
REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

Interacțiuni farmacocinetice ale aripiprazolului și quetiapinei cu modulatori ai enzimelor CYP3A4 și CYP2D6

Doctorand: **Iulia-Maria CIOCOTIȘAN**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Laurian VLASE**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

INTRODUCERE.....	7
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	9
1. Interacțiuni medicamentoase – considerații generale	11
1.1. Interacțiuni medicamentoase farmacocinetice	12
1.1.1. Interacțiuni farmacocinetice legate de absorbție	12
1.1.2. Interacțiuni farmacocinetice legate de distribuție	12
1.1.3. Interacțiuni farmacocinetice legate de metabolism	12
1.1.4. Interacțiuni farmacocinetice legate de eliminare	13
1.2. Interacțiuni farmacodinamice	14
1.3. Interacțiuni medicamentoase farmaceutice.....	14
2. Interacțiuni farmacocinetice care implică enzimele citocromului P450	15
2.1. Mecanisme ale inhibiției enzimelor CYP	15
2.2. Mecanisme ale inducției enzimelor CYP	16
2.3. CYP2D6 – implicarea în interacțiuni medicamentoase	17
2.3.1. Bupropiona, un inhibitor al enzimei CYP2D6	18
2.4. CYP3A4 – implicarea în interacțiuni medicamentoase	20
2.4.1. Oxcarbazepina, un inductor al enzimei CYP3A4	20
2.4.2. Curcuminoide și piperina, modulatori ai enzimei CYP3A4	22
3. Quetiapina și aripiprazolul în tulburări psihiatrice	25
3.1. Quetiapina, un substrat al enzimei CYP3A4	25
3.1.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și reacții adverse	25
3.1.2. Profil farmacocinetic	27
3.1.3. Interacțiuni farmacocinetice	28
3.2. Aripiprazol, un substrat al enzimelor CYP2D6 și CYP3A4.....	29
3.2.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și reacții adverse	29
3.2.2. Profil farmacocinetic.....	31
3.2.3. Interacțiuni farmacocinetice	31
4. Metodologia analizei farmacocinetice	33
4.1. Analiza noncompartimentală.....	33
4.2. Analiza compartimentală.....	35
CONTRIBUȚII PERSONALE	37
1. Scop și Obiective.....	39
2. Metodologia generală.....	41
2.1. Analiza noncompartimentală.....	41
2.2. Analiza compartimentală.....	44
3. Studiul 1. Efectul curcuminei și al formulării conținând curcuminoide și piperină asupra farmacocineticii quetiapinei din studii <i>in vivo</i> pe șobolani ...	47
3.1. Introducere	47

3.2. Analiza noncompartimentală a datelor obținute în studiul <i>in vivo</i>	48
3.2.1. Obiective	48
3.2.2. Materiale și metode.....	48
3.2.2.1. Animalele utilizate în studiu	48
3.2.2.2. Designul studiului	48
3.2.2.3. Analiza cantitativă	49
3.2.2.4. Analiza farmacocinetică.....	50
3.2.2.5. Analiza statistică.....	50
3.2.3. Rezultate	50
3.2.4. Discuții	55
3.2.5. Concluzii.....	57
3.3. Analiza compartimentală	57
3.3.1. Obiective	57
3.3.2. Materiale și metodă.....	57
3.3.3. Rezultate	59
3.3.4. Discuții	63
3.3.5. Concluzii.....	65
3.4. Concluziile Studiului 1	65
4. Studiul 2. Influența pretratamentului cu oxcarbazepină asupra farmacocineticii quetiapinei	67
4.1. Introducere.....	67
4.2. Analiza noncompartimentală a datelor obținute în studiul <i>in vivo</i>	68
4.2.1. Obiective	68
4.2.2. Materiale și metode.....	68
4.2.2.1. Animalele utilizate in studiu	68
4.2.2.2. Designul studiului	68
4.2.2.3. Analiza cantitativă	69
4.2.2.4. Analiza farmacocinetică.....	69
4.2.2.5. Analiza statistică.....	70
4.2.3. Rezultate	70
4.2.4. Discuții	73
4.2.5. Concluzii.....	74
4.3. Analiza compartimentală	75
4.3.1. Obiective	75
4.3.2. Materiale și metode.....	75
4.3.3. Rezultate	76
4.3.4. Discuții	78
4.3.5. Concluzii.....	79
4.4. Concluziile Studiului 2	80

5. Studiul 3. Efectul pretratamentului cu bupropionă asupra profilului farmacocinetic al aripiprazolului.....	81
5.1. Introducere	81
5.2. Analiza noncompartimentală a datelor obținute în studiul <i>in vivo</i>	82
5.2.1. Obiective	82
5.2.2. Materiale și metode	82
5.2.2.1. Animalele utilizate în studiu	82
5.2.2.2. Designul studiului	83
5.2.2.3. Analiza cantitativă	83
5.2.2.4. Analiza farmacocinetică	84
5.2.2.5. Analiza statistică	84
5.2.3. Rezultate	84
5.2.4. Discuții	87
5.2.5. Concluzii	89
5.3. Analiza compartimentală	89
5.3.1. Obiective	89
5.3.2. Materiale și metode	90
5.3.3. Rezultate	91
5.3.4. Discuții	96
5.3.5. Concluzii	97
5.4. Concluzii ale Studiului 3	97
6. Studiul 4. Efectul pretratamentului cu oxcarbazepină asupra farmacocineticii aripiprazolului.....	99
6.1. Introducere	99
6.2. Analiza noncompartimentală a datelor obținute în studiul <i>in vivo</i>	100
6.2.1. Obiective	100
6.2.2. Materiale și metodă	100
6.2.2.1. Animalele utilizate în studiu	100
6.2.2.2. Designul studiului	101
6.2.2.3. Analiza cantitativă	101
6.2.2.4. Analiza farmacocinetică	101
6.2.2.5. Analiza statistică	102
6.2.3. Rezultate	102
6.2.4. Discuții	105
6.2.5. Concluzii	106
6.3. Analiza compartimentală	106
6.3.1. Obiective	106
6.3.2. Materiale și metode	106
6.3.3. Rezultate	107
6.3.4. Discuții	110
6.3.5. Concluzii	111

6.4. Concluzii ale Studiului 4	111
7. Discuții generale	113
8. Concluzii generale	115
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale cercetării doctorale	117
REFERINȚE	119

Cuvinte cheie: quetiapina, aripiprazol, norquetiapina, dehidroaripiprazol, analiză noncompartimentala, analiza compartimentală, farmacocinetică, CYP3A4, CYP2D6, interacțiuni medicamentoase

LISTA DE PUBLICAȚII

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. Ciocotișan IM, Muntean DM, Vlase L. Bupropion Increased More than Five Times the Systemic Exposure to Aripiprazole: An In Vivo Study in Wistar albino Rats. *Metabolites*. 2024;14(11):588. doi:10.3390/metabo14110588. *ISI factor de impact JCR₂₀₂₄ - 3.7*
2. Ciocotișan IM, Muntean DM, Vlase L. Kinetic modeling approach to in vivo interactions of curcumin and curcuminoid-piperine mixture with quetiapine. *Studia UBB Chemia*. 2025;70(2):19-36. doi:10.24193/subbchem.2025.2.02. *ISI factor de impact JCR₂₀₂₄ - 0.5*
3. Ciocotișan IM, Muntean DM, Dinte E, Vlase L. Effect of curcumin and curcuminoid/piperine extracts on the pharmacokinetics of quetiapine from in vivo studies in rats. *Farmacia*. 2025;73(3):676-685. doi:10.31925/farmacia.2025.3.14. *Factor de impact ISI factor de impact JCR₂₀₂₄ - 1.3*
4. Ciocotișan IM, Muntean DM, Gherman LM, Vlase L. The influence of multiple-dose oxcarbazepine on the metabolism of single-dose quetiapine. In vivo experiment in rats. *Acta Marisiensis - Seria Medica*. 2025;71(1):53-9. doi:10.2478/amma-2025-0010. *Scopus*.

INTRODUCERE

Tulburările mintale reprezintă o provocare majoră pentru sănătatea publică la nivel global, afecțiunile psihiatrice cronice precum schizofrenia și tulburarea bipolară contribuind semnificativ la dizabilitatea pe termen lung. Antipsihoticele de generație a

doua, în special quetiapina (QUE) și aripiprazolul (ARI), sunt utilizate frecvent, în acest context, datorită eficacității lor asupra simptomelor pozitive, negative și cognitive. Totuși, metabolizarea acestora prin intermediul enzimelor citocromului P450 (CYP), în special CYP3A4 și CYP2D6, le face susceptibile la interacțiuni medicamentoase (IM), mai ales în cazuri de polimedicatie. Teză de față și-a propus să investigheze interacțiunile farmacocinetice (PK) dintre aceste antipsihotice și patru modulatori ai enzimelor CYP, oxcarbazepina, bupropiona, curcuminoidale și piperina — prin studii *in vivo*. Rezultatele obținute evidențiază modificări relevante ale expunerii medicamentoase, subliniind necesitatea monitorizării atente și a validării clinice suplimentare pentru optimizarea tratamentului cu astfel de combinații medicamentoase.

