

جلسه: ۲۰ - فراهمی زیستی و هم ارزی حیاتی (۱)	تاریخ ارائه: ۱۴۰۰/۸/۲۹
استاد: دکتر روئینی	مسئول گروه: نیما خاتمی
نویسندگان:	ویراستار: محمدحسین صلواتیها



در این جلسه به بررسی و توضیح Bioavailability و Bioequivalence می پردازیم.

ترجمه فارسی این دو واژه به صورت زیر است :

• **Bioavailability**: فراهمی زیستی یا زیست دستیابی

• **Bioequivalence**: هم ارزی زیستی یا هم ارزی حیاتی

واژه Bioavailability قدمت زیادی دارد و اولین بار برای چگونگی جذب برخی ویتامین ها در بدن انسان استفاده شد؛ درحالی که واژه Bioequivalence سال ها بعد از واژه bioavailability استفاده شده است.

Bioavailability (فراهمی زیستی):

طبق تعریف FDA، فراهمی زیستی یا Bioavailability به سرعت و میزان جذب ماده موثره یا جزء فعال از فرآورده دارویی و در دسترس قرار گرفتن آن در محل اثر گفته می شود. این مطالعه حتما در یک موجود زنده است.

• پارامترهای bioavailability طبق تعریف:

۱. سرعت رسیدن یک ماده موثره در محل اثر

۲. میزان رسیدن یک ماده موثره در محل اثر

در این تعریف واژه جذب و رسیدن به محل اثر مطرح شده است. گاهی اوقات ممکن است یک ماده موثره کاملاً جذب شود اما به سرعت متابولیزه شده و به گردش عمومی خون یا محل اثر نرسد. الزام این که یک شکل دارویی به گردش عمومی خون یا محل اثر برسد، جذب و عبور از غشاهای بیولوژیک هست اما کافی نیست که فقط جذب اتفاق بیافتد؛ بلکه شکل دارویی باید از سطح های متابولیک بدن نیز بگذرد و بعد به گردش عمومی خون برسد.

🚩 انواع فراهمی زیستی:

۱- فراهمی زیستی مطلق (Absolute Bioavailability):

فراهمی زیستی ماده موثره دارو را در گردش خون سیستمیک به دنبال مصرف خارج عروقی دارو با فراهمی زیستی همان دارو به دنبال مصرف وریدی، مقایسه می کند. فرض بر این است که فراهمی زیستی شکل وریدی ۱۰۰٪ است. در واقع این نوع از فراهمی زیستی، مقایسه یک شکل خارج عروقی با شکل عروقی همان دارو است.

$$F_{abs} = 100 \times \frac{AUC_{po} \cdot D_{iv}}{AUC_{iv} \cdot D_{po}}$$

۲- فراهمی زیستی نسبی (Relative bioavailability):

فراهمی زیستی ماده موثره دارو در گردش خونی سیستمیک به دنبال مصرف خارج عروقی دارو با فراهمی زیستی همان دارو به دنبال مصرف غیر وریدی مقایسه می شود. در این جا دیگر مقایسه با شکل وریدی وجود ندارد و هر دو شکل غیر وریدی هستند.

$$F_{Rel} = 100 \times \frac{AUC_A \cdot D_B}{AUC_B \cdot D_A}$$

Bioequivalence (هم‌ارزی حیاتی):

تعریف: عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سرعت و میزان جذب ماده مؤثره از فرآورده دارویی آزمون در مقایسه با فرآورده مرجع (در دوزهای مساوی). می‌توان گفت که مطالعات بالینی هم‌ارزی زیستی، آزمون‌هایی هستند که دو فرآورده را با هم مقایسه می‌کنند. این مقایسه، مقایسه کارایی دارورسانی یک فرآورده دارویی در مقایسه با فرآورده دارویی دیگر است. در واقع دو فرآورده‌ای هم‌ارز زیستی هستند که تفاوت معنی‌داری در فراهمی زیستی این دو فرآورده وجود نداشته باشد. هم‌ارزی زیستی را می‌توان معیار کارآمدی درون‌تن فرآورده دارویی در نظر گرفت.

فرآورده‌های ژنریک و برند

برای مقایسه کارآمدی یک فرمولاسیون ژنریک و برند از مطالعات هم‌ارزی زیستی استفاده می‌شود. در ابتدا باید باید به دو سوال زیر پاسخ داد:

۱. چرا داروهای ژنریک وجود دارند؟

۲. چرا داروهای برند وجود دارند؟

کشف یک داروی جدید بسیار زمان‌بر (حدود ۵-۱۰ سال) و هزینه‌بر (بیش از ۱ میلیارد دلار هزینه) است. اگر این مقدار هزینه برای توسعه داروی جدید سودده نباشد، مطمئناً تحقیقات دارویی متوقف می‌شود. امروزه دیده می‌شود که بعضی از بیماری‌ها داروی خاص و موثری ندارند و دارویی برای آن بیماری کشف نشده است و افراد از داروهای قدیمی برای درمان استفاده می‌کنند. علت این موضوع این است که:

۱. داروی کشف شده برای آن بیماری خیلی سودآور نیست.

۲. بیماری بیشتر در کشورهای فقیر شیوع دارد.

۳. شیوع بیماری به قدری کم است که ارزش ندارد مطالعه وسیع بر روی آن صورت بگیرد.

بنابراین برای این که یک شرکت دارویی مایل به سرمایه‌گذاری روی داروی جدید باشد، باید مطمئن باشد که این سرمایه‌گذاری می‌تواند سودده باشد. به همین دلیل در دنیا اگر یک کمپانی یک داروی جدید را با هزینه و صرف زمان زیاد معرفی کرد؛ مدتی به نام دوره **Patent** تعریف می‌شود که در این مدت فقط این شرکت می‌تواند دارو را عرضه کند تا این فرایند برای شرکت سودده باشد. این شرکت برای این که **Approval** این دارو را بگیرد احتیاج دارد که یک سری اطلاعات بسیار زیادی را در قالب **new drug application (NDA)** به **FDA** Submit کنند که شامل اطلاعات زیادی است و مدتی هم به آن **Patent** می‌دهند تا هزینه‌هایی را که بابت این اطلاعات انجام داده شده، جبران شود. بعد از اتمام دوره **Patent** به شرکت‌های دیگر هم اجازه می‌دهند تا دارو را تولید کنند و شرکت‌های کوچک‌تر که سرمایه کشف دارو ندارند، وارد بازار می‌شوند. این شرکت‌ها دیگر نیاز ندارند که این حجم زیاد اطلاعات را submit کنند و بخش کوچکی از اطلاعات را تحت عنوان **Abbreviate new drug application (ANDA)** submit می‌کنند که بخش کشف مولکول در آن وجود ندارد.

• برخی از اطلاعات مورد نیاز در **ANDA**:

- اطلاعات مولکول جدید

- فرایند ساخت دارو

- در انتها **Bioequivalence** دیده می‌شود که جایگزین مطالعات حیوانی و بالینی و **bioavailability** می‌شود.

NDA	ANDA
- New Molecules - Chemistry - Manufacturing - Controls - Labeling - Testing - Animal Studies - Clinical Studies - Pharmacokinetics - Bioavailability	- Chemistry - Manufacturing - Controls - Labeling - Testing - Bioequivalence

- پارامترهای لازم برای NDA و ANDA به شرح رو به رو است:

برای داروی ژنریک، بخش زیادی از هزینه‌ها را انجام نمی‌دهند و در مدت بسیار کوتاهی اطلاعات را تامین می‌کنند و اطلاعات را به وزارت بهداشت و یا هر موسسه‌ای که مسئول بررسی پرونده‌ها است submit می‌کنند. بنابراین آن شرکت‌ها ژنریک‌ساز هستند. طبعاً داروی ژنریک بسیار ارزان‌تر است و بسیاری از کمپانی‌ها و کشورها می‌توانند آن را تولید کنند و با قیمت ارزان‌تر در اختیار مردم قرار گیرد. مصرف داروی ژنریک به این معنی نیست

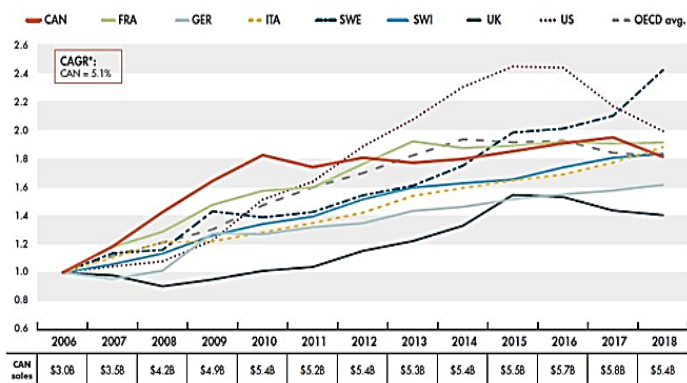
که داروی با کیفیت پایین‌تر استفاده می‌شود. در واقع مطالعات هم‌ارزی زیستی در اینجا مطرح می‌شوند و از جانب مردم، دولت‌ها متولی این هستند که مطمئن شوند شرکتی که داروهای ژنریک را تولید می‌کند دارویی با کیفیت تولید می‌کند و یک بخش از این اطمینان مطالعه Bioequivalence یا هم‌ارزی زیستی است. در تمام دنیا این داروها تولید می‌شوند و اختصاص به کشور ما ندارد. مبدع آن کشور آمریکا و بعد کشورهای دیگر است. ما هم از این قاعده مستثنی نیستیم و در کشورمان داروی برند و ژنریک داریم.

