8
3	-1,83	6,65	8,36	-1,25	6,62	8,60	-1,88	9,84	12,6
4	-0,47	6,78	8,67	1,27	6,87	8,94	-0,47	11,1	14,5

Abreviaturas: AUC: área bajo la curva concentración en función del tiempo; Cmax: concentración máxima; Cmin: concentración mínima; MPE: error porcentual medio; MAPE: error porcentual absoluto medio; rRMSE: error cuadrático medio relativo.

Figura 3.4 Correlación entre las métricas verdaderas y las estimadas con el enfoque basado en modelos para todos los individuos



Rojo (esquema 1), verde (esquema 2), azul (esquema 3), violeta (esquema 4). SD: dosis única (single dose). SS: estado estacionario (steady state). Línea continua: identidad. Área gris clara: intervalo de confianza 80%. Área gris oscura: intervalo de confianza 90%. AUC: área bajo la curva concentración-tiempo. Cmax: concentración máxima. Cmin: concentración mínima

Se comparó la variabilidad de los indicadores de desempeño de las métricas de interés entre los distintos esquemas de reducción de tiempos de muestreo mediante un ANOVA, con el objetivo de determinar si existían diferencias significativas en sus desempeños. En el escenario de dosis única, los resultados de la prueba estadística mostraron evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (H_0 : no existen diferencias entre los grupos) con un nivel de significancia de 0,05, tanto para AUC como para la concentración máxima. Adicionalmente, se aplicó la prueba *Post-Hoc* de Tukey para comparar los indicadores de desempeño de AUC de los esquemas de forma pareada. Los resultados confirman que el esquema de muestreo 1 es estadísticamente diferente a los demás (p -valor < 0,001), presentando una media y desviación estándar menor para los errores de predicción absolutos y errores cuadráticos relativos. También se encontró evidencia estadística suficiente para afirmar que

el esquema 4 se diferencia del esquema 2 cuando se considera la C_{max} . En el estado estacionario, el análisis ANOVA reveló diferencias estadísticamente significativas en la C_{min} entre los distintos esquemas propuestos (p -valor < 0,05); cuando éstos se evaluaron de forma pareada, se verificó que existen diferencias significativas entre los esquemas 1 y 4. En el resto de las comparaciones no se halló evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula, dado que los intervalos de confianza del 95% para las diferencias de la media de los indicadores de desempeño incluyeron el cero. Si bien el esquema 1 mostró los mejores indicadores de desempeño, también presentó mayores errores en la estimación de parámetros (Tabla 3.4). Por este motivo, se seleccionó el esquema 4 para la evaluación y predicción de bioequivalencia.

Tabla 3.4 Parámetros estimados del modelo no lineal de efectos mixtos en estado estacionario

	Valor típico (RSE)				
	Priors	Esq. 1	Esq. 2	Esq. 3	Esq. 4
t_{lag} (h)	0,69 (19,0)	0,69 (inf)	0,69 (15,8)	0,68 (20,4)	0,69 (23,0)
k_a (h^{-1})	0,94 (26,1)	0,88 (inf)	0,85 (31,6)	0,85 (34,0)	0,97 (38,6)
$\beta_{ka_formulación}$	-1,11 (17,5)	-1,11 (199)	-1,14 (22,1)	-1,13 (199)	-1,14 (27,5)
$V_{central}$ (L)	96,8 (9,25)	100 (37,7)	99,7 (13,7)	101 (12,7)	98,7 (11,2)
CL (L/h)	5,69 (8,72)	5,23 (6,48)	5,31 (3,01)	5,38 (2,88)	5,23 (2,90)
β_{CL_sexo}	0,50 (20,4)	0,67 (5,49)	0,65 (5,00)	0,65 (4,95)	0,68 (4,82)
$\beta_{BD_formulación}$	-0,13 (33,3)	-0,13 (113)	-0,13 (50,3)	-0,13 (48,8)	-0,13 (47,9)
$IIV\ k_a$	31,2 (26,1)	31,4 (87,9)	31,4 (84,5)	31,4 (86,8)	31,4 (98,7)
$IIV\ V_{central}$	25,1 (21,9)	24,7 (67,9)	24,7 (57,4)	24,7 (65,1)	24,7 (58,2)
$IIV\ CL$	17,8 (20,1)	17,8 (8,00)	17,8 (8,28)	17,8 (8,23)	17,8 (8,40)

Abreviaturas: Priors: parámetros estimados a partir de todos los datos observados (previa reducción de los tiempos de muestreo). Abreviaciones: t_{lag} , tiempo de latencia para la formulación de liberación retardada; k_a , constante de absorción de primer orden para la formulación de liberación retardada; $\beta_{ka_formulación}$, efecto de la formulación de liberación prolongada en la k_a ; $V_{central}$, volumen aparente del compartimento central para las concentraciones libres; CL , aclaramiento aparente; β_{CL_sexo} , efecto del sexo en CL ; $\beta_{BD_formulación}$, efecto de la formulación de liberación prolongada en formulación; IIV , variabilidad interindividual. Los demás parámetros del modelo (Capítulo 2) no están incluidos porque fueron fijados a su valor estimado previamente.

Evaluación de bioequivalencia

En función de los resultados obtenidos, se generaron dos conjuntos de datos simulados ($n_{\text{sujetos}} = 50$) aplicando los esquemas de muestreo 1 y 4, para su análisis mediante MRA y el enfoque basado en modelos, respectivamente. El potencial de estas LSS para predecir los resultados de un estudio de bioequivalencia se evaluó contrastando las predicciones con los resultados observados *in vivo* en el estudio de bioequivalencia en dosis única, analizados bajo el enfoque tradicional.

El MRA logró reproducir los cocientes Test/Referencia, aunque los IC90 resultaron significativamente más estrechos que los obtenidos *in vivo*. En contraste, el enfoque basado en modelos permitió una mejor diferenciación entre las formulaciones a nivel de tendencia media, aumentando ligeramente la amplitud de los IC90. Este comportamiento podría atribuirse a la elevada incertidumbre en la estimación de las variabilidades interindividuales de los parámetros del modelo. No obstante, tanto las tendencias medias como los IC90 obtenidos con estas estrategias fueron similares a los observados *in vivo*, lo que confirma su capacidad para comparar el desempeño relativo de las formulaciones en un escenario de dosis única. La verificación de ambos enfoques se presenta en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5 Resultados del estudio de bioequivalencia en dosis única

	T/R AUC (IC90)	T/R Cmax (IC90)
<i>Análisis BE estándar</i>	0,967 (0,908 – 1,03)	0,791 (0,720 – 0,870)
<i>BE basada en regresiones lineales múltiples</i>	0,951 (0,928 – 0,986)	0,794 (0,778 – 0,810)
<i>BE basada en modelos con muestreo limitado</i>	0,897 (0,814 – 0,989)	0,763 (0,680 – 0,855)

Las predicciones para el escenario de dosis múltiples se presentan en la Tabla 3.6. La similitud entre los resultados obtenidos mediante estas estrategias y los derivados del método MBBE con un muestreo extenso (Capítulo 2) respalda el potencial predictivo del diseño óptimo de experimentos basado en LSS. No obstante, debido a errores en las predicciones en el MRA, el 7% de los valores

calculados de PTF para la formulación Test resultaron negativos, pudiendo afectar la exactitud del IC90 para esa métrica.

Tabla 3.6 Predicciones del estudio de bioequivalencia en estado estacionario

	T/R AUC (IC90)	T/R Cmax (IC90)	T/R PTF (IC90)
<i>BE basada en regresiones lineales múltiple</i>	0,977 (0,840 – 1,14)	0,877 (0,776 – 0,991)	0,530 (0,388 – 0,723)
<i>BE basada en modelos con muestreo limitado</i>	0,927 (0,844 – 1,02)	0,787 (0,717 – 0,862)	0,561 (0,403 – 0,755)

Discusión

En los últimos años, las teorías de diseño óptimo se han desarrollado e implementado como una estrategia para disminuir los costos éticos y económicos asociados a los estudios de bioequivalencia. Estas teorías permiten planificar experimentos que maximizan la eficiencia en la recolección de datos necesarios para caracterizar los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos del fármaco [13]. Los enfoques pueden orientarse a la optimización de los parámetros farmacocinéticos o de las métricas derivadas de ellos. Dentro del primer enfoque, uno de los criterios más utilizados es la D-optimalidad, que selecciona los tiempos de muestreo maximizando el determinante de la matriz de información de Fisher, calculada a partir del modelo NLME. De esta manera, los parámetros pueden ser estimados con la mayor precisión posible. Sin embargo, este criterio se basa en valores previos de los parámetros poblacionales para construir el diseño, por lo que su validez queda restringida a la exactitud de dichas estimaciones previas. Por ello, se lo denomina diseño óptimo local [14]. Por su parte, el MRA y el diseño óptimo basado en estimaciones *máximo a posteriori* para calcular las métricas farmacocinéticas suelen ser más intuitivos y fáciles de aplicar. Además, el diseño óptimo basado en la estimación *máximo a posteriori* de los parámetros poblacionales permite incorporar una medida de incertidumbre en sus valores dentro del proceso de optimización, dando lugar a un diseño óptimo global. En este trabajo se exploró

la utilización de estos enfoques como LSS para el diseño óptimo de estudios de bioequivalencia.

Los enfoques fueron evaluados a partir de sus indicadores de desempeño y, en el caso del MRA, también se consideró el coeficiente de determinación (r^2). Este coeficiente constituye un indicador clave que refleja el grado de correlación entre los valores predichos y los valores observados. Sin embargo, este valor solo refleja asociación y no proporciona información sobre el error o la precisión de la predicción [4]. Por su parte, los indicadores de desempeño son útiles para evaluar la exactitud de las predicciones. Entre ellos, el MPE permite identificar sesgos sistemáticos en las predicciones (valores positivos indican sobreestimación y negativos, subestimación); en contextos de modelado farmacocinético, valores dentro del rango $\pm 20\%$ suelen considerarse indicativos de un sesgo bajo [15, 16]. El MAPE cuantifica la exactitud promedio de las predicciones, sin tener en cuenta la dirección de su desviación. En farmacocinética, valores inferiores al 15 % suelen considerarse indicativos de una alta exactitud [17], aunque este indicador puede verse sesgado cuando los valores reales son cercanos a cero. Por su parte, el rRMSE cuantifica la magnitud y la dispersión de los errores en términos relativos, facilitando la comparación entre diferentes condiciones experimentales. Al elevar los errores al cuadrado antes de promediarlos, este indicador otorga un mayor peso a los errores de gran magnitud. Los valores inferiores al 10 % suelen indicar un desempeño excelente [18] y hasta un 20 % un desempeño aceptable para la mayoría de las aplicaciones.

Los resultados indican que tres tiempos de muestreo son suficientes para estimar las métricas farmacocinéticas de interés con una precisión adecuada. Las ecuaciones de regresión lineal múltiple con mejores indicadores de desempeño se aplicaron de manera efectiva para ambas formulaciones, tanto tras una dosis única como en estado estacionario. Tras dosis única, los tiempos de muestreo óptimos fueron muy similares entre las formulaciones. Sin embargo, en estado estacionario se requieren muestras una hora antes de la dosis, en predosis y a las 1,5 horas posdosis para la Referencia. De manera análoga, para la formulación Test se identificaron como óptimos los tiempos de predosis, 4 horas y 8 horas posdosis. El mayor tiempo de hospitalización requerido para este grupo

se alinea con las propiedades de liberación prolongada de esta formulación. Los tiempos de muestreo seleccionados son viables para su aplicación en un estudio *in vivo*; sin embargo, es fundamental que se respeten estrictamente para garantizar la validez del modelo de regresión múltiple desarrollado. Además, la población de pacientes incluida en un eventual estudio *in vivo* debería ser demográficamente comparable a la cohorte original de voluntarios sanos y presentar una farmacocinética del VPA no alterada.

Una alternativa al MRA es el enfoque basado en modelos, que utiliza la información poblacional previamente caracterizada (*priors*) junto con las concentraciones observadas de cada sujeto para estimar sus parámetros farmacocinéticos individuales. Este procedimiento, conocido como estimación *máxima a posteriori*, combina la distribución de los parámetros poblacionales con los datos individuales disponibles, obteniendo los valores más probables de los parámetros individuales incluso a partir de un número reducido de muestras [4]. Su principal ventaja es su capacidad de integrar concentraciones observada a cualquier tiempo de muestreo al modelo NLME, considerando además las diferencias demográficas entre los individuos [8]. Estas características convierten a este enfoque en una herramienta especialmente valiosa en situaciones donde desviaciones en los tiempos de muestreo dificultan la aplicación confiable de las ecuaciones de regresión lineal múltiple.

Se propusieron cuatro esquemas de muestreo: uno basado en los tiempos identificados como más informativos mediante el MRA, dos definidos por ventanas de muestreo centradas en el T_{max} de concentración de cada formulación, y uno completamente aleatorio. Aunque el enfoque basado en modelos permite estimar tanto parámetros poblacionales como individuales, en el contexto de este trabajo estas estimaciones no se utilizaron como indicadores del desempeño del método, ya que podrían no ser precisas ni exactas debido a que se obtuvieron a partir de un muestreo limitado. No obstante, en otras aplicaciones estas estimaciones sí podrían constituir indicadores relevantes.

En contextos de muestreo limitado, los parámetros pueden mostrar errores de estimación sin que esto afecte significativamente las métricas derivadas. No obstante, la aplicación del método MBBE (desarrollado en el Capítulo 2) requiere que los parámetros sean estimados con un nivel aceptable de incertidumbre.

Una estrategia para mitigar este problema consiste en fijar ciertos parámetros que se sabe presentan elevada incertidumbre en su estimación [19]. En este trabajo, se identificó que el volumen del compartimiento periférico y aclaramiento intercompartimental presentaban los mayores problemas de estimación. Por ello, se optó por fijar estos parámetros en sus valores *priors* poblacionales. Esta decisión no afecta la predicción de bioequivalencia en estado estacionario, ya que dichos parámetros no dependen de la formulación evaluada.

Los indicadores de desempeño se calcularon para las métricas farmacocinéticas, dado que estas constituyen las variables clínicas y regulatorias clave en los estudios *in vivo*. El análisis estadístico de estos indicadores muestra que el esquema 1 difiere significativamente del resto de los esquemas, mientras que también se observan diferencias significativas entre los esquemas 4 y 2. No se encontraron diferencias significativas entre los demás esquemas de muestreo. Considerando estos resultados y la incertidumbre asociada a la estimación de los parámetros, se seleccionó el esquema 4 como el más adecuado para predecir la bioequivalencia en estado estacionario.

La idoneidad de ambas estrategias para estimar los resultados de bioequivalencia tras dosis única fue verificada comparando las predicciones con los datos obtenidos en el estudio *in vivo*. Las métricas derivadas del MRA se evaluaron mediante el análisis tradicional estándar para estudios de bioequivalencia en paralelo. Este análisis logró capturar adecuadamente la tendencia media del cociente de medias geométricas, contribuyendo a una reducción en la variabilidad. Por su parte, el enfoque basado en modelos incorporó la incertidumbre en la estimación de los parámetros poblacionales para aplicar el método MBBE desarrollado en el Capítulo 2, adaptado al diseño de estudios en paralelo. Este enfoque permitió una mayor diferenciación entre las formulaciones, aunque predijo IC90 ligeramente más amplios. Estos resultados sugieren que el método MBBE es particularmente sensible a la elevada incertidumbre en la estimación de parámetros, lo que se refleja en una mayor dispersión de los valores simulados. Finalmente, las métricas farmacocinéticas estimadas en estado estacionario se utilizaron para predecir los resultados de un estudio de bioequivalencia con diseño paralelo, demostrando que los métodos

de muestreo limitado reproducen de manera consistente las predicciones del enfoque MBBE con un muestreo extenso.

Aunque los resultados obtenidos fueron prometedores, no se pueden descuidar las limitaciones que presenta este trabajo. Para empezar, en la determinación del tamaño de la muestra de pacientes se asumió que la variabilidad interindividual era similar a la observada en voluntarios sanos, lo que probablemente subestima la variabilidad real en la población clínica, donde influyen factores como comorbilidades, polimedicación y diferencias en la adherencia al tratamiento. Por lo tanto, el tamaño de la muestra debe interpretarse como un escenario conservador, sujeto a mayor variabilidad en condiciones reales. Además, los resultados dependen de la simulación utilizada para generar los datos iniciales, la cual incluyó el error residual en la predicción, pudiendo variar si se vuelve a simular la tabla de datos. Sin embargo, el uso de un tamaño de muestra suficientemente grande ayuda a minimizar esta variabilidad y refuerza la solidez de las conclusiones. En este contexto, futuras investigaciones podrían explorar la influencia de realizar réplicas de simulación, es decir, repetir la simulación con nuevos sujetos y sus concentraciones correspondientes, para evaluar cómo estas variaciones afectan las métricas farmacocinéticas y la optimización de los tiempos de muestreo.

Conclusiones

El diseño óptimo de experimentos mediante LSS constituye una alternativa viable para la evaluación de bioequivalencia, tanto tras la administración de una dosis única como en escenarios de dosis múltiples. Los métodos aplicados en este trabajo demostraron ser capaces de predecir las métricas farmacocinéticas con indicadores de desempeño aceptables. Además, estos enfoques permitieron replicar los resultados de un estudio de bioequivalencia en dosis única, incluso cuando el diseño del estudio simulado difería del realizado *in vivo*. En este contexto, las LSS evaluadas muestran un potencial prometedor para estimar la bioequivalencia en estado estacionario, aunque el desempeño de dichas estrategias debe interpretarse como una proyección condicionada por las características de la simulación y los supuestos del modelo.

Bibliografía

1. Mentré F, Mallet A, Baccar D (1997) Optimal Design in Random-Effects

Regression Models. *Biometrika* 84:429–442

2. Huang JH, Huang XH, Wang K, et al (2013) Bioequivalence evaluation of two formulations of pidotimod using a limited sampling strategy. *Biomed Pharmacother* 67:475–480. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2013.03.009>
3. Gauvin A, Pinguet F, Culine S, et al (2002) A limited-sampling strategy to estimate individual pharmacokinetic parameters of vinorelbine in elderly patients with advanced metastatic cancer. *Anticancer Drugs* 13:473–480. <https://doi.org/10.1097/00001813-200206000-00005>
4. Ting LSL, Villeneuve E, Ensom MHH (2006) Beyond cyclosporine: A systematic review of limited sampling strategies for other immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 28:419–430. <https://doi.org/10.1097/01.ftd.0000211810.19935.44>
5. Mahmood I (2000) Limited sampling model for the estimation of pharmacokinetic parameters in children. *Ther Drug Monit* 22:532–536. <https://doi.org/10.1097/00007691-200010000-00005>
6. Mahmood I (2003) A Bayesian Approach for the Estimation of Pharmacokinetic Parameters in Children. 92:88–92
7. Wicha SG, Mårtson AG, Nielsen EI, et al (2021) From Therapeutic Drug Monitoring to Model-Informed Precision Dosing for Antibiotics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 109:928–941
8. Franciscus Van Der Meer A, Marcus MAE, Touw DJ, et al (2011) Optimal Sampling Strategy Development Methodology Using Maximum A Posteriori Bayesian Estimation
9. van den Elsen SHJ, Sturkenboom MGG, Akkerman OW, et al (2019) Limited sampling strategies using linear regression and the Bayesian approach for therapeutic drug monitoring of moxifloxacin in tuberculosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 63:1–13. <https://doi.org/10.1128/AAC.00384-19>
10. Schiavo A, Fagiolino P, Vázquez M, et al (2024) Model-Based Bioequivalence Analysis to Assess and Predict the Relative Bioavailability

of Valproic Acid Formulations. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13318-024-00901-8>

11. R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org>
12. Lebes D, Schütz H, Lang B (2024) PowerTOST: Power and Sample Size for (Bio)Equivalence Studies
13. Ogungbenro K, Dokoumetzidis A, Aarons L (2009) Application of optimal design methodologies in clinical pharmacology experiments. *Pharm Stat* 8:239–252. <https://doi.org/10.1002/pst.354>
14. Atkinson AC, Chaloner K, Herzberg AM, Juritz J (1993) Optimum experimental designs for properties of a compartmental model. *Biometrics* 49:325–37
15. Pilinkiene V (2009) Forecasting Environment and Its Factors When Assessing the Competitive Market Demand. *Econ Manag* 878–883
16. Schatz LM, Brinkmann A, Röhr A, et al (2023) Systematic Evaluation of Pharmacokinetic Models for Model-Informed Precision Dosing of Meropenem in Critically Ill Patients Undergoing Continuous Renal Replacement Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 67:1–8. <https://doi.org/10.1128/aac.00104-23>
17. Barraclough KA, Isbel NM, Kirkpatrick CM, et al (2011) Evaluation of limited sampling methods for estimation of tacrolimus exposure in adult kidney transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol* 71:207–223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2010.03815.x>
18. Varela-Rey I, Bandín-Vilar E, Toja-Camba FJ, et al (2024) Artificial Intelligence and Machine Learning Applications to Pharmacokinetic Modeling and Dose Prediction of Antibiotics: A Scoping Review. *Antibiotics* 13:1–18. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121203>
19. Bonate PL (2011) Pharmacokinetic Pharmacodynamic Modeling and Simulation, 2nd ed. Springer, New York

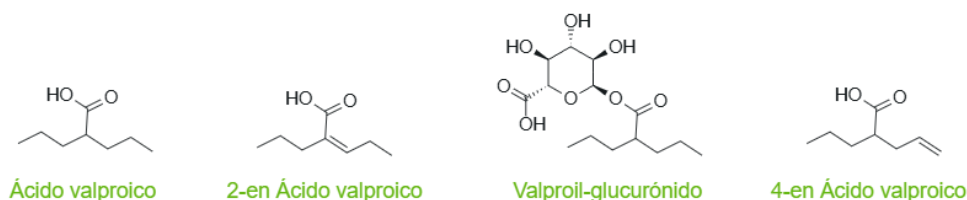
4. Modelo de Farmacología de Sistemas para caracterizar la hiperamonemia inducida por ácido valproico y los beneficios de suplementar con L-carnitina

La investigación descrita en el presente capítulo dio lugar a la publicación del artículo científico 1 del Listado de Publicaciones.

Introducción

El VPA, ácido graso ramificado de cadena corta, es ampliamente recetado para el tratamiento de la epilepsia, trastornos psiquiátricos y migraña [1]. La eliminación de este fármaco se da mayormente por metabolización hepática, siguiendo tres vías de biotransformación: glucuronidación (50%), β -oxidación mitocondrial facilitada por carnitina (40%) y ω -oxidación mediada por citocromo P450 (10%) [2]. El aclaramiento tiene una media poblacional de 6-20 mL/h/Kg, si bien varía con el sexo y con la edad del paciente [3–5]. Se conocen más de 50 metabolitos de este fármaco, algunos de los cuales conservan la actividad anticonvulsivante, mientras que otros son inactivos o tóxicos [6]. La Figura 4.1 ilustra la estructura molecular del VPA y sus principales metabolitos, siendo 2-en ácido valproico (2-en-VPA) el primer metabolito de la vía de la β -oxidación mitocondrial, valproil-glucurónido (VPA-GLU) el metabolito inactivo de la glucuronidación, y 4-en ácido valproico (4-en-VPA) uno de los metabolitos de la ω -oxidación y el mayor responsable de los efectos adversos asociados con el tratamiento con VPA.

Figura 4.1 Estructura molecular del ácido valproico y sus principales metabolitos



Altas exposiciones al fármaco, ya sea por terapia prolongada con dosis elevadas o por sobredosis aguda, pueden llevar a una depleción de carnitina, debido a la inhibición mediada por valproil-carnitina (VPA-CAR) del transportador de

caciones orgánicas/carnitina 2 (OCTN2) [7]. Esta situación puede llevar a un aumento en la ω -oxidación y en la consecuente exposición al metabolito tóxico 4-en-VPA, el cual inhibe el primer paso del ciclo de la urea [8]. En conjunto, estos efectos constituyen la base para el desarrollo de desórdenes lipídicos, hepatotoxicidad e hiperamonemia, principales efectos adversos reportados con el uso de VPA [9–11]. La posibilidad de presentar estos efectos adversos hace que el VPA sea considerado un fármaco de estrecho margen terapéutico, con un rango de concentraciones totales normales que generalmente varía entre 50 y 100 mg/L. Para garantizar una terapia segura y eficaz, se recomienda monitorizar regularmente las concentraciones del fármaco y efectuar ajustes de dosis individualizados [12].

En estudios previos, se identificó una correlación positiva entre la exposición a VPA y 4-en-VPA con los niveles de amonio en pacientes uruguayos bajo tratamiento con VPA [13, 14]. También se reportó un caso donde la administración de L-carnitina a un paciente epiléptico tratado con VPA redujo los niveles plasmáticos de amonio, VPA y 4-en-VPA, además de disminuir la relación metabólica 4-en-VPA/VPA [14]. En el ámbito clínico, se recomienda el uso empírico de la suplementación con L-carnitina (SC) para mitigar la hepatotoxicidad inducida por VPA [15–21]. En general, aunque la L-carnitina es considerada muy segura, la evidencia que respalda su eficacia para prevenir la hiperamonemia inducida por VPA y la depleción de carnitina sigue siendo limitada. Además, no existen estudios previos que hayan evaluado o propuesto un régimen de dosificación optimizado específicamente para abordar estas complicaciones de manera efectiva [22–24].

La QSP es una disciplina emergente de la farmacología que integra observaciones experimentales, datos teóricos de múltiples fuentes y herramientas computacionales para analizar las interacciones de un fármaco dentro de un sistema biológico [25]. El análisis de estas interacciones es fundamentalmente útil para describir mecanismos de acción complejos y la progresión de enfermedades, en especial cuando los fármacos afectan múltiples componentes de la red biológica. Al integrar información de varias fuentes, los modelos QSP contribuyen a mejorar la comprensión de los efectos terapéuticos y adversos de un fármaco a nivel molecular y sistémico. Además, permiten

diseñar estrategias terapéuticas seguras y efectivas, incluyendo la atención personalizada, y guían el desarrollo de nuevos medicamentos al identificar posibles dianas terapéuticas [26]. En ambos casos, la aplicación de modelos QSP aumenta la probabilidad de éxito, reduciendo los costos asociados al proceso [25].

El enfoque QSP es particularmente valioso para su aplicación en el estudio del VPA, debido a la complejidad de su mecanismo de eliminación y su interacción con múltiples componentes endógenos y procesos fisiológicos. El VPA presenta diversas vías metabólicas de eliminación, que no solo afectan la farmacocinética del fármaco, sino que también pueden desencadenar efectos adversos clínicamente relevantes. Como ya se mencionó antes, el metabolismo del VPA induce la depleción de carnitina, lo que interfiere con la beta-oxidación de ácidos grasos y afecta el ciclo de la urea a través de diferentes mecanismos. Este fenómeno está directamente relacionado con tres de los principales efectos adversos reportados para el fármaco: hiperamonemia, dislipemias y hepatotoxicidad. Además, la acumulación de amonio puede alterar los niveles de glutamina en el sistema nervioso central, favoreciendo la aparición de encefalopatías graves, que pueden manifestarse con convulsiones, coma e incluso la muerte [27, 28].

Dado que estos efectos adversos involucran múltiples sistemas fisiológicos interconectados, el enfoque QSP ofrece una herramienta poderosa para integrar información proveniente de distintas fuentes. Existen numerosos estudios que han caracterizado individualmente diversas partes de este sistema, desde la disposición farmacocinética del fármaco y sus metabolitos, hasta los mecanismos de toxicidad asociados a su uso. La fortaleza del modelizado QSP radica en su capacidad para combinar estos conocimientos fragmentados en un marco cuantitativo coherente, facilitando una comprensión más profunda de la relación entre la farmacocinética de VPA, sus interacciones metabólicas y los eventos adversos que pueden surgir en distintos grupos de pacientes. El desarrollo de este tipo de modelos requiere un esfuerzo significativo para identificar los componentes y las interacciones clave que deben incluirse para cumplir con los objetivos del modelizado. En esta parte del trabajo el enfoque estará en caracterizar la hiperamonemia inducida por VPA en población adulta,

no considerando las diferencias asociadas al sexo en los componentes endógenos, tanto en tratamientos crónicos como en casos de sobredosis de VPA.

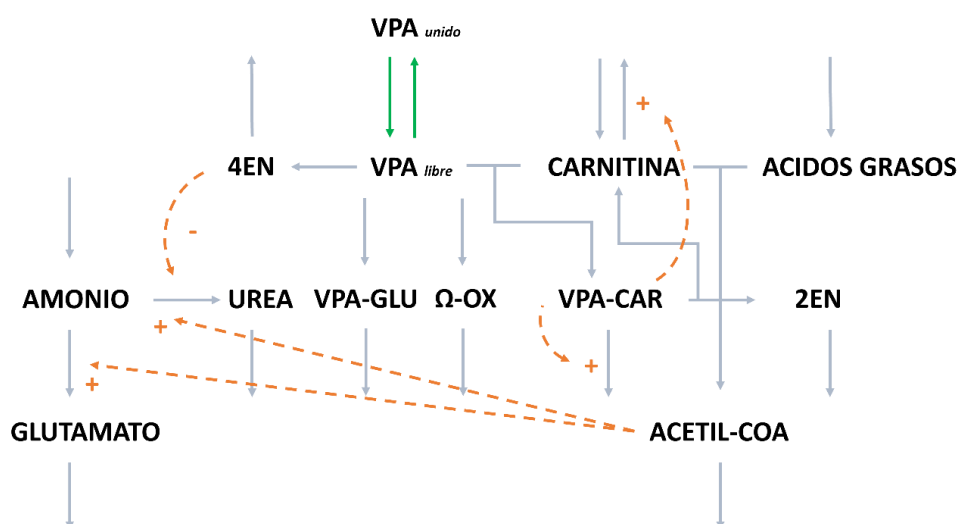
Objetivos

El objetivo del trabajo es desarrollar un modelo QSP capaz de caracterizar la hiperamonemia inducida por VPA y evaluar los beneficios de la SC para prevenir la hiperamonemia, tanto en tratamientos crónicos como en casos de sobredosis de VPA en población adulta.

Metodología

La red de componentes del modelo QSP, que se presenta en la Figura 4.2, puede considerarse como una plataforma compuesta por dos módulos. En primer lugar, se desarrolla un modelo NLME para describir la farmacocinética poblacional de VPA, incluyendo su unión saturable a proteínas plasmáticas. Este modelo, que caracteriza las concentraciones totales y libres de VPA en plasma tras la administración intravenosa y oral de diferentes dosis, se integra con una estructura mecánica QSP que describe la interacción de los metabolitos de VPA con las vías metabólicas de la carnitina y el amonio. En la Figura 4.3 se presenta un diagrama de flujo con los pasos seguidos en este trabajo.

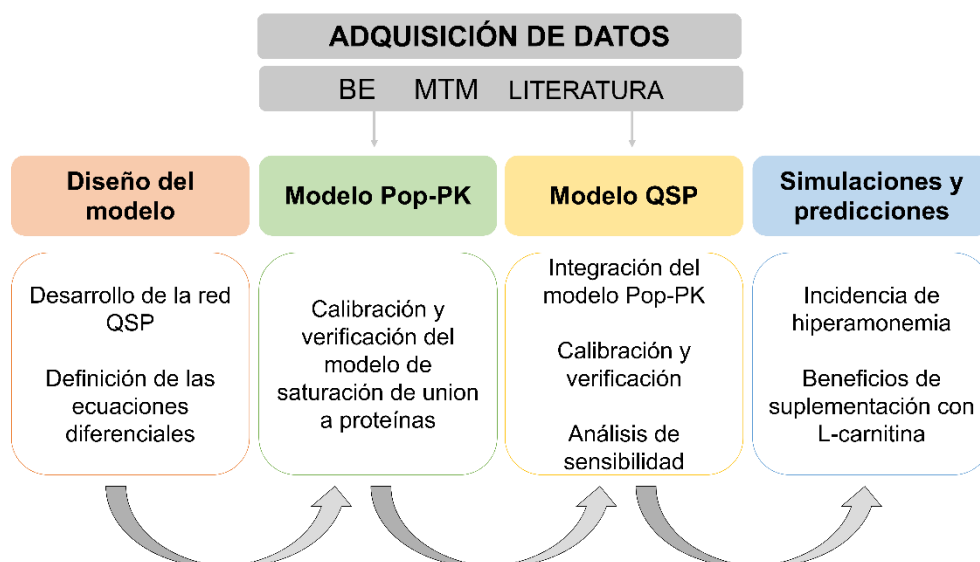
Figura 4.2 Red de farmacología de sistemas



Las flechas verdes representan la unión saturable a proteínas plasmáticas. Las flechas naranjas discontinuas representan procesos de inducción (+) e inhibición (-). Las flechas grises muestran la relación entre los elementos del modelo QSP. VPA: ácido valproico.

4EN: 4-en-VPA. VPA-GLU: valproil-glucurónido. Ω -OX: conjunto de metabolitos formados por ω -oxidación. VPA-CAR: valproil-carnitina. 2EN: 2-en-VPA. Ácidos grasos: conjunto de ácidos grasos que sufren β -oxidación.

Figura 4.3 Diagrama de flujo que describe los pasos seguidos en el desarrollo y aplicación del modelo



BE y MTM corresponden al estudio de bioequivalencia y a los datos de monitoreo terapéutico de medicamentos utilizados en el desarrollo del modelo, respectivamente. Pop-PK: farmacocinético poblacional. QSP: Farmacología de sistemas.

