

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de  
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**Título del trabajo**

**“FARMACOCINÉTICA DE RICOBENDAZOLE  
EN RUMIANTES”**

**AUTOR**

**Med. Vet. Formentini Enrique Antonio**

**DIRECTOR**

**Dr. Errecalde Jorge Oscar**

**CODIRECTOR**

**Dra. Mestorino Nora**

**LUGAR DE TRABAJO**

**Cátedra de Farmacología, Farmacotécnica y Terapéutica  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata**

**MIEMBROS DEL JURADO**

**Dr. Sánchez Sergio**

**Dr. Rothlin Rodolfo**

**Dr. Buschiazzo Héctor**

Este trabajo de Tesis Doctoral fue realizado con el soporte económico de una beca otorgada por la Universidad Nacional del Litoral dentro del Programa de Reforma de la Educación Superior y fue financiada parcialmente por el Banco Interamericano de Reconstrucción y Fomento (BIRF) de acuerdo a las estipulaciones y normas establecidas en el Convenio de Préstamo suscripto entre el BIRF y la República Argentina y las referidas al Manual de Operaciones del Fondo para el Mejoramiento de la Calidad Universitaria (FOMEUC).

***En memoria de mi madre***

***Norma Gladys***

***A mis hijos***

***María de los Milagros e Ignacio José Enrique***

***por quienes todo este esfuerzo realizado tuvo sentido.***

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer en primer término a la Universidad Nacional del Litoral por haberme concedido el privilegio de otorgarme esta beca para la realización de esta Tesis Doctoral.

En segundo término a mi director, el Dr. Jorge Oscar Errecalde, quien en el año 1998 me recibiera desinteresadamente en su Cátedra de Farmacología, Farmacotécnica y Terapéutica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, me proporcionara un lugar en su grupo de trabajo, me iniciara en el arduo camino del estudio de la farmacocinética, y quien a lo largo de todos estos años ha demostrado ser por sobre todas las cosas un gran amigo.

A mi co-directora, la Dra. Nora Mestorino, por haberme guiado pacientemente en el trabajo de laboratorio proporcionándome toda la ayuda necesaria para la realización de la fase analítica de esta Tesis Doctoral.

De manera muy especial a todos aquellos alumnos de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Litoral y de la Universidad Nacional de La Plata quienes colaboraron en la realización la fase experimental de esta Tesis Doctoral. Vaya para todos ellos mi sincero reconocimiento y gratitud.

Al Profesor Pierre-Louis Toutain, por haberme considerado como un miembro más de su grupo de trabajo en el Laboratoire de Physiologie et Thérapeutique de la Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, poniendo a mi disposición todos los medios necesarios para concluir mi formación en el área de la farmacocinética.

Al Profesor Alain Bousquet-Melou, quien fuera mi tutor durante mi residencia en el Laboratoire de Physiologie et Thérapeutique de la Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse y que pacientemente me guiara en el estudio de la modelización farmacocinética.

Al personal del Servicio de Cooperación Científica y Técnica de la Embajada Francesa en Argentina, en especial a Mme. Suarez y Mme. Domeq, quienes con su buena voluntad me ayudaron a concluir los trámites administrativos necesarios para que pudiera permanecer en territorio Francés y así realizar mi período de formación en la Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

A la República Francesa, por haberme permitido residir en ella el tiempo que demandó la culminación de mi formación.

Al Dr. David Watson de la Universidad de Sydney, Australia, por ayudarme en la redacción de esta tesis doctoral, por sus consejos, pero por sobre todas las cosas por su amistad.

A la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, a todos sus integrantes, y particularmente a su titular, el Prof. Marcelo Rubio, quien en el año 1989 me diera la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo y de esa manera me permitiera profundizar en el estudio de la farmacología y dar comienzo a mi actividad docente.

A las autoridades y al personal administrativo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, por la infinita paciencia y diligencia con que trataron y dieron solución a cada uno de los problemas administrativos que se suscitaron a lo largo de todos estos años.

A mis dos hijos María de los Milagros e Ignacio José Enrique, los que han involuntariamente debido padecer mi ausencia durante los tres años que no residí en el país.

Y a todas aquellas personas que dentro y fuera del ámbito académico me han acompañado y animado para concluir esta Tesis Doctoral.

## ÍNDICE de CONTENIDOS

### CAPÍTULO I

<b>Introducción general</b> .....	6
I.1. Antihelmínticos e industria farmacéutica.....	7
I.2. Los agentes benzoimidazólicos.....	8
I.2.1. Historia y propiedades físico químicas.....	8
I.2.2. Estructura química, clasificación y espectro.....	8
I.2.3. Farmacocinética.....	9
I.2.3.1. Absorción.....	9
I.2.3.2. Distribución.....	11
I.2.3.3. Biotransformación.....	11
I.2.3.4. Eliminación.....	14
I.2.4. Farmacodinamia.....	14
I.3. Hipótesis y objetivos de trabajo.....	15
I.3.1. Supuestos básicos.....	15
I.3.2. Hipótesis experimentales.....	16
I.3.3. Objetivos.....	16
I.3.3.1. Objetivos generales.....	16
I.3.3.2. Objetivos específicos.....	17

### CAPITULO II

<b>Materiales y Métodos</b> .....	18
II.1. Fase animal.....	19
II.1.1. Animales experimentales.....	19
II.1.2. Condiciones de mantenimiento de los animales.....	19
II.1.3. Tratamientos y toma de muestras.....	19
II.2. Fase analítica.....	20
II.2.1. Análisis cromatográfico.....	20
II.2.2. Extracción físico-química de los analitos .....	21
II.2.3. Cuantificación de los analitos .....	21
II.2.4. Validación de la técnica cromatográfica.....	21
II.2.4.1. Linealidad de la respuesta cromatográfica.....	21
II.2.4.2. Especificidad del método.....	21
II.2.4.3. Trazado de la recta de calibración.....	23
II.2.4.4. Exactitud del método.....	24
II.2.4.5. Precisión del método.....	24
II.2.4.6. Sensibilidad del método.....	29

II.3. Análisis farmacocinético.....	29
II.3.1. Administración intravenosa.....	29
II.3.2. Administración extravascular.....	30
II.4. Análisis estadístico.....	30

### **CAPÍTULO III**

<b>Principios fundamentales del análisis farmacocinético compartimental y no compartimental.....</b>	<b>32</b>
III.1. Farmacocinética.....	32
III.1.1. Concepto.....	32
III.1.2. Modelos compartimentales.....	33
III.1.3. El lenguaje de la farmacocinética.....	33
III.1.4. Procesos de orden uno o también llamados de primer orden.....	34
III.1.5. Procesos de orden cero.....	34
III.1.6. Frecuencia de los procesos de orden uno y de orden cero.....	35
III.1.7. Velocidad instantánea y derivada.....	35
III.1.8. Representación gráfica.....	36
III.1.9. Resolución de las ecuaciones de velocidad.....	37
III.1.10. Concepto de semivida.....	39
III.1.11. Modelo de un compartimento .....	39
III.1.11.1. Concepto.....	39
III.1.11.2. Volumen de distribución.....	40
III.1.11.3. El concepto de clearance o aclaramiento.....	42
III.1.11.4. La absorción en un modelo de un compartimento.....	43
III.1.11.5. El método de las residuales aplicado al proceso de absorción de orden uno.....	45
III.1.11.6. Limitaciones del método de las residuales o stripping.....	46
III.1.11.7. El fenómeno de flip-flop.....	47
III.1.11.8. Consideraciones acerca del verdadero valor de $k_a$ .....	47
III.1.11.9. El <i>tlag</i> o <i>lag time</i> .....	48
III.1.11.10. $C_{max}$ y $t_{max}$ .....	49
III.1.11.11. El proceso de absorción de orden cero en un modelo de un compartimento.....	50
III.1.11.12. El método de Wagner y Nelson.....	53
III.1.12. Modelo de dos compartimentos.....	57
III.1.12.1. Concepto.....	57
III.1.12.2. Volúmenes de distribución.....	59
III.1.12.2.1. Volumen del compartimento central o $V_c$ .....	59



III.1.12.2.2. Volumen de distribución al estado de equilibrio o $V_{ss}$ .....	60
III.1.12.2.3. Volumen de área o $V_{area}$ .....	60
III.1.12.3. Clearance total o sistémico o $Cl_B$ .....	61
III.1.12.4. El proceso de absorción en un modelo de dos compartimientos.....	62
III.1.12.5. Método de las residuales o stripping aplicado al proceso de absorción de orden uno en un modelo de dos compartimientos.....	64
III.1.12.6. El proceso de absorción de orden cero en un modelo de dos compartimientos.....	65
III.1.12.7. El método de Loo & Riegelman.....	67
III.1.13. Modelos multicompartimentales.....	68
III.1.13.1. Concepto.....	68
III.1.13.2. Modelo de tres compartimientos con administración intravascular.....	68
III.1.14. Análisis farmacocinético no compartimental.....	70
III.1.14.1. Definición.....	70
III.1.14.2. Calculo del área bajo la curva ( $AUC$ ).....	71
III.1.14.3. El tiempo medio de residencia ( $MRT$ ).....	74

## CAPITULO IV

<b>Farmacocinética de ricobendazole luego de su administración extravascular en terneros; influencia de las vía de administración y la formulación empleada sobre cinética del proceso de absorción.....</b>	<b>79</b>
IV.1. Introducción.....	80
IV.2. Materiales y métodos.....	81
IV.2.1. Animales experimentales.....	81
IV.2.2. Medicamento administrado.....	81
IV.2.3. Procedimiento analítico.....	81
IV.2.4. Análisis farmacocinético del RBZ tras su administración i.v.....	82
IV.2.4.1. Análisis mediante un modelo descriptivo o exponencial.....	82
IV.2.4.2. Análisis mediante un modelo compartimental.....	82
IV.2.5. Administraciones s.c. e i.r.....	84
IV.2.5.1. Análisis mediante un modelo descriptivo o exponencial.....	85
IV.2.5.2. Discriminación del orden del proceso de absorción.....	85
IV.2.5.3. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero.....	86
IV.2.6. Análisis farmacocinético simultaneo de los perfiles i.v., s.c. e i.r.....	87
IV.2.7. Análisis farmacocinético de ABZSO2.....	87
IV.2.8. Estudio de simulación.....	88
VI.2.8.1. Primer estudio.....	88
VI.2.8.2. Segundo estudio.....	89

IV.2.8.3. Tercer estudio.....	89
IV.2.9. Análisis estadístico.....	89
IV.3. Resultados.....	90
IV.3.1. Análisis farmacocinético básico.....	90
IV.3.2. Discriminación del orden del proceso de absorción (administración s.c.).....	90
IV.3.3. Discriminación del orden del proceso de absorción (administración i.r.).....	90
IV.3.4. Análisis farmacocinético individual.....	91
IV.3.5. Análisis farmacocinético simultáneo.....	91
IV.3.6. Análisis farmacocinético individual versus análisis simultáneo.....	91
IV.3.7. Valores finales.....	92
IV.3.8. Simulación.....	92
IV.4. Discusión.....	115
IV.4.1. Administración i.v.....	115
IV.4.1.1. Distribución.....	115
IV.4.1.2. Clearance.....	116
IV.4.2. Administraciones s.c. e i.r.....	117
IV.4.2.1. Biodisponibilidad.....	117
IV.4.3. Justificación de un proceso de absorción de orden cero aparente.....	119
IV.4.3.1. Presentación del fenómeno.....	119
IV.4.3.2. Justificación desde un punto de vista descriptivo.....	120
IV.4.3.3. Justificación desde un punto de vista fisiológico.....	120
IV.4.3.4. Justificación desde un punto de vista mecanicista.....	122

## **CAPITULO V**

<b>Farmacocinética de ricobendazole en terneros luego de la administración de ricobendazole y albendazole por vía extravascular; influencia de las formulaciones y las vías de administración empleadas sobre la cinética de absorción.....</b>	<b>123</b>
V.1. Introducción.....	124
V.2. Materiales y métodos.....	125
V.2.1. Animales experimentales.....	125
V.2.2. Medicamento administrado.....	125
V.2.3. Procedimiento analítico.....	125
V.2.4. Análisis farmacocinético.....	125
V.2.4.1. Análisis farmacocinético del RBZ.....	125
V.2.4.2. Modelo bicompartimental con absorción de orden uno.....	126
V.2.4.3. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero.....	127
V.2.4.4. Análisis farmacocinético de ABZSO2.....	127

V.2.5. Análisis estadístico.....	127
V.3. Resultados.....	128
V.4. Discusión.....	136
V.4.1. Biodisponibilidad del RBZ.....	136
V.4.2. Orden y procesos de absorción del RBZ.....	138
V.4.3. Farmacocinética del ABZSO <sub>2</sub> .....	138
V.5. Conclusión.....	139

**CAPITULO VI**

**Farmacocinética de ricobendazole en ovinos administrado por vía intravenosa y extravascular.....**

.....	140
VI.1. Introducción.....	141
VI.2. Materiales y métodos.....	142
VI.2.1. Animales experimentales.....	142
VI.2.2. Medicamento administrado.....	142
VI.2.3. Procedimiento analítico.....	142
VI.2.4. Análisis farmacocinético.....	143
VI.2.4.1. Análisis farmacocinético del RBZ (administración i.v.).....	143
VI.2.4.2. Análisis farmacocinético del RBZ (administraciones s.c. e i.r.).....	143
VI.2.5.2.1. Modelo bicompartimental con absorción de orden uno.....	144
VI.2.4.2.2. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero.....	145
VI.2.4.3. Análisis farmacocinético simultaneo de los perfiles i.v., s.c. e i.r.....	145
VI.2.4.4. Análisis farmacocinético del ABZSO <sub>2</sub> .....	145
VI.2.5. Análisis estadístico.....	146
VI.3. Resultados.....	146
VI.3.1. Análisis farmacocinético del RBZ.....	146
VI.3.1.1. Análisis compartimental simple.....	146
VI.3.1.2. Análisis compartimental simultaneo.....	147
VI.3.1.3. Valores finales.....	147
VI.3.2. Análisis farmacocinético del ABZSO <sub>2</sub> .....	147
VI.4. Discusión.....	159
VI.4.1. Fisiología digestiva y comportamiento farmacocinético.....	159
VI.4.2. Modelo farmacocinético.....	159
VI.4.3. Distribución.....	160
VI.4.4. Clearance.....	161
VI.4.5. Biodisponibilidad.....	162
VI.4.6. Farmacocinética del ABZSO <sub>2</sub> .....	163
VI.4.7. Conclusión.....	163

**CAPITULO VII**

<b>Comparación del comportamiento farmacocinético del ricobendazole en las especies bovina y ovina.....</b>	<b>165</b>
VII.1. Introducción.....	166
VII.1.1. Consideraciones generales.....	166
VII.1.2. Farmacocinética de los BZDs en bovinos.....	166
VII.1.3. Farmacocinética de los BZDs en ovinos.....	167
VII.1.4. Farmacocinética de los BZDs; comparación entre las especies rumiantes.....	167
VII.2. Materiales y Métodos.....	169
VII.2.1. Análisis farmacocinético.....	169
VII.2.2. Análisis estadístico.....	171
VII.3. Resultados.....	171
VII.4. Discusión.....	171
VII.4.1. Modelo bicompartimental.....	171
VII.4.2. Parámetros farmacocinéticos primarios.....	176
VII.4.3. Distribución.....	176
VII.4.3.1. Distribución gastrointestinal; su relación con el $pK_a$ .....	178
VII.4.4. Clearance corporal.....	181
VII.4.4.1. Participación del intestino en el $Cl_B$ .....	183
VII.4.5. Cinética del RBZ evaluada a partir de los perfiles de ABZSO <sub>2</sub> .....	186
VII.5. Conclusión.....	187

**CAPITULO VIII**

<b>Algunas consideraciones acerca de la biodisponibilidad del ricobendazole en las especies bovina y ovina.....</b>	<b>187</b>
VIII.1. Introducción.....	189
VIII.2. Biodisponibilidad absoluta.....	191
VIII.2.1. Perdidas de RBZ a nivel intestinal.....	194
VIII.2.2. Metabolismo hepático y efecto de primer pasaje.....	196
VIII.2.3. Mucosa intestinal y efecto de primer pasaje.....	198
VIII.2.4. Flora digestiva y efecto de primer pasaje.....	199
VIII.2.5. Características fisicoquímicas del RBZ y efecto de primer pasaje.....	200
VIII.2.6. Forma farmacéutica, vía de administración y efecto de primer pasaje.....	202
VIII.2.7. Farmacocinética del ABZSO <sub>2</sub> y el efecto de primer pasaje.....	204
VIII.3. Conclusiones.....	207

**CAPITULO IX**

<b>Conclusión general</b> .....	208
IX.1. Introducción.....	209
IX.1.1. Información obtenida a partir de un estudio extravascular.....	209
IX.1.2. Información que se genera y no se genera a partir de un perfil extravascular.....	209
IX.1.3. El análisis compartimental; paradigma de la farmacocinética.....	210
IX.1.3.1. Información generada a partir de un perfil intravenoso.....	210
IX.1.3.2. Interpretación de los perfiles extravasculares.....	210
IX.1.3.3. Desarrollo de modelos farmacocinéticos.....	211
IX.1.3.4. El análisis farmacocinético compartimental y los esquemas terapéuticos.....	211
IX.2. Farmacocinética del RBZ en bovinos y ovinos.....	313
IX.3. Comentarios acerca de las hipótesis.....	214
IX.4. Conclusión final.....	215
<b>REFERENCIAS</b> .....	216

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

$\int$	integral
$\bar{X}$	valor medio de una serie de mediciones
$\approx$	aproximado a
®	marca registrada
%	porcentaje
<	menor que
=	igual
>	mayor que
±	mas o menos
$\Delta$	variación
$\neq$	distinto
$\rightarrow$	que tiende a
$\infty$	infinito
<b>AUC</b>	área bajo la curva de concentración plasmática vs. tiempo
<b>ABZ</b>	albendazole
<b>ABZSO</b>	albendazole sulfóxido
<b>ABZSO2</b>	albendazole sulfona
<b>RBZ</b>	ricobendazole
<b>NTB</b>	netobimin
<b>FBZ</b>	febendazole
<b>OFZ</b>	oxfendazole
<b>BZDs</b>	benzoimidazoles
<b>C<sub>max</sub></b>	concentración máxima
<b>C<sub>p</sub></b>	concentración plasmática
<b>C<sub>a</sub></b>	concentración arterial
<b>C<sub>v</sub></b>	concentración venosa
<b>clast</b>	última concentración medible
<b>C<sub>0</sub></b>	concentración a tiempo cero
<b>C<sub>1</sub> (A<sub>1</sub>)</b>	coeficiente de la fase de distribución rápida (modelo exponencial)
<b>C<sub>2</sub> (A<sub>2</sub>)</b>	coeficiente de la fase de distribución lenta (modelo exponencial)
<b>C<sub>3</sub> (A<sub>3</sub>)</b>	coeficiente de la fase de eliminación aparente (modelo exponencial)
<b><math>\lambda_1</math></b>	exponente de la fase de distribución rápida (modelo exponencial)
<b><math>\lambda_2</math></b>	exponente de la fase de distribución lenta (modelo exponencial)
<b><math>\lambda_2</math></b>	exponente de la fase de eliminación aparente (modelo exponencial)
<b><math>\alpha</math></b>	constante de la fase de distribución rápida (modelo exponencial)

<b><math>\beta</math></b>	constante de la fase de eliminación aparente (modelo exponencial)
<b><math>Cl_b</math></b>	clearance corporal
<b><math>Cl_H</math></b>	clearance hepático
<b><math>Cl_R</math></b>	clearance renal
<b><math>Cl_I</math></b>	clearance intestinal
<b><math>Cl_P</math></b>	clearance pulmonar
<b><math>Cl_{\text{otros}}</math></b>	clearance debido a otros órganos
<b><math>CR</math></b>	cantidad remanente
<b><math>CV</math></b>	coeficiente de variación
<b><math>D</math></b>	dosis
<b><math>DE</math></b>	desvío estándar
<b><math>DMSO</math></b>	dimetilsulfóxido
<b><math>e</math></b>	base de los logaritmos naturales
<b><math>e.v.</math></b>	extravasular
<b><math>ER</math></b>	coeficiente de extracción
<b><math>ER_H</math></b>	coeficiente de extracción hepático
<b><math>ER_R</math></b>	coeficiente de extracción renal
<b><math>ER_I</math></b>	coeficiente de extracción intestinal
<b><math>ER_{\text{otros}}</math></b>	coeficiente de extracción debido a otros órganos
<b><math>F_{\text{non-ionic}}</math></b>	fracción no ionizada
<b><math>F</math></b>	biodisponibilidad sistémica
<b><math>F_{\text{max}}</math></b>	biodisponibilidad sistémica máxima
<b><math>F'</math></b>	fracción de $f$ que sobrevivió al efecto de primer pasaje
<b><math>f_{el}</math></b>	fracción eliminada
<b><math>f_n</math></b>	fracciones del débito cardíaco depuradas por los distintos órganos y/o tejidos
<b><math>f_H</math></b>	fracción del débito cardíaco depurada por el hígado
<b><math>f_R</math></b>	fracción del débito cardíaco depurada por el riñon
<b><math>f_I</math></b>	fracción del débito cardíaco depurada por el intestino
<b><math>f_{\text{otros}}</math></b>	fracción del débito cardíaco depurada por otros órganos
<b><math>f</math></b>	fracción que quedó disponible en el tubo digestivo para ser absorbida
<b><math>f_{el(m)}</math></b>	fracción de $f$ que escapó a la biotransformación por la flora digestiva
<b><math>f_{el(p)}</math></b>	fracción de $f_{el(m)}$ que escapó a la biotransformación por los enterocitos
<b><math>f_{el(h)}</math></b>	fracción de $f_{el(p)}$ que escapó a la biotransformación hepática
<b><math>f_{ev}</math></b>	fracción de ABZSO <sub>2</sub> que no fue formada por efecto de primer pasaje
<b><math>f_c</math></b>	fracción presente en el compartimento central al estado de equilibrio
<b><math>f_c^*</math></b>	fracción presente en el compartimento central al estado de pseudoequilibrio
<b><math>f_p</math></b>	fracción presente en el compartimento periférico al estado de equilibrio
<b><math>f_p^*</math></b>	fracción presente en el compartimento periférico al estado de pseudoequilibrio

<b>t</b>	valor iésimo
<b>i.a.</b>	intraabomasal
<b>i.r.</b>	intrarruminal
<b>i.v.</b>	intravenoso
<b>k<sub>0</sub></b>	constante de absorción de orden cero aparente
<b>k<sub>abs</sub></b>	constante de absorción de primer orden aparente
<b>k<sub>00</sub></b>	constante de pérdida de primer orden desde el sitio de absorción
<b>k<sub>01</sub></b>	constante de absorción real de primer orden
<b>k<sub>10</sub></b>	constante de eliminación desde el compartimento central
<b>k<sub>12</sub></b>	constante de pasaje desde el compartimento central al periférico
<b>k<sub>13</sub></b>	constante de pasaje desde el compartimento central al periférico profundo
<b>k<sub>21</sub></b>	constante de pasaje desde el compartimento periférico al central
<b>k<sub>31</sub></b>	constante de pasaje desde el compartimento periférico profundo al central
<b>k<sub>d1</sub></b>	constante de primer orden de difusión (salida)
<b>k<sub>d2</sub></b>	constante de primer orden de difusión (reingreso)
<b>k<sub>e1</sub></b>	constante de primer orden de eliminación asociada a la fase terminal
<b>kg</b>	kilogramo
<b>ln</b>	logaritmo natural o Neperiano
<b>mg</b>	miligramo
<b>mL</b>	mililitro
<b>MRT</b>	tiempo medio de residencia
<b>MT<sup>-1</sup></b>	masa sobre tiempo expresada en forma recíproca
<b>MV<sup>-1</sup></b>	masa sobre volumen expresada en forma recíproca
<b>VT<sup>-1</sup></b>	volumen sobre masa expresado en forma recíproca
<b>n</b>	número de individuos/ensayos
<b>P</b>	peso expresado en kg
<b>p/v</b>	relación peso/volumen
<b>pH</b>	logaritmo de la inversa de la concentración de hidrogeniones
<b>pK</b>	constante de disociación para una base débil
<b>Q</b>	débito cardíaco expresado como flujo sanguíneo por unidad de tiempo
<b>Q<sub>a</sub></b>	flujo sanguíneo arterial
<b>Q<sub>v</sub></b>	flujo sanguíneo venoso
<b>R<sub>x/y</sub></b>	relación entre concentración plasmática y concentración en el tubo digestivo
<b>s.c.</b>	subcutáneo
<b>SO<sub>2</sub>/RBZ</b>	relación de áreas de ABZSO <sub>2</sub> y RBZ
<b>t</b>	tiempo
<b>T</b>	tiempo de absorción
<b>t<sub>1/2 00</sub></b>	semivida de pérdida desde el sitio de absorción



$t_{1/2\ 01}$	semivida de absorción
$t_{1/2e1}$	semivida aparente de eliminación calculada a partir de $k_{e1}$
$t_{e1}$	tiempo de eliminación
$t_{max}$	tiempo de observado de máxima concentración plasmática
$t_{perf}$	tiempo de perfusión
$V_d$	volumen de distribución
$V_c$	volumen de distribución centra
$V_{ss}$	volumen de distribución al estado de pseudoequilibrio estacionario
$V_{area}$	volumen de distribución de área
$x$	constante de una ecuación de primer grado (ecuación de la recta)
$a$	variable independiente de una ecuación de primer grado (ecuación de la recta)
$y$	incógnita de una ecuación de primer grado (ecuación de la recta)
$b$	ordenada en el origen de una ecuación de primer grado (ecuación de la recta)
$r$	coeficiente de correlación
$X_1$	cantidad de medicamento presente en el compartimento central
$X_2$	cantidad de medicamento presente en el compartimento periférico
$X_3$	cantidad de medicamento presente en el compartimento periférico profundo
$X_a$	cantidad de medicamento presente en el sitio de absorción
$X_{abs}$	cantidad de medicamento absorbido
$X_{e1}$	cantidad de medicamento eliminado
$X_{e1(e)}$	cantidad eliminada desde el tubo digestivo por metabolismo y excreción
$X_{e1(i)}$	cantidad eliminada desde la pared intestinal
$X_{e1(m)}$	cantidad biotransformada por la flora digestiva
$X_{e1(p)}$	cantidad eliminada por biotransformación en los enterocitos
$X_{e1(t)}$	cantidad eliminada por difusión sin retorno al tubo digestivo
$\mu$	media poblacional
$\mu g$	microgramo
$\mu L$	microlitro
$\Sigma$	sumatoria

# RESUMEN

---

## **FARMACOCINETICA DE RICOBENDAZOLE EN RUMIANTES**

Palabras clave: ricobendazole, farmacocinética, modelización, terneros, ovejas

El objetivo de esta Tesis Doctoral fue realizar un estudio farmacocinético del RBZ en las especies bovina y ovina y obtener toda la información posible de generar mediante un análisis compartimental. El efecto de diferentes formulaciones farmacéuticas y vías de administración sobre la biodisponibilidad ( $F$ ) y la cinética de los procesos de absorción también fue estudiada. El RBZ fue administrado a terneros por vía intravenosa (i.v.) en solución experimental al 10% en DMSO, y por las vías subcutáneas (s.c.) e intrarruminal (i.r.), e intraabomasal (i.a) como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. como suspensión experimental al 10%. En ovejas el RBZ fue administrado por las vía i.v. en solución experimental al 10% en DMSO, s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) e i.r. como suspensión al 10%. El comportamiento farmacocinético del RBZ en las dos especies fue caracterizado por análisis compartimental de los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración i.v. El análisis farmacocinético se realizó construyendo los modelos con ecuaciones diferenciales y por regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados. El comportamiento farmacocinético del RBZ fue mejor explicado por un modelo bicompartimental abierto. La discriminación del orden y la velocidad de los procesos de absorción se realizaron mediante el método de deconvolución. En terneros la absorción del RBZ tras las administraciones s.c. e i.r. fue mejor explicada por un proceso de orden cero, mientras que tras la administración i.r. un proceso de primer orden fue discriminado. En las ovejas todos los procesos de absorción fueron de primer orden. Los perfiles obtenidos tras las administraciones i.v. y extravasculares (e.v.) fueron analizados simultáneamente para obtener los valores mejor estimados para los parámetros farmacocinéticos y las constantes de velocidad de absorción de orden cero y de orden uno. No se encontraron diferencias en el comportamiento farmacocinético del RBZ en las dos especies. El RBZ es eliminado lentamente presentando un coeficiente de extracción de 0.029 y 0.032 en terneros y ovejas respectivamente. Durante todo el tiempo de permanencia en el organismo animal, el RBZ se encuentra distribuido un 30% en el compartimiento central y un 70% en el compartimiento periférico. El aparato digestivo de estas especies sería el principal componente del compartimiento periférico. En terneros y ovejas los valores de biodisponibilidad tras la administración i.r. fueron de 38% y 27% respectivamente. El efecto de un fenómeno de primer pasaje hepático fue demostrado como poco significativo. Las pérdidas de RBZ serían producidas por biotransformación en el tubo digestivo o por excreción. Tras la administración s.c. de RBZ en terneros el valor de  $F$  fue de 40% mientras que en ovejas fue de 90% aproximadamente. En terneros se produjo una marcada reacción

tisular en el sitio de inyección y de  $F$  se puede asociar con la biotransformación de la molécula en el sitio de inyección. Esto último se corrobora por el aumento de las concentraciones plasmáticas de su metabolito el albendazole sulfona (ABZSO<sub>2</sub>). En ovejas la falta de reacción tisular se asoció con un elevado valor de  $F$  y escasa formación adicional de ABZSO<sub>2</sub>. En resumen; la farmacocinética del RBZ tras su administración e.v. en las especies en estudio está influenciada por el tipo de formulación empleada y las vías de administración utilizadas. Esto último produce modificaciones en la cantidad de fármaco que ingresa a la circulación general y en el orden y la velocidad a la que se producen los mencionados procesos. La información generada por el análisis compartimental permitió la construcción de los modelos farmacocinéticos que explicaron la mecánica de los procesos de absorción como así también los hallazgos reportados en la literatura. Este estudio corrobora que un correcto análisis compartimental y la construcción de modelos farmacocinéticos son una herramienta eficaz para el conocimiento del comportamiento farmacocinético de cualquier molécula. /

## PHARMACOKINETICS OF RICOBENDAZOLE IN RUMINANTS

Key words: ricobendazole, pharmacokinetics, modelling, calves, sheep

The objective of this Doctoral Thesis was to carry out a pharmacokinetic study of the ricobendazole (RBZ) in the bovine and ovine species and to obtain all the information as be as possible to generate by means of a compartmental analysis. The effect of different pharmaceutical forms and administration routes on the bioavailability ( $F$ ) and the kinetics of the absorption processes were also studied. The RBZ was administered to calves in as experimental 10% solution in DMSO by intravenous (i.v.) route, as commercial 15% solution (Sintyotal-R®) by the subcutaneous (s.c.), intraruminal (i.r.), and intraabomasal (i.a) routes and as experimental 10% suspension by i.r. route. In sheep the RBZ was administered as experimental 10% solution in DMSO by i.v. route, as commercial 15% solution (Sintyotal-R®) by s.c. route and as experimental 10% suspension by i.r. route. The pharmacokinetic behaviour of RBZ in both species was characterized by compartmental analysis of the plasma concentration profiles obtained after its i.v. administrations. The pharmacokinetic models were built with differential equations and the pharmacokinetic analysis was performed by means of least-square nonlinear regression. The pharmacokinetic behaviour of RBZ was better explained by a two compartmental open model. The discrimination of the order and the rate of the absorption processes were carried out by means of deconvolución method. In calves the absorption of the RBZ after its administrations by s.c. and i.r. routes was better explained by a zero order processes, while after i.r. administration a first order process was discriminated. In sheep the absorption processes were better explained by first order processes. The obtained profiles after i.v. and extravascular (e.v.) administrations were analyzed simultaneously to refine all the pharmacokinetics parameters and the values of the first and zero order constants of absorption. Not differences were found in the pharmacokinetic behaviour of RBZ in both species. The RBZ was slowly eliminated from the ruminant organisms presenting a low coefficient of extraction i.e. 0.029 and 0.032 in calves and sheep respectively. During all the time of permanency in the animal organism, the RBZ is distributed 30% in the central compartment and 70% in the peripheral compartment. The digestive tract of these species would be the main component of peripheral compartment. In calves and sheep the  $F$  obtained after the i.r. administration were 38% and 27% respectively. The effect of a hepatic first-pass phenomenon was demonstrated to be not significant. The losses of RBZ would be produced by its biotransformation into the alimentary tract or by excretion. After s.c. administration of RBZ in calves  $F$  was 40% while in sheep it was 90% approximately. In calves a marked tissue reaction took place in the injection site and the observed low  $F$  value can associate with biotransformation of the

molecule at this level. This last is corroborated by the increase of the plasma concentrations of its metabolite the albendazole sulfone (ABZSO<sub>2</sub>). In sheep the absence of a tissue of reaction was associated with the observed high value of  $F$  and a little additional formation of ABZSO<sub>2</sub>. In summary; the pharmacokinetics of RBZ after its administration by e.v. routes in the species under study was influenced by the type of formulation used and the administration routes assayed. That produces modifications on the quantity of drug that enters into the general circulation and in the order and the rate that all the aforementioned processes take place. The information generated by the compartmental analysis allowed us the construction of pharmacokinetic models which were able to explain in a mechanical sense the absorption processes and to understand the discoveries reported in the literature. This study corroborates that a compartmental analysis performed in the good way and the construction of pharmacokinetic models are an effective tools for the knowledge of the kinetic behaviour of any molecule. /

# **CAPÍTULO I**

---

## **Introducción General**

## **I.1. ANTIHELMÍNTICOS • INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

La enorme densidad poblacional del planeta ha planteado para la humanidad importantes desafíos y uno de ellos es la imperiosa necesidad de mejorar la producción de alimentos utilizando racionalmente los recursos naturales los que son cada vez más escasos a consecuencia de la devastación y la contaminación ambiental. En este sentido, la Medicina Veterinaria juega un importante papel en la prevención y el control de las enfermedades que afectan a las distintas especies de animales que son usadas como fuente de alimento por el hombre. Dentro de las enfermedades con impacto en la producción animal las parasitosis son sin lugar a dudas una de las mayores causas de pérdidas en el rendimiento de los sistemas de producción.

Sin embargo a pesar de disponerse de un importante arsenal terapéutico para el tratamiento y control de las mismas las pérdidas económicas que estas producen anualmente siguen siendo elevadas. Al mismo tiempo día a día nos enfrentamos a un grave problema que es la aparición de cepas de parásitos resistentes a los antihelmínticos disponibles en el mercado.

Los elevados costos que demandan la investigación y el desarrollo de nuevas moléculas de fármacos para ser usadas en el tratamiento y la prevención de enfermedades en los animales de producción y la pequeña fracción que la industria farmacéutica veterinaria representa dentro del mercado farmacéutico proporcionan un pequeño incentivo para el desarrollo de nuevas moléculas de antihelmínticos.<sup>(42)</sup> En vista de esto se espera que en los próximos años no se produzcan importantes descubrimientos en este campo.

Actualmente los esfuerzos en la industria farmacéutica veterinaria están siendo orientados a mejorar la eficacia de los antihelmínticos que están en este momento disponibles en el mercado. <sup>(41)</sup> El punto de partida para maximizar la eficacia de los mismos debe lograrse mediante un profundo estudio de la fisiología tanto del animal hospedador como de los parásitos y de la farmacocinética las moléculas de los antihelmínticos en uso. Esto debe constituir el pilar fundamental a partir del cual mediante la modificación de las formulaciones farmacéuticas lograr mejorar la biodisponibilidad y la permanencia de los mismos en el animal tratado.

Dentro del arsenal terapéutico antihelmíntico que disponemos en medicina veterinaria, los compuestos benzoimidazólicos (BZDs) ocupan un importante lugar. Estos presentan dos bondades importantes como son: el amplio espectro de acción sobre parásitos internos del bovino y ovino y su baja toxicidad.



## I.2. LOS AGENTES BENZOIMIDAZÓLICOS

En este apartado se describen los aspectos más relevantes de la farmacocinética de estos agentes en las especies rumiantes. Se hace referencia a los compuestos más usados en la actualidad en particular al albendazole (ABZ) que es la molécula madre del ricobendazole (RBZ), del cual su comportamiento farmacocinético es el objeto de estudio de esta Tesis Doctoral.

### I.2.1. Historia y propiedades físico químicas

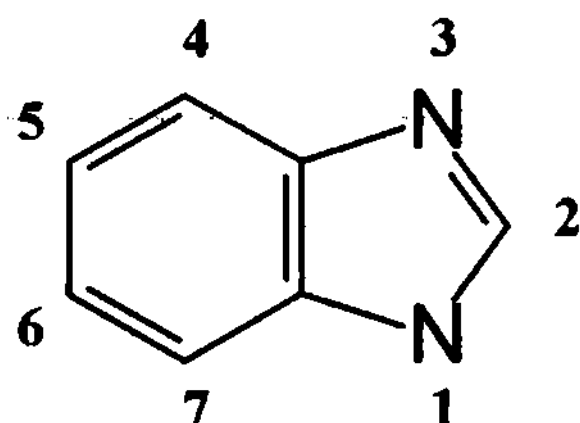
A partir de la década del 60, los benzoimidazólicos (BZDs) han llegado a ser uno de los grupos de antihelmínticos más utilizados en medicina humana y veterinaria. El descubrimiento hecho en el año 1961 por Brown y colaboradores <sup>(18)</sup> acerca de la actividad antihelmíntica del thiabendazol sobre nematodos gastrointestinales fue el punto de partida para la obtención de otros agentes BZDs con mayor espectro y margen de seguridad.

Los BZDs son químicamente bases débiles con un  $pK_a$  de 6.8 a 7.8 que presentan poca solubilidad en agua la que se incrementa a bajos valores de pH. Estas características hacen que estos fármacos generalmente se encuentren disponibles en forma de suspensiones para administración oral o intrarruminal (i.r.) a bovinos y ovinos.

La solubilización de estos agentes para ser administrados por vía parenteral y su efectividad fueron reportadas en el año 1978 <sup>(22)</sup> y en los últimos años una formulación inyectable a base de ricobendazole (RBZ) para su uso s.c. en bovinos fue introducida en el mercado farmacéutico latinoamericano.

### I.2.2. Estructura química, clasificación y espectro

El núcleo químico de los BZDs está conformado por un anillo benceno fusionado en posición 4 -5 con un anillo imidazólico (Figura I. 1).



**Figura I.1.** Núcleo químico central de los compuestos benzoimidazólicos

Entre los cientos de derivados probados los que tienen mayor actividad terapéutica son aquellos que tienen modificaciones en la posición 2 y 5 o en ambas del anillo BZD <sup>(104)</sup> ver figura I.1.

Sucesivas modificaciones en la estructura del anillo benzoimidazol (BZD) dieron lugar a la siguiente clasificación farmacológica:

- Benzoimidazoles tiazoles: *thiabendazole* (TBZ), *cambendazole* (CBZ).
- Benzoimidazoles metilcarbamatos: *parbendazole* (PBZ), *mebendazole* (MBZ), *albendazole* (ABZ), *ricobendazole* (RBZ)\*, *febendazole* (FBZ), *oxfendazole* (OFZ), *luxabendazole* (LBZ), *oxibendazole* (OBZ), *ciclobendazole* (CBZ).
- Benzoimidazoles thioles halogenados: *triclabendazole* (TCBZ).
- Pro-benzoimidazoles: *tiofanato* (TFN), *febantel* (FBT), *netobimin* (NTB).

\* Actualmente disponible en solución para su administración s.c. en bovinos.

Dada la gran variedad de especies de parásitos internos sobre los cuales son efectivos los compuestos BZDs se los considera como antihelmínticos de amplio espectro. <sup>(103)</sup> En la Tabla I.1. se puede apreciar el espectro de los principales antihelmínticos del grupo usados en bovinos.