جزوه ۹۶: داروهای ژنریک با توجه به برند تولیدکننده (که می‌تواند ژنریک ساز باشد) دارای یک اسم تجاری یا نام برند (Brand name, Trade name) در کنار نام ژنریک می‌باشند. مانند: داروی رانور (نام تجاری یا برند) با نام ژنریک رانیپیدین که این نام برند متفاوت از داروی برند مطرح شده در این جلسه است. نام دارویی که برای اولین بار کشف می‌شود Originator brand نام دارد.

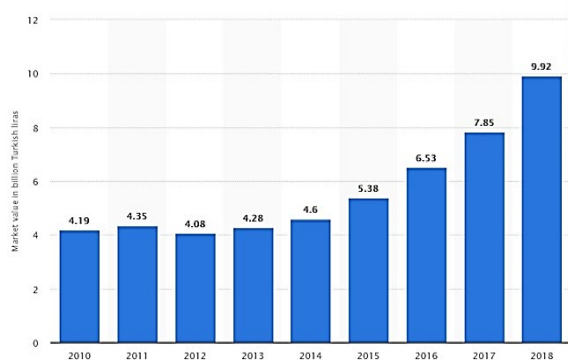
https://www.who.int/medicines/areas/access/NPrices_Glossary.pdf

همانطور که گفته شد، داروهای ژنریک در تمام جهان، مسأله با اهمیتی است و برای مثال در سه دهه گذشته در کشور آمریکا اکثر نسخه‌ها را داروهای ژنریک تشکیل داده‌اند. همچنین در طی سال‌های ۲۰۱۱-۲۰۱۸ بازار داروهای ژنریک سالانه حدود ۱۲ درصد رشد داشته است و پیش‌بینی می‌شود در سال ۲۰۲۴ بازار داروهای ژنریک در این کشور از ۱۹۰ میلیارد دلار عبور کند. این تصمیم توسط دولت گرفته شده است و هدف آن کاهش هزینه‌های درمان می‌باشد. همچنین در کشور کانادا از سال ۲۰۰۶-۲۰۱۸، فروش داروهای ژنریک ۸۲ درصد افزایش پیدا کرده است و از ۳ میلیارد دلار به ۵/۴ میلیارد دلار رسیده است. در سال ۲۰۱۹ نیز ۷۳ درصد داروهای تجویزی این کشور داروهای ژنریک بوده‌اند.

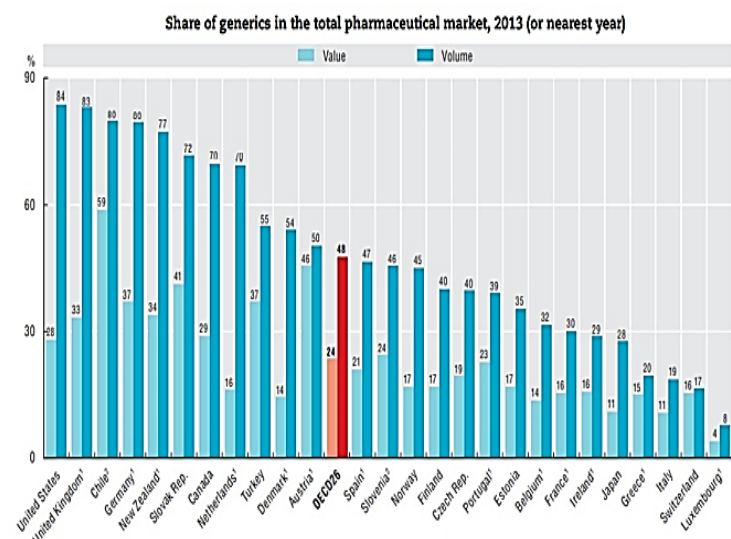
در نمودار رو به رو نیز می‌توان روند کلی تجویز داروهای ژنریک را در کشورهای مختلف مشاهده کرد.



در نمودار مقابل نیز بازار داروهای ژنریک در کشور ترکیه را بر حسب میلیارد لیر مشخص شده است.



در تصویر بعدی نیز می توانید اطلاعات مشابهی را در مورد کشورهای دیگر ببینید که با توجه به قدیمی بودن نمودار، هم اکنون سهم



داروهای ژنریک به مراتب بیشتر است. از نظر حجم مصرفی داروهای ژنریک حجم مصرف بسیار بالاتری دارند اما به علت قیمت بالای داروهای برند، نسبت هزینه صرف شده برای داروهای ژنریک چندان زیاد نیست.

نتیجه این نمودارها این است که داروهای ژنریک در تمام کشورها تجویز می شوند و عمومیت دارند؛ به شدت روی کیفیت و چگونگی کارایی فرمولاسیون های آن ها نظارت و مراقبت می شود تا مردم بتوانند اطمینان حاصل کنند که الزامی برای مصرف داروهای برند وجود ندارد و داروی ژنریک نیز موثر است.

❖ نحوه مقایسه کارایی داروی ژنریک با داروی برند

با این مقایسه می خواهیم به مردم که مصرف کننده ی این داروها هستند اطمینان دهیم که داروهای ژنریک بجای فراورده برند قابل مصرف است و همچنین درمجامع علمی و قانون گذاری نشان دهیم که به دلایل علمی این دو فراورده قابل جایگزینی می باشند. تصور اکثریت بر این است که وقتی فراورده ای از کارخانه خارج شده دیگر قابل مصرف است و نیازی به آزمایشات دیگری ندارد و داخل خود کارخانه آزمایشات فارماکوپه ای، **assay**، تست های **dissolution**، **uniformity**، تست خلوص و پایداری و انجام شده است. ممکن است بگوییم نیاز است که مطالعه بر روی بیمار انجام شود؛ یعنی بیماران را به دو گروه تقسیم کنیم و به یک گروه فراورده برند و بهه گروه دیگر فراورده ژنریک بدهیم و اثربخشی آن ها را مقایسه کنیم.

اگرچه هدف نهایی مطالعه، اثبات اثربخشی دارو در بیماران است، اما مطالعه در بیماران بهترین راه برای ارزیابی فراورده ژنریک در ابتدا نیست. زیرا:

- (۱) مطالعه در بیماران بعنوان نخستین گام کار اخلاقی نیست و اگر دارو، یک دارو حیاتی باشد عدم کارکرد فرمولاسیون می تواند مشکل جدی برای بیمار ایجاد کند.
- (۲) مطالعه در بیماران در بسیاری از موارد نتایج عددی صحیحی به ما نمی دهد. (عدم وجود پاسخ کمی). مثلاً ارزیابی شدت درد با پاسخ های شفاهی بیمار است که کیفی است و وقتی از بیمار می پرسیم درد چقدر بهبود یافته می گوید کمی بهتر شده یا خیلی بهتر شده، و حتی در بیماران مختلف نیز تفسیر و معنای این واژه ها یکسان نیست. بهبود بسیاری از بیماری های دیگر حتی در همین حد نیز قابل ارزیابی و مقایسه نیست.
- (۳) مطالعه در بیماران به علت وجود تغییرات درون شخصی فراوان و روز به روز دقت کمی دارد؛ برای کنترل این مورد نیاز است جمعیت مورد مطالعه را بشدت افزایش دهیم تا تغییرات واقعی را که ناشی از درمان است با تغییرات روتین موجود در بیماران تمایز دهیم.

(۴) مطالعه در بیماران زمان مطالعه را در برخی موارد طولانی می کند زیرا روند بهبود بیماری ممکن است طولانی باشد.

(۵) مطالعه در بیماران گاهی بسیار پرهزینه است و فرآورده مرجع گران قیمت است و هزینه مطالعات بالینی را بسیار زیاد میکند.

مشخص شد که کارایی یک فراورده ژنریک را با یک داروی برند در ابتدا در بیمار نمی‌توان ارزیابی کرد. FDA روش‌های زیر را برای تعیین هم‌ارزی زیستی، به ترتیب کاهش دقت، حساسیت و تکرارپذیری فهرست می‌کند:

(۱) مقایسه فارماکوکینتیک:

اندازه‌گیری درون‌تن جزء یا اجزا موثر در مایعات زیستی (خون، بزاق، ادرار). توصیه می‌شود این اندازه‌گیری به ترتیب اولویت در خون، ادرار و بزاق انجام شود. این مطالعه در فرد سالم و با اولویت خون انجام شود. این روش بیشترین دقت، حساسیت و تکرارپذیری را دارد.