Adquisición de datos

El modelo PopPK de VPA integrado en el modelo QSP es el mismo descrito en el Capítulo 2 de esta Tesis. El modelo incorpora una descripción de saturación en la unión a proteínas plasmáticas, lo que permite caracterizar tanto las concentraciones libres como las unidas del fármaco, ofreciendo una representación detallada y mecanística de su farmacocinética.

La incidencia de hiperamonemia inducida por VPA fue estudiada en 28 pacientes (13 mujeres y 15 hombres) con una edad promedio de 46 años, tratados con monoterapia del fármaco. Todos los pacientes acudieron al Servicio de Monitoreo Terapéutico de Medicamentos del Hospital Universitario Dr. Manuel Quintela (Universidad de la República, Montevideo, Uruguay) en la mañana, después de un periodo nocturno de ayuno. Se determinaron las concentraciones plasmáticas totales de VÄ, carnitina y amonio [13]. El protocolo del estudio, junto con el consentimiento informado, fueron diseñados conforme a las pautas éticas para

investigaciones en humanos y aprobados por el Comité de Ética en Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Química de la Universidad de la República. Todos los participantes de los estudios recibieron un folleto con los detalles del protocolo y firmaron el consentimiento informado antes de su inclusión.

También se utilizaron datos reportados de diferentes fuentes para el desarrollo del modelo QSP. Cuando fue necesario, se digitalizaron gráficos obtenidos de la bibliografía utilizando la herramienta WebPlotDigitizer versión 4.6 [29].

Modelo de farmacología de sistemas

El modelo QSP, que caracteriza el impacto de las concentraciones plasmáticas libres de VPA en los niveles plasmáticos de amonio y carnitina, fue desarrollado utilizando la herramienta de simulación Simulx del software MonolixSuite® 2021R2. El análisis de datos y la generación de gráficos se realizaron en RStudio, empleando los paquetes de R dplyr y ggplot2 [30, 31].

La red del modelo QSP refleja los cambios en las concentraciones libres y totales de VPA, así como concentraciones totales de los metabolitos clave: VPA-GLU, 4-en-VPA, VPA-CAR y 2-en-VPA. También incluye sustancias endógenas como carnitina, amonio, ácidos grasos, acetil-CoA, glutamato y urea. Todas las concentraciones se expresaron en micromolar, y los cambios en los niveles de los distintos componentes fueron descritos mediante un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias.

Se asumieron procesos cinéticos de primer orden para la biotransformación de un compuesto en otro. Se utilizaron cinéticas de segundo orden para describir las velocidades de reacción de biotransformación que involucran dos reactivos. La variabilidad interindividual se incluyó en los parámetros farmacocinéticos de disposición de la carnitina, según lo reportado por Harper et al. [32], asumiendo una distribución log-normal. La masa corporal fue considerada en la estimación del volumen de distribución de carnitina, amonio y urea. En todos los demás parámetros se utilizaron únicamente valores poblacionales típicos, debido a la ausencia de suficiente información reportada.

La estimulación mediada por acetil-CoA de la biotransformación de amonio a urea y glutamato, así como la inhibición mediada por 4-en-VPA de la conversión de amonio a urea, fueron descritas con cinética de primer orden. Por otro lado,

el aumento mediado por VPA-CAR en su propia eliminación y en la eliminación de carnitina a través de la inhibición de la reabsorción renal se incorporó mediante la estimulación de una variable moduladora no medida, denominada S, con un valor basal arbitrario de 1. El efecto de VPA-CAR sobre S se describió utilizando un modelo de efecto máximo que estimula la formación de S, según la siguiente ecuación (Ec. 4.1):

$$\frac{dS}{dt} = k_{in_S} \times \left(1 + \frac{E_{max} \times [VPA-CAR]}{C_{50} + [VPA-CAR]} \right) - k_{out_S} \times [S] \quad (4.1)$$

Donde [VPA-CAR] representa la cantidad de VPA-CAR, k_{in} y k_{out} son las constantes de formación y pérdida de S, respectivamente. E_{max} es la máxima estimulación posible y C_{50} es la cantidad de VPA-CAR a la que se alcanza la mitad del efecto máximo (E_{max}). Se asumió que k_{in} y k_{out} son iguales a 1.

Estimación de parámetros

La primera suposición realizada fue que las concentraciones plasmáticas libres de los componentes del sistema eran iguales a sus concentraciones intracelulares libres. Aunque este supuesto debería eliminarse de manera definitiva del paradigma farmacocinético actual [33, 34], se decidió conservarlo, dado que su influencia en los resultados se limita a modificar la magnitud del efecto a nivel tisular (considerando que el sistema permanece constante en cuanto a las cantidades que se distribuyen a los diferentes tejidos). Además, la concentración plasmática libre del fármaco tras el aumento de la dosis se estimó a partir de una relación empírica descrita en la bibliografía [35], que vincula la concentración libre con la concentración total de VPA (Capítulo 2).

La formación de los principales metabolitos 4-en-VPA, VPA-GLU y VPA-CAR se estableció según las fracciones correspondientes del metabolismo de VPA. El aclaramiento de 4-en-VPA se estimó mediante el algoritmo de Aproximación Estocástica de Maximización de Expectativa (SAEM) en Monolix, utilizando datos reportados de VPA y sus metabolitos en estado estacionario [36] mediante un enfoque secuencial (es decir, fijando todos los demás parámetros del modelo). Para ello, se asumió que la fracción libre de 4-en-VPA era igual a la fracción libre del fármaco, y se seleccionaron los valores iniciales suponiendo un aclaramiento igual al de VPA. La constante de velocidad de formación de 2-en-

VPA reportada por Addison et al. no generó buenos resultados, subestimando considerablemente los niveles plasmáticos reportados. En cambio, se asumió que esta magnitud era igual a la constante velocidad de formación de su metabolito 3-oxo-VPA, ya que se reporta que la eliminación de 2-en-VPA es más rápida que su formación. Este valor se optimizó de forma iterativa en el modelo para simular con mayor precisión las concentraciones plasmáticas medias reportadas. La disposición de los metabolitos se modeló utilizando modelos monocompartimentales, asumiendo el mismo volumen de distribución que el VPA, excepto para el 4-en-VPA, que se representó con un modelo bicompartimental. Para este metabolito se asumió el mismo volumen para los compartimentos central y periférico, así como el aclaramiento de distribución del VPA.

Se implementaron los parámetros farmacocinéticos de un modelo bicompartimental reportado tras estudiar la disposición de carnitina en seis mujeres tras administraciones intravenosas de 2 y 6 g [32]. Para caracterizar la absorción oral de carnitina, se asumió una biodisponibilidad completa y una constante de absorción de primer orden de $0,8 \text{ h}^{-1}$ para una formulación en solución [37]. Además, la velocidad de formación diaria de carnitina endógena para un sujeto típico (70 kg) se obtuvo de Hug et al. [38]. Los parámetros E_{\max} y C_{50} de la Ecuación 4.1 se derivaron utilizando reportes sobre la depleción de carnitina bajo tratamientos con VPA [39, 40].

Se ha documentado una amplia variación en los niveles plasmáticos de amonio entre diferentes poblaciones, así como en los rangos de valores normales, lo cual se atribuye al uso de diversas metodologías analíticas entre distintos laboratorios. [41]. En este trabajo, se siguieron las pautas del laboratorio del Hospital de Clínicas para definir $35 \mu\text{M}$ (aproximadamente $60 \mu\text{g/dL}$) como el valor promedio basal de amonio en sujetos sanos, coincidiendo con los niveles medios reportados por otros autores [9]. El volumen de distribución y la velocidad de formación diaria de amonio endógeno se obtuvieron de Córdoba et al. [42]. Los parámetros relacionados con la eliminación de amonio se ajustaron para reproducir los niveles basales y el aumento mediado por VPA reportado en la literatura [9]. Se asumió que la eliminación de amonio conduce a la formación de urea y glutamato, con una modulación positiva mediada por acetil-CoA. Por otro

lado, la conversión de amonio a urea es inhibida adicionalmente por el metabolito 4-en-VPA.

El nivel basal de urea se definió utilizando el rango normal reportado en adultos sanos (1.8–7.1 mmol/L) [43]. Además, se estableció que el volumen de distribución fuese igual al reportado para el amonio y similar al agua corporal total según Hosten et al. [43]. En este sentido, se asumió que toda la formación de urea proviene de la biotransformación del amonio. Tras definir los parámetros relacionados con la eliminación de amonio, se ajustó la constante de eliminación de urea de primer orden para obtener simulaciones con valores similares a los reportados.

Finalmente, se estudiaron los cambios relativos en los ácidos grasos, acetil-CoA y glutamato, asignando a cada uno un valor basal de 1 debido a la falta de información específica en la literatura y dado que la magnitud absoluta de estos compuestos no afecta directamente las conclusiones del trabajo. Es importante destacar que, en la formación de acetil-CoA, se consideró a la carnitina como el reactivo limitante, por lo que este proceso resultó cuantitativamente independiente de los ácidos grasos disponibles.

Análisis de sensibilidad

Se realizó un análisis de sensibilidad local en Rstudio (versión 3.6.3), utilizando el paquete “sensitivity” [44] para identificar los parámetros del modelo QSP con mayor influencia en las concentraciones simuladas de VPA, carnitina y amonio. Se calcularon las métricas C_{max} , C_{min} y AUC utilizando los valores originales de los parámetros y con variaciones de $\pm 20\%$. La sensibilidad de una métrica a un parámetro se estimó mediante el cociente entre el cambio relativo de la métrica y la variación relativa del parámetro según la siguiente ecuación (Ec. 4.2):

$$Sensibilidad = \frac{\Delta métrica}{\Delta parámetro} \times \frac{parámetro}{métrica} \quad (4.2)$$

Una sensibilidad de 0 implica que la métrica no se ve afectada por cambios en el valor del parámetro. Una sensibilidad de 1 indica una correlación positiva perfecta, mientras que una sensibilidad de -1 refleja una correlación negativa perfecta. Se consideró significativa una sensibilidad absoluta mayor a 0.30.

Simulaciones y predicciones del modelo

Se realizó una simulación inicial para evaluar los cambios inducidos por VPA en los componentes de la red tras un tratamiento de 500 mg cada 12 horas utilizando la formulación de liberación retardada definida en el Capítulo 2 [45]. Para verificar el modelo de saturación de unión a proteínas plasmáticas, se compararon las concentraciones plasmáticas libres y totales de VPA predichas con las observadas *in vivo* [39, 40].

La capacidad predictiva del modelo para describir las concentraciones plasmáticas totales de VPA después de dosis únicas y múltiples se evaluó utilizando observaciones individuales *in vivo* tras administraciones de 900 mg y 1000 mg cada 12 horas con una formulación de liberación retardada [46]. También se realizó una simulación de tratamiento con VPA de 200 mg cada 12 horas para comparar las concentraciones predichas del fármaco y sus metabolitos con las observaciones *in vivo* reportadas por Addison et al. [36].

Según las pautas utilizadas por el laboratorio clínico del Hospital Universitario, se definió hiperamonemia como niveles de amonio en plasma superiores a 55 μM (94 $\mu\text{g/dL}$) en la estimación de la incidencia de esta toxicidad inducida por VPA. Dado que la incidencia de la hiperamonemia inducida por VPA depende de la dosis, los trabajos disponibles muestran una alta dispersión y no reportan la posología del fármaco a nivel individual. Por lo tanto, para evaluar la capacidad predictiva del modelo QSP respecto a esta variable, se utilizaron datos individuales previamente obtenidos [13] de 28 pacientes uruguayos, agrupados según sus dosis diarias totales: <1000 mg ($n=13$), ~1000 mg ($n=3$), ~1500 mg ($n=10$), >1500 mg ($n=2$). Se calculó una incidencia ponderada de hiperamonemia para comparar las predicciones basadas en el modelo QSP con la incidencia reportada en esta población, utilizando la siguiente ecuación:

$$HA_{ponderada} = \frac{\sum n \times HA}{N} \quad (4.3)$$

Donde $HA_{ponderada}$ representa la incidencia ponderada de hiperamonemia, n el número de pacientes de cada grupo, y HA la incidencia simulada de hiperamonemia en cada grupo de N pacientes. Luego, la incidencia ponderada de hiperamonemia se comparó con la incidencia observada.

El beneficio de la SC en tratamientos crónicos con VPA se evaluó comparando los niveles de amonio y VPA libre en estado estacionario para distintas combinaciones de dosis diarias de VPA (0,5, 1, 2 g) y L-carnitina (0, 1, 2 y 4 g). Por otro lado, se simularon dosis de rescate de L-carnitina administradas 2, 4, 6 y 8 horas después de una intoxicación aguda por VPA, según las directrices del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) de Uruguay. En este caso, se compararon los perfiles de amonio y carnitina para evaluar los beneficios de cada tratamiento.

Resultados

Modelo de farmacología de sistemas

El modelo QSP final incluye un conjunto de 17 ecuaciones diferenciales ordinarias que describen 12 elementos y 39 interacciones. Los valores de los parámetros se detallan en la Tabla 4.1, y todas las ecuaciones diferenciales se encuentran en el Anexo IV.

Tras integrar el modelo PopPK en la red QSP, las predicciones de VPA y sus metabolitos después de dosis únicas y múltiples se compararon con datos reportados, proporcionando una verificación del modelo farmacocinético del fármaco y sus metabolitos. La Figura 4.4 muestra la comparación gráfica entre las observaciones [36] y las simulaciones de VPA y sus metabolitos en estado estacionario en adultos, tras la administración de 200 mg de VPA cada 12 horas de una formulación de liberación retardada. Además, la Figura 4.5 compara las concentraciones basales predichas por el modelo con las observadas de carnitina y amonio en sujetos sin tratamiento con VPA, demostrando una capacidad aceptable del modelo QSP para describir las concentraciones medias y la variabilidad interindividual ambos compuestos endógenos.

Tabla 4.1 Parámetros del modelo

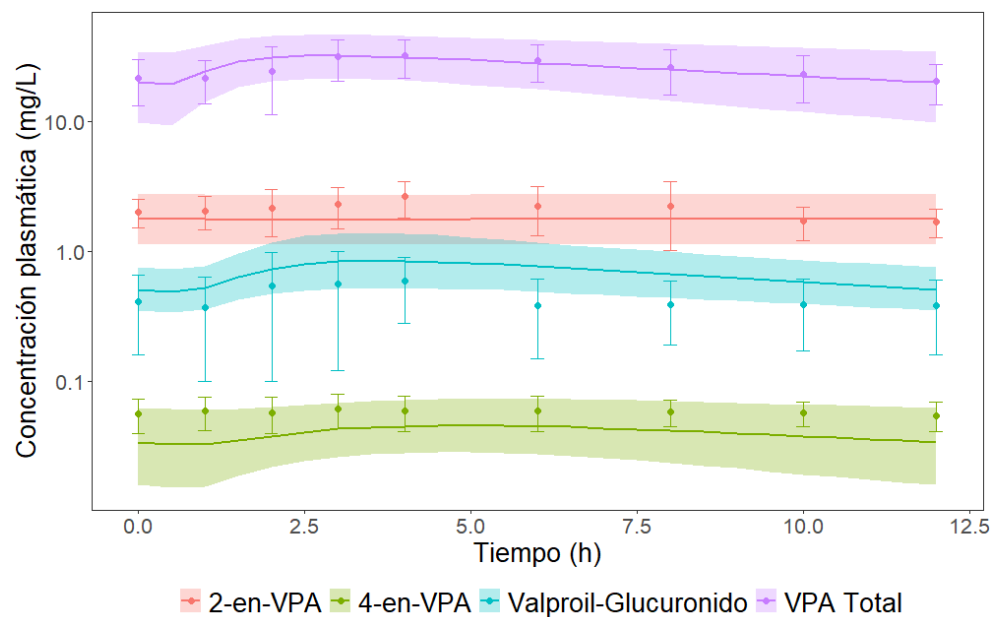
Parámetro	Definición	Valor	Referencia
$f_{VPA_4en_VPA}$	Fracción de VPA que se convierte en 4en-VPA	0,01	Addison et al., 2000
$f_{VPA_glucuronido}$	Fracción de VPA que se convierte en valproil-glucuronido	0,50	Ghodeke-Puranik et al, 2013

$f_{VPA_{\omega\text{-oxidación}}}$	Fracción de VPA que sufre ω -oxidación	0,09	
$\alpha_{VPA_{\beta\text{-oxidación}}}$	Constante de eliminación de VPA, dependiente de carnitina	0,00016 μmol^{-1}	Tal que la fracción de VPA que sufre β -oxidación, para niveles normales de carnitina, sea 40%
$\alpha_{4en_VPA_{\text{eliminación}}}$	Escala la eliminación de 4en-VPA usando la constante de eliminación de VPA	600 (1,97%) ^a	Estimado en Monolix según Addison et al., 2000
$CL_{VPA_glucurónido}$	Aclaramiento aparente de valproil-glucurónido	26,2 L/h (4,91%)	
k_{2en_VPA}	Constante de formación de 2en-VPA	0,027 h^{-1}	Addison et al., 2000
$k_{e_2en_VPA}$	Constante de eliminación de 2en-VPA	0,14 h^{-1}	
$k_{12_carnitina}$	Constante de transferencia de carnitina desde el compartimento central al periférico	0,468 h^{-1} (0,170)	Harper et al., 1988
$k_{10_carnitina}$	Constante de eliminación de carnitina	0,334 h^{-1} (0,155)	
$k_{21_carnitina}$	Constante de transferencia de carnitina desde el compartimento periférico al central	0,401 h^{-1} (0,065)	
$V_{c_carnitina}$	Volumen del compartimento central de carnitina	0,60×WT L	
$k_{a_carnitina}$	Constante de absorción de carnitina exógena	0,80 h^{-1}	Cao et al., 2009
$Ro_{carnitina}$	Constante de formación de carnitina endógena	1000 $\mu\text{mol/h}$	Tal que se arriben a niveles basales (Hug et al., 1991)
k_{e_VPACAR}	Constante de eliminación de valproil-carnitina	0,013 h^{-1}	Calculado para reproducir la depleción de carnitina inducida por VPA (Hug et al., 1991)
E_{max}	Máxima estimulación de depleción de carnitina y valproil-carnitina inducida por valproil-carnitina	2	

C_{50}	Cantidad de valproil-carnitina a la cual se arriba a la mitad de E_{max}	10000 μmol	
k_{in_S}	Velocidad de formación de la variable moduladora (S)	1 $\mu\text{mol/h}$	Se asume
k_{out_S}	Constante de eliminación de la variable moduladora	1 h^{-1}	
V_{d_amonio}	Volumen de distribución de amonio	0,60×WT L	Córdoba et al., 1996
Ro_{amonio}	Constante de formación de amonio endógeno	26000 $\mu\text{mol/h}$	
V_{d_urea}	Volumen de distribución de urea	0,60×WT L	Se asume igual a amonio
$k_{amonio_glutamato}$	Constante de eliminación de amonio que forma glutamato	0,720 h^{-1}	Calculado para reproducir el aumento de amonio inducido por VPA (Maldonado et al., 2016)
k_{amonio_urea}	Constante de eliminación de amonio que forma urea	0,432 h^{-1}	
$\alpha_{acetil_coA_amonio}$	Factor que aumenta la eliminación de amonio en función de acetil-CoA	15	
$\alpha_{4en_VPA_amonio}$	Factor que disminuye la eliminación de amonio en función de 4en-VPA	0,10	
$k_{e_ácidos_grasos}$	Constante de segundo orden de eliminación de ácidos grasos	0,00001 $(\mu\text{mol}\times\text{h})^{-1}$	Se asume igual velocidad que β -oxidación de VPA
$Ro_{ácidos_grasos}$	Velocidad de formación de ácidos grasos endógenos	0,026 $\mu\text{mol/h}$	Tal que los niveles basales sean 1 μM
k_{acetil_coA}	Constante de formación de acetil-CoA	0,00001 h^{-1}	
$k_{e_acetil_coA}$	Constante de eliminación de acetil-CoA	0,026 h^{-1}	
$k_{e_glutamato}$	Constante de eliminación de glutamato	15878 h^{-1}	
k_{e_urea}	Constante de eliminación de urea	0,045 h^{-1}	Tal que se arriben a niveles basales (Hosten et al., 1990)

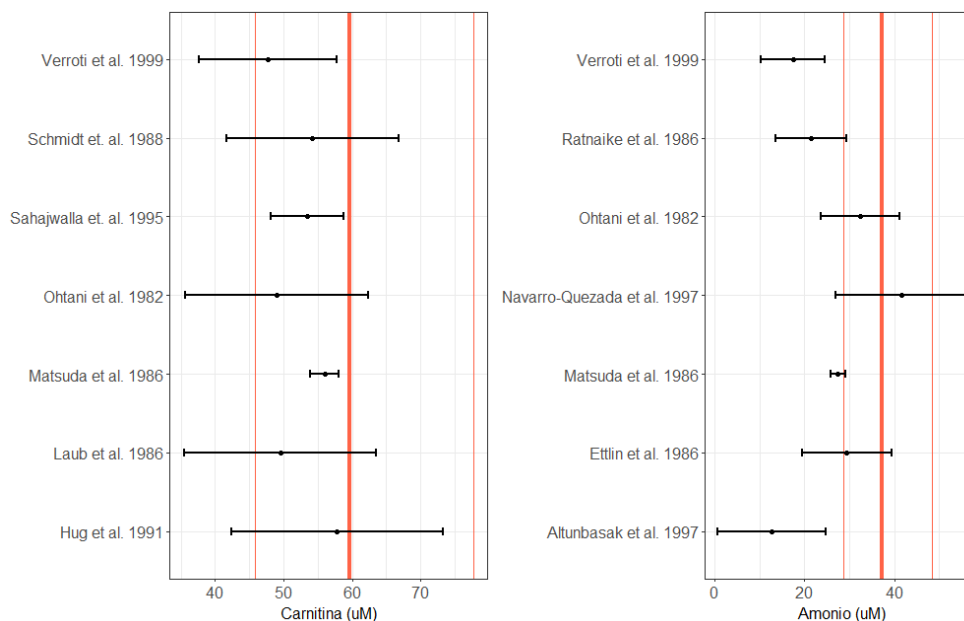
^a Error estándar relativo de la estimación del parámetro. ^b Variabilidad interindividual expresada como desviación estándar. VPA: ácido valproico

Figura 4.4 Concentraciones plasmáticas totales simuladas versus observadas en estado estacionario de ácido valproico y sus metabolitos tras la administración oral de 200 mg de ácido valproico cada 12 horas



Líneas: percentil 50% de las concentraciones simuladas para cada compuesto. Áreas sombreadas: percentiles 5% y 95% de las concentraciones simuladas para cada compuesto. Puntos y barras de error: media \pm desviación estándar observada [36]

Figura 4.5 Concentraciones basales simuladas versus observadas de carnitina y amonio en sujetos sin tratamiento con ácido valproico



Líneas rojas: percentiles simulados 5%, 50% y 95% (N=1000). Puntos y barras de error: media \pm error estándar reportado en cada estudio.

Análisis de sensibilidad

Los resultados del análisis de sensibilidad se resumen en la Tabla 4.2. El modelo QSP mostró robustez frente a cambios en los valores de los parámetros, ya que las variaciones en las métricas calculadas fueron plausibles y consistentes con las variaciones introducidas en la red. Las constantes de formación y eliminación de carnitina endógena influyen significativamente en los niveles de amonio en estado estacionario, correlacionando negativa y positivamente con las concentraciones de este, respectivamente. Estos resultados resaltan el impacto de la carnitina en los niveles de amonio. Además, se observó que un aumento en la velocidad de eliminación de acetil-CoA produce un incremento en los niveles de amonio.

Tabla 4.2 Resultados de análisis de sensibilidad

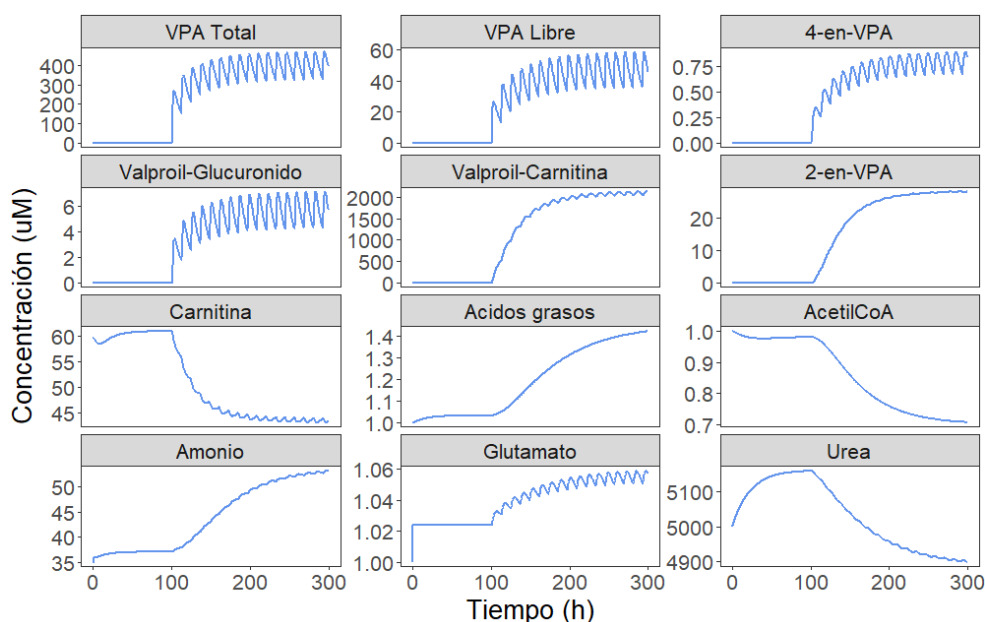
Parámetro	Valor de sensibilidad	
	AUC	Cmax
Parámetros significativos para carnitina		
$Ro_{carnitina}$	0.88	0.88
$k_{10_carnitina}$	-0.71	-0.71
Parámetros significativos para amonio		
Ro_{amonio}	1	1
$k_{amonio_glutamato}$	-0.54	-0.55
k_{amonio_urea}	-0.30	-0.30
$Ro_{carnitine}$	-0.77	-0.77
k_{acetil_coA}	-0.84	-0.84
$k_{e_acetil_coA}$	1.04	1.05
$k_{10_carnitina}$	0.89	0.89
$\alpha_{acetil_coA_amonio}$	-0.84	-0.84
Parámetros significativos para VPA libre		
CL_{VPA}	-0.81	-0.70
$f_{VPA_glucurónido}$	-0.50	-0.43
F	1.07	1.06
Parámetros significativos para VPA total		
B_{max}	0.86	0.86
CL_{VPA}	-0.56	-0.45
$f_{VPA_glucurónido}$	-0.34	-0.28
F	0.69	0.65

Abreviaturas: $Ro_{carnitina}$, velocidad de formación de carnitina endógena; $k_{10_carnitina}$, constante de eliminación desde el compartimiento central de carnitina; Ro_{amonio} , velocidad de formación de amonio endógeno; $k_{amonio_glutamato}$ y k_{amonio_urea} , constante de eliminación de amonio que forma glutamato y urea, respectivamente; k_{acetil_coA} y $k_{e_acetil_coA}$, constantes de formación y eliminación de acetil-CoA, respectivamente; $\alpha_{acetil_CoA_amonio}$, factor que aumenta la eliminación de amonio en función de acetil-CoA; CL_{VPA} , aclaramiento plasmático de ácido valproico; $f_{VPA_glucurónido}$, fracción de VPA que se convierte en valproil-glucurónido; F , biodisponibilidad de ácido valproico; B_{max} , máximo VPA unido a proteínas plasmáticas. VPA: ácido valproico.

Simulaciones y predicciones del modelo

Los cambios inducidos por el VPA en los valores medios de los componentes de la red se muestran en la Figura 4.6, que ilustra los valores basales hasta 100 horas, momento en el cual se introduce un tratamiento de 500 mg de VPA cada 12 horas usando la formulación de liberación retardada. Se observa un aumento en los niveles de amonio y ácidos grasos como resultado de la exposición al fármaco, debido a la disminución de carnitina y acetil-CoA. Por otro lado, se esperan cambios mínimos en los niveles de glutamato y urea.

Figura 4.6 Concentraciones simuladas para un paciente típico en función del tiempo para todos los componentes de la red del modelo después del inicio del tratamiento con ácido valproico (500 mg cada 12 horas) a las 100 horas



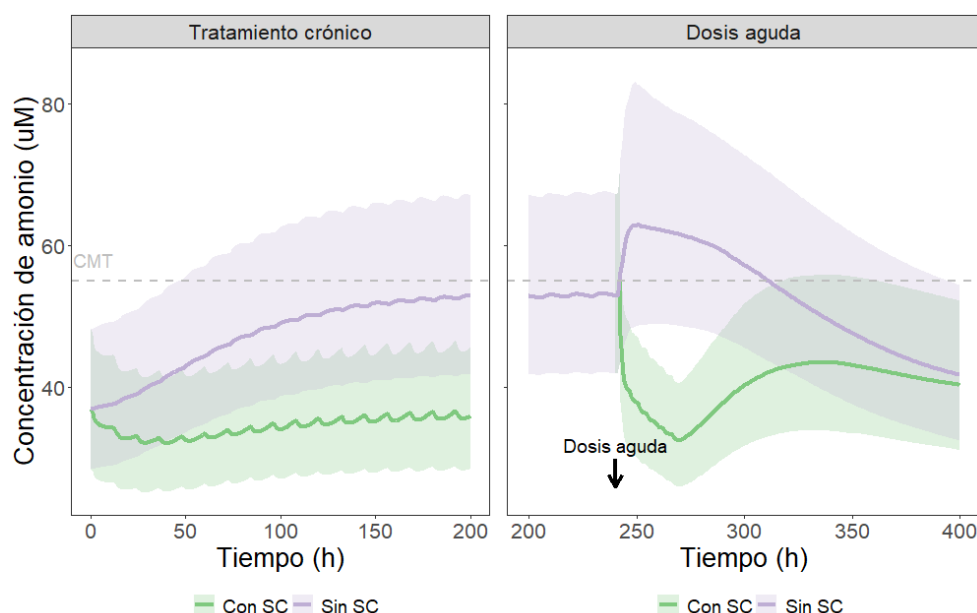
Las primeras 100 horas muestran los valores basales para cada variable.

El modelo QSP predice que la incidencia de hiperamonemia en una población virtual de 1000 sujetos aumenta en función del aumento de la dosis diaria de VPA. Específicamente, la incidencia de hiperamonemia simulada aumenta de 9% (500 mg diarios de VPA) a 89% (2000 mg diarios de VPA). Estos resultados se resumen en la Tabla 4.3. Además, la incidencia de hiperamonemia ponderada observada y simulada en pacientes uruguayos fue de 29% y 38%, respectivamente [13].

Tabla 4.3 Incidencia de hiperamonemia predicha por el modelo (N=1000)

Dosis diaria de ácido valproico (mg)	Incidencia de hiperamonemia (%)
500	9
1000	36
1500	67
2000	89

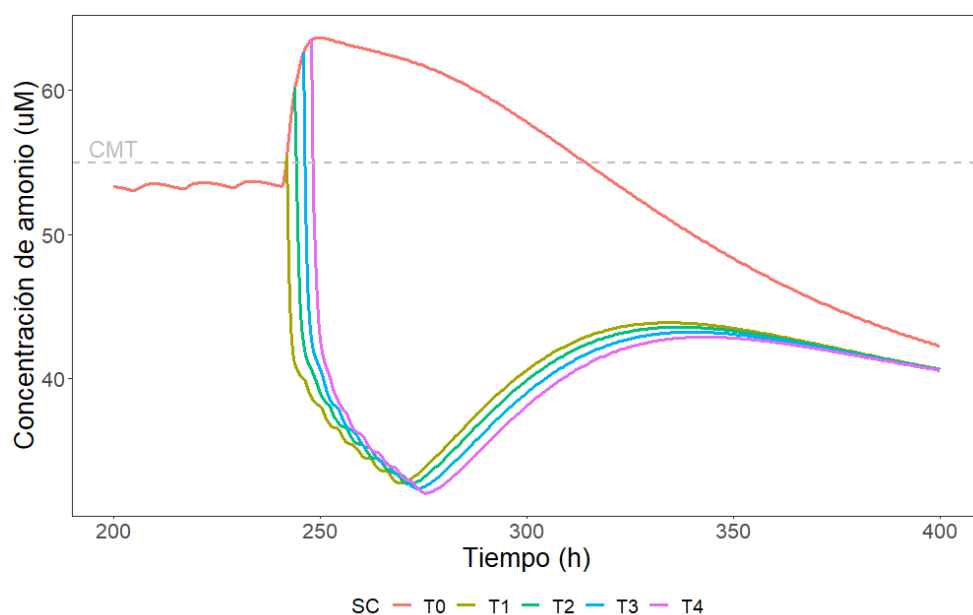
Figura 4.7 . Impacto de la suplementación con L-carnitina en las concentraciones simuladas de amonio durante el tratamiento crónico con ácido valproico y en casos de una ingesta aguda (sobredosis)



Líneas: percentil 50% de las concentraciones simuladas para amonio. Áreas sombreadas: percentiles 5% y 95% de las concentraciones simuladas para amonio. SC: suplementación con L-carnitina. Línea gris discontinua: concentración mínima tóxica (CMT) de amonio. Panel izquierdo: Concentraciones de amonio sin SC (violeta) y con coadministración de 1 g de L-carnitina cada 12 horas (verde) en pacientes bajo tratamiento con 500 mg de ácido valproico cada 12 horas. Panel derecho: Concentraciones de amonio en pacientes bajo tratamiento crónico con 500 mg de ácido valproico cada 12 horas que reciben una sobredosis aguda de 5000 mg a las 240 horas, sin tratamiento de rescate (violeta) y con tratamiento de rescate con L-carnitina (dosis de carga de 6 g seguida de 6 dosis de 1 g cada 4 horas) 2 horas después de la intoxicación (verde).

