

Интерпретация данных фармакокинетики при доклиническом изучении новых лекарственных средств. Однократное внутривенное введение

Геодакян С. В.

Образовательное частное учреждение высшего образования «Московский инновационный университет»,
Москва, Россия

Аннотация. Обзорная статья. Дальнейшее развитие методологического уровня системы поддержки принятия решений, предложенной для организации первичного отбора и экспериментального изучения новых лекарственных средств (ЛС). Систематизированы способы описания и интерпретации данных основного фармакокинетического (ФК) эксперимента (однократное внутривенное введение ЛС). Предложена схема выбора моделей описания ФК поведения и свойств ЛС, основанная на визуальном распознавании образов.

Ключевые слова: система поддержки принятия решений; методология; фармакокинетика; модели; распознавание образов; анализ данных

Для цитирования:

Геодакян С. В. Интерпретация данных фармакокинетики при доклиническом изучении новых лекарственных средств. Однократное внутривенное введение. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2022;(1):55–60. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-1-55-60>

Поступила: 24 февраля 2022 г. **Принята:** 02 марта 2022 г. **Опубликована:** 30 марта 2022 г.

Interpretation of pharmacokinetic data in preclinical studies of new drugs. Single intravenous administration

Geodakyan SV

Private educational institution of higher professional education "Moscow innovative university", Moscow, Russia

Abstract. Review. Further development of the methodological level of the decision support system proposed for the organization of primary selection and experimental preclinical study of new drugs. Methods for describing and interpreting the main pharmacokinetic experiment (single intravenous administration of drugs) data are systematized. A scheme for choosing pharmacokinetic models based on visual pattern recognition is proposed. Visual data patterns allow prediction of pharmacokinetic behavior and properties of new drugs.

Keywords: decision support system; methodology; pharmacokinetics; models; pattern recognition; data analysis

For citations:

Geodakyan SV. Interpretation of pharmacokinetic data in preclinical studies of new drugs. Single intravenous administration. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2022;(1):55–60. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-1-55-60>

Received: February 24, 2021. **Accepted:** March 02, 2022. **Published:** March 30, 2022

Введение / Introduction

Область поиска и разработки новых лекарственных средств (ЛС) относится к мультидисциплинарным исследованиям. В процессе создания нового препарата осуществляется около 800 отдельных стадий исследований и разработок (R&D) [1]. Стоимость разработки новых ЛС остаётся крайне высокой (от 1 до 2,5 млрд долларов и около 10–15 лет). При этом менее 0,1 % новых соединений доходят до I фазы клинических исследований [2]. Из всех веществ, участвующих в доклинических разработках, лишь 2 % становятся зарегистрированными препаратами [3]. С целью стандартизации процесса доклинического изучения ЛС и повышения его эффективности была предложена единая система экспериментов (ЕСЭ), организованная по модульному принципу и использующая методологию скрининга. Предлагалась двухэтапная организация испытаний, при которой на первом этапе реализуется общая для всех веществ схема исследований, а на втором – индивидуализированная, выбранная по результатам первого этапа скрининга [4].

Предложенная система может осуществлять несколько функций: 1) включать в себя в виде правил уже накопленные знания; 2) создавать и пополнять

стандартизованный набор данных, которые можно использовать для извлечения новых знаний и правил и компьютерного предсказания свойств новых ЛС; 3) обучать специалистов в данной области и служить системой поддержки принятия решений. В самом общем виде можно выделить 4 уровня организации ЕСЭ: 1) методологический (знания, правила, блок схемы последовательности экспериментов и вопросы, на которые отвечает каждый блок); 2) методический (объекты исследований, схемы введения ЛС, методы проведения экспериментов, приборы и стандартные операционные процедуры (СОП)); 3) методы обработки, модели и критерии оценки результатов и 4) аппаратный уровень (компьютерные программы и база(ы) данных).

Методическому уровню уделялось много внимания, и он достаточно подробно изложен в ряде монографий [5, 6], статей [7], диссертаций [8–11] и рекомендаций по изучению ЛС в РФ [12, 13, 14] и других странах. Следует отметить важность применения СОП на всех этапах изучения ЛС. СОП позволяют проводить тренировку персонала, а также стандартизовать и последовательно улучшать процесс получения экспериментальных данных. О том, что в РФ такая практика работы не получила ещё широкого распространения,

может говорить отсутствие до середины 2021 г. статьи «СОП» в русскоязычной Википедии.