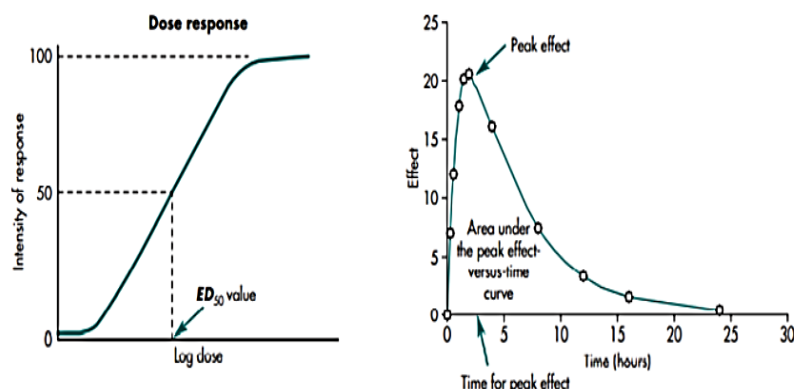


FIGURE 16-12 Acute pharmacodynamic effect-time curve. It shows an acute pharmacologic effect that is measured periodically after a single oral dose.

(۲) مقایسه فارماکودینامیک درون‌تن:

در صورتی که بررسی در خون، ادرار یا بزاق میسر نباشد FDA مطالعات فارماکودینامیک را توصیه می‌کند. نمودار مقابل بررسی فاکتورهای انعقادی بعد از مصرف هپارین که به شکل دومانحنی Dose response و غلظت در خون آورده شده است. داروی ژنریک جهت مقایسه حداقل باید این دو گراف را داشته باشد.

(۳) مقایسه بالینی محدود درون‌تن:

این روش برخلاف روش‌های قبل در بیمار انجام می‌شود.

(۴) مقایسه برون‌تن

اگر مطالعه در بیمار ارزش مقایسه نداشت مطالعات برون‌تن انجام می‌پذیرد که دارای پروتکل خاص خود است.

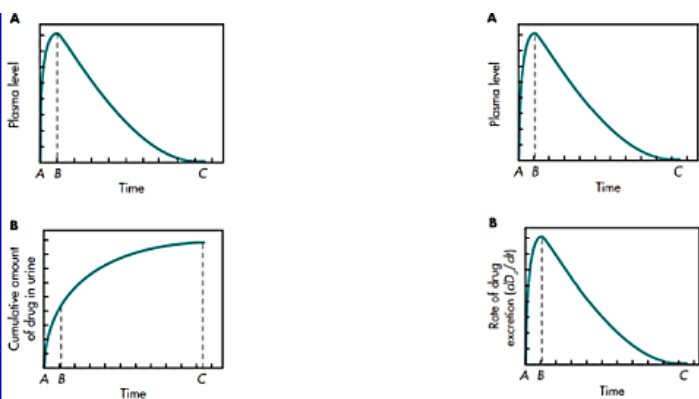
(۵) هر روش دیگری که از سوی FDA مورد پذیرش باشد.

(۱) مطالعه فارماکوکینتیک:

با توجه به این که اولین پیشنهاد برای مقایسه دو فراورده ژنریک و برند اندازه‌گیری درون‌تن ماده یا ماده موثره در مایعات زیستی می‌باشد. به بررسی این روش می‌پردازیم:

- مطالعه براساس اندازه‌گیری در خون یا پلاسما: C_{max} ، T_{max} و AUC براساس زمان‌های مشخص شده مطابق پروتکل تعیین می‌شوند.
- مطالعه براساس داده‌های ادراری: اگر به دلایلی مقدور نبود که دارو را در خون مطالعه کنیم پیشنهاد FDA اندازه‌گیری دارو در ادرار است. در این مطالعه پارامترهای زیر اندازه‌گیری می‌شود:

t: زمان لازم برای حداکثر دفع دارو از طریق ادرار / D_u : مقدار تجمعی داروی دفع شده در ادرار / dD_u/dt : سرعت دفع ادراری دارو



در نمودار مقابل مشاهده میکنید که دو گراف بالایی هردو مربوط به مقادیر پلاسمایی هستند و دو گراف پایین مربوط به داده های ادراری هستند. گراف پایین سمت چپ دفع تجمعی دارو است که D_u و t_{∞} را می توان از آن بدست آورد و در گراف سمت راست نمودار سرعت دفع ادراری در برابر زمان رسم شده است.

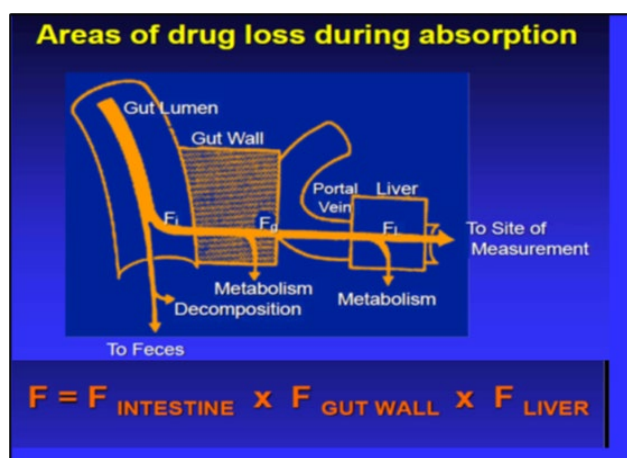
تاریخ ارائه: ۱۴۰۰/۹/۶	جلسه بیست و یکم - فراهمی زیستی و هم‌ارزی حیاتی (۲)
مسئول گروه: نیما خاتمی	استاد: دکتر رویینی
ویراستار: محمدحسین قربانی	نویسندگان:



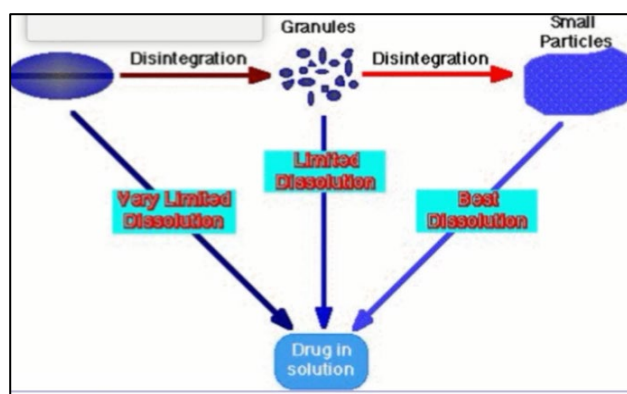
بهترین پیشنهاد FDA برای ارزیابی کارایی فرآورده‌های ژنریک در مقابل فرآورده‌های برند، اندازه‌گیری درون تن ماده (اندازه‌گیری ماده موثره در مایعات زیستی) در داوطلبان سالم است. اولویت با داده‌هایی است که در آنالیز نمونه خون و پلاسما به دست می‌آید و اگر این داده‌ها در دسترس نباشند، داده‌های غلظت و سرعت دفع ادراری را پیشنهاد می‌کند.

تعریف: فراهمی زیستی (خوراکی) برابر است با سرعت و میزان رسیدن دارو به گردش خون و محل اثر.

➤ چه جاهایی ممکن است مقدار دارویی که تجویز شده به دلیلی از دست برود و به گردش خون نرسد؟

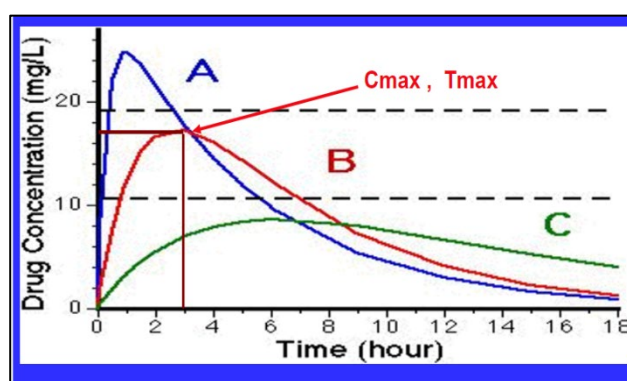


اولین بخش در روده است و ممکن است بخشی از دارو جذب نشود و F کسری از یک باشد. به‌طور مثال ۸۰٪ دارو قابلیت عبور از جدار دستگاه گوارش را دارد و بخشی از داروی جذب شده نیز در دیواره و جداره دستگاه گوارش متابولیزه می‌شود، سپس دارو وارد ورید باب می‌شود که باز هم بخشی از آن قابلیت برداشت و متابولیسم دارد و آنچه که وارد گردش عمومی خون شده و به محل اثر می‌رسد، این مقدار باقی مانده است. پس فراهمی زیستی، حاصل ضرب هر سه F است. در برخی موارد هر سه F وابسته به فرمولاسیون هستند و در بیشتر موارد، اولین F که مربوط به جذب روده است، وابسته به فرمولاسیون است.



فرآیند قرص سازی اینگونه است که ابتدا ذرات ریز به گرانول تبدیل و بعد با پرس شدن تبدیل به قرص می‌شوند که قرص بعد از انحلال در دستگاه گوارش، از سطح خود مقداری بسیار کمی از دارو را آزاد می‌کند. قرص طی فرآیند disintegration تبدیل به گرانول‌های اولیه می‌شود. در اینجا مقدار بیشتری انحلال رخ می‌دهد و بعد گرانول‌ها به ذرات اولیه تبدیل می‌شوند که اینجا بیشترین انحلال را داریم. هرچه این فرمولاسیون بهتر انجام شده باشد و ذرات سریعتر آزاد شوند، جذب با سرعت و کیفیت بهتری انجام می‌شود.

دارویی قابل جذب است که در محیط دستگاه گوارش حل شود و هم چنین غیریونیزه باشد، تا قابلیت انحلال و جذب داشته باشد و بتواند وارد گردش عمومی خون شود.