La Figura 4.7 resume la evaluación de la eficacia de la SC en la hiperamonemia inducida por VPA en dos escenarios: tratamiento crónico y sobredosis aguda de VPA. En el primer caso (500 mg cada 12 horas), la coadministración de 1 g cada 12 horas de L-carnitina previno el aumento de las concentraciones de amonio y redujo considerablemente la incidencia de hiperamonemia. En el segundo caso (sobredosis de 5000 mg), la administración intravenosa de 6 g de L-carnitina a las 2 horas de la sobredosis, seguida de 6 dosis de 1 g cada 4 horas, tuvo un impacto positivo en la reducción de las concentraciones de amonio. Retrasos en la dosis de rescate de hasta 8 horas en el tratamiento aún logran impactos positivos la duración de la hiperamonemia (Figura 4.8).

Figura 4.8 Efecto del tiempo de inicio del rescate con L-carnitina en las concentraciones de amonio de un paciente típico, tras una sobredosis aguda de ácido valproico

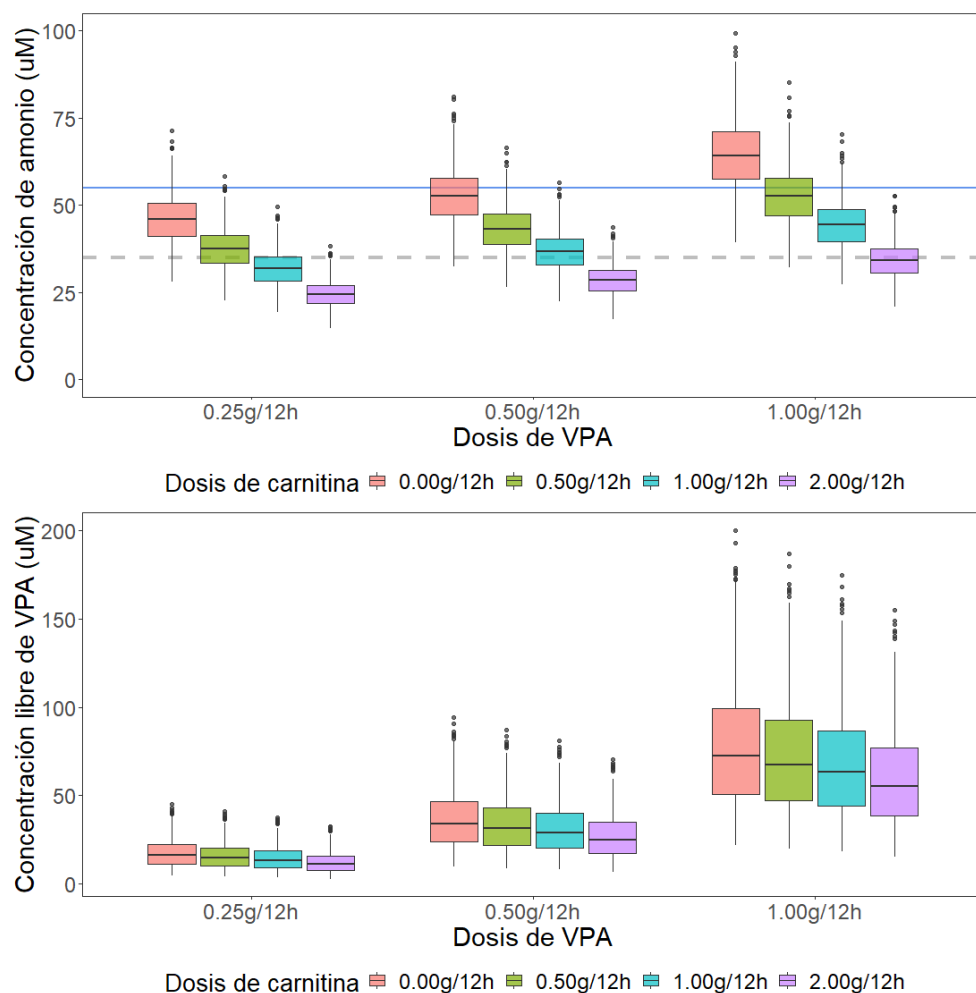


Se simula un tratamiento crónico con ácido valproico (500 mg cada 12 horas) y una ingesta aguda de 5000 mg del fármaco a las 240 horas de iniciado el tratamiento, el cual se suspende de inmediato. El rescate con L-carnitina consiste en una dosis de carga de 6 g, seguida de 6 dosis de 1 g cada 4 horas. El inicio varía según el tratamiento: 2 h (T1), 4 h (T2), 6 h (T3) y 8 h (T4) después de la sobredosis. T0 representa la ausencia de rescate con L-carnitina.

La Figura 4.9 presenta los diagramas de caja de las concentraciones plasmáticas simuladas a predosis en estado estacionario de amonio y VPA bajo diferentes

tratamientos con VPA y L-carnitina. En el panel superior se observa la relación entre la dosis diaria de VPA y las concentraciones de amonio, mostrando una alta incidencia de hiperamonemia en tratamientos de 1 g de VPA cada 12 horas si no hay SC. Más aun, se puede apreciar cómo la administración de L-carnitina puede prevenir el aumento de las concentraciones de amonio de manera dosis-dependiente. El panel inferior muestra que la SC puede reducir las concentraciones de VPA libre hasta un 30% en promedio.

Figura 4.9 Diagramas de cajas de las concentraciones plasmáticas simuladas a predosis en estado estacionario de amonio (arriba) y ácido valproico libre (abajo) bajo diferentes tratamientos con ácido valproico y L-carnitina



Línea discontinua gris: concentración basal de amonio (sin tratamiento con ácido valproico, 35 μ M). Línea azul: concentración mínima tóxica (55 μ M). VPA: ácido valproico.

Discusión

El modelo QSP desarrollado describe las principales interacciones responsables de la hiperamonemia inducida por VPA, un efecto adverso frecuente y de gran relevancia clínica, ya que puede ocasionar episodios graves como convulsiones y encefalopatías. Además, el modelo permite simular las concentraciones de amonio y carnitina resultantes tras la administración de diferentes dosis de VPA, considerando la variabilidad interindividual. También evalúa cuantitativamente el impacto de la SC en el tratamiento crónico y en casos de sobredosis. Este es el primer enfoque QSP para modelar la hiperamonemia inducida por VPA y su tratamiento.

Este modelo reproduce las concentraciones plasmáticas totales y libres de VPA, así como las de sus principales metabolitos (VPA-GLU, 2-en-VPA y 4-en-VPA), mostrando una similitud notable con los perfiles observados. Además, describe cuantitativamente los cambios inducidos por VPA en las concentraciones plasmáticas de amonio bajo diferentes regímenes de dosificación. Sin embargo, el modelo actual no incluye las diferencias relacionadas con el sexo en la disposición de amonio y carnitina, restringiendo la evaluación de su relevancia clínica.

Las predicciones basadas en el modelo QSP indican un efecto positivo al prevenir el aumento de las concentraciones de amonio en pacientes tratados con VPA y SC. Según estas predicciones, una dosis de L-carnitina equivalente al doble de la dosis de VPA, administrada en el mismo intervalo interdosis, mantendría los niveles de amonio cercanos al valor basal (35 μM). Como se observa en la Figura 4.9, para tratamientos con 250, 500 y 1000 mg de VPA cada 12 horas, la administración de 500, 1000 y 2000 mg de L-carnitina, respectivamente, en el mismo intervalo interdosis, es necesaria y suficiente para que la mayoría de los pacientes simulados presenten valores saludables de amonio. Además, el modelo predice resultados beneficiosos con el tratamiento de L-carnitina actualmente recomendado para la hiperamonemia tras una sobredosis de VPA. Estos resultados contribuyen a entender la efectividad de la SC, y aportan herramientas para la optimización de la dosis, algo fundamental ya que los estudios actuales sobre sus beneficios presentan resultados contradictorios y no existen recomendaciones de dosificación basadas en

evidencia. Dado que la carnitina interactúa en las vías metabólicas del VPA, se exploró su efecto en la exposición al fármaco. Aunque se observó una leve reducción en los niveles libres de VPA con dosis de hasta 1 g cada 12 horas de L-carnitina, duplicar esta dosis puede reducir dichos niveles hasta un 30% en promedio, en comparación con el grupo sin suplementación. Por esta razón, se recomienda realizar monitoreo terapéutico de VPA en pacientes que inician la SC para evitar exposiciones subterapéuticas.

El modelo QSP también permite estimar el tiempo necesario para que un paciente con hiperamonemia recupere niveles normales de amonio en plasma tras iniciar el régimen óptimo de SC. Los resultados indican que, para un paciente típico, sería necesario un período aproximado de 60 horas en caso de no indicar un rescate con L-carnitina. En relación con otros efectos mediados por VPA sobre compuestos endógenos, el modelo predice un aumento notable en los ácidos grasos, un efecto asociado con la esteatosis hepática, aunque sus mecanismos no están completamente aclarados [47, 48]. El modelo también anticipa que la SC puede prevenir este aumento, manteniendo los niveles de ácidos grasos en valores basales. Por otro lado, se predice un cambio mínimo en los niveles de urea y glutamato bajo tratamiento con VPA. Este trabajo no considera la conversión mediada por amonio de glutamato a glutamina, ambos potencialmente implicados en las convulsiones inducidas por VPA [49, 50]. La glutamina, al tener una vida media más prolongada que el glutamato, podría incrementarse significativamente en casos de hiperamonemia.

Este trabajo presenta la limitación de asumir que las concentraciones libres de VPA en el plasma son iguales a las del compartimento intracelular, donde ocurren las distintas reacciones. Esto puede ser incorrecto, ya que el fármaco se encuentra ionizado a pH fisiológico, es sustrato de diferentes transportadores de influjo y eflujo, haciendo que la partición del fármaco entre el espacio intravascular y extravascular sea más compleja de lo generalmente asumido [33]. Por lo tanto, el modelo puede no reflejar con precisión las interacciones complejas que ocurren en el interior de las células. En este sentido, los parámetros estimados en el modelo deben interpretarse como parámetros aparentes que conectan las concentraciones plasmáticas libres del VPA con las predicciones de los cambios en los niveles de los demás componentes del

sistema. La incorporación de información específica que describa el comportamiento intracelular del fármaco permitiría mejorar la precisión de las predicciones y una representación más detallada de estos procesos.

Algunos parámetros y niveles basales de varios compuestos fueron asumidos en ausencia de información disponible, como el volumen de distribución de la urea, que se asumió igual al volumen de distribución del amonio. Finalmente, los datos cuantitativos sobre el amonio en pacientes bajo tratamiento con VPA no fueron suficientes para evaluar completamente la capacidad del modelo QSP para predecir la hiperamonemia inducida por el fármaco en diferentes poblaciones. Investigaciones futuras deberían explorar el impacto del sexo, la edad y la formulación en la toxicidad inducida por VPA y en la eficacia del tratamiento con L-carnitina.

Conclusiones

Se desarrolló un modelo QSP que caracteriza la hiperamonemia inducida por VPA, verificando los elementos principales de la red. El modelo permite describir y predecir la evolución temporal de las concentraciones libres y totales de VPA tras dosis única y en estado estacionario, considerando la unión saturable a proteínas plasmáticas. Además, el modelo predice la eficacia de la SC para prevenir la hiperamonemia tanto en tratamientos crónicos como en casos de sobredosis de VPA. Este modelo podría ampliarse para describir otros eventos adversos relacionados con cambios en los compuestos endógenos en distintas poblaciones y bajo distintos tratamientos con VPA.

Bibliografía

1. Perucca E (2002) Pharmacological and therapeutic properties of valproate: A summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 16:695–714. <https://doi.org/10.2165/00023210-200216100-00004>
2. Ghodke-Puranik Y, Thorn CF, Lamba JK, et al (2013) Valproic acid pathway: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 23:236–241. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2>
3. Blanco Serrano B, García Sánchez MJ, Otero MJ, et al (1999) Valproate population pharmacokinetics in children. *J Clin Pharm Ther* 24:73–80. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.1999.00202.x>

4. Ibarra M, Vázquez M, Fagiolino P, Derendorf H (2013) Sex related differences on valproic acid pharmacokinetics after oral single dose. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. <https://doi.org/10.1007/s10928-013-9323-3>
5. Perucca E, Grimaldi R, Gatti G, et al (1984) Pharmacokinetics of valproic acid in the elderly. *Br J Clin Pharmacol*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1984.tb02401.x>
6. Abbott FS, Anari MR (1999) Chemistry and biotransformation. In: *Valproate*. Birkhäuser Basel, Basel, pp 47–75
7. Lheureux PER, Hantson P (2009) Carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity carnitine in VPA toxicity P.E.R. Lheureux and P. Hantson. *Clin. Toxicol*.
8. Silva MFB, Aires CCP, Luis PBM, et al (2008) Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: A review. *J Inherit Metab Dis* 31:205–216. <https://doi.org/10.1007/s10545-008-0841-x>
9. Chicharro A V., de Marinis AJ, Kanner AM (2007) The measurement of ammonia blood levels in patients taking valproic acid: Looking for problems where they do not exist? *Epilepsy Behav* 11:361–366. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2007.06.015>
10. Hoppel C (2003) The role of carnitine in normal and altered fatty acid metabolism. *Am J Kidney Dis* 41:S4–S12. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(03\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(03)00112-4)
11. Dreifuss FE, Santilli N, Langer DH, et al (1987) Valproic acid hepatic fatalities: A retrospective review. *Neurology* 37:379–385
12. Tseng YJ, Huang SY, Kuo CH, et al (2020) Safety range of free valproic acid serum concentration in adult patients. *PLoS One* 15:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238201>
13. Maldonado C, Guevara N, Queijo C, et al (2016) Carnitine and/or Acetylcarnitine Deficiency as a Cause of Higher Levels of Ammonia. *Biomed Res Int*. <https://doi.org/10.1155/2016/2920108>
14. Vázquez M, Fagiolino P, Maldonado C, et al (2014) Hyperammonemia

- associated with valproic acid concentrations. *Biomed Res Int* 2014:.
<https://doi.org/10.1155/2014/217269>
15. Bohan TP, Helton E, McDonald I, et al (2001) Effect of L-carnitine treatment for valproate-induced hepatotoxicity. *Neurology* 56:1405–1409.
<https://doi.org/10.1212/WNL.56.10.1405>
 16. Ciprian Țincu R (2017) FAVOURABLE RESULTS FOR L-CARNITINE USE IN VALPROIC ACID ACUTE POISONING
 17. Felker D, Lynn A, Wang S, Johnson DE (2014) Evidence for a potential protective effect of carnitine-pantothenic acid co-treatment on valproic acid-induced hepatotoxicity. *Expert Rev Clin Pharmacol* 7:211–218.
<https://doi.org/10.1586/17512433.2014.871202>
 18. Maldonado C, Guevara N, Silveira A, et al (2017) L-Carnitine supplementation to reverse hyperammonemia in a patient undergoing chronic valproic acid treatment: A case report. *J Int Med Res* 45:1268–1272. <https://doi.org/10.1177/0300060517703278>
 19. Glatstein M, Bonifacio Rino P, de Pinho S, et al (2019) Levocarnitine for the Treatment of Valproic Acid–Induced Hyperammonemic Encephalopathy in Children: The Experience of a Large, Tertiary Care Pediatric Hospital and a Poison Center. *Am J Ther* 26:e344–e349.
<https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000706>
 20. Nguyen P, Chevillard L, Gouda AS, et al (2022) L-carnitine does not improve valproic acid poisoning management: a cohort study with toxicokinetics and concentration/effect relationships. *Ann Intensive Care* 12:7. <https://doi.org/10.1186/s13613-022-00984-z>
 21. Perrott J, Murphy NG, Zed PJ (2010) L-Carnitine for Acute Valproic Acid Overdose: A Systematic Review of Published Cases. *Ann Pharmacother* 44:1287–1293. <https://doi.org/10.1345/aph.1P135>
 22. Manoguerra AS, Erdman AR, Woolf AD, et al (2008) Valproic acid poisoning: An evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol* 46:661–676.
<https://doi.org/10.1080/15563650802178136>

23. Nakamura M, Nagamine T (2015) The Effect of Carnitine Supplementation on Hyperammonemia and Carnitine Deficiency Treated with Valproic Acid in a Psychiatric Setting. *Innov Clin Neurosci* 12:18–24
24. Okumura A, Takagi M, Numoto S, et al (2021) Effects of l-carnitine supplementation in patients with childhood-onset epilepsy prescribed valproate. *Epilepsy Behav* 122:108220. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108220>
25. Azer K, Kaddi CD, Barrett JS, et al (2021) History and Future Perspectives on the Discipline of Quantitative Systems Pharmacology Modeling and Its Applications. *Front Physiol* 12:. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.637999>
26. Chan JR, Allen R, Boras B, et al (2022) Current practices for QSP model assessment: an IQ consortium survey. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. <https://doi.org/10.1007/s10928-022-09811-1>
27. Iqbal K, Kummamuru H, Dasari N, et al (2021) A Case of Valproic-Acid Induced Hyperammonemic Encephalopathy. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.20380>
28. Vilorio Alebesque A, Montes Castro N, Arcos Sánchez C, Vicente Gordo D (2020) Estatus epiléptico no convulsivo secundario a encefalopatía hiperamonémica inducida por valproato. *Neurología* 35:603–606. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2019.05.010>
29. Rohatgi A (2022) WebPlotDigitizer
30. Wickham H (2016) ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics
31. Wickham H, François R, Henry L, Müller K (2018) dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version
32. Harper P, Elwin CE, Cederblad G (1988) Pharmacokinetics of bolus intravenous and oral doses of L-carnitine in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. <https://doi.org/10.1007/BF00555510>
33. Fagiolino P, Vázquez M (2022) Tissue Drug Concentration. *Curr Pharm Des* 28:1109–1123.

<https://doi.org/10.2174/1381612828666220422091159>

34. Fagiolino P, Talevi A, Vázquez M, Ibarra M (2024) Blood Flow Distribution and Membrane Transporters as Determinant Factors of Tissue Drug Concentration. In: ADME Processes in Pharmaceutical Sciences. Springer Nature Switzerland, Cham, pp 459–488
35. Nasreddine W, Dirani M, Atweh S, et al (2018) Determinants of free serum valproate concentration: A prospective study in patients on divalproex sodium monotherapy. *Seizure* 59:24–27. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2018.04.012>
36. Addison RS, Parker-Scott SL, Eadie MJ, et al (2000) Steady-state dispositions of valproate and diflunisal alone and coadministered to healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 56:715–721. <https://doi.org/10.1007/s002280000211>
37. Cao Y, Wang YX, Liu CJ, et al (2009) Comparison of pharmacokinetics of L-carnitine, Acetyl- L-carnitine and Propionyl-Lcarnitine after single oral administration of L-carnitine in healthy volunteers. *Clin Investig Med*
38. Hug G, McGraw CA, Bates SR, Landrigan EA (1991) Reduction of serum carnitine concentrations during anticonvulsant therapy with phenobarbital, valproic acid, phenytoin, and carbamazepine in children. *J Pediatr* 119:799–802. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)80306-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(05)80306-3)
39. Cloyd JC, Dutta S, Cao G, et al (2003) Valproate unbound fraction and distribution volume following rapid infusions in patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 53:19–27. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(02\)00251-6](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(02)00251-6)
40. Cramer J., Mattson R., Bennet D., Swick C. (1986) Variable Free and Total Valproic Acid Concentrations in Sole- and Multi-Drug Therapy. *Ther Drug Monit* 8:411–415. <https://doi.org/10.1097/00007691-198612000-00005>
41. Blanco Vela CI, Bosques Padilla FJ (2011) Determination of ammonia concentrations in cirrhosis patients-still confusing after all these years? *Ann Hepatol* 10:S60–S65. [https://doi.org/10.1016/S1665-2681\(19\)31609-6](https://doi.org/10.1016/S1665-2681(19)31609-6)
42. Cordoba J, Blei AT, Mujais S (1996) Determinants of ammonia clearance

- by hemodialysis. *Artif Organs* 20:800–803. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.1996.tb04544.x>
43. Hosten A (1990) BUN and Creatinine. In: Walker HK, Hall WD HJ (ed) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.*, 3rd ed. Boston: Butterworths
 44. Iooss B (2022) sensitivity: Global Sensitivity Analysis of Model Outputs
 45. Gueorguieva I, Aarons L, Ogungbenro K, et al (2006) Optimal design for multivariate response pharmacokinetic models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33:97–124. <https://doi.org/10.1007/s10928-006-9009-1>
 46. Nitsche V, Mascher H (1982) *The Pharmacokinetics of Valproic Acid After Oral and Parenteral Administration in Healthy Volunteers.* Raven Press
 47. Chang R, Chou M-C, Hung L-Y, et al (2016) Study of Valproic Acid-Enhanced Hepatocyte Steatosis. *Biomed Res Int* 2016:1–11. <https://doi.org/10.1155/2016/9576503>
 48. Grünig D, Szabo L, Marbet M, Krähenbühl S (2020) Valproic acid affects fatty acid and triglyceride metabolism in HepaRG cells exposed to fatty acids by different mechanisms. *Biochem Pharmacol* 177:. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.113860>
 49. Collins RM, Zielke HR, Woody RC (1994) Valproate Increases Glutaminase and Decreases Glutamine Synthetase Activities in Primary Cultures of Rat Brain Astrocytes. *J Neurochem* 62:1137–1143. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62031137.x>
 50. Lheureux PER, Penaloza A, Zahir S, Gris M (2005) Science review: Carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity - What is the evidence? *Crit. Care* 9:431–440

5. Modelo de Farmacología de Sistemas de la toxicidad del ácido valproico en poblaciones pediátricas y adultas: implicancias para la selección de formulaciones y la suplementación con L-carnitina

Introducción

La mayoría de los estudios de farmacocinética poblacional se realizan en adultos, principalmente debido a las implicancias éticas de incluir a niños en investigaciones clínicas [1, 2]. Además, durante mucho tiempo las mujeres han estado subrepresentadas en los ensayos clínicos, debido a la evidencia que indicaba una mayor variabilidad interindividual en esta población. Sin embargo, esta tendencia ha comenzado a revertirse en los últimos años [3–5]. Aun así, es fundamental considerar las diferencias relacionadas, no solo con el sexo, sino también con la edad, en la farmacocinética de los medicamentos, con el objetivo de diseñar terapias individualizadas y adaptadas a las características específicas de cada paciente. No obstante, las poblaciones especiales, como los pacientes pediátricos, los adultos mayores y las personas con obesidad, siguen estando insuficientemente representadas en la investigación farmacológica, a pesar de que, en muchos casos, constituyen los principales usuarios de medicamentos.

Conocer el perfil de seguridad de los fármacos en poblaciones especiales es fundamental para garantizar una farmacoterapia segura y eficaz. En contextos donde la investigación *in vivo* no resulta viable, el enfoque QSP se presenta como una herramienta valiosa, ya que permite integrar datos provenientes de múltiples fuentes para analizar las interacciones de un fármaco dentro de una red biológica compleja. La incorporación de covariables, como el sexo y la edad, en los parámetros de los distintos componentes de dicha red, posibilita la simulación y la predicción de escenarios no evaluados experimentalmente.

El VPA se elimina por metabolismo hepático a través de tres vías principales, generando más de 50 metabolitos conocidos. La vía principal consiste en la glucuronidación a VPA-GLU (~50% de la dosis biodisponible) mediada por la enzima UGT2B7, seguida por la β -oxidación mitocondrial (~40%), que produce 2-en-VPA. La tercera vía, la ω -oxidación microsomal (~10%), se lleva a cabo principalmente a través de la enzima CYP2C9 y da lugar a varios metabolitos,

entre ellos 4-en-VPA, el cual contribuye considerablemente a los efectos adversos asociados con el fármaco [6, 7].

Durante el desarrollo del individuo, la maduración de estas enzimas metabolizadoras influye en el metabolismo del VPA. Mientras que la enzima CYP2C9 alcanza su madurez con relativa rapidez [8, 9], la maduración de UGT2B7 está menos definida, y estudios sugieren que su actividad máxima podría no alcanzarse hasta alrededor de los 20 años [10, 11]. Esta maduración tardía de UGT2B7 podría desviar el metabolismo hacia vías alternativas en pacientes más jóvenes, lo que explicaría su mayor susceptibilidad a los efectos adversos [7]. Además, el aclaramiento normalizado por masa corporal disminuye con la edad, lo que sugiere que los niños tienen una mayor capacidad metabólica por kilogramo de masa corporal en comparación con los adultos [12, 13]. Esto probablemente se deba al mayor peso hepático relativo al peso corporal observado en la población pediátrica [14, 15]. Por otra parte, estudios previos no han mostrado diferencias significativas entre niños y adultos en la unión saturable del VPA a proteínas plasmáticas [16].

Los efectos adversos del VPA incluyen hiperamonemia, hiperlipidemia y hepatotoxicidad [17–19]. Aunque esta última es poco frecuente, presenta una mayor prevalencia en niños menores de dos años [20]. Un mecanismo común subyacente a estos efectos adversos es la depleción de carnitina inducida por el VPA, que ocurre tanto por la formación de VPA-CAR para su transporte mitocondrial, como por la inhibición de la reabsorción renal de carnitina. Esta depleción reduce la capacidad de β -oxidación mitocondrial, lo que compromete la oxidación de ácidos grasos y provoca hiperlipidemia [21]. A su vez, favorece el desvío del metabolismo hacia la vía de ω -oxidación, aumentando la exposición a metabolitos tóxicos.

Estas alteraciones también pueden afectar el ciclo de la urea, mediante la inhibición directa de la enzima Carbamoil Fosfato Sintetasa I y la reducción en la síntesis de su activador, el ácido N-acetilglutámico, lo que finalmente conduce a hiperamonemia y sus complicaciones asociadas. Los niveles basales de carnitina libre presentan variaciones relacionadas con la edad y el sexo, siendo más bajos en niños y en mujeres en edad reproductiva [22, 23]. En contraste, los niveles basales de amonio no muestran diferencias significativas relacionadas

con la edad o el sexo en condiciones normales [24, 25]. En esta parte del trabajo, el enfoque estará en caracterizar el perfil de toxicidad inducida por VPA, considerando tanto la maduración de enzimas metabolizadoras como las diferencias asociadas al sexo y a la edad en los componentes endógenos.

Objetivos

El objetivo de este trabajo es expandir el modelo QSP desarrollado en el capítulo anterior para su aplicabilidad a poblaciones pediátricas, incorporando además las diferencias relativas al sexo en los componentes endógenos. Además, se busca investigar las diferencias en los perfiles de toxicidad entre la formulación test de liberación prolongada (DiDPA-LP®, Roemmers) y la formulación original de liberación retardada (Depakote® DR, Abbott). Esta comparación continúa el estudio desarrollado en el capítulo 2 [26], el cual predijo menores PTF con la formulación de liberación prolongada, manteniendo una biodisponibilidad similar a la de la formulación de liberación retardada. Tal reducción en la fluctuación de las concentraciones proporciona una justificación mecanística para una incidencia potencialmente menor de efectos adversos relacionados con la exposición al fármaco.

Metodología

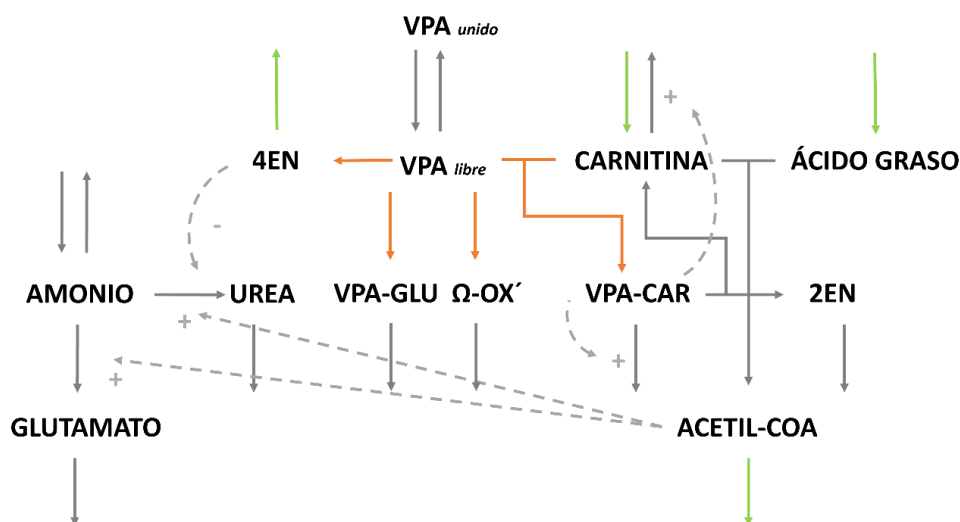
Adquisición de datos

Este trabajo se basa en el modelo QSP desarrollado en el Capítulo 4, el cual caracteriza la hiperamonemia inducida por VPA [27]. El modelo integra dos componentes principales: i) un modelo NLME de VPA y ii) una estructura mecanística QSP que describe la interacción de los metabolitos del VPA con las vías metabólicas de carnitina y amonio. Los valores típicos y las variabilidades asociadas de los parámetros del modelo original, incluidos aquellos específicos de cada formulación, se mantuvieron; por lo tanto, las simulaciones reflejan la misma variabilidad interindividual para dichos parámetros.

El primer componente es un modelo bicompartimental con unión a proteínas plasmáticas de capacidad limitada para describir la disposición del fármaco tras la administración de formulaciones de liberación prolongada y retardada. Si bien el modelo original contempla diferencias relacionadas con el sexo en el aclaramiento de VPA, no considera los posibles efectos de la edad y el sexo

sobre otros parámetros del sistema. Con el objetivo de ampliar su aplicabilidad a poblaciones pediátricas e incorporar las diferencias farmacodinámicas reportadas según el sexo, se añadieron las covariables de edad y sexo en algunos parámetros del modelo, como se muestra en la Figura 5.1.

Figura 5.1 Red de farmacología de sistemas adaptada



Abreviaturas: VPA: ácido valproico. 2EN: ácido 2-en valproico. 4EN: 4-en ácido valproico. VPA-CAR: valproil-carnitina. VPA-GLU: valproil-glucurónido. Ω-OX': ruta de omega oxidación que no lleva a la formación de ácido 4-en valproico. Las flechas verdes indican interacciones que involucran el sexo y la edad como covariables, mientras que las flechas naranjas representan interacciones que también incluyen el efecto de la maduración enzimática.[27].

El modelo QSP fue desarrollado usando la herramienta de simulación Simulx de MonolixSuite® 2023R1(Lixoft, SimulationPlus). El análisis de los datos y los gráficos fueron hechos en RStudio, usando los paquetes “dplyr” y “ggplot2” [28, 29]. Se utilizaron datos reportados de diversas fuentes para el desarrollo del modelo QSP. Para describir la ontogenia de las enzimas involucradas en el metabolismo de VPA, se utilizaron datos farmacocinéticos de 143 individuos adultos y pediátricos [7]. Además, se incorporaron datos de 402 niños de entre 0 y 14 años para refinar las predicciones del aclaramiento y volumen de distribución en la población pediátrica [12, 13, 30, 31]. Finalmente, los niveles de carnitina en mujeres adultas y en niños, en relación con los niveles en hombres, se obtuvieron a partir del conjunto de datos reportado por Takiyama y Matsumoto (n = 554, 46% mujeres, rango etario 0–65 años) [23]. Cuando fue necesario, los

gráficos extraídos de la literatura fueron digitalizados utilizando el WebPlotDigitizer 4.6 [32].

Integración del efecto del sexo y la edad en los parámetros del modelo

Se generaron cuatro poblaciones virtuales (n=2000 cada una) con la plataforma para modelizado PBPK PKSim® (Open System Pharmacology Suite) [33]: i) infantes (0 – 2 años), masa corporal $9,3 \pm 3,3$ kg, edad $1,0 \pm 0,6$ años ; ii) niños (2 – 14 años), masa corporal $29,3 \pm 11,2$ kg, edad $8,1 \pm 3,4$ años; iii) mujeres (14 – 40 años), masa corporal $60,2 \pm 11,2$ kg, edad $26,9 \pm 7,5$ años; iv) hombres (14 – 40 años), masa corporal $69,6 \pm 11,7$ kg, edad $27,3 \pm 7,4$ años. Dado que las diferencias relacionadas con el sexo suelen surgir con la pubertad, los infantes y los niños fueron simulados como varones. Los datos anatómicos utilizados por PK-Sim para generar individuos virtuales se derivan de valores de referencia publicados para la población europea [34]. En consecuencia, la variabilidad observada en los sujetos simulados refleja la variabilidad esperada en la población de referencia correspondiente. La edad y el peso corporal de estos individuos virtuales se extrajeron e incorporaron como covariables en el modelo QSP, con el objetivo de simular sujetos alineados con la variabilidad demográfica observada en las poblaciones clínicas.