Попытки описания методологического уровня были предложены в ряде работ как продолжение детализации модулей ЕСЭ: общая для всех ЛС схема исследований качественных [15] и количественных [16] характеристик метаболизма, и специфичная для противоопухолевых препаратов схема изучения механизма их действия [17].

В настоящей работе предлагается схема описания и интерпретации данных основного фармакокинетического эксперимента (однократное внутривенное введение в максимальной, планируемой для применения, дозе). Цель данного эксперимента – ответить на следующие вопросы [4]: 1) сколько основного ЛС (и его метаболитов) присутствует в разных местах организма и в какое время? 2) как происходит распределение ЛС в организме (включая характеристики связывания с белками крови и тканями [18])? 3) как происходит выведение ЛС (включая характеристики биотрансформации [15, 16])? В дальнейшем, в случае внесосудистого применения, изучают всасывание ЛС.

Для целей стандартизации представления данных и сравнения различных препаратов необходимы достаточно простые и универсальные модели. Для этого можно рекомендовать немодельные подходы [19], концепцию клиренса [20], а также единую форму представления фармакокинетических данных [21]. Более подробное описание данных дают камерные и физиологические модели. Физиологические модели позволяют учитывать влияние различных интересующих факторов (пол, возраст, раса, сопутствующие заболевания, и т. д.).

Концепция клиренса / The concept of clearance

Общее описание процессов элиминации ЛС с использованием клиренсов не требует никаких модельных предположений и поэтому может быть использовано для их сравнения [22]. Клиренс – это гибридный параметр, отражающий как степень, так и скорость процесса элиминации [21]. Клиренс зависит от того, где измеряется концентрация ЛС – в крови (C_b) или плазме (C_p), а также несвязанного ЛС (C_u).

На уровне целого организма мы выделяем общий (CL), почечный (CL_r), непочечный (CL_{nr}) и метаболический (CL_m) клиренсы. Общий клиренс равен сумме клиренсов для всех путей (органов) выведения ЛС.

Клиренс может использоваться для описания как нелинейной [22], так и линейной кинетики ЛС, в последнем случае он не зависит от введённой дозы. Для линейной кинетики общее количество ЛС, выведенного в неизменённом состоянии ($AUC(t)$), почками ($AUC_u(t)$) или метаболизированного ($AUC_m(t)$) за время «t», прямо пропорционально площади под кривой концентрации ЛС в плазме крови до времени «t», и соответствующие значения клиренсов (CL , CL_r

и CL_m) являются коэффициентами пропорциональности [23].

Сравнение клиренса изучаемого вещества с клиренсом стандартного препарата, экскретирующегося за счёт клубочковой фильтрации (обычно используется инулин), позволяет судить не только о скорости, но и о механизмах его выведения с мочой. Если значение клиренса исследуемого препарата ниже, чем для стандартного, можно говорить об участии обратного всасывания в канальцах, если выше – то о канальцевой секреции [6].

Некомпаратментальный анализ / Non-instrumental analysis

Фармакокинетические параметры, определённые без использования специфической структуры камерной модели, также могут быть использованы для сравнения ЛС между собой. К таким параметрам относятся: площадь под кривой (AUC) концентрация ЛС – время ($C(t) - t$), константа скорости элиминации (λ_2), период полувыведения ($t_{1/2z}$) и объём распределения в конечной фазе (V_z) [24].

Камерные модели / Chamber models

Процесс всасывания ЛС при внесосудистом введении влияет на его распределение и элиминацию, поэтому, чтобы исключить всасывание, первичный анализ кривой концентрации ЛС в плазме (C) от времени (t) обычно проводят при его внутривенном введении в высокой дозе. ЛС, введённое внутривенно, удаляется из плазмы по двум основным механизмам: (1) распределение в тканях организма и (2) метаболизм + экскреция.

Возникающее в результате снижение концентрации препарата в плазме в полулогарифмических координатах «LgC(t) – t» имеет один или несколько линейных участков. Начальная фаза быстрого снижения концентрации в плазме (альфа фаза) в первую очередь связана с распространением ЛС из центрального отдела (кровообращение) в периферические отделы (ткани тела). Фазы постепенного снижения концентрации связаны с выведением препарата, то есть метаболизмом и выведением.