مثلا در شکل مقابل، پروفایل غلظت-زمان را برای ۳ فرمولاسیون A-B-C داریم. برای هر ۳ این‌ها از یک نوع ماده موثره و به یک میزان مساوی از دارو استفاده شده است، ولی تفاوت در فرمولاسیون هاست که سبب شده B وارد محدوده درمانی شود و وارد محدوده سمی نشود، C کلا وارد محدوده درمانی نشود و A نیز وارد محدوده سمی شود.

این موضوع اهمیت فرمولاسیون را نشان می‌دهد. علاوه بر شگردهایی که در فرآیند فرمولاسیون وجود دارد که یک مهارت است و شامل استفاده از اصول و منابع علمی است، موارد دیگری مانند انتخاب ماده اولیه دارویی و جانبی هم بسیار مهم است که شامل موارد زیر است:

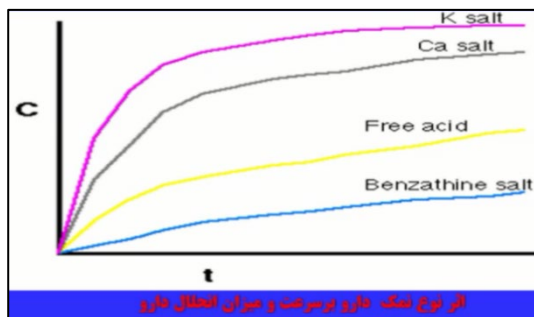
- اندازه ذره‌ای
- سطح ذره‌ای
- شکل کریستالی
- پلی‌مورفیسم
- آبدار یا بدون آب بودن
- استرئوایزومریسم
- نوع نمک

دو فاکتور اندازه ذرات و سطح ذرات، موثر در پایداری و میزان انحلال و سرعت انحلال هستند؛ هرچه ذره کوچکتر باشد و سطح بیشتر و تخلخل بیشتری داشته باشد، قابلیت تماس بیشتر می‌شود که هم می‌تواند باعث ناپایداری فرمولاسیون شده و هم به سرعت انحلال کمک کند و باید حالت بهینه و اندازه ذره‌ای مناسب بین این دو مورد را پیدا کرد. به طور مثال وقتی پودر استامینوفن خریداری می‌شود و تحویل آزمایشگاه کنترل کیفیت می‌شود، اندازه ذره مورد بررسی قرار نمی‌گیرد؛ چرا که بررسی اندازه ذرات، وظیفه فرمولاتور که همان داروساز است می‌باشد که اندازه درستی از ذره را انتخاب کند. وظیفه آزمایشگاه کنترل کیفیت، بررسی موارد زیر است:

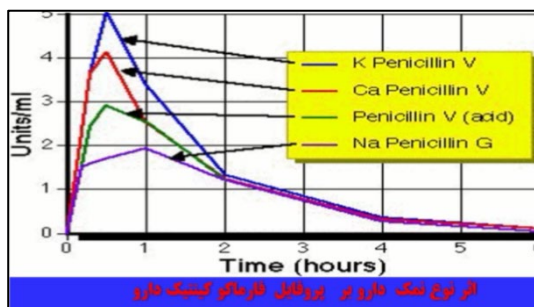
(۱) واقعا ماده موثره استامینوفن است؟

(۲) چند درصد آن استامینوفن است؟

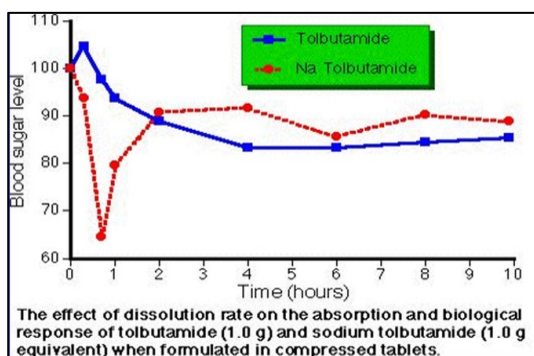
(۳) کدام ناخالصی‌هایی که در فارماکوپه‌ها هستند را دارد و این ناخالصی‌ها چند درصد و در چه محدوده‌ای از حد مجاز است؟



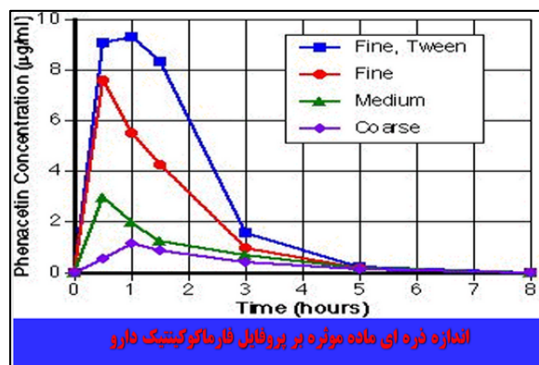
در نمودار شکل مقابل اثر نوع نمک بر انحلال پنی سیلین را مشاهده می‌کنیم که استفاده از املاح پتاسیم و سدیم آن، سرعت انحلال بسیار سریعتری داشته و لذا شروع اثر سریع تری را شاهد خواهیم بود. در مورد نمک بنزاتین، داروی ما به فرم آهسته رهش در می‌آید و می‌توان از این نوع املاح با تعداد دفعات کمتر تزریق کرد. براساس نوع اثری که می‌خواهیم، از انواع مختلف این نمک‌ها استفاده می‌کنیم.



همچنین مشاهده می‌شود که غلظت پلاسمایی نمک‌های مختلف پنی سیلین نیز متفاوت بوده و غلظت پلاسمایی ایجاد شده در نمودار مقابل، به ترتیب مرتبط با نمک پتاسیم، کلسیم، فرم اسید و سدیم می‌باشد. (اثر بر فارماکوکینتیک دارو)



نوع نمک در پاسخ فارماکولوژیک دارو نیز موثر است. در مورد داروی Tolbutamide وقتی دارو به صورت ملح سدیم است، چون با سرعت جذب پیدا می‌کند، می‌تواند سبب افت ناگهانی قند خون شود.



حال به اثر اندازه ذرات می‌پردازیم. همان طور که مشاهده می‌شود، با کاهش اندازه ذرات از ذرات Coarse به ذرات fine، این امر سبب می‌شود سطح انحلال افزایش پیدا کند و در نتیجه سرعت انحلال افزایش پیدا کرده و در نهایت غلظت خونی نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین اضافه کردن یک ماده جانبی مثل Tween، سبب بهتر شدن پروفایل جذب دارو می‌شود.

اکنون که می‌خواهیم یک مطالعه هم ارزی زیستی طراحی کنیم، پارامترهایی که باید در ابتدا سنجیده و مقایسه شوند را بررسی می‌کنیم.

فراهمی زیستی عبارت است از سرعت و میزان جذب دارو و رسیدن آن به گردش عمومی خون یا محل اثر. دو فرآورده‌ای که فراهمی زیستی نزدیک به هم دارند را هم ارز زیستی می‌دانیم. اگر دو ویژگی سرعت و میزان جذب را بخواهیم با یکدیگر مقایسه کنیم، پارامترهایی که در یک پروفایل غلظت - زمان، معیار سرعت جذب هستند، ماکسیمم غلظت و زمان رسیدن به ماکسیمم غلظت است. هرچه سرعت جذب بیشتر باشد، ماکسیمم غلظت بیشتری را ایجاد می‌کند و زمان رسیدن به ماکسیمم غلظت کوتاه تر خواهد بود و برعکس. پارامتر دومی که در این مطالعه باید بررسی شود، میزان جذب است. شاخص (نه خود) میزان جذب در پروفایل غلظت - زمان، سطح زیر منحنی است. هرچه میزان جذب بیشتر باشد، سطح زیر منحنی بیشتری ایجاد خواهد شد و برعکس، هرچه که سطح زیر منحنی ایجاد شده کوچکتر باشد، نشان از میزان کمتر داروی جذب شده و رسیده به گردش خون عمومی، خواهد داشت. پارامتر دیگری که ما در این مطالعات استفاده می‌کنیم، ثابت سرعت حذف (نیمه عمر حذف) است و به عنوان معیاری از صحت مطالعه از آن استفاده می‌کنیم. اگر مطالعه‌ای انجام داده‌اید و نیمه‌عمری که از دارویتان به دست آورده‌اید، مثلاً ۵ برابر نیمه عمر گزارش شده باشد، در مطالعات اشتباه کرده‌اید. همچنین نیمه عمر حذف در بدست آوردن سطح زیر منحنی از زمان صفر تا بی‌نهایت هم کاربرد دارد. خلاصه موارد گفته شده:

➤ C_{max} : به عنوان معیاری از سرعت جذب

➤ t_{max} : به عنوان معیاری از سرعت جذب

➤ AUC: به عنوان معیاری از میزان جذب

➤ $t_{1/2}$: به عنوان معیاری از صحت مطالعه

○ فرض کنید یک مطالعه هم ارزی زیستی تمام شده، در این مطالعه که باید به وزارت بهداشت گزارش کنیم، چه بخش هایی را باید قرار داد؟

این گزارش یک Title page دارد که در آن معرفی می‌کنیم که :