Se aplicó el escalado alométrico a los parámetros de aclaramiento y volumen de VPA y 4-en-VPA en el modelo PopPK previo, siguiendo la teoría alométrica estándar [35] de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec. 5.1):

$$\theta_i = \theta_{pop} \times \left(\frac{WT_i}{70}\right)^\beta \quad (\text{Ec. 5.1})$$

Donde θ_i representa el valor individual del parámetro, θ_{pop} el valor típico para un adulto de 70 kg, WT_i la masa corporal del individuo, y β es el factor de escalado alométrico (1 para volúmenes y 0,75 para los aclaramientos).

La maduración de la enzima CYP2C9 no fue considerada, dado que alcanza su actividad máxima dentro del primer año de vida [8, 9] y, además, su contribución al aclaramiento de VPA es poco significativa. En contraste, la enzima UGT2B7 representa aproximadamente el 50% del metabolismo del fármaco en adultos, y la evidencia disponible en la literatura indica que su actividad aumenta progresivamente desde la infancia hasta la adolescencia, alcanzando su

maduración completa en la edad adulta [11, 36, 37]. Para la población pediátrica, se implementó una función que describe la maduración enzimática de UGT2B7 mediante la siguiente ecuación (Ec. 5.2):

$$FA_{UGT2B7} = 0.113 + 0.0425 \times EDAD_i \quad (\text{Ec.5.2})$$

Donde FA_{UGT2B7} es la fracción de actividad de la enzima metabolizadora y $EDAD_i$ refiere a la edad (en años) del individuo. La ecuación predice un aumento lineal de la actividad enzimática desde el nacimiento hasta los 20 años, momento en el cual la fracción de actividad se aproxima a uno [7]. Esta función de maduración modula la glucuronidación del VPA al multiplicar la fracción del aclaramiento total atribuido a la formación de VPA-GLU por un factor de actividad dependiente de la edad. Como resultado, la contribución de las vías de eliminación alternativas aumenta proporcionalmente según sus respectivas fracciones de aclaramiento. El impacto cuantitativo del FA_{UGT2B7} sobre cada vía de eliminación del VPA se describe en las ecuaciones diferenciales de balance de masa que se encuentran en el Anexo VI.

Finalmente, también se consideraron las diferencias relacionadas con el sexo y la edad en la velocidad de producción y eliminación de componentes endógenos. Se ha reportado que las concentraciones de carnitina son más bajas en mujeres y en población pediátrica en comparación con los hombres [23]. Por otro lado, no se observaron diferencias en los niveles basales de amonio en sangre según la edad o el sexo [24, 25]. Según el modelo QSP propuesto, una reducción en los niveles de carnitina provoca una disminución en la conversión de ácidos grasos a acetil-CoA, lo que a su vez lleva a una reducción en la tasa de eliminación de amonio. Por lo tanto, bajo la suposición de este modelo, la tasa de eliminación de acetil-CoA en mujeres y sujetos pediátricos debería ser menor en comparación con los hombres. Este efecto se incluyó en la estructura del modelo mediante el efecto de la covariable γ , como se muestra en las siguientes ecuaciones:

$$Ro_{carnitina,i} = Ro_{carnitina,hombre} \times e^{\gamma} \quad (\text{Ec. 5.3})$$

$$Ro_{\text{ácidos grasos},i} = Ro_{\text{ácidos grasos},hombre} \times e^{\gamma} \quad (\text{Ec. 5.4})$$

$$ke_{\text{acetil-coA},i} = ke_{\text{acetil-coA},hombre} \times e^{\gamma} \quad (\text{Ec. 5.5})$$

Donde $Ro_{\text{carnitina}}$ y $Ro_{\text{ácidos grasos}}$ representan la velocidad de entrada de carnitina y ácidos grasos al sistema, respectivamente, y $ke_{\text{acetil-CoA}}$ denota la constante de eliminación de acetil-CoA del sistema. Los parámetros $Ro_{\text{carnitina,hombre}}$, $Ro_{\text{ácidos grasos,hombre}}$ y $ke_{\text{acetil-CoA,hombre}}$ son los valores para la población adulta masculina y γ es el factor de escalado dependiente del sexo y la edad.

El valor del parámetro γ , que representa el factor dependiente de la edad y el sexo en la entrada de carnitina y ácidos grasos, así como en la eliminación de acetil-CoA, se estableció en $-0,60$ para infantes, $-0,40$ para niños y $-0,22$ para mujeres. Estos valores fueron necesarios para simular concentraciones basales de carnitina iguales a $32 \mu\text{M}$, $40 \mu\text{M}$ y $60 \mu\text{M}$, respectivamente, los cuales concuerdan con las diferencias fisiológicas reportadas en estas poblaciones [23, 27]. La covariable se incluyó en los parámetros de ingreso de ácidos grasos y eliminación de acetil-CoA con el objetivo de mantener un valor basal igual a 1 para toda la población. La Figura S1 del Anexo VI muestra los perfiles medios de los componentes de la red para cada grupo.

Evaluación del modelo

Se simuló una posología de 35 mg/kg/día de VPA en infantes y 28 mg/kg/día en niños, basado en el rango terapéutico recomendado en la población pediátrica ($20\text{-}40 \text{ mg/kg/día}$) [38]. Esta simulación se hizo con el objetivo de comparar las concentraciones totales predichas a predosis por el modelo con las observaciones para la misma población. Además, el aclaramiento de las concentraciones totales y el volumen plasmático total se contrastaron con los valores reportados en población pediátrica. El aclaramiento aparente individual de VPA se determinó a partir del AUC de las concentraciones totales del fármaco en estado estacionario, utilizando la siguiente ecuación (Ec. 5.6):

$$\frac{Cl}{F} = \frac{D}{AUC_{\tau}} \quad (\text{Ec. 5.6})$$

Donde F representa la biodisponibilidad relativa entre las formulaciones, D es la dosis normalizada por masa corporal simulada, τ el intervalo interdosis y AUC_{τ} es el AUC para las concentraciones totales dentro del intervalo de dosificación.

También se determinó el volumen plasmático aparente total a partir del volumen plasmático libre y de la fracción libre, definida como el cociente entre AUC_{τ} de

las concentraciones libres y AUC_t de las concentraciones totales de ácido valproico. Finalmente, se evaluaron las diferencias en los porcentajes de las distintas vías de eliminación del fármaco en función de la edad mediante la simulación de una población entre 0 y 40 años.

Aplicaciones del modelo

Se simuló un régimen de tratamiento con VPA administrado dos veces al día, con dosis de 35 mg/kg/día para infantes, 25 mg/kg/día para niños, y 15 mg/kg/día para adultos. Las simulaciones incluyeron un total de 2000 sujetos en cada grupo etario, de los cuales 1000 recibieron la formulación de liberación retardada y 1000 la formulación de liberación prolongada. A partir de la cohorte simulada de individuos, se generaron múltiples réplicas de ensayos clínicos virtuales, cada una compuesta por 200 sujetos seleccionados de manera aleatoria, preservando las proporciones demográficas (edad y sexo) así como las relativas a la formulación presentes en la población total. En cada réplica se estimó la incidencia de toxicidad, y posteriormente se construyó un IC90 no paramétrico a partir de los percentiles 5, 50 y 95 de la distribución resultante. Este enfoque permitió proporcionar una estimación robusta de la incidencia de las distintas toxicidades inducidas por VPA.

La incidencia de hiperamonemia se estimó como el porcentaje de individuos cuyas concentraciones de amonio superaron los 55 μM (94 $\mu\text{g/dL}$) [25]. La incidencia de desórdenes hepáticos se definió como el porcentaje de individuos cuyas concentraciones de 4-en-VPA excedieron los 3,5 μM [39]. Por último, la incidencia de hiperlipidemia se estableció como el porcentaje de individuos que presentaron un aumento relativo del 33% en los niveles de ácidos grasos respecto a las condiciones basales, conforme a los criterios de la Sociedad Europea de Cardiología [40].

Se calcularon las razones de probabilidades de la incidencia de hiperamonemia e hiperlipidemia para comparar la formulación de liberación prolongada (Test) con la formulación de liberación retardada (Referencia) dentro de cada grupo etario, con el objetivo de evaluar el impacto relativo de cada formulación sobre riesgo de presentar estos efectos adversos. Se aplicó la siguiente ecuación (Ec. 5.7):

$$OR = \frac{EA_R x (1 - EA_T)}{EA_T x (1 - EA_R)} \quad (\text{Ec. 5.7})$$

Donde EA_R y EA_T son las medianas de las incidencias del efecto adverso en la formulación Referencia y Test, respectivamente, y OR la razón de probabilidad. Un valor de OR igual a 1 indica que no hay diferencia en la incidencia del efecto adverso entre las formulaciones. Un valor de OR mayor a 1 indica que existe mayor riesgo con la formulación Referencia. En cambio, un valor de OR menor a 1 indica que existe mayor probabilidad de presentar el efecto adverso con la formulación Test. La significancia estadística de las razones de probabilidades se evaluó mediante la prueba de Wald ($\alpha = 0.05$).

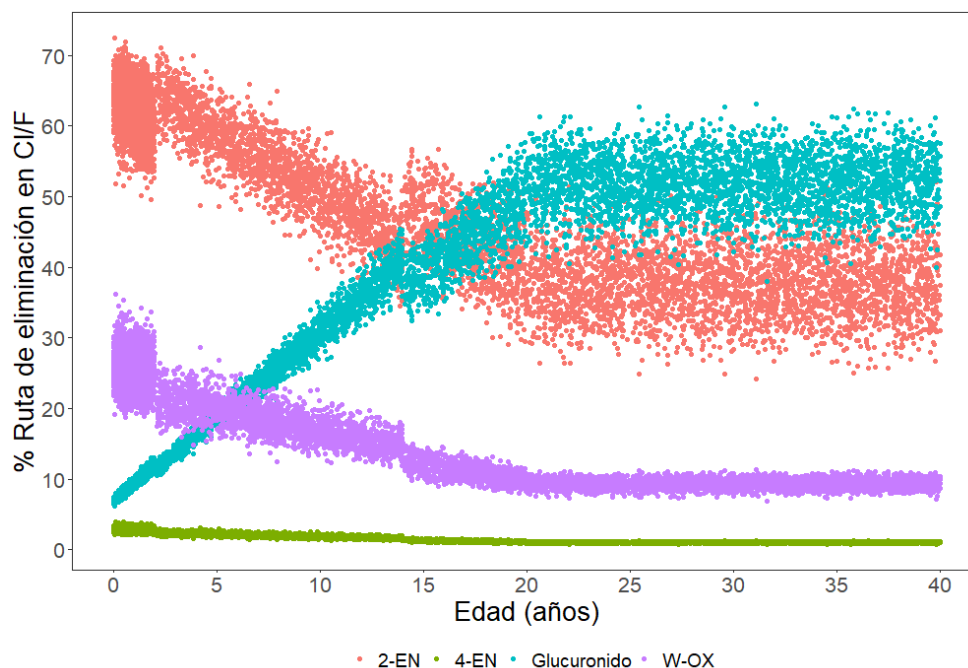
El efecto de la SC durante el tratamiento crónico con VPA fue evaluado mediante la simulación de múltiples combinaciones de dosis en la población virtual: VPA (15, 25 y 35 mg/kg/día, divididos en dos tomas) y L-carnitina (0, 30, 50 y 70 mg/kg/día, también en dos tomas). La evaluación se basó en los niveles en estado estacionario de amonio, VPA libre, 4-en-VPA y ácidos grasos.

Resultados

Evaluación del modelo

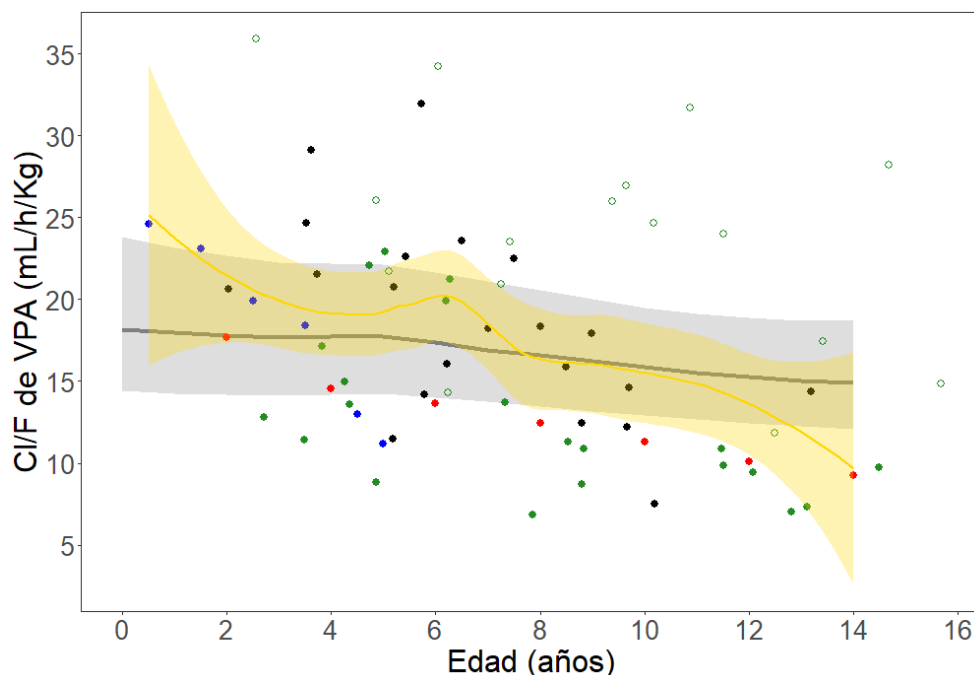
Las diferencias relacionadas con la edad en la contribución de las distintas vías de eliminación de VPA tras una dosis única se resumen en la Figura 5.2, que muestra el porcentaje de contribución de cada vía en relación con el aclaramiento total en función de la edad. En las primeras etapas de la vida, la limitada maduración de la enzima UGT2B7 da lugar a una contribución relativa significativamente menor de la glucuronidación al aclaramiento total. En consecuencia, las otras vías de eliminación (β -oxidación y metabolismo mediado por el citocromo P450) presentan una contribución proporcionalmente mayor. Con el aumento de la edad, la actividad de la UGT2B7 se incrementa progresivamente, aumentando la fracción de glucuronidación y reduciendo así la contribución relativa de las vías alternativas. Esta evaluación permite visualizar la interacción dinámica entre las vías de eliminación a lo largo de la edad, según lo determinado por la función de maduración incorporada en el modelo.

Figura 5.2 Contribución individual de cada vía de eliminación de ácido valproico al aclaramiento total en función de la edad, tras una dosis única



La Figura 5.3 presenta los valores simulados individuales del aclaramiento plasmático total aparente de VPA normalizados por masa corporal, en función de la edad, en comparación con valores previamente publicados del mismo parámetro [12, 13, 30, 31], los cuales fueron digitalizados cuando fue necesario. Como puede observarse, el aclaramiento plasmático total aparente de ácido VPA normalizado por masa corporal disminuye con el aumento de la edad, lo que sugiere una mayor capacidad metabólica y, en consecuencia, mayores requerimientos de dosis en infantes. El volumen aparente total de distribución de VPA normalizado por masa corporal no difiere del rango reportado previamente (0,1 – 0,4 L/kg) [41].

Figura 5.3 Aclaramiento plasmático total de ácido valproico normalizado por masa corporal en función de la edad



Línea gris: percentil 50% de los aclaramientos simulados en cada grupo de edad, suavizada con la función LOESS de R. Área gris: percentiles 5% y 95% de los aclaramientos simulados en cada grupo de edad, suavizados con la función LOESS de R. Línea amarilla: mediana de los aclaramientos observados, suavizada con la función LOESS de R. Área amarilla: intervalo de confianza 95% del suavizado LOESS. Puntos: aclaramientos reportados (negros: Cloyd et al., 1993 [30], verdes: Chiba et al., 1985 [13], sólidos: monoterapia, huecos: politerapia; azul: Sánchez Alcaraz y Vergara, 1998 [31]; rojo: Blanco Serrano et al., 1999 [12]).

Las métricas de exposición al VPA simuladas (Cmax y Cmin) resultantes de la administración de 35 mg/kg/día en infantes y 28 mg/kg/día en niños, se resumen en la Tabla 5.1, junto con las observaciones reportadas para su comparación [12, 13, 30, 31].

Tabla 5.1 Concentraciones de ácido valproico simuladas y reportadas para población pediátrica en estado estacionario

Grupo de edad	Dosis (mg/kg/día)	Métrica de exposición	Simulada (mg/L)	Reportada (mg/L)	Número de sujetos
Infantes	35	Cmin	35,1 ± 11,2	-	-
		Cmax	82,1 ± 8,37	-	-
Niños	28			60,0 ± 22,5 ^[12]	255
		Cmin	42,0 ± 11,4	68,8 ± 21,8 ^[13]	21
				60,7 ± 23,2 ^[30]	21
		Cmax	80,0 ± 8,38	120 ± 18,2 ^[13]	21
				102 ± 29,0 ^[30]	21

Las concentraciones simuladas (n = 1000 para cada grupo etario) corresponden a la formulación de liberación retardada. Las concentraciones observadas se extrajeron de los estudios publicados indicados. Las estadísticas descriptivas tanto de los datos simulados como de los observados se presentan como media ± desviación estándar. Número de sujetos: pacientes pediátricos enrolados en cada estudio citado.

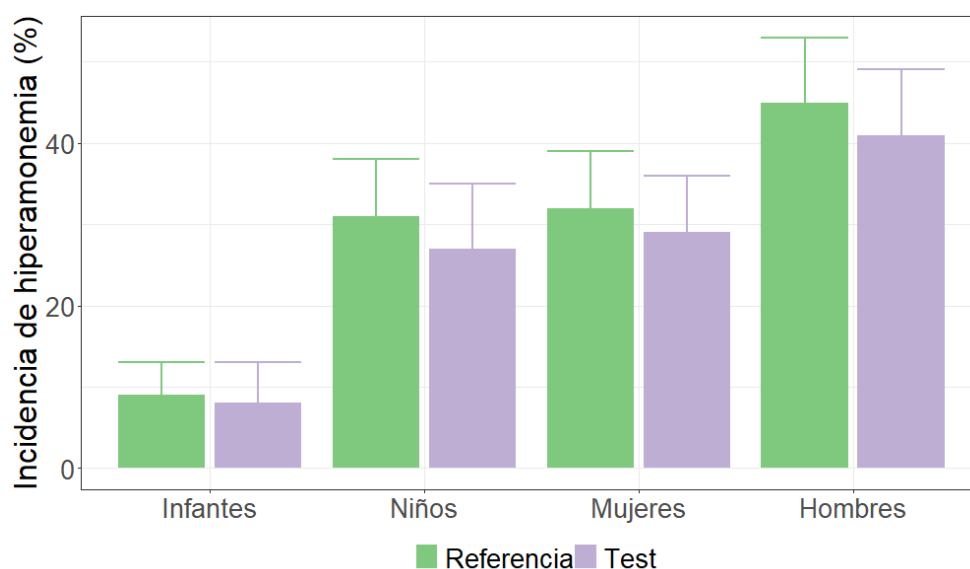
Aplicaciones del modelo

La mediana de la incidencia global de hiperamonemia en la población virtual en estado basal fue 4% (IC90 no paramétrico 3% - 6%). Bajo tratamiento con VPA, esta mediana fue 28% (IC90 no paramétrico 26% - 30%), alineado con los resultados reportados en población adulta (27%) [42]. La Figura 5.4 muestra que la incidencia simulada de hiperamonemia aumenta con la edad y es ligeramente menor en mujeres adultas que en hombres. Este patrón podría explicarse por la reducción en los niveles de carnitina inducida por el VPA, la cual parece ser más pronunciada en hombres, quienes presentan concentraciones basales más elevadas.

La Tabla 5.2 resume los percentiles para las razones de probabilidades de la incidencia de hiperamonemia en cada grupo etario, comparando las formulaciones Test y Referencia. La formulación Test mostró consistentemente una tendencia hacia una mayor seguridad en todos los grupos etarios, con un porcentaje de réplicas con razones de probabilidad mayores a 1 entre 60% y 74%. Sin embargo, estas diferencias alcanzaron la significancia estadística (p-valor < 0,05) en un 4% - 9% de las réplicas. Al considerar a la población completa en su conjunto, la mediana de la razón de probabilidad global fue 1,18 (IC90 no

paramétrico 0,62 – 2.29, con significancia estadística en el 6% de las réplicas). Esto indica una ligera ventaja en seguridad a favor de la formulación Test, respaldando así uno de los objetivos previstos para este producto de liberación prolongada. Sin embargo, en la gran mayoría de las réplicas la diferencia no fue estadísticamente significativa, lo que limita la solidez de esta conclusión.

Figura 5.4 Incidencia de hiperamonemia en cada grupo etario luego de la administración de 35 mg/kg/día (infantes), 25 mg/kg/día (niños) y 15 mg/kg/día (adultos) de ácido valproico



Referencia (verde) y Test (violeta). Altura de la columna: mediana de las incidencias entre las réplicas. Barra de error: percentil 95 de las incidencias entre las réplicas.

Tabla 5.2 Resumen de las razones de probabilidades de la incidencia de hiperamonemia entre Test y Referencia, dentro de cada grupo etario

	Odds ratio	IC90%	OR > 1 (%)	p-valor < 0,05 (%)
Infantes	1,13	0,47 – 3,30	60	6
Niños	1,21	0,69 – 1,75	70	5
Mujeres	1,10	0,71 – 1,78	64	4
Hombres	1,22	0,70 – 2,07	74	9

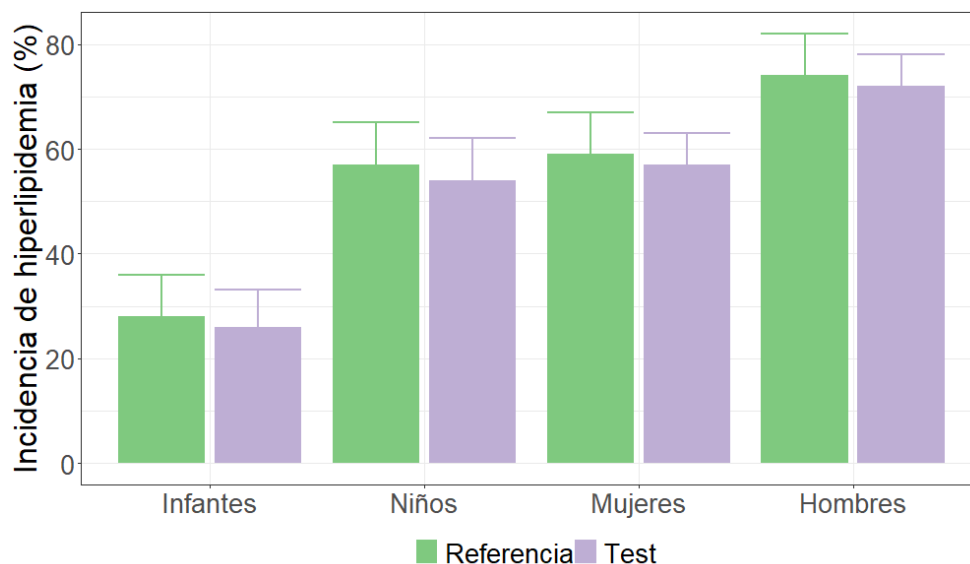
Abreviaturas: Odds ratio (razón de probabilidad): la mediana de las razones de probabilidad de las réplicas simuladas (n = 100); IC90%: percentiles 5 y 95 de las razones de probabilidad de las réplicas simuladas; OR > 1 (%): porcentaje de réplicas con razones de probabilidad mayores a 1; p-valor < 0,05 (%): porcentaje de réplicas con significancia estadística (prueba de Wald).

Las predicciones del modelo, las cuales coinciden con la disminución observada de los desórdenes hepáticos a medida que aumenta la edad [20], indicaron que la mediana del riesgo de hepatotoxicidad en infantes es 9% (IC90 no paramétrico 6% - 12%), de los cuales entre el 88% y el 92% pertenecía al grupo tratado con la formulación Referencia. En niños, este riesgo fue 0,5%, presentándose únicamente con el tratamiento de la formulación Referencia. Estos resultados refuerzan el perfil de seguridad superior de la formulación de liberación prolongada en comparación con la de liberación retardada, especialmente en la población pediátrica. La mediana de la incidencia global simulada en toda la población fue del 2%.

Las estimaciones basadas en el modelo sugieren una mediana en la incidencia global de hiperlipidemia del 54% (IC90 no paramétrico 51% - 56%), con un 6% (IC90 no paramétrico 5% - 7%) de los pacientes presentando niveles elevados de ácidos grasos en estado basal. El patrón de incidencia de hiperlipidemia, resumido en la Figura 5.5, es comparable al observado para la hiperamonemia y se explica por el mismo mecanismo subyacente: la mayor reducción de los niveles de carnitina inducida por el VPA, que potencia la aparición de ambas toxicidades. La Tabla 5.3 resume los percentiles para las razones de probabilidades de la incidencia de hiperlipidemia en cada grupo etario, comparando las formulaciones Test y Referencia. Nuevamente, la formulación

Test mostró consistentemente una tendencia hacia una mayor seguridad, con un porcentaje de réplicas con razones de probabilidad mayores a 1 entre 61% y 74%. Sin embargo, estas diferencias alcanzaron la significancia estadística (p -valor $< 0,05$) en un 6% a 12% de las réplicas. Al considerar a la población completa en su conjunto, la mediana de la razón de probabilidad global fue 1,09 (IC90 no paramétrico 0,64 – 1,89, con significancia estadística en el 8% de las réplicas). Esto refuerza la ligera ventaja en seguridad a favor de la formulación Test, aunque la misma no es estadísticamente significativa en la mayoría de las réplicas.

Figura 5.5 Incidencia de hiperlipidemia en cada grupo etario luego de la administración de 35 mg/kg/día (infantes), 25 mg/kg/día (niños) y 15 mg/kg/día (adultos) de ácido valproico



Referencia (verde) y Test (violeta). Altura de la columna: mediana de las incidencias entre las réplicas. Barra de error: percentil 95 de las incidencias entre las réplicas.

Para cada réplica, se simularon doce combinaciones de dosis de VPA y L-carnitina en todos los grupos etarios con el objetivo de evaluar la dosis de L-carnitina necesaria para mantener concentraciones saludables de amonio en relación con la dosis de VPA. Para esta evaluación, se utilizaron las concentraciones a predosis en estado estacionario de cada componente de la red. Al igual que en adultos, se infiere que duplicar la dosis (en mg) de L-carnitina con respecto a la de VPA es una estrategia tanto necesaria como suficiente para prevenir el aumento de las concentraciones de amonio, sin afectar

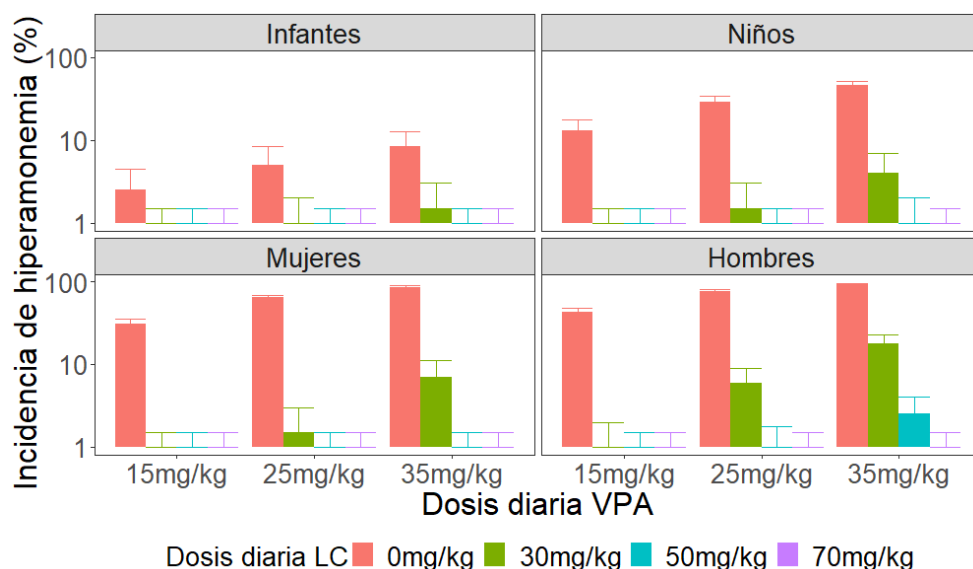
significativamente las concentraciones de fármaco libre, las cuales son responsables del efecto terapéutico. Además, esta suplementación permite mantener las concentraciones de 4-en-VPA por debajo del umbral máximo tolerable y conservar los niveles de ácidos grasos en valores basales en la mayoría de los pacientes simulados. En consecuencia, se observa una reducción en la incidencia de toxicidades inducidas por VPA como se ilustra en la Figura 5.6 para la hiperamonemia, y en la Figura 5.7 para la hiperlipidemia. Por ejemplo, en el grupo pediátrico bajo una terapia con 25 mg/kg/día de VPA, la incidencia de hiperamonemia es del 60% en ausencia de SC, mientras que una suplementación de 50 mg/kg/día reduce esta incidencia al 5%. Estas conclusiones están en concordancia con la práctica clínica en el Hospital Pereira Rossell, donde se administra preventivamente una dosis de 50 mg/kg/día de L-carnitina a pacientes pediátricos tratados con VPA. Los diagramas de caja que muestran los niveles de los distintos componentes según la dosis de L-carnitina se presentan en las Figuras S2, S3, S4 y S5 del Anexo VI.

Tabla 5.3 Resumen de las razones de probabilidades de la incidencia de hiperlipidemia entre Test y Referencia, dentro de cada grupo etario

	Odds ratio	IC90%	OR > 1 (%)	p-valor < 0,05 (%)
Infantes	1,10	0,63 – 1,77	61	6
Niños	1,06	0,70 – 1,76	63	7
Mujeres	1,08	0,75 – 1,76	74	7
Hombres	1,16	0,66 – 2,17	64	12

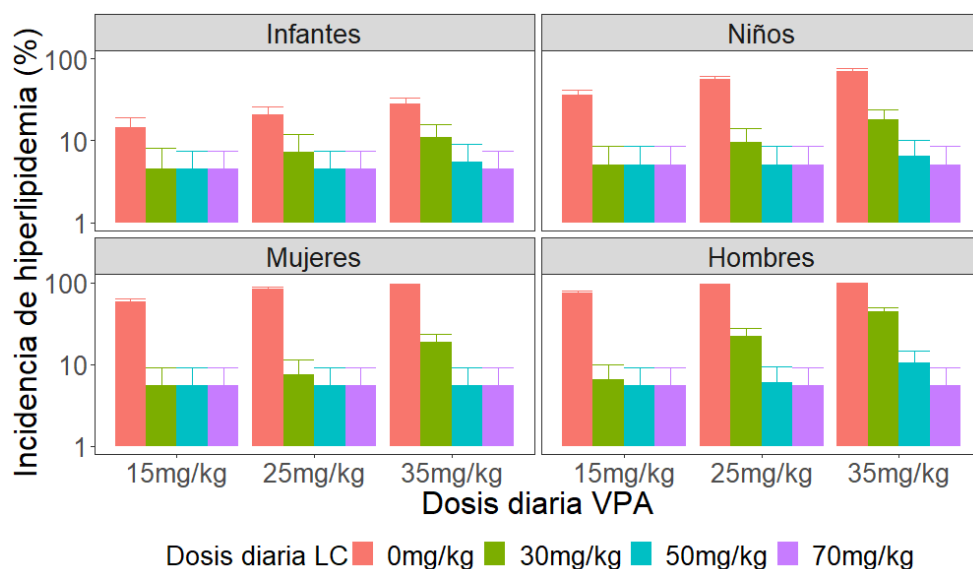
Abreviaturas: Odds ratio (razón de probabilidad): la mediana de las razones de probabilidad de las réplicas simuladas (n = 100); IC90%: percentiles 5 y 95 de las razones de probabilidad de las réplicas simuladas; OR > 1 (%): porcentaje de réplicas con razones de probabilidad mayores a 1; p-valor < 0,05 (%): porcentaje de réplicas con significancia estadística (prueba de Wald).

Figura 5.6 Gráfico de barras para la mediana de la incidencia de hiperamonemia bajo diferentes posologías de ácido valproico y L-carnitina en estado estacionario



Barras: mediana de las medianas de las incidencias de hiperamonemia entre las distintas réplicas. Barra de error: percentil 95% de las medianas de las incidencias de hiperamonemia entre las distintas réplicas. LC: L-carnitina.

Figura 5.7 Gráfico de barras para la mediana de la incidencia de hiperlipidemia bajo diferentes posologías de ácido valproico y L-carnitina en estado estacionario



Barras: mediana de las medianas de las incidencias de hiperlipidemia entre las distintas réplicas. Barra de error: percentil 95% de las medianas de las incidencias de hiperlipidemia entre las distintas réplicas. LC: L-carnitina.

Discusión

El modelo QSP extendido describe los principales mecanismos involucrados en las toxicidades más frecuentes inducidas por el VPA, las cuales pueden derivar en consecuencias graves como enfermedades hepáticas, convulsiones y encefalopatía. Más aún, este modelo permite simular la exposición a distintos componentes del sistema bajo diversos esquemas de dosificación de VPA, tanto en poblaciones adultas como pediátricas, diferenciando según la formulación administrada. Además, se evaluó cuantitativamente el impacto de la SC en la prevención de la hiperamonemia y los trastornos hepáticos durante el tratamiento crónico con VPA en cuatro grupos etarios. Este trabajo representa la segunda parte del esfuerzo por caracterizar la toxicidad inducida por VPA y los efectos terapéuticos de la L-carnitina mediante un enfoque QSP, con especial énfasis en factores relacionados con la edad, el sexo y la formulación.