Ключевым элементом при анализе полученных графиков служит распознавание образов (pattern recognition) [25]. При этом можно различить четыре типа зависимостей: прямая, выпуклая, вогнутая и смешанная, состоящая из вогнутых и выпуклых участков (рис. 1 А, В, С, D). Когда альфа фаза отсутствует, можно применять одночастевые модели описания данных (рис. 1 А, В). Наличие альфа фазы (вогнутая форма кривой или наклон начальной части кривой больше конечного ($\lambda_1 > \lambda_n$)) говорит о необходимости введения двух или более камер для описания процесса распределения ЛС (рис. 1 С, D).

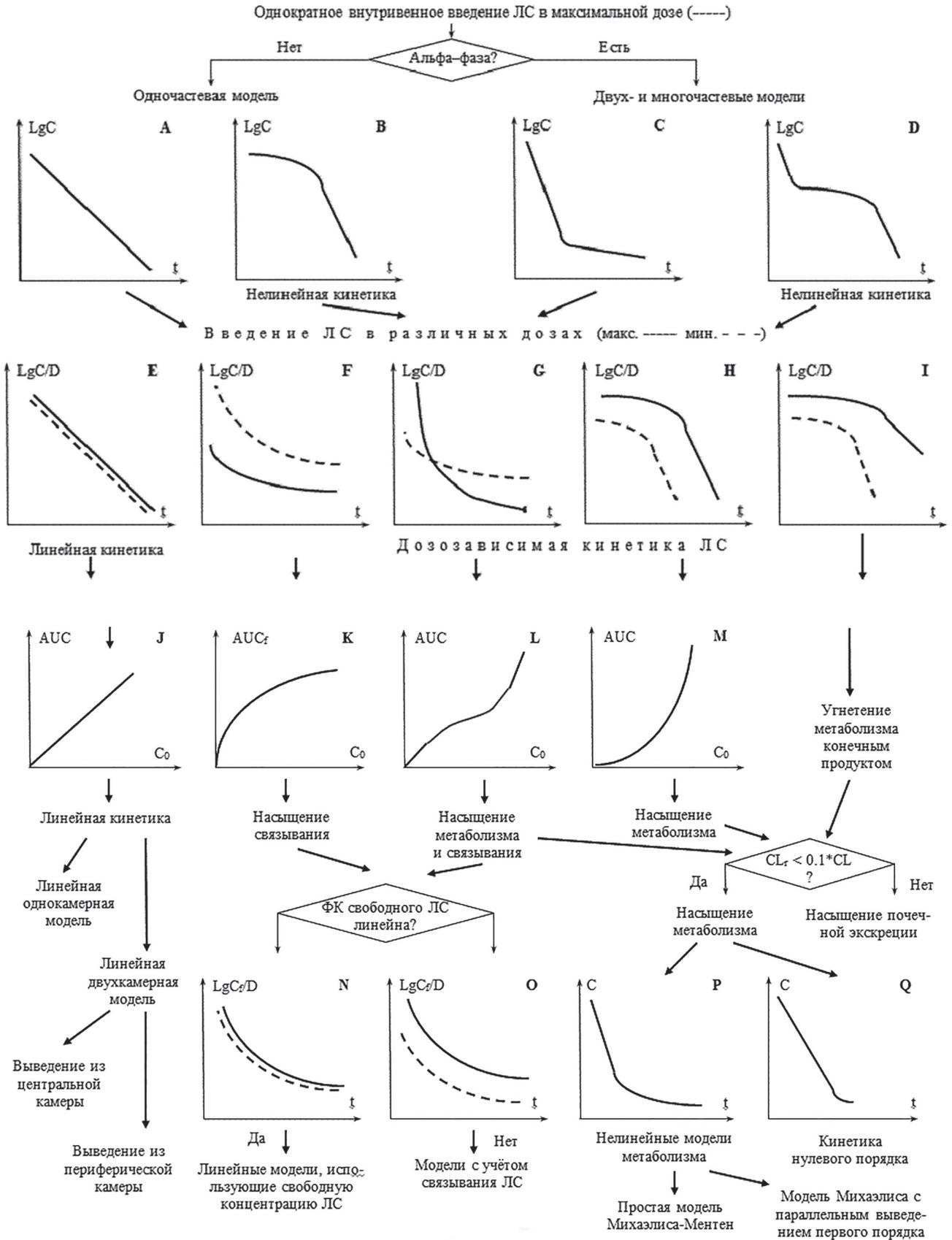


Рис. 1. Способы различения процессов, определяющих ФК ЛС и выбора моделей описания данных.
 Figure 1. Distinguishing between the pharmacokinetic processes and the choice of data description models.