Rezultatele acestor studii au fost diseminate printr-o prezentare orală în cadrul Congresului Național de Farmacie (septembrie 2023) și prin prezentarea a două postere științifice în cadrul Zilelor Universității de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” în decembrie 2023 și decembrie 2024.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Interacțiunile medicamentoase reprezintă un factor semnificativ în apariția reacțiilor adverse la medicamente, cu impact asupra siguranței pacientului și asupra rezultatelor terapeutice. Unele interacțiuni între medicamente sunt intenționate și au beneficii terapeutice, în timp ce altele apar fără a prezenta riscuri majore. Interacțiunile farmacocinetice influențează distribuția medicamentelor în organism și pot apărea ca urmare a modificărilor în oricare dintre procesele farmacocinetice: absorbție, distribuție, metabolizare sau excreție. Interacțiunile legate de metabolizarea hepatică sunt deosebit de frecvente, deoarece multe medicamente sunt metabolizate de enzimele sistemului citocromului P450 (CYP), care catalizează reacțiile de oxidare de faza I, dintre care CYP3A4 și CYP2D6 sunt deosebit de importante. Aceste enzime pot fi inhibitate de către alte medicamente, cunoscute sub denumirea de inhibitori enzimatici, care reduc clearance-ul metabolic, ducând la creșterea ariei de sub curbă (ASC) a medicamentului co-administrat și la apariția reacțiilor adverse. Activitatea enzimei CYP3A4 poate fi accelerată de inductori, ceea ce determină scăderea timpului de înjumătățire al medicamentului substrat, scăderea concentrației plasmatice și, posibil, reducerea eficacității terapeutice. Un inhibitor puternic determină o creștere de ≥ 5 ori a valorii ASC plasmatice sau scade cu peste 80% clearance-ul, în timp ce un inductor puternic provoacă o reducere de $\geq 80\%$ a valorii ASC.

ARI și QUE se numără printre cele mai prescrise antipsihotice atipice, utilizate în tratamentul schizofreniei, tulburărilor bipolare și altor afecțiuni, fie aprobate, fie în regim off-label. QUE este metabolizată extensiv, atât presistemic cât și sistemic, în principal prin intermediul izoenzimei CYP3A4, care generează și metabolitul activ norquetiapină (NQ). Oxcarbazepina (OXC) este un medicament anticonvulsivant, analog

al carbamazepinei, considerat un inductor slab-moderat al enzimei CYP3A4, cu efecte clinice relevante observate la doze de peste 1200 mg/zi. OXC poate accelera clearance-ul anumitor medicamente, precum cele psihotrope, reducându-le eficacitatea terapeutică. Curcumina este un compus polifenolic și principalul principiu activ din turmeric. Împreună cu demetoxicurcumina și bisdemetoxicurcumina, formează grupul curcuminoidelor. Acestea sunt adesea formulate împreună pentru a crește biodisponibilitatea curcuminei, care în mod natural este scăzută. Adăugarea de piperină la formulările cu curcumină sau curcuminoide reprezintă o altă strategie de creștere a biodisponibilității. Aceste substanțe au demonstrat potențial de interacțiuni medicamentoase, mediate prin activitatea lor asupra enzimelor CYP. Curcumina, demetoxicurcumina și piperina au arătat activitate inhibitorie asupra CYP3A4 și CYP2D6, cu potențe variabile. Cu toate acestea, au fost observate și excepții, iar administrarea de curcumină a fost asociată și cu reducerea expunerii sistemice ale medicamentelor coadministrare.

ARI este metabolizat predominant sistemic prin intermediul enzimei CYP2D6 și secundar prin CYP3A4. Ambele enzime contribuie la formarea metabolitului activ DARI. Bupropiona (BUP) este un antidepresiv cu proprietăți puternic inhibitoare asupra CYP2D6. Administrarea concomitentă a unui substrat CYP2D6, precum ARI, poate duce la creșterea concentrației plasmatice a acestuia, favorizând apariția reacțiilor adverse precum acatizia, reacții extrapiramidale, greață, sedare, neliniște, insomnie, creștere în greutate și alte tulburări metabolice.

Metodologia de studiu a interacțiunilor PK cuprinde două abordări principale: analiza noncompartimentală (NCA) și analiza compartimentală. NCA consideră organismul ca un sistem unitar, fără structură compartimentală specifică. Aceasta se bazează pe măsurarea concentrațiilor medicamentoase în timp într-un mediu biologic relevant și accesibil, cel mai frecvent sânge sau plasmă, și pe calcularea parametrilor farmacocinetici pentru fiecare subiect și fiecare perioadă a studiului clinic. NCA este o metodă standard, eficientă pentru estimarea parametrilor farmacocinetici precum ASC, timpul de înjumătățire, concentrația plasmatică maximă și clearance-ul total aparent, fiind larg acceptată pentru demonstrarea interacțiunilor PK. Analiza compartimentală oferă predicții mecanistice asupra comportamentului medicamentului, prin aplicarea ecuațiilor diferențiale matematice. Această metodă grupează țesuturile și lichidele cu proprietăți similare în compartimente și cuantifică modificările în timp ale concentrației sau cantității de medicament în circulația sistemică și în diverse țesuturi. Alegerea modelului care se potrivește cel mai bine cu datele experimentale se face pe baza unor criterii de discriminare, precum Criteriul de Informație Akaike (AIC).

CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiul 1: Efectul curcuminei și al formulării conținând curcuminoide și piperină asupra farmacocineticii quetiapinei din studii *in vivo* pe șobolani

Scop / Obiective: Acest studiu a avut ca scop investigarea potențialelor interacțiuni farmacocinetice dintre QUE administrată oral și curcumina, livrată fie sub formă de pulbere simplă, fie ca amestec de curcuminoide–piperină dintr-o formulare comercială, utilizând un model *in vivo* pe șobolani. Au fost evaluate efectele pretratamentului cu doze multiple de curcumină și amestecul curcuminoide–piperină asupra parametrilor PK ai QUE și ai metabolitului său activ, NQ. În plus, au fost dezvoltate modele PK care caracterizează absorbția, distribuția, metabolizarea și eliminarea ambilor compuși, prin fitarea profilurilor concentrație–timp simulate la datele experimentale, cu scopul de a analiza potențialele interacțiuni între plante medicinale și medicamente și impactul acestora asupra distribuției QUE.

Material și metode: Studiul preclinic s-a desfășurat pe trei grupuri de șobolani Wistar albino (n=13/grup): un grup de referință și două grupuri test. Grupul de referință a primit o doză orală unică de quetiapină (QUE, 85 mg/kg). Grupul test 1 a fost pretratată timp de șase zile cu curcumină simplă (200 mg/kg/zi), iar grupul test 2 cu amestecul de curcuminoide–piperină, înainte de administrarea QUE. Concentrațiile plasmatice de QUE și metabolit au fost determinate printr-o metodă validată LC-MS/MS. Separarea cromatografică s-a realizat pe coloană Zorbax SB-C18, cu sistem HPLC Agilent 1100 și detecție Bruker Ion Trap SL în mod MRM, cu ionizare pozitivă ESI. Faza mobilă a fost compusă din acid formic 0,3% (A) și acetonitril (B), eluată în gradient liniar. Timpul de retenție: 3,0 min pentru NQ și 3,3 min pentru QUE. Curbele de calibrare au fost liniare între 5–1000 ng/mL. NCA a fost realizată cu Phoenix WinNonlin pentru parametrii PK: C_{max} , T_{max} , K_{el} , $t_{1/2}$, ASC_{0-30} , $ASC_{0-\infty}$, MRT, Vd/F, Cl/F. Analiza statistică s-a efectuat cu IBM SPSS v30, cu testarea normalității și aplicarea testelor parametrice sau neparametrice, semnificația fiind stabilită la $p < 0.05$.

Pentru analiza compartimentală, profilurile plasmatice medii ale QUE și NQ au fost utilizate pentru evaluarea parametrilor de dispoziție în contextul interacțiunii cu curcumina și amestecul de curcuminoide–piperină. S-a aplicat o strategie de modelare PK în trei etape, pentru a evita un număr foarte mare de modele generate. Modelele inițiale au vizat exclusiv datele QUE, testând ipoteze privind timpul de latență în absorbție și distribuția mono- versus bicompartimentală. Ulterior, modelul selectat pentru QUE a fost extins cu datele despre NQ, ipotezele testate incluzând formarea presistemică și tipul de distribuție. Modelul final a integrat parametrii relevanți și a evaluat diferențele de biodisponibilitate relativă între grupuri, selecția fiind ghidată de criteriul AIC, inspecția vizuală a profilurilor și analiza corelației între valorile observate și cele prezise.

Rezultate: Administrarea de doze repetate de curcumină a redus ușor expunerea sistemică la QUE, cu o scădere de 9,93% a ASC_{0-30} față de grupul de referință. C_{max} a scăzut semnificativ ($1,74\times$) și a fost întârziat ($1,89\times$). În schimb, NQ a prezentat creșteri ale ASC_{0-30} , C_{max} și T_{max} ($1,78\times$, $1,43\times$ și $1,83\times$). Pretratamentul cu amestec de curcuminoide-piperină timp de 6 zile a crescut ASC_{0-30} al QUE cu $1,6\times$, fără modificări semnificative ale C_{max} și T_{max} . Expunerea la NQ a crescut semnificativ în grupul Test 2 (ASC_{0-30} : $1,78\times$; C_{max} : $1,29\times$). Valorile medii ale raportului metabolit/părinte (MPR) au fost: $1,26 \pm 0,43$ (Referință), $2,25 \pm 0,99$ (Test 1) și $1,34 \pm 0,54$ (Test 2).

Modelul PK optim a inclus: timp de latență în absorbția QUE, formarea presistemică a NQ, distribuție monocompartmentală atât pentru QUE cât și pentru NQ, conversie sistemică QUE→NQ, eliminare din compartimentul central și diferențe de biodisponibilitate între grupuri. Analiza compartimentală a indicat o creștere a metabolizării presistemice a QUE (de la 43,40% la 66,28%), fără modificări semnificative ale ratei metabolice sistemice.