- می‌خواهیم چه دارویی را مورد مطالعه قرار دهیم؟
- اسپانسرمان کدام شرکت دارویی است؟
- آدرس بخش آزمایش های بالینی مان کجاست؟
- مجری مطالعه (Principal investigator) چه کسی است؟
- چه کسی در بخش کلینیکی با ما همکاری می‌کند؟
- کدام بخش، کار آنالیتیکال نمونه ها را انجام می‌دهد؟
- چه زمانی مطالعه شروع خواهد شد؟

بخش دومی که در مطالعه وجود دارد، معرفی متدی (Study résumé) است که می‌خواهیم بر اساس آن هم‌ارزی زیستی را انجام دهیم. یعنی می‌خواهیم کار پلاسمایی انجام دهیم یا ادراری؟ اگر می‌خواهیم کار پلاسمایی یا ادراری انجام دهیم، باید مشخصات جزئی آن را معرفی کرد. بخش بعدی گزارش، Approve کردن پروتکل‌ها توسط وزارت بهداشت (protocol and approvals)، مطرح شدن مطالعه در کمیته اخلاق و نیز داشتن تأییدیه کمیته اخلاق است که اعلام شود این کار ضرری برای داوطلب ندارد و جوانب اخلاقی‌اش رعایت شده است. بخش بعدی، بخش کلینیکال مطالعه است (Clinical study) که با جزئیات باید مطرح شود:

- داوطلبان چه کسانی بودند؟
- آیا سالم بوده‌اند؟ آزمایش‌های سلامت‌شان را ضمیمه کرده‌اند یا نه؟
- روش تجویز دارو
- آیا داوطلبان از خود دارو و عوارض جانبی احتمالی آن اطلاعی دارند؟

بخش بعدی، معرفی جزئیات بخش متدولوژی اندازه‌گیری غلظت و صحت آن است (Assay methodology and validation). در ادامه، نحوه محاسبات فارماکوکینتیک و معرفی پارامترهای آن قرار می‌گیرد (Pharmacokinetic parameters and tests). ادامه گزارش، بخش آماری است (Statistical analysis) که باید با جزئیات، کار آماری را معرفی کنیم و sequence, period, treatment, effect توضیح داده می‌شود. یک بخش ضمیمه نیز دارد (Appendices) که در آنجا اطلاعات خام و رزومه تحقیق‌کننده اصلی را در اختیار قرار می‌دهیم.

نهایتاً بخش مهمی دارد که بخش آزمایش‌های برون‌تن یا فارماکوپه‌ای است که تا آن‌ها را انجام ندهیم، نمی‌توانیم وارد بخش انسانی شویم. اگرچه این آزمایشات را کارخانه انجام داده است، اما لازم است که مجری نیز دوباره آن را انجام دهد و نهایتاً اطلاعات batch تولید شده‌ای که آزمایشات روی آن انجام شده نیز آورده می‌شود.

بنابراین، بخشی از مطالعه هم‌ارزی زیستی، آزمایش‌های برون‌تنی است که بر روی فرآورده‌های آزمون و مرجع باید انجام شود و همچنین تأکید شد که اگرچه کارخانه سازنده ژنریک، این کار را انجام می‌دهد، اما مجری مطالعه نیز لازم است این آزمون‌ها را انجام دهد. این آزمون‌ها به‌طور عمده همان آزمون‌هایی هستند که در فارماکوپه‌ها برای هر محصولی به صورت خاص مطرح شده است که به‌ترتیب عبارتند از:

۱- Assay: نشان می‌دهد چه مقدار دارو در هر شکل دارویی است. متوسط ۱۰ یا ۲۰ واحد دوز دارویی اندازه‌گیری می‌شود که باید از محدوده‌ای که فارماکوپه مشخص کرده است، فراتر نرود. به عنوان مثال فرض کنید اگر ۲۰ قرص استامینوفن را اندازه‌گیری کرده و بر ۲۰ (تعداد) تقسیم کنیم، نباید از محدوده معینی که فارماکوپه تعیین کرده است، خارج شود.

۲- یکنواختی محتوا (Uniformity Test): به ویژه در مورد داروهایی که میزان ماده موثره نسبت به وزن دوز واحد، بسیار کم است و عمل اختلاط ممکن است بسیار حیاتی باشد، دارای اهمیت است. این آزمونی است که تک تک ۲۰ یا ۱۰ واحد دوز دارویی را به تنهایی بررسی می‌کند و میزان ماده موثره در هر کدام از دوزها نباید از حد معینی کمتر یا بیشتر باشد. به عنوان مثال اگر قرص لووتیروکسین را نگاه کنید، ۵۰ میکروگرم ماده موثره دارد، درحالی که خود قرص‌ها ممکن است ۳۰ یا ۴۰ میلی گرم وزنشان باشد و اختلاط ۵۰ میکروگرم در ۳۰ میلی گرم کار بسیار مهمی است که کارخانجات معمولاً در آن خیلی موفق نیستند.

۳- Dissolution Test: (آزمون اصلی و مهم) این آزمون سرعت آزادسازی و حل شدن دارو در محیط انحلال را به ما نشان می‌دهد. محیط انحلال معمولاً در فارماکوپه‌ها برای ما تعیین شده و یا در FDA به آن اشاره شده و اگر در فارماکوپه‌ها مطرح نشده باشد، توسط کارخانجات تعیین می‌شود. معمولاً میزان تشابه فرآیند انحلال برای فرآورده آزمون و فرآورده مرجع باید در حد بالایی باشد؛ به ویژه در مورد داروهایی که نشان داده شده که میزان انحلال با میزان جذب و سرعت انحلال با سرعت جذب ارتباط خوبی دارند.

➤ انتخاب داوطلبان

بعد از آن که آزمون‌های برون‌تن نشان داد که این فرآورده قابل قبول است و قابلیت تجویز به داوطلبین را دارد، به سراغ آزمایشات درون‌تن می‌رویم (In vivo) که شامل تجویز دارو به داوطلبین و آنالیز نمونه هاست. بحث داوطلبین بسیار اهمیت دارد.

- داوطلبین باید سالم باشند و توسط معاینات پزشک و آزمایشات پاراکلینیکی باید اثبات شود که داوطلبین سالم هستند و در ۱-۲ هفته گذشته هم دارویی مصرف نکرده‌اند.
- تعداد داوطلبین به عوامل مختلفی بستگی دارد؛ اینکه مطالعه ما متقاطع یا موازی باشد، اینکه داروی ما تغییرات درون شخصی‌اش زیاد یا کم باشد، همچنین اینکه نسبت پارامترهای فارماکوکینتیکی در این دارو چه مقدار است، همگی روی تعداد داوطلبین موثر است.
- داوطلبین هم باید از جنس مرد و هم از جنس زن باشند؛ حتی اگر اندیکاسیون دارو برای جنس خاصی باشد. کودکان مجاز به شرکت در مطالعه نیستند، حتی اگر دارو برای کودکان باشد.
- سن داوطلبین معمولاً بین ۵۰-۲۰ سال است و در فرمی که امضاء می‌کنند، باید اعلام کنند که داوطلبانه در این آزمون شرکت کرده‌اند.

معمولاً در مطالعه هم‌ارزی داوطلبین سالم، دو دسته مطالعات انجام می‌شود:

۱- **متقاطع:** تعداد کمتر داوطلبین، دقت بیشتر، زمان طولانی‌تر (زیرا دو بار دارو باید تزریق شود) و یک دوره شست‌وشو بین این دو بار تزریق.



در این مطالعه دو گروه داریم. بار اول، گروه اول داروی مرجع و دیگری داروی آزمون را مصرف می‌کند و باید صبر کرد تا دارو کاملاً از بدن حذف شود که دوره شست‌وشو نام دارد و حدوداً ۷ نیمه عمر کفایت می‌کند. سپس در بار دوم تجویز، داروی دو گروه را عوض می‌کنیم و به گروه اول، داروی آزمون و به دیگری داروی مرجع می‌دهیم. در نتیجه دقت بالاست و به تعداد داوطلب کمتری احتیاج داریم.

۲- **موازی:** یک نوبت تجویز و در نتیجه زمان کوتاه‌تر، دوره شست‌وشو ندارد، دقت کمتر و به همین علت تعداد داوطلبان بیشتری نیز احتیاج دارد.

Treatment A	Treatment B
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
11	12

در مطالعه موازی، دو گروه الف و ب یکی داروی مرجع و یکی داروی آزمون را مصرف می‌کنند که می‌تواند هم‌زمان اتفاق بیفتد و زمان مطالعه را کوتاه کند، اما چون میانگین این دو گروه با هم مقایسه می‌شود، دقت بالایی ندارد و تغییرات برون و درون شخصیتی بیشتری وجود دارند. در نتیجه از این روش معمولاً استفاده نمی‌شود، مگر اینکه روی افراد بیمار در حال آزمایش باشیم.