**Tabla I.1.** Espectro de los principales agentes benzoimidazólicos

Fármaco	Adultos	Larva <sub>4</sub> y larva <sub>5</sub>	Larva inhibida	Tenias	Fasciola adulta
TBZ	2-3	2	0	0	0
ABZ	3	3	2	3	2-3
FBZ	3	3	2	2-3	0
OFZ	3	3	2	2-3	0
FBT	3	3	2	2-3	0
NTB	3	3	2	3	2-3
TCB	-	-	-	-	3

Los valores numéricos representan aproximadamente la siguiente escala de eficacia:

3 = 95-100 %; 2 = 80-95 %; 1 = < 80 %; 0 = sin actividad <sup>(67)</sup>

### I.2.3. Farmacocinética

#### I.2.3.1. Absorción

La absorción de los BZDs a partir del tracto gastrointestinal es influenciada por la estructura química de los mismos, las formulaciones usadas y factores estrechamente relacionados a la especie animal. <sup>(10)</sup>

Cuando los BZDs son administrados por vía oral o i.r. en forma de suspensión las partículas del fármaco deben disolverse en los fluidos gastrointestinales para facilitar la absorción de las moléculas a través de la mucosa intestinal. Dada las características de base débil de estos compuestos ( $pK_a$  6.8 - 7.8) los mismos se disuelven en pH ácido siendo el abomaso (pH 2-3) el principal sitio de disolución en las especies rumiantes. En el intestino delgado la presencia de un pH próximo al  $pK_a$  de estos compuestos determina que una gran proporción de los mismos se encuentren en forma no ionizada lo que permite la absorción de los mismos. <sup>(65)</sup> Estos procesos son evitados con las formulaciones de uso parenteral al permitir que el fármaco en solución ingrese rápidamente a la circulación general desde su sitio de inyección.

Por lo tanto se deduce que la velocidad de absorción de los compuestos BZDs administrados por vía enteral depende del tiempo en que las moléculas en solución tardan en llegar al intestino delgado.

Cuando la suspensión antihelmíntica ingresa al rumen las partículas del fármaco se mezclan con su contenido y se asocian en forma reversible al material particulado de la dieta lo que contribuye en gran manera a la permanencia de estos fármacos en la cavidad ruminal. <sup>(48)</sup> La velocidad de pasaje de la ingesta a través del rumen determina el grado con que los BZDs abandonan este órgano y de esta manera el rumen se comporta como un reservorio que retarda el pasaje de estos compuestos hacia el tracto digestivo posterior prolongando así su absorción y por ende la permanencia de los mismos en el organismo del animal. <sup>(79)</sup>

Cuando los BZDs son administrados por vía oral puede producirse el cierre esporádico de la gotera esofágica provocando que gran parte de la dosis ingrese directamente al abomaso <sup>(19)(87)</sup> evitando su pasaje por el rumen y su efecto reservorio <sup>(66)</sup> acortando de esta manera el tiempo durante el cual se produciría la absorción. La consecuencia de ese fenómeno es una baja biodisponibilidad sistémica de los compuestos BZDs y sus metabolitos activos. <sup>(87)</sup>

Dado que la permanencia en el organismo de los BZDs administrados por vía oral o i.r. está condicionada por la velocidad de pasaje de la ingesta a través de la cavidad ruminal, esta puede alterarse significativamente por el tipo y la calidad de la dieta ingerida durante el tratamiento. <sup>(53) (83)</sup> En efecto, las dietas de baja digestibilidad con alto contenido de materia seca y fibra abandonan la cavidad ruminal lentamente dando como resultado concentraciones plasmáticas más elevadas y más prolongadas que aquellas obtenidas con las dietas verdes las que al ser fácilmente digeridas abandonan rápidamente la cavidad ruminal. <sup>(5) (6)</sup>

De hecho la velocidad de pasaje de la ingesta puede disminuirse mediante un ayuno previo al tratamiento. Esta práctica prolonga la liberación del fármaco desde el rumen y que da como resultado mayores concentraciones plasmáticas durante un período más prolongado. <sup>(92)</sup>

#### 1.2.3.2. Distribución

El pH plasmático determina que una gran proporción de los fármacos BZDs ingresados a la circulación general se encuentren en estado no-ionizado lo que facilita su difusión hacia otros tejidos. <sup>(65)</sup> El gradiente de pH existente entre el plasma y el tubo digestivo permite que los BZDs vuelvan a ingresar al mismo. Este fenómeno es más notorio en el abomaso donde por efecto de la acidez de su contenido (pH 2-3) los BZDs se concentran por un efecto de atrapamiento iónico. <sup>(65)</sup>

El fenómeno de difusión hacia la luz del tubo digestivo permite que un BZD como el RBZ pueda ser administrado por vía parenteral y ejerza su acción sobre los parásitos de localización digestiva como lo demuestran las elevadas concentraciones de RBZ logradas en abomaso luego de su administración s.c. a bovinos. <sup>(69)</sup>

Los BZDs pueden entonces volver a reingresar a la circulación general estableciéndose un proceso de recirculación que determina que las concentraciones de los BZD entre ambos compartimentos estén estrechamente relacionadas. Este fenómeno de recirculación de los BZDs entre plasma y el tubo digestivo tiene mucha importancia con respecto a la efectividad de los mismos ya que aquellos parásitos localizados en la mucosa abomasal o intestinal están más expuestos al fármaco que por distribución ingresa a las mismas desde plasma que al fármaco que pasa a través del lumen intestinal sin ser absorbido. <sup>(67)</sup>

#### 1.2.3.3. Biotransformación

Los compuestos BZDs y pro-BZDs son ampliamente biotransformados en el organismo animal dando como resultado la presencia y permanencia de sus metabolitos activos e inactivos en el mismo. <sup>(90)</sup> Los fármacos pro-BZDs como el NTB y el FBT son sometidos a reacciones enzimáticas que dan como resultado la formación de ABZ y FBZ respectivamente. En el caso del NTB el proceso de biotransformación se produce con mayor eficiencia en el rumen por acción de la flora. <sup>(60)</sup> En cambio la biotransformación del FBT a FBZ es llevada a cabo con mayor eficiencia en el hígado. <sup>(14)</sup>

Para los BZDs la sulfoxidación microsomal hepática es la vía metabólica común. Los BZDs son sometidos a procesos de fase I que tienen como finalidad transformar los compuestos antedichos en sustancias más polares e hidrosolubles por oxidación, reducción

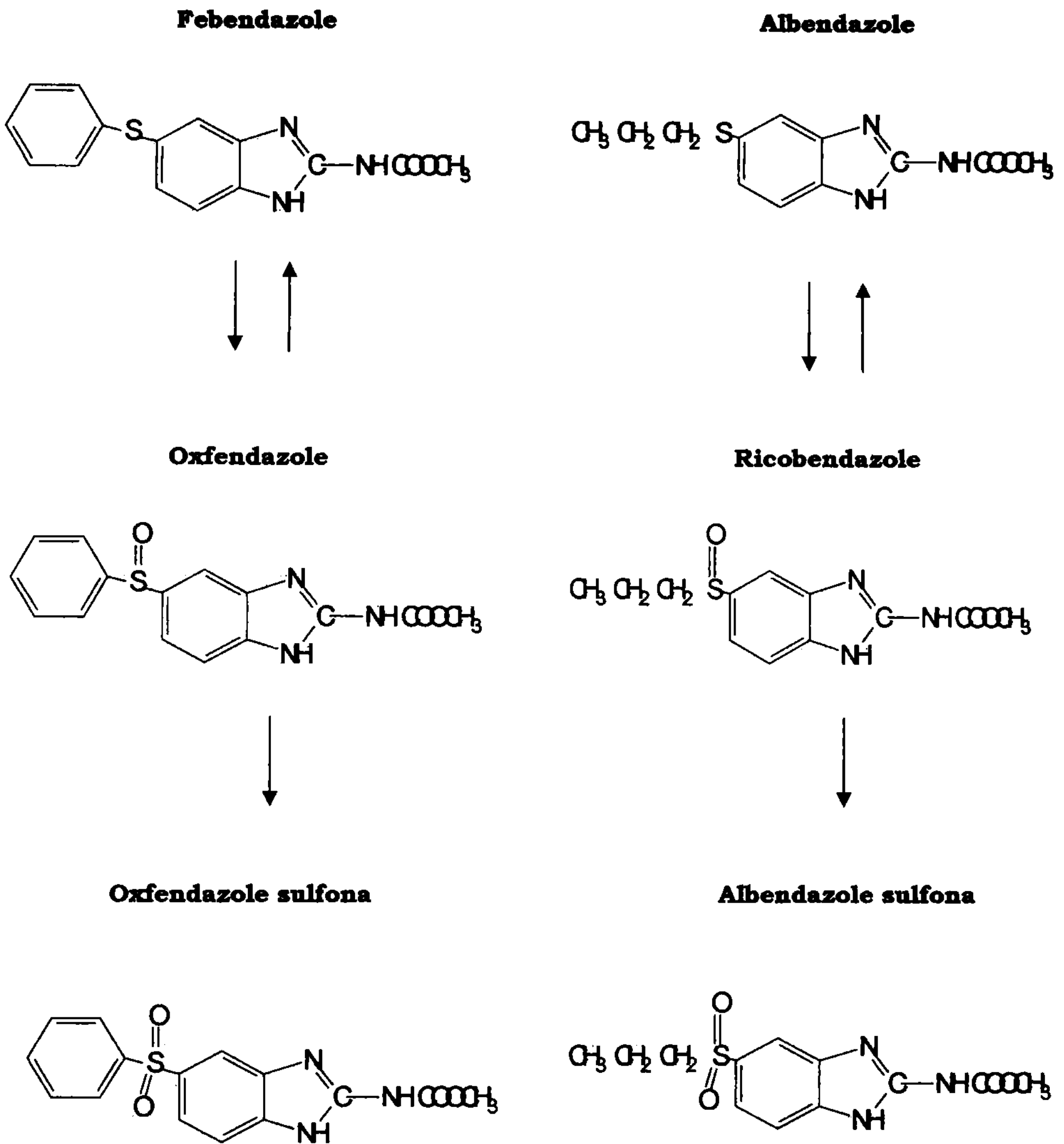
o hidroxilación que faciliten las reacciones de fase II con la formación de glucurónidos o sulfatos. <sup>(66)</sup>

Los compuestos metilcarbamatos como FBZ y ABZ poseen en la posición 5 del anillo benzoimidazol un puente de azufre con el que se unen a un grupo químico de sustitución. Este átomo de azufre es sometido a un primer proceso de oxidación dando como resultado los metabolitos sulfóxidos OFZ y albendazole sulfóxido (ABZSO) también conocido como RBZ los que son menos activos que sus moléculas madres <sup>(32)</sup> (Figura I. 2). Esta primera reacción oxidativa es un proceso reversible llevado a cabo por el sistema de la flavin-monooxigenasa (FMO) dependiente del NADPH <sup>(34)</sup>. Los metabolitos sulfóxidos son sometidos a una nueva oxidación en el mismo átomo de azufre dando como resultado metabolitos sulfona que son inactivos siendo esta segunda reacción de tipo irreversible que está mediada por el sistema citocromo p-450 <sup>(101)</sup> (Figura I. 2).

La sustitución del anillo BZD en la posición 5, es de particular importancia en la determinación del destino metabólico de los BZDs metilcarbamatos. En el caso del ABZ esta sustitución es una cadena alifática mientras que en el caso del OFZ es una estructura aromática. Estas diferencias estructurales producen diferencias en la velocidad los procesos de sulfoxidación. <sup>(40)</sup>

Cuando el ABZ ingresa al hígado vía circulación porta es rápidamente oxidado a RBZ sin ser posible detectarlo en plasma. <sup>(34)</sup> Por el contrario el FBZ es oxidado más lentamente por lo que si puede ser detectado en plasma. Esta lentitud metabólica sumada al fenómeno de recirculación plasmático-entérica redundan en prolongados tiempos de residencia plasmática para el FBZ y OFZ en comparación con el RBZ. <sup>(47)</sup>

En las especies rumiantes son de particular interés las reacciones metabólicas llevadas a cabo en los líquidos ruminales e intestinales mientras que en el hígado predominan las reacciones de tipo oxidativo. Contrariamente la flora digestiva es muy activa en reacciones de reducción. <sup>(93)</sup> Los fármacos BZDs pueden ser biotransformados a sus metabolitos inactivos sulfona por acción de la flora ruminal e intestinal. Pero la trascendencia del metabolismo de los BZDs en los fluidos digestivos reside en el hecho de que los metabolitos sulfóxidos tales como OFZ y RBZ pueden ser nuevamente reducidos a sus moléculas madres FBZ y ABZ. <sup>(14)</sup> <sup>(60)</sup> Como el ABZ y el FBZ son más activos que sus metabolitos sulfóxidos esta reducción bacteriana tiene relevancia en la eficacia sobre los parásitos gastrointestinales. <sup>(43)</sup>



**Figura I. 2.** Pasos metabólicos para la biotransformación de febendazole y albendazole.

#### 1.2.3.4. Eliminación

Los metabolitos de los BZDs son excretados mayoritariamente por orina. También un porcentaje puede ser excretado por bilis mientras que las moléculas madres que son poco hidrosolubles se excretan por orina pero fundamentalmente por heces bien como fracción de la dosis oral no absorbida o como fracción absorbida que ha pasado desde la circulación sistémica al tracto digestivo. <sup>(25)</sup>

Los derivados alifáticos como el ABZ luego de ser sometidos al proceso de sulfoxidación son lo suficientemente polares como para excretarse mayoritariamente por orina y los metabolitos biliares son excretados por las heces en forma directa o después de la recirculación entero hepática. <sup>(67)</sup> En contraste, la posición 5 del FBZ al estar bloqueada por un grupo fenilo retarda su metabolismo a un compuesto más polar ya que junto con la porción metilcarbamato le da a la molécula un carácter hidrofóbico, por lo que esta es excretada en gran medida por la vía biliar con una lenta eliminación urinaria. <sup>(43)</sup>

#### 1.2.4. Farmacodinamia

Existen pruebas de peso para considerar que la acción nematodocida de los BZDs es ejercida por la disrupción de la estructura microtubular del parásito por su unión selectiva a la proteína  $\beta$  tubulina. <sup>(55)</sup> Los microtúbulos forman parte del citoesqueleto celular y están implicados en el transporte de nutrientes <sup>(57)</sup> y la constitución del huso mitótico durante los procesos de división celular. <sup>(56)</sup> La unión BZDs- $\beta$  tubulina produce una disrupción en la formación de los microtúbulos alterando el equilibrio microtúbulos-tubulina y de esa manera el funcionamiento celular a estos niveles. <sup>(55)</sup>

Por lo tanto el mecanismo de acción de estos fármacos consiste en comprometer las funciones vitales del parásito. De lo expresado se deduce que para provocar la muerte del parásito se precisa un determinado tiempo de contacto fármaco-parásito. Por esa razón los fármacos BZDs deben alcanzar el sitio de localización del parásito donde debe permanecer en concentraciones adecuadas por el tiempo necesario hasta que se produzca la muerte del mismo. Se deduce entonces que la farmacodinamia de estos fármacos está estrechamente relacionada con su farmacocinética. <sup>(57)</sup>

En este sentido los fármacos originales como ABZ y FBZ presentan mayor efectividad que sus respectivos metabolitos sulfóxidos ABZSO (RBZ) y OFZ debido a su mayor capacidad de penetración a las células del parásito y a su afinidad por unirse a la  $\beta$  tubulina <sup>(81)</sup> y aunque estos últimos son menos efectivos que sus moléculas madres sus características farmacocinéticas hacen que estos metabolitos sean también los responsables de la acción antihelmíntica sobre los parásitos de localización extra digestiva. <sup>(73)</sup>

## **I.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO**

### **1.3.1. Supuestos básicos**

El RBZ se encuentra actualmente disponible en el mercado latinoamericano en forma de solución inyectable para su administración s.c. a bovinos. La mencionada formulación tendría ventajas sobre las clásicas formulaciones en forma de suspensiones como ser:

- Mayor facilidad de administración con menor riesgo para el operador.
- Permitir una correcta dosificación evitando la pérdida de la dosis por indocilidad de los animales o por regurgitación de la misma.
- Evitar el posible by-pass ruminal por cierre esporádico de la gotera esofágica.
- Evitar la disminución de la biodisponibilidad provocada por la biotransformación de los compuestos en los fluidos digestivos y por la acción enzimática de la fracción microsomal hepática previo ingreso del fármaco a la circulación general.
- Como consecuencia de lo anterior, permitir que una mayor fracción de la dosis administrada ingrese a la circulación general.

Sin embargo las formulaciones para uso s.c. presentan la desventaja de evitar el rumen como sistema reservorio y eso tendría consecuencias negativas sobre el tiempo de permanencia del fármaco en el organismo.

Aunque la administración del RBZ como solución por vía s.c. ha sido reportada en bovinos <sup>(69)</sup> creemos que serían necesarios nuevos estudios para obtener un conocimiento más acabado acerca del comportamiento farmacocinético de este tipo de formulaciones en la especie bovina.

Por otra parte la farmacocinética del RBZ administrado en forma de solución por vía s.c. en ovinos no ha sido reportada aún, por lo que creemos importante la realización de este estudio en la mencionada especie.



### **I.3.2. Hipótesis experimentales**

Sobre la base de los conceptos hasta aquí expuestos se proponen las siguientes hipótesis de trabajo:

- La persistencia en plasma del RBZ administrado por la vía intravenosa (i.v.) es menor a la que se obtiene luego de las administraciones i.r. y s.c.
- La biodisponibilidad del RBZ administrado como solución por la vía s.c. es mayor a la que se obtiene por la vía i.r.
- El período de persistencia en plasma del RBZ administrado por vía s.c. es menor al hallado luego de su administración por vía i.r.
- La biodisponibilidad y la persistencia del RBZ en plasma luego de su administración s.c. están netamente vinculadas a la formulación del preparado.

### **I.3.3. Objetivos**

#### **I.3.3.1. Objetivos generales**

- Estudiar el comportamiento farmacocinético del RBZ en las especies bovina y ovina sanos y libres de parásitos a partir de los perfiles plasmáticos obtenidos tras su administración i.v.
- Obtener toda la información farmacocinética que es capaz de ser generada a partir del análisis compartimental de los mencionados perfiles.
- Estudiar la cinética plasmática del RBZ en bovinos y ovinos sanos y libres de parásitos tras su administración extravascular.
- Estudiar la cinética del proceso de absorción del RBZ cuando éste es administrado por vía extravascular usando diferentes formulaciones farmacéuticas.
- Proponer los modelos farmacocinéticos que expliquen y describan adecuadamente los perfiles plasmáticos del RBZ obtenidos tras su administración extravascular utilizando diferentes vías de administración y diferentes formulaciones farmacéuticas.
- Correlacionar la información generada con los modelos propuestos y los hallazgos reportados en la literatura.

### **I.3.3.2. Objetivos específicos**

**A partir del sujeto de estudio de esta Tesis Doctoral, los objetivos específicos que se plantearon fueron los siguientes:**

- **Realizar un estudio profundo de la farmacocinética.**
- **Conocer y saber utilizar los distintos paquetes informáticos disponibles para la realización de los estudios farmacocinéticos de rutina y para el desarrollo de modelos farmacocinéticos.**
- **Profundizar conocimientos en el área de la modelización.**
- **Desarrollar modelos farmacocinéticos.**
- **Conocer y saber utilizar los distintos test estadísticos para la evaluación de los resultados obtenidos.**
- **Adquirir disciplina de trabajo en un laboratorio de farmacología y a la vez práctica para realizar las actividades corrientes que allí se realicen:**
  - **Conocer las normas de precaución para trabajar con muestras de origen biológico.**
  - **Recepción e identificación de muestras.**
  - **Extracción de fármacos o metabolitos de diferentes matrices biológicas.**
  - **Detección y cuantificación de los mismos mediante la técnica de la cromatografía líquida de alta resolución.**
- **Aprender a redactar protocolos de trabajo.**
- **Adquirir práctica para realizar muestreos experimentales tanto en condiciones de laboratorio como a campo.**
- **Aprender a redactar informes finales y artículos de divulgación.**

# **CAPÍTULO II**

---

## **Materiales y Métodos**

*En este capítulo se describen los materiales y los métodos generales usados para el desarrollo de todos los experimentos realizados. Los materiales y métodos específicos se describen en los capítulos correspondientes.*

## **II.1. FASE ANIMAL**

### **II.1.1. Animales experimentales**

Para la realización de los experimentos en la especie bovina se utilizaron terneros raza Holstein, machos, sanos y libres de parásitos con un peso comprendido entre 150 y 170 kg. Los animales fueron identificados con caravanas.

Para la realización de los experimentos en la especie ovina se utilizaron ovejas adultas raza Corriedale, hembras, sanas y libres de parásitos, con un peso comprendido entre 40 y 50 kg. Los animales fueron identificados con caravanas.

### **II.1.2. Condiciones de mantenimiento de los animales**

En el caso de los bovinos, estos fueron alojados en corrales en los cuales tuvieron libre acceso a una pastura a base de alfalfa donde el agua fue provista *ad libitum*. Los ovinos fueron alojados en corrales en los cuales fueron alimentados con fardo de alfalfa de buena calidad, igualmente el agua fue provista *ad libitum*. Las condiciones de alojamiento y alimentación descritas arriba se mantuvieron durante todo el tiempo en que se desarrollaron las experiencias y todo momento los animales fueron conducidos de la manera más humanitaria posible evitando el innecesario sufrimiento de los mismos.

### **II.1.3. Tratamiento y toma de muestras**

Las administraciones por vía i.v. se realizaron en la vena yugular derecha previa depilación e higiene de la zona. Las administraciones por vía i.r. se realizaron en la zona del hígado en el flanco izquierdo con aguja hipodérmica atravesando piel, capas musculares, peritoneo y pared ruminal. Las administraciones por vía s.c se realizaron en la región de la tabla del cuello del lado derecho de los animales, previa higiene de la misma.

Las administraciones por la vía i.a. se realizaron únicamente en la especie bovina por punción de la cavidad abdominal con aguja hipodérmica en una región algo por delante de la mitad de la distancia entre el cartílago xifoides y el ombligo según técnica descrita por Rosemberger. <sup>(92)</sup>

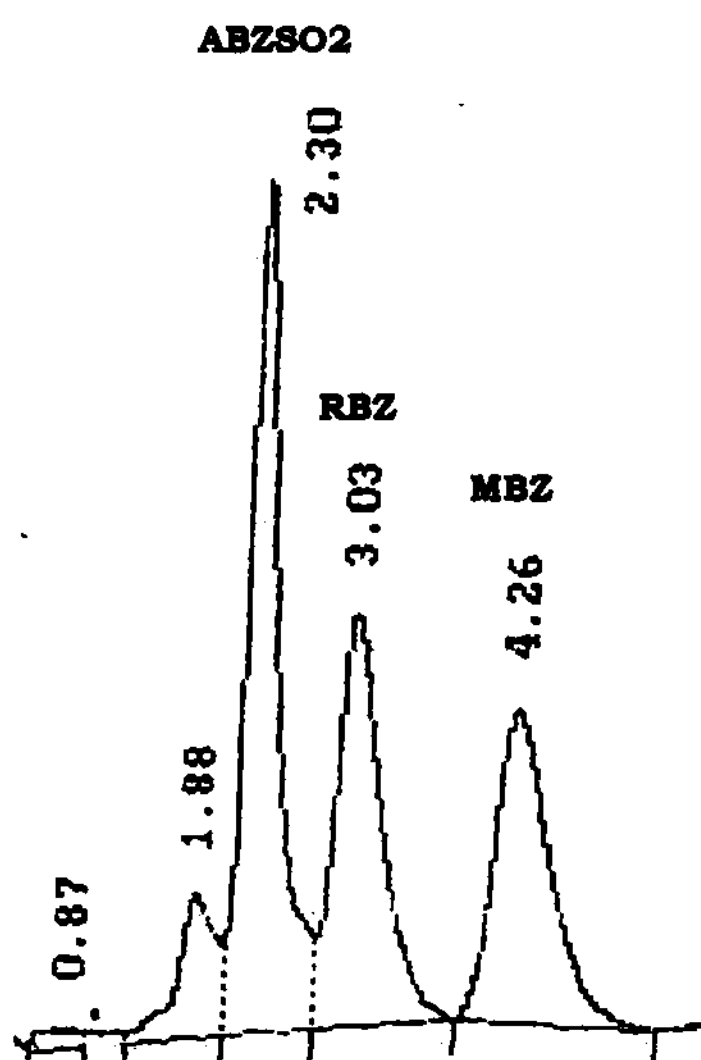
Las muestras de sangre se obtuvieron por venipunción de la vena yugular izquierda en ambas especies previamente y a los 1, 5, 15, 30, 45, 60 y 90 minutos y 2, 4, 6, 8, 10, 12,

18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 hs postratamiento. Las muestras se colocaron en tubos de vidrio heparinizados y el plasma fue separado por centrifugación. El plasma así obtenido se colocó en viales que fueron almacenados a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

## II.2. FASE ANALÍTICA

### II.2.1. Análisis cromatográfico

Para la detección y la cuantificación de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> se utilizó un equipo cromatográfico compuesto por una bomba de gradiente GILSON 307, una columna de fase reversa Konik-TECH, SPHERISORB ODS<sub>2</sub>, 5  $\mu\text{m}$  25/0.4 y un detector GILSON UV/VIS-155 de longitud de onda variable siendo la máxima absorbancia para los analitos de 292 nm. Las condiciones operativas usadas fueron las descritas por Marriner y col. <sup>(79)</sup> utilizando mebendazole (MBZ) como estándar interno. La fase móvil se compuso de una mezcla de metanol: agua en proporción 80:20 + 1  $\mu\text{L}$  de ácido perclórico (1,1% p/v) por mL de solución preparada. El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/minuto. Con estas condiciones operativas los tiempos de retención para RBZ, ABZSO<sub>2</sub> y MBZ fueron de 2.30 min, 3.03 min y 4.26 min respectivamente tal como se observa en la figura II.1.



**Figura II.1.** Cromatograma en donde se puede apreciar la separación y los tiempos de retención de albendazole sulfona (ABZSO<sub>2</sub>), ricobendazole (RBZ) y el estándar interno mebendazole (MBZ).

### **II.2.2. Extracción físico-química de los analitos**

Las moléculas de RBZ, ABZSO y MBZ fueron extraídas de la matriz plasmática utilizando la técnica reportada por Galtier y col. <sup>(36)</sup> modificada. Un mL de plasma problema fue enriquecido con 1 µg de MBZ como estándar interno. A esta muestra se le adicionaron 10 mL de acetato de etilo calidad HPLC. Luego de agitar en vortex durante 15 min, se retiró el sobrenadante se evaporó a seco bajo atmósfera de nitrógeno. El residuo se disolvió en 0.25 mL de fase móvil para analizarse posteriormente.

### **II.2.3. Cuantificación de los analitos**

La cuantificación del RBZ y del ABZSO<sub>2</sub> se realizó mediante el método del estándar interno en donde la concentración de estos en la muestra plasmática fue estimada sobre la base de la relación entre sus áreas y la del estándar interno. Los cálculos de las áreas de los analitos y del estándar interno, las rectas de calibración entre las relaciones analito/estándar interno y las correspondientes concentraciones de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> y la estimación de las concentraciones de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> en las muestras experimentales fueron realizadas con el programa PC-Crom versión 280.

### **II.2.4. Validación de la técnica cromatográfica**

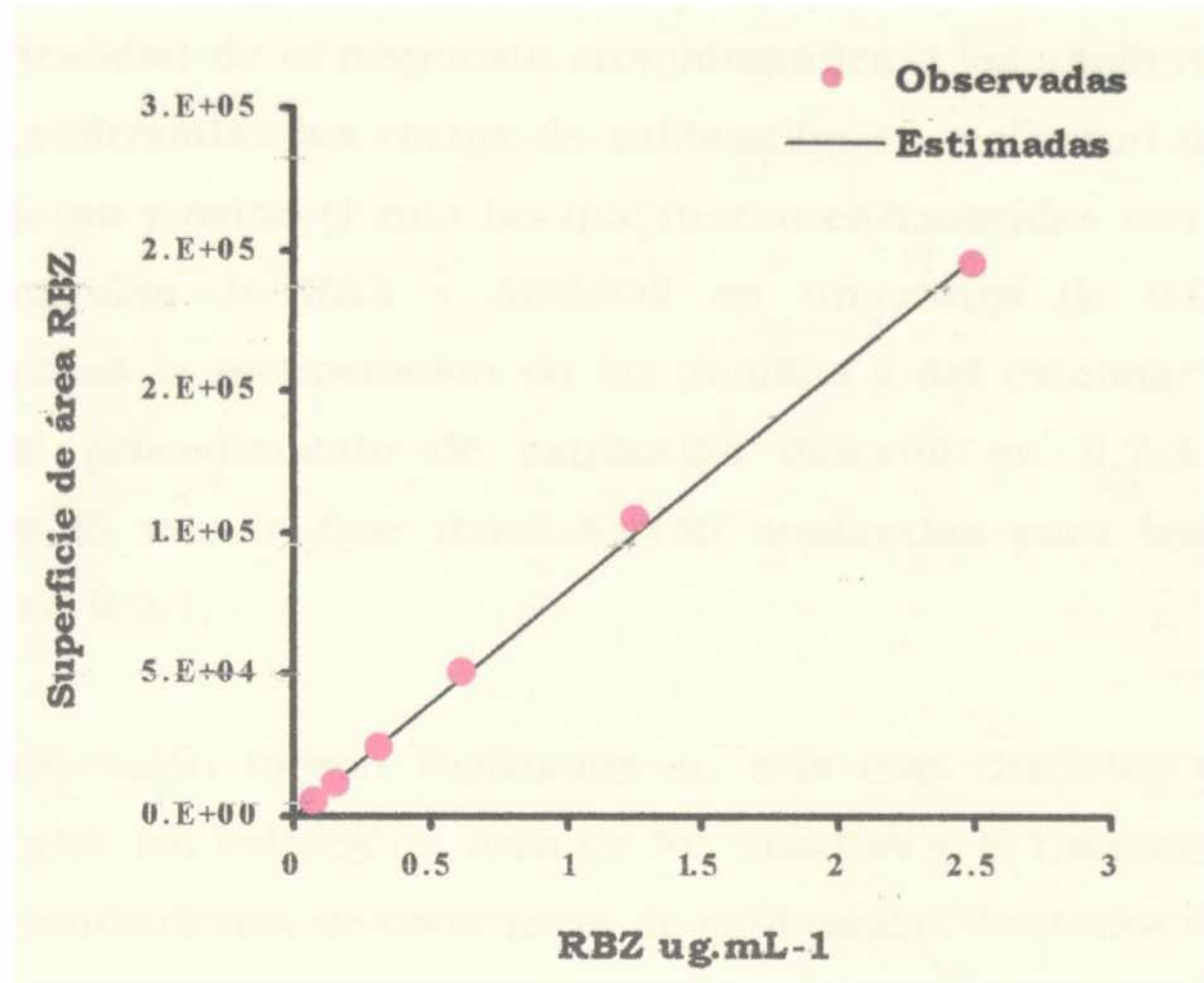
Todos los procedimientos correspondientes a la extracción y cuantificación de los analitos fueron validados previamente a la realización de los análisis de las muestras de los experimentos.

#### **II.2.4.1. Linealidad de la respuesta cromatográfica**

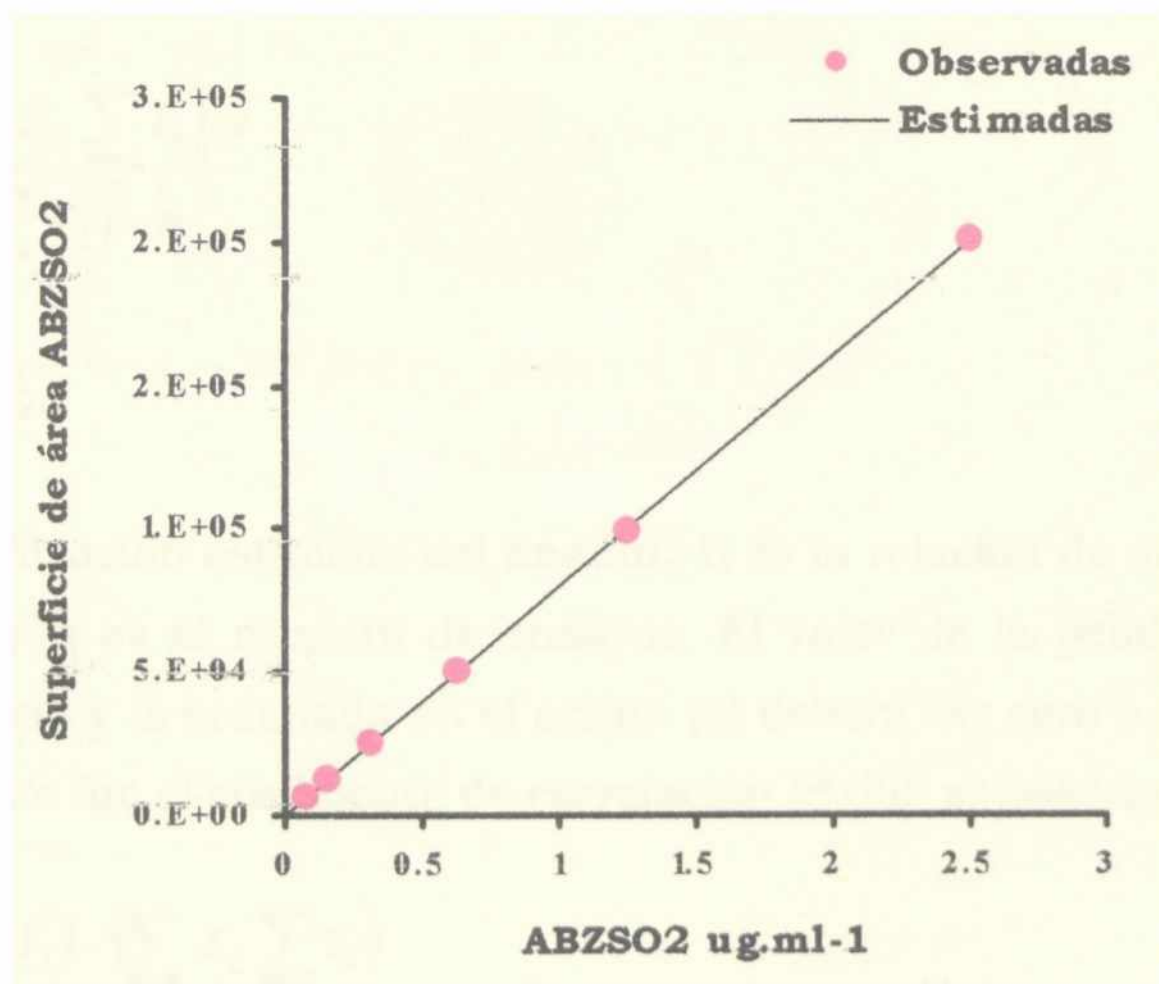
La relación entre concentración del analito y respuesta del detector se realizó con el criterio de linealidad mediante la construcción de rectas de calibración con soluciones metanólicas de concentración conocida de los estándares puros de RBZ, ABZSO<sub>2</sub> y MBZ. Las rectas de calibración fueron realizadas en seis días distintos por duplicado. La respuesta lineal del sistema cromatográfico para el RBZ y el ABZSO<sub>2</sub> puede observarse en las figuras II.2 y II.3.

#### **II.2.4.2. Especificidad del método**

Muestras de plasma bovino y ovino de animales no tratados (muestras blanco) fueron sometidas al procedimiento de extracción descrito en II.2.2. y luego de ser reconstituidas con 0.25 mL de fase móvil fueron analizadas para bajo las condiciones operativas descritas en II.2.1. No se observaron interferencias de sustancias endógenas a los tiempos de retención de los analitos y el estándar interno.



**Figura II.2.** Recta de calibración construida a partir de soluciones metanólicas de RBZ en un rango de concentraciones de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .



**Figura II.3.** Recta de calibración construida a partir de soluciones metanólicas de ABZSO2 en un rango de concentraciones de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

### II.2.4.3. Trazado de la recta de calibración

Una vez que la linealidad de la respuesta cromatográfica a los analitos y la especificidad del método fueron confirmadas las rectas de calibración se realizaron desde muestras de plasma blanco de bovino y ovino (1 mL) las que fueron enriquecidas con MBZ (1 µg) y con concentraciones conocidas de RBZ y ABZSO2 en un rango de 0.08 µg a 2.5 µg. Posteriormente se realizó la recuperación de los analitos y del estándar interno desde las mismas mediante el procedimiento de extracción descrito en II.2.2. y luego de ser reconstituidas con 0.25 mL de fase móvil fueron analizadas para bajo las condiciones operativas descritas en II.2.1.

Las rectas de calibración fueron realizadas en seis días distintos por duplicado. Se calculó la relación entre los valores de área de los analitos y el estándar interno ( $R$ ) para cada una de las concentraciones de cada recta de calibración. Posteriormente se determinó la recta de regresión lineal  $y = b + a x$  con los puntos individuales sin promediar por el método de los cuadrados mínimos donde  $y$  es la concentración del analito,  $b$  es el punto de intersección con el eje de la abscisa u ordenada en el origen,  $a$  es la pendiente de la recta y  $x$  es el valor de la relación de área entre el analito y el estándar interno. Los estimadores de  $a$  y  $b$  fueron calculados de la siguiente manera:

$$b = \frac{\sum X_i Y_i - (\sum X_i \sum Y_i)/n}{\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2/n} \quad \text{Eq. 1}$$

$$a = \frac{\sum Y_i - b \sum X_i}{n} \quad \text{Eq. 2}$$

donde  $X_i$  es la concentración estimada del analito,  $Y_i$  es la relación de área entre el analito y el estándar interno y  $n$  es el número de ensayos. El valor de la pendiente ( $a$ ) indicará la sensibilidad del método y la ordenada en el origen ( $b$ ) deberá ser cero o muy próxima a cero. El estimador del ajuste fue el coeficiente de correlación ( $r$ ) que se calcula como:

$$r = \frac{n \sum (X_i Y_i) - (\sum X_i \sum Y_i)}{\sqrt{(n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)}} \quad \text{Eq. 3}$$

Los valores de  $r$  para ser considerados como aceptables debieron ser superiores a 0.985. Los parámetros resultantes de las rectas de calibración de RBZ y ABZSO2 realizadas en plasma bovino y ovino se presentan en las tablas II.1 y II.4. Los gráficos de las rectas de calibración de RBZ y ABZSO2 realizadas en plasma bovino y ovino se presentan en las figuras II.4, II.5, II.6 y II.7.



#### II.2.4.4. Exactitud del método

La exactitud en la determinación de las concentraciones de los analitos se expresó como porcentaje de la relación entre las áreas obtenidas tras la recuperación de los mismos desde plasma y las áreas obtenidas tras el análisis de soluciones metanólicas de los estándares puros a idénticas concentraciones.

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\text{área analito recuperado} \times f}{\text{área analito solución estándar}} \quad \text{Eq. 4}$$

donde  $f$  es el factor de dilución.