Concluzii: Studiul a demonstrat că interacțiunea farmacocinetică dintre QUE și suplimentele pe bază de curcumină depinde de formulare. Pretratamentul cu curcumină simplă a redus ușor expunerea sistemică la QUE, contrar rolului său cunoscut de inhibitor CYP3A4. În schimb, amestecul curcuminoide-piperină a crescut semnificativ expunerea la QUE, susținând ipoteza inhibării CYP3A4. Expunerea crescută la NQ a fost explicată prin scăderea constantei de viteză a eliminării, incluzând alte căile metabolice și non-metabolice. Deși ambele formulări acționează ca modulatori slabi, efectele lor diferite asupra expunerii la QUE sugerează că impactul clinic poate varia în funcție de compoziția suplimentului.

Studiu 2. Influența pretratamentului cu oxcarbazepină asupra farmacocineticii quetiapinei

Scop / Obiective: Studiul a urmărit evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre QUE, administrată oral într-o singură doză, și OXC, administrată ca pretratament timp de cinci zile, utilizând un model *in vivo* pe șobolani Wistar albino. NCA a fost aplicată pentru determinarea parametrilor PK ai QUE și ai metabolitului său activ. În plus, au fost dezvoltate modele PK prin adaptarea profilurilor concentrație-timp simulate la datele experimentale, cu scopul de a caracteriza comportamentul QUE și NQ și de a obține o înțelegere mecanistică asupra impactului co-administrației OXC asupra dispoziției QUE.

Material și metode: În acest studiu *in vivo*, 24 de șobolani Wistar albino adulți au fost împărțiți aleatoriu în două grupuri: un grup de referință, care a primit o doză orală unică de QUE, 85 mg/kg, și un grup test, care a primit pretratament cu OXC, 80 mg/kg/zi timp de cinci zile, urmat de administrarea aceleiași doze de QUE la 30 de minute după ultima doză de OXC. Concentrațiile plasmatice de QUE și NQ au fost determinate printr-o

metoda LC-MS/MS validată. Parametrii farmacocinetici au fost analizați prin NCA, conform metodei din Studiul 1. Pentru caracterizarea mai detaliată a farmacocineticii QUE și NQ, s-a aplicat o strategie de modelare compartimentală în trei etape, presupunând cinetică de ordin întâi pentru absorbție, eliminare și metabolizare. În prima etapă, s-au construit modele de bază pentru QUE folosind datele din grupul de referință, evaluând ipotezele privind existența unui timp de latență și tipul de distribuție. A doua etapă a integrat NQ în model, explorând ipotezele formării presistemice și privind tipul de distribuție. În ultima etapă, au fost incluse datele din grupul test pentru a evalua impactul pretratamentului cu OXC asupra biodisponibilității QUE, utilizând un volum de distribuție fix și estimând biodisponibilitatea relativă. Selecția modelului s-a bazat în principal pe criteriul AIC.

Rezultate: Modificările parametrilor PK sugerează o expunere crescută la QUE după tratamentul cu OXC, reflectată prin creșteri moderate ale valorilor medii C_{max} și ASC. Valorile medii ASC_{0-30} și $ASC_{0-\infty}$ au crescut de aproximativ $2\times$ și $2,22\times$, respectiv. Scăderea cu 25,11% a clearance-ului aparent (Cl/F) poate indica fie o reducere a clearance-ului real, fie o creștere a biodisponibilității, având în vedere coeficientul mare de extracție al QUE. Expunerea crescută la NQ este evidențiată prin creșterea C_{max} cu 88,85%, ASC_{0-30} de $3,31\times$ și $ASC_{0-\infty}$ de $5,29\times$ în grupul test. Cl/F al NQ a scăzut de $2,05\times$, iar raportul MPR a crescut de la $1,258 \pm 0,440$ (referință) la $2,324 \pm 1,34$ (test). Analiza compartimentală a arătat o creștere a metabolizării presistemice a QUE la NQ ($f_1 = 0,4317 \pm 0,0196$ vs. $f_2 = 0,5177 \pm 0,0110$). Biodisponibilitatea relativă a QUE a crescut cu 81% în grupul pretratată cu OXC ($f_{rel} = 1,8163 \pm 0,1372$). Scăderea semnificativă a constantei de metabolizare indică o reducere a metabolizării sistemice a QUE după pretratamentul cu OXC.

Concluzii: Contrar clasificării sale ca inductor slab al CYP3A4, OXC nu a redus expunerea la QUE. Dimpotrivă, ASC mediu s-a dublat, iar C_{max} a crescut cu 88,85%. Metabolitul a prezentat, de asemenea, o creștere semnificativă a expunerii (creștere de 3,31 ori a ASC), rezultat care e compatibil cu o interacțiune de tip inductiv, deși mecanismul de bază rămâne neclar. Modelarea farmacocinetică a evidențiat o creștere a fracției de metabolizare presistemică a QUE la NQ, sugerând un posibil efect inductiv localizat la nivel intestinal. Totuși, scăderea observată a constantei de metabolizare sistemică contrazice ipoteza unei inducții nete a CYP3A4, indicând mai degrabă mecanisme alternative sau compensatorii. Variabilitatea interindividuală ridicată, amplificată suplimentar de pretratamentul cu OXC, subliniază complexitatea acestei interacțiuni. Deși este puțin probabil ca OXC să compromită eficacitatea antipsihotică a QUE, creșterea expunerii atât la QUE, cât și la NQ ridică semne de întrebare privind riscul potențial de reacții adverse.

Studiul 3. Efectul pretratamentului cu bupropionă asupra profilului farmacocinetic al aripiprazolului

Scop / Obiective: Acest studiu a avut ca scop investigarea și cuantificarea potențialei interacțiuni farmacocinetice dintre BUP și ARI *in vivo*. Mai exact, au fost comparate profilurile farmacocinetice ale ARI și ale metabolitului său activ, DARI, în urma administrării unei doze unice de ARI, fie în monoterapie, fie după un pretratament de șase zile cu BUP. Pentru a obține o înțelegere mecanistică a interacțiunii, au fost dezvoltate modele farmacocinetice prin ajustarea profilurilor simulate de concentrație-timp la datele experimentale, cu accent pe identificarea modificărilor la nivelul absorbției, metabolismului și eliminării, și evaluarea impactului potențial asupra eficacității terapeutice și siguranței ARI.

Material și metode: În acest studiu, 24 de șobolani masculi Wistar albino au fost împărțiți aleatoriu în două grupuri (n=12 fiecare). Grupul de referință a primit o doză unică orală de ARI, 8 mg/kg, în timp ce grupul test a fost pretratată cu BUP, 43 mg/kg/zi timp de șase zile, pentru a atinge starea de echilibru, urmat de administrarea aceleiași doze de ARI la 30 de minute după ultima doză de BUP. Concentrațiile plasmatice ale ARI și DARI au fost cuantificate utilizând o metodă validată LC-MS/MS în fază inversă. Parametrii farmacocinetici au fost calculați prin NCA. Modele farmacocinetice pentru ARI și DARI au fost dezvoltate pe baza profilurilor plasmatice medii obținute în studiul *in vivo*. Analiza compartimentală a fost realizată în Phoenix WinNonlin, urmând o strategie de modelare în trei etape. În prima etapă, au fost construite modele pentru ARI în monoterapie, presupunând cinetică de ordinul întâi și testând ipoteze de distribuție mono- vs. bicompartimentală și prezența unui timp de latență. Modelul care a descris cel mai bine ARI a fost extins în a doua etapă pentru a include DARI, evaluând distribuția și posibilă formare presistemică. În a treia etapă, au fost integrate datele din grupul test pentru a evalua impactul pretratamentului cu BUP, cu accent pe diferențele în biodisponibilitatea relativă. Selectarea modelului a fost ghidată de criteriul AIC, iar modelul final a fost definit prin ecuații diferențiale bazate pe principiile bilanțului de masă.

Rezultate: Administrarea unui pretratament de șase zile cu BUP, urmată de o doză unică de ARI, a produs modificări semnificative în profilurile farmacocinetice ale ARI, compusul părinte, și ale metabolitului său activ. Expunerea totală a organismului la ARI a crescut considerabil, valoarea medie a C_{max} dublându-se de la $239,67 \pm 168,59$ la $471,59 \pm 217,14$ ng/mL, iar valorile medii ale ASC_{0-30} și $ASC_{0-\infty}$ au crescut de 4,85, respectiv 5,65 ori. Aceeași tendință de creștere a expunerii a fost observată și pentru DARI, a cărui valoare medie C_{max} s-a dublat, de la $57,68 \pm 31,31$ la $115,93 \pm 59,87$ ng/mL, iar valorile medii ale ASC_{0-30} și $ASC_{0-\infty}$ au crescut de patru ori fiecare: de la $435,81 \pm 313,12$ la $1739,8 \pm 1300,34$ hr·ng/mL și de la $461,13 \pm 339,82$ la $1878,66 \pm 1446,91$ hr·ng/mL. Modelul farmacocinetic optim obținut pentru acest studiu a fost caracterizat de o distribuție într-un monocompartimentală pentru compusul părinte, fără timp de latență, iar conversia în metabolitul activ a avut loc exclusiv prin metabolism sistemic.