پس از آن که نوع مطالعه (متقاطع یا موازی) مشخص شد و براساس مشخصات فارماکوکینتیکی دارو، تعداد داوطلبین نیز مشخص شد، مرحله تجویز دارو به داوطلبین باید انجام شود. داروی مرجع (برند) دارویی است که برای اولین بار وارد بازار دارویی جهان شده است و بیشترین اطلاعات دینامیک، کینتیک و پایداری و سمیت را از این دارو در اختیار داریم (داروی مرجع همان Innovator یا یک برند معروف و پرمصرف است). فرآورده مرجع باید شرایط یکسانی با فرآورده آزمون داشته باشد؛ یعنی هم دوز باشند، درحد امکان هم شکل باشند (گاهی قرص و کپسول با هم مقایسه می‌شوند)، Release آن‌ها باید شبیه به هم باشند (مثلاً هردو آهسته رهش) و ملح استفاده شده نیز باید یکسان باشد.

حال ما داروی مرجع را انتخاب کردیم، داروی آزمون هم که به ما رسیده است و داوطلبین مطابق پروتکل، به صورت ناشتا دارو را با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مصرف می‌کنند و تا ۴-۳ ساعت پس از تجویز دوز، به غیر از آب چیز دیگری نمی‌توانند مصرف کنند تا فرصت صبحانه برسد. سپس باید از داوطلبین نمونه خونی گرفت تا بتوان غلظت دارو را در آن مشخص نمود و یک پروفایل غلظت-زمان رسم کرد که در آن پروفایل،

فاز جذب و غلظت ماکسیمم مشخص باشد و بتوان فاز توزیع دارو و حذف (برای محاسبه ثابت سرعت حذف و نیمه عمر حذف) را فهمید. یک آنژیوکت بر روی دست داوطلبین است که توسط آن، نمونه گیری انجام می شود. بنابراین نقاط نمونه گیری باید از قبل مشخص شده باشد که در اطراف این نواحی، حداقل سه یا چهار بار نمونه گیری شود و در اطراف t_{max} هم نقاط، به هم نزدیک تر باشند.

بر این اساس حدود ۱۵ نمونه خونی از داوطلبین گرفته می شود تا بتوانیم این پروفایل را به دقت رسم کنیم. حجم نمونه هم بسته به روش آنالیز، بین ۰.۵ تا ۱ سی سی حداقل و ۱۰ سی سی حداکثر می باشد.

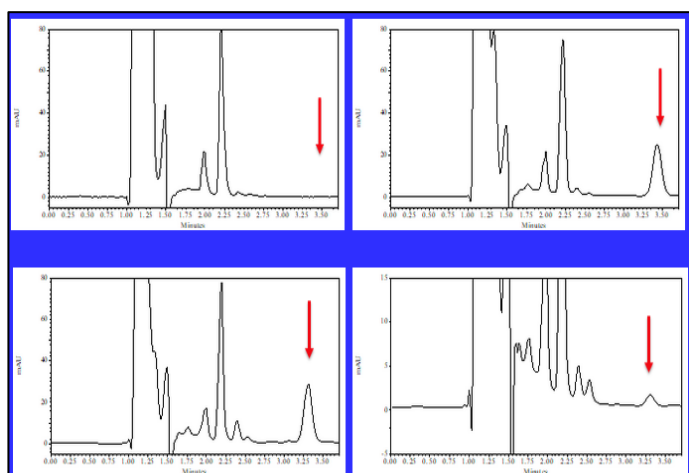
اکنون که نمونه های خونی را آماده کردیم، باید دارو را در آن آنالیز و تعیین مقدار کنیم.

➤ روش های تعیین مقدار در مایعات بیولوژیک

روش های آنالیز محدود به یکی دو عدد هستند.

- روش گاز کروماتوگرافی (GC) که فقط برای مواد فرار به کار می رود و بسیار محدود است.
 - روش رادیوایمونواسی (RIA) که اخیرا ارزش بیشتری پیدا کرده است، به خاطر سرعت و دقت کار در نمونه های مورد آنالیز.
 - روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی (HPLC) با دکتورهای متداول که شامل UV و فلورسانس می شود و پر استفاده است.
 - کروماتوگرافی - طیف سنجی جرمی (LC-MS/MS): بسیار حساس و سریع است و دقت بالایی در تعیین مقدار دارو دارد که روتین شده و قیمت آن کاهش پیدا کرده است. نکته قابل توجه این است که دارو های جدید بسیار پوتنت هستند، در نتیجه غلظت کمی دارند و دقت بالایی برای تعیین مقدار در خون و ادرار می طلبند و نیز ردیابی آن ها دشوار است، در نتیجه این روش پراهمیت است.
- نکته:** یک روش آنالیز باید دارای ویژگی های زیر باشد (که توسط سازمان غذا و دارو و FDA و سایر مراجع آمده است):

- (۱) اختصاصی: فقط داروی مورد نظر ما را آنالیز کند.
 - (۲) حساس: یعنی با تغییر غلظت، تغییر پاسخ مناسب ایجاد کند.
 - (۳) خطی: یعنی در محدوده تعیین غلظت، از کمترین مقدار دارو در آخرین نقطه تا بیشترین آن در t_{max} ، یک محدوده خطی داشته باشد.
 - (۴) تکرارپذیر: پاسخ هایی که امروز این دستگاه می دهد با پاسخی که ۵ یا ۱۰ روز دیگر می دهد، یکسان باشد؛ زیرا فرآیند آنالیز طولانی است.
- Method validation:** بررسی مجموعه این ویژگی ها را Method validation می گویند تا ما بتوانیم از یک روش آنالیز استفاده کنیم.



مثلا در این جا ۴ کروماتوگرام می بینیم که برای آنالیز یک دارو در مطالعات هم ارزی زیستی است و به پیوست گزارش ارسال می شود.

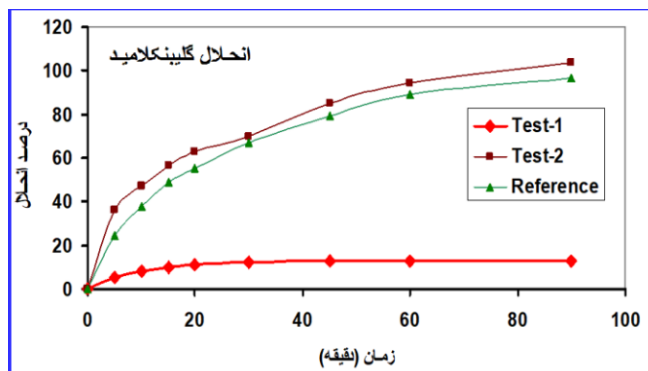
کروماتوگرام اول بالا سمت چپ نمونه پلاسمای فاقد دارو است.

کروماتوگرام دوم بالا سمت راست به صورت دستی دارو به پلاسما وارد شده است.

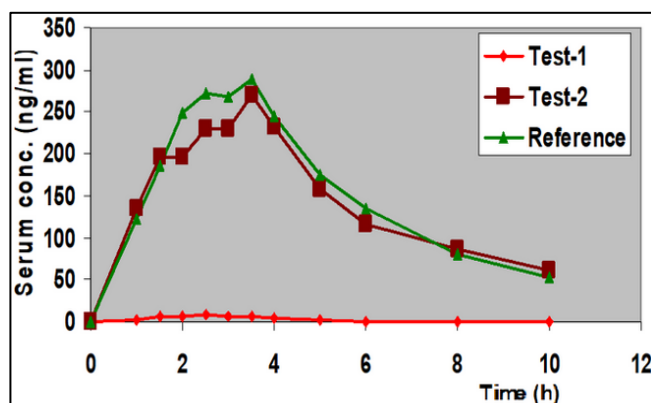
دو کروماتوگرام پایین هم مربوط به نمونه هایی هستند که به صورت واقعی از یک داوطلب گرفته شده است.

➤ مرور مطالب گفته شده

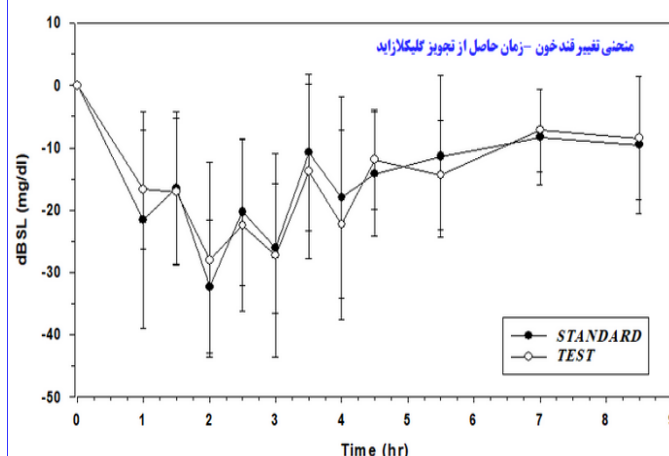
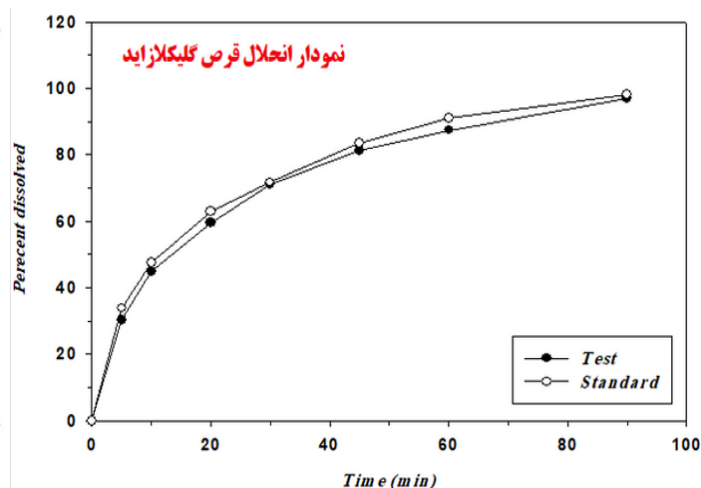
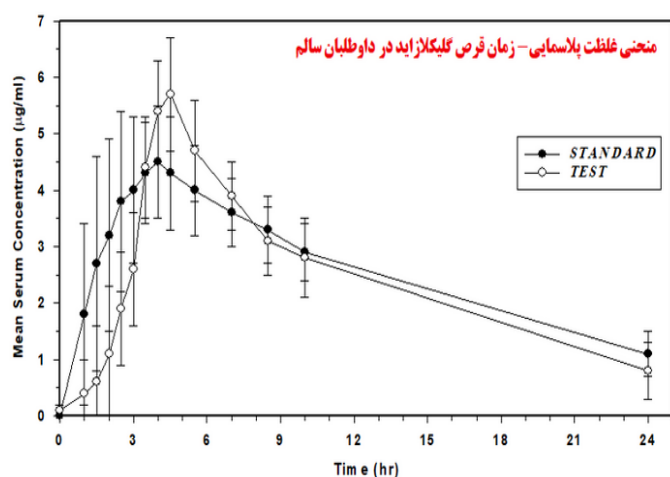
در اینجا شاهد سه پروفایل انحلال هستیم.