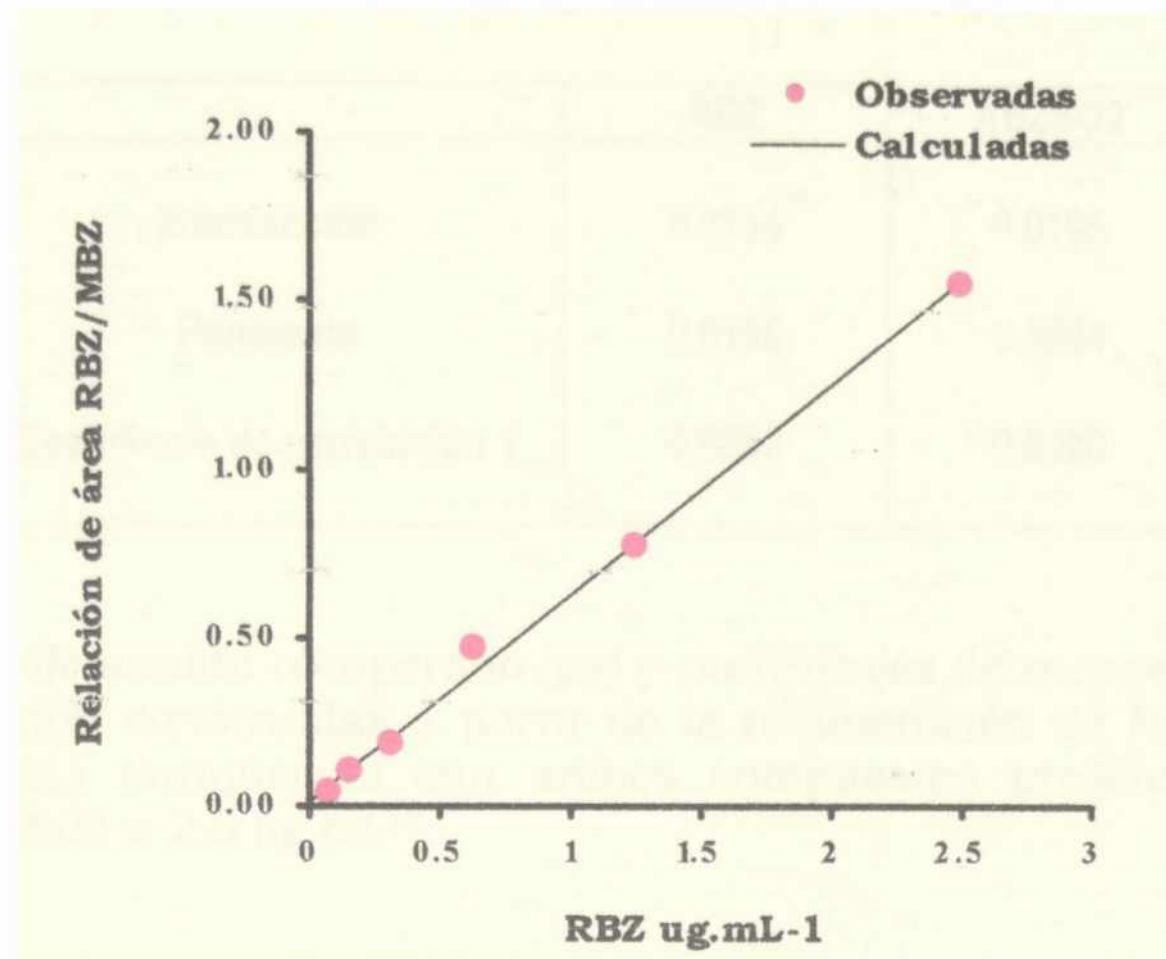
Los estándares de puros de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> se hallaban diluidos a las siguientes concentraciones: 2.5 µg.mL<sup>-1</sup>, 3 µg.mL<sup>-1</sup> y 0.08 µg.mL<sup>-1</sup>. La recuperación de los analitos se realizó desde muestras de plasma blanco bovino y ovino (1 mL) enriquecidos con 2.5 µg, 3 µg, y 0.08 µg de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> respectivamente. La exactitud del método se chequeó analizando las muestras por triplicado antes de comenzar a analizar cada grupo de muestras problema. Se consideró adecuado un valor de recuperación comprendido entre 60% y 110%. Los valores promedio de recuperación plasmática de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> en bovinos fueron de 81.4% y de 99.3% respectivamente, mientras que en ovinos fueron de 83.1% y de 97.5% respectivamente. La cantidad de analito recuperado y el porcentaje de recuperación en cada punto de una recta de calibración de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> se presentan en las tablas II.2 y II.5. En las tablas II.3. y II.6. se presentan los valores promedio de recuperación plasmática (n = 3) y los coeficientes de variación (CV) expresados como porcentaje obtenidos antes de comenzar a analizar un grupo de muestras problema.

#### II.2.4.5. Precisión del método

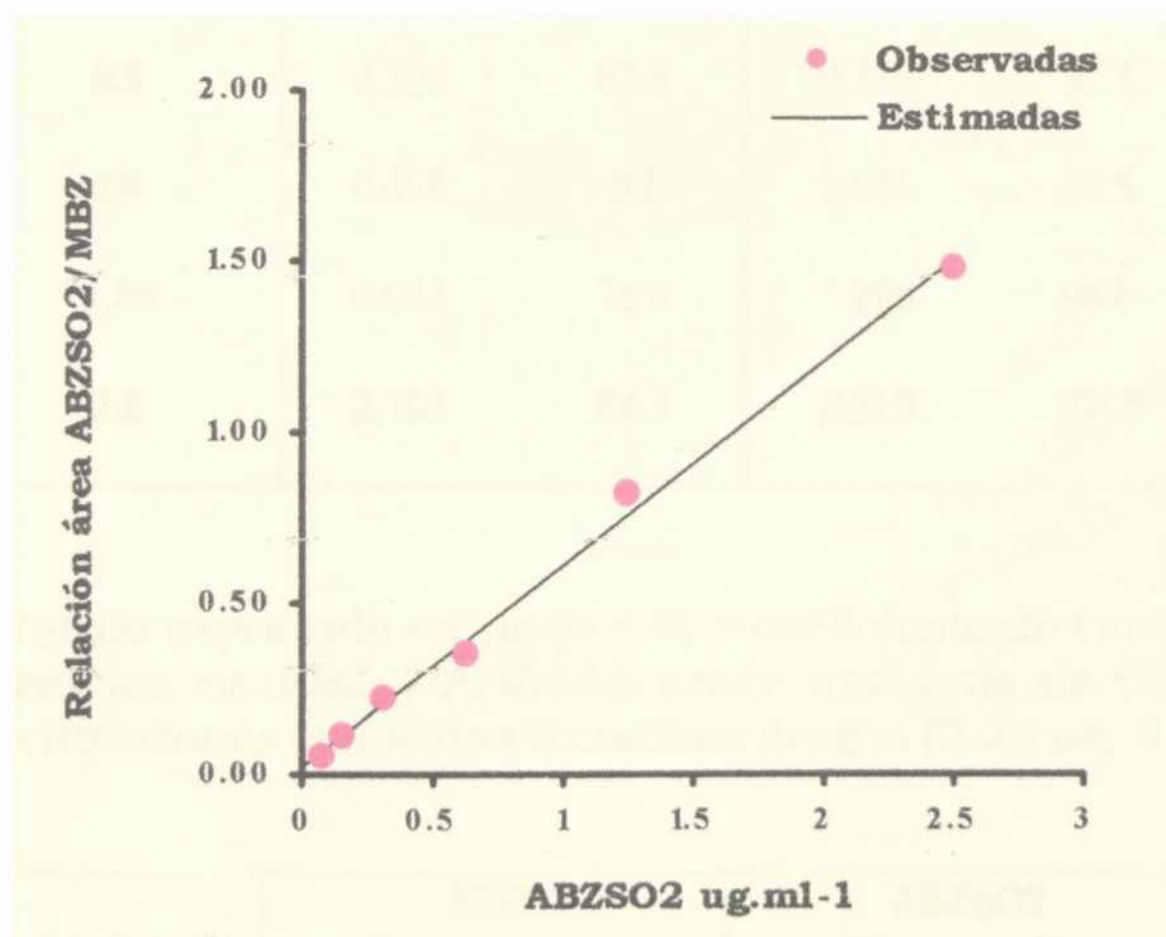
La precisión del método fue determinada para evaluar el grado de reproducibilidad de las condiciones instrumentales y de preparación de las muestras, la que está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones de una misma muestra sobre su valor promedio, el cual se corresponde con la varianza de la población y es estimada por la desviación estándar (DE). Para comparar la dispersión de dos series de mediciones se utiliza la desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV) que se expresa como porcentaje.

$$\text{CV} = \frac{\text{DE}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

donde  $\bar{X}$  es el valor medio de una serie de mediciones ( $\bar{X} = \sum X_i/n$ ) y el estimador de la media poblacional ( $\mu$ ). La evaluación de la precisión se realizó mediante la estimación de los CV con respecto de la media de las áreas de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> obtenidas en una serie de análisis de soluciones metanólicas de los estándares puros y de recuperaciones realizadas



**Figura II.4.** Recta de calibración para RBZ construida en plasma bovino. El estudio de regresión se realizó entre los valores obtenidos de la relación de área analito/estándar interno (MBZ) resultantes de concentraciones conocidas de RBZ en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .



**Figura II.5.** Recta de calibración para ABZSO2 construida en plasma bovino. El estudio de regresión se realizó entre los valores obtenidos de la relación de área analito/estándar interno (MBZ) resultantes de concentraciones conocidas de RBZ en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

**Tabla II.1.** Puntos de intersección, pendientes y coeficientes de correlación (r) de rectas de calibración de RBZ y de ABZSO2 construidas a partir de la recuperación de los analitos desde plasma bovino con concentraciones en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

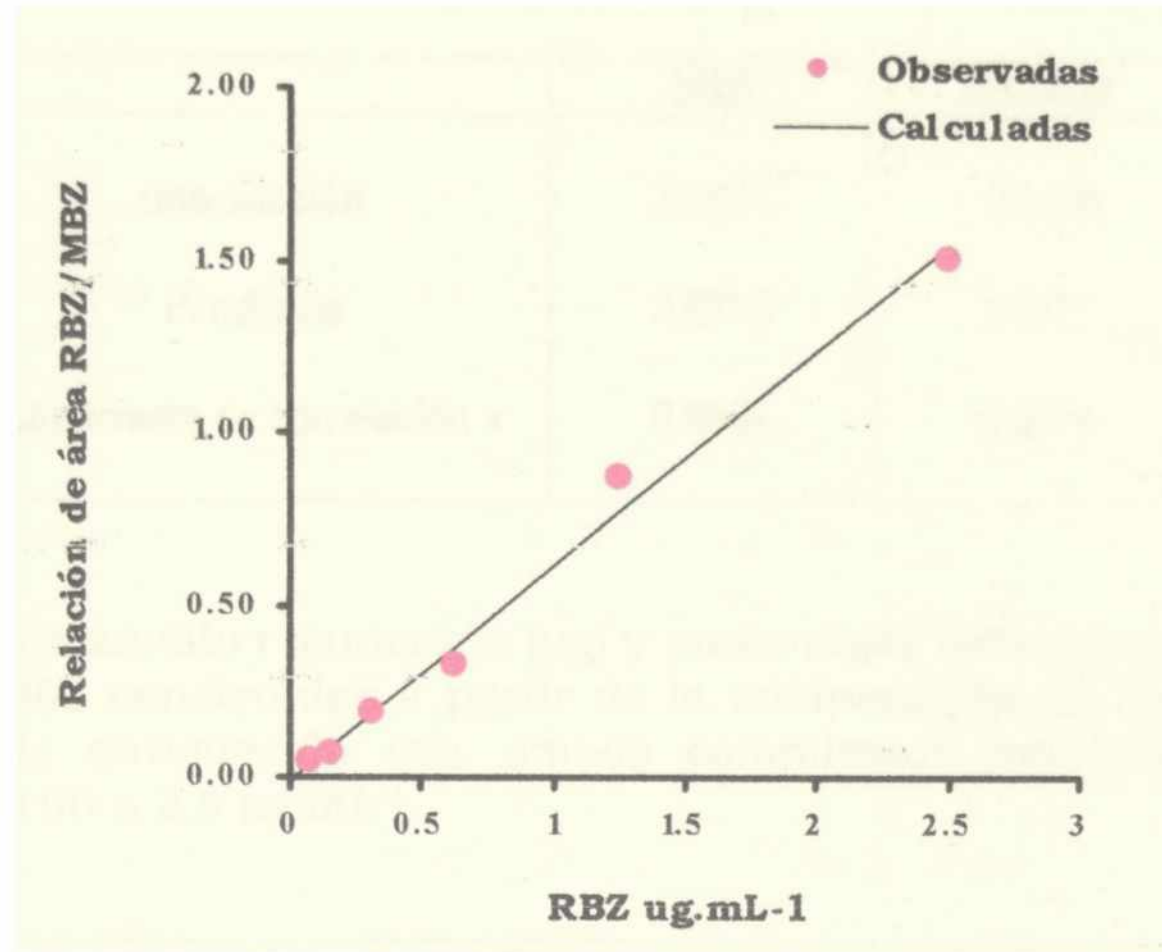
	RBZ	ABZSO2
<b>Intersección</b>	0.0114	0.0195
<b>Pendiente</b>	0.6195	0.5944
<b>Coefficiente de correlación r</b>	0.9982	0.9980

**Tabla II.2.** Cantidad de analito recuperado ( $\mu\text{g}$ ) y porcentajes de recuperación (%) obtenidos en rectas de calibración construidas a partir de la recuperación de RBZ y ABZSO2 desde plasma bovino (1 mL) enriquecido con ambos compuestos presentando un rango de concentraciones de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

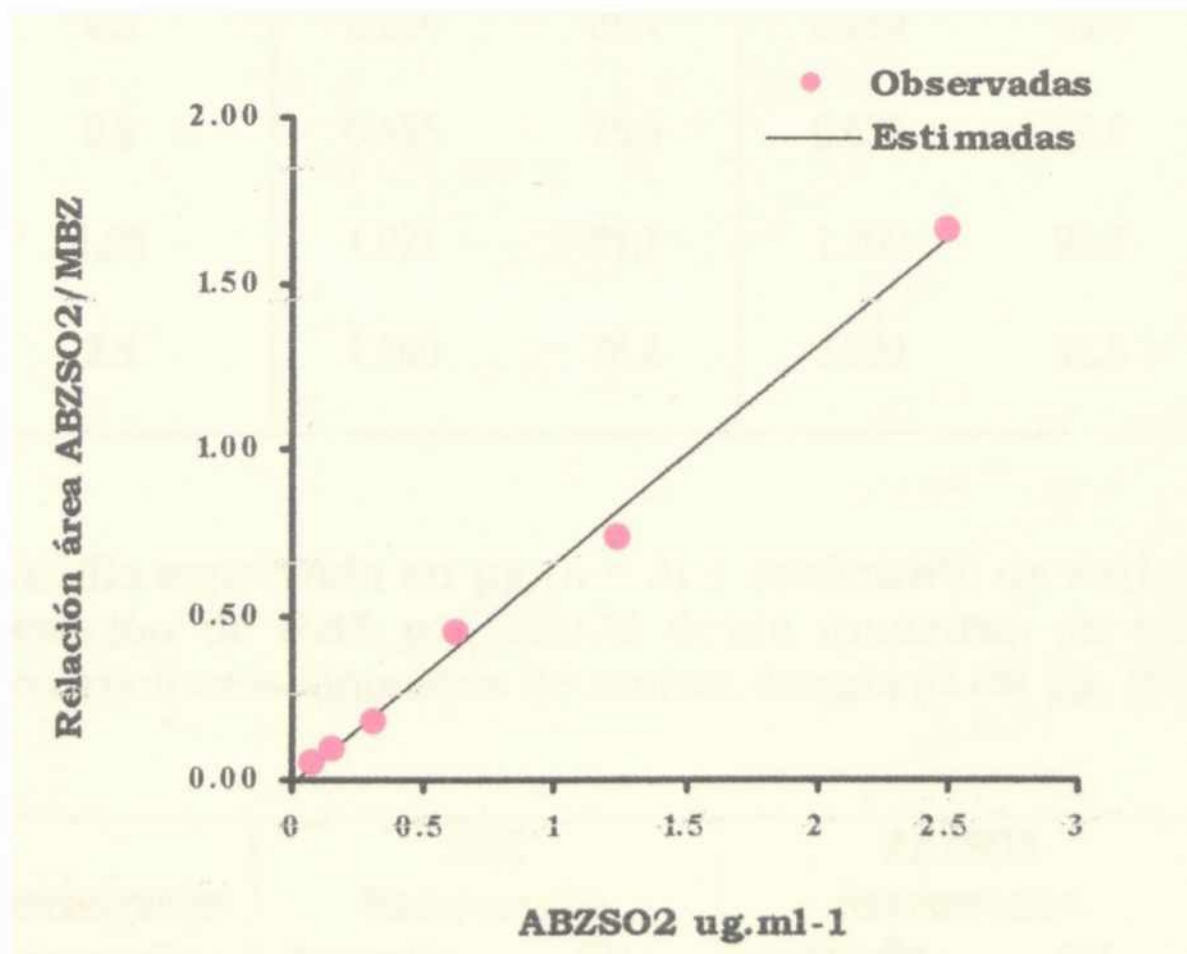
<b>Concentración</b> $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	<b>RBZ</b>		<b>ABZSO2</b>	
	<b>Recuperación</b> $\mu\text{g}$	<b>%</b>	<b>Recuperación</b> $\mu\text{g}$	<b>%</b>
<b>0.08</b>	0.079	98.8	0.081	101.2
<b>0.15</b>	0.125	83.5	0.146	97.4
<b>0.3</b>	0.203	67.5	0.293	97.7
<b>0.6</b>	0.498	83	0.585	97.5
<b>1.25</b>	0.944	75.5	1.208	96.6
<b>2.5</b>	2.108	84.3	2.615	104.6

**Tabla II.3.** Valor promedio expresado en  $\mu\text{g}$  ( $n = 3$ ) y coeficiente de variación (CV) obtenidos a partir de la recuperación de RBZ y ABZSO2 desde muestras de plasma bovino (1 mL) enriquecido con concentraciones conocidas de ambas drogas (0.08  $\mu\text{g}$ , 0.3  $\mu\text{g}$  y 2.5  $\mu\text{g}$ ).

<b>Concentración</b> <b>agregada</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>RBZ</b>		<b>ABZSO2</b>	
	<b>Recuperación</b> <b>promedio</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>CV</b> <b>%</b>	<b>Recuperación</b> <b>promedio</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>CV</b> <b>%</b>
<b>0.08</b>	0.075	8.7	0.076	12.5
<b>0.3</b>	0.27	7.4	0.29	5.2
<b>2.5</b>	2.04	4.2	2.44	4.7



**Figura II.6.** Recta de calibración para RBZ construida en plasma ovino. El estudio de regresión se realizó entre los valores obtenidos de la relación de área analito/estándar interno (MBZ) resultantes de concentraciones conocidas de RBZ en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .



**Figura II.7.** Recta de calibración para ABZSO2 construida en plasma ovino. El estudio de regresión se realizó entre los valores obtenidos de la relación de área analito/estándar interno (MBZ) resultantes de concentraciones conocidas de RBZ en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

**Tabla II.4.** Puntos de intersección, pendientes y coeficientes de correlación (r) de rectas de calibración de RBZ y de ABZSO2 construidas a partir de la recuperación de los analitos desde plasma ovino con concentraciones en un rango de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

	RBZ	ABZSO2
<b>Intersección</b>	-0.0071	-0.0150
<b>Pendiente</b>	0.6213	0.6601
<b>Coefficiente de correlación r</b>	0.9954	0.9975

**Tabla II.5.** Cantidad de analito recuperado ( $\mu\text{g}$ ) y porcentajes de recuperación (%) obtenidos en rectas de calibración construidas a partir de la recuperación de RBZ y ABZSO2 desde plasma ovino (1 mL) enriquecido con ambos compuestos presentando un rango de concentraciones de 0.08 a 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

<b>Concentración</b> $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	<b>RBZ</b>		<b>ABZSO2</b>	
	<b>Recuperación</b> $\mu\text{g}$	<b>%</b>	<b>Recuperación</b> $\mu\text{g}$	<b>%</b>
0.08	0.077	95.8	0.088	109.8
0.15	0.118	78.7	0.145	96.4
0.3	0.264	88.1	0.269	89.6
0.6	0.455	75.9	0.539	89.9
1.25	1.021	81.7	1.209	96.7
2.5	1.960	78.4	2.320	92.8

**Tabla II.6.** Valor promedio expresado en  $\mu\text{g}$  ( $n = 3$ ) y coeficiente de variación (CV) obtenidos a partir de la recuperación de RBZ y ABZSO2 desde muestras de plasma ovino (1 mL) enriquecido con concentraciones conocidas de ambas drogas (0.08  $\mu\text{g}$ , 0.3  $\mu\text{g}$  y 2.5  $\mu\text{g}$ ).

<b>Concentración</b> <b>agregada</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>RBZ</b>		<b>ABZSO2</b>	
	<b>Recuperación</b> <b>promedio</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>CV</b> <b>%</b>	<b>Recuperación</b> <b>promedio</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>CV</b> <b>%</b>
0.08	0.078	8.5	0.078	5.2
0.3	0.28	3.5	0.29	6.9
2.5	2.42	2.8	2.48	4.4

desde plasma blanco enriquecido con concentraciones conocidas de los analitos. Los análisis de cada muestra (solución estándar y recuperación plasmática) fueron realizados seis veces por día y durante tres días distintos. Un CV con un valor menor a 10 fue considerado aceptable.

#### II.2.4.6. Sensibilidad del método

El mismo se estableció determinando los límites de detección y cuantificación de los analitos. En el primer caso el límite de detección se halló por integración del ruido de la línea de base a los tiempos de retención de cada analito durante el análisis de muestras de plasma blanco de bovino y ovino durante días diferentes. A los valores promedios hallados se les sumó tres desviaciones estándar. En el caso de los límites de cuantificación se consideró la mínima cantidad de analito capaz de ser recuperada y cuantificada razonablemente y se obtuvo por multiplicar el desvío estándar del ruido la línea de base de muestras blanco por 10, siendo los límites de cuantificación para el RBZ de  $0.07 \mu\text{g.mL}^{-1}$  y para ABZSO<sub>2</sub> de  $0.08 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

## II.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

*En este apartado se describe de manera general la metodología utilizado para el análisis farmacocinético. Los casos particulares serán desarrollados de manera exhaustiva en los capítulos correspondientes a cada experimento.*

### II.3.1. Administración intravenosa

Las curvas de concentración plasmática vs. tiempo de RBZ luego de su administración i.v. se construyeron a partir de las concentraciones medidas en plasma. El estudio farmacocinético se realizó mediante el análisis compartimental, a partir de los perfiles de concentración plasmática vs. tiempo de RBZ obtenidos luego de su administración por la vía i.v. El análisis se realizó mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados mediante el paquete informático Scientist™, MicroMath, Software, Salt Lake City, UT.

En primer lugar se realizó el ajuste de los perfiles plasmáticos intravenosos mediante modelos exponenciales y los coeficientes y exponentes fueron calculados directamente a partir de las concentraciones medidas en plasma sin linearización. La ponderación de los valores de las concentraciones plasmáticas ( $x$ ) se calcularon mediante las siguientes expresiones:  $1$ ,  $1/\sqrt{x}$ ,  $1/x$ ,  $1/x^2$ .

La gráfica de la dispersión de las residuales obtenida con cada esquema de ponderación fue inspeccionada visualmente. El menor valor de la sumatoria de la cuadrática de las residuales y la distribución uniforme y al azar de las mismas con respecto al eje de las abscisas fueron los criterios considerados para la selección del mejor esquema de ponderación. El modelo exponencial que mejor representó las curvas de concentración plasmática vs. tiempo tras la administración i.v. de RBZ se seleccionó mediante la utilización del test de MAICE (Minimum Akaike Information Criterion Estimation).<sup>(111)</sup>

Asumiendo un comportamiento farmacocinético lineal, el número de términos exponenciales discriminado por el test de MAICE fue considerado como indicativo del menor número de compartimentos necesario para describir y explicar el comportamiento farmacocinético del RBZ en las especies en estudio.

Mediante análisis compartimental realizado por regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados se estimaron los parámetros farmacocinéticos primarios y a partir de estos el resto de los parámetros farmacocinéticos se calcularon según la metodología descrita por Gibaldi y Perrier.<sup>(38)</sup>

### **II.3.2. Administración extravascular**

El análisis farmacocinético de los perfiles de concentración plasmática del RBZ obtenidos tras su administración extravascular (e.v.) se realizaron mediante el método compartimental. Asumiendo una farmacocinética lineal, el análisis se realizó considerando el número de compartimentos discriminado en los análisis de los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración i.v. En ese caso se discriminaron el orden de los procesos de absorción y se estimó la velocidad de los mismos. En el caso del ABZSO<sub>2</sub>, los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración de RBZ por vía i.v. y e.v. fueron analizados mediante el método no compartimental según la metodología descrita por Gibaldi y Perrier.<sup>(38)</sup>

## **II.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para la realización del análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa MICROSTAT (1978-85 by Ecosoft, Inc.). Los valores de las variables farmacocinéticas hallados en cada una de las experiencias realizadas fueron promediados y expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar. Sobre la base de estos resultados se aplicó el análisis paramétrico de t de Student, de la Varianza o no paramétrico de (Kruskal Wallis). El límite de significancia fue establecido en 0.05.

# **CAPÍTULO III**

---

## **Principios fundamentales del análisis farmacocinético compartimental y no compartimental**



*En este capítulo se presentan los principios fundamentales del análisis farmacocinético compartimental y no compartimental. La metodología de cálculo y la interpretación de los diferentes parámetros farmacocinéticos como asimismo los modelos corrientemente usados son desarrollados y explicados. Para la redacción de este capítulo se consultó la siguiente bibliografía: 1, 9, 16, 17, 23, 30, 31, 38, 39, 49, 50, 51, 54, 72, 74, 75, 84, 86, 94, 106, 107.*

## **III.1. FARMACOCINÉTICA**

### **III.1.1. Concepto**

Definir y lograr un concepto claro de una ciencia surge como una lógica necesidad, sin embargo definir hoy en día una disciplina es sin lugar a dudas una ardua empresa sobre todo si el fin que se persigue es proporcionar una idea clara acerca de la misma.

La farmacocinética es una ciencia joven. El término como tal fue empleado por primera vez en el año 1953 por Dost.<sup>(29)</sup> Intentar una definición de farmacocinética es desde ya una no menos difícil tarea si consideramos la diversidad de disciplinas en las que se aplican sus conceptos. Quizás la mejor definición que describe el alcance del término “farmacocinética” la hallemos en el prefacio que en el año 1975 Gibaldi & Perrier<sup>(37)</sup> proponen en la primera edición del ya clásico texto “Pharmacokinetics”:

“La farmacocinética es el estudio de las variaciones en las concentraciones de las drogas y sus metabolitos en función del tiempo en los diferentes fluidos, tejidos y excretas del organismo, y de las relaciones matemáticas necesarias para desarrollar modelos que permitan interpretar tales datos”.

Los logros de la farmacocinética son tan diversos como las disciplinas que han llegado a beneficiarse aplicando sus principios. Estas disciplinas incluyen las ciencias clínicas, particularmente la farmacología clínica, el metabolismo de drogas, la farmacología, la estadística y la toxicología entre otras. Para algunos el gran logro de la farmacocinética es el descubrimiento de las relaciones entre la respuesta farmacológica y la toxicidad de los niveles de droga y/o sus metabolitos en los líquidos corporales. Para otros en cambio, el estudio de las cinéticas de absorción, distribución, metabolismo y/o excreción son los pilares indiscutibles en los que hay que basarse para mejorar la comprensión de los mecanismos básicos involucrados en dichos procesos. Y para otros tantos, la farmacocinética ofrece una herramienta indiscutible y eficaz para lograr mejorar y optimizar el manejo terapéutico de los pacientes en forma individual.

En ese sentido, el desarrollo de modelos y su ulterior interpretación nos permiten conocer y caracterizar la disposición de un medicamento en un organismo. Los mismos también pueden ser usados para predecir el comportamiento farmacocinético del mencionado medicamento en futuros ensayos.

### **III.1.2. Modelos compartimentales**

Teniendo en cuenta los conceptos desarrollados anteriormente, consideramos que los procesos involucrados en el destino de un medicamento en el organismo son los de absorción, distribución, biotransformación y eliminación. De manera que el comportamiento farmacocinético de un medicamento no puede ser comprendido a menos que estos procesos sean cuantificados. En otras palabras, es necesario conocer la velocidad y la magnitud de cada uno de ellos, y todas las metodologías matemáticas utilizadas para la realización de los análisis farmacocinéticos se basan en la estimación de las velocidades con que se llevan a cabo todos estos procesos.

El paradigma más importante del análisis farmacocinético es el análisis compartimental. Se considera como compartimiento a un volumen teórico en donde el fármaco una vez ingresado se distribuye en forma instantánea y su concentración llega a ser homogénea en cualquier punto del mismo. En este tipo de análisis se considera que el organismo está formado por un número variable de compartimientos, siendo cada uno de estos integrado por varias regiones no específicas del organismo (órganos y/o tejidos), en donde las concentraciones a un tiempo dado son similares y las velocidades de desaparición del medicamento desde los mismos presentan un mismo orden.

Cabe considerarse que el concepto de compartimiento constituye una visión extremadamente simplificada de la realidad y que de hecho un compartimiento no tiene una base anatómica definida, sino que por el contrario son entidades teóricas que dan lugar a la formulación de modelos matemáticos que permiten explicar el movimiento del medicamento dentro del organismo. En este capítulo describiremos en forma breve los modelos compartimentales clásicos y los diversos parámetros farmacocinéticos utilizados para explicar los procesos farmacocinéticos lineares.

### **III.1.3. El lenguaje de la farmacocinética**

Tal como fuera explicado anteriormente, el estudio de la farmacocinética de un medicamento se origina a partir de la estimación de las velocidades con que sus moléculas se absorben, distribuyen y eliminan, y el lenguaje matemático utilizado para la estimación de las mismas es el del cálculo diferencial.

En farmacocinética, la velocidad de un proceso se define como la variación de masa por unidad de tiempo, lo cual es sinónimo del flujo de medicamento a través del organismo, y se expresa de la siguiente manera:

$$\frac{\Delta X}{\Delta t} \quad \text{Eq.1}$$

donde la variación se expresa con la letra griega delta ( $\Delta$ ),  $X$  es la masa del medicamento (mg,  $\mu\text{g}$ , etc.) y  $t$  es el tiempo. Debe tenerse en cuenta que  $X$  se refiere a la cantidad de medicamento presente a un tiempo dado y que el término no debe ser confundido con concentración. La velocidad así definida tiene dos componentes; una es la constante que se refiere a la velocidad del proceso y la otra es la cantidad de medicamento disponible para ser eliminada o transferida.

$$\frac{\Delta X}{\Delta t} = -KX^n \quad \text{Eq.2}$$

donde  $-K$  es la constante de velocidad del proceso. Como se trata de un proceso de desaparición o pérdida de medicamento ya sea desde el organismo o desde el sitio de absorción esta constante se expresa con valor negativo,  $X$  es la cantidad de medicamento disponible para ser transferido o eliminado a un tiempo dado y  $n$  es el orden del proceso.

#### III.1.4. Procesos de orden uno o también llamados de primer orden

En estos procesos  $n = 1$ , de manera que  $X^1 = X$ , lo que simplifica la ecuación anterior que queda reducida a la siguiente expresión:

$$\frac{\Delta X}{\Delta t} = -KX \quad \text{Eq.3}$$

Por definición en un proceso de orden uno  $-K$  es una constante, pero la velocidad real del proceso varía en forma proporcional al valor de  $X$ , de allí el concepto de cinética lineal. De esta manera  $-K$  puede ser vista como la fracción de  $X$  que por unidad de tiempo se transfiere dentro del sistema desde un sitio a otro, por lo que es una constante de velocidad fraccional masa independiente y que se expresa en unidades de tiempo recíproco ( $\text{min}^{-1}$ ,  $\text{h}^{-1}$  etc.).

#### III.1.5. Procesos de orden cero

En estos procesos  $n = 0$ , de manera que  $X^0 = 1$ , por lo que la ecuación de velocidad se simplifica a la siguiente expresión:

$$\frac{\Delta X}{\Delta t} = -K_0 \quad \text{Eq.4}$$

Esto significa que  $K_0$  ya no es una constante de velocidad fraccionaria sino que es la velocidad real del proceso que es fija y que se expresa como masa sobre unidad de tiempo ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , etc.). En resumen se trata de un proceso cuya velocidad no varía en función del valor de  $X$ , o sea que es independiente de la masa presente a un tiempo dado, de allí el concepto de proceso no lineal.

### III.1.6. Frecuencia de los procesos de orden uno y de orden cero

Los procesos de orden cero hacen referencia a la saturación de los procesos de eliminación y/o transferencia, y la mayoría de los medicamentos son eliminados mediante sistemas de transporte activo y/o son biotransformados por procesos enzimáticos los cuales involucran gasto de energía.

Por definición estos sistemas presentan capacidad limitada y cuando la cantidad de moléculas de un medicamento excede la capacidad de estos se produce la saturación de los mencionados procesos y la velocidad a la que se llevan a cabo pasa a estar determinada por su máxima capacidad. En el caso de un proceso de transporte activo o un sistema enzimático saturado, la cantidad de moléculas transferidas o eliminadas por unidad de tiempo pasa a ser constante e independiente de la cantidad de moléculas disponible en ese momento dando lugar a un proceso de orden cero.

Sin embargo la farmacocinética de la mayoría de los medicamentos puede ser explicada mediante procesos de orden uno, y ello se debe a que a las dosis terapéuticas aquellos no alcanzan concentraciones capaces de saturar los sistemas involucrados en su disposición. Por otra parte, los procesos de orden cero se dan con relativa frecuencia en los fenómenos de absorción por el ingreso de una cantidad constante de medicamento al organismo. Este fenómeno es determinado ya sea por el uso de formas farmacéuticas de liberación prolongada de administración preferentemente enteral o por el uso de formulaciones de depósito de administración preferentemente parenteral, las cuales dan lugar a la liberación sostenida del fármaco desde su sitio de absorción y/o administración.

### III.1.7. Velocidad instantánea y derivada

El uso de la ecuación 1 para describir la velocidad de un proceso es muy general e incierta, por ello se debe utilizar el concepto de derivada. Las ecuaciones diferenciales expresan la velocidad de un proceso como la variación de masa sobre una cantidad de tiempo infinitesimal cuyo valor tiende a cero ( $t \rightarrow 0$ ) expresándose de este modo:

$$\frac{dX}{dt} = -KX \quad \text{Eq.5}$$

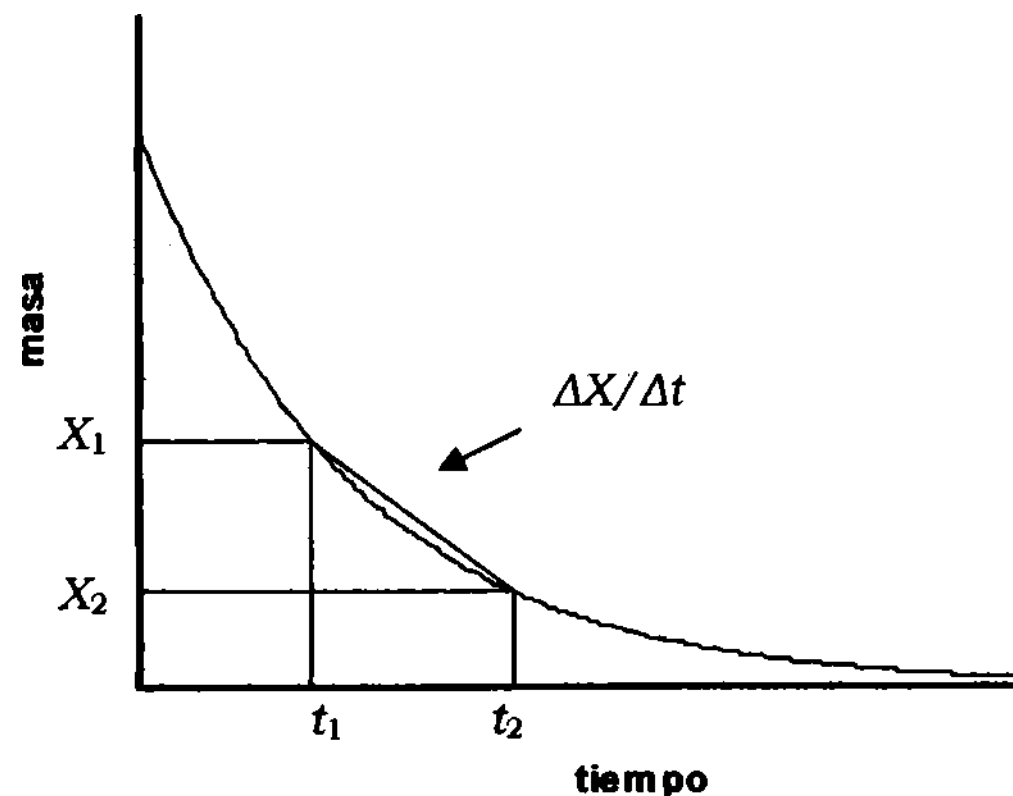
donde  $dX$  es la derivada o diferencial de la cantidad de medicamento y  $dt$  es la derivada o diferencial del tiempo. De esta manera a partir de las curvas de concentraciones experimentales vs. tiempo pueden ser estimadas las velocidades instantáneas del proceso. Por convención si las cantidades de un medicamento se incrementan, la derivada tiene un signo positivo, por el contrario si la cantidad disminuye, la velocidad instantánea expresada tiene signo negativo.

### III.1.8. Representación grafica

Si realizamos una grafica de coordenadas cartesianas en donde se representa a  $X$  en el eje de las ordenadas ( $y$ ) y a  $t$  en el eje de las abscisas ( $x$ ), entonces  $\Delta X/\Delta t$  es la pendiente de una línea recta delimitada entre dos puntos tal como puede apreciarse en la figura III.1. Este tipo de pendiente puede ser fácilmente calculada usando elementos sencillos de geometría analítica, ya que la recta resultante puede ser explicada por medio de la conocida ecuación de primer grado también conocida como ecuación de la recta, cuya expresión es la siguiente:

$$y = b + a x \quad \text{Eq.6}$$

donde  $a$  es la pendiente calculada a partir de  $\Delta X/\Delta t$ ,  $x$  es el tiempo y  $b$  es el punto de intersección con el eje de las ordenadas.



**Figura III.1.** Gráfica aritmética de la variación de  $X$  en función del tiempo. En la misma la pendiente entre dos puntos determinados  $\Delta X/\Delta t$ , puede calcularse de manera sencilla, siendo dicha pendiente igual a  $(X_1 - X_2)/(t_2 - t_1)$

En este sentido, la derivada  $dX/dt$  es en esencia una pendiente de cualquier función considerando la tangente de la curva de concentraciones en un momento determinado. De esta manera, las ecuaciones diferenciales permiten calcular las infinitas velocidades que se suceden en función de las infinitas variaciones de tiempo.

Las ecuaciones diferenciales se pueden resolver por medio del proceso de integración, que se expresa por medio del símbolo  $\int$  que transforma las ecuaciones en términos de  $t$  en lugar de  $dt$ . La integración es un proceso por el cual se define un área bajo la curva ( $AUC$ ), ya que hace referencia a la sumatoria de las infinitas  $AUCs$  de las infinitas regiones definidas por  $dX/dt$ . En resumen, la definición de velocidad mediante el cálculo diferencial es análoga a calcular pendientes, mientras que el proceso inverso de integración produce parámetros que pueden ser estimados y expresados numéricamente como áreas.

### III.1.9. Resolución de las ecuaciones de velocidad

Si estudiamos un proceso de eliminación concreto, el valor  $X$  disminuirá en función del tiempo transcurrido, y si se quisiera saber la cantidad total de medicamento excretado usando la ecuación 2, se deberían sumar todas las cantidades eliminadas en cada intervalo de tiempo considerado, es decir durante cada  $\Delta t$ . Este procedimiento es relativamente sencillo ya que solo se requiere de un discreto número de muestras y la determinación del  $AUC$ .