Metabolitul a fost descris printr-o distribuție bicompartimentală. De asemenea, modelul sugerează o biodisponibilitate relativă comparabilă între grupul de referință și cel de test, indicând că o cantitate similară de ARI este absorbită sistemic în ambele cazuri. Constanta ratei de metabolizare a scăzut cu 84,6% între cele două grupuri. O scădere consistentă a fost observată și în constanta ratei de eliminare (k_{el}) a compusului părinte ($0,5055 \pm 0,7658$ vs. $0,0629 \pm 0,0726$ h⁻¹), precum și în cea a DARI ($1,3346 \pm 1,6897$ vs. $0,2405 \pm 467,5972$ h⁻¹), indicând o eliminare redusă. De asemenea, s-a constatat o scădere semnificativă a constantei de distribuție a DARI din compartimentul periferic în cel central, sugerând o retenție crescută în țesuturile periferice și o eliminare sistemică întârziată.

Concluzii: Acționând ca un inhibitor puternic al enzimei CYP2D6, pretratamentul cu BUP a determinat o creștere de 5,65 ori a valorii $ASC_{0-\infty}$ pentru ARI, o creștere de 4,85 ori a ASC_{0-30} și o dublare a valorii C_{max} . Metabolitul a prezentat, de asemenea, creșteri semnificative ale expunerii, probabil ca urmare a unei biotransformări compensatorii prin calea CYP3A4, care nu a fost afectată de inhibiție. Modelarea farmacocinetică a identificat o reducere de 84,6% a constantei de viteză a metabolismului ARI drept principalul mecanism al creșterii expunerii sistemice. Alte contribuții includ o scădere moderată a constantei de viteză a absorbției, sugerând inhibiție presistemică a CYP2D6, precum și o reducere semnificativă a k_{el} pentru metabolit, indicând, posibil, o metabolizare redusă a acestuia. În plus, s-a observat o scădere accentuată a constantei de distribuție din compartimentul periferic în cel central pentru metabolit, ceea ce sugerează o eliminare sistemică întârziată și o retenție crescută în țesuturi sub tratament cu BUP. Având în vedere amploarea acestor modificări, interacțiunea poate avea relevanță clinică crescută. Administrarea concomitentă a BUP poate impune ajustarea dozei de ARI, pentru a reduce riscul apariției reacțiilor adverse cauzate de expunerea crescută la forma activă a ARI.

Studiul 4. Efectul pretratamentului cu oxcarbazepină asupra farmacocineticii aripiprazolului

Scop / Obiective: Acest studiu a avut ca scop investigarea interacțiunii farmacocinetice dintre ARI și OXC prin evaluarea impactului unui pretratament de cinci zile cu OXC asupra profilurilor farmacocinetice ale ARI și ale metabolitului său activ DARI, *in vivo*, folosind șobolani Wistar albino. Pentru a obține o înțelegere mecanistică a acestei interacțiuni, au fost dezvoltate modelele farmacocinetice prin ajustarea profilurilor plasmatică simulate la datele experimentale, având ca obiectiv caracterizarea distribuției ARI și DARI în ambele grupuri de tratament.

Material și metode: Studiul a fost realizat pe 24 de șobolani Wistar albino, împărțiți în două grupuri: grupul de test (n=12), pretratată cu OXC, 85 mg/kg/zi timp de cinci zile, urmat de o doză unică de ARI 8 mg/kg, și grupul de referință (n=12), care a primit doar o doză unică de ARI. Concentrațiile plasmatică ale ARI și ale metabolitului său activ,

DARI, au fost cuantificate printr-o metodă validată LC-MS/MS. Parametrii farmacocinetici individuali și medii pentru ambii compuși au fost calculați utilizând metoda NCA. Analiza compartimentală a urmat structura prezentată la Studiul 3.

Rezultate: Valoarea medie a C_{max} pentru ARI a scăzut de 2,05 ori după administrarea OXC la doza de 85 mg/kg ($239,67 \pm 168,59$ vs. $116,55 \pm 70,33$ ng/mL). În schimb, valoarea medie a k_{el} a crescut de 1,4 ori, ceea ce a condus la o scădere de 1,51 ori a timpului mediu de înjumătățire ($t_{1/2}$) al ARI ($5,56 \pm 3,13$ vs. $3,69 \pm 1,30$ h). Pentru metabolitul DARI, deși nu semnificativ din punct de vedere statistic, valoarea medie a ASC_{0-30} a crescut cu 38,64%, iar $ASC_{0-\infty}$ cu 44,66%. K_{el} a scăzut cu 25%, rezultând o creștere de 26,16% a timpului mediu de înjumătățire după pretratamentul cu OXC. Analiza compartimentală a identificat un model potrivit doar pentru grupul de referință (doză unică de ARI), care presupune farmacocinetică liniară, și confirmă modelul de distribuție al ARI și DARI identificat în Studiul 3, model monocompartimentat pentru ARI și bicompartimentat pentru DARI.

Concluzii: Pretratamentul cu OXC a condus la o reducere de 2,05 ori a valorii medii a C_{max} pentru ARI, în timp ce valorile ASC au rămas în mare parte neschimbate. Pentru DARI, deși modificările nu au fost semnificative din punct de vedere statistic, valorile medii ale ASC_{0-30} și $ASC_{0-\infty}$ au crescut cu 38,64%, respectiv 44,66%. Aceste rezultate sugerează un efect inductor ușor al OXC asupra izoenzimei CYP3A4, posibil accelerând metabolismul ARI și crescând moderat expunerea la metabolit. Modelarea farmacocinetică nu a oferit o reprezentare optimă a datele *in vivo*, astfel că mecanismul precis rămâne neelucidat. Din punct de vedere clinic, pe baza acestor rezultate, este puțin probabil ca interacțiunea să compromită eficacitatea ARI. Totuși, având în vedere modificările subtile ale expunerii și limitările studiului care s-a desfășurat pe termen scurt, sunt necesare noi studii pe termen lung, cu administrare prelungită de OXC. Monitorizarea eficacității rămâne recomandată, în special în contextul polimedicației.

CONCLUZII GENERALE

Această teză a investigat mai multe interacțiuni farmacocinetice (PK) între medicamente, implicând două dintre cele mai prescrise antipsihotice: aripiprazolul (ARI) și quetiapina (QUE). Pacienții cu afecțiuni psihiatrice sunt frecvent expuși la polimedicație, o practică ce crește riscul de interacțiuni medicamentoase, reacții adverse și eșec terapeutic, fie prin scăderea aderenței la tratament, fie prin necesitatea modificării regimului terapeutic. Clasa antipsihoticelor a fost aleasă datorită potențialului cunoscut de interacțiuni PK, compușii studiați fiind substraturi ale celor mai implicate enzime CYP în metabolizarea medicamentelor: CYP3A4 și CYP2D6.

Primul studiu a analizat impactul curcuminei și al unui supliment alimentar pe bază de curcuminoide–piperină asupra farmacocineticii unei doze unice de QUE. Rezultatele experimentului *in vivo* au demonstrat că interacțiunea PK dintre QUE și suplimentele pe bază de curcumină depinde de formulare. Administrarea curcuminei simple a dus la o scădere ușoară a valorii ASC_{0-30} a QUE, iar C_{max} a fost redus semnificativ de 1,74 ori. Metabolitul activ a prezentat o creștere semnificativă atât a ASC_{0-30} (1,78×), cât și a C_{max} (1,43×). În schimb, coadministrarea QUE cu formularea curcuminoide–piperină a determinat o creștere semnificativă a ASC_{0-30} (1,6×), însoțită de o expunere crescută la NQ. Analiza compartimentală a arătat că un model monocompartmental descrie cel mai bine distribuția ambilor compuși. Din punct de vedere al mecanismului, curcumina pare să favorizeze conversia presistemică a QUE în NQ, în timp ce formularea curcuminoide–piperină a redus semnificativ constanta de viteză a metabolizării sistemice a QUE la NQ.

Al doilea studiu a investigat influența OXC asupra farmacocineticii unei doze unice de QUE. Administrarea concomitentă cu OXC a dus la o dublare a valorii medii ASC pentru QUE, alături de o reducere nesemnificativă de 25,11% a clearance-ului aparent (Cl/F). Expunerea la NQ a crescut considerabil, cu 88,85% a C_{max} și de 5,29 ori a ASC. Aceste rezultate sugerează că OXC nu reduce eficacitatea QUE. Dimpotrivă, creșterea expunerii la ambii compuși activi farmacologic poate predispuce pacienții la reacții adverse specifice QUE. Analiza compartimentală a confirmat concluziile din Studiul 1, modelul monocompartmental descriind cel mai bine distribuția atât a QUE, cât și a NQ. OXC pare să stimuleze metabolismul presistemic, crescând în același timp biodisponibilitatea relativă a QUE. S-a observat o reducere semnificativă a constantei de rată a conversiei QUE în NQ, contrar inducției așteptate asupra CYP3A4, sugerând implicarea unor mecanisme alternative în această interacțiune.

Al treilea studiu a evidențiat o interacțiune farmacocinetică pronunțată între BUP și ARI. Administrarea concomitentă a dus la o creștere de 5,65 ori a valorii totale ASC și la o dublare a valorii C_{max} pentru ARI, confirmând efectul inhibitor puternic al BUP asupra enzimei CYP2D6. Expunerea la DARI a crescut semnificativ, de asemenea. Modelarea compartimentală a arătat că ARI urmează o distribuție monocompartmentală, în timp ce DARI este mai bine descris de o distribuție bicompartmentală. Interacțiunea a fost determinată în principal de reducerea constantei de viteză a metabolizării de la ARI la DARI, alături de scăderea constantelor de eliminare pentru ambii compuși, procese ce implică și alte căi metabolice, unele mediate de CYP2D6.