Выпуклая форма кривой (рис. 1 В), имеющая начальный наклон меньше конечного ($\lambda_1 < \lambda_n$), говорит о нелинейности и насыщении процессов элиминации ЛС. S-образная форма кривой (рис. 1 D) свидетельствует о насыщении процессов элиминации в конечной фазе (disposition). Первоначальное снижение наклона происходит за счёт процесса распределения (distribution), а последующее увеличение наклона со временем в конечной фазе — за счёт как процессов распределения, так и элиминации (disposition) [26].

Иногда могут наблюдаться необычные формы кривых, включая добавочные максимумы или плато. Возможными объяснениями могут быть явления кишечно-печёночной циркуляции (enterohepatic recycling), сильное связывание ЛС и его накопление в тканях [27, 28].

Проверку линейности фармакокинетики неизменённого ЛС проводят при его введении в различных дозах [29]. Когда концентрации ЛС делят на соответствующую величину дозы и наносят на график относительно времени, можно наблюдать пять основных ситуаций. Пропорциональное увеличение концентрации ЛС с увеличением дозы (нормализованные к дозе кривые «LgC/D – t» совмещаются) (рис. 1 E) говорит о том, что процессы насыщения отсутствуют и фармакокинетика ЛС линейна [27].

Концентрации ЛС, возрастающие от дозы более чем пропорционально (нормализованная кривая для высокой дозы расположена выше) (рис. 1 H), говорит о насыщении процессов метаболизма [27]. Если нормализованная кривая для высокой дозы расположена ниже кривой для низкой дозы (рис. 1 F), это может говорить об обратном всасывании ЛС в почечных канальцах [30], или насыщении связывания ЛС [31, 32]. Другой возможной причиной такой формы кривой может быть наличие «глубокого» компартмента или компартмента с медленным установлением равновесия концентрации ЛС [27].

Пересечение нормализованных кривых (наклон нормализованной кривой для высокой дозы больше) (рис. 1 G) свидетельствует о том, что на кинетику ЛС влияет насыщение метаболизма и связывания. Такая картина — уменьшение периода полувыведения ЛС с увеличением дозы — была описана для 3-дезауридина [33].

Расхождение нормализованных кривых (наклон нормализованной кривой для высокой дозы меньше) (рис. 1 I), т. е. увеличение периода полувыведения ЛС с увеличением дозы, наблюдается, когда метаболит угнетает своё собственное образование (terminal product inhibition). В этом случае высокие дозы выводятся медленнее низких [34]. Такой тип дозовой зависимости отмечался после введения дикумарола, дифенилгидантоина и 6-диазо-5-оксо-L-норлейцина (ДОН) [35]. Нелинейное изменение концентраций с увеличением дозы может приводить к непропорциональному увеличению токсичности ЛС.

Узнать какие процессы элиминации ЛС подвергаются насыщению можно, определив вклад почечного

(CL_r) клиренса в общий (CL) клиренс. Если почечный клиренс составляет менее 10 % от общего, мы имеем насыщение метаболизма ЛС, если больше, — происходит насыщение процессов почечной экскреции [36]. Насыщение экскреции в почечных канальцах ответственно за дозозависимое фармакокинетическое поведение метотрексата, хлорталидона и пиперациллина [35].

Если система находится в насыщении, на графике «C(t) – t» данные ложатся на прямую линию и описываются кинетикой нулевого порядка (рис. 1 Q). Если начальная часть графика — прямая линия в линейных координатах (рис. 1 P), применяется нелинейная модель (Михаэлиса-Ментен) [29, 36]. Если ЛС выводится почками в неизменённом виде, можно применять модель Михаэлиса-Ментен с параллельным выведением ЛС первого порядка.