El problema se presenta cuando se desea conocer la velocidad de desaparición del medicamento es decir  $\Delta X/\Delta t$ . Tal como puede ser apreciado en la figura III.1., la desaparición de un medicamento da como resultado una curva, y por lo tanto deberían ser múltiples las muestras a tomar a intervalos muy pequeños para poder llegar a determinar el valor de  $-K$ . Por el contrario, la solución llega a ser fácil si  $-K$  es calculada con la ecuación 5 y resolviendo el problema usando la técnica de la integración. Nosotros podemos integrar la ecuación 5 a partir del valor de  $X$  a tiempo cero ( $X_{(0)}$ ) a través de  $X$  a un tiempo dado ( $X_{(t)}$ ) y obtener la fórmula de transferencia de masa de medicamento para un momento determinado.

$$X_{(t)} = \int_0^t (dX / dt) dt = \int_0^t (-K X) dt \quad \text{Eq.7}$$

Existen numerosas técnicas para resolver esta ecuación, pero la más conocida es el uso de la transformada de Laplace, lo que resulta en la siguiente expresión:

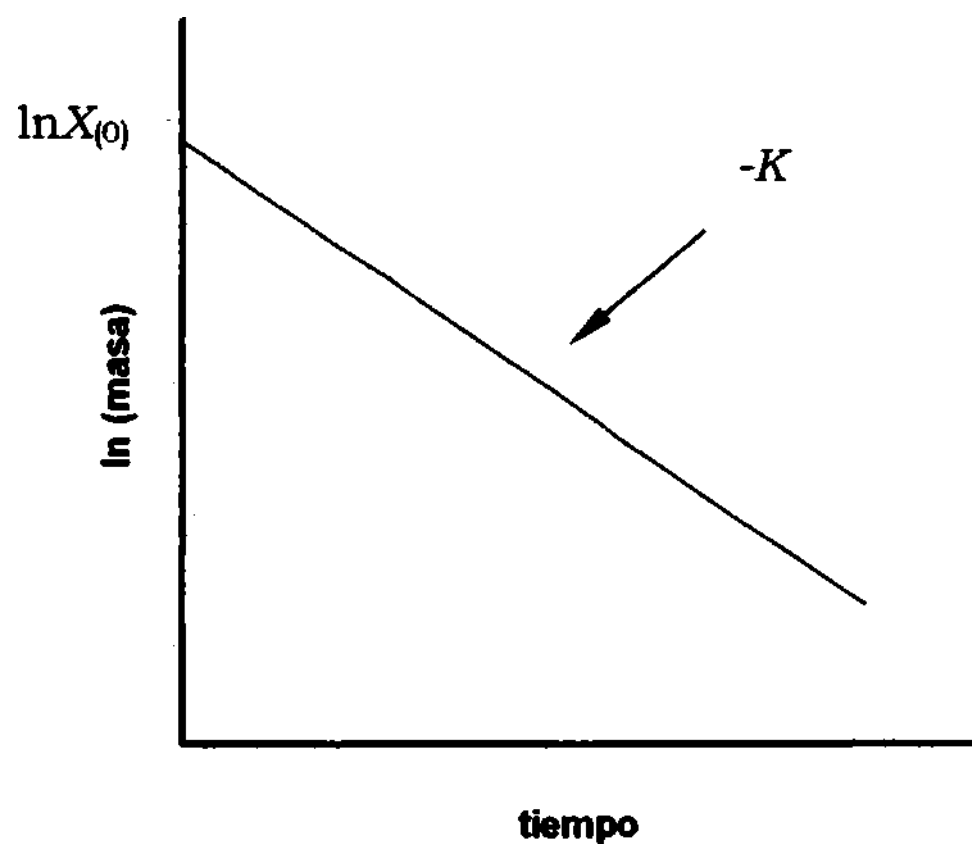
$$X_{(t)} = X_{(0)} e^{-K t} \quad \text{Eq.8}$$

donde  $e$  es la base de los logaritmos naturales ( $\ln$ ), siendo igual a 2.713. Es importante considerar que el proceso de integración de las ecuaciones diferenciales para describir velocidades genera el término exponencial encontrado en todos los modelos farmacocinéticos lineales. En realidad, todo método de análisis farmacocinético que use funciones exponenciales para describir los datos experimentales asume implícitamente que un proceso lineal está siendo operativo.

Los términos exponenciales pueden ser eliminados de la ecuación tomando su  $\ln$ , ya que un logaritmo es definido como la potencia a la cual la base es elevada. En ese caso tomando los  $\ln$  de la ecuación 8 tenemos la siguiente expresión:

$$\ln X_{(t)} = X_{(0)} - K_{(t)} \quad \text{Eq.9}$$

Si se realiza un gráfico como el III.1., pero esta vez en lugar de tomar los valores de  $X$  se toman sus  $\ln$  ( $\ln X$ ), el gráfico resulta en una línea recta tal como puede apreciarse en la figura III.2.



**Figura III. 2.** Gráfica semilogarítmica de la variación de  $X$  en función del tiempo en la que la pendiente  $-K$  puede ser calculada por medio de la ecuación de la recta  $y = b + a x$ , siendo  $a$  la pendiente de la recta  $-K$ ,  $x$  es el tiempo y  $b$  el punto de intersección en el eje de las ordenadas o  $\ln X_{(0)}$ .

Este tipo de gráfica es llamada semilogarítmica, ya que se grafica el logaritmo de la masa en función del tiempo. Nuevamente la relación entre  $\ln X$  y  $t$  puede ser explicada por medio de la ecuación de la recta  $y = b + a x$ , en donde  $a$  es la pendiente de la recta o  $-K$ ,  $x$  es el tiempo y  $b$  es el punto de intersección en el eje de las ordenadas que es igual al logaritmo natural de la cantidad presente en el sistema a tiempo cero o  $\ln X_{(0)}$ . Los valores de  $-K$  y  $\ln X_{(0)}$  pueden ser calculados por medio de un análisis de regresión lineal simple.

Si en una gráfica semilogarítmica puede observarse una línea recta, puede aceptarse que un proceso lineal de orden uno es operativo, y que la pendiente de la línea es el exponente de una función exponencial.

### III.1.10. Concepto de semivida

En farmacocinética, la semivida de eliminación o  $t_{1/2\text{el}}$  es definida como el tiempo necesario para que la cantidad de un medicamento presente en el organismo disminuya a su mitad o sea a su 50%.

Nuevamente es importante aclarar que el concepto de semivida es aplicable solo a los procesos de orden uno y a partir de la ecuación 9 podemos deducir las ecuaciones para el cálculo de  $t_{1/2\text{el}}$ , considerando que  $X_{(t)}$  es igual a la mitad de la cantidad inicial  $X_{(0)}$ .

$$t = (\ln X_{(0)} - \ln X_{(t)}) / K \quad \text{Eq.10}$$

$$t_{1/2} = (\ln X_{(0)} - \frac{1}{2} \ln X_{(t)}) / K \quad \text{Eq.11}$$

$$t_{1/2} = \ln(X_{(0)} / \frac{1}{2} X_{(t)}) / K \quad \text{Eq.12}$$

$$t_{1/2} = \ln 2 / K \quad \text{Eq.13}$$

$$t_{1/2} = 0.693 / K \quad \text{Eq.14}$$

El significado biológico de la semivida es que es un parámetro que permite estimar el momento en el que un medicamento ha sido eliminado casi en su totalidad. Se puede considerar que el 99% de la cantidad administrada de un medicamento ha sido eliminada luego de haber transcurrido un período equivalente a 10  $t_{1/2\text{el}}$  desde su administración. En este sentido muchos farmacocineticistas son mas benévolos y aceptan que luego de transcurridas 5  $t_{1/2\text{el}}$ , el medicamento a sido eliminado en su gran mayoría. En este caso el 97% de la eliminación se ha completado.

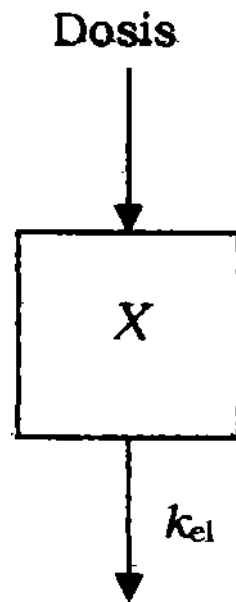
### III.1.11. Modelo de un compartimento

#### III.1.11.1. Concepto

Este modelo considera al organismo como un único compartimento, cuyo esquema se presenta en la figura III.3. El mismo asume que el ingreso del medicamento al único compartimento se produce en forma instantánea y que la cantidad administrada  $X$ , se distribuye en forma instantánea y homogénea dentro del mismo desde el cual es eliminado mediante un proceso de orden uno, cuya velocidad está definida por una constante de velocidad o  $k_{\text{el}}$ . Como el medicamento abandona el organismo, el modelo se denomina abierto.



El sistema de ecuaciones diferenciales que explican la velocidad del proceso de eliminación son las mismas que se presentan en la ecuación 5.



**Figura III.3.** Representación esquemática de un modelo de un compartimento o monocompartimental en donde la cantidad de medicamento administrado ( $X$ ) ingresa al organismo en forma instantánea tal como ocurriría durante una administración de un bolo intravenoso. El medicamento es eliminado desde el único compartimento mediante un proceso de orden uno, cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_{el}$ .

Este modelo es integrado matemáticamente en la ecuación 8, y la misma expresa la variación de la cantidad de medicamento remanente en el organismo en función del tiempo. Sin embargo, en la mayoría de los experimentos se miden concentraciones plasmáticas y para eso se necesita de uno de los llamados parámetros farmacocinéticos primarios; el volumen de distribución.

### III.1.11.2. Volumen de distribución

Considerando al organismo como un único compartimento, el volumen de distribución ( $V_d$ ) es el volumen teórico en el cual el medicamento se distribuye de manera instantánea y homogénea. El  $V_d$  es por definición el factor de proporcionalidad que relaciona la cantidad de medicamento presente a un tiempo dado  $X(t)$  con la concentración plasmática medida a dicho tiempo  $C_{p(t)}$ , tal como se presenta en la siguiente ecuación:

$$V_d = \frac{X(t)}{C_{p(t)}} \quad \text{Eq.15}$$

Si consideramos la cantidad de medicamento presente a tiempo cero  $X_{(0)}$ , esta es igual a la dosis ( $D$ ). En ese caso el  $V_d$  puede ser calculado por la relación de uno u otro término con la concentración medida a tiempo cero ( $C_{p(0)}$ ), tal como puede apreciarse en la ecuación 16.

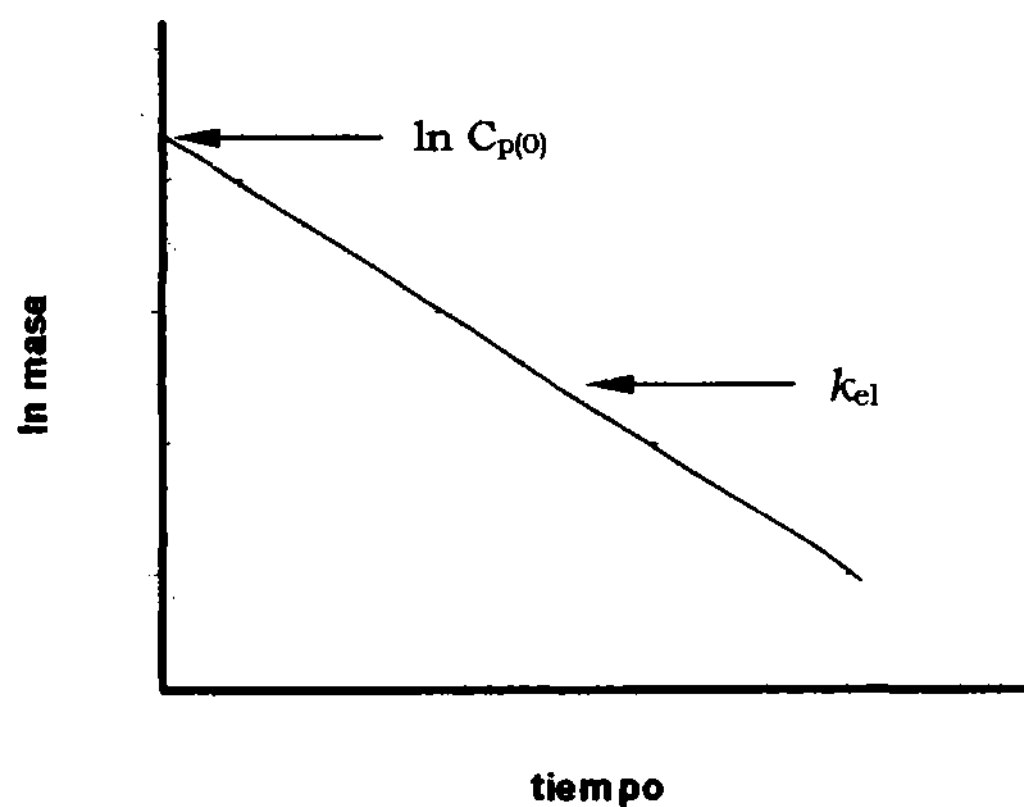
$$V_d = \frac{X_{(0)}}{C_{p(0)}} = \frac{D}{C_{p(0)}} \quad \text{Eq.16}$$

A partir de la relación anterior podemos volver a escribir la ecuación 8 en términos de concentración.

$$C_{p(t)} = \frac{X_{(0)}}{V_d} e^{-k_{el} t} = C_{p(0)} e^{-k_{el} t} \quad \text{Eq.17}$$

De esta manera, el  $V_d$  es determinado por la fisiología del organismo en cuestión, los coeficientes de difusión transmembrana y las propiedades físico químicas de la molécula administrada. En el caso de una molécula que permanezca dentro del espacio vascular, esta tendrá un  $V_d$  pequeño, mientras que una molécula que se distribuye en toda el agua corporal tendrá un  $V_d$  elevado. A partir de este simple análisis, un número de parámetros farmacocinéticos útiles pueden ser definidos; por ejemplo una vez que los valores de  $V_d$  y  $k_{el}$  han sido calculados,  $t_{1/2}$  puede calcularse fácilmente mediante la ecuación 14.

En la figura III.4. se presenta una gráfica semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo halladas luego de la administración de una dosis por vía intravenosa en forma de bolo.



**Figura III.4.** Gráfica semilogarítmica de un perfil de concentración plasmática vs. tiempo tipo para un modelo de un compartimento con administración intravascular con una pendiente representada por  $k_{el}$  y un punto de intersección en el eje de las ordenadas o  $\ln C_{p(0)}$ .

La disposición del medicamento en el organismo con respecto a las concentraciones plasmáticas obtenidas ha sido explicada mediante la ecuación 17.

### III.1.11.3. El concepto de clearance o aclaramiento

Por definición el clearance o aclaramiento sistémico ( $Cl_B$ ), es la cantidad de medicamento eliminada por unidad de tiempo dividida por la concentración plasmática de referencia:

$$Cl_B = \frac{dX/dt}{C_p} = \frac{\text{cantidad / unidad de tiempo}}{\text{concentración}} = \frac{\text{masa} \times T^{-1}}{\text{masa} \times V^{-1}} \quad \text{Eq.18}$$

Que en otras palabras puede ser expresado por a la ecuación 19:

$$Cl_B = \frac{X_{el}}{C_p} \quad \text{Eq.19}$$

donde  $X_{el}$  es la cantidad de medicamento eliminada y  $C_p$  es la concentración de referencia, lo que equivale a decir que es la velocidad de eliminación del medicamento es relativa a su concentración plasmática.

Mediante integración de la ecuación 18 desde tiempo cero a infinito ( $0 \rightarrow \infty$ ) obtenemos la siguiente expresión:

$$Cl_B = \frac{\int_0^{\infty} \frac{dX}{dt} dt}{\int_0^{\infty} C_p dt} = \frac{\text{Dosis}}{AUC_{0-\infty}} = \frac{\text{masa}}{\text{masa} \times \text{volumen} \times \text{tiempo}} \quad \text{Eq.20}$$

Lo que da lugar a uno de los métodos de cálculo. En otro sentido, el  $Cl_B$  puede interpretarse como la fracción del volumen de distribución que es clarificado o depurado de medicamento por unidad de tiempo. Considerando que  $V_d$  representa al volumen de distribución y  $k_{el}$  es la constante de velocidad fraccional del proceso de eliminación, el  $Cl_B$  puede ser calculado por la siguiente ecuación:

$$Cl_B = V_d k_{el} \quad \text{Eq.21}$$

La bidimensionalidad de este parámetro queda demostrada por la ecuación 22.

$$Cl_B \left( \frac{\text{volumen}}{\text{unidad de tiempo}} \right) = V_d (\text{volumen}) \times k_{el} (\text{tiempo}^{-1}) \quad \text{Eq.22}$$

Tal como puede apreciarse en las dos ecuaciones anteriores, el  $Cl_B$  es un parámetro de dos dimensiones que expresa un volumen clarificado por unidad de tiempo. Debe considerarse que el  $Cl_B$  es el único parámetro farmacocinético que mide la capacidad de eliminación de un organismo, lo cual no debe confundirse con velocidad de eliminación.

Existe otro método para la estimación del  $Cl_B$  y esta basado en el principio de balance de masa, lo cual puede ser explicado de la siguiente manera: Si un medicamento ingresa al

organismo a una velocidad constante con respecto al tiempo o sea mediante un proceso de orden cero ( $k_0$ ) y realizamos mediciones de las concentraciones plasmáticas a intervalos regulares, en un momento determinado las velocidades de ingreso y de eliminación se igualarán, dando lugar a que  $dX/dt = 0$ , y se habrá alcanzado la concentración plasmática en estado de equilibrio estacionario o  $C_{p(ss)}$ .

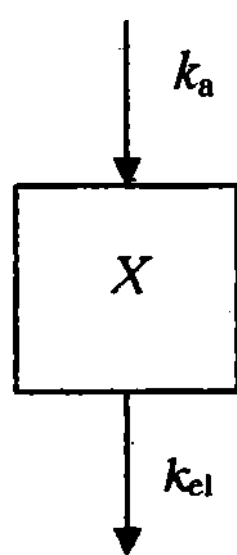
De manera que siendo la velocidad de ingreso  $k_0$  igual a la velocidad de salida ( $-k_{el} \cdot X$ ), a partir de la siguiente relación se obtiene el volumen clarificado por unidad de tiempo.

$$Cl_B \frac{k_0}{C_{p(ss)}} = \frac{\text{masa / tiempo}}{\text{masa / volumen}} = \frac{\text{volumen}}{\text{tiempo}} \quad \text{Eq.23}$$

El  $Cl_B$  calculado de esta manera es idéntico al obtenido por medio de las ecuaciones 20 y 21 y para su cálculo solo se necesita conocer el valor de  $k_0$  y de  $C_{p(ss)}$ , con lo que se demuestra que para su cálculo no se necesita del conocimiento de otros parámetros. Por lo tanto al igual que  $V_d$  y  $k_{el}$  se lo considera un parámetro farmacocinético primario.

#### III.1.11.4. La absorción en un modelo de un compartimento

La absorción es el proceso por el cual las moléculas de un medicamento ingresan a la circulación general. En el caso de un modelo de un compartimento, cuando el proceso de absorción es de primer orden, el mismo está gobernado por la constante  $k_a$  y una vez que este ha finalizado, la eliminación es descrita por la constante de eliminación  $k_{el}$ . Una representación esquemática de este modelo se presenta en la figura III.6.



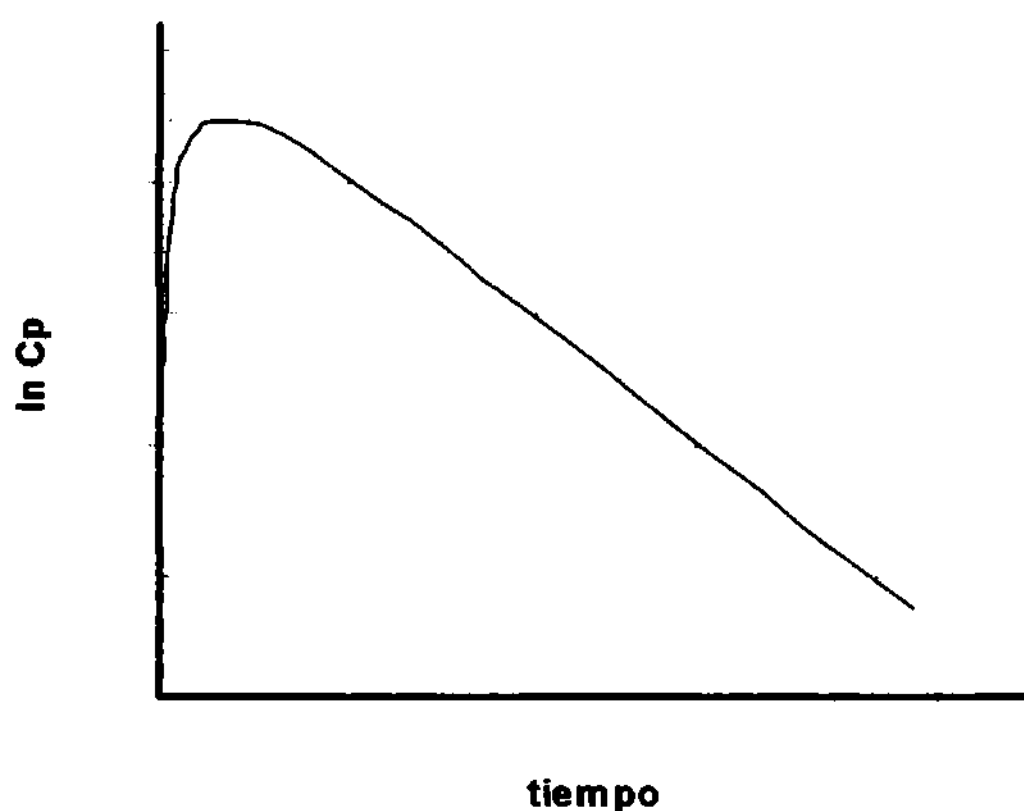
**Figura III.6.** Representación esquemática de un modelo de un compartimento o monocompartimental en donde la cantidad de medicamento administrado ( $X$ ) ingresa al organismo mediante un proceso de absorción de orden uno cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_a$ . El medicamento es eliminado desde el único compartimento mediante un proceso de orden uno, cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_{el}$ .

Este modelo puede describirse por medio de las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dX_a}{dt} = -k_a X_a \quad \text{Eq.24}$$

$$\frac{dX}{dt} = k_a X_a - k_{el} X \quad \text{Eq.25}$$

En donde  $X_a$  es la dosis administrada ( $D$ ) presente en el sitio de absorción,  $X$  es la cantidad de medicamento presente en el organismo a un instante dado y  $k_a$  y  $k_{el}$  son las constantes de absorción y eliminación de orden uno. En el caso de este modelo, el perfil de concentraciones plasmáticas resultantes es el siguiente:



**Figura III. 6.** Gráfica semilogarítmica de un perfil de concentración plasmática tipo para un modelo de un compartimento con administración extravascular con procesos de absorción y eliminación de orden uno.

La relación entre  $D$  y  $X$  es la biodisponibilidad sistemática ( $F$ ) que se expresa de la siguiente manera:

$$F = D / X \quad \text{Eq.26}$$

En los procesos farmacocinéticos lineales, el valor del  $AUC$  es proporcional a la cantidad de medicamento ingresado al organismo. De manera que el valor de  $F$  puede ser calculado considerando la relación entre el  $AUC$  obtenida luego de la administración extravascular y el  $AUC$  obtenida luego de la administración intravenosa según la siguiente ecuación:

$$F = \frac{AUC_{ev} D_{iv}}{AUC_{iv} D_{ev}} \quad \text{Eq.27}$$

En donde  $F$  es la fracción biodisponible,  $AUC_{ev}$  es el área bajo la curva obtenida luego de una administración extravascular,  $AUC_{iv}$  es el área bajo la curva obtenida luego de una administración intravenosa y  $D_{iv}$  y  $D_{ev}$  son las dosis administradas por vía intravenosa y extravascular respectivamente. Este método de cálculo está fundamentado porque el  $AUC$  obtenida luego de una administración intravenosa presenta el máximo valor capaz de ser obtenido, ya que la totalidad del medicamento administrado ha ingresado al torrente sanguíneo. Cuando las dosis administradas por vía i.v. y extravascular son idénticas, entonces la ecuación 27 se reduce a la siguiente expresión:

$$F = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \quad \text{Eq.28}$$

Mediante la integración de las ecuaciones 24 y 25 y convirtiendo las cantidades en concentraciones obtenemos la siguiente expresión que corresponde a la conocida ecuación de Bateman:

$$C_p = \frac{k_a F D}{V_d (k_a - k_{el})} (e^{-k_{el} t} - e^{-k_a t}) \quad \text{Eq.29}$$

### III.1.11.5. El método de las residuales aplicado al proceso de absorción de orden uno.

Observando la figura III.6. podemos deducir que durante la primera fase de la curva de concentración plasmática vs. tiempo están produciéndose en forma simultánea los procesos de absorción y eliminación. Esta característica hace que sea posible mediante un método matemático "disecar" la mencionada curva en sus dos componentes de velocidad es decir  $k_a$  y  $k_{el}$ .

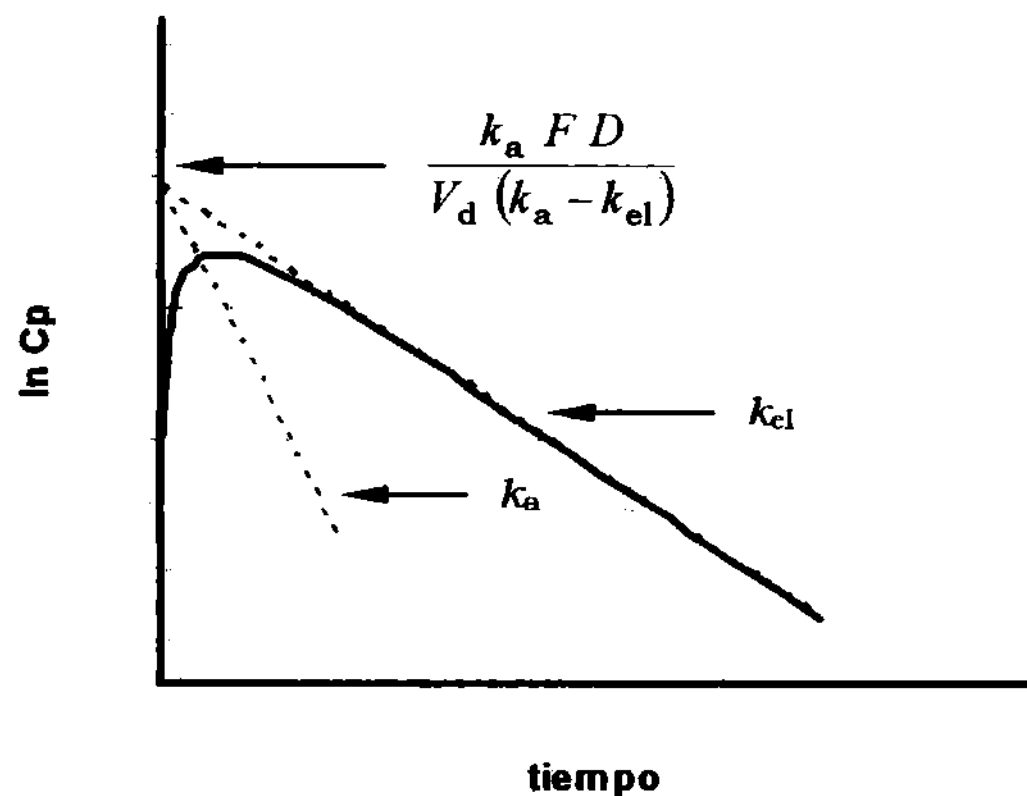
Considerando que  $k_a \gg k_{el}$ , debemos aceptar que a partir de un tiempo transcurrido el valor del componente exponencial de la fase de absorción  $e^{-k_a t}$  se aproximará a 0, mientras el componente exponencial de la fase de eliminación  $e^{-k_{el} t}$  tendrá todavía un valor. De manera que la ecuación 29 quedaría reducida a la ecuación 30:

$$C_p = \frac{k_a F D}{V_d (k_a - k_{el})} e^{-k_{el} t} \quad \text{Eq.30}$$

la que en definitiva es la descripción matemática de la fase terminal de la curva que si se extrapola hacia el eje de las ordenadas ( $y$ ) obtenemos el punto de intersección o coeficiente  $C_2$  de la fase de eliminación.

La sustracción de los valores de la fase de absorción de la curva de concentración plasmática a los valores estimados en la extrapolación de la fase terminal dan como resultado los valores que corresponden a la pendiente de la fase de absorción o también llamados valores residuales. A partir de estos y por medio de un análisis de regresión lineal simple se estiman  $k_a$  y el coeficiente  $C_1$ .

En el caso en que no existiese latencia entre el momento de la administración y el momento de la aparición del medicamento en sangre (*tlag* o *lag time*), los valores de  $C_1$  y  $C_2$  serán idénticos y se corresponderán al valor estimado mediante la expresión;  $k_a F D / (V_d (k_a - k_{el}))$ .



**Figura III.7.** Gráfica semilogarítmica de un perfil de concentración plasmática vs. tiempo tipo para un modelo de un compartimento con administración extravascular con procesos de absorción y eliminación de orden uno. Mediante el método de las residuales el perfil es descompuesto en sus dos pendientes  $k_a$  y  $k_{el}$ . En este ejemplo al no existir un periodo de latencia entre la administración y la aparición del medicamento en plasma (*tlag* o *lag time*), los valores de  $C_1$  y  $C_2$  serán idénticos y vendrán expresados por;  $k_a F D / (V_d (k_a - k_{el}))$ .

### III.1.11.6. Limitaciones del método de las residuales o stripping

No obstante lo expuesto, el método de las residuales o stripping presenta sus limitaciones como por ejemplo en el caso en que  $k_a$  y  $k_{el}$  presentan valores similares. Aquí el perfil de concentración plasmática cuyas concentraciones han sido transformadas a  $\ln$  no presentará ningún segmento que pueda ser linearizado. Para que el método de las residuales o stripping sea realmente confiable y por ende los valores de  $k_a$  y  $k_{el}$  hallados, debe cumplirse la siguiente relación:  $k_a/k_{el} = \geq 3$ . En el caso de que esto no sea posible, el cálculo de  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $k_a$  y  $k_{el}$  deberá ser realizado por regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados (NLWLSR) mediante la ayuda de paquetes informáticos.

La otra limitante del método de las residuales o stripping es que no puede ser estimado el valor de  $k_a$  cuando el proceso involucrado en el mismo es de un orden distinto de uno. En ese caso las residuales obtenidas no describen una recta sino una curva con la concavidad hacia abajo. Ese hallazgo pone de manifiesto que un proceso de orden distinto de uno está siendo operativo.

### III.1.11.7. El fenómeno de flip-flop

En el caso de que  $k_a$  fuera menor que  $k_{el}$ , el análisis del perfil de concentración plasmática vs. tiempo mediante el método de las residuales sería el mismo que el presentado en la figura III.7., solo que ahora  $k_a$  sería la velocidad limitante del proceso.

En efecto, las formulaciones de lenta liberación del principio activo o los preparados de depósito resultan en esta disposición particular que se conoce como fenómeno de *flip-flop* cuyo origen es  $k_a \ll k_{el}$ . En este caso las velocidades de ingreso y salida del sistema pueden determinarse por el método de las residuales solo que la interpretación es distinta, siendo en este caso la constante de la fase terminal ( $k_{el}$ ) la correspondiente a la constante de absorción ( $k_a$ ) y por el contrario la constante de la fase de absorción ( $k_a$ ) pasa a ser la constante de la fase de eliminación ( $k_{el}$ ).

Es importante tener en cuenta que un fenómeno de *flip-flop* nunca puede determinarse sin conocer exactamente el verdadero valor de  $k_{el}$ , la que solo puede estimarse luego de la administración del medicamento por vía intravenosa. Un fenómeno de *flip-flop* está presente si el valor de  $k_{el}$  obtenido luego de la administración extravascular es significativamente menor al obtenido tras la administración intravenosa. En este caso,  $k_{el}$  obtenida tras la administración extravascular pasa a ser  $k_a$  y por ende la velocidad limitante del proceso.

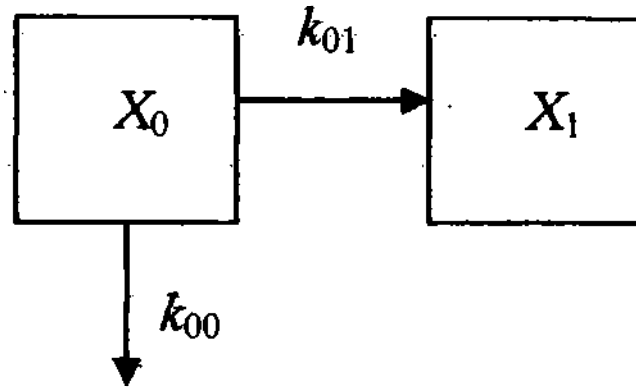
### III.1.11.8. Consideraciones acerca del verdadero valor de $k_a$ .

Hasta ahora se ha mencionado el orden del proceso de absorción y del valor de  $k_a$  el que ha podido ser estimado mediante el método de las residuales o mediante WLSNLR. Asumiendo que una cinética de primer orden es operativa podemos considerar que el sitio de administración o absorción de un medicamento se comporta como un compartimento ( $X_0$ ) desde el cual el medicamento ingresa al compartimento central ( $X_1$ ) mediante un proceso cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_{01}$ .

Debemos considerar que existe siempre la posibilidad de que el medicamento no ingrese en su totalidad al compartimento central y que una fracción de la dosis administrada no sea disponible biológicamente. En este caso el proceso está gobernado por una segunda



constante de velocidad  $k_{00}$  y que rige la pérdida del medicamento desde el sitio de absorción. Una representación esquemática de los procesos descritos anteriormente es la siguiente:



**Figura III.8.** Representación esquemática del proceso de desaparición de un medicamento desde su sitio de administración/absorción en donde  $X_0$  es la cantidad de medicamento presente en el compartimento de administración/absorción y  $X_1$  es la cantidad de medicamento presente en el compartimento central,  $k_{01}$  es la constante de velocidad de primer orden que rige el pasaje de medicamento desde el compartimento de administración/absorción hacia el compartimento central, y  $k_{00}$  es la constante de velocidad de primer orden que rige la pérdida de una fracción de la dosis administrada desde el compartimento de administración/absorción.

La constante de velocidad de primer orden que rige la desaparición del medicamento desde el sitio de administración/absorción en su totalidad es la resultante de:

$$k_a = k_{00} + k_{01} \quad \text{Eq.31}$$

La cual es la constante de velocidad que se obtiene mediante el método de las residuales y a la que se aplica en la ecuación de Bateman, de lo que se deduce que:

$$F = \frac{k_{01}}{k_{00} + k_{01}} \quad \text{Eq.32}$$

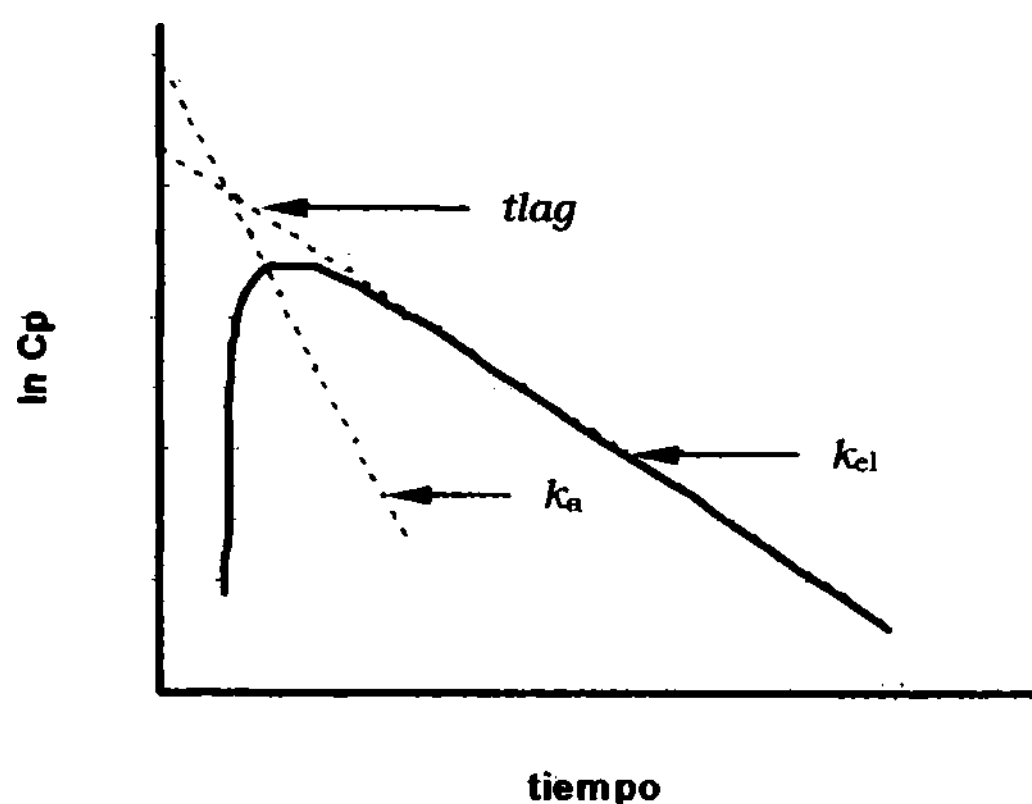
Si el valor de  $F$  es igual a 1 entonces  $k_{00} = 0$  y el valor de  $k_a = k_{01}$ . De allí que el valor de  $k_a$  hallado mediante el método de las residuales solo se corresponde con el verdadero valor de  $k_{01}$  solo si el valor de  $F$  es igual a la unidad. Esto nos indica que la verdadera constante de ingreso del fármaco al compartimento central esta dada por la siguiente relación:

$$k_{01} = F k_a \quad \text{Eq.33}$$

#### III.1.11.9. El *tlag* o *lag time*

El *tlag* o *lag time* puede ser definido como el tiempo de latencia o de espera desde el momento en que el medicamento es administrado hasta el momento en que comienza su absorción.

La inspección visual de la figura III.9. sugiere un método simple para la estimación del *tlag*, ya que por definición el proceso de absorción comienza cuando la pendiente de la fase terminal y la pendiente de la fase de absorción se interceptan.



**Figura III.9.** Gráfica semilogarítmica de un perfil de concentración plasmática vs. tiempo tipo para un modelo de un compartimento con administración extravascular con procesos de absorción y eliminación de orden uno. Mediante el método de las residuales o stripping el perfil es descompuesto en sus dos pendientes  $k_a$  y  $k_{el}$ . En este ejemplo existe un periodo de latencia o espera entre la administración y la aparición del medicamento en plasma (*tlag* o *lag time*), los valores de  $C_1$  y  $C_2$  son distintos y el comienzo del proceso de absorción está indicado por el momento en que las pendientes de eliminación y absorción se interceptan a un tiempo  $\neq$  de cero.

#### III.1.11.10. $C_{max}$ y $t_{max}$

La máxima concentración plasmática alcanzada ( $C_{max}$ ) y el tiempo en el que esta ocurre ( $t_{max}$ ) son importantes elementos a tener en cuenta y ambos pueden darnos una idea general a cerca de la magnitud y la velocidad del proceso de absorción. Sin embargo tanto  $C_{max}$  como  $t_{max}$  son también influenciados por la cinética de los procesos de absorción y de eliminación.

Se considera que  $C_{max}$  es el punto de la curva de concentración plasmática vs. tiempo en el que la velocidad instantánea de absorción es igual a la velocidad instantánea de eliminación y la derivada de la concentración plasmática en función del tiempo ( $dC_p/dt$ ) es igual a cero.