Al patrulea studiu a investigat impactul OXC asupra profilului farmacocinetic al ARI. Rezultatele *in vivo* au arătat o reducere de două ori a valorii medii C_{max} pentru ARI, în timp ce valorile medii ale ASC au rămas în mare parte neschimbate. În cazul DARI, ASC total mediu a crescut cu 44,66%, însă această modificare nu a fost semnificativă statistic. Încercările de a caracteriza interacțiunea prin modelare compartimentală nu au avut

succes, întrucât niciun model nu a reușit să descrie adecvat datele *in vivo* observate. În consecință, înțelegerea mecanismului interacțiunii rămâne limitată.

Deși aceste rezultate oferă informații valoroase, este important de recunoscut limitările studiilor. Rezultatele obținute pe modele animale, deși informative, nu pot fi extrapolate direct la fiziologia umană și la implicațiile clinice. Prin urmare, sunt necesare date suplimentare obținute de la subiecți umani pentru a valida și susține concluziile observate în modelul preclinic.

Pe baza rezultatelor studiului, pot fi formulate următoarele recomandări:

- În cazul administrării concomitente de ARI și BUP, se susține necesitatea reducerii dozei de ARI. Având în vedere magnitudinea efectelor observate, această interacțiune este probabil relevantă din punct de vedere clinic.
- Pentru celelalte combinații de medicamente studiate, se recomandă monitorizarea atentă. Acest aspect este important în contextul variabilității interindividuale semnificative observate în cadrul aceluiași grup experimental, așa cum reiese din rezultatele studiului. Anumiți pacienți pot resimți aceste interacțiuni ca fiind relevante clinic.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE CERCETĂRII DOCTORALE

Originalitatea acestei cercetări doctorale constă în investigarea interacțiunilor farmacocinetice prezentate în cele patru studii incluse în teză, care, până în prezent, nu au fost raportate în literatura științifică. Fiecare studiu reprezintă o contribuție originală la domeniu, întrucât niciun alt studiu farmacocinetic nu a evaluat aceste combinații specifice de medicamente. Prin abordarea acestor interacțiuni neexplorate, teza extinde cunoașterea actuală și deschide noi direcții pentru cercetarea clinică.

În plus, teza integrează analiza noncompartimentală a rezultatelor *in vivo* cu modelarea compartimentală, pentru a aduce perspective mecanistice. Această abordare combinată oferă o înțelegere mai profundă a proceselor farmacocinetice subiacente și constituie o contribuție metodologică originală, mai ales în contextul lipsei studiilor anterioare care să fi aplicat această analiză asupra acestor combinații medicamentoase.

Un alt aspect inovator al acestei cercetări este implementarea canulării venei femurale la șobolani înainte de recoltarea probelor, combinată cu utilizarea sistemului automatizat de prelevare BASi Culex® ABC. Această metodă permite obținerea unui profil farmacocinetic complet de la un singur animal, reducând semnificativ numărul de animale necesare per studiu.

SUMMARY OF THE DOCTORAL THESIS

Aripiprazole and quetiapine pharmacokinetic interactions with CYP3A4 and CYP2D6 modulators

PhD student: **Iulia-Maria CIOCOTIȘAN**

PhD supervisor: **Prof. Dr. Laurian VLASE**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS OF THE DOCTORAL THESIS

INTRODUCTION.....	7
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	9
1. Drug-drug interactions – general considerations	11
1.1. Pharmacokinetic drug interactions.....	12
1.1.1. Absorption-Related Pharmacokinetic Interactions	12
1.1.2. Distribution-Related Pharmacokinetic Interactions	12
1.1.3. Metabolism-Related Pharmacokinetic Interactions	12
1.1.4. Elimination-Related Pharmacokinetic Interactions	13
1.2. Pharmacodynamic drug interactions	14
1.3. Pharmaceutical drug interactions	14
2. Pharmacokinetic interactions involving cytochrome P450 enzymes.....	15
2.1. CYP enzymes inhibition.....	15
2.2. CYP enzymes induction	16
2.3. CYP2D6 isoenzyme involved in drug interactions	17
2.3.1. Bupropion, a CYP2D6 inhibitor.....	18
2.4. CYP3A4 isoenzyme involved in drug interactions	20
2.4.1. Oxcarbazepine, a CYP3A4 inducer.....	20
2.4.2. Curcuminoids and piperine, some CYP3A4 modulators.....	22
3. Quetiapine and aripiprazole in psychiatric disorders.....	25
3.1. Quetiapine, a CYP3A4 substrate	25
3.1.1. Pharmacological profile, therapeutic use and adverse reactions	25
3.1.2. Pharmacokinetic profile.....	27
3.1.3. Pharmacokinetic interactions.....	28
3.2. Aripiprazole, a CYP3A4 and CYP2D6 substrate.....	29
3.2.1. Pharmacological profile, therapeutic use and adverse reactions	29
3.2.2. Pharmacokinetic profile.....	31
3.2.3. Pharmacokinetic interactions.....	31
4. Pharmacokinetic analysis methodology	33
4.1. Noncompartmental analysis	33
4.2. Compartmental analysis.....	35
PERSONAL CONTRIBUTION	37
1. Background and Objectives	39
2. General methodology	41
2.1. Noncompartmental analysis	41
2.2. Compartmental analysis.....	44

3. Study 1. The Effect of Curcumin and Curcuminoid-Piperine Formulation on the Pharmacokinetics of Quetiapine from <i>In Vivo</i> Studies in Rats	47
3.1. Introduction	47
3.2. Noncompartmental analysis of <i>in vivo</i> data	48
3.2.1. Objectives	48
3.2.2. Materials and Methods	48
3.2.2.1. Animals	48
3.2.2.2. Study design	48
3.2.2.3. Analytical assay.....	49
3.2.2.4. Pharmacokinetic analysis.....	50
3.2.2.5. Statistical analysis	50
3.2.3. Results.....	50
3.2.4. Discussions.....	55
3.2.5. Conclusions.....	57
3.3. Compartmental analysis	57
3.3.1. Objectives	57
3.3.2. Materials and methods	57
3.3.3. Results.....	59
3.3.4. Discussions.....	63
3.3.5. Conclusions.....	65
3.4. Study 1 conclusions	65
4. Study 2. The Influence of Oxcarbazepine Pretreatment on the Pharmacokinetics of Quetiapine	67
4.1. Introduction	67
4.2. Noncompartmental analysis of <i>in vivo</i> data	68
4.2.1. Objectives	68
4.2.2. Materials and methods	68
4.2.2.1. Animals	68
4.2.2.2. Study design	68
4.2.2.3. Analytical assay.....	69
4.2.2.4. Pharmacokinetic analysis.....	69
4.2.2.5. Statistical analysis	70
4.2.3. Results.....	70
4.2.4. Discussions.....	73
4.2.5. Conclusions.....	74
4.3. Compartmental analysis.....	75
4.3.1. Objectives	75
4.3.2. Materials and methods	75
4.3.3. Results.....	76
4.3.4. Discussions.....	78

4.3.5. Conclusions	79
4.4. Study 2 conclusions	80
5. Study 3. The Effect of Bupropion Pretreatment on the Pharmacokinetic Profile of Aripiprazole	81
5.1. Introduction.....	81
5.2. Noncompartmental analysis of <i>in vivo</i> data.....	82
5.2.1. Objectives.....	82
5.2.2. Materials and methods.....	82
5.2.2.1. Animals	82
5.2.2.2. Study design.....	83
5.2.2.3. Analytical assay.....	83
5.2.2.4. Pharmacokinetic analysis	84
5.2.2.5. Statistical analysis	84
5.2.3. Results	84
5.2.4. Discussions	87
5.2.5. Conclusions	89
5.3. Compartmental analysis.....	89
5.3.1. Objectives.....	89
5.3.2. Materials and methods.....	90
5.3.3. Results	91
5.3.4. Discussions	96
5.3.5. Conclusions	97
5.4. Study 3 conclusions.....	97
6. Study 4. The Effect of Oxcarbazepine Pretreatment on the Pharmacokinetics of Aripiprazole.....	99
6.1. Introduction.....	99
6.2. Noncompartmental analysis of <i>in vivo</i> data.....	100
6.2.1. Objectives.....	100
6.2.2. Materials and methods.....	100
6.2.2.1. Animals	100
6.2.2.2. Study design.....	101
6.2.2.3. Analytical assay.....	101
6.2.2.4. Pharmacokinetic analysis	101
6.2.2.5. Statistical analysis	102
6.2.3. Results	102
6.2.4. Discussions	105
6.2.5. Conclusions	106
6.3. Compartmental analysis.....	106
6.3.1. Objectives.....	106
6.3.2. Materials and methods.....	106
6.3.3. Results	107

6.3.4. Discussions.....	110
6.3.5. Conclusions.....	111
6.4. Study 4 conclusions	111
7. General discussions	113
8. General conclusions	115
9. Originality and Innovative Contributions of the Doctoral Research	117
REFERENCES	Error! Bookmark not defined.