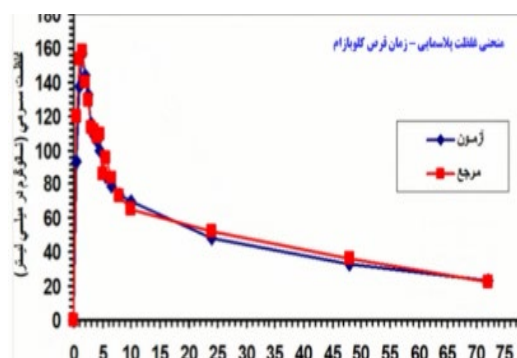
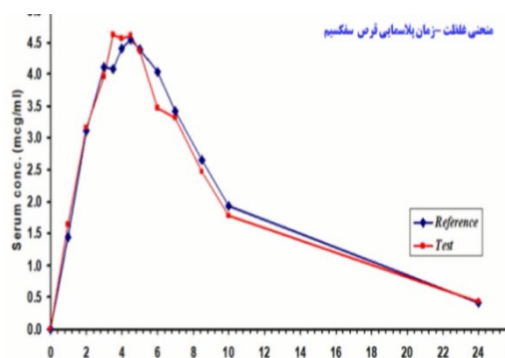
تست ۱ (پایین ترین منحنی) که انحلال بسیار کمتری نسبت به رفرنس دارد، مربوط به قرص گلیکلازید در حدود ۲۰ سال پیش است که در بازار دارویی آن موقع وجود داشت. رفرنس هم مربوط به داروی مرجع آن دائونیل است. با اصرار زیاد، کارخانه داروی قرص گلیکلازید حاضر به تغییر فرمولاسیون و رساندن انحلال آن به مقدار رفرنس شد. (تست دو در نمودار بالاترین منحنی) غلظت‌هایی که در بدن داوطلب ایجاد کرده اند هم به صورت زیر است:



همان‌طور که مشاهده می‌شود فراورده قبلی تقریباً غلظت صفر در بدن ایجاد می‌کرده است و این موضوع به صورت تجربی، در کنترل قند خون بیمارانی که یک دوز دائونیل می‌خوردند، در مقایسه با آن‌ها که چند دوز گلیکلازید می‌خوردند هم واضح بود. البته همه فراورده‌های آن زمان هم این‌گونه نبود؛ مثل قرص گلیکلازید که تست انحلال آن بسیار شبیه نمونه خارجی آن است و غلظت‌های قابل قبولی هم نشان داده است. تغییرات قند خون هم در این داوطلبین طبق پروتکل‌ها انجام شد (شکل‌های زیر).



قرص سفکسیم (منحنی بالا) و کلوبازام (منحنی پایین) و بسیاری از دیگر فرآورده‌ها هم غلظت‌های خیلی خوب و قابل قبولی ایجاد می‌کنند و به تدریج محصولات بی‌کیفیت، حذف یا اصلاح شده‌اند.



➤ غلظت‌های خام پلاسمایی در هم ارزی زیستی

در مطالعات هم ارزی زیستی، وقتی داوطلبین و نوع مطالعه و روش آنالیزمان (Method validation) را مشخص کرده‌ایم، دارو را به داوطلبین تجویز کرده‌ایم و از آن‌ها نمونه‌های خون گرفته‌ایم و آن را برای دارو آنالیز کرده‌ایم، جدولی مشابه جدول زیر که غلظت‌های خام پلاسمایی بعد از تجویز دارو را نشان می‌دهد را باید به وزارت بهداشت تحویل بدهیم.

Subject Code	Sampling time (hr)/serum Concentration (µg/ml)													
	0	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5.5	7	8.5	10	24
YA	0.00	1.10	1.72	2.56	3.75	4.37	5.28	4.49	4.49	4.32	4.26	4.03	3.36	1.72
FR	0.00	3.98	4.60	5.90	6.01	4.37	5.11	6.07	4.54	3.98	3.41	3.19	2.90	0.76
KH	0.00	2.34	2.79	3.58	4.03	4.54	4.88	4.54	4.20	4.09	3.19	2.51	2.56	0.53
K.N	0.00	0.93	2.62	2.62	3.07	3.53	3.36	3.24	3.13	2.40	3.13	2.96	2.51	1.04
MI	0.00	0.02	0.31	0.42	0.64	0.87	3.41	5.79	6.69	5.67	4.82	3.98	3.41	1.21
GH	0.00	5.11	6.80	5.79	6.24	6.18	5.33	4.88	4.77	4.43	3.98	3.58	3.24	1.38
ALI	0.00	0.53	0.87	1.10	1.66	2.45	3.47	3.41	3.58	3.41	2.90	2.73	2.45	1.10
MN	0.00	1.44	2.23	3.24	3.30	3.53	3.36	3.53	3.64	3.19	3.24	2.73	2.85	0.87
FZ	0.00	1.21	2.40	4.15	4.82	5.28	5.50	5.79	5.56	4.99	4.20	4.03	2.96	0.93
AZ	0.00	2.11	4.37	5.16	5.22	5.45	5.05	5.22	4.66	4.37	3.98	3.69	3.53	1.32
FJ	0.00	3.58	4.43	2.62	4.09	3.92	3.86	3.86	3.92	3.47	2.96	2.62	2.40	0.96
PO	0.00	0.70	1.77	2.62	3.30	5.05	4.15	3.98	4.15	4.15	3.64	3.64	3.58	1.77
HA	0.00	0.19	0.70	2.17	2.96	0.02	3.24	3.58	3.13	3.36	3.07	2.56	2.28	0.93
Mean	0.00	1.79	2.74	3.23	3.78	3.81	4.31	4.49	4.34	3.99	3.60	3.25	2.93	1.12
SD	0.00	1.57	1.86	1.67	1.59	1.78	0.90	0.99	0.98	0.84	0.60	0.60	0.46	0.36
CV%	0.00	87.80	67.85	51.79	42.07	46.78	20.78	21.95	22.62	21.13	16.65	18.30	15.74	32.07

به عنوان مثال تا ۲۴ ساعت نمونه گیری شده است. همان طور که مشاهده می‌کنید، بعد از داشتن غلظت‌های خام، پارامترها را محاسبه کردیم که این پارامترها عبارتند از: t_{max} , C_{max} , AUC (تا آخرین نقطه ای که نمونه گیری شده)، AUC (تا بی نهایت) و نیمه عمر که هم برای نمونه تست و هم برای رفرنس آورده شده است.

subject code	T1/2(hr)		T max(hr)		C max(mcg/ml)		AUC(0-24)		AUC(0-inf)	
	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S
YA	13.6	13.1	3.5	3.5	5.8	5.3	80.5	103.4	117.6	103.6
FR	7	7.6	3	4	6.2	6.1	64.5	65.1	71.6	73.5
KH	7.7	6.6	2.5	3.5	4.9	4.9	50.3	54.4	56.8	59.4
K.N	9.6	10.6	3.5	3	3.5	3.5	36.4	40.2	48.0	67.0
MI	8.5	8.8	3.5	4.5	4.9	6.7	52.2	66.0	62.1	81.3
GH	10	11.2	3	2.5	5.3	6.2	44.4	43.1	62.6	98.9
AL	10.6	12	4.5	4.5	3.9	3.6	32.7	28.7	69.2	67.8
MN	9.8	8.9	3.5	4.5	4.5	3.6	64.5	65.1	72.1	65.8
FZ	7.7	7.7	3	4	6.7	5.8	74.4	67.1	87.7	77.3
AZ	8.4	10.5	4	3	5	5.4	64.4	73.9	77.6	93.8
FJ	7.6	10.8	3	3	4	3.9	50.5	55.2	58.1	70.4
PO	21.1	15.4	4	3	5.3	5.1	84.1	70.3	164.3	109.7
HA	10.2	10.2	2.5	4	3.8	3.6	47.1	45.7	59.3	59.2
Mean	10.14	10.26	3.35	3.62	4.91	4.90	57.4	59.9	77.5	79.1
SD	3.73	2.41	0.59	0.68	0.97	1.14	16.2	18.8	31.4	17.1
CV%	36.76	23.51	17.66	18.86	19.69	23.31	28.2	31.4	40.6	21.6

نیمه عمرهای متفاوتی را در افراد مختلف در مطالعه مشاهده می‌کنید و تغییرات قابل توجهی را بین اشخاص مشاهده می‌کنید که پس از آن باید دید در بدن خود شخص در هنگام مصرف فرآورده آزمون و مرجع، چه تغییراتی پیش خواهد آمد. به طور مثال (سه ردیف آخر ستون سوم) نیمه عمر متوسط با انحراف ۲.۴۱ برابر ۱۰.۲۶ شده و حدود ۲۳٪ تغییرات بین شخصی داریم. برای محاسبه تغییرات درون شخصی، سایر مطالعات نیز نیاز است. برای پارامترهای دیگر هم شاهد تغییرات هستیم؛ برای مثال ۲۳٪ تغییر بین اشخاص برای C_{max} .