Partiendo de este principio, se ha demostrado matemáticamente que en dicho punto se cumple la siguiente expresión es una derivada de la función de Bateman:

$$t_{max} = \frac{1}{k_a - k_{el}} \ln\left(\frac{k_a}{k_{el}}\right) = \frac{\ln k_a - \ln k_{el}}{k_a - k_{el}} \quad \text{Eq.34}$$

La ecuación 24 nos muestra que solo  $k_a$  y  $k_{el}$  influyen y determinan el valor de  $t_{max}$  a partir del cual puede calcularse el valor de  $C_{max}$  de la siguiente manera:

$$C_{max} = \frac{F D k_a}{V_d (k_a - k_{el})} \left( e^{-k_{el} t_{max}} - e^{-k_a t_{max}} \right) \quad \text{Eq.35}$$

En el caso de existir un periodo de  $t_{lag}$  el cálculo de  $C_{max}$  debe realizarse de la siguiente manera:

$$C_{max} = \frac{F D k_a}{V_d (k_a - k_{el})} \left( e^{-k_{el} t_{max} + t_{lag}} - e^{-k_a t_{max} + t_{lag}} \right) \quad \text{Eq.36}$$

Sin embargo debe tenerse en cuenta que tanto  $C_{max}$  y  $t_{max}$  son parámetros híbridos, siendo  $C_{max}$  influenciado por  $F$ ,  $k_a$  y  $k_{el}$ , mientras que  $t_{max}$  lo es por,  $k_a$ ,  $k_{el}$  y el fenómeno de *flip-flop*. De la observación de la ecuación 36 se deduce que el valor de  $C_{max}$  es directamente proporcional a los valores de  $k_a$  y de  $F$ , es decir que en los casos de la existencia de una bajo valor de  $k_a$ , el valor  $C_{max}$  tienden a disminuir, pero lo mismo se presenta en los casos en que un bajo valor de  $F$  es obtenido, por lo que  $C_{max}$  es un mal indicador tanto de la cantidad de fármaco absorbido como de la velocidad de absorción si se desconoce la disposición i.v. del medicamento. En el caso de la ocurrencia de un fenómeno de *flip-flop* es posible observar una aparición temprana del  $t_{max}$  subestimando tanto la cantidad absorbida como la velocidad con la que se produce el proceso de absorción.

#### III.1.11.11. El proceso de absorción de orden cero en un modelo de un compartimento

Cuando un medicamento ingresa al compartimento central a una velocidad constante, dicho proceso puede ser descrito por la siguiente ecuación diferencial que explica la variación de las cantidades de medicamento en el compartimento central en función del tiempo:

$$\frac{dX}{dt} = -k_{el} X + k_0 \quad \text{Eq.37}$$

donde  $dX/dt$  es la derivada en función del tiempo de la cantidad de medicamento en el organismo,  $k_0$  es la constante de ingreso de orden cero expresada como cantidad ingresada por unidad de tiempo,  $X$  es la cantidad de medicamento presente en el organismo disponible para su eliminación a un tiempo determinado,  $k_{el}$  es la constante de eliminación de orden uno y  $t$  es el tiempo.

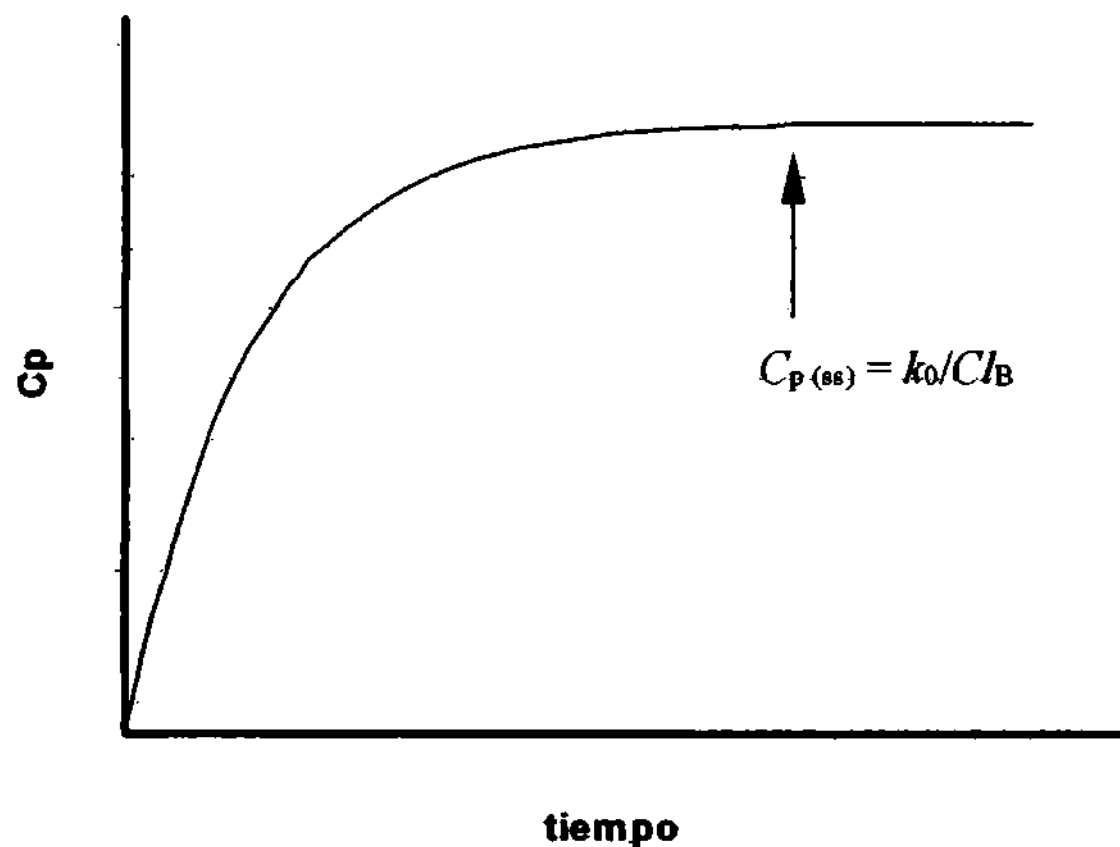
La integral de la ecuación 33 nos explica en términos exponenciales la relación entre la cantidad de medicamento en el organismo y el tiempo:

$$X = \frac{k_0}{k_{el}} (1 - e^{-k_{el} t}) \quad \text{Eq.38}$$

La que puede ser expresada en términos de concentración plasmática:

$$C_p = \frac{k_0}{V_d k_{el}} (1 - e^{-k_{el} t}) = \frac{k_0}{Cl_B} (1 - e^{-k_{el} t}) \quad \text{Eq.39}$$

De acuerdo a la misma, la  $C_p$  se incrementara en función del tiempo, pero cuando  $t \rightarrow \infty$ , la expresión  $(1 - e^{-k_{el} t})$  tendera a tener un valor cercano a uno, de manera que la  $C_p$  quedara expresada solamente por la relación  $k_0/Cl_B$ , tal como puede verse en la figura III.10.



**Figura III.10.** Gráfica aritmética de un perfil de concentración plasmática tipo para un modelo de un compartimento con administración extravascular con procesos de absorción de orden cero y de eliminación de orden uno aparentes. La  $C_p$  se incrementa en función del tiempo según la expresión  $k_0/Cl_B (1 - e^{-k_{el} t})$ . Cuando el  $t \rightarrow \infty$  la misma tiene un valor expresado por la relación  $k_0/Cl_B$ .

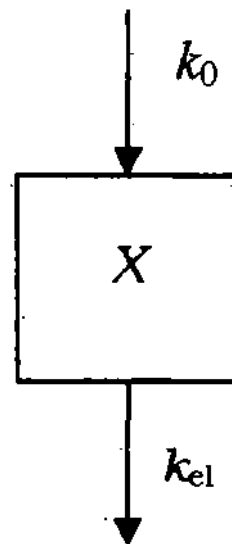
La concentración plasmática así alcanzada se denomina concentración en estado de equilibrio estacionario o  $C_{p(ss)}$  porque las velocidades de ingreso y de eliminación son iguales, de manera que  $dX/dt = 0$ , y que puede ser calculada mediante la siguiente ecuación:

$$C_{p(ss)} = \frac{k_0}{V_d k_{el}} = \frac{k_0}{Cl_B} \quad \text{Eq.40}$$

La misma nos expresa que el valor de  $C_{p(ss)}$  es directamente proporcional al valor de  $k_0$ , e inversamente proporcional al valor de  $Cl_B$ .

El incremento de  $C_{p(ss)}$  es expresada por la inversa de la fase de eliminación y se alcanzara luego de transcurridas  $10 t_{1/2 el}$ , siendo este tiempo una función de  $t_{1/2}$ . Sin embargo aunque son necesarias  $10 t_{1/2 el}$  para alcanzar el 99% del valor de la  $C_{p(ss)}$ , se considera que  $4 t_{1/2 el}$  son suficientes para considerar que la  $C_{p(ss)}$  ha alcanzado un 90% de su valor.

Aunque la absorción frecuentemente puede ser explicada mediante un proceso de orden uno, se ha encontrado sin embargo que el proceso de absorción de ciertos medicamentos puede ser explicado mediante un proceso de orden cero. Una representación gráfica de un modelo de un compartimento con un proceso de absorción de cero y de eliminación de orden uno se presenta en la figura III.11., en donde el ingreso del medicamento al sistema se encuentra gobernado por la constante de orden cero  $k_0$  y la eliminación por la constante de orden uno  $k_{el}$ .



**Figura III.11.** Representación esquemática de un modelo de un compartimento o monocompartimental en donde la cantidad de medicamento administrado ( $X$ ) ingresa al organismo mediante un proceso de absorción de orden cero cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_0$ . El medicamento es eliminado desde el único compartimento mediante un proceso de orden uno, cuya constante de velocidad se halla representada por  $k_{el}$ .

La variación de la cantidad del medicamento en el sitio de absorción y el organismo es explicada por las siguientes ecuaciones:

$$\frac{dX_a}{dt} = -k_0 \quad \text{Eq.41}$$

$$\frac{dX}{dt} = -k_{el}X + k_0 \quad \text{Eq.42}$$

La integración de la ecuación 37 da como resultado la ecuación de la recta ya que se trata de un proceso de velocidad constante, es decir que desde sitio de absorción desaparece una cantidad constante de medicamento por unidad de tiempo transcurrido. De manera que se trata de un proceso que finaliza a un tiempo determinado, por lo tanto mientras exista medicamento disponible para ser absorbido el proceso global puede ser descrito por medio

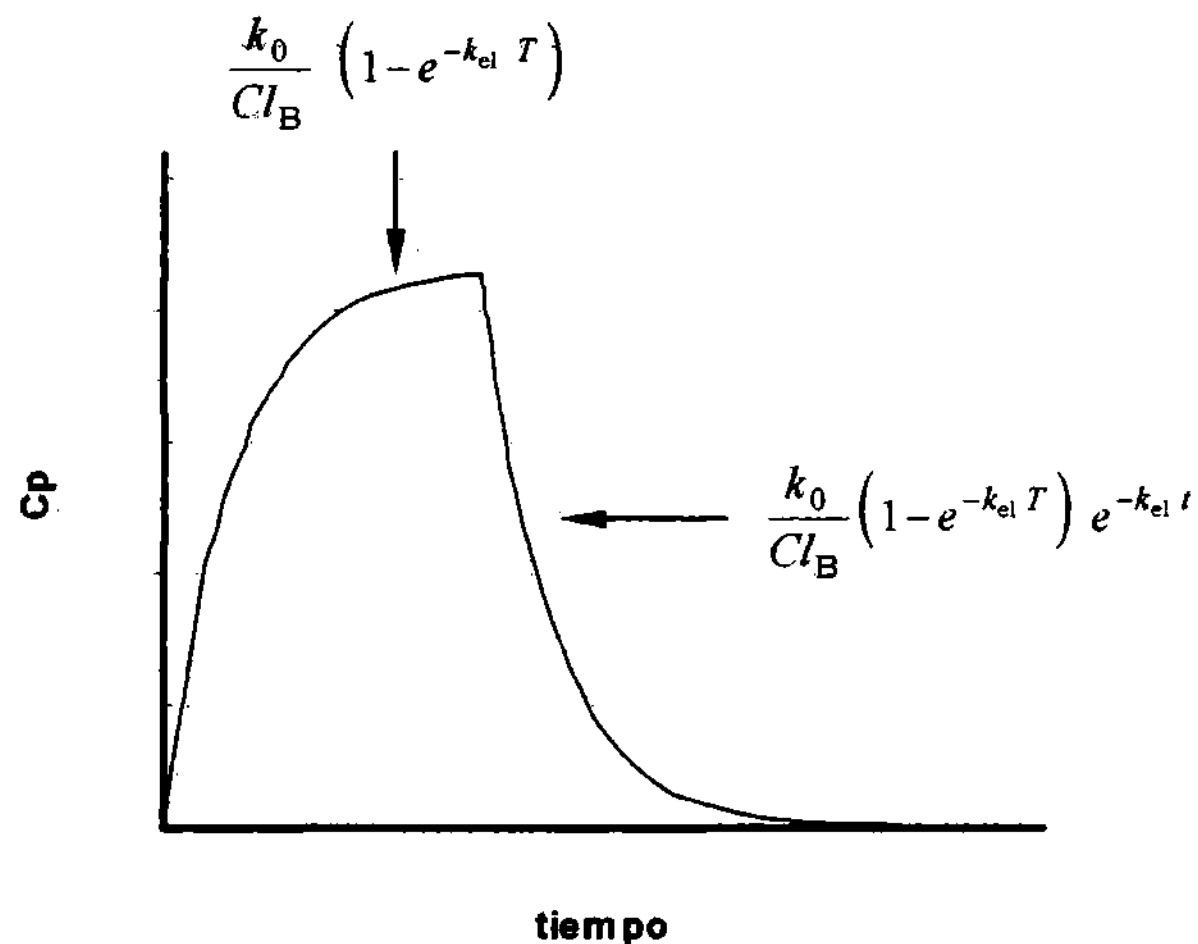
de dos ecuaciones exponenciales discretas. Durante el proceso de absorción las concentraciones plasmáticas son descritas por la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{k_0}{Cl_B} (1 - e^{-k_{el} T}) \quad \text{Eq.43}$$

donde  $T$  es el tiempo transcurrido desde el comienzo del proceso de absorción hasta la finalización del mismo. Cuando el proceso de absorción ha finalizado, las concentraciones plasmáticas son explicadas por la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{k_0}{Cl_B} (1 - e^{-k_{el} T}) e^{-k_{el} t} \quad \text{Eq.44}$$

La curva de concentración plasmática resultante de este proceso es mostrada en la figura III.12.



**Figura III.12.** Gráfica aritmética de un perfil de concentración plasmática tipo para un modelo de un compartimento con administración extravascular con procesos de ingreso y de orden cero y de eliminación de orden uno. La concentración plasmática se incrementa en función del tiempo según la expresión:  $k_0/Cl_B (1 - e^{-k_{el} T})$ , hasta que el proceso de absorción ha finalizado, a partir de allí el proceso viene regido por la expresión:  $k_0/Cl_B (1 - e^{-k_{el} T}) e^{-k_{el} t}$ .

### III.1.11.12. El método de Wagner y Nelson

En el intento de caracterizar el proceso de absorción de un medicamento a menudo se tropieza con la dificultad de describir el perfil de concentración plasmática cuando está presente un proceso distinto de orden uno. Una alternativa para resolver tal problemática es la construcción de gráficas con el porcentaje de fármaco absorbido en función del tiempo

con el método de Wagner-Nelson, <sup>(105)(106)</sup> que puede ser aplicado a modelos de un compartimento u otros que puedan asimilarse al mismo y discriminar procesos de absorción de orden uno o cero.

En un determinado momento, la cantidad de medicamento absorbida es dada por la siguiente ecuación de balance de masa:

$$X_{\text{abs}} = X + X_{\text{el}} \quad \text{Eq.45}$$

donde  $X_{\text{abs}}$  es la cantidad de medicamento absorbida,  $X$  es la cantidad de medicamento presente en el organismo y  $X_{\text{el}}$  es la cantidad de medicamento eliminada. Basándonos en la ecuación 15 tenemos que el valor de  $X$  deriva de la ecuación 46.

$$X = V_d C_p \quad \text{Eq.46}$$

El valor de  $X_{\text{el}}$  a un tiempo determinado esta dado por la ecuación 47.

$$X_{\text{el}} = V_d k_{\text{el}} \int_0^t C_p dt = Cl_B AUC_{0-t} \quad \text{Eq.47}$$

De manera que reemplazando términos podemos volver a escribir la ecuación 47 de la siguiente manera:

$$X_{\text{abs}} = V_d C_p + Cl_B AUC_{0-t} \quad \text{Eq.48}$$

Considerando que de  $t_0 \rightarrow \infty$ , el valor de  $C_p \rightarrow 0$ , entonces a  $t_{\infty}$  el valor de  $X_{\text{abs}}$  viene definido solo por la ecuación 49.

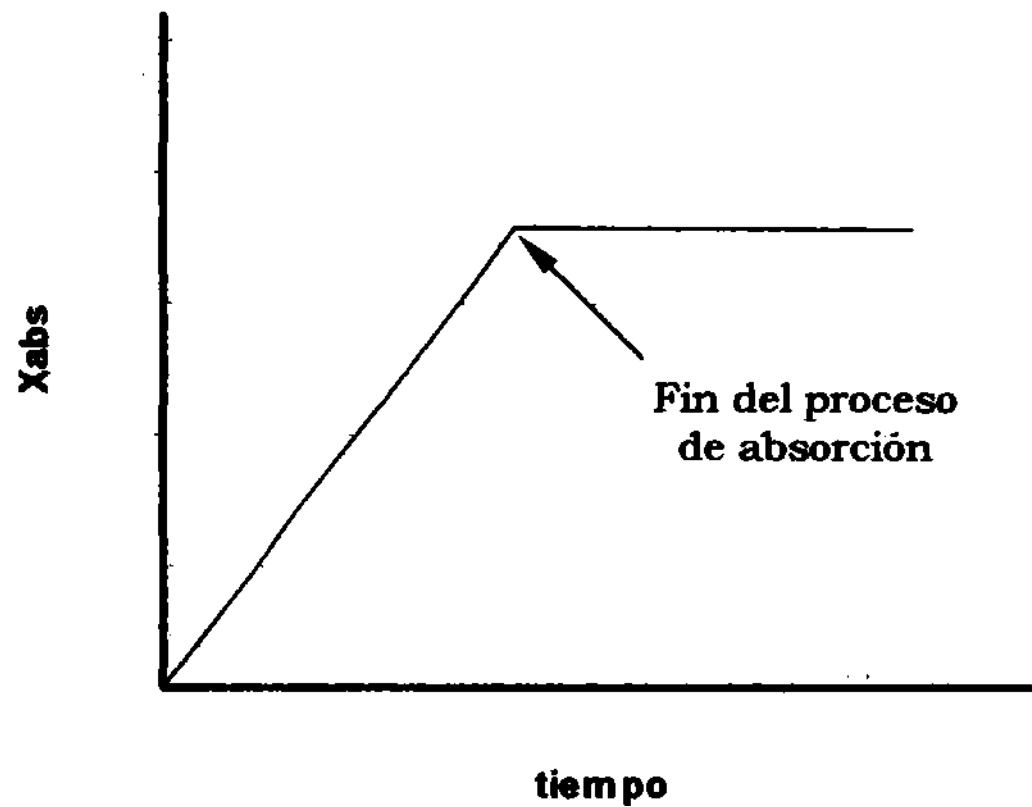
$$X_{\text{abs}} = Cl_B AUC_{0-\infty} \quad \text{Eq.49}$$

Entonces tenemos que:

$$X_{\text{abs}} = X_{\text{el}} \quad \text{Eq.50}$$

Debe tenerse en cuenta que el valor de  $X_{\text{abs}}$  no hace referencia a la cantidad administrada sino a la cantidad de medicamento que llego a la circulación general a partir de la dosis administrada. El valor de  $X_{\text{abs}}$  así calculado aumenta en función del tiempo hasta un

momento en el que alcanza un valor constante, indicando que el proceso de absorción ha finalizado. Lo anterior se halla representado en la figura III.13.



**Figura III.13.** Gráfica aritmética de la cantidad de medicamento absorbido en función del tiempo estimada por medio de la ecuación:  $V_d C_p + Cl_B AUC_{0-t}$ . Un proceso de absorción de orden cero es operativo y las cantidades absorbidas se incrementan de manera aritmética hasta alcanzar un valor constante que indica que el proceso de absorción ha concluido.

Considerando que la cantidad de medicamento absorbida viene definida por la ecuación 49, entonces tenemos que:

$$X_{abs} = F D \quad \text{Eq.51}$$

Realizando pasaje de términos disponemos entonces de otro método para el cálculo de la biodisponibilidad tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$$F = \frac{X_{abs}}{D} \quad \text{Eq.52}$$

La fracción de medicamento absorbida en función del tiempo resulta de la relación entre la cantidad absorbida acumulativa desde  $t_0 \rightarrow t_n$  y la cantidad absorbida total:

$$X_{a0-t} = \frac{V_d C_p + V_d k_{el} \int_0^t C_p dt}{V_d k_{el} \int_0^\infty C_p dt} = \frac{V_d C_p + Cl_B AUC_{0-t}}{Cl_B AUC_{0-\infty}} \quad \text{Eq.53}$$

donde  $X_{a(0-t)}$  es la fracción de medicamento absorbida desde tiempo 0 a  $t$ .



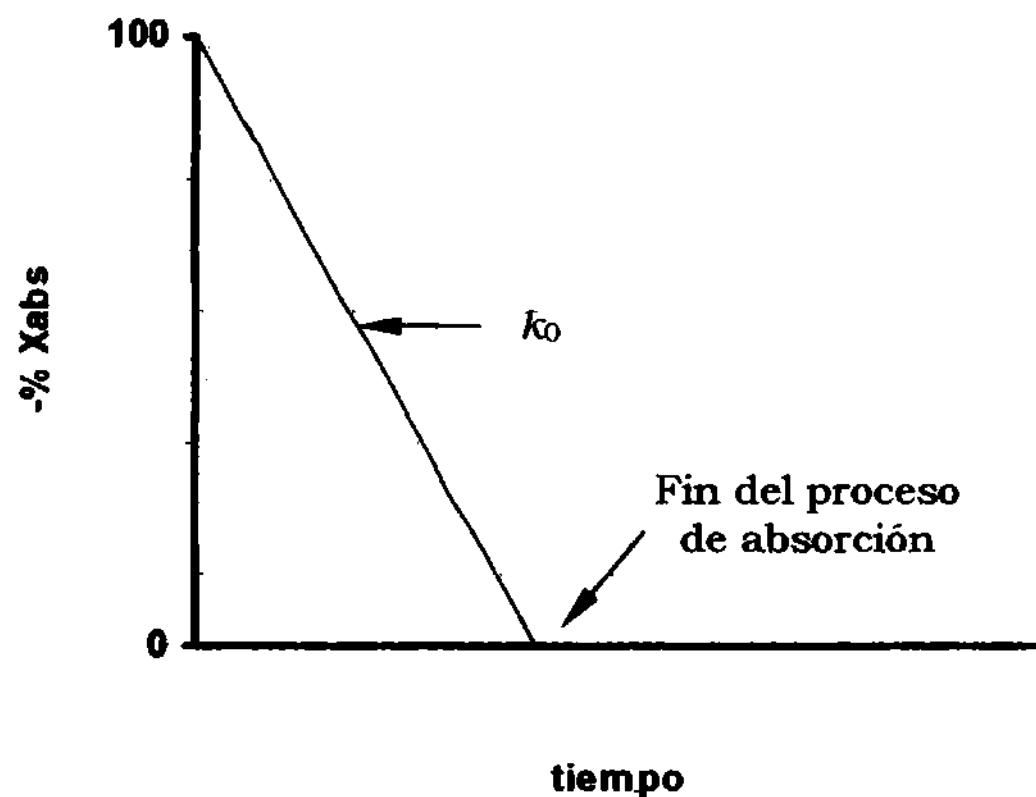
Conociendo el valor de  $k_{el}$  luego de una administración intravenosa podemos calcular el valor de  $X_a$  suprimiendo el  $V_d$  de la ecuación 53, con lo que nos queda:

$$X_{a0-t} = \frac{C_p + k_{el} \int_0^t C_p dt}{k_{el} \int_0^\infty C_p dt} = \frac{C_p + k_{el} AUC_{0-t}}{k_{el} AUC_{t-\infty}} \quad \text{Eq.54}$$

A partir de la ecuación 54 pueden construirse curvas de % de medicamento remanente en el sitio de absorción de la siguiente manera:

$$-X_{a0-t} = 100 \left[ 1 - \frac{C_p + k_{el} AUC_{0-t}}{k_{el} AUC_{0-\infty}} \right] \quad \text{Eq.55}$$

donde  $-X_{a(0-t)}$  es el porcentaje de medicamento remanente en el sitio de absorción desde tiempo 0 a  $t$ . La representación cartesiana de los valores hallados en un proceso de absorción de orden cero da como resultado una gráfica como la que se muestra en la figura III.14.



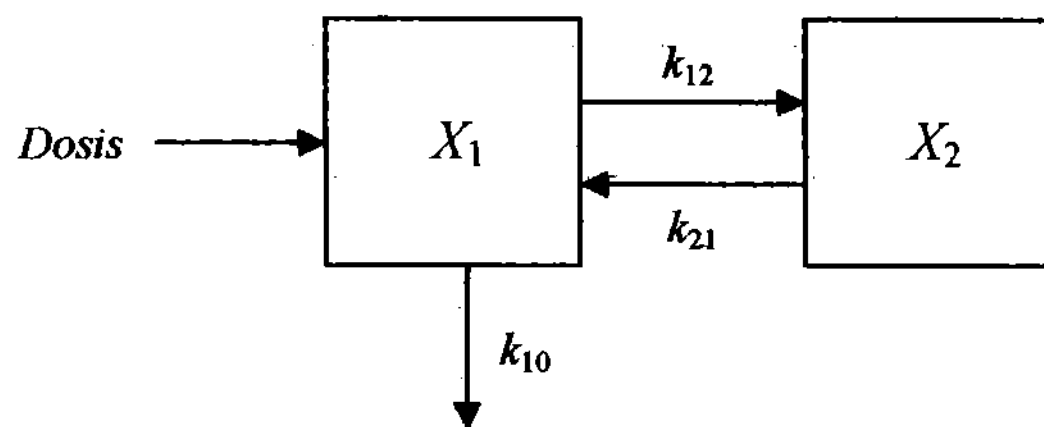
**Figura III.14.** Gráfica aritmética del porcentaje de medicamento remanente en el sitio de absorción ( $-\%X_a$ ) en función del tiempo construida según el método de Wagner-Nelson. Un proceso de absorción de orden cero es operativo y los porcentajes disminuyen de manera aritmética hasta cero indicando que el proceso de absorción ha concluido.

En este caso el valor de  $k_0$  (masa/tiempo) se calcula por medio de regresiones lineales simples a partir de los valores de  $-X_{a(0-t)}$  obtenidas. Es importante considerar que el método puede ser aplicado de manera independiente del orden del proceso de absorción que esté llevándose a cabo. En el caso de existir un proceso de orden uno los valores de  $-X_{a(0-t)}$  describirán una curva exponencial cuyo análisis de regresión lineal a partir de los valores transformados a  $\ln$  permitirán calcular el valor de  $k_a$  de manera análoga que con el método de las residuales.

### III.1.12. Modelo de dos compartimentos

#### III.1.12.1. Concepto

Muchos medicamentos presentan un comportamiento que no puede ser adecuadamente descrito por un modelo de un compartimiento y esto refleja en si una realidad biológica, ya que un organismo viviente no es un compartimiento único, sino que esta compuesto por "regiones", las cuales se definen por las distintas velocidades con las cuales la molécula se distribuye y redistribuye entre ellas. Esta situación se refleja en el modelo representado gráficamente en la figura III.15



**Figura III.15.** Representación esquemática de un modelo de dos compartimentos con administración intravenosa donde  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico a un tiempo determinado;  $k_{12}$  es la constante de distribución;  $k_{21}$  es la constante de redistribución y  $k_{10}$  es la constante de eliminación. Todos los procesos son de primer orden.

En este modelo el medicamento es administrado directamente en el compartimiento central desde donde es eliminado por un proceso de orden uno cuya constante de velocidad esta representada por  $k_{10}$ . Pero a su se distribuye a otras regiones del organismo desde las cuales por un proceso denominado redistribución ingresa nuevamente al compartimiento central. Esta transferencia del medicamento entre el "compartimiento central" y los tejidos provee la base fisiológica para el modelo de dos compartimentos. Cuando las velocidades de los procesos de distribución ( $k_{12}$ ) y redistribución ( $k_{21}$ ) son distintos de  $k_{10}$ , entonces el perfil de concentración plasmática vs. tiempo asume características biexponenciales. De esta manera el proceso de redistribución cuya constante de velocidad es  $k_{21}$  constituye un factor limitante que determina muchas veces la pendiente terminal del perfil biexponencial de las concentraciones plasmáticas vs. tiempo. Este modelo puede ser explicado por medio de las siguientes ecuaciones diferenciales que describen las velocidades de eliminación y transferencia del medicamento entre los dos compartimentos.

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{21}X_2 \quad \text{Eq. 56}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq. 57}$$

donde  $dX_1/dt$  y  $dX_2/dt$  son las derivadas de las velocidades de desaparición del medicamento desde los compartimientos central y periférico en función del tiempo;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central y periférico a un instante determinado;  $k_{10}$  es la constante de eliminación desde el compartimiento central, mientras que  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de distribución y redistribución. Considerando que este modelo se construye a partir de concentraciones medidas en el compartimiento central, la ecuación 48 puede ser modificada y expresada de la siguiente manera:

$$\frac{dX_1/V_c}{dt} = -(k_{10} + k_{12}X_1 + k_{21}X_2) \quad \text{Eq. 58}$$

La integración de la ecuación 58, da como resultado la ecuación biexponencial con la que puede ser explicado el perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo:

$$C_p = C_1 e^{-\lambda_1 t} + C_2 e^{-\lambda_2 t} \quad \text{Eq. 59}$$

donde  $C_p$  es la concentración plasmática a un momento determinado;  $C_1$  y  $C_2$  son los coeficientes de las fases de distribución y eliminación;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son las pendientes de las fases de distribución y eliminación y  $t$  es el tiempo. La relación entre los coeficientes y exponentes de las ecuaciones exponenciales y las constantes de eliminación, distribución y redistribución se explican con las siguientes ecuaciones:

$$k_{21} = (C_1 \lambda_2 + C_2 \lambda_1) / (C_1 + C_2) \quad \text{Eq. 60}$$

$$k_{10} = \lambda_1 \lambda_2 / k_{21} \quad \text{Eq. 61}$$

$$k_{21} = \lambda_1 + \lambda_2 - k_{21} - k_{10} \quad \text{Eq. 62}$$

A partir de cada pendiente pueden ser calculadas las correspondientes semividas de distribución y de eliminación como se muestra a continuación:

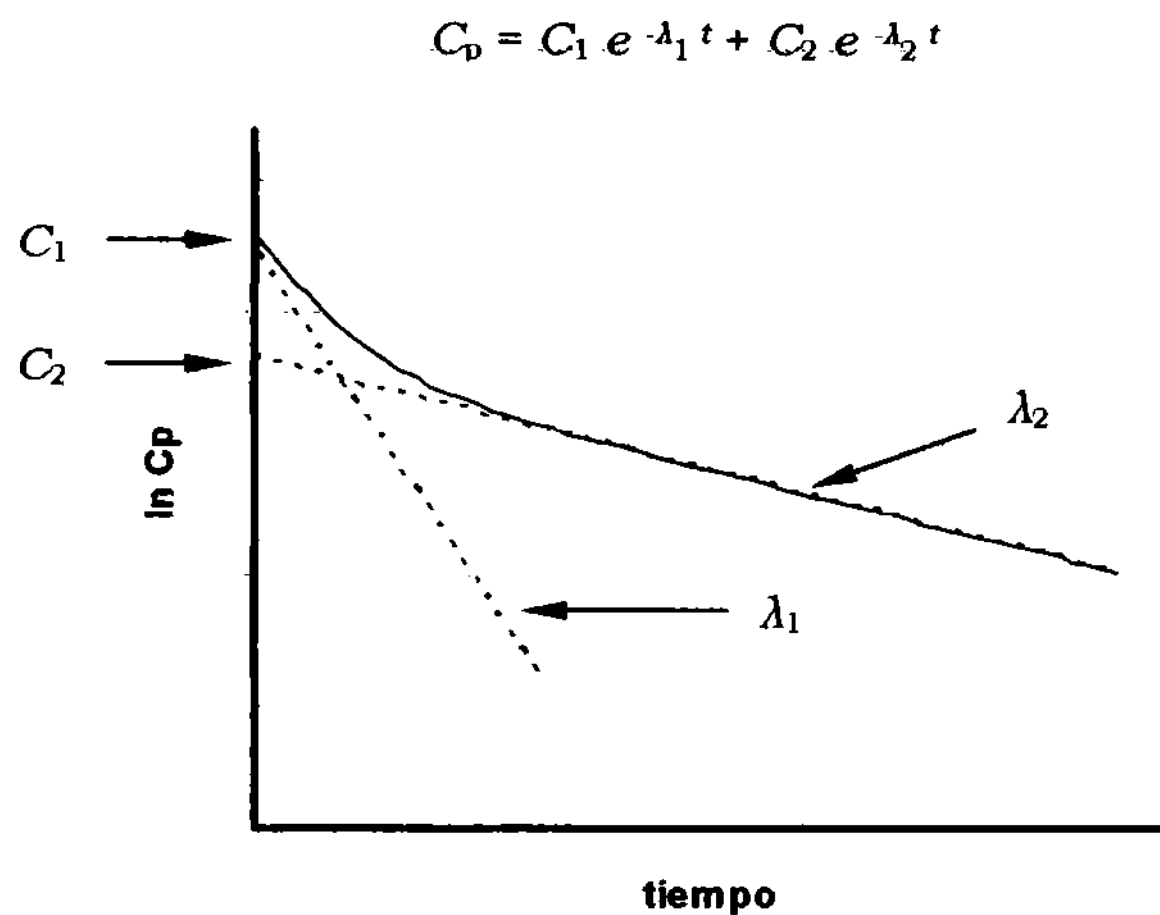
$$t_{1/2} \lambda_1 = 0.693 / \lambda_1 \quad \text{Eq. 63}$$

$$t_{1/2} \lambda_2 = 0.693 / \lambda_2 \quad \text{Eq. 64}$$

De la misma manera que en un modelo de un compartimiento con administración extravascular, la curva de concentración plasmática vs. tiempo puede ser disecada en sus dos componentes. En este caso, procediendo con el método de las residuales, la constante de eliminación  $\lambda_2$  se calcula por regresión lineal de las concentraciones plasmáticas de la fase terminal transformadas a ln. El punto de intersección con el eje de las ordenadas da como resultado el coeficiente de la fase de eliminación  $C_2$ . El componente de la fase de distribución se calcula restando los valores de las concentraciones plasmáticas observadas

durante la fase de distribución de los valores teóricos correspondientes a la extrapolación de la fase de eliminación. Estos valores se denominan residuales de la fase de distribución y a partir de ellos se calcula por medio de regresión lineal el coeficiente  $C_1$  y el exponente  $\lambda_1$  de la fase de la misma.

La figura III.16. presenta una curva de concentraciones plasmáticas obtenidas tras una administración intravenosa asimilable a un modelo de dos compartimientos. La curva esta disecada en sus dos componentes exponenciales calculados mediante el método de las residuales.



**Figura III.16.** Gráfica semilogarítmica de concentración plasmática vs. tiempo en un modelo de dos compartimientos con administración intravenosa. La curva esta disecada en sus dos componentes; las fases de distribución y de eliminación calculadas mediante el método de stripping o de las residuales. Las concentraciones plasmáticas pueden ser explicadas por dos ecuaciones exponenciales las que describen una fase de distribución cuyos coeficientes y exponentes son  $C_1$  y  $\lambda_1$  y una fase de eliminación cuyos coeficientes y exponentes son  $C_2$  y  $\lambda_2$ .

### III.1.12.2. Volúmenes de distribución

En un modelo de dos compartimientos son tres los volúmenes útiles que pueden ser calculados y ellos son: el volumen del compartimiento central  $V_c$ , el volumen en estado de equilibrio  $V_{ss}$  y el volumen de área  $V_{area}$ .

#### III.1.12.2.1. Volumen del compartimiento central o $V_c$

Tal como fuera descrito en un modelo de un compartimiento, este es estimado a partir de la relación entre la cantidad administrada o dosis y el valor de la concentración plasmática

a tiempo cero  $C_{p(0)}$ , lo que en un modelo de dos compartimientos se estima por la suma de los coeficientes.

$$C_{p(0)} = C_1 + C_2 \quad \text{Eq.65}$$

$$V_c = \frac{D}{C_{p(0)}} \quad \text{Eq.66}$$

El  $V_c$  así calculado es el que se utiliza para el cálculo del  $Cl_B$  según la ecuación 6.

### III.1.12.2.2. Volumen de distribución al estado de equilibrio o $V_{ss}$

Este es el volumen estimado que mas robustez presenta, ya que desde el punto de vista fisiológico y matemático es independiente de todo proceso de eliminación. Teóricamente el  $V_{ss}$  corresponde al valor del factor de proporcionalidad que relaciona las concentraciones plasmáticas con la cantidad de medicamento presente en el organismo cuando las velocidades de los procesos de distribución y redistribución presentan la misma magnitud. El cálculo del mismo se explica mediante las siguientes relaciones:

$$k_{12}X_1 = k_{21}X_2 \quad \text{Eq.67}$$

$$X_2 = k_{12}X_1 / k_{21} \quad \text{Eq.68}$$

$$Dosis = X_1 + k_{12}X_1 / k_{21} \quad \text{Eq.69}$$

$$Dosis = X_1 (1 + k_{12} / k_{21}) \quad \text{Eq.70}$$

$$V_{ss} = [X_1 (1 + k_{12} / k_{21})] / C_1 \quad \text{Eq.71}$$

$$V_{ss} = V_c (1 + k_{12} / k_{21}) \quad \text{Eq.72}$$

En el caso de un proceso de absorción de orden cero o de una perfusión intravenosa a velocidad constante el  $V_{ss}$  es el factor de proporcionalidad que relaciona la concentración plasmática en el estado de equilibrio ( $C_{pss}$ ) con la cantidad presente en el organismo cuando la velocidad de ingreso es igual a la velocidad de eliminación, siendo en este caso  $dX/dt = 0$ .

### III.1.12.2.3. Volumen de área o $V_{area}$

El  $V_{area}$  es el factor de proporcionalidad que relaciona la  $C_p$  con la cantidad de medicamento presente en el organismo durante la pendiente de la fase de eliminación. También se lo suele llamar volumen de distribución en estado de pseudoequilibrio debido a que durante la pendiente de la fase terminal el proceso de distribución ha finalizado y predomina el de eliminación. De manera que considerando un tiempo  $t$  correspondiente a

una concentración plasmática medida durante la fase de eliminación el  $V_{\text{area}}$  se calcula de la siguiente manera:

$$X_1 = Cl_B AUC_{0-\infty} \quad \text{Eq.73}$$

donde  $X_1$  es la cantidad de medicamento que estuvo presente (fue eliminado) desde  $0 \rightarrow \infty$ , y por lo tanto la cantidad de medicamento presente a un tiempo dado  $t$  se estima de la siguiente manera:

$$X_{1(t)} = Cl_B \frac{C_2 e^{-\lambda_2 t}}{\lambda_2} \quad \text{Eq.74}$$

Basándonos en la ecuación anterior podemos calcular el  $V_{\text{area}}$  de la siguiente manera:

$$V_{\text{area}} = \frac{X_{1(t)}}{C_{p(t)}} = \frac{Cl_B (C_2 e^{-\lambda_2 t}) / \lambda_2}{(C_2 e^{-\lambda_2 t})} = \frac{Cl_B}{\lambda_2} \quad \text{Eq.75}$$

Dadas las condiciones descritas anteriormente en un modelo de dos compartimientos los tres  $V_d$  no son equivalentes de manera que:  $V_c < V_{ss} < V_{\text{area}}$ .