El modelo QSP previamente desarrollado [27] evaluó las diferencias relacionadas con el sexo en el aclaramiento de eliminación de VPA en población adulta, pero no consideró estas diferencias en otros componentes de la red. El modelo presentado en este capítulo incorpora las diferencias relacionadas con el sexo y la edad en los niveles basales de carnitina y en la eliminación de VPA. La evidencia indica que los niveles de carnitina aumentan con la edad. Además, las mujeres presentan concentraciones menores que los hombres de la misma edad adulta; sin embargo, las diferencias relacionadas desaparecen después de los 40 años [23]. Este patrón sugiere que las diferencias surgen tras la pubertad y probablemente están determinadas por factores hormonales asociados con el ciclo reproductivo femenino. Con respecto a la eliminación de VPA, la literatura indica que el aclaramiento del fármaco normalizado por la masa corporal disminuye con el aumento de la edad [12]. Además, la ontogenia de las enzimas metabolizadoras implica que algunas vías de eliminación se desarrollan de manera progresiva y sólo alcanzan su actividad completa con los años [7]. En conjunto, estos factores modifican la contribución relativa de cada vía de eliminación a lo largo de la vida. Las diferencias relacionadas con la edad y el sexo en componentes específicos del sistema, como el aclaramiento de VPA y los niveles de carnitina, pueden influir en el comportamiento de otros

componentes interconectados. Esto resalta la importancia de tener en cuenta de manera explícita estas fuentes de variabilidad en una red de QSP.

Se ha reportado que la unión saturable de VPA a proteínas plasmáticas en población pediátrica es similar a la observada en adultos [16], por lo tanto, se utilizaron los mismos parámetros del modelo para ambos grupos.

Las simulaciones indicaron que la incidencia de efectos adversos aumenta con la edad, y entre los adultos, estos son mayores en hombres que en mujeres. Sin embargo, los infantes presentan la mayor incidencia de hepatotoxicidad. A pesar de estas diferencias, los beneficios de la SC y las recomendaciones de dosificación se mantuvieron consistentes en la población pediátrica.

Previamente, se investigaron las diferencias relacionadas con el sexo en la farmacocinética de VPA [43], las cuales persisten incluso después de normalizar por masa corporal. Estas diferencias se han atribuido a mecanismos como la alteración del transporte hepatobiliar y la regulación hormonal de las enzimas hepáticas. Esta hipótesis se ve respaldada por la observación de que las mujeres bajo terapia anticonceptiva presentan un aclaramiento del fármaco comparable al de los hombres. No obstante, la terapia anticonceptiva no se incluyó como covariable ni en el modelo QSP previo ni en el presente.

Aunque las diferencias relacionadas con el sexo en la disposición de VPA fueron incorporadas para los adultos, las poblaciones pediátricas se simularon únicamente como masculinas. Esta suposición se basó en dos consideraciones. Primero, según la literatura disponible, no se han reportado diferencias relacionadas con el sexo en la farmacocinética del fármaco en niños o infantes, lo que dificulta validar simulaciones adicionales estratificadas por sexo frente a datos clínicos. Segundo, PK-Sim® no implementa diferencias fisiológicas entre sexos, sino únicamente variaciones demográficas. En consecuencia, simular sujetos femeninos en estos grupos etarios solo generaría individuos virtuales más pequeños debido a diferencias en el tamaño corporal.

Las predicciones basadas en el modelo QSP para la SC en pacientes bajo tratamiento con VPA continúan indicando un impacto positivo en la prevención del aumento de los niveles de amonio, tanto en población adulta como pediátrica. Este efecto puede atribuirse, desde un punto de vista mecanístico, a la

restauración de la β -oxidación de ácidos grasos tras la SC, lo que repone los niveles de acetil-CoA y, en consecuencia, mantiene la actividad del ciclo de la urea necesaria para una depuración eficaz del amonio. Según estas simulaciones, la administración de una dosis de L-carnitina equivalente al doble de la dosis de VPA (en mg), manteniendo el mismo intervalo de dosificación, sería eficaz para conservar los niveles de amonio en valores basales ($35 \mu\text{M}$) en toda la población. Tal como se muestra en la Figura 5.6, para dosis diarias de VPA de 15, 25 y 35 mg/kg, se requieren dosis diarias de L-carnitina de 30, 50 y 70 mg/kg, respectivamente, siendo estas suficientes para reducir notablemente la incidencia de hiperamonemia. Además, el modelo QSP predice un beneficio adicional de la SC en la prevención de la hiperlipidemia, ya que su coadministración en tratamientos crónicos con VPA permitiría mantener los niveles de ácidos grasos en sus valores basales (Figura 5.7). Estos resultados coinciden con las prácticas clínicas preventivas empleadas en el Hospital Pediátrico Pereira Rossell de Uruguay.

Finalmente, también se evaluó el impacto de las distintas formulaciones conteniendo VPA sobre la incidencia de hiperamonemia, prediciéndose un ligero beneficio para la formulación de liberación prolongada. Las incidencias globales simuladas de hiperamonemia fueron del 29% (IC90 no paramétrico: 25% - 33%) y 26% (IC90 no paramétrico: 23% - 30%) para las formulaciones de liberación retardada y liberación prolongada, respectivamente. La razón de probabilidades global en la población fue 1,18 (IC90 no paramétrico 0,62 – 2,29,). Para la hiperlipidemia, las incidencias globales simuladas fueron 54% (C90 no paramétrico: 51% - 58%) para la formulación de liberación retardada, y 52% (IC90 no paramétrico: 49% - 56%) para la formulación de liberación prolongada. En este caso, la razón de probabilidades global en la población fue 1,09 (IC90 no paramétrico 0,64 – 1,89). Además, las simulaciones del modelo predijeron riesgo de hepatotoxicidad principalmente en infantes tratados con la formulación Referencia. Estos resultados concuerdan con observaciones previas que reportan una menor incidencia de efectos adversos con formulaciones de liberación prolongada conteniendo VPA [44].

La disfunción hepática y la hiperlipidemia son efectos adversos bien documentados de la terapia con VPA y pueden presentarse de forma simultánea.

Más que compartir una relación causal directa, su aparición concurrente probablemente se deba a la alteración de la función mitocondrial hepática inducida por el fármaco. Un estudio reportó que los pacientes con daño hepático inducido por VPA presentaron un aumento del 50% en los niveles de triglicéridos en comparación con aquellos sin daño hepático, con una incidencia de alteración de la función hepática que alcanzó el 56% en una población pediátrica [19]. Otro estudio encontró que el 34% de una cohorte de 157 niños tratados con VPA presentaba niveles anormales de triglicéridos [45]. Además, otras investigaciones han reportado incidencias globales de hiperlipidemia que oscilan entre el 25% y el 40% [46, 47].

A pesar del desempeño predictivo razonable del modelo QSP expandido, deben reconocerse varias limitaciones. En primer lugar, algunas concentraciones simuladas de VPA difieren de los valores reportados en poblaciones pediátricas (Tabla 5.2), posiblemente debido a la alta variabilidad interindividual inherente a la farmacocinética de VPA y al uso *in vivo* de formulaciones diferentes a las asumidas en el modelo. Las discrepancias entre los aclaramientos simulados y reportados, particularmente en niños de 10 a 14 años, podrían contribuir al desajuste en las concentraciones de VPA; sin embargo, en niños de 0 a 10 años estas diferencias son menores. Más aún, las simulaciones que comparan las métricas de exposición incluyeron niños de 2 a 14 años, lo que ayuda a reducir el efecto de estas desviaciones. Este desajuste no debería afectar de manera sustancial las conclusiones del trabajo, dado que se trata de un análisis comparativo y las discrepancias impactan por igual en ambas formulaciones. No obstante, debe considerarse que estas diferencias podrían conducir a una subestimación de la incidencia de eventos de toxicidad en la población pediátrica, lo que representa una limitación para tener en cuenta en la interpretación de los resultados.

En segundo lugar, aunque se incorporaron parámetros dependientes de la edad y el sexo, la función de maduración para UGT2B7 se implementó como una relación lineal basada en datos limitados disponibles, lo que podría no representar completamente la complejidad biológica de la ontogenia enzimática. Además, las predicciones del modelo para componentes como amonio y ácidos grasos se basan en promedios poblacionales publicados, que podrían no reflejar

toda la variabilidad observada en la práctica clínica. Por último, si bien el modelo se validó a múltiples escenarios clínicos, los datos de la cuantificación simultánea de VPA, sus metabolitos, amonio y carnitina en poblaciones pediátricas son escasos, lo que limita la capacidad para validar de forma integral todos los aspectos del modelo.

Otro aspecto interesante para evaluar con el enfoque QSP es el efecto de la hipoalbuminemia sobre la fracción libre de VPA, con el objetivo de comprender su impacto en la incidencia de toxicidades inducidas por el fármaco. Si bien se espera un aumento en la fracción libre del VPA en pacientes hipoalbuminémicos, no necesariamente se observarían cambios en las concentraciones libres del fármaco. Sin embargo, esta afirmación ha sido puesta en duda a lo largo de los años, sin darse una explicación consistente de por qué la concentración libre aumentaría si lo que se elimina es precisamente el fármaco libre, y salvo su distribución hacia la albúmina, no habría motivos para que su depuración se viera modificada.

No obstante, parece no haber dudas de que la albúmina es sustancial para que los ácidos grasos puedan penetrar a los tejidos. Por un lado, facilita su disolución en el agua plasmática, por otro lado, acerca sus moléculas a la membrana del endotelio capilar (en capilares continuos, como los del músculo esquelético) y a la membrana de las células del tejido (en el caso de capilares discontinuos, como los del hígado) [48, 49]. Por consiguiente, los solutos con alta tasa de unión a la albúmina, como el caso de los ácidos grasos y VPA, entre otros fármacos, la modificación de la tasa de unión a la albúmina sí modificaría el aclaramiento del fármaco libre. Se han reportado casos de pacientes hipoalbuminémicos con concentraciones libres anormalmente elevadas de VPA, lo cual podría estar relacionado con eventos de neurotoxicidad [50, 51]. Las concentraciones reducidas de albúmina además podrían contribuir a una menor eliminación de triglicéridos, favoreciendo un aumento en los niveles lipídicos y, por tanto, una mayor incidencia de dislipidemia [45]. También se ha demostrado que los ácidos grasos libres en plasma pueden desplazar al VPA de su unión a la albúmina y modificar su depuración [52]. Más aun, la hepatotoxicidad inducida por VPA puede derivar en hipoalbuminemia, exacerbando estos efectos.

Finalmente, la incorporación de la conversión de glutamato a glutamina en el modelo podría permitir la predicción de convulsiones inducidas por VPA, dado que ambos compuestos desempeñan un papel clave en dichos eventos [53, 54].

Conclusiones

Este trabajo representa la segunda fase en el desarrollo de un modelo QSP orientado a caracterizar la hiperamonemia inducida por VPA y los efectos de la SC. Mediante la incorporación de una función de ontogenia y covariables de edad y sexo al modelo previamente desarrollado, el presente modelo permite describir de manera efectiva no solo la hiperamonemia inducida por VPA, sino también los trastornos hepáticos asociados, tanto en poblaciones pediátricas como adultas. Las diferencias entre formulaciones conteniendo VPA en la exposición al fármaco influyen en la aparición de efectos adversos durante tratamientos crónicos. Los resultados obtenidos indican que la formulación de liberación prolongada presenta una menor incidencia de efectos adversos en comparación con la formulación de liberación retardada, si bien la significancia estadística es escasa. Además, el modelo actual permite realizar recomendaciones sobre la SC en la población pediátrica, las cuales coinciden con las establecidas para la población adulta.

Bibliografía

1. Food and Drug Administration (2022) General considerations for pediatric pharmacokinetic studies for drugs and biological products. FDA Guid
2. European Medicines Agency (2006) Guideline on the role of pharmacokinetics in the development of medicinal products in the paediatric population. Eur Med Agency 1–8
3. Liu KA, Dipietro Mager NA (2016) Women's involvement in clinical trials: Historical perspective and future implications. Pharm Pract (Granada) 14:1–9. <https://doi.org/10.18549/PharmPract.2016.01.708>
4. European Medicines Agency (2010) Guideline on the investigation of bioequivalence. Eur Med Agency 1–27. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.569006>
5. Food and Drug Administration (2021) Bioequivalence Studies with

Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA. FDA Guid 24

6. Ghodke-Puranik Y, Thorn CF, Lamba JK, et al (2013) Valproic acid pathway: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 23:236–241. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2>
7. Huang YT, Huang YM, Kung FL, et al (2023) Physiologically based mechanistic insight into differential risk of valproate hepatotoxicity between children and adults: A focus on ontogeny impact. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 12:1960–1971. <https://doi.org/10.1002/psp4.13045>
8. Koukouritaki SB, Manro JR, Marsh SA, et al (2004) Developmental Expression of Human Hepatic CYP2C9 and CYP2C19. *J Pharmacol Exp Ther* 308:965–974. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.060137>
9. Zane NR, Chen Y, Wang MZ, Thakker DR (2018) Cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase families: Age-dependent differences in expression and functional activity. *Pediatr Res* 83:527–535. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.226>
10. Bhatt DK, Mehrotra A, Gaedigk A, et al (2019) Age- and Genotype-Dependent Variability in the Protein Abundance and Activity of Six Major Uridine Diphosphate-Glucuronosyltransferases in Human Liver. *Clin Pharmacol Ther* 105:131–141. <https://doi.org/10.1002/cpt.1109>
11. Zaya MJ, Hines RN, Stevens JC (2006) Epirubicin glucuronidation and UGT2B7 developmental expression. *Drug Metab Dispos* 34:2097–2101. <https://doi.org/10.1124/dmd.106.011387>
12. Blanco Serrano B, García Sánchez MJ, Otero MJ, et al (1999) Valproate population pharmacokinetics in children. *J Clin Pharm Ther* 24:73–80. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.1999.00202.x>
13. Chiba K, Suganuma T, Ishizaki T, et al (1985) Comparison of steady-state pharmacokinetics of valproic acid in children between monotherapy and multiple antiepileptic drug treatment. *J Pediatr* 106:653–658. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(85\)80097-4](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(85)80097-4)

14. Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Tucker GT (2006) Prediction of the clearance of eleven drugs and associated variability in neonates, infants and children. *Clin Pharmacokinet* 45:931–956. <https://doi.org/10.2165/00003088-200645090-00005>
15. Johnson TN, Tucker GT, Tanner MS, Rostami-Hodjegan A (2005) Changes in liver volume from birth to adulthood: A meta-analysis. *Liver Transplant* 11:1481–1493. <https://doi.org/10.1002/lt.20519>
16. Ueshima S, Aiba T, Makita T, et al (2008) Characterization of non-linear relationship between total and unbound serum concentrations of valproic acid in epileptic children. *J Clin Pharm Ther* 33:31–38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2008.00885.x>
17. Chicharro A V., de Marinis AJ, Kanner AM (2007) The measurement of ammonia blood levels in patients taking valproic acid: Looking for problems where they do not exist? *Epilepsy Behav* 11:361–366. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2007.06.015>
18. Meseguer ES, Elizalde MU, Borobia AM, Ramírez E (2021) Valproic acid-induced liver injury: A case-control study from a prospective pharmacovigilance program in a tertiary hospital. *J Clin Med* 10:1–13. <https://doi.org/10.3390/jcm10061153>
19. Xu S, Chen Y, Ma Y, et al (2019) Lipidomic Profiling Reveals Disruption of Lipid Metabolism in Valproic Acid-Induced Hepatotoxicity. *Front Pharmacol* 10:. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00819>
20. Dreifuss FE, Santilli N, Langer DH, et al (1987) Valproic acid hepatic fatalities: A retrospective review. *Neurology* 37:379–385
21. Hoppel C (2003) The role of carnitine in normal and altered fatty acid metabolism. *Am J Kidney Dis* 41:S4–S12. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(03\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(03)00112-4)
22. Battistella P, Vergani L, Donzelli F, et al (1980) Plasma and Urine Carnitine Levels During Development. *Pediatr Res* 14:1379–1381. <https://doi.org/10.1203/00006450-198012000-00024>

23. Takiyama N, Matsumoto K (1998) Age- and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population. *J Am Coll Nutr* 17:71–74. <https://doi.org/10.1080/07315724.1998.10720458>
24. Esbjörnsson M, Jansson E (1999) Sex difference in plasma ammonia but not in muscle inosine monophosphate accumulation following sprint exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 79:404–408. <https://doi.org/10.1007/s004210050529>
25. Ezgu F (2016) *Inborn Errors of Metabolism*, 1st ed. Elsevier Inc.
26. Schiavo A, Fagiolino P, Vázquez M, et al (2024) Model-Based Bioequivalence Analysis to Assess and Predict the Relative Bioavailability of Valproic Acid Formulations. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13318-024-00901-8>
27. Schiavo A, Maldonado C, Vázquez M, et al (2023) Quantitative systems pharmacology Model to characterize valproic acid-induced hyperammonemia and the effect of L-carnitine supplementation. *Eur J Pharm Sci* 183:106399. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106399>
28. Wickham H (2016) *ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics*
29. Wickham H, François R, Henry L, Müller K (2018) *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. R package version
30. Cloyd JC, Fischer JH, Kriel RL, Kraus DM (1993) Valproic acid pharmacokinetics in children. IV. Effects of age and antiepileptic drugs on protein binding and intrinsic clearance. *Clin Pharmacol Ther*. <https://doi.org/10.1038/clpt.1993.5>
31. Sánchez Alcaraz A, Vergara BQ (1998) Valproic acid clearance in children with epilepsy
32. Rohatgi A (2022) *WebPlotDigitizer*
33. Willmann S, Lippert J, Sevestre M, et al (2003) PK-Sim®: a physiologically based pharmacokinetic ‘whole-body’ model. *BIOSILICO* 1:121–124. [https://doi.org/10.1016/S1478-5382\(03\)02342-4](https://doi.org/10.1016/S1478-5382(03)02342-4)

34. Valentin J, Streffer C (2002) Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: Reference values - ICRP Publication 89. *Ann ICRP* 32:1–277. [https://doi.org/10.1016/S0146-6453\(03\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0146-6453(03)00002-2)
35. Holford NHG, Anderson BJ (2017) Allometric size: The scientific theory and extension to normal fat mass. *Eur J Pharm Sci* 109:S59–S64. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.056>
36. Badée J, Qiu N, Collier AC, et al (2019) Characterization of the Ontogeny of Hepatic UDP-Glucuronosyltransferase Enzymes Based on Glucuronidation Activity Measured in Human Liver Microsomes. *J Clin Pharmacol* 59:S42–S55. <https://doi.org/10.1002/jcph.1493>
37. Neumann E, Mehboob H, Ramírez J, et al (2016) Age-dependent hepatic UDP-glucuronosyltransferase gene expression and activity in children. *Front Pharmacol* 7:1–7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00437>
38. Kondo T, Kaneko S, Otani K, et al (1992) Associations Between Risk Factors for Valproate Hepatotoxicity and Altered Valproate Metabolism. *Epilepsia*. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1992.tb02302.x>
39. Kondo T, Kaneko S, Otani K, et al (1992) Associations Between Risk Factors for Valproate Hepatotoxicity and Altered Valproate Metabolism
40. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al (2016) 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* 37:2999-3058I. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw272>
41. Zaccara G, Messori A, Moroni F (1988) Clinical Pharmacokinetics of Valproic Acid. *Clin Pharmacokinet* 15:367–389. <https://doi.org/10.2165/00003088-198815060-00002>
42. Tseng YL, Huang CR, Lin CH, et al (2014) Risk factors of hyperammonemia in patients with epilepsy under valproic acid therapy. *Med (United States)* 93:e66. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000066>
43. Ibarra M, Vázquez M, Fagiolino P, Derendorf H (2013) Sex related differences on valproic acid pharmacokinetics after oral single dose. *J*

- Pharmacokinet Pharmacodyn. <https://doi.org/10.1007/s10928-013-9323-3>
44. Vázquez M, Fagiolino P, Maldonado C, et al (2014) Hyperammonemia associated with valproic acid concentrations. *Biomed Res Int* 2014:.. <https://doi.org/10.1155/2014/217269>
 45. Liang T, Lin C, Ning H, et al (2024) Pre-treatment risk predictors of valproic acid-induced dyslipidemia in pediatric patients with epilepsy. *Front Pharmacol* 15:.. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1349043>
 46. Bai X, Hong W, Cai P, et al (2017) Valproate induced hepatic steatosis by enhanced fatty acid uptake and triglyceride synthesis. *Toxicol Appl Pharmacol* 324:12–25. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.03.022>
 47. Chang R, Chou M-C, Hung L-Y, et al (2016) Study of Valproic Acid-Enhanced Hepatocyte Steatosis. *Biomed Res Int* 2016:1–11. <https://doi.org/10.1155/2016/9576503>
 48. Van Der Vusse GJ, Glatz JFC, Van Nieuwenhoven FA, et al (1998) Transport of long-chain fatty acids across the muscular endothelium. *Adv Exp Med Biol* 441:181–191. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1928-1_17
 49. van der Vusse GJ (2009) Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab Pharmacokinet* 24:300–307. <https://doi.org/10.2133/dmpk.24.300>
 50. Cramer J, Mattson R (1979) Valproic acid: in vitro plasma protein binding and interaction with phenytoin. *Ther Drug Monit* 1:105–106
 51. Gidal BE, Collins DM, Beinlich BR (1993) Apparent Valproic Acid Neurotoxicity in a Hypoalbuminemic Patient. *Ann Pharmacother* 27:32–35. <https://doi.org/10.1177/106002809302700107>
 52. Koch KM, Wilensky AJ, Levy RH (1989) β -Oxidation of Valproic Acid. I. Effects of Fasting and Glucose in Humans. *Epilepsia* 30:782–789. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1989.tb05338.x>
 53. Collins RM, Zielke HR, Woody RC (1994) Valproate Increases Glutaminase and Decreases Glutamine Synthetase Activities in Primary Cultures of Rat Brain Astrocytes. *J Neurochem* 62:1137–1143. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62031137.x>

54. Lheureux PER, Penaloza A, Zahir S, Gris M (2005) Science review: Carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity - What is the evidence? Crit. Care 9:431–440

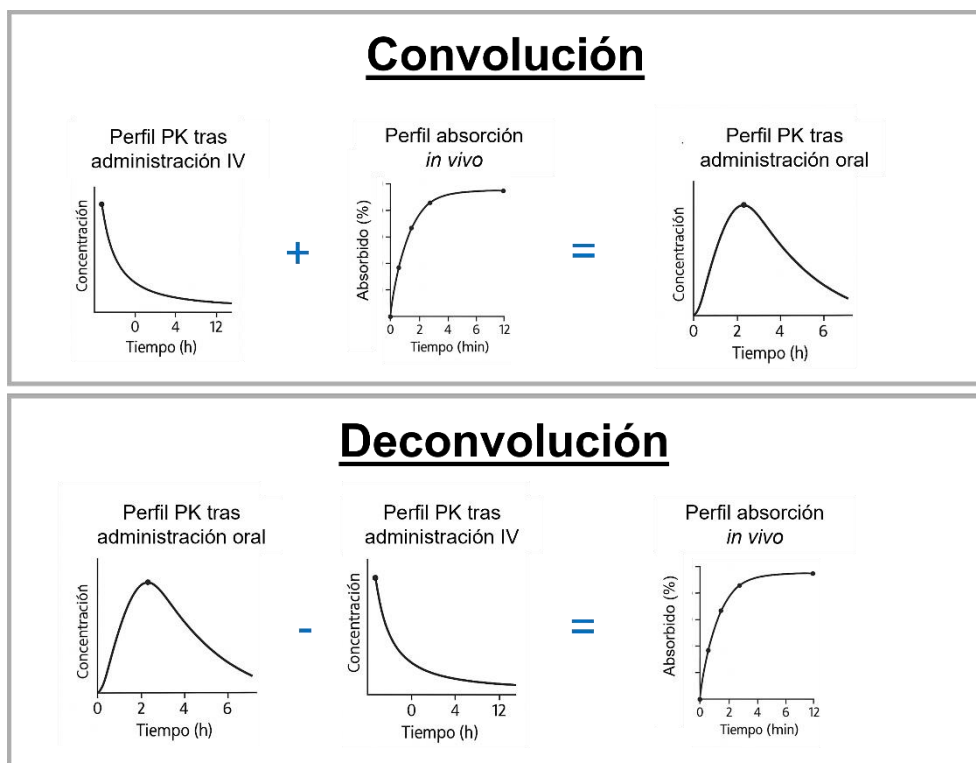
6. Modelizado y simulación para orientar el desarrollo de medicamentos de liberación inmediata y liberación prolongada

Introducción

Las IVIVC son estrategias ampliamente utilizadas para guiar el desarrollo de formulaciones ya que permiten establecer relaciones cuantitativas entre el desempeño *in vitro* de una o varias formulaciones y su comportamiento *in vivo* [1]. Una vez establecida, esta relación puede utilizarse con fines predictivos para optimizar formulaciones, establecer límites de disolución dentro de los cuales se cumpla determinada especificación, reducir el número de estudios clínicos durante el desarrollo del producto y facilitar ciertas decisiones regulatorias [2, 3].

Existen tres niveles de IVIVC, que se diferencian según el tipo de datos comparados y la forma en que se establece la relación entre ellos. El nivel A se considera el más informativo, ya que permite una correlación directa entre los perfiles *in vitro* e *in vivo* a lo largo del tiempo, siendo el único nivel con potencial validado para fines predictivos y regulatorios [4, 5]. Para formulaciones orales, el enfoque tradicional basado en deconvolución/convolución es la metodología más utilizada para establecer IVIVC de nivel A. En este marco de modelado, el análisis de deconvolución se utiliza para estimar el perfil temporal de ingreso del fármaco al organismo cuando se conocen sus propiedades de disposición y el perfil farmacocinético observado tras la administración oral en el mismo sujeto [2, 3]. Por otro lado, la convolución permite predecir el perfil farmacocinético cuando se dispone de las propiedades de disposición del fármaco y de los datos de velocidad de liberación del fármaco *in vivo*, el cual puede ser simulado a partir de IVIVC [3]. El objetivo de estos enfoques se representa en la Figura 6.1.

Figura 6.1 Objetivos e información necesaria para los enfoques de convolución (arriba) y deconvolución (abajo)



Nota: la escala de los ejes es a modo ilustrativo y no necesariamente se va a observar esa relación entre los tiempos de los distintos perfiles.

Considerando que la liberación/disolución puede medirse mediante pruebas *in vitro*, es esperable obtener IVIVC exitosas principalmente para los fármacos de clase I y II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, ya que para estas clases la permeabilidad del fármaco no es el factor determinante [6]. Los métodos de absorción mecanicistas, desarrollados en los últimos años, logran abordar esta limitante. Estos modelos son utilizados para evaluar distintos escenarios de la absorción de fármacos, incluyendo aquellos en los que la permeabilidad desempeña un papel determinante. Este enfoque, denominado modelado biofarmacéutico de base fisiológica (*PBBM*, por su sigla en inglés), permite simular y predecir perfiles farmacocinéticos, aun en ausencia de datos *in vivo* previos. Además, posibilita la integración de manera independiente de los procesos de disolución, permeabilidad intestinal, tránsito luminal, metabolismo en la mucosa y metabolismo de primer paso, entre otros [2, 7]. Las observaciones posteriores sirven para validar estas predicciones mediante un proceso de aprendizaje y confirmación. Su principal fortaleza radica en la

optimización de atributos críticos de calidad de los productos farmacéuticos, proporcionando un marco integrador para establecer correlaciones *in vitro* – *in silico* – *in vivo* [7].

Existen guías específicas que orientan la implementación de este enfoque durante el desarrollo de medicamentos, con el fin de reducir el número de ensayos clínicos requeridos para la aprobación de su comercialización [8]. Entre sus aplicaciones se incluyen la predicción del impacto de cambios post-aprobación en el proceso de fabricación, la proyección de resultados de estudios de bioequivalencia y la evaluación del efecto de los alimentos, en particular sobre la disolución y absorción de los medicamentos [9]. Su objetivo principal es optimizar el desarrollo de medicamentos con un enfoque centrado en el paciente, disminuyendo la necesidad de pruebas clínicas mediante simulaciones fisiológicamente fundamentadas [7].

En el marco de un convenio entre la Fundación para el Progreso de la Química (FUNDAQUIM) y un laboratorio farmacéutico privado, se realizó un proyecto de investigación con el objetivo de respaldar la toma de decisiones en el desarrollo de formulaciones bioequivalentes de liberación inmediata y de liberación prolongada conteniendo un fármaco de clase II en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, mediante modelizado y simulación farmacométrica, deconvolución de los perfiles farmacocinéticos y correlaciones *in vitro* - *in silico* - *in vivo*. Se partió de dos estudios de bioequivalencia no concluyentes, uno entre formulaciones de liberación inmediata y otro entre formulaciones de liberación prolongada. El resultado del estudio entre las formulaciones de liberación inmediata no fue concluyente debido a la elevada variabilidad residual obtenida. Por otro lado, el estudio de bioequivalencia para las formulaciones de liberación prolongada evidenció diferencias significativas en la velocidad de absorción entre los productos. Sin embargo, los perfiles de disolución *in vitro*, proporcionadas por el patrocinador, fueron similares bajo distintas condiciones de ensayo. Estos resultados motivaron la búsqueda de las condiciones biorrelevantes de un ensayo de disolución *in vitro* que permitan predecir el desempeño *in vivo* de nuevas formulaciones de liberación prolongada.

Por motivos de confidencialidad de datos pertenecientes al laboratorio farmacéutico, no se incluye en este capítulo el nombre del principio activo ni de

la empresa involucrada, así como ninguna cita que pueda revelar información respecto al fármaco. En el marco de la presente tesis doctoral, este capítulo busca ilustrar mediante una prueba de concepto, cómo los métodos *in silico* pueden ser aplicados para la predicción de la bioequivalencia y para la generación de insumos para la toma de decisión en el desarrollo de productos bioequivalentes. Dado que el desarrollo apunta a la formulación, se entiende que este objetivo específico es alcanzado manteniendo la confidencialidad sobre el principio activo.

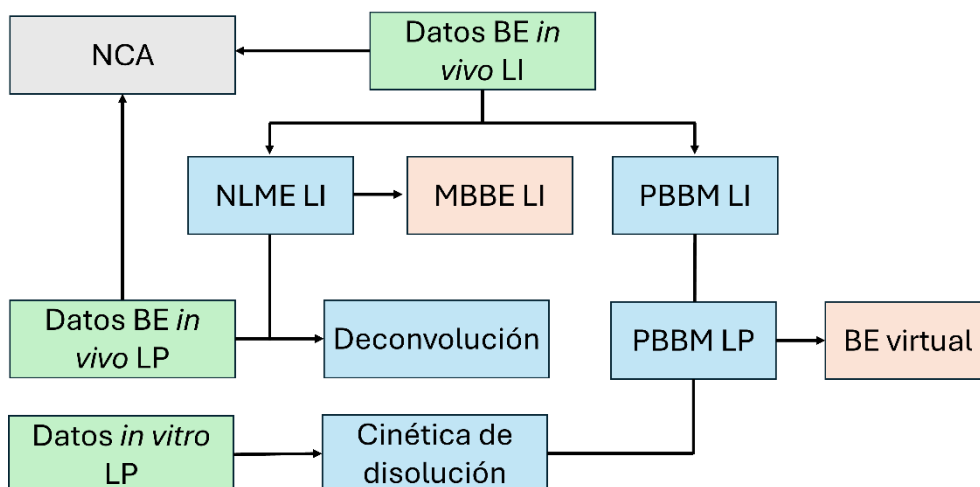
Objetivos

Orientar el desarrollo de dos formulaciones farmacéuticas, una de liberación inmediata y otra de liberación prolongada, que resulten bioequivalentes con sus respectivas formulaciones de referencia, mediante la integración de modelos farmacocinéticos, metodologías de deconvolución y correlaciones *in vitro* – *in silico* – *in vivo* que permitan optimizar las condiciones del ensayo de disolución *in vitro* y el diseño de estudios de bioequivalencia *in vivo*.

Metodología

El flujo de trabajo utilizado en esta investigación para cumplir con los objetivos se muestra en la Figura 6.2. Los datos observados *in vivo* en los estudios de bioequivalencia suministrados por el patrocinador fueron analizados mediante NCA, con especial atención a la detección de posibles diferencias relacionadas con el sexo de los voluntarios. Posteriormente, se utilizaron las observaciones para desarrollar un modelo NLME para la formulación de liberación inmediata, con el fin de analizar las razones que llevaron a que el estudio fuera no concluyente. Este modelo se utilizó como base para el desarrollo de un modelo PopPK para la formulación de liberación prolongada, que permitió obtener el perfil de disolución *in vivo* mediante técnicas de deconvolución. Paralelamente, se desarrolló un modelo PBBM para las formulaciones, con el cual se compararon las cinéticas de disolución *in vitro* en distintos medios biorrelevantes con las obtenidas por deconvolución. El objetivo fue identificar las condiciones de ensayo de disolución *in vitro* que mejor predijeran el comportamiento de disolución *in vivo*. Finalmente, se hicieron predicciones de bioequivalencia y se determinó el diseño de muestreo y el número de voluntarios necesarios para poder concluir sobre la biodisponibilidad relativa para las nuevas formulaciones.