Так как линейные модели проще и лучше разработаны, чем нелинейные, при обнаружении нелинейности полезно понять её природу. Нелинейность связана с процессами не первого порядка. Второй наиболее частой причиной нелинейности является связывание ЛС с белками плазмы крови и тканей [37]. Увеличенная скорость выведения свободного ЛС по мере увеличения дозы приводит к тому, что общая концентрация ЛС в плазме и площадь под кривой «C(t) – t» не превышают постоянных (плато) значений. Это явление наблюдалось для ЛС, сильно связывающихся с белками плазмы крови, таких как дизопирамид, напроксен и фенилбутазон [33].

Вклад метаболизма и связывания в нелинейность ФК можно определить из графика «AUC – C₀» для различных доз ЛС [37, 38]. Линейная зависимость говорит о линейной кинетике (рис. 1 J). При линейной фармакокинетике, возможно её описание при помощи статистических моментов [39].

Вогнутая форма кривой графика «AUC – C₀» (рис. 1 M) говорит о нелинейности метаболизма [40], тогда как выпуклая форма — о связывании (рис. 1 K). Наличие вогнутых и выпуклых участков (рис. 1 L) говорит о насыщении обоих процессов. Когда присутствует насыщение связывания, имеет смысл измерить концентрации свободного ЛС, так как оно может иметь линейную кинетику (рис. 1 N).

Знание типа и структуры модели необходимо для определения констант скорости перехода между камерами и скорости элиминации. Как правило, число камер модели соответствует числу линейных участков на графике «LgC(t) – t». Конечный наклон графика отражает скорость самого медленного процесса фармакокинетики ЛС.

На последующих этапах изучают ФК ЛС при многократном и других способах введения. Интерпретация данных была изложена в ряде работ [25, 27].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Геодакян Сергей Вигенович
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: sergeyg49@yandex.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8448-0923>
 к. м. н., доцент ОЧУВО «Московский
 инновационный университет», Москва, Россия

Geodakyan Sergey V.
Corresponding author
 e-mail: sergeyg49@yandex.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8448-0923>
 Cand. Sci. Med., docent Moscow innovative uni-
 versity, Moscow, Russia

Список литературы / References

- Thesing J. Trendumkehr in der Arzneimittelforschung. *Naturwissenschaften*. 1977;64(12):601–605. DOI: 10.1007/bf00440091.
- Maurel J, Postigo A. Prognostic and Predictive Biomarkers in Colorectal Cancer. From the Preclinical Setting to Clinical Practice. *Curr Cancer Drug Targets*. 2015;15(8):703–715. DOI: 10.2174/156800961508151001102822.
- Власов Д. Долгий путь от молекулы до лекарства: как пройти его максимально эффективно. Интерфакс. Образование 25 сентября 2018. [Vlasov D. Dolgii put' ot molekuly do lekarstva: kak proiti ego maksimal'no effektivno. Interfaks. Obrazovanie. 25 sentyabrya 2018. (In Russ).] Доступно по: <https://academia.interfax.ru/ru/analytics/research/1642/> Ссылка активна на 20.02.2022.
- Геодакян С.В., Нижний С.В., Ионов Б.В. Системно-методологические принципы организации первичного отбора и экспериментального изучения противоопухолевых препаратов. *Известия АН СССР Серия биологическая*. 1989;(2):212–218. [System-methodological principles for primary selection and experimental study of anti-cancer drugs. *Izvestiya AN SSSR Seriya biologicheskaya*. 1989;(2):212–218. (In Russ).]
- Горьков В.А. Тез. III Российского нац. конгр. “Человек и лекарство”. – М.: 1996: С. 17. [Gor'kov VA, Tez. III Rossiiskogo nats. kongr. “Chelovek i lekarstvo”, Moscow: 1996. (In Russ).]
- Берлянд А.С., Прокопов А.А. Методология изучения экспериментальной фармакокинетики и метаболизма новых лекарственных средств. – М.: МГМСУ; 2010, 182с. [Berlyand AS, Prokorov AA. Metodologiya izucheniya eksperimental'noi farmakokinetiki i metabolizma novykh lekarstvennykh sredstv. Moscow: MGMSU; 2010. (In Russ).]
- Берлянд А.С. Основные этапы исследования фармакокинетики субстанций новых препаратов. *Антибиотики и биотехнология*. 1987;32(7):489–492. [Berlyand AS. Osnovnye etapy issledovaniya farmakokinetiki substantsii novykh preparatov. *Antibiotiki i biotekhnologiya*. 1987;32(7):489–492. (In Russ).]
- Гнеушев Е.Т. Оптимизация фармакокинетических исследований сердечно-сосудистых лекарственных средств: Дис. ... доктора мед. наук. Москва; 1991. [Gneushev ET. Optimizatsiya farmakokineticheskikh issledovaniy serdechno-sosudistykh lekarstvennykh sredstv. [dissertation] Moscow; 1991. (In Russ).] Доступно по: <https://search.rsl.ru/ru/record/01000070578>. Ссылка активна на 20.02.2022.
- Берлянд А.С. Комплексное химико-фармацевтическое и доклиническое фармакокинетическое исследование новых психотропных и антихолинэстеразных лекарственных средств: Дис. ... доктора фарм. наук. Москва; 1991. [Berlyand AS. Kompleksnoe khimiko-farmatsevticheskoe i doklinicheskoe farmakokineticheskoe issledovanie novykh psikhotropnykh i antikholinesteraznykh lekarstvennykh sredstv. [dissertation] Moscow; 1991. (In Russ).]
- Чистяков В.В. Методологические принципы доклинического исследования фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Дис. ... док. фарм. наук. Москва; 2004. [Chistyakov VV. Metodologicheskie printsipy doklinicheskogo issledovaniya farmakokinetiki i metabolizma lekarstvennykh sredstv. [dissertation] Moscow; 2004. (In Russ).] Доступно по: <http://www.dslib.net/farmakognozija/metodologicheskie-principy-doklinicheskogo-issledovaniya-farmakokinetiki-i.html>. Ссылка активна на 20.02.2022.
- Прокопов А.А. Методологические аспекты изучения экспериментальной фармакокинетики и метаболизма новых психотропных, ноотропных и антиоксидантных лекарственных средств. Дис. ... док. хим. наук. Москва; 2006. [Prokorov AA. Metodologicheskie aspekty izucheniya eksperimental'noi farmakokinetiki i metabolizma novykh psikhotropnykh, nootropnykh i antioksidantnykh lekarstvennykh sredstv. [dissertation] Moscow; 2006. (In Russ).] Доступно по: <http://www.dslib.net/farmakognozija/metodologicheskie-aspekty-izucheniya-jekspperimentalnoj-farmakokinetiki-i-metabolizma.html>. Ссылка активна на 20.02.2022.

- Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2005. [Khabriev RU. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. 2005. (In Russ).]
- Фирсов А.А., Жердев В.П., Портной Ю.А. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. (под ред. А.Н. Миронова и др.) – М.: Гриф и К; 944 с. Глава 57. 2012:843–853. [Firsov AA, Zherdev VP, Portnoy YuA et al. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya. (pod red. A.N. Mironova et al.). Moscow; Grif i K; 944 s. Glava 57. 2012:843–853. (In Russ).]
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Ред. Фисенко В.П., Арзамасцев Е.В., Бабаян Э.А. – М.: Ремедиум; 2000. – 398 с. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv / Red. Fisenko VP, Arzamastsev EV, Babayan EA. Moscow: Remedium; 2000. (In Russ).]
- Geodakyan SV. Methodological Approach in the Study of Anticancer Drug Metabolism: Qualitative Considerations. *Drug Metab Rev*. 1993;25(1-2):153–172. DOI: 10.3109/03602539308993974.
- Геодакян С.В. Количественные характеристики метаболизма противоопухолевых соединений. *Известия АН СССР Серия биологическая*. 1990;(1):15–21. [Geodakyan SV. Quantitative parameters of antitumor drug metabolism. *Izvestiya AN SSSR Seriya biologicheskaya*. 1990;(1):15–21. (In Russ).]
- Геодакян С.В., Чернов В.А. Методологические проблемы первичного изучения механизма действия противоопухолевых препаратов. *Химико-фармацевтический журнал*. 1980;(11):21. [Geodakyan SV, Chernov VA. Metodologicheskie problemy pervichnogo izucheniya mekhanizma deystviya protivopukholevykh preparatov. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 1980;(11):21. (In Russ).]
- Tillement JP, Albengres E, Urien S. Methodological aspects of the evaluation of the binding of drugs to plasma and tissue proteins. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1979;4(3):123–127. DOI: 10.1007/bf03189413.
- Nüesch EA. Noncompartmental Approach in Pharmacokinetics Using Moments. *Drug Metab Rev*. 1984;15(1-2):103–131. DOI: 10.3109/03602538409015059.
- Wilkinson GR, Shand DG. A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin Pharmacol Ther*. 1975;18(4):377–390. DOI: 10.1002/cpt1975184377.
- Sheiner LB, Benet LZ, Pagliaro LA. A standard approach to compiling clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1981;9(1):59–127. DOI: 10.1007/bf01059343.
- Larrey D, Branch RA. Clearance by the Liver: Current Concepts in Understanding the Hepatic Disposition of Drugs. *Semin Liver Dis*. 1983;3(4):285–297. DOI: 10.1055/s-2008-1040781.
- Garrett ER. in Pharmacokinetic: Mod. View, Proc. Sidney Riegelman Mem. Symp., San Francisco, CA, April 22-24, 1982, New York, London, 1984:253.
- SOP 13: Pharmacokinetic data analysis. *Onkologie*. 2003 Oct; 26 Suppl 6:56–59. DOI: 10.1159/000075016.
- Gabrielsson J, Meibohm B, Weiner D. Pattern Recognition in Pharmacokinetic Data Analysis. *AAPS J*. 2016;18(1):47–63. DOI: 10.1208/s12248-015-9817-6.
- Garrett ER, Bres J, Schnelle K, et al. Pharmacokinetics of saturably metabolized amobarbital. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1974;2(1):43–103. DOI: 10.1007/bf01062145.
- Garrett ER. The significance of properly designed preclinical studies in the clinical evaluation of new drugs. *Int J Clin Pharmacol Therapy and Toxicology*. 1970;4:6-20.
- Синицын А.Н., Холодов Л.Е. Колебания уровней лекарственных веществ в крови животных и человека после однократного введения. *Фармакология и Токсикология*. 1985;(1):93-99. [Sinityn AN, Kholodov LE. Kolebaniya urovnej lekarstvennykh veshchestv v krovi zhyvotnykh i cheloveka