### III.1.12.3. Clearance total o sistémico o $Cl_B$

Conociendo el  $V_c$  se puede calcular el  $Cl_B$  total o sistémico, ya que se lleva a cabo desde el compartimiento central. El cálculo se lleva a cabo de la misma manera que para un modelo de un compartimiento pero esta vez considerando la constante de eliminación desde el compartimiento central o  $k_{10}$ .

$$Cl_B = k_{10} V_c \quad \text{Eq.76}$$

De la misma manera el  $Cl_B$  puede ser calculado a partir de una infusión intravenosa a velocidad constante tal como fuera descrito para un modelo de un compartimiento:

$$Cl_B = \frac{k_0}{C_{p(ss)}} \quad \text{Eq.77}$$

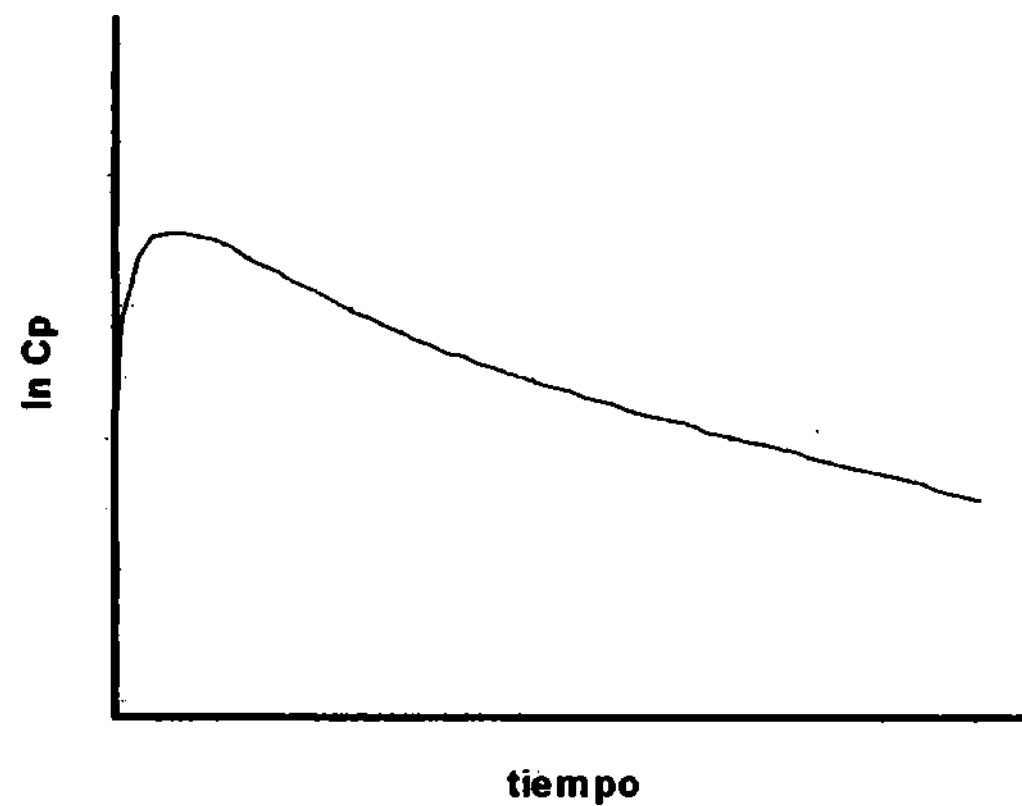
Finalmente el  $Cl_B$  puede ser calculado a partir de la relación entre la cantidad administrada y el  $AUC_{0-\infty}$ , la cual puede ser calculada a partir de los coeficientes y exponentes.

$$AUC_{0-\infty} = \frac{C_1}{\lambda_1} + \frac{C_2}{\lambda_2} \quad \text{Eq.78}$$

$$Cl_B = \frac{\text{Dose}}{AUC_{0-\infty}} \quad \text{Eq.79}$$

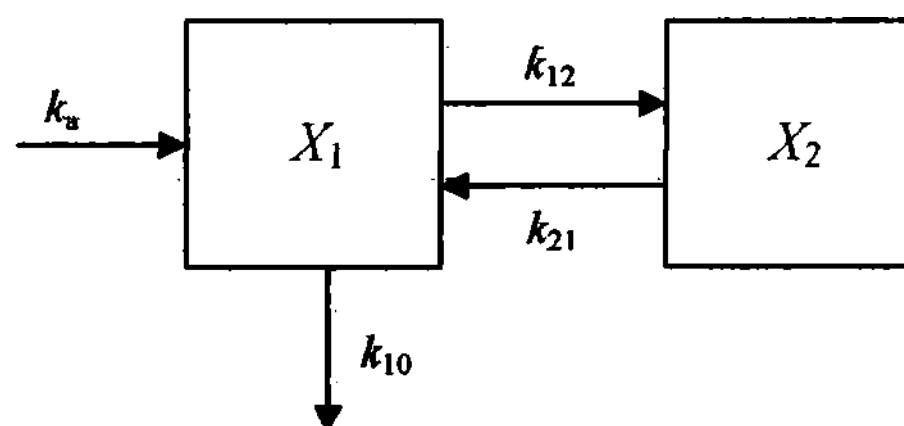
### III.1.12.4. El proceso de absorción en un modelo de dos compartimientos

En un modelo de dos compartimientos, el perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo obtenido tras la administración de un medicamento por vía extravascular presenta una distinción clara de las fases de distribución y de eliminación, tal como puede observarse en la figura III.17.



**Figura III.17.** Gráfica semilogarítmica de un perfil de concentración plasmática tipo para un modelo de dos compartimientos con administración extravascular. Los procesos de absorción distribución y eliminación son de orden uno.

La representación gráfica de un modelo de dos compartimientos en donde el medicamento es administrado por vía extravascular se presenta en la figura III.18.



**Figura III.18.** Representación esquemática de un modelo de dos compartimientos con administración extravascular, donde  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central y periférico a un tiempo determinado;  $k_a$  es la constante de absorción;  $k_{12}$  es la constante de distribución;  $k_{21}$  es la constante de redistribución y  $k_{10}$  es la constante de eliminación. Todos los procesos son de primer orden.

Las ecuaciones diferenciales que definen al modelo son las siguientes:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{12} + k_{10})X_1 + k_{21}X_2 + X_a k_a \quad \text{Eq.80}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.81}$$

En donde  $dX_1/dt$  y  $dX_2/dt$  son las derivadas de las velocidades de desaparición del medicamento desde los compartimientos central y periférico en función del tiempo;  $X_a$  es la cantidad de medicamento disponible para ser absorbido a un tiempo determinado;  $k_a$  es la constante de absorción de orden uno;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central y periférico a un instante determinado;  $k_{10}$  es la constante de eliminación desde el compartimiento central, mientras que  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de distribución y redistribución.

Mediante la integración de la ecuación 80 y considerando el concepto de biodisponibilidad, la  $C_p$  de un medicamento en el compartimiento central a un tiempo determinado esta dada por la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{k_a F D}{V_c} \left[ \frac{(k_{21} - \lambda_1)e^{-\lambda_1 t}}{(\lambda_2 - \lambda_1)(k_a - \lambda_1)} + \frac{(k_{21} - \lambda_2)e^{-\lambda_2 t}}{(k_a - \lambda_2)(\lambda_1 - \lambda_2)} - \frac{(k_{21} - k_a)e^{-k_a t}}{(\lambda_1 - k_a)(\lambda_2 - k_a)} \right] \quad \text{Eq.82}$$

La ecuación anterior puede ser expresada de la siguiente manera:

$$C_p = C_1 e^{-\lambda_1 t} + C_2 e^{-\lambda_2 t} + C_3 e^{-k_a t} \quad \text{Eq.83}$$

De donde los coeficientes son estimados de la siguiente manera:

$$C_1 = \frac{k_a F D (k_{21} - \lambda_1)}{V_c (\lambda_2 - \lambda_1)(k_a - \lambda_1)} \quad \text{Eq.84}$$

$$C_2 = \frac{k_a F D (k_{21} - \lambda_2)}{V_c (k_a - \lambda_2)(\lambda_1 - \lambda_2)} \quad \text{Eq.85}$$

$$C_3 = \frac{k_a F D (k_{21} - k_a)}{V_c (\lambda_1 - k_a)(\lambda_2 - k_a)} \quad \text{Eq.86}$$

En el caso en que el perfil de concentraciones plasmáticas sea ajustado mediante un modelo exponencial como el que acabamos de describir, los parámetros del modelo pueden ser calculados de la siguiente manera:

$$k_{12} = \frac{C_2 \lambda_1 k_a + C_1 \lambda_2 k_a + C_3 \lambda_1 \lambda_2}{C_2 (k_a - \lambda_2) + C_1 (k_a - \lambda_1)} \quad \text{Eq.87}$$

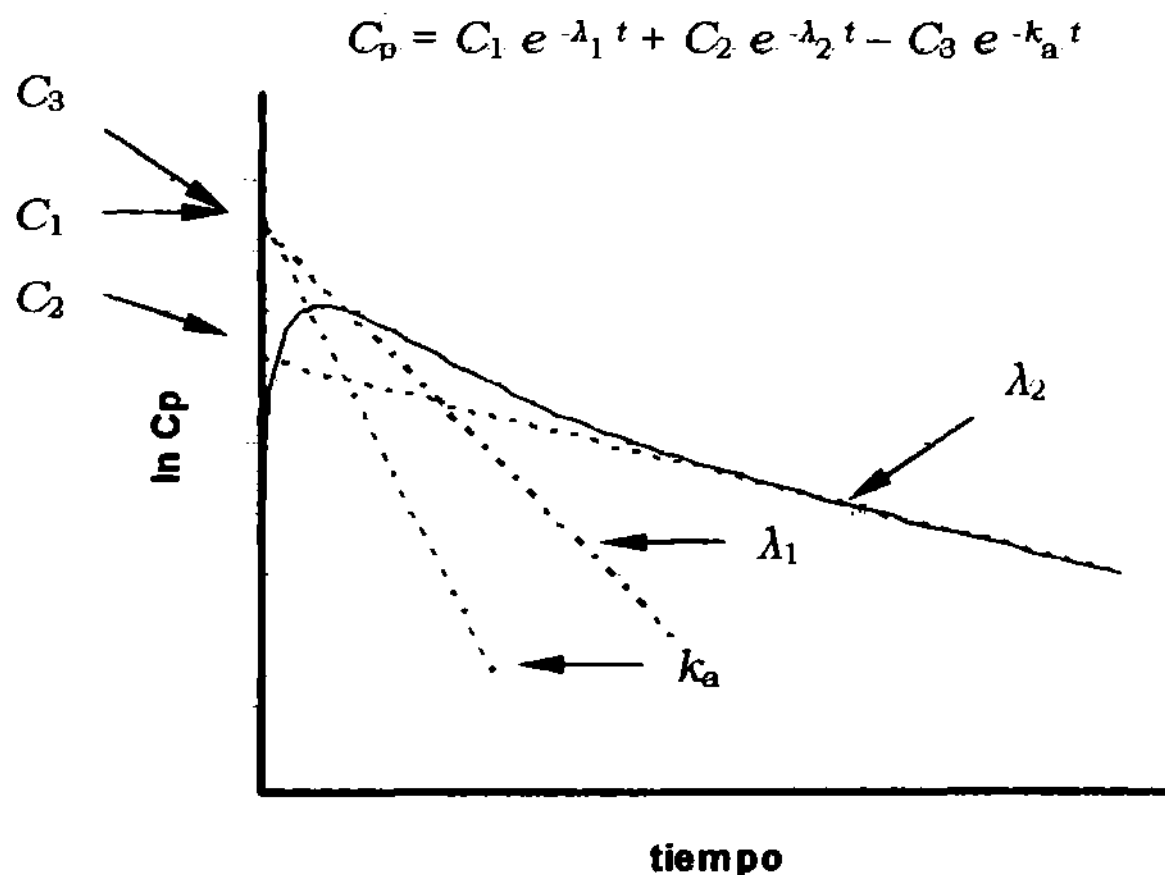


$$k_{10} = \frac{\lambda_1 \lambda_2}{k_{21}} \quad \text{Eq.88}$$

$$k_{12} = \lambda_1 + \lambda_2 - k_{21} - k_{10} \quad \text{Eq.89}$$

III.1.12.5. Método de las residuales o stripping aplicado al proceso de absorción de orden uno en un modelo de dos compartimientos.

En este caso, la estimación de la  $k_a$  se puede realizar mediante el método de las residuales de la siguiente manera: A partir de los valores de las concentraciones plasmáticas transformadas a logaritmos naturales se calculan los valores de  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  de la misma manera que en una administración intravenosa. El cálculo de  $C_3$  y  $k_a$  se realiza por regresión lineal de los valores de las residuales de la fase de absorción, las que se calculan restando los valores de las concentraciones plasmáticas durante la fase de absorción a los valores estimados de la fase de distribución. Lo anteriormente explicado se halla representado en la figura III.19.



**Figura III.19.** Gráfica semilogarítmica de concentración plasmática vs. tiempo en un modelo de dos compartimientos con administración extravascular. La curva está disecada en sus tres componentes: las fases de absorción, distribución y eliminación calculadas mediante el método de stripping o de las residuales. Las concentraciones plasmáticas pueden ser explicadas por tres ecuaciones exponenciales, las que describen una fase de absorción cuyos coeficientes y exponentes son:  $C_3$  y  $k_a$ , cuyos coeficientes y exponentes son  $C_1$  y  $\lambda_1$  y una fase de eliminación cuyos coeficientes y exponentes son  $C_2$  y  $\lambda_2$ . Este método no puede ser aplicado en el caso de existir un fenómeno de *flip-flop*.

Este modelo merece ciertas consideraciones, ya que un medicamento que luego de su administración intravenosa describe un perfil de concentración plasmática biexponencial asimilable a un modelo de dos compartimientos, luego de la administración extravascular a la mayoría de las veces presenta un perfil de concentraciones plasmáticas en donde es difícil llegar a distinguir una fase distributiva y la curva de concentraciones plasmáticas tiende a ser biexponencial mas que multiexponencial. Es decir que las características del medicamento le confieren al organismo la apariencia de un compartimiento más que de dos.

En estos casos es posible observar que cuando el valor de  $k_a$  se aproxima al valor de  $\lambda_1$  el perfil de concentraciones plasmáticas es consistente con un modelo triexponencial extravascular asimilable a un modelo de dos compartimientos. Sin embargo, cuando el valor de  $k_a$  se aproxima al valor de  $k_{21}$  el perfil plasmático es mejor descrito con un modelo de un compartimiento. En resumen es característico de un modelo de dos compartimientos que el valor de  $k_a$  sea mayor que  $k_{21}$  o muy cercano a  $\lambda_1$ .

Otra complicación que puede presentarse es que un fenómeno de *flip-flop* análogo al que se describió en el modelo de un compartimiento pueda presentarse haciendo difícil la diferenciación entre  $k_a$  y  $\lambda_1$ . De igual manera el único método confiable para solucionar ese problema es la realización de una administración de un bolo intravenoso y determinar los valores de  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  de manera independiente.

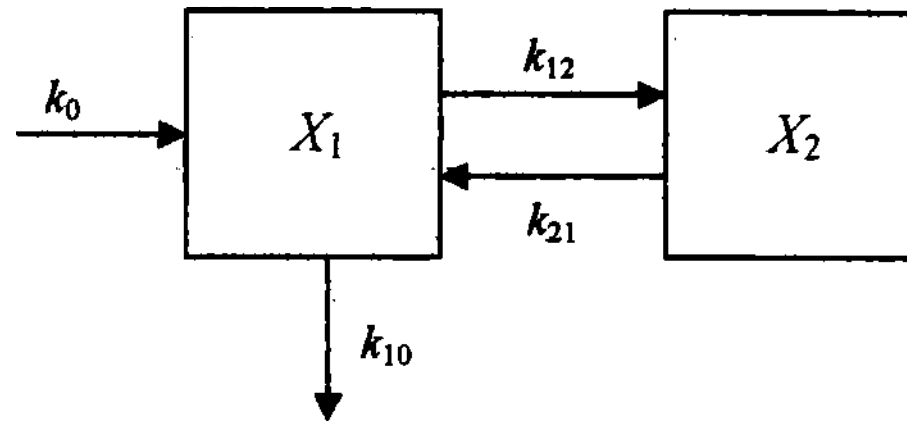
### III.1.12.6. El proceso de absorción de orden cero en un modelo de dos compartimientos

La variación de la cantidad de medicamento en el compartimiento central cuando el ingreso al mismo ocurre a una velocidad constante es explicada por las siguientes ecuaciones diferenciales, a partir de las cuales pueden ser calculadas las cantidades del medicamento en el compartimiento central en cualquier instante:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{12} + k_{10})X_1 + k_{21}X_2 + k_0 \quad \text{Eq. 90}$$

En donde  $X_1/dt$  es la derivada en función del tiempo de la cantidad de medicamento en el compartimiento central;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central y periférico en un instante determinado;  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  y  $k_{10}$  son las constantes de distribución, predistribución y eliminación de orden uno aparente y  $k_0$  es la constante de ingreso/absorción de orden cero.

Una representación esquemática de un modelo de dos compartimentos con absorción de orden cero es presentada en la figura III.20.



**Figura III.20.** Representación esquemática de un modelo de dos compartimentos con administración extravascular, donde  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico a un tiempo determinado;  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $k_{12}$ ;  $k_{21}$  y  $k_{10}$  son las constantes de distribución, predistribución y eliminación de orden uno aparente.

A partir de la integración de la ecuación 90 la  $C_p$  en el compartimento central en función del tiempo durante el proceso de absorción de orden cero es descrita por la siguiente ecuación:

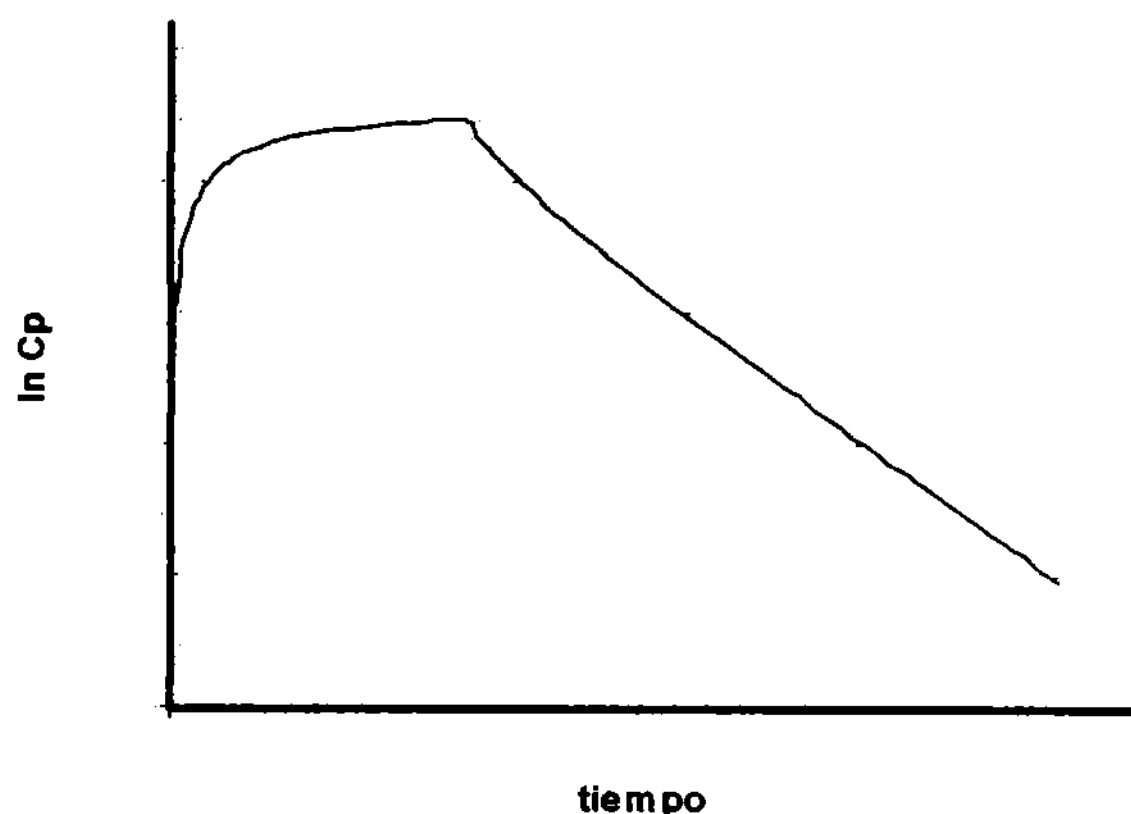
$$C_p = \frac{k_0(k_{21} - \lambda_1)e^{-\lambda_1 t}}{V_c(\lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1))} + \frac{k_0(k_{21} - \lambda_2)e^{-\lambda_2 t}}{V_c(\lambda_2(\lambda_1 - \lambda_2))} \quad \text{Eq. 91}$$

donde  $C_p$  es la concentración plasmática a un tiempo determinado;  $V_c$  es el volumen del compartimento central;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son las pendientes de las fases de distribución y eliminación;  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  y  $k_{10}$  son las constantes de distribución, predistribución y eliminación de orden uno;  $k_0$  es la constante de absorción/ingreso de orden cero y  $t$  es el tiempo. Esto ocurre durante el intervalo en donde  $0 < t < T$  en donde 0 es el tiempo inmediato anterior al inicio del proceso de absorción;  $t$  es el tiempo y  $T$  es la duración del proceso de absorción de orden cero. Cuando el proceso de absorción de orden cero ha concluido, es decir cuando  $t > T$ , la  $C_p$  es calculada según la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{k_0(k_{21} - \lambda_1)(e^{\lambda_1 T} - 1)e^{-\lambda_1 t}}{V_c(\lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1))} + \frac{k_0(k_{21} - \lambda_2)(e^{\lambda_2 T} - 1)e^{-\lambda_2 t}}{V_c(\lambda_2(\lambda_1 - \lambda_2))} \quad \text{Eq. 92}$$

donde  $t$  es el tiempo y  $T$  es la duración del proceso de absorción.

Una curva de concentración plasmática en un modelo de dos compartimientos con absorción de orden cero se presenta en la figura III.21.



**Figura III.21.** Grafica semilogarítmica de concentración plasmática vs. tiempo en un modelo de dos compartimientos en el que es operativo un proceso de absorción de orden cero. En la misma puede distinguirse el momento en el que el proceso de absorción finaliza y comienzan a predominar los procesos de distribución y eliminación. Una pequeña fase de distribución se insinúa al final del proceso de absorción.

#### III.1.12.7. El método de Loo & Riegelman

Se ha comprobado que los métodos basados en la aceptación de que el organismo se comporta como un único compartimiento no resultan en aceptables estimadas de las velocidades de absorción cuando se analiza un modelo de dos compartimientos. Estos métodos dan lugar no solo al cálculo de un incorrecto valor de  $k_a$ , sino que ocasionalmente son incapaces de definir el orden del proceso.

En el año 1968, J. C. K. Loo y S. Rielgeman<sup>(72)</sup> propusieron un método considerando la distribución del medicamento entre los compartimientos central y periférico. Este método de calculo permite realizar una discriminación mas precisa de los procesos de absorción de orden uno y cero. La gran limitante de este método es que para aplicar el mismo se requiere de los datos obtenidos a partir de los estudios de administración intravenosa y extravascular realizados en el mismo individuo. En este caso el valor de  $k_{10}$  es determinado en el estudio intravenoso.

La ecuación utilizada para general el grafico de absorción fraccional es análogo al método utilizado por Wagner y Nelson; (106) (107)

$$\frac{X_{a(t)}}{X_{a0-\infty}} = \frac{C_{p(t)} V_c + k_{10} V_c AUC_{0-\infty} + X_{p(t)}}{k_{10} V_c AUC_{0-\infty}} \quad \text{Eq. 93}$$

donde  $X_{a(t)}$  es la cantidad de medicamento absorbida a un tiempo dado;  $X_{a0-\infty}$  es la cantidad absorbida total y  $X_{p(t)}$  es la cantidad de medicamento presente en el compartimiento periférico a un tiempo determinado. El método de calculo de  $X_{p(t)}$  puede ser consultado en la bibliografía correspondiente (72). Considerando que  $Cl_B$  es calculado como  $k_{10} \cdot V_c$  y expresando el resultado en porcentaje tenemos que:

$$\% \text{ abs} = \frac{C_{p(t)} V_c + Cl_B AUC_{0-t} + X_{p(t)}}{Cl_B AUC_{0-\infty}} 100 \quad \text{Eq. 94}$$

donde % *abs* es el porcentaje de medicamento absorbido en función del tiempo transcurrido desde el inicio del proceso de absorción. Debe tenerse en cuenta que este porcentaje de fármaco absorbido corresponde a la fracción disponible para su absorción y no a la dosis administrada. La ventaja de este método, al igual que el descrito por Wagner y Nelson es que no existe previa aceptación del orden del proceso implicado, por lo que procesos de absorción complicados pueden llegar a ser modelizados.

### III.1.13. Modelos multicompartimentales

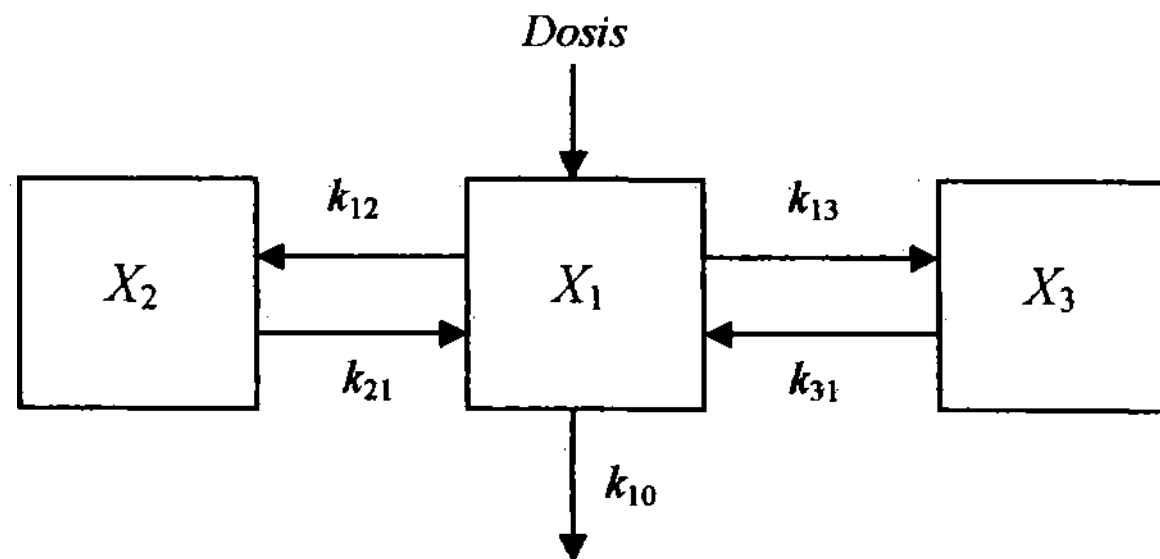
#### III.1.13.1. Concepto

El comportamiento farmacocinético de la mayoría de los medicamentos puede ser explicado con el modelo de dos compartimientos. No obstante pueden llegar a presentarse un variable número de compartimientos periféricos, lo que da lugar al desarrollo de modelos multicompartimentales. El desarrollo de estos modelos esta fuera del objetivo de este capítulo y del alcance de esta tesis doctoral, sin embargo, creemos conveniente describir en forma rápida y sencilla el mas común de estos modelos.

#### III.1.13.2. Modelo de tres compartimientos con administración intravascular

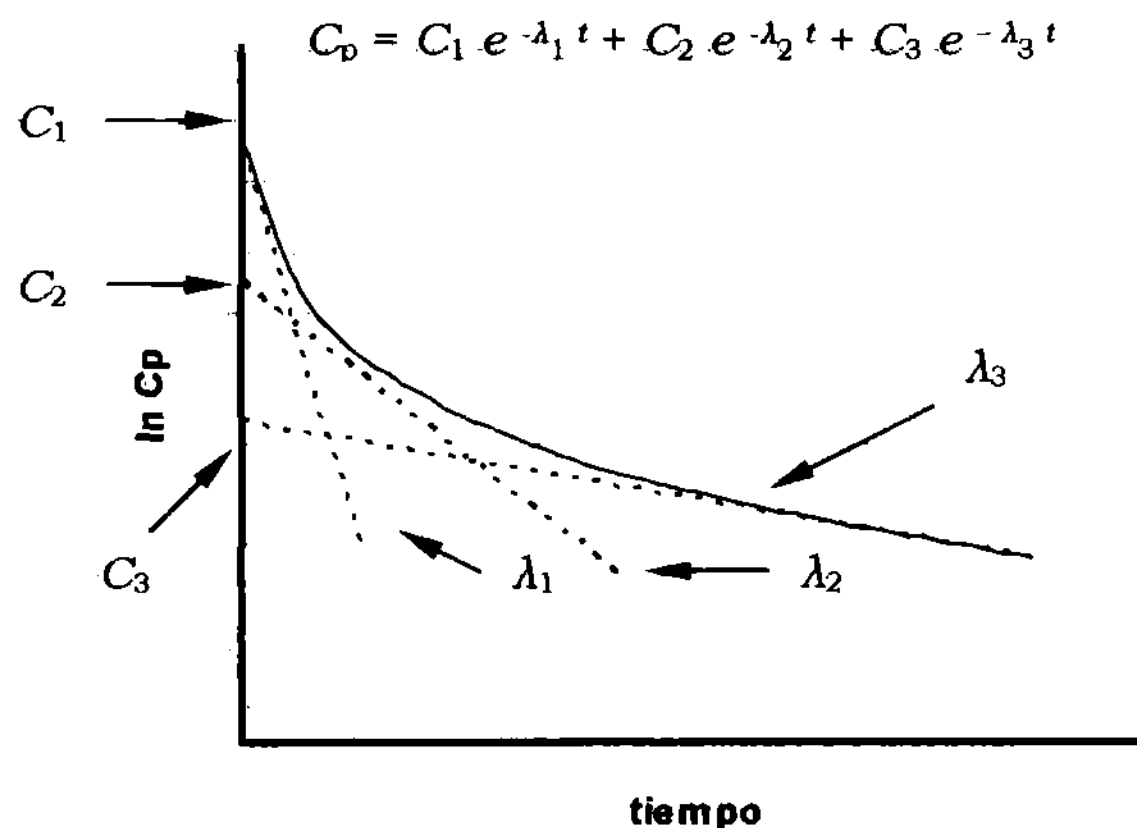
Con el desarrollo de técnicas analíticas que permiten cuantificar concentraciones cada vez menores de medicamento en plasma, el modelo de tres compartimientos comienza a tener un importante papel en la descripción y la explicación del comportamiento farmacocinético de muchos medicamentos. Este tipo de modelo se emplea generalmente para explicar perfiles de concentraciones plasmáticas en experimentos que se han conducido durante un largo periodo de tiempo.

En este caso se acepta que el medicamento se distribuye desde el compartimiento central hacia un compartimiento periférico superficial y otro profundo y las velocidades de distribución y redistribución son distintas para cada compartimiento y a su vez son menores que  $k_{10}$ . Esta situación se refleja en el modelo representado gráficamente en la figura III.22.



**Figura III.22.** Representación esquemática de un modelo de tres compartimientos con administración intravenosa donde  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central, periférico superficial y profundo a un tiempo determinado;  $k_{12}$  y  $k_{13}$  son las constantes de distribución hacia los compartimientos periférico superficial y profundo;  $k_{21}$  y  $k_{31}$  son las constantes de redistribución desde los compartimientos periférico superficial y profundo y  $k_{10}$  es la constante de eliminación desde el compartimiento central. Todos los procesos son de primer orden.

El perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo de un modelo de tres compartimientos con administración intravascular se presenta en la figura III.24.



**Figura III.24.** Gráfica semilogarítmica de concentración plasmática vs. tiempo en un modelo de tres compartimientos con administración intravenosa. La curva está disecada en sus tres componentes las fases de distribución rápida y lenta y la fase de eliminación calculadas mediante el método de stripping o de las residuales. Las concentraciones plasmáticas pueden ser explicadas por tres ecuaciones exponenciales, las que describen una fase de distribución rápida cuyos coeficientes y exponentes son  $C_1$  y  $\lambda_1$ , una fase de distribución lenta cuyos coeficientes y exponentes son  $C_2$  y  $\lambda_2$  y una fase de eliminación cuyos coeficientes y exponentes son  $C_3$  y  $\lambda_3$ .

El sistema de ecuaciones diferenciales que permite el cálculo de las cantidades de medicamento en el curso del tiempo en el compartimiento central a cada instante es el siguiente:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12} + k_{13})X_1 + k_{21}X_2 + k_{31}X_3 \quad \text{Eq. 95}$$

En donde  $dX_1/dt$  es la derivada de la velocidad de desaparición del medicamento desde el compartimiento central en función del tiempo;  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimientos central, periférico superficial y profundo a un tiempo determinado;  $k_{12}$  y  $k_{13}$  son las constantes de distribución hacia los compartimientos periférico superficial y profundo;  $k_{21}$  y  $k_{31}$  son las constantes de redistribución desde los compartimientos periférico superficial y profundo y  $k_{10}$  es la constante de eliminación desde el compartimiento central.

La integral de la ecuación 95 da como resultado la siguiente ecuación triexponencial con la cual se describe el perfil de disposición plasmática del modelo en cuestión.

$$C_p = C_1 e^{-\lambda_1 t} + C_2 e^{-\lambda_2 t} + C_3 e^{-\lambda_3 t} \quad \text{Eq. 96}$$

donde  $C_p$  es la concentración plasmática a un tiempo determinado,  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  son los coeficientes y  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ , y  $\lambda_3$  son las pendientes de las fases de distribución rápida, lenta y de eliminación, "e" es la base de los logaritmos naturales y  $t$  es el tiempo.

### **III.1.14. Análisis farmacocinético no compartimental**

#### **III.1.14.1. Definición**

En las secciones anteriores hemos utilizado métodos no compartimentales para la estimación de ciertos parámetros farmacocinéticos sin referirnos a ellos como tales. Conviene tener en cuenta que aunque el termino "no compartimental" es usado para definir el método, todo análisis no compartimental asume que al menos un compartimento existe en este caso el central, ya que la mayoría de los estudios farmacocinéticos se realizan a partir de las concentraciones medidas en plasma.

Para que el análisis no compartimental pueda ser aplicado, se debe trabajar en sistemas lineales, es decir que debe existir una relación directa entre las concentraciones plasmáticas y la cantidad de medicamento en el organismo. Considerando este último aspecto, todo análisis no compartimental tiene su análogo compartimental, ya que los perfiles plasmáticos pueden igualmente ser descriptos por ecuaciones exponenciales.

El método no compartimental fue aplicado por primera vez en la resolución de problemas farmacocinéticos en el año 1978 por Yamaoka y col., <sup>(111)</sup> y se basa en la teoría del momento estadístico. Esta teoría afirma que una curva de concentración plasmática puede ser considerada como una curva de distribución estadística de manera independiente de la vía de administración utilizada. Los primeros tres momentos estadísticos son los siguientes:

- Área bajo la curva (*AUC*) o *momento cero*.
- Tiempo medio de residencia (*MRT*) o *primer momento*.
- Varianza del tiempo medio de residencia (*VRT*) o *segundo momento*.

Estos momentos pueden ser calculados mediante integración numérica usando el método trapezoidal. Solamente los momentos *cero* y *primero* son usados en el análisis farmacocinético debido a que los momentos mayores aumentan el error cuya magnitud es inaceptable para este tipo de estudios.

#### III.1.14.2. Cálculo del área bajo la curva (*AUC*).

Cuando una curva de concentración plasmática como por ejemplo la hallada tras una administración i.v. puede ser explicada por medio de ecuaciones exponenciales, el *AUC* aritmética o estimada puede ser calculada de la siguiente manera;

$$AUC = \frac{C_1}{\lambda_1} + \frac{C_2}{\lambda_2} + \dots + \frac{C_n}{\lambda_n} \quad \text{Eq.97}$$

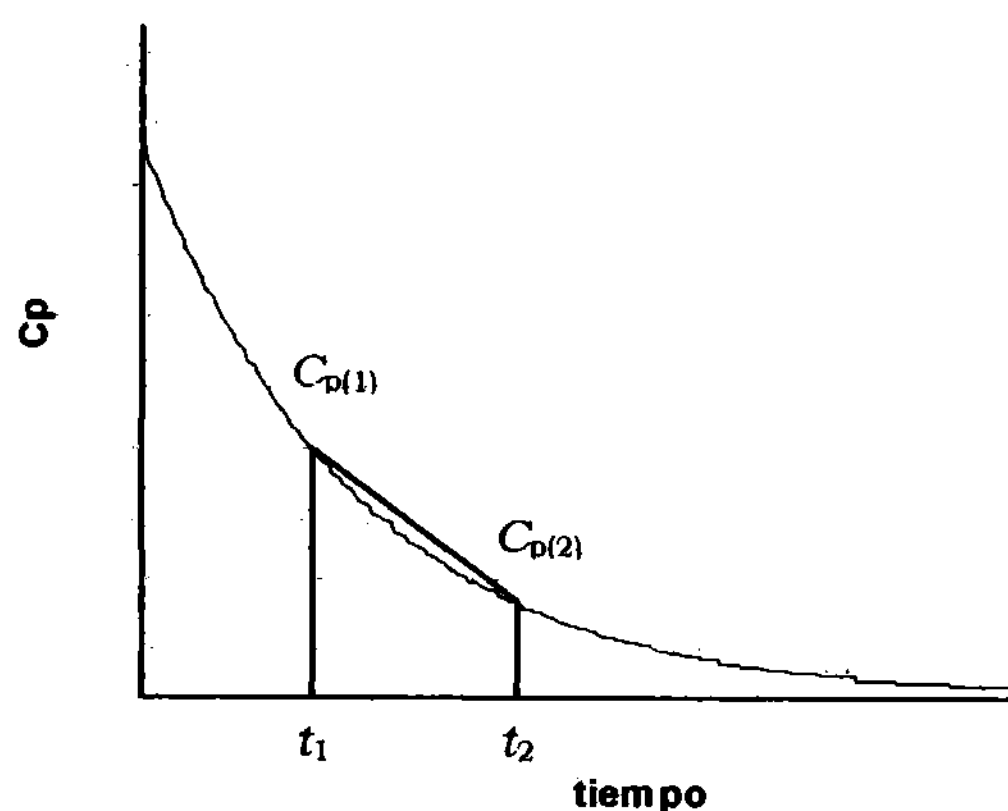
donde  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_n$  son los coeficientes y  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  y  $\lambda_n$  son los exponentes. Sin embargo en el método no compartimental el cálculo del *AUC* se realiza mediante el método trapezoidal, y la correcta aplicación de esta técnica es muy importante para realizar el cálculo de la biodisponibilidad (*F*).

Un perfil plasmático está compuesto por un número finito de concentraciones plasmáticas ( $C_p$ ) correspondientes a los tiempos ( $t$ ) de muestreo. En la figura III.24 se muestra que la  $C_{p(1)}$  corresponde al  $t_1$  y la  $C_{p(2)}$  corresponde al  $t_2$ . Aunque estas dos concentraciones determinan el segmento de una curva exponencial, nosotros podemos considerar que ambas pueden ser unidas por una línea recta descendente desde la  $C_{p(1)}$  hasta la  $C_{p(2)}$ . De esta manera el área delimitada por  $C_{p(1)} - C_{p(2)}$  y  $t_1 - t_2$  es un trapecio y el cálculo de su área de superficie se realiza por medio de la siguiente ecuación:

$$AUC_{t_1-t_2} = \frac{C_{p(1)} + C_{p(2)}}{2} (t_2 - t_1) \quad \text{Eq.98}$$



El área bajo la curva delimitada por las  $C_{p(1)}$  y  $C_{p(2)}$  y los tiempos  $t_1$  y  $t_2$  se encuentra representada en la figura III.24.



**Figura III.24.** Representación gráfica de un trapecio determinado por dos concentraciones plasmáticas  $C_{p(1)}$  y  $C_{p(2)}$  y sus respectivos tiempos  $t_1$  y  $t_2$  en una curva de eliminación exponencial.