Keywords: quetiapine, aripiprazole, norquetiapine, dehydroaripiprazole, noncompartmental analysis, compartmental analysis, pharmacokinetics, CYP3A4, CYP2D6, drug-drug interaction

PUBLICATION LIST

Articles published in full following doctoral research

5. Ciocotișan IM, Muntean DM, Vlase L. Bupropion Increased More than Five Times the Systemic Exposure to Aripiprazole: An In Vivo Study in Wistar albino Rats. Metabolites. 2024;14(11):588. doi:10.3390/metabo14110588. *JCR₂₀₂₄ ISI impact factor 3.7 (study covered by Chapter 5)*.
6. Ciocotișan IM, Muntean DM, Vlase L. Kinetic modeling approach to in vivo interactions of curcumin and curcuminoid-piperine mixture with quetiapine. Studia UBB Chemia. 2025;70(2):19-36. doi:10.24193/subbchem.2025.2.02. *JCR₂₀₂₄ ISI impact factor 0.5 (study covered by Chapter 3)*.
7. Ciocotișan IM, Muntean DM, Dinte E, Vlase L. Effect of curcumin and curcuminoid/piperine extracts on the pharmacokinetics of quetiapine from in vivo studies in rats. Farmacia. 2025;73(3):676–685. doi:10.31925/farmacia.2025.3.14. *JCR₂₀₂₄ ISI impact factor 1.3 (study covered by Chapter 3)*.
8. Ciocotișan IM, Muntean DM, Gherman LM, Vlase L. The influence of multiple-dose oxcarbazepine on the metabolism of single-dose quetiapine. In vivo experiment in rats. Acta Marisiensis - Seria Medica. 2025;71(1):53-9. doi:10.2478/amma-2025-0010. *Scopus (study covered by Chapter 4)*

INTRODUCTION

Mental disorders pose a significant global health challenge, with chronic psychiatric conditions like schizophrenia and bipolar disorder contributing to long-term disability. Second-generation antipsychotics, particularly quetiapine (QUE) and aripiprazole (ARI), are widely used due to their favorable efficacy profiles, yet their metabolism via cytochrome P450 (CYP) enzymes, specifically CYP3A4 and CYP2D6, makes them susceptible to drug–drug interactions (DDIs), especially in polypharmacy contexts. This thesis investigates the pharmacokinetic (PK) interactions between these antipsychotics and four CYP inducers and inhibitors, oxcarbazepine, bupropion, curcuminoids and piperine, through original *in vivo* studies. The findings reveal relevant alterations in drug exposure, underscoring the need for careful monitoring and further clinical validation to optimize treatment safety and efficacy.

Results from these studies were disseminated through an oral presentation at the National Pharmacy Congress (September 2023) and two scientific posters presented during <<Zilele Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”>> in December 2023 and December 2024.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

DDIs are a significant contributor to adverse drug reactions (ADRs), amplifying their impact on patient safety and healthcare outcomes. Some DDIs are intentional and therapeutically beneficial, while many others exist without posing serious risks.

PK DDIs influence drug disposition and may arise from changes in any of the PK processes: absorption, distribution, metabolism or excretion. DDIs related to hepatic metabolism are especially common because many drugs are metabolized by enzymes of the CYP system that catalyze phase I oxidations, of which CYP3A4 and CYP2D6 are particularly important. These enzymes can be inhibited by other drugs, known as inhibitors, which reduce metabolic clearance, leading to increased area under the curve (AUC) of the parent drug and potential ADRs. The activity of the CYP3A4 enzyme can be accelerated by inducers, resulting in decreased drug half-life, lower plasma concentrations and potentially diminished therapeutic efficacy. A strong inhibitor is one that causes a ≥ 5 -fold increase in plasma AUC values or more than an 80% decrease in clearance, while a strong inducer causes an $\geq 80\%$ reduction in AUC.

ARI and QUE are among the most prescribed atypical antipsychotics, used for schizophrenia, bipolar disorders and other approved or off-label conditions. QUE is metabolized extensively, both presystemically and systemically, primarily by the CYP3A4 isoenzyme, which also forms the active metabolite norquetiapine (NQ). Oxcarbazepine (OXC) is an antiseizure drug, analog of carbamazepine, considered a mild-to-moderate CYP3A4 inducer, with clinically relevant effects observed at doses of 1200 mg/day or higher. OXC may accelerate the clearance of certain drugs, like psychotropic medications, potentially reducing their therapeutic efficacy. Curcumin is a

polyphenol compound and the major active component in turmeric. Together with demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, they form the group of curcuminoids. These are frequently formulated together to increase curcumin bioavailability, which is otherwise poor. Piperine addition to curcumin or curcuminoid formulations is another strategy to enhance bioavailability. These compounds have shown potential for drug interactions mediated by their activity on CYP enzymes. Curcumin, demethoxycurcumin, and piperine have demonstrated inhibitory activity toward both CYP3A4 and CYP2D6 with varying potencies. Nonetheless, exceptions have been observed and reductions in exposure of co-administered drugs, such as CYP3A4 substrates, have been reported with curcumin administration.

ARI is primarily metabolized systemically by CYP2D6 and secondarily by CYP3A4. Both are responsible for forming the active metabolite DARI. Bupropion (BUP) is an antidepressant with strong CYP2D6 inhibitory properties. It may elevate the plasma concentration of a co-administered CYP2D6 substrate, like ARI, leading to ADRs such as akathisia, extrapyramidal symptoms, nausea, sedation, restlessness, insomnia, weight gain and other metabolic disturbances.

The methodology for studying PK drug interactions comprises two main approaches: noncompartmental analysis (NCA) and compartmental analysis. NCA considers the body as a whole system without any particular compartmental structure. It relies on measuring drug concentrations over time in a biologically relevant and accessible matrix, most commonly blood or plasma, and calculating pharmacokinetic parameters for each subject and each period of the clinical study. NCA is a standard, effective method for estimating pharmacokinetic parameters such as AUC, half-life, maximum plasma concentration and apparent total clearance, and is widely accepted for demonstrating PK interactions. Compartmental analysis provides mechanistic predictions of drug behavior by applying mathematical differential equations. It groups tissues and fluids with similar properties into compartments and quantifies time-dependent changes in drug concentration or amount in systemic circulation and various tissues. In choosing the model that best fits experimental data, criteria for model discrimination, such as the Akaike Information Criterion (AIC), are employed.

PERSONAL CONTRIBUTION

Study 1: The Effect of Curcumin and Curcuminoid-Piperine Formulation on the Pharmacokinetics of Quetiapine from *In Vivo* Studies in Rats

Aim / Objective: This study aimed to investigate the potential pharmacokinetic interactions between orally administered QUE and curcumin, delivered either as a crude powder or as a curcuminoid–piperine mixture from a marketed formulation, using an *in*

vivo rat model. The effects of multiple-dose curcumin and curcuminoid–piperine pretreatment on the PKs of QUE and its active metabolite, NQ, were evaluated. Additionally, pharmacokinetic models characterizing the absorption, distribution, metabolism, and elimination of both compounds were developed by fitting simulated concentration–time profiles to experimental data, with the objective of assessing potential herb–drug interactions and their impact on QUE disposition

Materials și methods: A preclinical study was conducted between June and November 2023 in Cluj-Napoca, Romania, using three groups of Wistar albino rats (n=13 per group): a Reference group and two Test groups. The Reference group received a single oral dose of QUE (85 mg/kg). Test group 1 was pretreated with crude curcumin (200 mg/kg/day) for six days before receiving QUE, while Test group 2 received a similar pretreatment with a curcuminoid–piperine mixture before QUE single dose. Plasma concentrations of QUE and its active metabolite NQ (NQ) were measured using a validated LC-MS/MS method. Chromatographic separation was performed on a Zorbax SB-C18 column using an Agilent 1100 HPLC system, with detection via Bruker Ion Trap SL in MRM mode and ESI positive ionization. The mobile phase consisted of 0.3% (m/v) formic acid (eluent A) and acetonitrile (eluent B), eluted in a linear gradient. Retention times were 3.0 min for NQ, 3.3 min for QUE. Calibration curves were linear over 5–1000 ng/mL. NCA was conducted using Phoenix WinNonlin software to determine PK parameters (C_{\max} , T_{\max} , k_{el} , $t_{1/2}$, AUC_{0-30} , $AUC_{0-\infty}$, MRT, V_d/F , Cl/F). Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics v30. Normality was assessed prior to hypothesis testing; parametric or nonparametric tests were applied accordingly, with significance set at $p < 0.05$. As for the compartmental analysis, mean concentration–time profiles for QUE and NQ were used to assess disposition parameters in relation to their interactions with curcumin and the curcuminoid–piperine mixture. A structured three-tier kinetic modeling strategy was applied to streamline model selection and avoid excessive model combinations. Initial models focused solely on QUE data, excluding data regarding its metabolite and co-administered substances. Hypotheses tested included the presence of lag time in absorption and mono- versus bicompartamental distribution. Subsequently, the selected QUE model was refined to characterize NQ pharmacokinetics, accounting for its presystemic formation and distribution type. Final model construction incorporated key parameters from earlier stages and evaluated relative bioavailability differences between groups. Model selection was guided primarily by the AIC, supported by visual inspection of concentration–time profiles and correlation analysis between observed and predicted values. The final pharmacokinetic model was built using differential equations based on mass balance principles.

Results: The administration of repeated crude curcumin doses modestly reduced QUE systemic exposure, lowering AUC_{0-30} by 9.93% relative to QUE alone. The mean C_{\max} decreased significantly by 1.74-fold, and it was delayed by 1.89-fold. Meanwhile, NQ's AUC_{0-30} , C_{\max} and T_{\max} increased by 1.78-, 1.43-, and 1.83-fold, respectively. In contrast,

the six-day curcuminoid-piperine pretreatment significantly increased QUE's mean AUC_{0-30} by 1.6-fold compared to QUE single-dose alone. Both mean T_{max} and C_{max} increased, although not statistically significantly. Further comparing Reference and Test 2 groups, NQ's exposure significantly increased, with mean AUC_{0-30} and C_{max} rising by 1.78- and 1.29-fold, respectively. Following metabolite-to-parent ratio (MPR) calculations, the average values \pm SD were determined for each experimental group. The Reference group exhibited an MPR of 1.26 ± 0.43 , while the values for Test 1 and Test 2 were 2.25 ± 0.99 and 1.34 ± 0.54 , respectively.