posle odnokratnogo vvedeniya. *Farmakologiya i Toksikologiya*. 1985;(1): 93–99. (In Russ.).

29. Wagner JG. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics, Hamilton: Drug Intelligence Publications. 1979. ISBN: 0914678204.

30. Jusko WJ, Levy G. Pharmacokinetic Evidence for Saturable Renal Tubular Reabsorption of Riboflavin. *J Pharm Sci*. 1970;59(6):765–772. DOI: 10.1002/jps.2600590608.

31. Levy G. in Proc. Fourth Int. Congr. On Pharmacol., Basel: Schwabe. 1970;4:134–143.

32. Keen P. Handbook of Pharmacology, Vol XXVIII, Brodie BB, Gillette JR, editors. Part 1, Chapter 10, 1975.

33. Powis G, Ames MM, Kovach JC. Dose-dependent pharmacokinetics and cancer chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1981;6(1):1–9. DOI: 10.1007/bf00253003.

34. Perrier D, Ashley JJ, Levy G. Effect of product inhibition on kinetics of drug elimination. *J Pharmacokinetic Biopharm*. 1973;1(3):231–242. DOI: 10.1007/bf01062349.

35. Vree TB, Hekster YA, Oosterbaan MJM, et al. Some Pitfalls in Selecting Descriptive Pharmacokinetic Models. *Drug Intell Clin Pharm*. 1984;18(9):708–713. DOI: 10.1177/106002808401800906.

36. Godfrey KR, Fitch WR. On the identification of Michaelis-Menten elimination parameters from a single dose-response curve. *J Pharmacokinetic Biopharm*. 1984;12(2):193–221. DOI: 10.1007/bf01059278.

37. Chau NP. Area-dose relationships in nonlinear models. *J Pharmacokinetic Biopharm*. 1976;4(6):537–551. DOI: 10.1007/bf01064557.

38. Smith BP, Vandenhende FR, DeSante KA et al. Confidence Interval Criteria for Assessment of Dose Proportionality. *Pharm Res*. 2000;17(10):1278–1283. DOI: 10.1023/A:1026451721686.

39. Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. Statistical moments in pharmacokinetics. *J Pharmacokinetic Biopharm*. 1978;6(6):547–558. DOI: 10.1007/bf01062109.

40. Wagner JG. Properties of the Michaelis-Menten equation and its integrated form which are useful in pharmacokinetics. *J Pharmacokinetic Biopharm*. 1973;1(2):103–120. DOI: 10.1007/bf01059625.