La sumatoria de todas las AUCs parciales da como resultado al AUC comprendida desde el  $t_0$  hasta el tiempo de la última concentración medida ( $t_n$ ).

$$AUC_{0-t(\text{last})} = \sum_{i=1}^n \frac{C_{p(i)} + C_{p(i+1)}}{2} (t_{(i+1)} - t_{(i)}) \quad \text{Eq.99}$$

Sin embargo el AUC así calculada no está completa, ya que no ha sido calculada el área comprendida entre la última concentración medida ( $C_{p(\text{last})}$ ) e infinito ( $\infty$ ). Esta área corresponde a un triángulo y su área no puede ser calculada con la ecuación 86, ya que solo se dispone de una sola concentración plasmática ( $C_{p(\text{last})}$ ) y un solo tiempo real ( $t_{(\text{last})}$ ) y es necesario entonces utilizar la ecuación siguiente:

$$AUC_{n-\infty} = \frac{C_{p(\text{last})}}{\lambda_n} = C_{p(\text{last})} / \frac{C_{p(\text{last})-1} - C_{p(\text{last})}}{t_{(\text{last})} - t_{(\text{last})-1}} \quad \text{Eq.100}$$

donde  $AUC_{n-\infty}$  es el área bajo la curva desde la última concentración medida extrapolada al infinito;  $\lambda_n$  es la pendiente de la fase terminal;  $C_{p(\text{last})}$  es la última concentración plasmática medida;  $C_{p(\text{last})-1}$  es la concentración plasmática inmediata anterior a la última concentración medida;  $t_{(\text{last})}$  es el tiempo correspondiente a la última concentración medida y  $t_{(\text{last})-1}$  es el tiempo correspondiente a la concentración inmediata anterior a la última concentración medida.

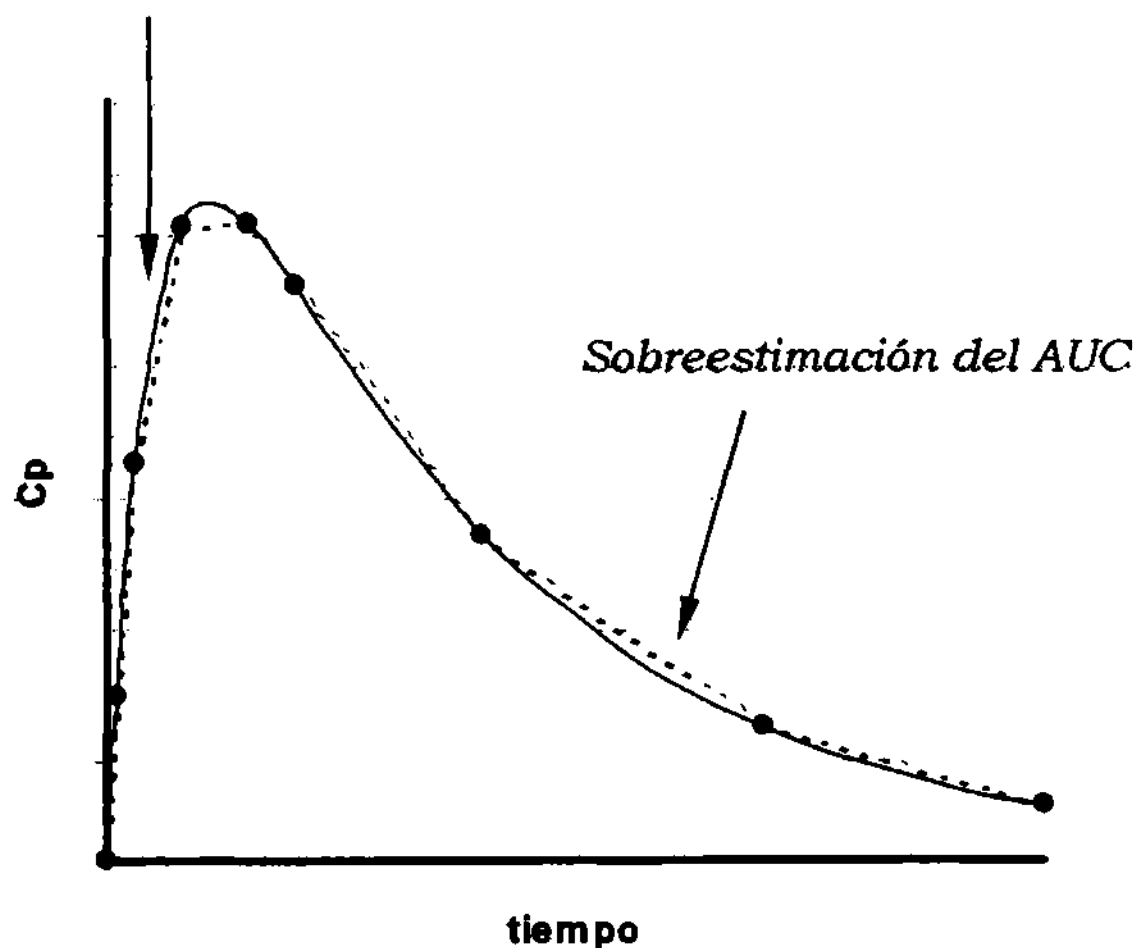
De manera que el área bajo la curva extrapolada al infinito es la suma de las dos áreas parciales anteriormente calculadas tal como se presenta aquí:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t(\text{last})} + AUC_{t(\text{last})-\infty} \quad \text{Eq.101}$$

En donde  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva desde tiempo cero al infinito;  $AUC_{0-t(\text{last})}$  es el área bajo la curva desde tiempo cero hasta la última concentración plasmática medida y  $AUC_{t(\text{last})-\infty}$  es el área bajo la curva desde la última concentración medida hasta el infinito.

En contraste con la sencillez de su procedimiento de cálculo este método acarrea un error, ya que asume que la relación entre las concentraciones plasmáticas; como por ejemplo ( $C_{p(1)}$  y  $C_{p(2)}$ ) es una función lineal y no una función exponencial. De lo anterior resulta que en los tramos descendentes de la curva las áreas de los trapecios estarán sobrestimadas, mientras que ocurre lo contrario en los tramos ascendentes de la curva, en donde las áreas de los trapecios se haya subestimada. Lo expuesto puede ser comprendido más fácilmente observado en la figura III.25.

*Subestimación del AUC*



**Figura III.25.** Gráfica aritmética de un perfil de concentraciones plasmáticas de un medicamento obtenido tras su administración extravascular. En la gráfica puede observarse que los puntos representan las concentraciones plasmáticas experimentales y la línea de puntos representa el área bajo la curva calculada por el método trapezoidal aritmético. El método resulta en una sobreestimación del valor de dichas áreas en la fase descendente de la curva mientras que por el contrario resulta en una subestimación de las mismas en la fase ascendente de la curva.

En esos casos el error puede minimizarse en los tramos descendentes de la curva utilizando el método trapezoidal logarítmico:

$$AUC_{t_1-t_2} = \frac{\ln C_{p(1)} - \ln C_{p(2)}}{t_2 - t_1} = \frac{(C_{p(1)} - C_{p(2)})(t_2 - t_1)}{\ln C_{p(1)} - \ln C_{p(2)}} \quad \text{Eq.102}$$

donde  $\ln C_{p(1)}$  y  $\ln C_{p(2)}$  son los logaritmos naturales de las concentraciones plasmáticas consideradas. Las limitaciones de este método son:

- No puede ser aplicado en las fases ascendentes de las curvas
- No puede ser aplicado entre dos concentraciones iguales o similares.
- No debe ser utilizado cuando en la porción descendente de la curva la  $C_{p(tasq)-1}$  es  $>$  que la  $C_{p(tasq)}$ .
- No es conveniente utilizarlo cuando los intervalos entre muestras son muy grandes.

### III.1.14.3. El tiempo medio de residencia (*MRT*)

El cálculo del *MRT* o primer momento estadístico se basa en la siguiente teoría; si se considera a una molécula "a" que ingresa al organismo, es imposible predecir el tiempo que permanecerá dentro del mismo, ya que puede ser eliminada rápidamente o puede permanecer igualmente por un periodo prolongado. Pero si por el contrario consideramos a un grupo de moléculas "n", entonces el tiempo de permanencia del conjunto de moléculas consideradas presentará un comportamiento más homogéneo y el tiempo de permanencia de las mismas puede ser estimado en forma estadística.

Por ejemplo, si un conjunto de "n" moléculas permanece en el organismo un periodo de tiempo "t", entonces  $n \times t$  es igual al tiempo medio de residencia acumulado por todas las moléculas. Dividiendo ese valor por el número de moléculas, entonces obtenemos el *MRT* para cada una de las mismas.

$$MRT = \frac{n \times t}{n} \quad \text{Eq.103}$$

donde *MRT* es el tiempo medio de residencia o primer momento estadístico para un grupo de moléculas;  $n$  es el número de moléculas ingresadas al organismo y  $t$  es el tiempo de permanencia de estas en el mismo. Siguiendo la misma línea de razonamiento y considerando varios conjuntos de moléculas, el *MRT* es la sumatoria de los *MRT* parciales de cada grupo de moléculas:

$$MRT = \frac{n_1 t_1}{n_1} + \frac{n_2 t_2}{n_2} + \dots + \frac{n_i t_i}{n_i} = \frac{n_1 t_1 + n_2 t_2 + \dots + n_i t_i}{n_1 + n_2 + \dots + n_i} \quad \text{Eq.104}$$

En un sistema farmacocinético lineal asumimos que existe una relación directa entre la  $C_p$  medida a un tiempo determinado y la cantidad de moléculas presentes en el organismo en ese mismo momento. Si en una curva de  $C_p$  versus tiempo consideramos una  $\Delta t$  y la  $C_p$  medida al tiempo final de ese intervalo, entonces tendremos que  $C_p \times \Delta t$  da como resultado el  $AUC$  correspondiente al conjunto de moléculas que permanecieron en el organismo durante ese intervalo de tiempo. Aceptando que el  $AUC_{0-\infty}$  es proporcional a todas las moléculas que estuvieron presentes en el organismo: tenemos que:

$$\frac{C_p \Delta t}{AUC_{0-\infty}} \quad \text{Eq.105}$$

entonces obtenemos el factor de proporcionalidad que multiplicado por el número de moléculas ingresadas al organismo:

$$\frac{C_p \Delta t}{AUC_{0-\infty}} n \quad \text{Eq.106}$$

me da el número de moléculas presentes en el organismo en el intervalo de tiempo considerado, el que a su vez multiplicado por el tiempo final del intervalo:

$$t \frac{C_p \Delta t}{AUC_{0-\infty}} n \quad \text{Eq.107}$$

me da el  $MRT$  acumulativo de todas las moléculas presentes en el organismo durante el intervalo considerado. De manera que dividiendo ese valor por el número de moléculas ingresadas al sistema:

$$\frac{t \frac{C_p \Delta t}{AUC_{0-\infty}} n}{n} \quad \text{Eq.108}$$

obtenemos el  $MRT$  para cada una de las moléculas presentes en el organismo durante el intervalo de tiempo considerado. Suprimiendo el término  $n$  e integrando el numerador obtenemos el  $MRT$  de todas las moléculas ingresadas al organismo.

$$MRT = \frac{\int_0^n t C_p dt}{AUC_{0-\infty}} = \frac{AUMC}{AUC} \quad \text{Eq.109}$$

El numerador se conoce como al área bajo el momento de la curva y el cálculo del mismo para un intervalo determinado se resuelve de la siguiente manera:

$$AUMC_{t_1-t_2} = \frac{C_{p(1)} + C_{p(2)}}{2} (t_2 - t_1) t_2 \quad \text{Eq.110}$$

De manera que el *AUMC* total se calcula por medio de la sumatoria de los valores de las *AUMC* parciales.

$$AUMC_{0-t(last)} = \sum_{i=1}^n \frac{C_{p_n} + C_{p_{n+1}}}{2} (t_{n+1} - t_n) t_{n+1} \quad \text{Eq.111}$$

De la misma manera que en el caso del *AUC*, aquí el *AUMC* queda inconclusa desde el tiempo correspondiente a la última concentración medida hasta el infinito. El cálculo del *AUMC* de la fracción extrapolada se realiza mediante la siguiente ecuación:

$$AUMC_{n-\infty} = \frac{t_{(last)} C_{p(last)}}{\lambda_n} + \frac{C_{p(last)}}{(\lambda_n)^2} \quad \text{Eq.112}$$

En donde  $t_{(last)}$  es el tiempo de la última concentración medida;  $C_{p(last)}$  es la última concentración medida y  $\lambda_n$  es la pendiente de la fase terminal.

En el caso de que el perfil de concentraciones plasmáticas haya sido ajustado con un modelo poliexponencial, al *AUMC* puede ser calculada de la siguiente manera:

$$AUMC = \frac{C_1}{(\lambda_1)^2} + \frac{C_2}{(\lambda_2)^2} + \frac{C_n}{(\lambda_n)^2} \quad \text{Eq.113}$$

El *MRT* así calculado es análogo al  $t_{1/2}$  calculado a partir de la  $k_{el}$ , y para el caso de un modelo de un compartimiento, el mismo puede ser calculado de la siguiente manera:

$$MRT = \frac{1}{k_{el}} \quad \text{Eq.114}$$

El *MRT* es el tiempo en el cual se han eliminado del organismo el 63.2% de las moléculas tal como lo prueba la siguiente relación:

$$C_p = C_{p(0)} e^{-k_{el} t} \quad \text{Eq.17}$$

Reemplazando  $t$  por *MRT* entonces tenemos que:

$$C_p = C_{p(0)} e^{-k_{el} MRT} \quad \text{Eq.115}$$

$$C_p = C_{p(0)} e^{-k_{el} \frac{1}{k_{el}}} \quad \text{Eq.116}$$

$$C_p = C_{p(0)} e^{-1} \quad \text{Eq.117}$$

$$C_p = C_{p(0)} 0.368 \quad \text{Eq.118}$$

Es decir que al  $MRT$  la  $C_p$  es el 36.8% de la  $C_{p(0)}$  por lo que el 63.2% restante ha sido eliminado. A partir entonces del momento cero y del primer momento se pueden obtener los siguientes parámetros farmacocinéticos:

$$Cl_B = \frac{Dosis}{AUC} \quad \text{Eq.20}$$

A partir de la ecuación 103 tenemos que:

$$k_{el} = \frac{1}{MRT} \quad \text{Eq.119}$$

$$t_{1/2} = 0.693 / (1/MRT) \quad \text{Eq.120}$$

$$t_{1/2} = 0.693 MRT \quad \text{Eq.121}$$

El  $t_{1/2}$  así calculado es el tiempo en que la cantidad de medicamento presente en el organismo ha disminuido hasta su mitad y no debe ser confundido con el  $t_{1/2}$  calculado a partir de la pendiente de la fase terminal. El  $MRT$  es también el momento en el que el  $V_{d(\text{área})}$  es igual al  $V_{d(ss)}$ .

$$V_{d(ss)} = \frac{Dosis}{AUC} MRT = \frac{Dosis}{AUC} \times \frac{AUMC}{AUC} = \frac{Dosis AUMC}{AUC^2} \quad \text{Eq.122}$$

El tiempo medio de absorción ( $MRT_{abs}$ ) es el tiempo promedio que las moléculas permanecen en el sitio desde donde son absorbidas y equivale al tiempo en el que el 63.2% de las mismas han sido absorbidas. Su cálculo se basa en el conocimiento del  $MRT$  calculado a partir de las administraciones intravenosa y extravascular.

$$MRT_{abs} = MRT_{ev} - MRT_{iv} \quad \text{Eq.123}$$

donde  $MRT_{ev}$  y  $MRT_{iv}$  son los tiempos medios de residencia calculados a partir de las administraciones extravascular e intravenosa respectivamente.

Para el caso de un modelo de un compartimiento la  $k_a$  se calcula de la siguiente manera:

$$k_a = \frac{1}{MRT_{abs}} \quad \text{Eq.124}$$

Por lo tanto:

$$t_{1/2} = 0.639 MRT_{abs} \quad \text{Eq.125}$$

En el caso de una perfusión intravenosa el  $MRT_{abs}$  se calcula dividiendo el tiempo de perfusión ( $t_{perf}$ ) por dos:

$$MRT_{abs} = \frac{t_{perf}}{2} \quad \text{Eq.126}$$

De manera que el tiempo medio de residencia total ( $MRT_{total}$ ) es igual a:

$$MRT_{total} = \frac{t_{perf}}{2} + MRT \quad \text{Eq.127}$$

De esta manera damos punto final a esta escueta introducción a los principales tópicos del análisis farmacocinético compartimental y no compartimental, los que serán indispensables la comprensión de los estudios farmacocinéticos presentados en esta Tesis Doctoral.

# **CAPÍTULO IV**

---

**Farmacocinética de ricobendazole  
luego de su administración intravenosa y  
extravasacular en terneros;  
influencia de la vía de administración  
y la formulación empleada sobre la  
cinética del proceso de absorción**



## **IV.1. INTRODUCCIÓN**

La concentración en función del tiempo de un medicamento en su sitio de acción esta determinada por una variedad de fenómenos que podemos considerarlos incluidos en dos procesos fundamentales; los procesos de disposición y los procesos de absorción.

La cantidad de medicamento que alcanza su sitio de acción esta determinada a su vez por dos factores; la cantidad de medicamento que ingresa al compartimento central o sea el grado de absorción del mismo y la velocidad con la que el medicamento es liberado desde el sitio de absorción hacia el compartimento central. Este último proceso es el responsable de las concentraciones alcanzadas en el compartimento central y del tiempo de permanencia o residencia dentro del organismo.

Aunque los procesos de disposición son los responsables en gran medida de la disponibilidad del medicamento en su sitio de acción, estos en general no son susceptibles de ser modificados, por lo que la cinética plasmática de un medicamento puede ser modificada con mayor facilidad mediante el control del proceso de absorción, el que se realiza en forma general de dos maneras:

- a- mediante el uso de distintas vías de administración.
- b- mediante la modificación de las formulaciones farmacéuticas.

Estas dos herramientas son muy importantes, ya que nos permiten explotar el perfil farmacológico de una molécula al mejorar su biodisponibilidad y prolongar su efecto logrando concentraciones sostenidas en el organismo. De esta manera vemos como cada día se presta más atención al desarrollo de nuevas formulaciones capaces de mejorar la eficacia de los medicamentos ya existentes antes que al desarrollo de nuevas moléculas. <sup>(11)</sup> <sup>(12)</sup> Por esta razón el desarrollo de formulaciones que controlen el proceso de absorción necesita de métodos para describir, cuantificar y explicar dicho proceso.

El análisis matemático de los datos es indispensable para conocer la mecánica de los procesos de absorción, no solo en su velocidad sino también en el orden con el que se llevan a cabo los mismos, lo cual es uno de los objetivos del estudio llevado a cabo en el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

## **IV.2. MATERIALES y MÉTODOS**

### **IV.2.1. Animales experimentales**

En este estudio se utilizaron seis terneros raza Holstein sanos y libres de parásitos con un peso comprendido entre los 150 y 170 kg. Durante las fases experimentales los animales permanecieron en potreros de alfalfa disponiendo de agua a voluntad.

### **IV.2.2. Medicamento administrado**

El medicamento administrado fue el metabolito activo de ABZ también conocido como albendazole sulfóxido (ABZSO) o ricobendazole (RBZ). El mismo fue administrado por las vías i.v., s.c. e i.r. según un diseño de cross-over con tres fases y con tres grupos de tratamiento compuestos de dos animales en cada, uno siendo el periodo de espera entre el desarrollo de las fases de cuatro semanas. Durante el desarrollo de la tercera fase un animal tuvo que ser retirado el experimento por razones ajenas al procedimiento experimental.

El RBZ fue administrado a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  en tres formas farmacéuticas:

- Como solución experimental al 10% en DMSO para su administración i.v.
- Como solución comercial al 15% (Syntiotol-R®) para su administración s.c.
- Como suspensión experimental al 10% para su administración i.r.

La solución comercial estaba formulada en un vehículo conteniendo propilenglicol, polivinilpirrolidona, ácido hidroclicórico y agua destilada presentando un pH final de 1.05. En todos los casos las muestras de sangre fueron tomadas por punción directa de la vena yugular a los siguientes tiempos pos administración: 1, 5, 15, 30, 45 y 60 minutos y 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48 y 60 hs y posteriormente depositadas en tubos heparinizados los que fueron refrigerados en recipientes con hielo. El plasma fue separado mediante centrifugación dentro de la hora de la extracción y almacenado a  $-20 \text{ °C}$  hasta su posterior análisis.

### **IV.2.3. Procedimiento analítico**

Ricobendazole y su metabolito inactivo ABZSO<sub>2</sub> fueron extraídos de la matriz plasmática mediante la técnica reportada por Galtier *et al.* <sup>(29)</sup> y su detección y cuantificación se realizó mediante Cromatografía Líquida de alta Resolución (HPLC) utilizando la técnica reportada por Marriner & Bogan, <sup>(62)</sup> Los límites de cuantificación de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> fueron de 0.07 y 0.08  $\mu\text{g/mL}$  y los porcentajes de recuperación fueron de 81.4% y 99.3% respectivamente.

#### IV.2.4. Análisis farmacocinético del RBZ tras su administración i.v.

El análisis farmacocinético de RBZ fue realizado mediante el uso de modelos descriptivos (exponenciales) y compartimentales. En ambos casos los diferentes parámetros fueron estimados mediante regresión lineal ponderada de mínimos cuadrados.

##### IV.2.4.1. Análisis mediante un modelo descriptivo o exponencial

Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de su administración intravenosa fueron ajustados a la siguiente ecuación poliexponencial:

$$C_{p(t)} = \sum_{i=1}^n C_i e^{-\lambda_i t} \quad \text{Eq.1}$$

donde  $C_{p(t)}$  es la concentración plasmática de RBZ al tiempo  $t$ ,  $C_i$  es el coeficiente del  $i$ ésimo término exponencial, “ $e$ ” es la base de los logaritmos naturales, y  $\lambda_i$  es el  $i$ ésimo término exponencial. Los parámetros iniciales fueron calculados mediante el método de las residuales, <sup>(38)</sup> los que fueron refinados mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados considerando los siguientes esquemas de ponderación de datos: 1,  $1/\sqrt{x}$ ,  $1/x$  y  $1/x^2$ . El mejor esquema de ponderación fue considerado como aquel el que logró una distribución homogénea y al azar de los valores residuales respecto el eje de las abscisas.

Basándonos en el test de MAICE <sup>(111)</sup> fue seleccionado un modelo de ajuste biexponencial.

$$C_p = C_1 e^{-\lambda_1 t} + C_2 e^{-\lambda_2 t} \quad \text{Eq.2}$$

donde  $C_p$  es la concentración plasmática al tiempo  $t$ ,  $C_1$  y  $C_2$  son los coeficientes de la ecuación exponencial que describen la curva de disposición plasmática,  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de la ecuación biexponencial asociados a las fases de distribución y eliminación y  $t$  es el tiempo. Las semividas de distribución ( $t_{1/2\lambda_1}$ ) y eliminación ( $t_{1/2\lambda_2}$ ) de la curva de disposición plasmática fueron calculadas de la siguiente manera:

$$t_{1/2\lambda_n} = \frac{0.693}{\lambda_n} \quad \text{Eq.3}$$

##### IV.2.4.2. Análisis mediante un modelo compartimental

A partir de la discriminación de un modelo de ajuste biexponencial un modelo bicompartimental fue seleccionado para describir la disposición plasmática del RBZ y explicar los procesos de eliminación, distribución y predistribución.

Este modelo es descrito por las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{21}X_2 \quad \text{Eq.4}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.5}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.6}$$

donde  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico a un tiempo  $t$ , y  $dX_1/dt$  y  $dX_2/dt$  son las diferenciales en función del tiempo de las cantidades de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico;  $V_c$  es el volumen aparente del compartimento central;  $k_{10}$  es la constante de primer orden aparente de eliminación,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de primer orden aparente de distribución y redistribución respectivamente.

Los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración i.v. de RBZ fueron analizados con el modelo descrito anteriormente, lo que permitió calcular los parámetros farmacocinéticos primarios:  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ .

El clearance corporal ( $Cl_B$ ) de RBZ fue calculado usando el método compartimental de la siguiente manera:

$$Cl_B = V_c \cdot k_{10} \quad \text{Eq.7}$$

donde  $D$  es igual a la dosis administrada y  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo calculada desde tiempo cero al infinito calculada por el método trapezoidal.

El débito cardíaco o volumen ventricular (mL/min) fue calculado en base a una aproximación alométrica mediante la aplicación de la siguiente ecuación:

$$Y = a P^b \quad \text{Eq.8}$$

donde  $Y$  es el débito cardíaco,  $a$  es el coeficiente alométrico,  $P$  es el peso expresado en kg y  $b$  es el exponente. Reemplazando términos y dividiendo el resultado por el peso del animal el débito cardíaco expresado en  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

$$Q = (187 P^{0.81})/P \quad \text{Eq.9}$$

donde  $Q$  es el débito cardíaco, 187 es el coeficiente alométrico y 0.81 es el exponente.<sup>(39)</sup>

El coeficiente de extracción ( $ER$ ) fue calculado usando la siguiente relación:

$$ER = Cl_B / Q \quad \text{Eq. 10}$$

Las constantes de disposición rápida ( $\lambda_1$ ) y lenta ( $\lambda_2$ ) asociadas a los procesos de distribución y de eliminación fueron calculadas de la siguiente manera:

$$\lambda_1 = \frac{k_{21} k_{10}}{\lambda_2} \quad \text{Eq. 11}$$

$$\lambda_2 = 0.5 \left[ (k_{12} + k_{21} + k_{10}) - \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 k_{21} k_{10}} \right] \quad \text{Eq. 12}$$

Las semividas de distribución y de eliminación fueron calculadas mediante el método descrito anteriormente (ver ecuación 3).

El volumen de distribución aparente ( $V_{ss}$ ) estimado al estado de equilibrio estacionario fue calculado de la siguiente manera:

$$V_{ss} = V_c \left( 1 + \frac{k_{12}}{k_{21}} \right) \quad \text{Eq. 13}$$

El volumen de distribución aparente al estado de pseudo equilibrio estacionario o también llamado volumen de área fue calculado de la siguiente manera:

$$V_{\text{area}} = \frac{Cl_B}{\lambda_2} \quad \text{Eq. 14}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento central al momento del estado de equilibrio estacionario ( $f_c$ ) se calculo de la siguiente manera:

$$f_c = k_{21} / (k_{12} + k_{21}) \quad \text{Eq. 15}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento central al momento del estado de pseudoequilibrio estacionario ( $f_c^*$ ) fue calculada mediante la siguiente expresión:

$$f_c^* = k_{21} - \lambda_2 / (k_{12} + k_{21} - \lambda_2) \quad \text{Eq. 16}$$

#### IV.2.5. Administraciones s.c. e i.r.

El  $AUC_{0-\infty}$  fue calculada mediante el método trapezoidal, los valores de  $t_{\max}$  y  $C_{\max}$  fueron estimadas por el modelo;  $t_{\max}$  coincide con el momento en que el proceso de absorción casi ha finalizado y que se corresponde con la máxima concentración plasmática estimada.

La biodisponibilidad ( $F$ ) fue estimada por medio de la siguiente relación:

$$F = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \quad \text{Eq.17}$$

donde  $AUC_{ev}$  y  $AUC_{iv}$  son las áreas bajo la curva de concentración plasmáticas en función del tiempo obtenidas tras las administraciones extravasculares e intravenosa respectivamente.

#### IV.2.5.1. Análisis mediante un modelo descriptivo o exponencial

La inspección de los perfiles plasmáticos de RBZ obtenidos luego de su administración por las vías s.c. e i.r. permitió distinguir una prolongada fase de incremento de las concentraciones plasmáticas que podría asociarse al proceso de absorción y una fase de eliminación. Los datos de concentración plasmática intentaron ajustarse con el siguiente modelo biexponencial:

$$C_p = C_2 e^{-k_{el} t} - C_1 e^{-k_a t} \quad \text{Eq.18}$$

donde  $k_{el}$  y  $k_a$  son las constantes de primer orden de eliminación y absorción aparente respectivamente. Sin embargo los perfiles plasmáticos no pudieron ser ajustados satisfactoriamente con el modelo exponencial. Estos presentaron una fase de eliminación cuya pendiente no difiere de la obtenida tras la administración i.v. lo que sugiere que la fase de absorción no puede ser satisfactoriamente explicada con el uso de un solo término exponencial.

#### IV.2.5.2. Discriminación del orden del proceso de absorción

En vista de lo expuesto a partir de los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de su administración s.c. e i.r. se procedió a la caracterización de la cinética de absorción mediante la construcción de curvas de porcentaje de medicamento presentes en el sitio de absorción mediante el método de Loo-Riegelman, <sup>(72)</sup> el que se encuentra explicado en el capítulo III.

Las graficas de las fracciones de medicamento ingresado a la circulación sistémica por intervalo de tiempo considerado fueron construidas de la siguiente manera:

$$Int = t_n - t_{n-1} \quad \text{Eq.19}$$

donde  $Int$  es el intervalo de tiempo considerado, en este caso se estableció en dos horas,  $t_n$  es el tiempo final del intervalo considerado y  $t_{n-1}$  es el tiempo del comienzo del intervalo considerado.

La fracción de la cantidad ingresada a la circulación sistémica por intervalo considerado fue estimada de la siguiente manera:

$$\%_{in} = \%_{n-1} - \%_n \quad \text{Eq.20}$$

donde  $\%_{in}$  es la fracción de la cantidad de medicamento ingresado a la circulación sistémica;  $\%_{n-1}$  y  $\%_n$  son los porcentajes de medicamento remanentes en el sitio de absorción calculados anteriormente al principio y al final del periodo considerado.

Las graficas de las cantidades de medicamento absorbible remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo fueron construidas de la siguiente manera:

$$CR_{(t)} = (D F \%_{n(t)}) / 100 \quad \text{Eq.21}$$

donde  $CR_{(t)}$  es la cantidad de medicamento absorbible remanente en el sitio de absorción en función del tiempo;  $D$  es la dosis administrada;  $F$  es la fracción biodisponible y  $\%_{n(t)}$  es el porcentaje de medicamento absorbible remanente en el sitio de absorción a un tiempo determinado.

Las curvas de cantidad de fármaco absorbible remanentes en el sitio de absorción obtenidas tras las administraciones s.c. e i.r. fueron mejor ajustadas mediante una ecuación de primer grado:

$$y = b - a x \quad \text{Eq.22}$$

donde  $y$  es la variable dependiente;  $b$  es el punto de intersección de la recta en el eje de las ordenadas,  $a$  es la constante que rige el crecimiento de la función y  $x$  es la variable independiente. Reemplazando los términos tenemos que:

$$CR_{(t)} = (FD) - k_0 t \quad \text{Eq.23}$$

donde  $CR_{(t)}$  es la cantidad de medicamento remanente en el sitio de absorción a un tiempo dado;  $(FD)$  es la cantidad disponible de medicamento para su absorción;  $k_0$  es la constante de ingreso de orden cero aparente y  $t$  es el tiempo.

#### IV.2.5.3. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero

En base a los resultados obtenidos se propuso un modelo bicompartimental con absorción de orden cero para estudiar el comportamiento farmacocinético del RBZ

administrado por las vías s.c. e i.r. como se presenta en la Figura IV.10. Este modelo es descrito por las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{21}X_2 + k_0 \quad \text{Eq.24}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.25}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.26}$$

donde los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  fueron estimados anteriormente a partir de los perfiles de administración i.v.

En el caso de los modelos con absorción de orden cero el  $t_{\max}$  corresponde al tiempo que dura el proceso de absorción ( $t_{\text{abs}}$ ) el que es estimado por el modelo y  $C_{\max}$  coincide con este momento y puede ser estimada de la siguiente manera:

$$C_{\max} = \frac{k_0(k_{21} - \lambda_1)(e^{-\lambda_1 t_{\text{abs}}})}{V_c(\lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1))} + \frac{k_0(k_{21} - \lambda_2)(e^{-\lambda_2 t_{\text{abs}}})}{V_c(\lambda_2(\lambda_1 - \lambda_2))} \quad \text{Eq.27}$$

Todos los símbolos fueron explicados anteriormente.

#### IV.2.6. Análisis farmacocinético simultaneo de los perfiles i.v., s.c. e i.r.

Los sistemas de ecuaciones diferenciales utilizadas para las administraciones i.v. y extravasculares fueron integrados para analizar los tres perfiles en forma simultánea permitiendo de esa manera calcular los mejores valores estimados de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  y  $k_0$ .

#### IV.2.7. Análisis farmacocinético de ABZSO2

Los perfiles plasmáticos de ABZSO2 fueron analizados mediante estimación de las AUCs por trapezoidal,  $t_{\max}$  y  $C_{\max}$  fueron obtenidos mediante inspección visual de los mencionados perfiles. La relación entre las AUCs de ABZSO2 y RBZ (SO2/RBZ), fueron calculadas por medio de la siguiente relación:

$$\text{SO2/RBZ} = \frac{AUC_{0-\infty} \text{ ABZSO2}}{AUC_{0-\infty} \text{ RBZ}} \quad \text{Eq.28}$$

Los símbolos fueron explicados anteriormente.



#### IV.2.8. Estudio de simulación

El perfil de concentración plasmática de RBZ obtenido tras su administración s.c. o i.r. fue reconstruido utilizando un modelo bicompartimental de administraciones múltiples.

Se utilizó este modelo en base a la hipótesis propuesta de que el RBZ administrado por vía s.c. o i.r. ingresa a la circulación sistémica en forma discontinua asemejándose a pulsos de absorción, los que varían tanto en la duración, la magnitud de la cantidad de medicamento absorbida en cada uno de ellos como del intervalo entre los mismos. El estudio se llevo a cabo con el programa WinNonlin, Standard Edition Scientific Consulting Inc. Version 1.1.

El modelo bicompartimental se basó en los parámetros farmacocinéticos pertenecientes a un animal representativo del grupo siendo los mismos:

$$V_c = 216 \text{ mL.kg}^{-1}$$

$$k_{10} = 0.0095 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{12} = 0.1945 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{21} = 0.0985 \text{ min}^{-1}$$

La absorción del RBZ se explica mediante un proceso de orden uno. El valor de la constante de orden uno aparente fue fijado de manera arbitraria, siendo su valor:

$$k_{01} = 0.02 \text{ min}^{-1}$$

##### VI.2.8.1. Primer estudio

En este estudio se simulo un proceso de administraciones extravasculares múltiples con un esquema de dosis constante administrada a intervalos regulares cuyos valores se presentan a continuación:

$$\text{Numero de dosis} = 9$$

$$\text{Dosis} = 400 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$$

$$\text{Intervalo entre dosis} = 90 \text{ minutos}$$

Como en la simulación se consideró una biodisponibilidad sistémica del 100%, la dosis total administrada se estimó como  $(F \times 7.5 \text{ mg.kg}^{-1})/9$ , siendo  $F$  un valor similar al obtenido experimentalmente. Las concentraciones plasmáticas fueron calculadas con un intervalo de 5 minutos desde el minuto 0 hasta el minuto 2500.

#### IV.2.8.2. Segundo estudio

Los valores de concentración plasmática obtenidos en el estudio de simulación precedente fueron analizados mediante un modelo de dos compartimentos con un proceso de absorción de orden cero. Los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  fueron los mismos valores fijados para la realización del estudio precedente, liberando al programa para ajustar los datos mediante el cálculo de la constante de orden cero aparente ( $k_0$ ) y del tiempo de absorción ( $t_{abs}$ ).

#### IV.2.8.3. Tercer estudio

En este estudio un modelo bicompartimental de administraciones múltiples con absorción de primer orden fue simulado. La magnitud de la dosis administrada y el valor de los intervalos entre las administraciones fueron modificados arbitrariamente de manera que no fueran regulares. Como en la simulación se consideró una biodisponibilidad sistémica del 100%, la dosis total administrada se estimó como  $F \times 7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , siendo  $F$  un valor similar al obtenido experimentalmente. El número de administraciones, tiempo de realización de las mismas, intervalos entre ellas y magnitud de las dosis se presentan en la siguiente tabla:

**Tabla IV.1.** Numero de administraciones, tiempo de realización de las mismas, intervalos entre ellas y magnitud de las dosis utilizadas en el estudio de simulación.

Nº de dosis	Tiempo (minutos)	Intervalo (minutos)	Dosis ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )
1	0		500
2	90	90	428
3	200	110	480
4	350	150	510
5	410	60	520
6	550	140	450
7	650	100	500

Las concentraciones plasmáticas fueron calculadas con un intervalo de 5 minutos desde el minuto 0 hasta el minuto 2500.

#### IV.2.9. Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa MICROSTAT (1978-85 by Ecosoft, Inc.). Los valores de las variables farmacocinéticas hallados en cada una de las experiencias realizadas fueron promediados y expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar de la misma. Sobre la base de estos resultados se aplicó el análisis paramétrico de la Varianza. El límite de probabilidad fue establecido en 0.05.

## IV.3. RESULTADOS

### IV.3.1. Análisis farmacocinético básico

Una importante reacción tisular caracterizada por un edema organizado se presentó en la zona de inyección permaneciendo por un lapso de tres días. Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos su administración por las vías i.v., s.c. e i.r. se presentan en la figura IV.1. El análisis de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. pudo ser ajustado mediante un modelo biexponencial, por lo que un modelo bicompartimental fue seleccionado para explicar la farmacocinética del RBZ en bovinos. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental de estos perfiles se presentan en la tabla IV.2. Los valores promedio  $\pm$  desvío estándar de las constantes de las fases terminales y sus correspondientes semividas de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras las administraciones i.v., s.c. e i.r. se presentan en la tabla IV.3. No se encontraron diferencias entre las pendientes de las fases terminales de las administraciones i.v., s.c. e i.r. Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de su administración s.c. e i.r. no pudieron ser adecuadamente descriptos por un modelo exponencial clásico tal como se presenta en las figuras IV.2. y IV.3.

### IV.3.2. Discriminación del orden del proceso de absorción (administración s.c.)

El método de Loo-Riegelman <sup>(72)</sup> permitió discriminar un proceso de orden cero para la absorción del RBZ. Las graficas de porcentaje de RBZ remanente en el sitio de absorción en función del tiempo muestran que la desaparición del RBZ se produce a una velocidad constante (Figura IV.4.) Este fenómeno se pone de manifiesto en las gráficas en donde se representan los porcentajes de la dosis administrada que ingresan a la circulación sistémica en un intervalo de tiempo considerado (2 hs) en donde los mismos tienden a presentar valores similares e independientes del tiempo de absorción (Figura IV.5.). Los valores estimados de las cantidades de RBZ remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo pudieron ser mejor ajustadas por medio de una ecuación de primer grado, siendo en este caso el valor de la constante el equivalente a  $k_0$  (Figura IV.6.). Los valores promedio  $\pm$  desvío estándar de  $k_0$  estimados por el método de Loo-Riegelman <sup>(72)</sup> se presentan en la tabla IV.4.

### IV.3.3. Discriminación del orden del proceso de absorción (administración i.r.)

Al igual que en el caso de la administración s.c., el método de Loo-Riegelman <sup>(72)</sup> permitió discriminar un proceso de orden cero para la absorción del RBZ tras su administración i.r. Las graficas de porcentaje de RBZ remanente en el sitio de absorción en función del tiempo muestran que la desaparición del RBZ también se produce a una velocidad constante (Figura IV.7.). De la misma manera que en s.c. el fenómeno se pone de

manifiesto en las graficas en donde se representan los porcentajes de la dosis administrada que ingresan a la circulación sistémica en un intervalo de tiempo considerado (2 hs) en donde los mismos tienden a presentar valores similares e independientes del tiempo de absorción (Figura IV.8.). De la misma manera las cantidades estimadas de RBZ remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo pudieron ser mejor explicadas por medio de una ecuación de primer grado siendo en este caso el valor de la constante el equivalente a  $k_0$  (Figura IV.9.). Los valores de  $k_0$  estimados para cada animal se presentan en la tabla IV.4.

#### **IV.3.4. Análisis farmacocinético individual**

Los valores de  $k_0$  fueron estimados mediante análisis de los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras su administración s.c. e i.r. mediante un modelo bicompartimental fijando los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  de cada animal que fueran estimados a partir del análisis de los perfiles de concentraciones plasmáticas obtenidas luego de la administración de RBZ por vía i.v. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el RBZ luego de su administración s.c. e i.r. se presentan en la tabla IV.6.