The PK model selected as optimal for accurately fitting the experimental data accounted for the presence of lag time in QUE absorption, presystemic formation of NQ, monocompartmental distribution for both QUE and NQ, systemic conversion of QUE into NQ, elimination of both compounds from their central compartments and distinct relative bioavailability between the Reference and each Test group. Compartmental analysis showed an increase in the presystemic metabolism fraction of QUE from 43.40% to 66.28%, with no significant change in systemic metabolic rate constants for crude curcumin pretreatment. Conversely, the relative bioavailability of QUE in Test 2 was 59.6% higher than in the Reference group. A substantial reduction of the metabolism rate constant ($0.0016 \pm 0.0676 \text{ h}^{-1}$ vs. $0.1408 \pm 0.0909 \text{ h}^{-1}$) was noticed.

Conclusions: This study demonstrated that the PK interaction between QUE and curcumin-based supplements is formulation-dependent. Pretreatment with plain curcumin led to a slight reduction in quetiapine exposure, contrary to its commonly reported role as a CYP3A4 inhibitor. In contrast, the curcuminoid-piperine mixture significantly increased QUE exposure, consistent with CYP3A4 inhibition. The pharmacokinetic model indicated enhanced absorption and reduced metabolic clearance, contributing to elevated systemic levels of both QUE and its metabolite. The increase in NQ exposure was further explained by a decrease in its overall elimination rate, encompassing metabolic and non-metabolic pathways. While both curcumin and curcuminoid-piperine mixtures act as weak perpetrators, their divergent effects on QUE exposure suggest that the direction of clinical outcomes may vary depending on supplement composition.

Study 2. The Influence of Oxcarbazepine Pretreatment on the Pharmacokinetics of Quetiapine

Aim / Objectives: This study aimed to evaluate the potential pharmacokinetic interaction between QUE, administered as a single oral dose, and OXC, given as a five-day pretreatment, using an *in vivo* Wistar albino rat model. NCA was applied to determine the pharmacokinetic parameters of QUE and its active metabolite. Additionally, pharmacokinetic models were developed by fitting simulated concentration-time profiles to experimental data, with the objective of characterizing

the behavior of QUE and NQ and gaining mechanistic insight into the impact of OXC co-administration on QUE disposition.

Materials and methods: In this *in vivo* study, 24 adult male Wistar albino rats were randomly divided into two groups: a Reference group receiving a single oral dose of QUE (85 mg/kg), and a Test group pretreated with OXC, 80 mg/kg/day for five days followed by the same QUE dose 30 minutes after the final OXC administration. Plasma concentrations of QUE and its metabolite NQ (NQ) were quantified using a validated LC-MS/MS method. PK parameters were analyzed using NCA, consistent with procedures from Study 1. A three-tier compartmental modeling strategy was applied to characterize the PKs of QUE and its metabolite NQ, assuming first-order kinetics for absorption, elimination, and metabolism. In the first tier, baseline QUE models were developed using data from the Reference group to evaluate lag time and distribution behavior. The second tier focused on integrating NQ into the QUE model, exploring presystemic formation and distribution compartment hypotheses. In the final tier, data from the Test group were incorporated to assess the impact of OXC pretreatment on QUE bioavailability, using a fixed volume of distribution and estimating the relative bioavailability. Model selection was guided primarily by AIC.

Results: Changes in the mean PK parameters suggest increased exposure to QUE following OXC administration, reflected by modest increases in mean C_{\max} and AUC values. Although the rise in C_{\max} was not statistically significant, it was delayed by 69.16%. Similarly, while overall variations in AUC were not statistically significant, mean AUC_{0-30} and $AUC_{0-\infty}$ values exhibited twofold and 2.22-fold increases, respectively. The 25.11% reduction in mean apparent clearance (Cl/F) of QUE may be attributed either to a decrease in the actual clearance or an increase in its bioavailability, particularly given QUE's high extraction ratio. The increased exposure of NQ is illustrated by its mean C_{\max} increase of 88.85%, while the mean AUC_{0-30} increased significantly by 3.31-fold (1933.57 ± 551.18 vs. 6399.66 ± 5861.34 hr·ng/mL) and the mean $AUC_{0-\infty}$ increased by 5.29-fold (1964.28 ± 540.78 vs. 10402.08 ± 16502.5 hr·ng/mL) for the Test group. The mean Cl/F of NQ decreased 2.05-fold (from 46.42 ± 14.27 to 22.56 ± 15.44 L/hr/kg). The mean MPR increased from 1.258 ± 0.440 in the Reference group to 2.324 ± 1.34 for the Test group. The results of the compartmental analysis showed increased presystemic metabolism of QUE into NQ following OXC pretreatment ($f_1 = 0.4317 \pm 0.0196$ vs. $f_2 = 0.5177 \pm 0.0110$). The relative bioavailability of QUE increased by 81% ($f_{\text{rel}} = 1.8163 \pm 0.1372$) in the OXC pretreatment group compared to the Reference group. A marked decrease in the metabolization rate constant between the two groups ($k_{12} = 0.1144 \pm 0.1186$ vs. $k_{45} = 0.0005 \pm 0.0455$) indicates reduced systemic metabolism of QUE following OXC pretreatment.

Conclusions: Contrary to its classification as a mild CYP3A4 inducer, OXC did not reduce QUE exposure as anticipated. Instead, QUE's mean AUC doubled, and its C_{\max} increased

by 88.85%, indicating enhanced systemic exposure. The metabolite NQ also showed a marked increase in exposure (3.31-fold increase in AUC), consistent with an induction-type interaction, though the underlying mechanism remains unclear. PK modeling revealed an increase in the presystemic metabolism fraction of QUE to NQ (from 43.17% to 51.77%), suggesting a possible inductive effect localized to the intestinal level. However, the observed decrease in systemic metabolism rate constants contradicts the expectation of net CYP3A4 induction, pointing instead to alternative or compensatory mechanisms. High interindividual variability, further amplified by OXC pretreatment, underscores the complexity of this interaction. While OXC is unlikely to compromise QUE's antipsychotic efficacy, the increased exposure of both QUE and NQ fractions raises concerns about potential adverse drug reactions.

Study 3. The Effect of Bupropion Pretreatment on the Pharmacokinetic Profile of Aripiprazole

Aim / Objectives: This study aimed to investigate and quantify the potential PK interaction between BUP and ARI *in vivo*. Specifically, it compared the PK profiles of ARI and its active metabolite, DARI, following a single dose of ARI administered either alone or after a six-day pretreatment with BUP. To gain mechanistic insight into the interaction, PK models were developed by fitting simulated concentration–time profiles to experimental data, with a focus on identifying changes in absorption, metabolism and elimination parameters, and evaluating their potential impact on ARI's therapeutic efficacy and safety.

Materials *si* methods: In this study, 24 male Wistar albino rats were randomly divided into two groups (n=12 each). The Reference group received a single oral dose of ARI, 8 mg/kg, while the Test group was pretreated with BUP, 43 mg/kg/day for six days to reach steady state, followed by the same ARI dose 30 minutes after the final BUP administration. Plasma concentrations of ARI and DARI were quantified using a validated reverse-phase LC-MS/MS method. PK parameters were calculated using NCA. PK models for ARI and DARI were developed using mean plasma concentration–time profiles from the *in vivo* study. Compartmental analysis was conducted in Phoenix WinNonlin, following a three-stage modeling strategy. In the first stage, models describing ARI alone were constructed under first-order kinetics, testing mono- vs. bicompartmental distribution and lag time hypotheses. The best-fitting ARI model was then expanded in the second stage to include DARI, evaluating its distribution behavior and potential presystemic formation. In the third stage, data from the Test group were incorporated to assess the impact of BUP pretreatment, focusing on differences in relative bioavailability. Model selection was guided by AIC, with additional evaluation through visual fit and correlation between observed and predicted concentrations. The final model was defined using differential equations based on mass balance principles.

Results: The administration of a six-day pretreatment with BUP to a single dose of ARI produced significant changes in the PK profiles of ARI, the parent compound, and its active metabolite. The total body exposure increased considerably for ARI, with the mean C_{\max} doubling from 239.67 ± 168.59 to 471.59 ± 217.14 ng/mL and the mean AUC_{0-30} and $AUC_{0-\infty}$ increasing by 4.85 and 5.65-fold, respectively. The same tendency of increased exposure was obtained for DARI, whose mean C_{\max} also increased 2-fold, from 57.68 ± 31.31 to 115.93 ± 59.87 ng/mL, and the mean AUC_{0-30} and $AUC_{0-\infty}$ underwent a 4-fold increase each, from 435.81 ± 313.12 to 1739.8 ± 1300.34 hr·ng/mL and from 461.13 ± 339.82 to 1878.66 ± 1446.91 hr·ng/mL. The best PK model obtained for this study was characterized by one-compartment distribution for the parent compound, with no lag time, and systemic metabolism as the only pathway for conversion to its active metabolite. The metabolite is described by a two-compartment distribution. Furthermore, the model suggests comparable relative bioavailability between the Reference and Test groups, indicating that a similar amount of ARI is absorbed systemically in both cases. The metabolism rate constant decreased by 84.6% between the two groups. A consistent decrease was observed in the elimination constant rate (k_{el}) of the parent compound (0.5055 ± 0.7658 vs. 0.0629 ± 0.0726 h⁻¹) and in the k_{el} of DARI (1.3346 ± 1.6897 vs. 0.2405 ± 467.5972 h⁻¹), indicating reduced elimination. A significant decrease in the distribution rate constant of DARI from the peripheral to the central compartment was observed, suggesting increased retention in peripheral tissues and delayed systemic elimination.