Figura 6.2 Flujo de trabajo realizado para guiar el desarrollo de formulaciones de liberación inmediata y liberación prolongada



Verde: datos proporcionados por el patrocinador. Gris: análisis no compartimental. Celeste: procesos de modelizado. Naranja: análisis basado en modelos.

Datos aportados por el patrocinador

Se contó con los datos de dos estudios de bioequivalencia. El estudio de bioequivalencia de la formulación de liberación inmediata enroló a 24 voluntarios sanos (13 mujeres y 11 hombres), con una media de 36 años y 66,0 kg. El fármaco se muestreó a las 0, 0,5, 1, 1,5, 1,75, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 24 y 48 horas tras la administración.

El estudio de bioequivalencia de la formulación de liberación prolongada enroló también a 24 voluntarios sanos (13 mujeres y 11 hombres), con una media de 36 años y 67,9 kg. El fármaco se muestreó a las 0, 1, 2, 3, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 7, 10, 12, 24, 48 y 72 horas tras la administración.

El laboratorio solicitante también proporcionó los perfiles de disolución comparativos para los productos evaluados obtenidos con Aparato 2 USP a 75 rpm en cada uno de los siguientes medios (900 mL, 37°C +/- 0,5 °C): agua, KCl/HCl pH 1,2, solución amortiguadora acetato pH 4,5, solución amortiguadora fosfato pH 6,8 y en condiciones biorrelevantes.

Análisis no compartimental de los datos de bioequivalencia

Los datos de los estudios de bioequivalencia cruzados, aleatorios y compensados brindados por el patrocinador fueron incorporados a un libro de

Microsoft Excel® diseñado y validado que permite el NCA de los mismos. Para cada estudio, se computaron las métricas farmacocinéticas de interés, ajustando las funciones para obtener constantes de disposición lenta similares a las reportadas en bibliografía. Se obtuvieron los perfiles individuales, el perfil medio para cada formulación y el gráfico de espaguetis para las métricas analizadas. También se hicieron el análisis ANOVA y las pruebas de Wilcoxon, tanto para la muestra entera de voluntarios como estratificado por sexos.

Modelo no lineal de efectos mixtos para las formulaciones de liberación inmediata

Los datos del estudio de bioequivalencia entre las formulaciones de liberación inmediata se analizaron mediante modelos NLME utilizando los softwares MonolixSuite 2020R2 (Lixoft, Francia) y NONMEM (ICON Development Solutions) [10]. El desarrollo del modelo fue guiado por distintos diagnósticos métricos y gráficos de bondad de ajuste. Entre los primeros se incluyeron el criterio de información bayesiano (BIC), como medida global de ajuste penalizada por la complejidad del modelo, la incertidumbre en la estimación de los parámetros poblacionales expresada como RSE, y la plausibilidad de los parámetros estimados en función de reportes bibliográficos previos. Los diagnósticos gráficos abarcaron la comparación de observaciones versus predicciones, los gráficos de ajuste individual (concentración observada y predicha en función del tiempo), el análisis de residuos en función del tiempo y en función de la concentración, y el VPC.

Los datos correspondientes a muestras no cuantificables y no detectables se incorporaron al análisis NLME mediante la aplicación del método M4 propuesto por Beal [11]. Para ello, se estableció un límite de cuantificación de 1 ng/mL y un límite de detección de 0,2 ng/mL.

Deconvolución de perfiles de disolución in vivo de las formulaciones de liberación prolongada

Con el objetivo de orientar la toma de decisiones en el proceso de selección de una nueva formulación Test, se planteó encontrar condiciones de disolución *in vitro* biorrelevantes capaces de discriminar las diferencias entre formulaciones de manera consistente con lo observado *in vivo*.

La deconvolución se realizó mediante modelos NLME, de acuerdo a lo descrito por Gomeni et al., fijando los parámetros de disposición estimados con las formulaciones de liberación inmediata para estimar los parámetros de los distintos modelos de absorción evaluados para las formulaciones de liberación prolongada (Weibull, doble Weibull y no paramétrico) [3, 12]. Este análisis se realizó para obtener el perfil de ingreso del fármaco en función del tiempo a partir de los perfiles farmacocinéticos observados tras la administración oral de las formulaciones de interés. Dicho perfil integra la información vinculada a los procesos de liberación, disolución y absorción. Dado que se trata de un principio activo de baja solubilidad y alta permeabilidad, incorporado en formulaciones de liberación prolongada, el perfil de ingreso estará condicionado principalmente por la velocidad de liberación/disolución del fármaco en los fluidos del tracto gastrointestinal.

Modelo biofarmacéutico de base fisiológica para las formulaciones

Se desarrolló un modelo PBBM en PK-Sim® (Open Systems Pharmacology) [13, 14], integrando las propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas del fármaco recopiladas de la bibliografía. Los perfiles de disolución *in vitro*, comparados con los obtenidos por deconvolución para las formulaciones de liberación prolongada, se integraron a este modelo para reproducir los resultados observados en el estudio de bioequivalencia, estableciendo correlaciones *in vitro* – *in silico* – *in vivo*. De esta manera, se identificaron las condiciones de disolución *in vitro* que mejor reflejan el comportamiento observado *in vivo*.

Bioequivalencia basada en modelos

Luego de obtener el modelo NLME final, se realizó un análisis MBBE [15] para explorar el impacto del diseño experimental sobre los resultados obtenidos. El procedimiento incluyó: i) la simulación de 2400 (100 réplicas, 24 sujetos por réplica) perfiles de concentración en función del tiempo para ambas formulaciones, empleando tanto el esquema de muestreo original como un esquema extendido con intervalos de 0,1 horas, y ii) la realización de un análisis de bioequivalencia promedio sobre los perfiles simulados, obteniendo IC90 para el cociente de medias geométricas Test/Referencia.

Adicionalmente, se efectuó un análisis estratificado por sexo con el objetivo de indagar si las diferencias de biodisponibilidad observadas entre los productos Test y Referencia podían estar relacionadas con esta variable.

Resultados

Análisis no compartimental de los datos de bioequivalencia

Los perfiles farmacocinéticos obtenidos en el estudio de bioequivalencia entre las formulaciones de liberación inmediata se presentan en la Figura 6.3. Para estos datos se realizó un análisis ANOVA, cuyos resultados se resumen en la Tabla 6.1. Si bien el análisis indica una exposición similar del fármaco en el organismo, la variabilidad residual observada en la C_{\max} no permite concluir bioequivalencia, dado que el IC90 para el cociente de medias geométricas fue 0,905 – 1,35. Se evaluaron las fuentes de variabilidad sujetos, secuencia, tratamientos y período, identificándose únicamente a los sujetos como fuente significativa en la variabilidad total. El análisis estratificado por sexos no permite explicar la variabilidad total observada (Figura 6.4). Según los resultados de la prueba de Wilcoxon, no existen diferencias estadísticas significativas en los T_{\max} de las formulaciones en estudio.

Figura 6.3 Perfiles farmacocinéticos poblacionales, estratificados por formulación, para las formulaciones de liberación inmediata

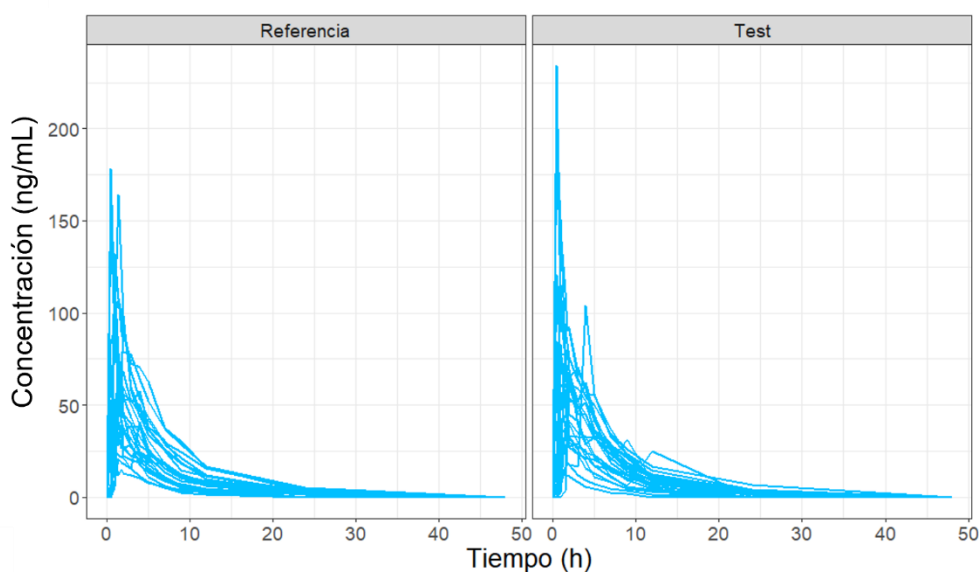
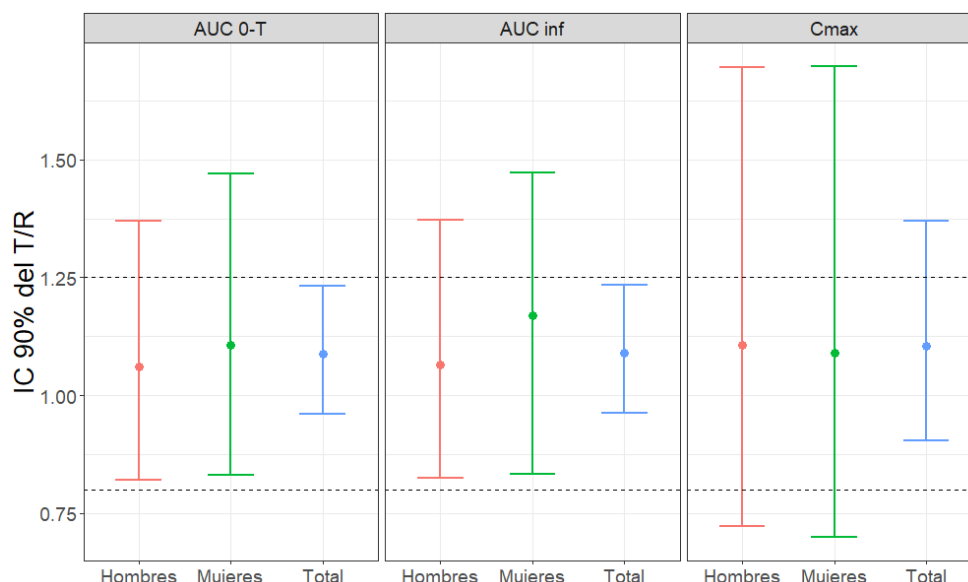


Tabla 6.1 Resultados del análisis ANOVA para las formulaciones de liberación inmediata

Métrica	Test	Referencia	T/R	IC 90%		CV (%)
AUC _T	327	301	1,09	0,960	1,23	25,5
AUC _{inf}	328	301	1,09	0,963	1,23	25,5
C _{max}	76,6	69,4	1,10	0,905	1,35	41,8

Abreviaturas: T/R: cociente de medias geométricas Test/Referencia. IC 90%: intervalo de confianza para el cociente de medias geométricas Test/Referencia. CV (%): coeficiente de variación.

Figura 6.4 Intervalos de confianza 90% para el cociente de medias geométricas, estratificado por sexo y para la muestra total de voluntarios, para las formulaciones de liberación inmediata



Por su parte, la Figura 6.5 presenta los perfiles farmacocinéticos obtenidos en el estudio de bioequivalencia entre las formulaciones de liberación prolongada, y la Tabla 6.2 resume los respectivos resultados del análisis ANOVA. Los voluntarios 8 y 18 fueron excluidos del estudio de bioequivalencia, de manera que sus concentraciones no fueron cuantificadas. En este caso, el análisis indica una exposición similar del fármaco en el organismo, pero una marcada diferencia en la velocidad de ingreso, dado que el cociente de medias geométricas Test/Referencia para la C_{max} (T/R = 1,42) se encuentra por fuera del rango permitido. En este caso, el IC90 para el cociente de medias geométricas de esta métrica fue 1,11 – 1,81. La fuente de variabilidad sujetos resultó significativa en

la variabilidad total del AUC, y la fuente de variabilidad tratamientos resultó significativa en la variabilidad total de la C_{max} . Como puede verse en la Figura 6.6, en este estudio tampoco se evidenciaron diferencias en las observaciones relativas al sexo de los voluntarios. Sin embargo, uno de los voluntarios de sexo masculino presentó una C_{max} mayor al resto, provocando una gran variabilidad interindividual de la métrica. Según los resultados de la prueba de Wilcoxon, no existen diferencias estadísticas significativas en los T_{max} de las formulaciones en estudio.

Figura 6.5 Perfiles farmacocinéticos poblacionales, estratificados por formulación, para las formulaciones de liberación prolongada

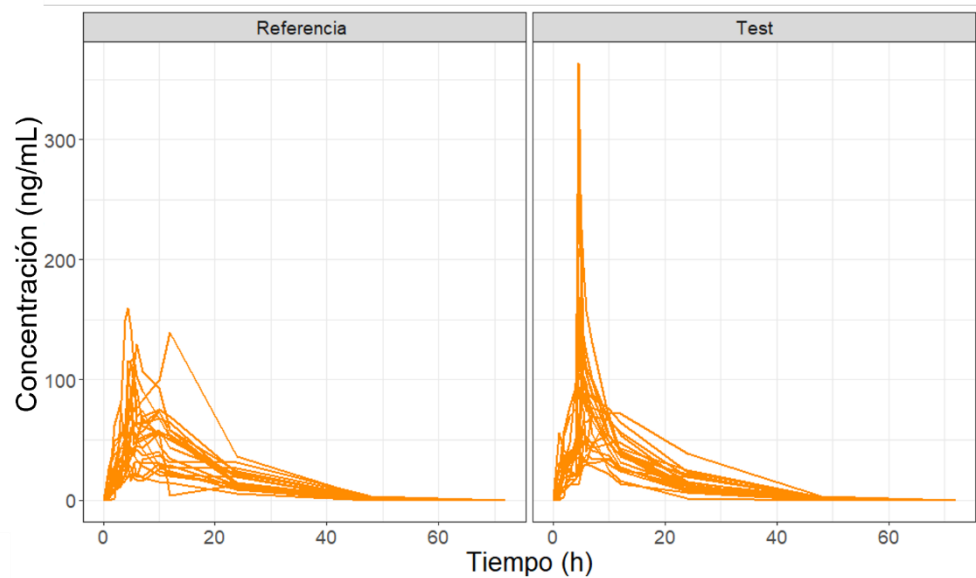
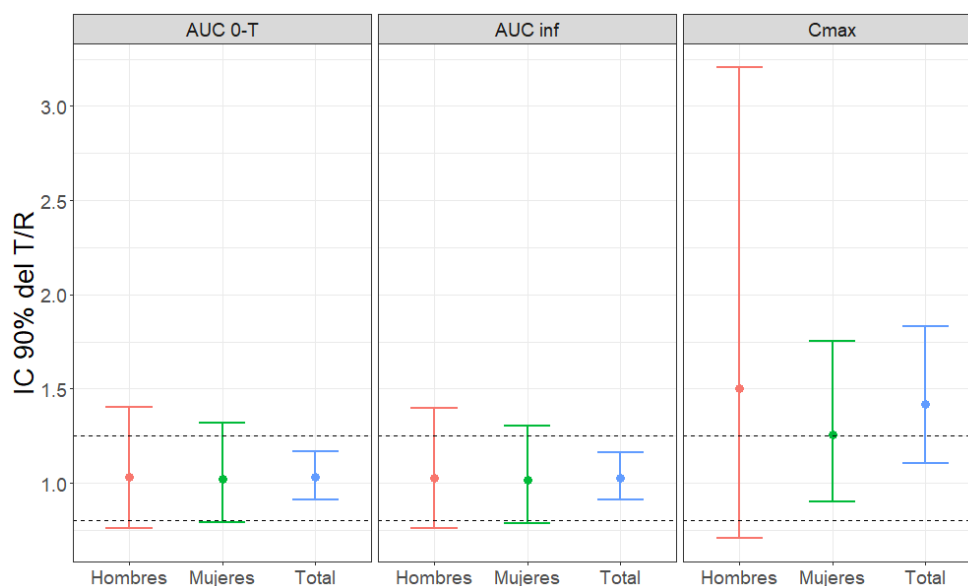


Tabla 6.2 Resultados del análisis ANOVA para las formulaciones de liberación prolongada

Métrica	Test	Referencia	T/R	IC 90%		CV (%)
AUC _T	925	896	1,03	0,912	1,17	24,0
AUC _{inf}	930	905	1,03	0,909	1,16	23,7
Cmax	93,1	65,8	1,42	1,11	1,81	50,1

Abreviaturas: T/R: cociente de medias geométricas Test/Referencia. IC 90%: intervalo de confianza para el cociente de medias geométricas Test/Referencia. CV (%): coeficiente de variación.

Figura 6.6 Intervalos de confianza 90% para el cociente de medias geométricas, estratificado por sexo y para la muestra total de voluntarios, para las formulaciones de liberación prolongada



Análisis basados en modelos para las formulaciones de liberación inmediata

Para el desarrollo del modelo NLME, se analizaron ambas formulaciones de liberación inmediata en conjunto. Se evaluaron modelos de 1, 2 y 3 compartimentos para la disposición y distintos modelos de absorción. Dado que cada individuo aportaba dos perfiles farmacocinéticos, el análisis se realizó en dos etapas. Inicialmente, se asignaron identificadores independientes por sujeto y período, permitiendo modelar únicamente la variabilidad interindividual y simplificar así la estructura estadística. Se evaluaron modelos de error residual aditivo, proporcional y combinado. Tras definir el modelo estructural, se amplió la estructura estadística para reflejar que cada individuo fue medido en dos ocasiones, incorporando así la variabilidad interocasión. Esta componente abarca tanto la variabilidad intraindividual como efectos asociados a diferencias entre períodos. Los efectos aleatorios (variabilidad interindividual y variabilidad interocasión) en los parámetros farmacocinéticos fueron introducidos mediante una distribución log-normal, estimando la correspondiente desviación estándar.

Una vez arribado al modelo base, se realizó un análisis de covariables para evaluar el impacto de la formulación sobre parámetros de biodisponibilidad, así como el impacto del sexo, edad y masa corporal en los demás parámetros farmacocinéticos. Finalmente se analizaron las dos formulaciones por separado

para comparar la variabilidad interindividual vinculada a los distintos parámetros farmacocinéticos.

El modelo de mejor ajuste fue bicompartimental, con absorción de primer orden y tiempo de latencia. La biodisponibilidad se fijó en 1 para la formulación Referencia y se estimó la biodisponibilidad relativa para la formulación Test. Los valores estimados para los distintos parámetros del modelo se resumen en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3 Valores estimados de los parámetros del modelo no lineal de efectos mixtos

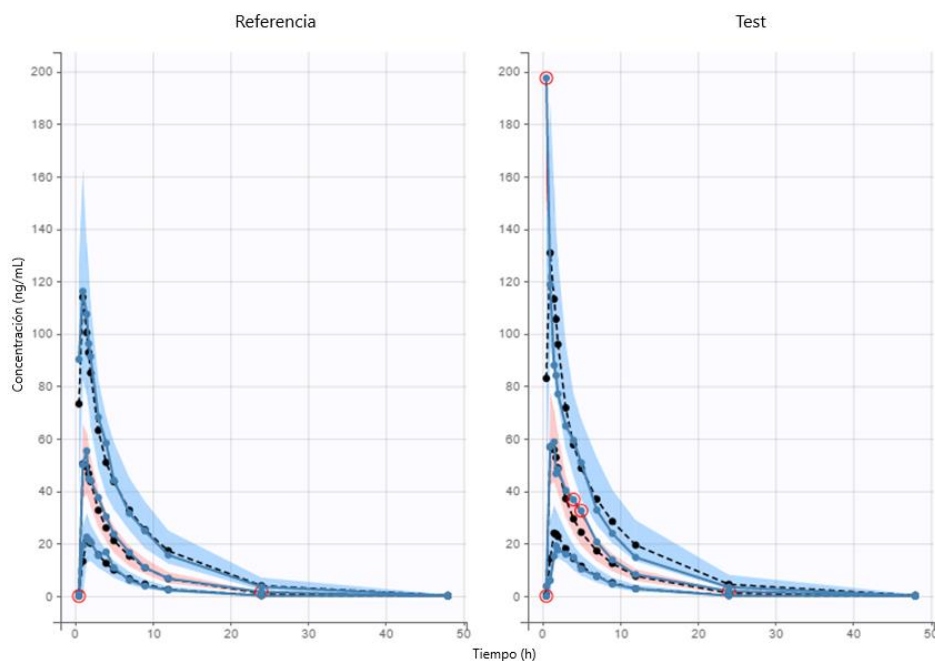
Parámetro	Valor típico (RSE%)	IIV (%) (RSE%)	IOV (%) (RSE%)
k_a (h ⁻¹)	6,68 (36,7)	153 (30,3)	135 (22,9)
t_{lag} (h)	0,50 (7,53)	27,5 (33,6)	28,6 (18,0)
$F_{T/R}$	1,14 (67,8)	-	31,8 (16,8)
Cl (h)	82,3 (12,0)	52,1 (14,2)	-
V_c (L)	298 (13,0)	49,7 (16,7)	-
Q	76,2 (22,6)	-	-
V_p (L)	145 (10,7)	-	-
Corr $Cl - V_c$	0,92 (3,00)	-	-
Error residual proporcional (%)	24,0 (4,10)	-	-

Abreviaturas: k_a , la constante de absorción de primer orden, t_{lag} , el tiempo de latencia, $F_{T/R}$ el cociente de fracción de dosis absorbida entre Test y Referencia, Cl el aclaramiento de eliminación, V_c el volumen de distribución del compartimiento central, V_p el volumen de distribución del compartimiento periférico, Q el clearance intercompartimental, Corr $Cl-V_c$ la correlación entre efectos aleatorios de Cl y V_c , IIV la variabilidad interindividual, IOV la variabilidad interocasión y RSE el error estándar relativo.

La Figura 6.7 muestra el VPC estratificado por formulación. Los resultados de este ajuste prueban que el modelo reproduce adecuadamente los datos observados, tanto en tendencia media como en variabilidad interindividual e interocasión. El modelo final incorporó la formulación como covariable sobre la cantidad de fármaco absorbida, obteniendo un cociente Test/Referencia de 1,14, pero estimado con un alto error residual (IC90: 0,415 – 3,14). Aunque este efecto

no resulta estadísticamente significativo, la covariable se mantuvo en el modelo para permitir una estimación directa del efecto de la formulación y facilitar la comparación entre productos. No se identificó un efecto significativo de la formulación sobre otros parámetros de absorción, como la constante de absorción o el tiempo de latencia. Estas estimaciones son consistentes con el NCA de bioequivalencia. Además, los valores típicos y la variabilidad interindividual estimadas resultaron comparables con los reportados en la literatura. En conjunto, los hallazgos sugieren que la cinética de absorción es similar entre productos y que la diferencia observada en el estimador puntual podría atribuirse a la elevada variabilidad interindividual y residual observadas. Dichas fuentes de variabilidad, a su vez, podrían reflejar un diseño de estudio no optimizado.

Figura 6.7 Comprobación visual predictiva para el modelo final



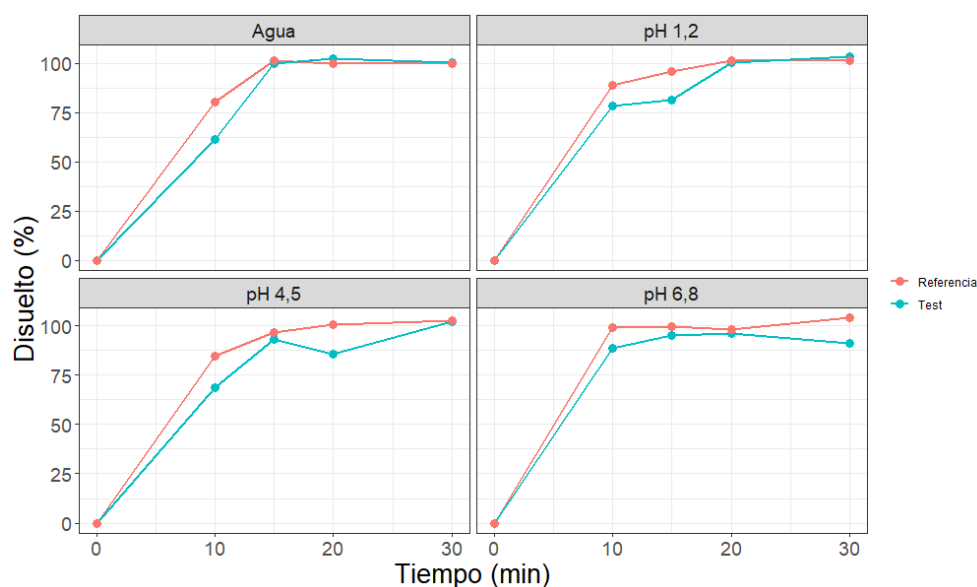
Las líneas azules muestran la distribución de las observaciones (mediana y percentiles 5to y 95avo), mientras que las líneas negras muestran la distribución de las simulaciones obtenidas a partir del modelo (mismos percentiles). Las sombras muestran los intervalos de predicción para cada percentil. Los puntos rojos muestran las observaciones atípicas respecto del modelo.

Posteriormente, se desarrolló un modelo PBBM a partir de los parámetros de un modelo previamente publicado para el fármaco en el software Simcyp® [16]. Dicho modelo fue adaptado a la plataforma libre PK-Sim® [13, 14] y validado frente a los datos farmacocinéticos disponibles para el producto de referencia de liberación inmediata. Para eso, se incorporaron perfiles de disolución *in vitro* obtenidos en el Aparato II USP (75 rpm, 36 °C) para la formulación, evaluados en los siguientes medios:

- Agua
- Medio 1: HCl/KCl pH 1,2
- Medio 2: Solución amortiguadora Acetato pH 4,5
- Medio 3: Solución amortiguadora Fosfato pH 6,8

Los perfiles de porcentaje disuelto en función del tiempo resultaron similares en todos los medios evaluados, evidenciando la rápida liberación del fármaco desde la formulación y su posterior disolución en el medio (Figura 6.8). Finalmente, se seleccionaron los perfiles obtenidos en el Medio 1, dado que sus condiciones son más representativas del entorno gástrico, donde ocurre la mayor proporción de disolución *in vivo*.

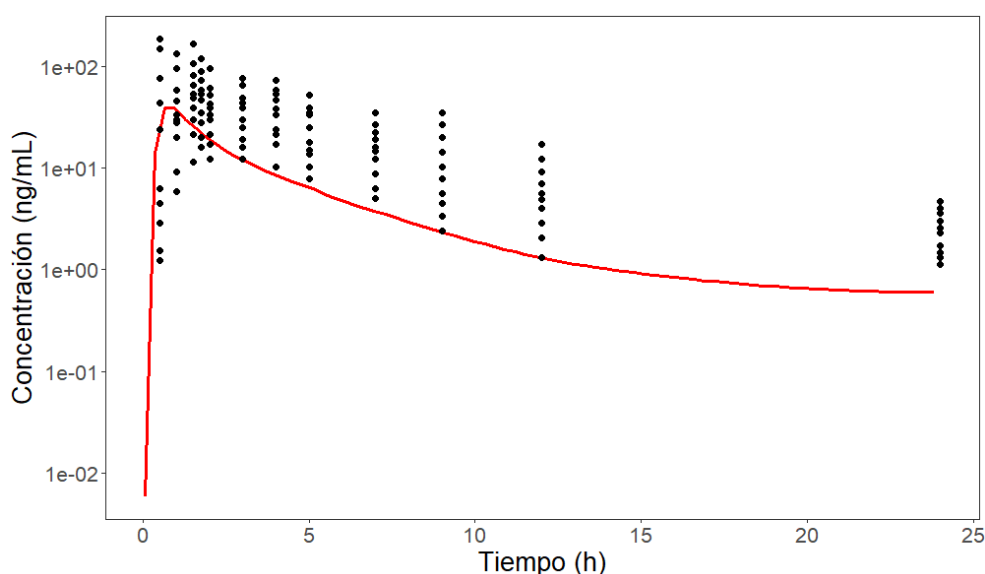
Figura 6.8 Perfiles de disolución in vitro de las formulaciones de liberación inmediata, aportados por el laboratorio patrocinador



La Figura 6.9 muestra el ajuste del modelo a los datos farmacocinéticos de la formulación Referencia de liberación inmediata. Las discrepancias entre las

predicciones del modelo adaptado y las observaciones pueden atribuirse a distintas razones: distintas plataformas utilizadas, diferencias en los datos empleados para desarrollar el modelo original y los del estudio de bioequivalencia, así como la variabilidad interindividual, las condiciones experimentales y las características de las formulaciones. Estas diferencias hicieron necesario refinar el modelo a fin de asegurar extrapolaciones confiables hacia los productos en evaluación.

Figura 6.9 Ajuste del modelo publicado (adaptado a PK-Sim®) a los datos farmacocinéticos disponibles para el producto Referencia de liberación inmediata



Línea continua roja: perfil simulado para la Referencia. Puntos: observaciones in vivo.

La herramienta de optimización de PK-Sim® permite estimar parámetros dentro de un rango definido, ajustando sus valores para minimizar las diferencias entre las observaciones y las predicciones del modelo. En este trabajo se optimizaron Log P, la fracción libre y el aclaramiento hepático (Tabla 6.4). El valor de Log P es particularmente relevante, ya que afecta directamente las estimaciones de distribución y permeabilidad, además de que distintos softwares lo integran de manera diferente en sus algoritmos de cálculo. Por su parte, la fracción libre y el aclaramiento hepático pueden variar entre los voluntarios sanos incluidos en el estudio de bioequivalencia y la población empleada para desarrollar el modelo original.

Tabla 6.4 Propiedades del principio activo incluidas en el modelo final

Propiedad/Parámetro	Valor inicial	Valor optimizado
Peso molecular	383,5 g/mol	383,5 g/mol
Log P	2,86	2,10
pKa	3,46 y 6,93	3,6 y 6,93
Fracción libre	0,17	0,10
Solubilidad en agua (pH 7, 25°C)	0,43 mg/mL	0,43 mg/mL
Aclaramiento renal	0,002 L/h*kg	0,010 L/h*kg
Aclaramiento hepático	1,39 L/h*kg	1,10 L/h*kg

El modelo PBBM optimizado se aplicó a la formulación Test de liberación inmediata, no observándose diferencias en los perfiles farmacocinéticos simulados entre ambas formulaciones. Estos resultados probablemente se deban a la similitud de sus perfiles de disolución, pero también permiten reproducir adecuadamente su compartimiento *in vivo*. No obstante, el modelo no replicó la elevada variabilidad interindividual observada, no pudiendo capturar la diferencia relativa observada *in vivo*. Estos resultados motivaron la búsqueda bibliográfica y basada en modelos de un nuevo diseño de muestreo optimizado que lograra capturar los rendimientos relativos con mayor precisión.

El análisis MBBE, realizado para las formulaciones de liberación inmediata mediante el modelo NLME descrito anteriormente, mostró una menor variabilidad residual en comparación con la observada *in vivo*. No obstante, se alcanzó la misma conclusión independientemente del diseño experimental empleado en el estudio. Los resultados se presentan en la Tabla 6.5. De acuerdo con estos, se sugirió realizar un estudio de bioequivalencia entre la formulación Test y la Referencia, con un diseño de muestreo optimizado, obtenido de estudios previamente publicados para el fármaco.

Tabla 6.5 Predicción de bioequivalencia basada en modelos para la formulación Test

Métrica	T/R	IC 90%	CV (%)
AUC	1,11	1,01 – 1,21	17 (13 – 20)
Cmax	1,11	0,97 – 1,27	27 (20 – 35)

Abreviaturas: T/R: cociente de medias geométricas Test /Referencia. IC90%: intervalo de confianza 90% para el cociente de medias geométricas. CV (%): coeficiente de variación.

El nuevo estudio de bioequivalencia enroló 20 voluntarios sanos, desconociéndose otros datos biomédicos. El diseño del estudio fue replicado, cruzado y compensado. En cada período participaron 10 voluntarios, quienes recibieron ambas formulaciones por replicado. El fármaco se muestreó a las 0, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 y 48 horas tras la administración. Los resultados de este estudio de bioequivalencia *in vivo* para las formulaciones de liberación inmediata, el cual resultó concluyente y demostró bioequivalencia, se resumen en la Tabla 6.6. Las AUC fueron marcadamente menores a las esperadas según el primer estudio de bioequivalencia, probablemente debido a diferencias entre las distintas poblaciones enroladas. Sin embargo, ambos estudios conservan aproximadamente el mismo porcentaje de AUC extrapolada.

Tabla 6.6 Resultados del segundo estudio de bioequivalencia *in vivo* para las formulaciones de liberación inmediata

Métrica/Parámetro	Test	Referencia	T/R (IC90%)
Cmax (ng/mL)	66,4	68,9	0,98 (0,87 – 1,09)
AUC _T (ng*h/mL)	230	236	0,98 (0,90 – 1,06)
AUC _{inf} (ng*h/mL)	248	258	0,97 (0,90 – 1,04)

Medias geométricas para Test y Referencia. T/R (IC90%): cociente de medias geométricas Test/Referencia y el intervalo de confianza 90%. Aclaración: las medias geométricas fueron obtenidas con el total de sujetos para cada formulación ($n_{Test} = 20$, $n_{Referencia} = 19$), sin embargo, para el cociente T/R se excluyó del análisis estadístico al individuo ausente en los datos de la formulación Test.