در مطالعات هم ارزی، انتظار نداریم دو فرآورده کاملاً شبیه یک دیگر باشند؛ چون چنین چیزی اصلاً امکان ندارد. حتی اگر در دو یا سه نوبت، یک فرآورده مرجع را هم برای یک فرد تجویز کنید، پاسخ های متفاوتی در هر نوبت مشاهده می‌کنید.

➤ محاسبات آماری در هم ارزی زیستی

FDA و سایر مراجع قانون گذاری می‌گویند بر اساس آنچه از کلینیک به دست آمده است، ۲۰٪ تفاوت در C_{max} ، AUC و دوز، اختلاف زیادی در پاسخ ایجاد نخواهد کرد. بنابراین همین ۲۰٪ پذیرفته شده است و برای مثال اگر بگوییم نسبت C_{max} داروی تست نسبت به استاندارد ۲۰٪ اختلاف داشته باشد، این مقدار قابل قبول است. برای داروهای حساس ممکن است این عدد کمتر از ۲۰٪ و برای داروهای Safe یا داروهایی که خیلی تغییرات بین شخصی دارند، این اختلاف می‌تواند بیشتر باشد.

البته این نسبت کافی نیست و ما نیاز به یک آزمون آماری به نام **آزمون محدوده اطمینان** هم داریم که به کمک آنالیز واریانس (انحراف) در مطالعات هم ارزی زیستی انجام می‌شود. این آزمون میزان تغییرات درون شخصی، میزان تغییرات بین شخصی و همچنین میزان اطمینانی که می‌خواهیم ادعا را بیان کنیم را نشان می‌دهد که این میزان تفاوت چقدر است؛ چون ممکن است در میانگین ها تفاوت نبینیم، اما با توجه به تغییرات زیاد درون شخصی و بین شخصی، کاملاً دو فرآورده با هم غیرقابل مقایسه باشند و علی رغم اینکه میانگین هایشان شبیه یکدیگر است، در واقع توزیع داده ها در یک ست دیتا متفاوت از توزیع داده ها در یک ست دیتای دیگر باشد و از نظر آماری نمی‌توانیم بپذیریم که دو داده با یکدیگر شباهت دارند.

برای مثال در جدول زیر، C_{max} تست نسبت به استاندارد میانگین ۰.۹۶ دارد. مقایسه T test ساده، نشان داده است که این ها تفاوت ندارند و P VALUE معادل ۰.۹۷ است و تحلیل واریانس (Anova) گفته است که این میانگین ۰.۹۶ در فاصله ۰.۸۸ به عنوان Lower Limit و ۱.۰۵ به عنوان Upper Limit قرار می‌گیرد، بنابراین در فاصله ۸۰٪ تا ۱۲۰٪ یا فاصله لگاریتمی ۰.۸ تا ۱.۲۵ واقع شده است.

classic parameters					
	C_{max}	T_{max}	AUC(0-10)	AUC(0-24)	AUC(0-inf)
Mean Ratio	0.96	0.92	1.01	1.00	0.96
Lower Limite	0.88	0.72	0.96	0.95	0.86
Uper Limite	1.05	1.18	1.07	1.06	1.06
P Value	0.97	0.28	0.94	1.00	0.80

اگر به t_{max} نگاه کنید، Lower limit برابر ۰.۷۲ است که قبول نیست؛ زیرا کم تر از ۸۰٪ یا ۰.۸ است و در مورد AUC هم داده ها قابل مشاهده است که در محدوده ۰.۸ تا ۱.۲ یا ۱.۲۵ فاصله لگاریتمی قرار گرفته است. در مورد این دارو، اگر دارویی باشد که به صورت مکرر و مدام مصرف شود، t_{max} را لحاظ نمی‌کنیم و این فرآورده‌ها می‌توانند هم‌ارز یکدیگر باشند.

پس صرف اینکه نسبت یک پارامتر در تست و استاندارد بین ۰.۸ تا ۱.۲ یا ۸۰٪ تا ۱۲۰٪ یا ۰.۸ تا ۱.۲۵ لگاریتمی قرار گیرد، کفایت نمی‌کند و با توجه به تغییرات درون شخصی و بین شخصی و میزان اطمینان مورد استفاده، آزمون آنوا حد پایین و حد بالای میانگین را مشخص می‌کند.

➤ کدام داروها احتیاج به مطالعه هم ارزی دارند؟

۱. داروهای کم محلول (Low solubility) به این مطالعات احتیاج دارند؛ چون شانس اینکه فرمولاسیون در فرآورده مرجع به حلالیت ماده کمک کرده باشد و ممکن است در داروی ژنریک، ما به آن توجه نکرده باشیم، زیاد است.
 ۲. داروهایی که آهسته حل می شوند (Slow dissolution).
 ۳. داروهایی که نسبت ماده جانبی به ماده موثره خیلی زیاد (بیش از ۵ و ۶) است، (High ratio of exp/active ingredient) و شانس تداخل و تحت تاثیر قرار دادن جذب را زیاد می کنند.
 ۴. داروهایی که مواد خاص جانبی (Specific inactive ingredient) در آن ها مورد استفاده قرار گرفته که ثابت شده است موجب تداخل می شوند.
 ۵. بعضی شواهد فارماکوکینتیکی برای یک سری از داروها، که مثلاً پنجره درمانی معین دارند یا جذبشان وابسته به غذا است یا شواهد فارماکوکینتیکی این داروها نشان می دهد که فراهمی زیستی می تواند خیلی متغیر باشد. (Some pharmacokinetic evidences)
- کدام داروها احتیاج به مطالعه هم ارزی زیستی ندارند؟

۱. محلول های تزریقی (IV solution)، زیرا فراهمی زیستی آن ها با هر حجم، ۱۰۰٪ است. این محلول ها مشروط بر این که واقعا محلول باشند، نیازی به این نوع مطالعه ندارند.
۲. داروهای موضعی که فقط به منظور اثر موضعی استفاده می شوند نه اثر سیستمیک (Topical product for topical use)، چون برای اثر سیستمیک این داروها نیاز به مطالعه هم ارزی زیستی است.
۳. داروهای خوراکی که اثر سیستمیک از آن ها نمی خواهیم و اثر موضعی از آن ها انتظار داریم که البته روش های دیگری برای مطالعه دارند که متفاوت از هم ارزی زیستی هستند.
۴. آئروسول ها که فرمولشان کاملاً شبیه رفرنس است (Aerosols(gas) with same ingredients with ref).

سوال: با توجه به زمان بر و هزینه بر بودن و ملاحظات اخلاقی این مطالعات روی انسان سالم، آیا مطالعات هم ارزی زیستی جایگزین هم دارند؟ بله

۱- (IVIVC) in vitro-in vivo correlation

مطالعات ارتباط برون تن-درون تن که بعضی ویژگی های in vitro مثل انحلال، می توانستند با برخی ویژگی های in vivo مثل سرعت جذب برابر باشند؛ البته این مطالعات خیلی نتوانست جایگزین هم ارزی زیستی شود، اما قانونی در FDA وجود دارد که اگر شما تغییری در فرمولاسیون ایجاد کردید یا منبع ماده اولیه را عوض کردید یا محل ساخت را تغییر دادید، مطالعات هم ارزی زیستی باید تکرار شوند و این مطالعه (IVIVC) در بسیاری از موارد توانسته است جایگزین تکرار مطالعات هم ارزی زیستی به دنبال این تغییرات شود.

۲- (BCS) Biopharmaceutical Classification System

بحث جدیدی است که بر اساس Solubility و Permeability مواد موثره، داروها را به چهار دسته تقسیم می کند و بر آن اساس، مطالعات هم ارزی زیستی برخی داروها را ویو (biowaiver) می کند که البته باید شواهد آن را جمع آوری کرد و مطالعات زیادی در این ارتباط شده است. BCS در کل خیلی موثرتر و موفق تر از IVIVC بوده است.