Conclusions: Acting as a strong CYP2D6 inhibitor, BUP pretreatment led to a 5.65-fold increase in ARI's $AUC_{0-\infty}$, a 4.85-fold rise in AUC_{0-30} and a doubling of its C_{\max} . The metabolite also exhibited substantial increases in exposure, likely due to compensatory biotransformation via the unaffected CYP3A4 pathway. PK modeling identified an 84.6% reduction in ARI's metabolism rate constant as the primary mechanism of increased systemic exposure. Additional contributions included a modest decrease in the absorption rate constant, suggesting presystemic CYP2D6 inhibition, and a significant reduction in the k_{el} for the metabolite, indicating impaired further metabolism. Moreover, a marked drop in the distribution rate constant from peripheral to central compartments suggested delayed systemic clearance and increased tissue retention for the metabolite under BUP pretreatment. Given the magnitude of these changes, this interaction holds clear clinical relevance. Co-administration of BUP may necessitate ARI dose adjustments to mitigate the risk of adverse drug reactions arising from elevated exposure to ARI's active moiety.

Study 4. The Effect of Oxcarbazepine Pretreatment on the Pharmacokinetics of Aripiprazole

Aim / Objectives: This study aimed to investigate the PK interaction between ARI and OXC by assessing the impact of a five-day OXC pretreatment on the PK profiles of a single

dose of ARI and its active metabolite DARI, *in vivo*, using Wistar albino rats. To gain mechanistic insight into this interaction, PK models were developed by fitting simulated concentration–time profiles to experimental data, with the goal of characterizing the disposition of ARI and DARI under both treatment groups.

Materials and methods: The study was conducted using 24 Wistar albino rats, divided into two groups: a Test group (n=12) pretreated with OXC, 85 mg/kg/day for five days followed by a single dose of ARI, 8 mg/kg, and a Reference group (n=12) receiving only a single dose of ARI. Plasma concentrations of ARI and its active metabolite, DARI, were quantified using a validated LC-MS/MS method. NCA was used to calculate individual and mean PK parameters for both compounds. Compartmental analysis followed the structure presented in Study 3

Results: The mean C_{max} of ARI decreased by 2.05-fold following the administration of OXC at a dose of 85 mg/kg (239.67 ± 168.59 vs. 116.55 ± 70.33 ng/mL). Conversely, the mean k_{el} value increased by 1.4-fold, leading to a 1.51-fold decrease in the mean $t_{1/2}$ of ARI (5.56 ± 3.13 vs. 3.69 ± 1.30 h). For the metabolite DARI, although not statistically significant, the mean AUC_{0-30} value increased by 38.64% and the mean $AUC_{0-\infty}$ value increased by 44.66%. The k_{el} decreased by 25%, resulting in a 26.16% increase in the mean $t_{1/2}$ after the OXC pretreatment. Compartmental analysis identified a model as the best fit only for the Reference group (single-dose ARI), which assumes linear PKs, with ARI following a one-compartment distribution and its active metabolite, DARI, a two-compartment distribution.

Conclusions: OXC pretreatment resulted in a 2.05-fold reduction in ARI mean C_{max} , while AUC values remained largely unchanged. For DARI, although changes were not statistically significant, mean AUC_{0-30} and $AUC_{0-\infty}$ increased by 38.64% and 44.66%, respectively. These findings suggest a mild inductive effect of OXC on CYP3A4 isoenzyme, potentially accelerating ARI metabolism and modestly increasing the metabolite exposure. PK modeling did not yield an optimal fit for the *in vivo* data, leaving the precise mechanism unresolved. However, the overall impact on ARI pharmacokinetics appears limited, with no substantial reduction in therapeutic efficacy. Clinically, based on these results, the interaction is unlikely to compromise ARI efficacy. However, given the subtle shifts in exposure and the limitations of this short-term study and data collection, long-term studies with extended OXC administration are needed. Monitoring for efficacy remains advisable, especially in polypharmacy contexts or sensitive patient populations.

GENERAL CONCLUSIONS

This thesis investigated several PK drug–drug interactions involving two of the most widely prescribed antipsychotics: ARI and QUE. Psychiatric patients are frequently exposed to polypharmacy, a practice that increases the likelihood of drug interactions, adverse reactions and therapeutic failure, either through reduced adherence or the need to modify treatment regimens. The antipsychotic class was selected due to its known potential for PK interactions, with the studied compounds being substrates of the most extensively involved enzymes in drug metabolism, namely CYP3A4 and CYP2D6.

The first study investigated the impact of curcumin and a commercially available curcuminoid–piperine food supplement on the PKs of a single dose of QUE. *In vivo* experiment results demonstrated that the PK interaction between QUE and the curcumin-based supplements is formulation-dependent. Specifically, administration of curcumin alone led to a slight decrease in QUE's AUC_{0-30} , while its C_{max} was significantly reduced by 1.74-fold. The active metabolite, NQ, exhibited a significant increase in both AUC_{0-30} (1.78-fold) and C_{max} (1.43-fold). In contrast, when QUE was co-administered with the curcuminoid–piperine formulation, its AUC_{0-30} increased significantly by 1.6-fold, alongside a marked rise in NQ exposure. In compartmental analysis, a one-compartment model best described the distribution of both QUE and NQ. Mechanistically, curcumin appeared to enhance presystemic conversion of QUE to NQ, whereas the curcuminoid–piperine formulation significantly reduced the metabolic rate constant governing the systemic biotransformation of QUE to NQ.

The second study explored the influence of OXC on the PKs of a single dose of QUE. Co-administration with OXC resulted in a twofold increase in QUE's mean AUC, alongside a non-significant 25.11% reduction in apparent clearance (Cl/F). Notably, the exposure to the active metabolite NQ increased substantially, with C_{max} rising by 88.85% and AUC by 5.29-fold. These findings suggest that OXC does not diminish QUE's efficacy. Rather, the elevated exposure of both pharmacologically active compounds may predispose patients to QUE-specific adverse drug reactions. Compartmental analysis confirmed the findings from Study 1, with a one-compartment model best describing the distribution of both QUE and NQ. OXC appeared to enhance presystemic metabolism while simultaneously increasing QUE's relative bioavailability. A marked reduction in the metabolic rate constant from QUE to NQ was observed, which contrasts with the expected CYP3A4 induction and suggesting the involvement of alternative mechanisms for this interaction.

The third study revealed a pronounced PK interaction between BUP and ARI. Co-administration resulted in a 5.65-fold increase in the total AUC and a 2-fold increase in C_{max} of ARI, confirming BUP's strong inhibitory effect on the CYP2D6 enzyme. Exposure to DARI rose significantly as well. Compartmental modeling showed ARI followed a one-compartment distribution, while DARI was best described by a two-compartment model. Conversion to the active metabolite occurred exclusively via systemic metabolism. The interaction was primarily driven by a reduction in the metabolic rate constant from ARI to DARI, alongside decreased elimination rate constants for both

compounds, which encompass other metabolic pathways, some of which are mediated by CYP2D6.

The fourth study investigated the impact of OXC on the PK profile of ARI. *In vivo* results demonstrated a twofold reduction in the mean C_{max} of ARI, while mean AUC and apparent clearance remained largely unchanged. For DARI, the mean total AUC increased by 44.66%, though this change was also not statistically significant. Attempts to characterize the interaction through compartmental modeling were unsuccessful, as no model could adequately fit the observed *in vivo* data. Consequently, mechanistic insights into the nature of the interaction remain limited.

While the findings offer valuable insights, it is important to acknowledge the limitations of these studies. The results from animal models, although informative, are not usually directly extrapolated to human physiology and clinical outcomes. Therefore, additional data obtained from human subjects is essential to validate and support these results observed in the preclinical model.

Based on the study findings, the following recommendations can be made:

- For the co-administration of ARI and BUP, dose reduction of ARI is supported. Given the magnitude of the observed effects, this interaction is likely to be clinically significant.
- For the other drug combinations studied, monitoring is recommended. This is particularly important given the notable interindividual variability observed within the same experimental group, as highlighted by the study results. Certain patients may experience these interactions as clinically significant.

ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE DOCTORAL RESEARCH

The originality of this doctoral research lies in the investigation of the PK interactions presented across the 4 studies of this thesis that, to date, have not been previously reported in scientific literature. Each study represents a novel contribution to the field, as no prior PK analyses have assessed these specific drug combinations. By addressing these unexplored interactions, the thesis expands current understanding and opens new directions for clinical research.

In addition, this thesis integrates the NCA of *in vivo* results with compartmental modeling to extract mechanistic insights. This combined approach offers a deeper understanding of the underlying pharmacokinetics and represents an original methodological contribution, particularly given the absence of prior studies applying such analysis to these specific drug combinations.

An additional innovative aspect of this research is the implementation of femoral vein cannulation in rats prior to sample collection, combined with the use of the BASi Culex® ABC automated sampling system. This approach enables the generation of a complete PK profile from a single animal, significantly reducing the number of animals required per study. Beyond its ethical advantages, this technique enhances data consistency, offering a refined model for preclinical PK assessment.