Deconvolución de perfiles de disolución *in vivo* de las formulaciones de liberación prolongada

Los parámetros de disposición del modelo NLME desarrollado a partir de los datos de las formulaciones de liberación inmediata se mantuvieron fijos para ajustar los perfiles obtenidos con las formulaciones de liberación prolongada, y se evaluaron distintos modelos de absorción. Sin embargo, ninguno de estos modelos logró describir adecuadamente los datos, lo que permitió concluir que existían diferencias en el aclaramiento entre las poblaciones incluidas en los distintos estudios. Se identificó que los voluntarios sanos de este último estudio presentaron una tasa de eliminación de fármaco significativamente menor en comparación con los participantes del estudio de bioequivalencia entre las formulaciones de liberación inmediata. En consecuencia, los parámetros farmacocinéticos de disposición fueron reestimados a partir de los datos *in vivo* de la formulación Referencia de liberación prolongada. Posteriormente, estos parámetros se fijaron para la estimación de los perfiles de ingreso correspondientes a la formulación Test de liberación prolongada.

El modelo final de mejor ajuste para la fase de absorción fue un doble Weibull, donde la velocidad de ingreso ($r(t)$) se describe mediante la siguiente ecuación (Ec. 6.1):

$$r(t) = 1 - \left(FF \times e^{-\left(\left(\frac{t}{TD}\right)^{SS}\right)} + (1 - FF) \times e^{-\left(\left(\frac{t}{TD1}\right)^{SS1}\right)} \right) \quad \text{Ec. 6.1}$$

Donde FF es la fracción de dosis que se disuelve en el primer proceso, TD y TD1 el tiempo en el que se libera el 63,2% de la dosis y, SS y SS1 el factor sigmoideo, del primer y segundo proceso, respectivamente [3]. La Tabla 6.7 resume los parámetros de dicho modelo estimados para cada formulación. La Figura 6.10 muestra los perfiles de absorción *in vivo* estimados a partir del análisis de deconvolución de los perfiles farmacocinéticos de ambas formulaciones. Para representar dichos perfiles, se asumió que la permeabilidad intestinal del fármaco es muy alta y, por lo tanto, el paso limitante del ingreso a la circulación sistémica es la disolución del principio activo en el lumen del tracto gastrointestinal. Los resultados muestran que los perfiles empiezan a diferenciarse a partir de las 5 horas post-dosis, probablemente debido a la

administración de alimentos que modificaron las condiciones del medio de disolución.

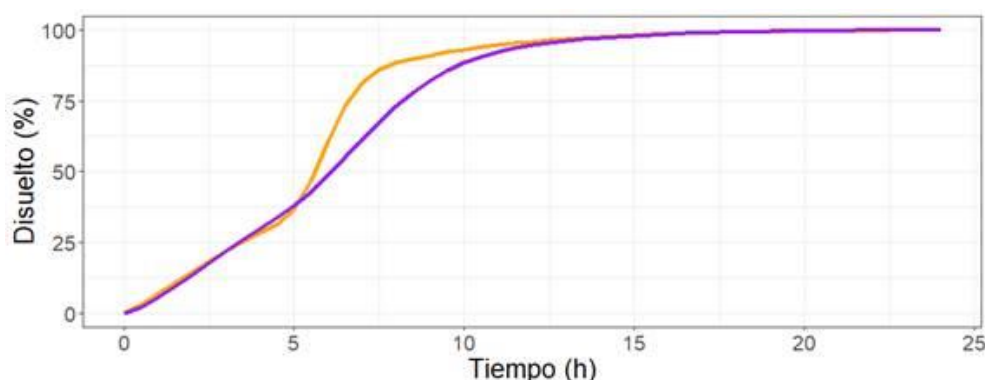
Tabla 6.7 Resultados del análisis de deconvolución de los perfiles farmacocinéticos obtenidos tras la administración de las formulaciones de liberación prolongada

	Referencia		Test	
	Valor típico (RSE%)	IIV (RSE%)	Valor típico (RSE%)	IIV (RSE%)
TD (h)	9,64 (12,6)	0,070 (80,2)	8,15 (10,0)	0,030 (130)
SS	1,47 (4,50)	-	1,32 (6,10)	-
TD1 (h)	6,15 (26,0)	1,20 (59,0)	3,46 (24,2)	0,910 (29,2)
SS1	1,84 (17,6)	-	2,34 (19,1)	-
FF	0,789 (13,0)	-	0,641 (9,1)	-
V _{central} (L)	86,0 (21,5)	0,550 (62,5)	86,0	0,550
V _{periférico} (L)	145 (34,2)	-	145	-
Cl (L/h)	54,5 (9,18)	0,160 (31,4)	54,5	0,160
Q (L/h)	58,8 (69,5)	-	58,8	-

Abreviaturas: TD y TD1, tiempo en el que se libera el 63,2% de la dosis del primer y segundo proceso, respectivamente; SS y SS1, el factor sigmoideo del primer y segundo proceso, respectivamente; FF, la fracción de dosis que se disuelve en el primer proceso; V_{central}, el volumen del compartimiento central; V_{periférico}, el volumen del compartimiento periférico; Cl, aclaramiento plasmático; Q, aclaramiento intercompartimental.

Con el objetivo de evaluar los perfiles de disolución *in vivo* obtenidos por deconvolución, estos se integraron al modelo PBBM para describir los resultados observados en el estudio de bioequivalencia. Para mejorar el ajuste a los datos *in vivo* de las formulaciones de liberación prolongada, se optimizó el valor del aclaramiento plasmático, en concordancia con el estimado en el modelo NLME desarrollado a partir de la Referencia de liberación prolongada. También se optimizó el tiempo de tránsito y la permeabilidad en el intestino delgado, dado que las matrices de liberación prolongada pueden retardar la liberación y alterar la residencia local en segmentos intestinales. Las propiedades del principio activo incluidas en el modelo final se resumen en la Tabla 6.8.

Figura 6.10 Perfiles de disolución in vivo estimados con el análisis de deconvolución de los perfiles farmacocinéticos obtenidos tras la administración de las formulaciones de liberación prolongada



En violeta se muestra el perfil medio para el producto Referencia, mientras que en mostaza el perfil medio para el producto Test.

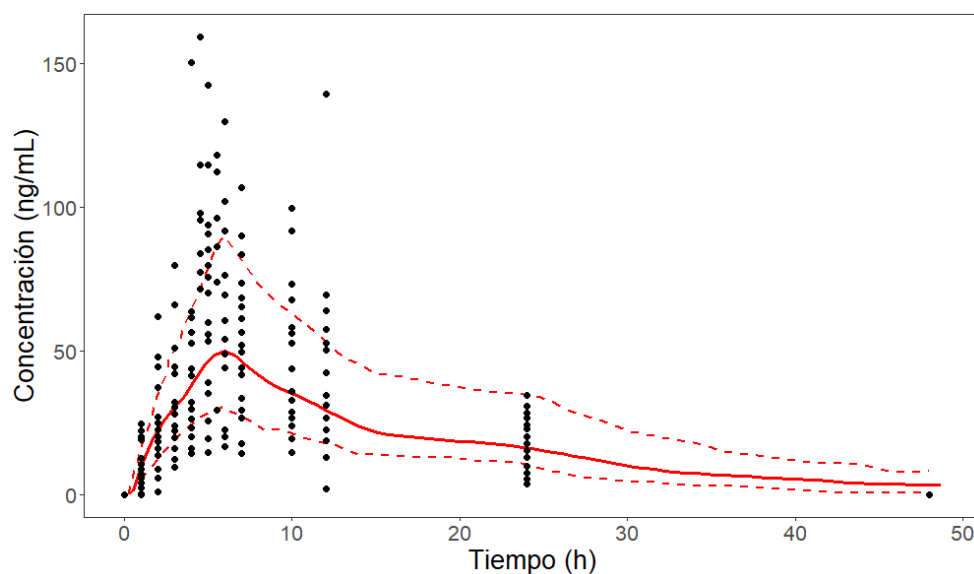
Tabla 6.8 Propiedades del principio activo y del individuo incluidas en el modelo final para las formulaciones de liberación prolongada

Propiedad/Parámetro	Valor para formulaciones de liberación inmediata	Valor para formulaciones de liberación prolongada
Peso molecular	383,5 g/mol	383,5 g/mol
Log P	2,10	2,10
pKa	3,46 y 6,93	3,46 y 6,93
Fracción libre	0,10	0,10
Solubilidad en agua (pH 7, 25°C)	0,43 mg/mL	0,43 mg/mL
Aclaramiento renal	0,01 L/h*kg	0,01 L/h*kg
Aclaramiento hepático	1,10 L/h*kg	0,74 L/h*kg
Tiempo de tránsito intestinal	2,10 h	4,00 h
Permeabilidad intestinal	$4,74 \times 10^{-6}$ cm/min	$8,09 \times 10^{-6}$ cm/min

Se simularon perfiles farmacocinéticos para una dosis única de 50 mg administrada a sujetos caucásicos en condiciones de ayuno. La cohorte virtual estuvo compuesta por 100 individuos con las siguientes características (media \pm desviación estándar): 60 mujeres, con masa corporal de 64 ± 10 kg y una altura de 162 ± 9 cm, y 40 hombres, con masa corporal de 72 ± 9 kg y una altura de

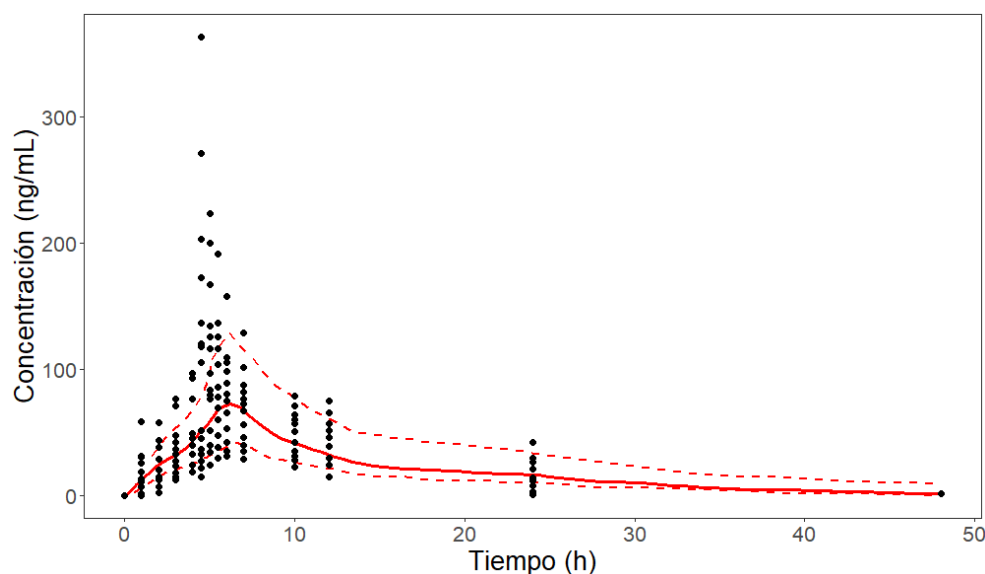
174 \pm 9 cm. Para el total de la muestra, la edad fue de 35 \pm 10 años, con un rango de 18–55 años. Los resultados de las simulaciones para las formulaciones Referencia y Test de liberación prolongada se presentan en las Figuras 6.11 y Figura 6.12, respectivamente.

Figura 6.11 Concentración en función del tiempo de la formulación Referencia de liberación prolongada



Línea roja continua: media geométrica. Líneas rojas punteadas: desviación estándar geométrica. Puntos negros: datos in vivo.

Figura 6.12 Concentración en función del tiempo de la formulación Test de liberación prolongada



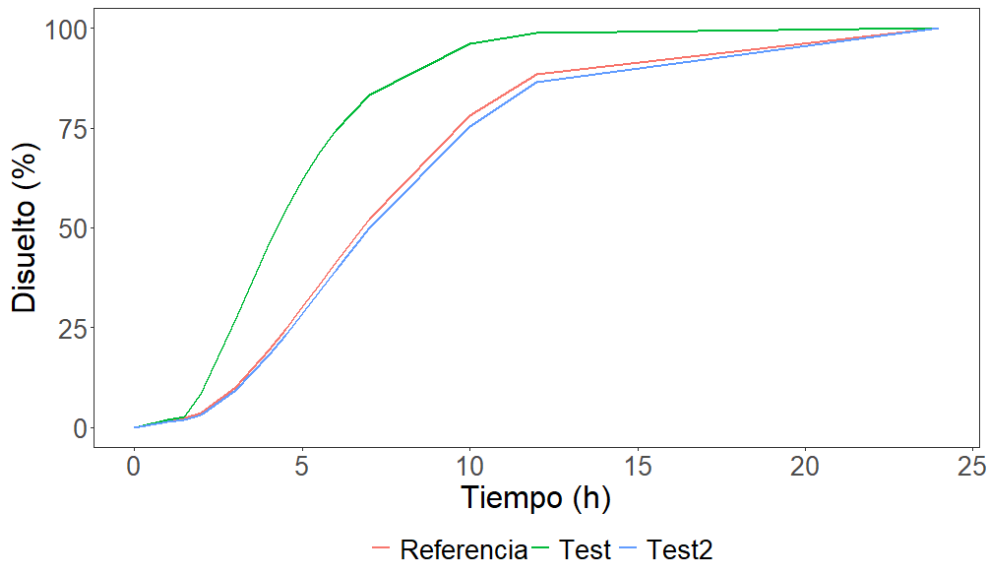
Línea roja continua: media geométrica. Líneas rojas punteadas: desviación estándar geométrica. Puntos negros: datos in vivo.

A partir de los resultados de las simulaciones anteriores, se buscó establecer las condiciones de un ensayo de disolución orientado a reproducir las diferencias observadas *in vivo* entre las formulaciones. Para incorporar los porcentajes de disolución al modelo PBBM, se simulaban perfiles empleando el modelo de Weibull en dos etapas. El procedimiento siguió un enfoque iterativo en el que se evaluaron distintas cinéticas de disolución, contrastando las simulaciones resultantes con las observaciones *in vivo*, hasta identificar las condiciones que mejor reprodujeron los resultados experimentales. Los parámetros del primer proceso de Weibull se ajustaron con base en los resultados obtenidos en medio ácido, en el cual las formulaciones no mostraron diferencias. En cambio, los parámetros del segundo proceso se derivaron de los ensayos biorrelevantes proporcionados por el patrocinador. Se evaluaron distintos tiempos de inicio para el segundo proceso seleccionándose finalmente 1,5 horas por ofrecer el mejor ajuste a los datos.

El laboratorio desarrolló una nueva formulación (Test 2) con el objetivo de demostrar bioequivalencia con la formulación Referencia. Esta formulación candidata se evaluó en las mismas condiciones biorrelevantes en dos etapas

que las formulaciones anteriores, mostrando un perfil de disolución similar a la formulación Referencia (Figura 6.13).

Figura 6.13 Perfiles de disolución en dos etapas ingresados en el modelo biofarmacéutico basado en fisiología para las formulaciones de liberación prolongada



Los resultados de la simulación a partir del modelo PBBM para predecir la bioequivalencia de la formulación Test 2 respecto a la Referencia se resumen en la Tabla 6.9. En base a estos, se recomendó avanzar con la formulación candidata para realizar un estudio de bioequivalencia *in vivo*.

Tabla 6.9 Resultados de la predicción de bioequivalencia *in silico* para la formulación Test 2

Métrica/Parámetro	Test 2 ^(a)	Test 2/Ref (exp) ^(b)	Test 2/Ref (pred) ^(c)
Cmax (ng/mL)	56 (31-92)	0,84	0,96 (0,96-0,98)
AUC _{inf} (ng*h/mL)	944 (639-1571)	1,0	1,0 (0,99-1,1)
Tmax (h)	7,0 (6,0-12)	-	-
T _{1/2} (h)	11 (9,0-14)	-	-

(a) Media geométrica (intervalo de confianza 90%) (b) Cociente de medias geométricas (c) Cociente de medias geométricas (intervalo de confianza 90%). Ref (exp): valor obtenido *in vivo* para las métricas. Ref (pred): valor predicho por el modelo para las métricas.

El estudio de bioequivalencia *in vivo* de la formulación Test 2 de liberación prolongada enroló 24 voluntarios sanos, desconociéndose otros datos biométricos. El diseño del ensayo fue replicado, cruzado y compensado. En cada período participaron 12 voluntarios, quienes recibieron ambas formulaciones por replicado. El fármaco se muestreó a las 0, 1, 2, 3, 4, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 8, 10, 12, 24, 48, y 72 horas tras la administración. Los resultados, brindados por el patrocinador, se resumen en la Tabla 6.10. Puede observarse que la formulación Test 2 mostró bioequivalencia respecto a la Referencia. Las áreas bajo la curva fueron marcadamente menores a las esperadas según el primer estudio de bioequivalencia, probablemente debido a diferencias entre las distintas poblaciones enroladas. Sin embargo, ambos estudios conservan aproximadamente el mismo porcentaje de área bajo la curva extrapolada. Más aun, el cociente T/R predicho fue consistente con el observado.

Tabla 6.10 Resultados del estudio de bioequivalencia *in vivo* para la formulación Test 2

Métrica/Parámetro	Test 2	Referencia	T/R (IC90%)
C _{max} (ng/mL)	47,8	49,4	0,97 (0,86 – 1,08)
AUC _T (ng*h/mL)	644	670	0,96 (0,88 – 1,05)
AUC _{inf} (ng*h/mL)	682	707	0,96 (0,89 – 1,05)

Medias geométricas para Test 2 y Referencia. T/R (IC90%): cociente de medias geométricas Test 2/Referencia y el intervalo de confianza 90%.

Discusión

El NCA de los datos observados *in vivo* indicó que la formulación Test de liberación inmediata presentó una biodisponibilidad relativa solo un 10 % superior a la de la formulación Referencia de liberación inmediata. Sin embargo, la elevada variabilidad observada en las métricas impidió concluir la bioequivalencia entre ambas.

El modelo NLME permitió evaluar los parámetros farmacocinéticos tanto de manera global como estratificada por formulación. Si bien se observó una elevada variabilidad interindividual e interocasión en los parámetros de absorción (Tabla 6.3), no se identificaron diferencias significativas en la cinética de absorción entre las formulaciones. El análisis MBBE replicó el cociente de

medias geométricas obtenido *in vivo* y logró una reducción de la amplitud del IC90. Sin embargo, dicha reducción no fue suficiente para cumplir con los criterios de bioequivalencia.

Estos resultados respaldan la hipótesis de que el diseño experimental no fue óptimo y favoreció la elevada variabilidad interindividual observada. En consecuencia, el estudio de bioequivalencia fue no concluyente, aun cuando no se detectaron diferencias relevantes *in vitro* ni *in vivo* entre las formulaciones. En tales situaciones, suelen aplicarse estrategias que permiten ampliar los límites de aceptación de bioequivalencia, como el escalado de los intervalos en función de la variabilidad intraindividual [17]. Este enfoque requiere diseños replicados, en los que cada sujeto recibe al menos dos veces la formulación de referencia, lo que posibilita estimar su variabilidad intraindividual. Si dicha variabilidad supera un umbral predefinido ($> 30\%$), los límites de aceptación se amplían de acuerdo con una fórmula estadística basada en la variabilidad observada para la formulación referencia [18].

En los ensayos *in vitro*, ambas formulaciones de liberación inmediata mostraron perfiles de rápida disolución en los medios evaluados. Para un fármaco de alta permeabilidad y rápida disolución administrado en ayunas, el vaciado gástrico constituye el factor limitante de la absorción. En consecuencia, se recomendó evaluar el desempeño relativo de ambos productos mediante un ensayo de desintegración en condiciones ácidas. También se sugirió revisar los resultados de dosificación comparativa de los lotes empleados en el estudio de bioequivalencia, ya que en el análisis basado en modelos no se identificó una causa clara que justifique la mayor biodisponibilidad observada para la formulación Test. Finalmente, se propuso un diseño de muestreo óptimo, que permitiera reducir esa variabilidad en un nuevo estudio de bioequivalencia. Los resultados del nuevo estudio de bioequivalencia permitieron concluir similar desempeño entre las formulaciones de liberación inmediata, y una menor variabilidad residual.

Las formulaciones iniciales de liberación prolongada mostraron un desempeño bioequivalente en cuanto a cantidad de fármaco absorbido; sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio no permitieron concluir bioequivalencia entre ellas. Al igual que en el análisis realizado para las formulaciones de

liberación inmediata, se observó una elevada variabilidad, especialmente para la C_{max} . El coeficiente de variación residual para esta métrica superó el 30%, y el IC90 para el cociente de medias geométricas Test/Referencia indicó una diferencia significativa en la velocidad de absorción del principio activo entre ambas formulaciones.

Ante estos resultados, se buscó definir condiciones de un ensayo de disolución *in vitro* que permitieran establecer una correlación *in vitro*–*in silico*–*in vivo*, con el objetivo de orientar el desarrollo de una nueva formulación Test de liberación prolongada. Una de las metodologías más empleadas para este propósito es la deconvolución, la cual permite estimar el perfil de absorción *in vivo* de una formulación oral, a partir de sus parámetros de disposición y de los perfiles farmacocinéticos *in vivo* de ésta. Al comparar este perfil con los perfiles de disolución *in vitro*, es posible construir la correlación buscada.

Si bien lo ideal sería contar con los parámetros de disposición tras una administración intravenosa, el fármaco presenta alta permeabilidad y rápida disolución desde las formulaciones de liberación inmediata. Este escenario permite asumir que los parámetros de disposición estimados son independientes de los procesos de absorción de dichas formulaciones, por lo que resultan adecuados para estimar los parámetros de absorción de las formulaciones de liberación prolongada. Uno de los requisitos fundamentales de la deconvolución es que tanto los parámetros de disposición como los perfiles farmacocinéticos sean obtenidos en la misma población. De no cumplirse esta condición, los parámetros de disposición podrían no ajustarse adecuadamente a los datos observados. En este caso, las diferencias observadas entre los sujetos de los distintos estudios motivaron la reestimación de los parámetros de disposición. Para ello, se reestimaron dichos parámetros junto con los de absorción utilizando la formulación de Referencia, y luego se mantuvieron fijos para estimar los parámetros de absorción de la formulación Test. De este modo, se logró aislar el efecto de la absorción de cada formulación, evitando que las diferencias en la disposición influyeran en la comparación y permitiendo una mejor diferenciación entre ambas.

Una vez estimados mediante deconvolución, los perfiles de absorción se integraron al modelo PBBM desarrollado. Esto facilitó la identificación de las

condiciones de disolución *in vitro* que mejor reflejan los datos observados, orientando así el desarrollo de formulaciones bioequivalentes o con ventajas farmacoterapéuticas.

Las condiciones seleccionadas como biorrelevantes para las formulaciones de liberación prolongada correspondieron a un ensayo de disolución en dos etapas. La primera etapa en medio ácido resultó consistente tanto con las condiciones utilizadas para la formulación de liberación inmediata como con el hecho de que la disolución ocurre principalmente en el estómago.

La nueva formulación de liberación prolongada mostró un rendimiento *in vitro* similar al de la formulación Referencia bajo condiciones biorrelevantes. Además, el análisis de bioequivalencia *in silico* predijo un cociente de medias geométricas dentro de los límites de aceptación establecidos para demostrar bioequivalencia. Sin embargo, es importante señalar que la herramienta de modelado PK-Sim® no permite aplicar el enfoque MBBE utilizado en modelos NLME, ya que no contempla la incorporación de incertidumbre en la estimación de los parámetros. El ensayo de bioequivalencia *in vivo* entre estas formulaciones resultó concluyente, demostrando similar desempeño. Estos resultados fueron incluso más prometedores que las predicciones, debido a que el nuevo diseño de estudio permitió reducir la variabilidad residual.

Conclusiones

El presente trabajo permitió orientar el desarrollo racional de dos formulaciones, una de liberación inmediata y otra de liberación prolongada, de un fármaco perteneciente a la clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Para ello, se exploraron distintas metodologías de deconvolución para obtener los perfiles de absorción a partir de datos farmacocinéticos *in vivo*, lo que permitió integrar de forma efectiva los resultados experimentales en modelos predictivos. A partir de esta información, se establecieron condiciones de disolución *in vitro* biorrelevantes y se lograron valiosas correlaciones *in vitro* – *in silico* – *in vivo*, fundamentales para orientar el diseño y optimización de las formulaciones.

También, se aplicaron diversas herramientas analíticas y de modelado orientadas a la evaluación y predicción de la bioequivalencia, entre las que se

destacan el NCA, la bioequivalencia *in silico* mediante modelos PBBM y la bioequivalencia basada en modelos no lineales de efectos mixtos.

En conjunto, este enfoque integral permitió no solo interpretar de forma más profunda los resultados obtenidos en estudios de bioequivalencia, sino también anticipar su comportamiento *in vivo*, optimizando recursos experimentales y reduciendo la incertidumbre en la toma de decisiones durante el desarrollo farmacéutico. Estos resultados demuestran la eficacia del uso combinado de modelos mecanísticos, métodos estadísticos avanzados y ensayos biofarmacéuticos para el diseño eficiente y fundamentado de medicamentos similares.

Bibliografía

1. González-García I, Mangas-Sanjuán V, Merino-Sanjuán M, Bermejo M (2015) In vitro–in vivo correlations: general concepts, methodologies and regulatory applications. *Drug Dev Ind Pharm* 41:1935–1947. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1054833>
2. Davanço MG, Campos DR, Carvalho P de O (2020) In vitro – In vivo correlation in the development of oral drug formulation: A screenshot of the last two decades. *Int J Pharm* 580:119210. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119210>
3. Gomeni R, Bressolle-Gomeni F (2020) Deconvolution Analysis by Non-linear Regression Using a Convolution-Based Model: Comparison of Nonparametric and Parametric Approaches. *AAPS J* 22:. <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0389-8>
4. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency (2014) Guideline on quality of oral modified release products. *Eur Med Agency* 1–16
5. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (1997) Guidance for Industry Extended Release Solid Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In vitro/In vivo Correlations. FDA Guid. <https://doi.org/10.14227/DT040497P23>

6. Cardot JM, Garrait G, Beyssac E (2015) Use of IVIVC to optimize generic development. *Dissolution Technol* 22:44–48. <https://doi.org/10.14227/DT220215P44>
7. Ibarra M, Schiavo A, Lesko LJ (2021) Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM). In: *The ADME Encyclopedia*. Springer International Publishing, pp 1–6
8. U.S. Food and Drug Administration. (2020) The Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Biopharmaceutics Applications for Oral Drug Product Development, Manufacturing Changes, and Controls. Draft 61953–61955
9. Jamei M, Abrahamsson B, Brown J, et al (2020) Current status and future opportunities for incorporation of dissolution data in PBPK modeling for pharmaceutical development and regulatory applications: OrBiTo consortium commentary. *Eur J Pharm Biopharm* 155:55–68. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.08.005>
10. Beal S, Boeckmann A, Sheiner L *NONMEM Users Guides*. Icon Development Solutions, Ellicott City
11. Beal SL (2001) Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 28:481–504. <https://doi.org/10.1023/A:1012299115260>
12. Gomeni R, Bressolle-Gomeni F (2020) Comparison of Alternative Population Modeling Approaches for Implementing a Level A IVIVC and for Assessing the Time-Scaling Factor Using Deconvolution and Convolution-Based Methods. *AAPS J* 22:. <https://doi.org/10.1208/s12248-020-00445-0>
13. Thelen K, Coboeken K, Willmann S, et al (2012) Evolution of a detailed physiological model to simulate the gastrointestinal transit and absorption process in humans, part II: Extension to describe performance of solid dosage forms. *J Pharm Sci*. <https://doi.org/10.1002/jps.22825>
14. Thelen K, Coboeken K, Willmann S, et al (2011) Evolution of a detailed physiological model to simulate the gastrointestinal transit and absorption process in humans, Part 1: Oral solutions. *J Pharm Sci*.

<https://doi.org/10.1002/jps.22726>

15. Schiavo A, Fagiolino P, Vázquez M, et al (2024) Model-Based Bioequivalence Analysis to Assess and Predict the Relative Bioavailability of Valproic Acid Formulations. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13318-024-00901-8>
16. Jamei M, Marciniak S, Feng K, et al (2009) The Simcyp® Population-based ADME Simulator. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 5:211–223. <https://doi.org/10.1517/17425250802691074>
17. Davit BM, Chen M-L, Conner DP, et al (2012) Implementation of a Reference-Scaled Average Bioequivalence Approach for Highly Variable Generic Drug Products by the US Food and Drug Administration. *AAPS J* 14:915–924. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9406-x>
18. Davit BM, Patel DT (2014) Bioequivalence of Highly Variable Drugs. In: Standards. FB, Series AA in the PS (eds). Springer New York, pp 139–164

7. Discusión y conclusiones generales

El estudio de bioequivalencia constituye el principal control de calidad biofarmacéutica exigido para autorizar la comercialización de medicamentos similares. Su finalidad es comparar la biodisponibilidad relativa frente a un producto que, conteniendo el mismo principio activo, este definido como referencia por la autoridad sanitaria. En el mercado farmacéutico uruguayo predomina la comercialización de medicamentos cuya calidad biofarmacéutica no ha sido evaluada mediante estudios de bioequivalencia *in vivo*. Esta situación probablemente responde a múltiples factores, entre ellos los altos costos económicos asociados a estos estudios y el reducido tamaño del mercado local. En este sentido, la industria farmacéutica nacional ha sostenido que los medicamentos similares disponibles son seguros y eficaces, aunque dicha afirmación se fundamenta principalmente en la experiencia de su uso clínico, sin que exista una evaluación sistemática que respalde esta aseveración.

Para garantizar la disponibilidad de medicamentos y el acceso universal a los tratamientos, la autoridad sanitaria nacional ha optado por flexibilizar la implementación de la reglamentación de bioequivalencia, restringiéndola solo a un número limitado de fármacos de alto riesgo sanitario. Incluso en dos casos particulares de ese listado, la fenitoína y el ácido valproico, la biodisponibilidad relativa entre formulaciones se ha determinado mediante ensayos de farmacovigilancia activa en pacientes, en lugar de recurrir al estudio de bioequivalencia estándar. Este panorama refuerza la necesidad de contar con metodologías científicamente sólidas y a la vez costo-efectivas, que permitan garantizar la seguridad y eficacia de los medicamentos sin comprometer su accesibilidad.

A nivel mundial, la farmacometría, también conocida como farmacología cuantitativa, se ha consolidado como una disciplina esencial en la investigación farmacéutica. Sus modelos permiten comprender cuantitativamente la relación dosis – exposición – respuesta clínica y realizar predicciones fundamentadas en evidencia. Una de sus aplicaciones es la evaluación y la predicción de estudios de bioequivalencia, lo que contribuye a reducir los costos éticos y económicos asociados a los ensayos clínicos tradicionales. De esta forma, la farmacometría tiene el potencial para facilitar la implementación de políticas regulatorias

orientadas a medicamentos genéricos, entendidos como aquellos que han demostrado bioequivalencia respecto al producto de referencia. Esto contribuiría a garantizar la disponibilidad de medicamentos con calidad biofarmacéutica comprobada.

Esta tesis integró distintas herramientas farmacométricas con ensayos de disolución *in vitro*, datos bibliográficos y estudios de bioequivalencia, con el objetivo de identificar posibles problemas terapéuticos asociados al uso de los medicamentos similares comercializados en Uruguay. Se generó conocimiento sobre los mecanismos que regulan la biodisponibilidad oral de los fármacos y se analizaron, mediante modelizado y simulación, los resultados de bioequivalencia promedio de medicamentos similares administrados por vía oral en diferentes condiciones y poblaciones. Además, se evaluó el impacto terapéutico de las diferencias observadas, considerando la relación entre farmacocinética y farmacodinamia, y se exploraron metodologías para el diseño óptimo de experimentos para proponer ensayos clínicos con muestreo limitado que permitan arribar a resultados concluyentes.

Los métodos MBBE constituyen una alternativa robusta al enfoque NCA, al permitir superar las limitaciones inherentes al diseño experimental. De este modo, es posible caracterizar con mayor exactitud las distintas formulaciones, logrando mayor sensibilidad para detectar diferencias entre ellas. En esta tesis, el modelado PopPK permitió comparar la biodisponibilidad de una formulación de liberación prolongada con la de la formulación de referencia de liberación retardada, a partir de los datos de un estudio clínico. Además, el modelo NLME desarrollado fue utilizado para extrapolar con fundamento el desempeño relativo de las formulaciones en condiciones de estado estacionario, reduciendo así la necesidad de estudios clínicos adicionales.

Se aplicaron LSS para el diseño óptimo de un estudio de bioequivalencia en pacientes en estado estacionario, asegurando la precisión en la estimación de las métricas derivadas y la viabilidad clínica. Estos métodos, basados en la determinación de tiempos de muestreo óptimos para el cálculo de las métricas farmacocinéticas, pueden aplicarse de manera independiente o combinarse secuencialmente, aprovechando las fortalezas de cada uno y mitigando sus limitaciones. Los resultados obtenidos en esta tesis indican que es posible

reducir sustancialmente el número de muestras necesarias sin comprometer la exactitud de las estimaciones de las métricas farmacocinéticas de interés. Más allá del caso particular analizado, estas estrategias resultan aplicables a otros contextos clínicos y poblaciones, contribuyendo a mejorar la generación de conocimiento en estudios de bioequivalencia. En este marco, la optimización del diseño experimental se consolida como un elemento clave, permitiendo maximizar la información obtenida y fortalecer la solidez de las conclusiones sin incrementar la carga experimental.

La QSP es una disciplina emergente dentro de la farmacología, que integra observaciones experimentales y herramientas computacionales para estudiar cómo un fármaco se relaciona dentro de un sistema biológico. Esta disciplina resulta especialmente valiosa para el estudio de fármacos con mecanismos de eliminación complejos, o que interactúan con múltiples componentes endógenos en diversos procesos fisiológicos. La aplicación de modelos bajo este enfoque permite evaluar no solo la bioequivalencia entre las formulaciones, sino también su equivalencia terapéutica. Asimismo, la integración de modelos mecanísticos que describan la farmacocinética del fármaco y su interacción con componentes endógenos facilita la exploración de estrategias de intervención y la identificación de poblaciones más susceptibles a la aparición de efectos adversos. En la presente tesis, este enfoque respaldó los beneficios de la SC para prevenir los efectos adversos inducidos por VPA, y facilitó una caracterización más completa y predictiva del comportamiento de los medicamentos, con especial énfasis en factores relacionados con la edad y el sexo.

Los modelos PBBM se han consolidado como herramientas clave para predecir la absorción oral de medicamentos. Además, permiten simular y predecir perfiles farmacocinéticos, aun en ausencia de datos *in vivo* previos. Estas herramientas se aplicaron para orientar el desarrollo de nuevas formulaciones, mostrando su potencial para anticipar el desempeño de los medicamentos en condiciones clínicas específicas. Este enfoque puede extenderse a la evaluación de medicamentos similares ya comercializados, donde la proyección obtenida mediante modelado podría validarse con un estudio clínico y, posteriormente, emplearse para analizar de manera comparativa diferentes marcas disponibles en el mercado. Más aun, puede aplicarse para apoyar y respaldar los cambios

de fabricación post-aprobación de medicamentos comercializados. De este modo, los modelos PBBM se posicionan como un recurso estratégico para complementar y, en ciertos contextos, sustituir estudios de bioequivalencia tradicionales.

La industria farmacéutica innovadora utiliza la farmacometría como herramienta de apoyo en la toma de decisiones clave durante el desarrollo de medicamentos, optimizando el diseño de ensayos clínicos y aprovechando al máximo la información disponible. Este enfoque contribuye a reducir tanto los costos económicos como las implicaciones éticas del proceso. Sin embargo, para que su aplicación tenga un verdadero impacto en la región, resulta imprescindible que las autoridades sanitarias acompañen este avance e integren progresivamente la farmacometría en la evaluación regulatoria. Un ejemplo concreto de este avance lo constituye Brasil, donde ANVISA publicó recientemente la Guía 80/2025 para la utilización de modelos PBBM con fines biofarmacéuticos. Este documento, actualmente en fase de consulta pública, establece directrices para el desarrollo, validación y presentación de estudios basados en modelos en los procedimientos de registro y post-aprobación. La guía evidencia la adopción formal de estos enfoques en los marcos regulatorios regionales, lo que refuerza la posibilidad de que la farmacometría, empleada como herramienta de proyección de bioequivalencia, consolide su relevancia institucional en América Latina.

El trabajo realizado a lo largo de esta tesis demuestra que las herramientas farmacométricas constituyen alternativas valiosas para impulsar el desarrollo farmacéutico nacional y regional. Su aplicación contribuye a obtener tratamientos con calidad biofarmacéutica comprobada, especialmente en mercados farmacéuticos pequeños como el Uruguay, donde la realización de estudios de bioequivalencia tradicionales no resulta viable. De esta manera, la farmacometría se convierte en una herramienta clave para disponer de alternativas terapéuticas seguras, efectivas y económicas, que garanticen la accesibilidad a los distintos tratamientos.

Además, esta tesis busca impulsar la aplicación de la farmacometría para el análisis de los medicamentos similares actualmente comercializados, con el fin de detectar posibles diferencias biofarmacéuticas que puedan traducirse en

problemas de intercambiabilidad en el entorno clínico. En los casos en que los ensayos clínicos sean un requisito indispensable, las herramientas farmacométricas permiten diseñar estudios experimentales óptimos, maximizando la información obtenida. El trabajo realizado en esta tesis aporta evidencia del potencial de la farmacometría para diseñar estudios en pacientes y poblaciones especiales, como pediátricos, oncológicos e inmunodeprimidos.

Las metodologías farmacométricas, si bien constituyen herramientas de gran potencial para complementar o incluso reemplazar estudios clínicos tradicionales, presentan también limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. La selección del modelo conlleva inevitablemente cierto grado de subjetividad, por lo que resulta fundamental aplicar criterios sistemáticos y transparentes para su justificación. De igual forma, la solidez de los hallazgos depende en gran medida de la calidad y disponibilidad de los datos de partida; en este sentido, el uso de múltiples fuentes de información y la incorporación progresiva de nuevos datos permiten reforzar la robustez de los modelos.

Cuando es necesario introducir supuestos, por ejemplo, ajustes en parámetros fisiológicos o en la caracterización de formulaciones específicas, estos pueden gestionarse mediante análisis de sensibilidad y validación cruzada, lo que ayuda a reducir la incertidumbre asociada. Asimismo, las diferencias entre poblaciones en sus aspectos fisiológicos, dietarios o epidemiológicos resaltan la importancia de validar los modelos en el contexto específico de aplicación, lo cual incrementa su credibilidad y utilidad regulatoria.

Finalmente, un desafío transversal es la consolidación de capacidades locales en modelizado y simulación, ya que la implementación adecuada de modelos y la interpretación de sus resultados requiere investigadores con formación específica y experiencia en la aplicación de estas metodologías.

Un desafío clave hacia adelante será continuar con la consolidación de la farmacometría en la región, no solo como soporte a la toma de decisiones regulatorias, sino también como alternativa costo-efectiva a los estudios de bioequivalencia tradicionales, especialmente para medicamentos ya

comercializados, con el fin de asegurar un mercado farmacéutico con calidad biofarmacéutica comprobada.

Otro campo de aplicación relevante será su utilización como herramienta estratégica en farmacovigilancia y en escenarios clínicos como la dosificación de precisión informada por modelos. De igual manera, será fundamental fomentar estudios comparativos y validaciones en distintas poblaciones, con el fin de fortalecer la confianza en estas metodologías y facilitar su adopción en marcos regulatorios.

La formación de profesionales especializados en modelizado y simulación será decisiva para garantizar una implementación sostenida de la farmacometría, y su extensión a escenarios emergentes como formulaciones complejas y terapias personalizadas.

La farmacometría se consolida como una disciplina innovadora y estratégica para el desarrollo de medicamentos, capaz de garantizar terapias seguras y efectivas, optimizando recursos y aumentando la probabilidad de éxito en investigación y desarrollo farmacéutico. Esta tesis demuestra que los enfoques farmacométricos no solo complementan, sino que en determinados contextos pueden sustituir los estudios de bioequivalencia tradicionales, proporcionando un marco científicamente robusto, económicamente sostenible y socialmente relevante. En consecuencia, la farmacometría se perfila como una herramienta esencial para avanzar en la ciencia, mejorar la eficiencia de los procesos regulatorios y promover la disponibilidad de medicamentos de calidad comprobada para la sociedad.

8. Anexos

Anexo I: Código del modelo no lineal de efectos mixtos desarrollado en Monolix®

[LONGITUDINAL]

input = {Tlag, ka, V1, Cl, Q, V2, Bmax, kd, F}

PK:

depot(adm=1, target = VPAd, Tlag, p=F)

EQUATION:

$\text{ddt_VPAd} = -ka \cdot \text{VPAd}$

$\text{ddt_VPAc} = ka \cdot \text{VPAd} + (Q/V2) \cdot \text{VPAP} - (Q/V1 + Cl/V1) \cdot \text{VPAc}$

$\text{ddt_VPAP} = (Q/V1) \cdot \text{VPAc} - (Q/V2) \cdot \text{VPAP}$

$Cc = \text{VPAc}/V1 + (\text{VPAc}/V1) \cdot Bmax / (\text{VPAc}/V1 + kd)$

OUTPUT:

output = {Cc}

Anexo II: Código del entorno de R para el análisis de bioequivalencia basada en modelos

```
#### librerias ####
```

```
library(dplyr)
```

```
library(tidyverse)
```

```
library(ggplot2)
```

```
#### CC simulacion continua en dosis multiple (dm) ####
```

```
# dm = tabla de perfiles Cc vs tiempo en estado estacionario
```

```
## Cc = concentraciones
```

```
## time = tiempos
```

```
## id = sujetos simulados
```

```
## id_total = numero total de perfiles PK (id*2)
```

```
## rep = repeticiones simuladas (n = 500)
```

```
## FORM: 0 (Referencia), 1 (Test)
```

```
## AUC y PTF
```

```
AUC = function(TIME, DV) {
```

```
  len = length(DV)
```

```

sm = DV[1:(len-1)] + DV[2:len]
ht = TIME[2:len] - TIME[1:(len-1)]
auc = sum(0.5*sm*ht)
auc
}

```

```

auc = rep(0, id_total)
for (i in 1:id_total)
{
  test.i = subset(dm, id_total==i)
  auc[i] = AUC(DV=test.i$Cc, TIME=test.i$time)
}
dm = dm %>% group_by(id_total) %>% mutate(Cmax =max(Cc), Cmin=min(Cc))
nca_data = dm %>% filter(time ==228)
nca_data$AUC = auc
nca_data$PTF = 100*(nca_data$Cmax-nca_data$Cmin)*12/nca_data$AUC

```

analisis

```

nca_T = nca_data %>% filter(FORM == 1) %>% summarise(ID =ID, rep = rep, logCmax_1 = log(Cmax), logAUC_1= log(AUC),
logPTF_1 = log(PTF)) %>% select(-id_total)

```

```
nca_R = nca_data %>% filter(FORM == 0) %>% summarise(ID =ID, rep = rep, logCmax_0 = log(Cmax), logAUC_0= log(AUC),
logPTF_0 = log(PTF)) %>% select(-id_total)
```

```
nca_TR = full_join(nca_R, nca_T)
```

```
#### ic 90
```

```
nca_TR_promedio = nca_TR %>% group_by(rep) %>% summarise(mAUC_TR = exp(mean(logAUC_1))/exp(mean(logAUC_0)),
mPTF_TR = exp(mean(logPTF_1))/exp(mean(logPTF_0)), mCmax_TR = exp(mean(logCmax_1))/exp(mean(logCmax_0)),
mCmax_T = exp(mean(logCmax_1)), mCmax_R = exp(mean(logCmax_0)), mAUC_T = exp(mean(logAUC_1)), mAUC_R =
exp(mean(logAUC_0)), mPTF_T = exp(mean(logPTF_1)), mPTF_R = exp(mean(logPTF_0)))
```

```
mbbe = nca_TR_promedio %>% summarise(AUC50_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.50), Cmax50_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.50), PTF50_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.50), AUC05_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.05), Cmax05_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.05), PTF05_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.05), AUC95_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.95), Cmax95_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.95), PTF95_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.95))
```

```
t_14 = 1.771
```

```
s_AUC95 = ((mbbe$AUC95_TR-mbbe$AUC50_TR)*(mbbe$AUC95_TR-mbbe$AUC50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_AUC95 = 100*sqrt(exp(s_AUC95)-1)
```

```
s_AUC05 = ((mbbe$AUC05_TR-mbbe$AUC50_TR)*(mbbe$AUC05_TR-mbbe$AUC50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_AUC05 = 100*sqrt(exp(s_AUC05)-1)
```

```
cv_AUC = mean(cv_AUC05, cv_AUC95)
```



```
s_PTF95 = ((mbbe$PTF95_TR-mbbe$PTF50_TR)*(mbbe$PTF95_TR-mbbe$PTF50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_PTF95 = 100*sqrt(exp(s_PTF95)-1)
```

```
s_PTF05 = ((mbbe$PTF05_TR-mbbe$PTF50_TR)*(mbbe$PTF05_TR-mbbe$PTF50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_PTF05 = 100*sqrt(exp(s_PTF05)-1)
```

```
cv_PTF = mean(cv_PTF05, cv_PTF95)
```

```
s_Cmax95 = ((mbbe$Cmax95_TR-mbbe$Cmax50_TR)*(mbbe$Cmax95_TR-mbbe$Cmax50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_Cmax95 = 100*sqrt(exp(s_Cmax95)-1)
```

```
s_Cmax05 = ((mbbe$Cmax05_TR-mbbe$Cmax50_TR)*(mbbe$Cmax05_TR-mbbe$Cmax50_TR))*(id/2)/t_14
```

```
cv_Cmax05 = 100*sqrt(exp(s_Cmax05)-1)
```

```
cv_Cmax = mean(cv_Cmax05, cv_Cmax95)
```

```
mbbe = nca_TR_promedio %>% summarise(AUC50_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.50), Cmax50_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.50), PTF50_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.50), AUC05_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.05), Cmax05_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.05), PTF05_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.05), AUC95_TR = quantile(mAUC_TR, p=0.95), Cmax95_TR = quantile(mCmax_TR,
p=0.95), PTF95_TR = quantile(mPTF_TR, p=0.95), AUC_R = median(mAUC_R), AUC_T = median(mAUC_T), CV_AUC = cv_AUC,
PTF_R = median(mPTF_R), PTF_T = median(mPTF_T), CV_PTF = cv_PTF, Cmax_R = median(mCmax_R), Cmax_T =
median(mCmax_T), CV_Cmax = cv_Cmax)
```

Anexo III: Ecuaciones finales de las regresiones lineales múltiples

	Métrica	Ecuación
1	Referencia $AUC_{SD} \left(\frac{mgxh}{L}\right)$	$AUC_{SD} = 102 + 3.96xC_{3.0} + 6.88xC_{9.5} + 32.6xC_{33.0}$
2	Test $AUC_{SD} \left(\frac{mgxh}{L}\right)$	$AUC_{SD} = 105 + 4.12xC_{3.0} + 8.92xC_{10.5} + 31.1xC_{36.0}$
3	Referencia $Cmax_{SD} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmax_{SD} = 18.1 + 0.759xC_{3.0}$
4	Test $Cmax_{SD} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmax_{SD} = 5.24 + 0.626xC_{3.0} + 0.642xC_{10.5}$
5	Referencia $AUC_{SS} \left(\frac{mgxh}{L}\right)$	$AUC_{SS} = 129 + 4.37xC_{0.0} + 2.68xC_{1.5} + 3.90xC_{11.0}$
6	Test $AUC_{SS} \left(\frac{mgxh}{L}\right)$	$AUC_{SS} = 73.2 + 3.51xC_{0.0} + 2.98xC_{4.0} + 4.40xC_{8.0}$
7	Referencia $Cmax_{SS} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmax_{SS} = 22.6 + 0.400xC_{0.0} + 0.412xC_{1.5}$
8	Test $Cmax_{SS} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmax_{SS} = 10.5 + 0.396xC_{4.0} + 0.458xC_{8.0}$
9	Referencia $Cmin_{SS} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmin_{SS} = 1.17 + 0.470xC_{0.0} + 0.465xC_{11.0}$
10	Test $Cmin_{SS} \left(\frac{mg}{L}\right)$	$Cmin_{SS} = 1.15 + 0.472xC_{0.0} + 0.435xC_{8.0}$

Abreviaciones: AUC: área bajo la curva de concentraciones en función del tiempo; C_{max} : concentración máxima; C_{min} : concentración mínima; SD: dosis única (single dose); SS: estado estacionario (steady state).

Anexo IV: Ecuaciones diferenciales ordinarias del modelo QSP

1. $\frac{dVPA_{depot}}{dt} = -k_a * [VPA_{depot}]$
2. $\frac{dCAR_{depot}}{dt} = -k_{a_carnitine} * [CAR_{depot}]$
3. $\frac{dVPA_{central}}{dt} = k_a * [VPA_{depot}] + \left(\frac{Q}{V_p}\right) * [VPA_{periph}] - \left(\frac{Q}{V_c} + \left(f_{VPA_{4en}} + f_{VPA_{glucuronide}} + f_{VPA_{\omega_{oxidation}}} + \alpha_{VPA_{\beta_{oxidation}}} * [CAR_{central}]\right) * \frac{CL}{V_c}\right) * [VPA_{central}]$
4. $\frac{dVPA_{periph}}{dt} = \left(\frac{Q}{V_c}\right) * [VPA_{central}] - \left(\frac{Q}{V_p}\right) * [VPA_{periph}]$
5. $\frac{d4EN_{central}}{dt} = \left(f_{VPA_{4en}} * \frac{CL}{V_c}\right) * [VPA_{central}] - \left(\alpha_{4-en-VPA_{elimination}} * \frac{CL}{V_c} + \frac{Q}{V_p}\right) * [4EN_{central}] + \left(\frac{Q}{V_c}\right) * [4EN_{periph}]$
6. $\frac{d4EN_{periph}}{dt} = \left(\frac{Q}{V_c}\right) * [4EN_{central}] - \left(\frac{Q}{V_p}\right) * [4EN_{periph}]$
7. $\frac{dCAR_{central}}{dt} = k_{a_carnitine} * [CAR_{depot}] + Ro_{carnitine} - \left(k_{12_carnitine} + k_{10_carnitine} * [S] + \alpha_{VPA_{\beta_{oxidation}}} * [VPA_{central}] * \frac{CL}{V_c}\right) * [CAR_{central}] + k_{21_carnitine} * [CAR_{periph}] + k_{2en} * [VPACAR]$
8. $\frac{dCAR_{periph}}{dt} = k_{12_carnitine} * [CAR_{central}] - k_{21_carnitine} * [CAR_{periph}]$
9. $\frac{dVPACAR}{dt} = \alpha_{VPA_{\beta_{oxidation}}} * [VPA_{central}] * [CAR_{central}] * \frac{CL}{V_c} - \left(k_{2-en-VPA} + k_{e_{VPACAR}} * [S]\right) * [VPACAR]$
10. $\frac{d2EN}{dt} = k_{2-en-VPA} * [VPACAR] - k_{e_{2-en-VPA}} * [2EN]$
11. $\frac{dS}{dt} = k_{ins} * \left(1 + \frac{E_{max} * [VPACAR]}{C_{50} + [VPACAR]}\right) - k_{outs} * [S]$
12. $\frac{dAmmonia}{dt} = Ro_{ammonia} - \left(k_{ammonia_glutamate} * \alpha_{Acetyl-CoA_{ammonia}} * [AcetylCoA] + k_{ammonia_{urea}} * \left(\alpha_{Acetyl-CoA_{ammonia}} * [AcetylCoA] - \alpha_{4-en-VPA_{ammonia}} * [4EN_{central}]\right)\right) * [Ammonia]$
13. $\frac{dFattyAcids}{dt} = Ro_{FsttyAcids} - k_{e_{FattyAcids}} * [FattyAcids] * [CAR_{central}]$
14. $\frac{dAcetylCoA}{dt} = k_{AcetylCoA} * [CAR_{central}] - k_{e_{AcetylCoA}} * [AcetylCoA]$
15. $\frac{dVPAGLU}{dt} = f_{VPA_glucuronide} * \frac{CL}{V_c} * [VPA_{central}] - k_{e_{glucuronide}} * [VPAGLU]$

$$16. \frac{dGlutamate}{dt} = k_{ammonia_glutamate} * \alpha_{Acetyl-CoA_{ammonia}} * [AcetylCoA] * [Ammonia] - k_{e_{glutamate}} * [Glutamate]$$

$$17. \frac{dUrea}{dt} = k_{ammonia_urea} * (\alpha_{Acetyl-CoA_{ammonia}} * [AcetylCoA] - \alpha_{4-en-VPA_{ammonia}} * [4EN_{central}]) * [Ammonia] - k_{e_{urea}} * [Urea]$$

Initial conditions

$$CAR_{central_t0} = 2500 \mu\text{mol}$$

$$CAR_{periph_t0} = 3650 \mu\text{mol}$$

$$Ammonia_{t0} = 1470 \mu\text{mol}$$

$$Urea_{t0} = 210000 \mu\text{mol}$$

$$Glutamate_{t0} = 1 \mu\text{mol}$$

$$AcetylCoA_{t0} = 1 \mu\text{mol}$$

$$FattyAcids_{t0} = 1 \mu\text{mol}$$

$$S_{t0} = 1 \mu\text{mol}$$

$$VPA_{central_t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$VPA_{periph_t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$4EN_{central_t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$4EN_{periph_t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$2EN_{t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$VPAGLU_{t0} = 0 \mu\text{mol}$$

$$VPA-CAR_0 = 0 \mu\text{mol}$$

Anexo V: Ecuaciones de las distintas vías de eliminación de ácido valproico

Ecuaciones de las distintas vías de eliminación de ácido valproico resultantes de la incorporación de la Ec. 5.2.

$$CL_{VPA_{4en}} = \left(f_{VPA_{4en}} + (1 - FA_{UGT2B7}) \times f_{VPA_{glucurónido}} \times \frac{f_{VPA_{4en}}}{f_{VPA_{4en}} + f_{VPA_{\omega oxidación}} + \alpha_{VPA_{\beta oxidación}} \times [Carnitina_{central}]} \right) \times CL$$

$$CL_{VPA_{glucurónido}} = FA_{UGT2B7} \times f_{VPA_{glucurónido}} \times CL$$

$$CL_{VPA_{carnitina}} = \left(\alpha_{VPA_{\beta oxidación}} \times [Carnitina_{central}] + (1 - FA_{UGT2B7}) \times f_{VPA_{glucurónido}} \times \frac{\alpha_{VPA_{\beta oxidación}} \times [Carnitina_{central}]}{f_{VPA_{4en}} + f_{VPA_{\omega oxidación}} + \alpha_{VPA_{\beta oxidación}} \times [Carnitina_{central}]} \right) \times CL$$

$$CL_{VPA_{\omega oxidación}} = \left(f_{VPA_{\omega oxidación}} + (1 - FA_{UGT2B7}) \times f_{VPA_{glucurónido}} \times \frac{f_{VPA_{\omega oxidación}}}{f_{VPA_{4en}} + f_{VPA_{\omega oxidación}} + \alpha_{VPA_{\beta oxidación}} \times [Carnitina_{central}]} \right) \times CL$$

Abreviaciones: $CL_{VPA_{4en}}$: aclaramiento de ácido valproico que lleva a la formación de ácido 4-en valproico; FA_{UGT2B7} : fracción de actividad de la enzima UGT2B7; $f_{VPA_{4en}}$: fracción de ácido valproico que se convierte en ácido 4-en valproico; $f_{VPA_{glucurónido}}$: fracción de ácido valproico que se convierte en valproil-glucurónido; $f_{VPA_{\omega oxidación}}$: fracción de ácido valproico que se somete a ω -oxidación; $\alpha_{VPA_{\beta oxidación}}$: fracción de ácido valproico que se somete a β -oxidación dependiente de los valores de carnitina; $[Carnitina_{central}]$: cantidad de carnitina en el compartimento central; CL : aclaramiento de ácido valproico; $CL_{VPA_{glucurónido}}$: aclaramiento de ácido valproico que lleva a la formación de valproil-glucurónido; $CL_{VPA_{carnitina}}$: aclaramiento de ácido valproico que lleva a la formación de valproil-carnitina; $CL_{VPA_{\omega oxidación}}$: aclaramiento de ácido valproico que lleva a ω -oxidación; VPA: ácido valproico.

Anexo VI: Perfiles farmacocinéticos y diagramas de caja para las concentraciones de los componentes de la red

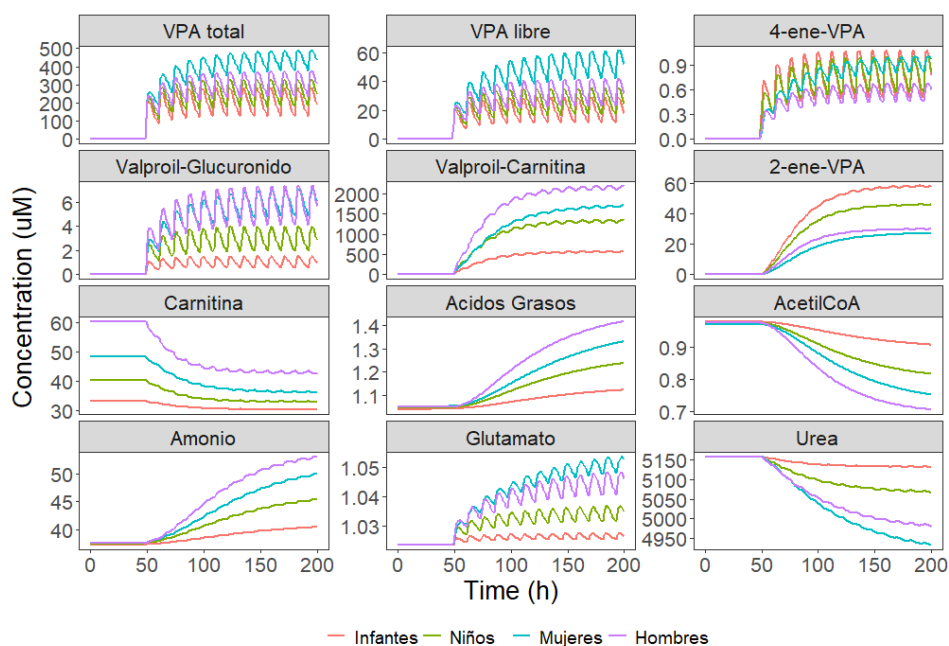


Figura S1. Perfiles farmacocinéticos para los distintos componentes de la red, bajo tratamiento crónico con 15 mg/kg de ácido valproico diarios, para los cuatro grupos evaluados.

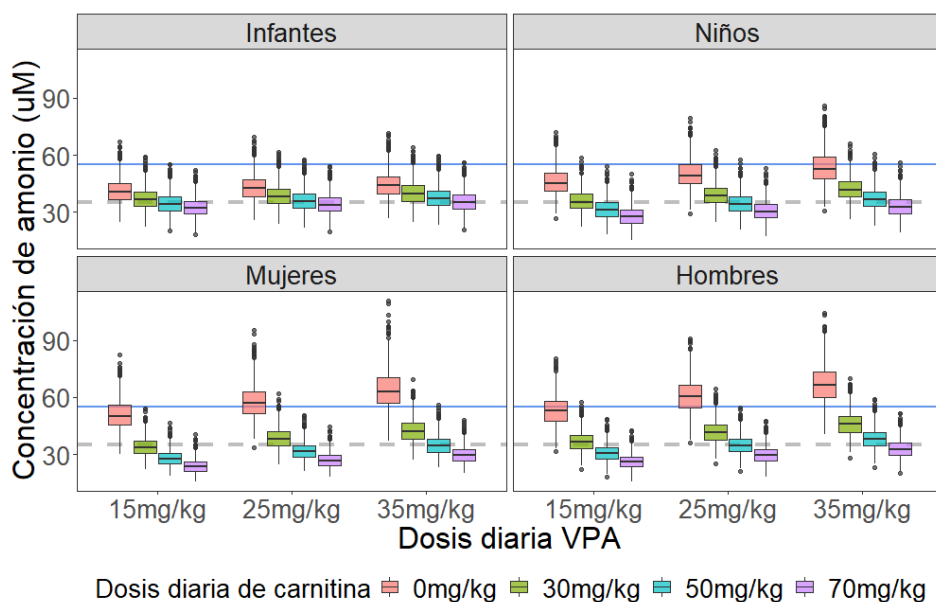


Figura S2. Gráfico de cajas para las concentraciones a predosis de amonio para diferentes combinaciones de dosis de ácido valproico y L-carnitina

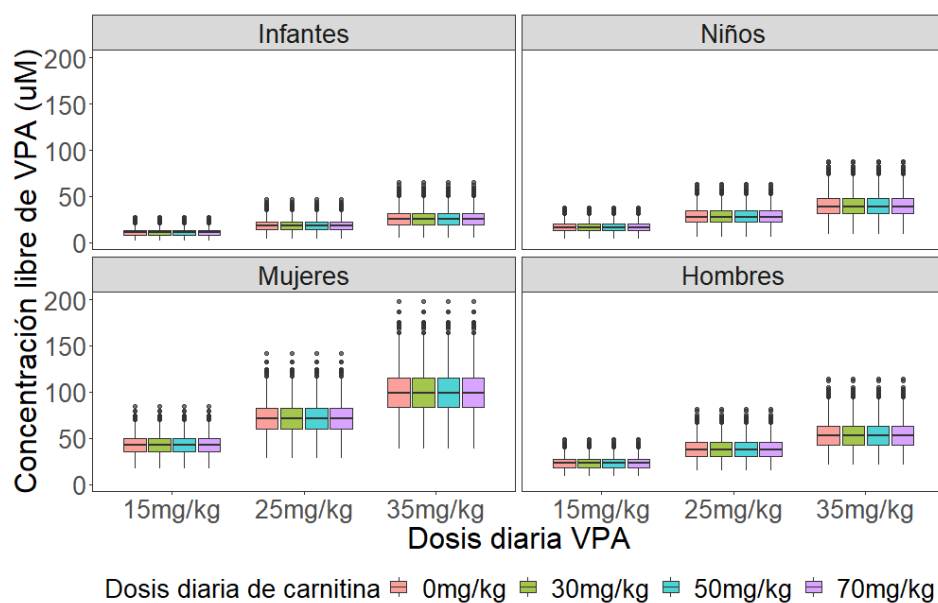


Figura S3. Gráfico de cajas para las concentraciones a predosis de ácido valproico libre para diferentes combinaciones de dosis de ácido valproico y L-carnitina

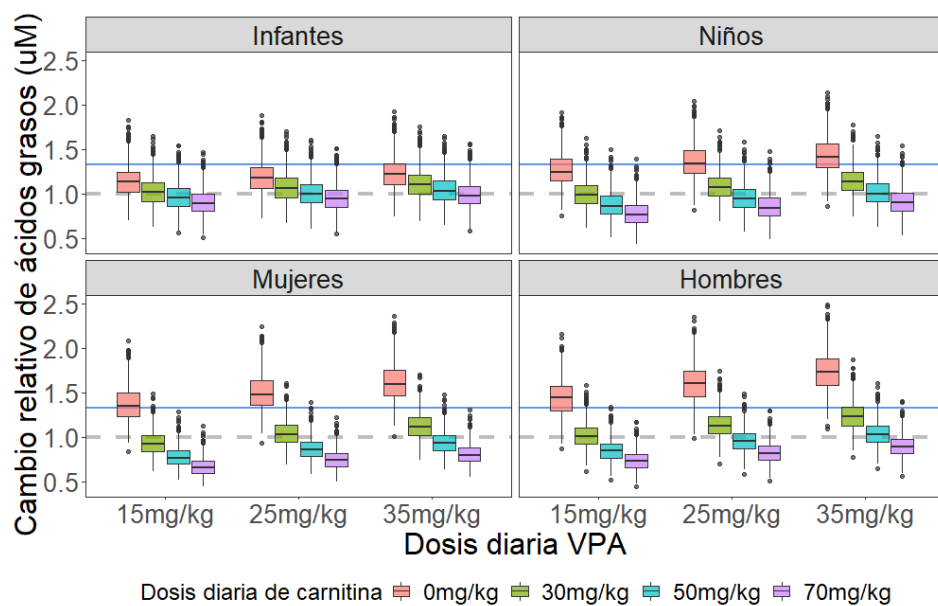


Figura S4. Gráfico de cajas para el cambio relativo en los niveles de ácidos grasos a predosis para diferentes combinaciones de dosis de ácido valproico y L-carnitina

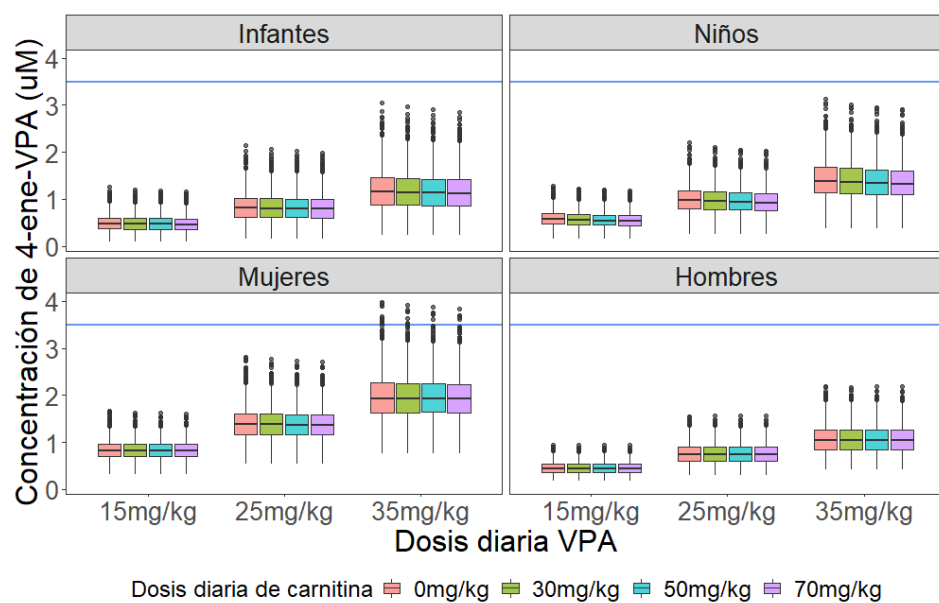


Figura S5. Gráfico de cajas para las concentraciones a predosis de ácido 4-en valproico libre para diferentes combinaciones de dosis de ácido valproico y L-carnitina