#### **IV.3.5. Análisis farmacocinético simultáneo**

El modelo utilizado para analizar en forma simultánea los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras la administración i.v., s.c. e i.r. se encuentra representado en la figura IV.10. y el ajuste logrado con el modelo para cada perfil en un animal representativo del grupo se presenta en la figura IV.11. Los parámetros farmacocinéticos del RBZ tras su administración i.v. obtenidos mediante análisis farmacocinético simultáneo se presentan en la tabla IV.5. y los parámetros farmacocinéticos calculados mediante análisis farmacocinético simultáneo de los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras su administración s.c. e i.r. se presentan en la tabla IV.6. Los valores de  $k_0$  estimados por los métodos de Loo-Riegelman <sup>(72)</sup> y por modelización en las administraciones s.c. e i.r. se presentan en las tablas IV.7. y IV.8. Solo en el caso de la administración s.c. el valor estimado de  $k_0$  mayor que el estimado por los métodos de deconvolución.

#### **IV.3.6. Análisis farmacocinético individual versus análisis simultáneo**

Los valores de los parámetros farmacocinéticos estimados por análisis individual y simultáneo de los perfiles de concentración plasmática de RBZ tras su administración i.v., s.c., e i.r. expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar se presentan en las tablas IV.5. y IV.6. No se hallaron diferencias entre los valores debidas a la metodología utilizada.

#### **IV.3.7. Valores finales**

Los valores de los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados por análisis simultáneo de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras su administración i.v., s.c. e i.r. expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar se presentan en la tabla IV.9. Los valores de la fracción de RBZ presentes en el compartimento central y el compartimento periférico, como el coeficiente de extracción estimado se presentan en la tabla IV.10. Los perfiles de concentración plasmática de ABZSO<sub>2</sub> obtenidos tras la administración de RBZ por las vías i.v., s.c. e i.r. se presentan en la figura IV.12.

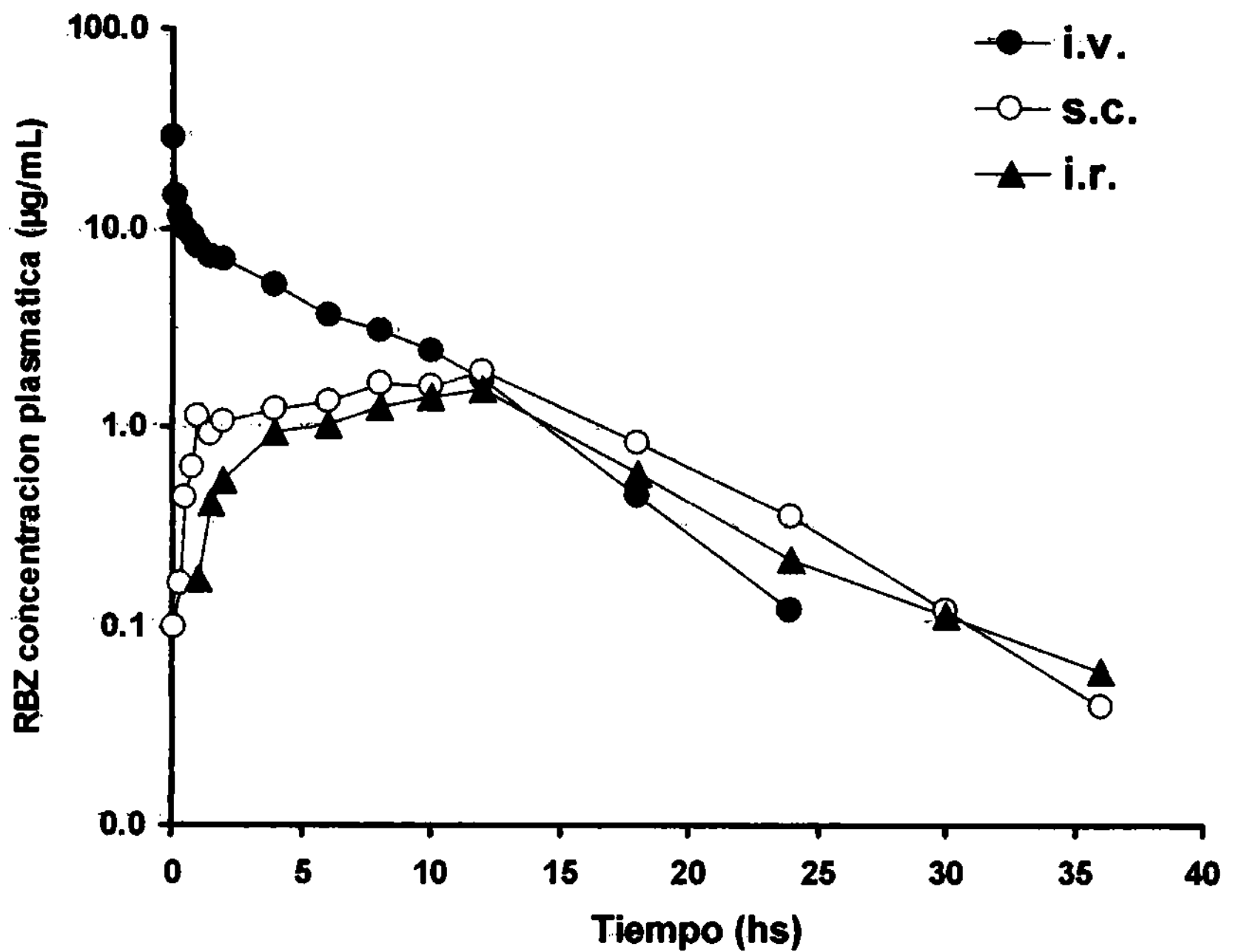
Los valores de los parámetros farmacocinéticos de ABZSO<sub>2</sub> obtenidos tras la administración i.v., s.c., e i.r. de RBZ expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar se presentan en la tabla IV.11. No se encontraron diferencias entre el comportamiento farmacocinético del RBZ administrado por las vías s.c. e i.r., mientras que en el caso del ABZSO<sub>2</sub> el valor de  $C_{max}$  observado en s.c. fue menor al observado en i.v. En el caso de la relación SO<sub>2</sub>/RBZ los valores obtenidos en las tres vías de administración fueron diferentes entre sí, siendo el valor obtenido en i.v. el más pequeño de los tres.

#### **IV.3.8. Simulación**

El primer estudio se realizó considerando un modelo de dos compartimientos con administraciones múltiples a intervalos regulares y con absorción de primer orden. Tal como se aprecia en la figura IV.13., las concentraciones plasmáticas tienden a alcanzar un estado de meseta.

En el segundo estudio los datos de concentración plasmática obtenidos en el primer estudio de simulación pudieron ser explicados mediante un modelo de perfusión intravenosa a débito constante tal como puede ser apreciado en la figura IV.14. Estos resultados permiten considerar que la complejidad de un proceso de absorción discontinuo puede ser explicada por medio de un modelo sencillo como el utilizado precedentemente.

Como resultado del tercer estudio de simulación un perfil de administraciones múltiples de diferente magnitud a dosis e intervalos irregulares es presentado en la figura IV.15. Un perfil plasmático como ese sería muy difícil de ajustar mediante un modelo de administraciones múltiples no solo por la irregularidad en el intervalo de los pulsos de absorción y la magnitud de los mismos, sino por la imposibilidad de predecir el número de los mismos, lo que obliga a la búsqueda de un modelo que resuma el fenómeno esencial del proceso de absorción. Por otra parte las concentraciones plasmáticas consideradas a los tiempos de muestreo experimental constituyen un obstáculo en la descripción de los perfiles durante la fase de absorción tal como se presenta en la figura IV.16.



**Figura IV.1.** Concentraciones plasmáticas de RBZ obtenidas tras su administración a terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. en forma de suspensión experimental al 10%. En todos los casos la dosis administrada fue de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor medio ( $n = 6$ , excepto i.r.  $n = 5$ ).

**Tabla IV.2.** Parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio ± desvío estándar.

Parámetros	Promedio ± DE
$C_p(0)$ (µg/mL)	34.5 ± 14.06
$A_1$ (µg/mL)	24.5 ± 10.7
$\lambda_1$ (min <sup>-1</sup> )	0.37 ± 0.081
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	1.9 ± 0.44
$A_2$ (µg/mL)	10.1 ± 2.77
$\lambda_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.0031 ± 0.0002
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	225 ± 15
$k_{10}$ (min <sup>-1</sup> )	0.0102 ± 0.0022
$k_{12}$ (min <sup>-1</sup> )	0.2507 ± 0.071
$k_{21}$ (min <sup>-1</sup> )	0.1127 ± 0.0178
$V_c$ (mL/kg)	247 ± 94
$V_{ss}$ (mL/kg)	767 ± 234
$V_{area}$ (mL/kg)	784 ± 244
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.40 ± 0.68
$AUC_{0-clast}$ (µg.min/mL)	3681 ± 782
$AUC_{0-\infty}$ (µg.min/mL)	3716 ± 789

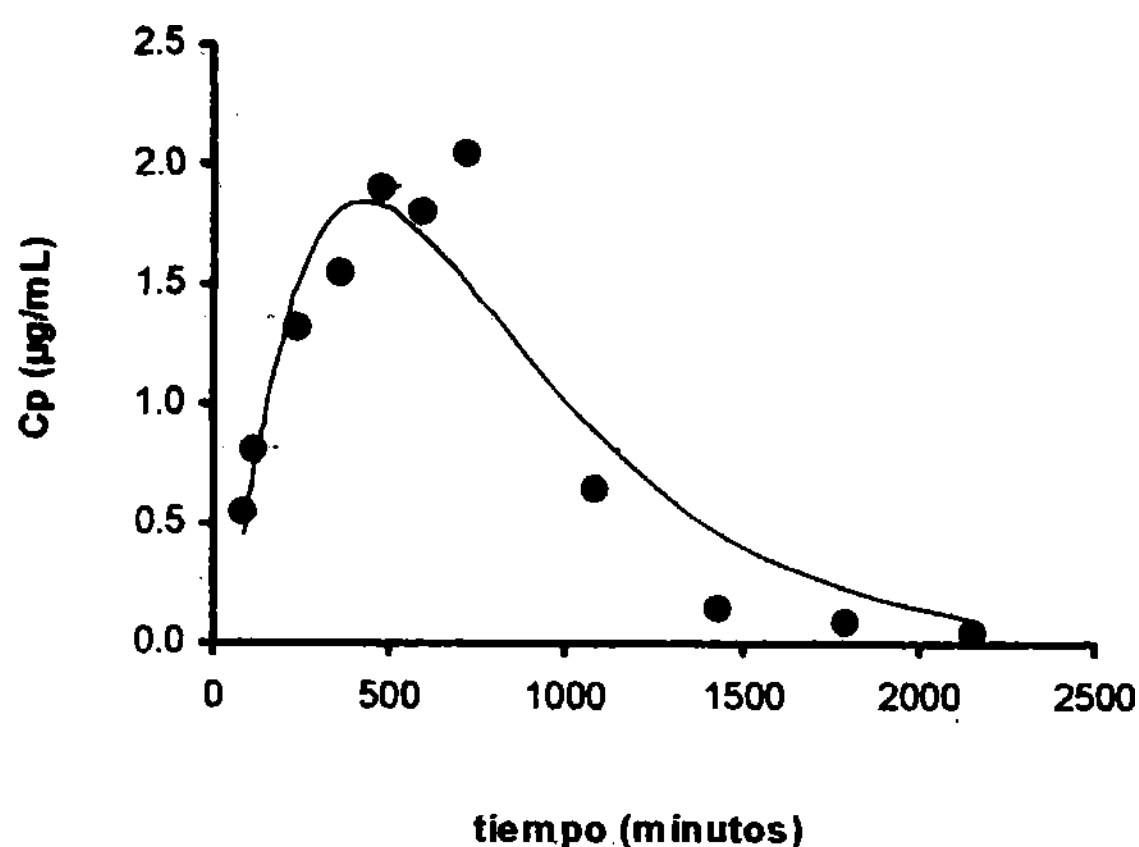
$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{area}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs. tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal.

**Tabla IV.3.** Valores de la pendiente de la fase terminal y semividas de RBZ después de su administración en terneros por vía i.v. de una solución experimental al 10% en DMSO, por vías s.c. de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. de una suspensión experimental al 10% a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

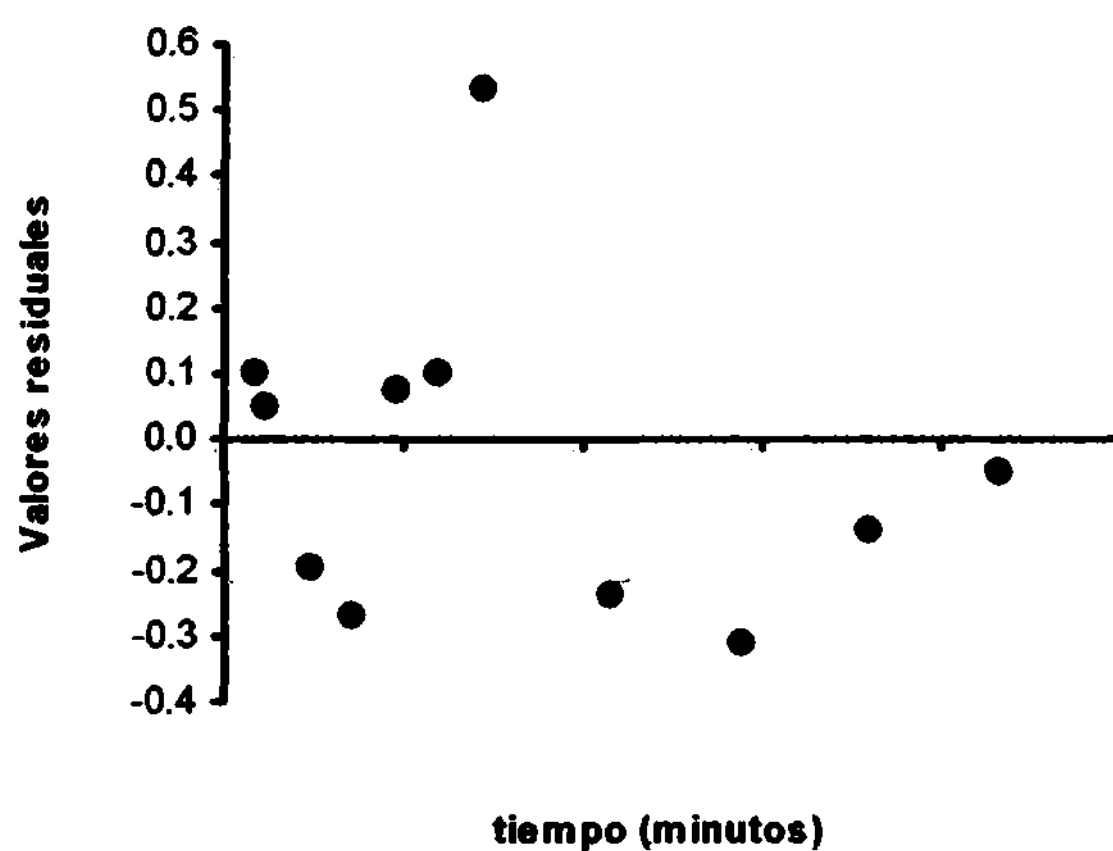
Parámetros	Análisis individual		
	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$\lambda_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.0031 $\pm$ 0.0002	0.0029 $\pm$ 0.0004	0.0025 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	225 $\pm$ 15	239 $\pm$ 28	286 $\pm$ 48

$\lambda_2$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son el exponente y la semivida de la fase de disposición lenta.

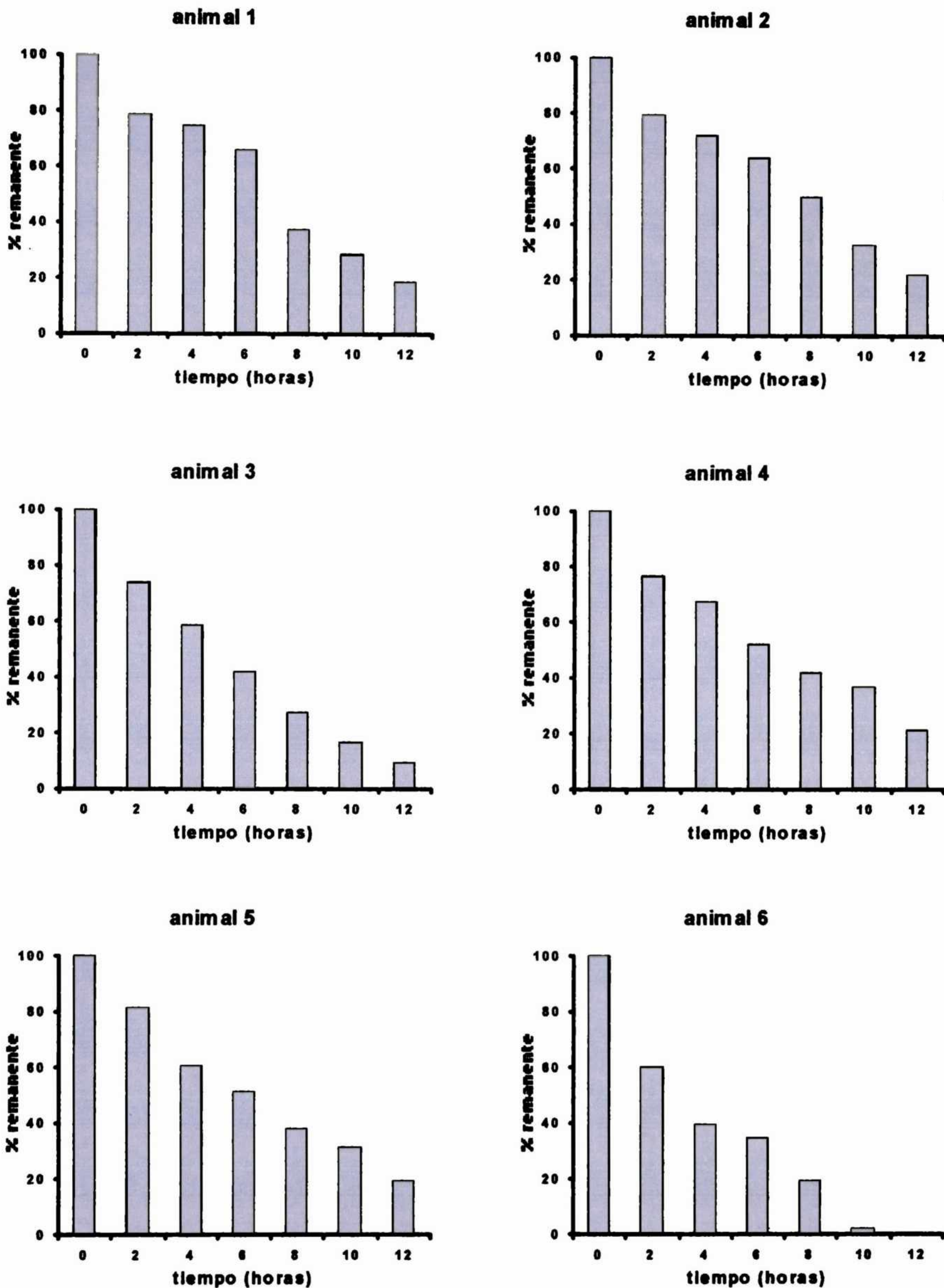




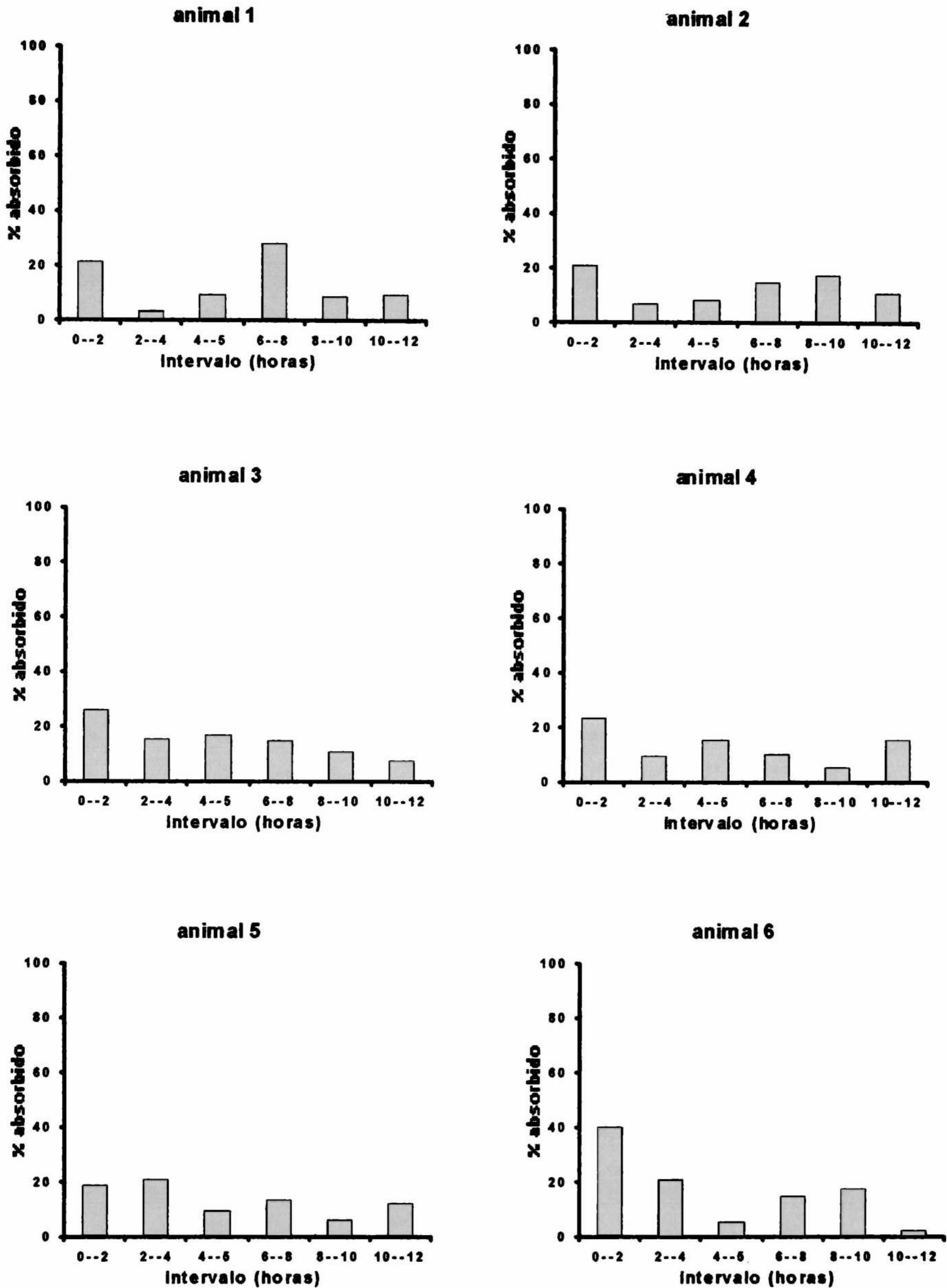
**Figura IV.2.** Concentraciones plasmáticas experimentales de RBZ (●) obtenidas luego de su administración i.r. a terneros en forma de una suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  y concentraciones plasmáticas estimadas (-) mediante un modelo biexponencial extravascular clásico. Los datos corresponden a un animal representativo del grupo.



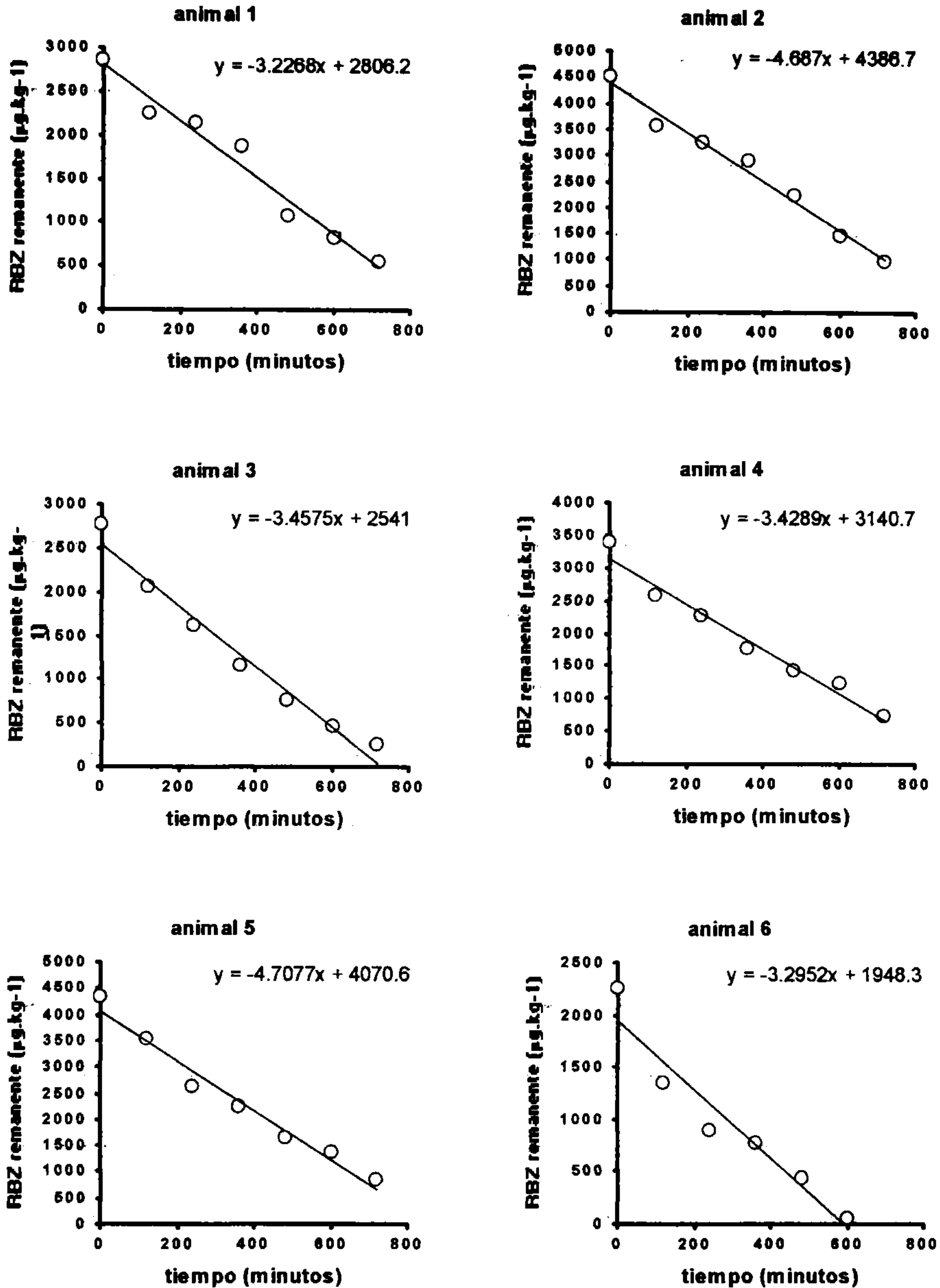
**Figura IV.3.** Representación gráfica de los valores residuales (●) en función del tiempo obtenidos mediante el ajuste de las concentraciones plasmáticas de RBZ luego de su administración i.r. a terneros en forma de una suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  mediante un modelo biexponencial extravascular clásico. Los datos corresponden a un animal representativo del grupo.



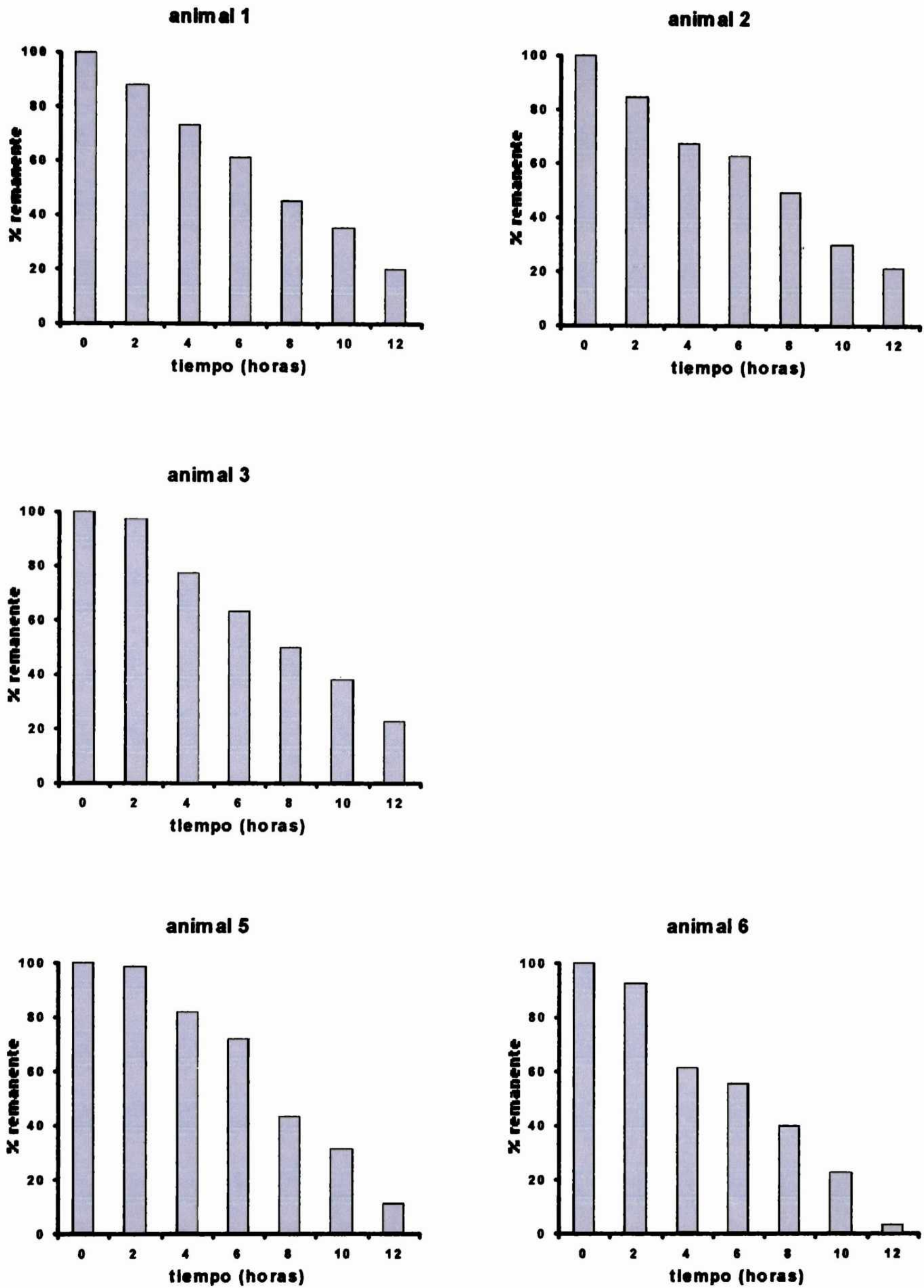
**Figura IV.4.** Gráficas de los porcentajes remanentes de la cantidad biodisponible de RBZ en el sitio de absorción en función del tiempo calculados con el método de Loo-Rielgelman. El estudio fue realizado con los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de la administración s.c. a terneros de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ .



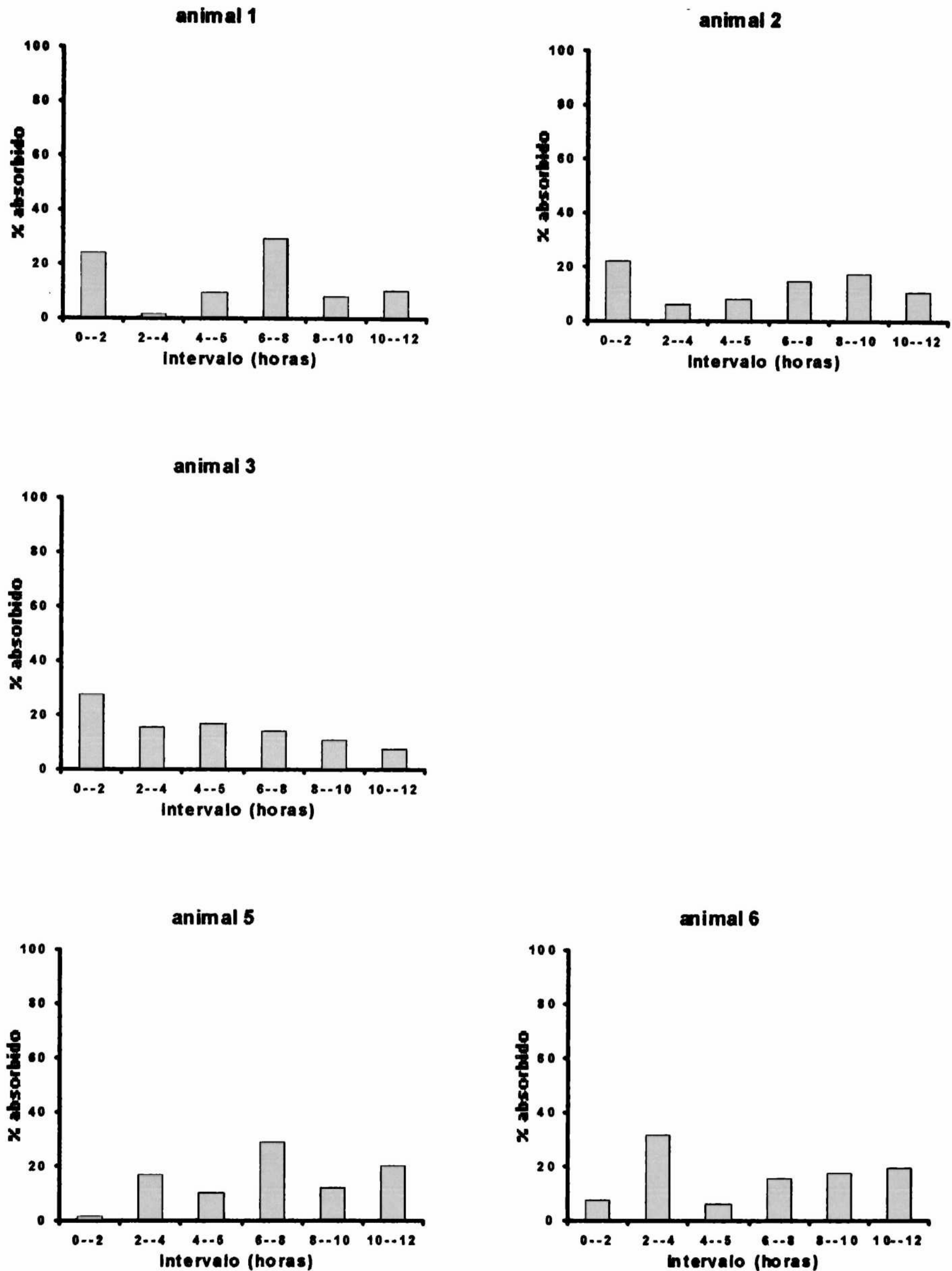
**Figura IV.5.** Gráficas de los porcentajes de RBZ absorbidos en función del tiempo calculadas con el método de Loo-Rielgelman. El estudio fue realizado con los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de la administración s.c. a terneros de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores corresponden a porcentajes de la dosis biodisponible absorbidos en períodos de dos horas.



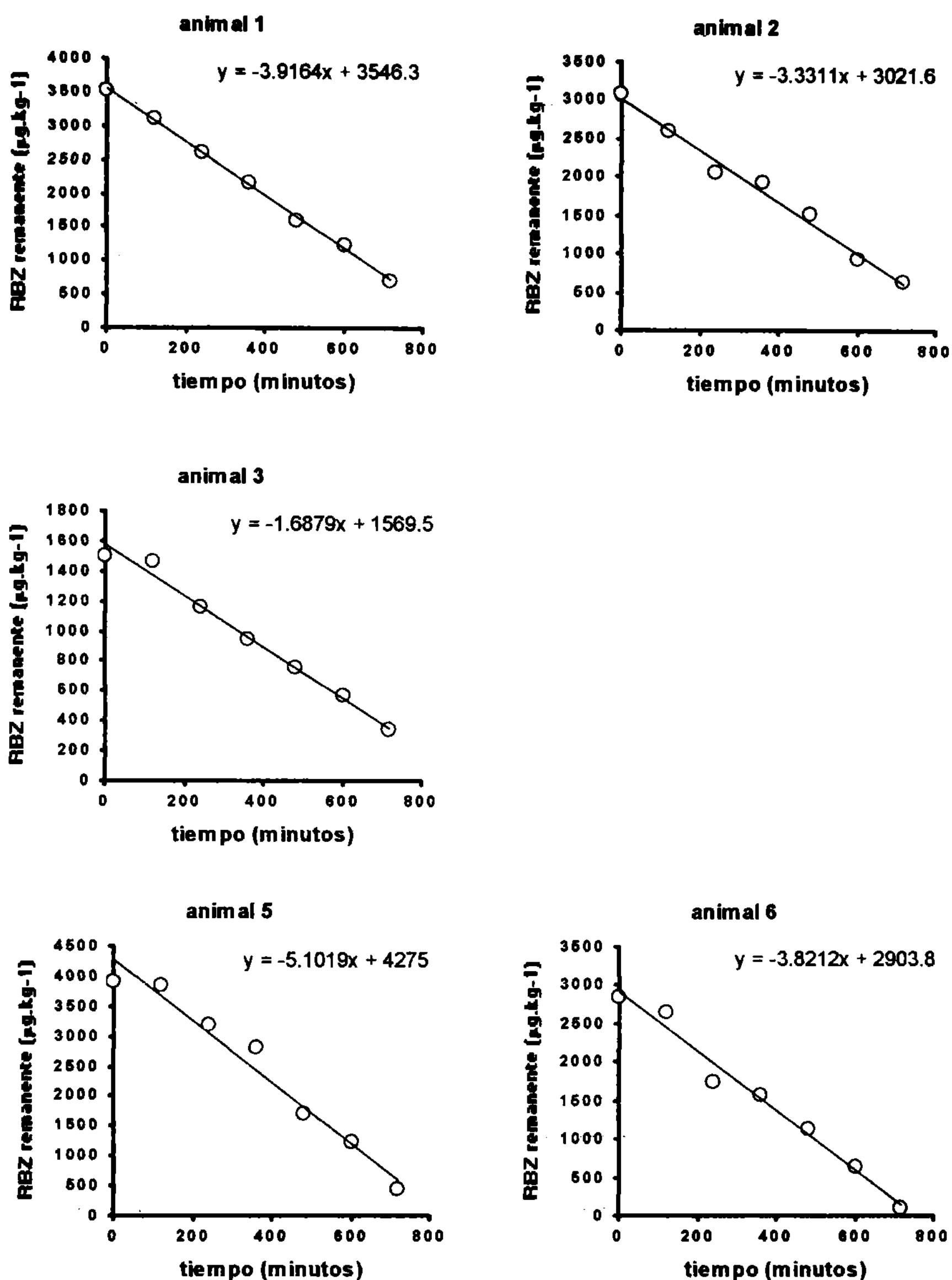
**Figura IV.6.** Gráficas de las cantidades biodisponibles de RBZ remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) calculadas con el método de Loo-Rielgelman. El estudio fue realizado con los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de la administración s.c. a terneros de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores corresponden a la cantidad remanente entre periodos de dos horas y fueron calculados por medio de la siguiente relación:  $(\text{Dosis} \times F \times \% \text{ absorbido})/100$ . El valor de  $k_0$  ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) es estimado por medio de un análisis de regresión lineal simple.



**Figura IV.7.** Gráficas de los porcentajes remanentes de la cantidad biodisponible de RBZ en el sitio de absorción en función del tiempo calculadas con el método de Loo-Rielgelman. El estudio fue realizado con los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de la administración i.r. a terneros de una suspensión experimental al 10% a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ .



**Figura IV.8.** Gráficas de los porcentajes de RBZ absorbidos en función del tiempo calculadas con el método de Loo-Rielgelman. El estudio fue realizado con los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos luego de la administración i.r. a terneros de una suspensión experimental al 10% a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores corresponden a porcentajes de la dosis biodisponible absorbidos en períodos de dos horas.

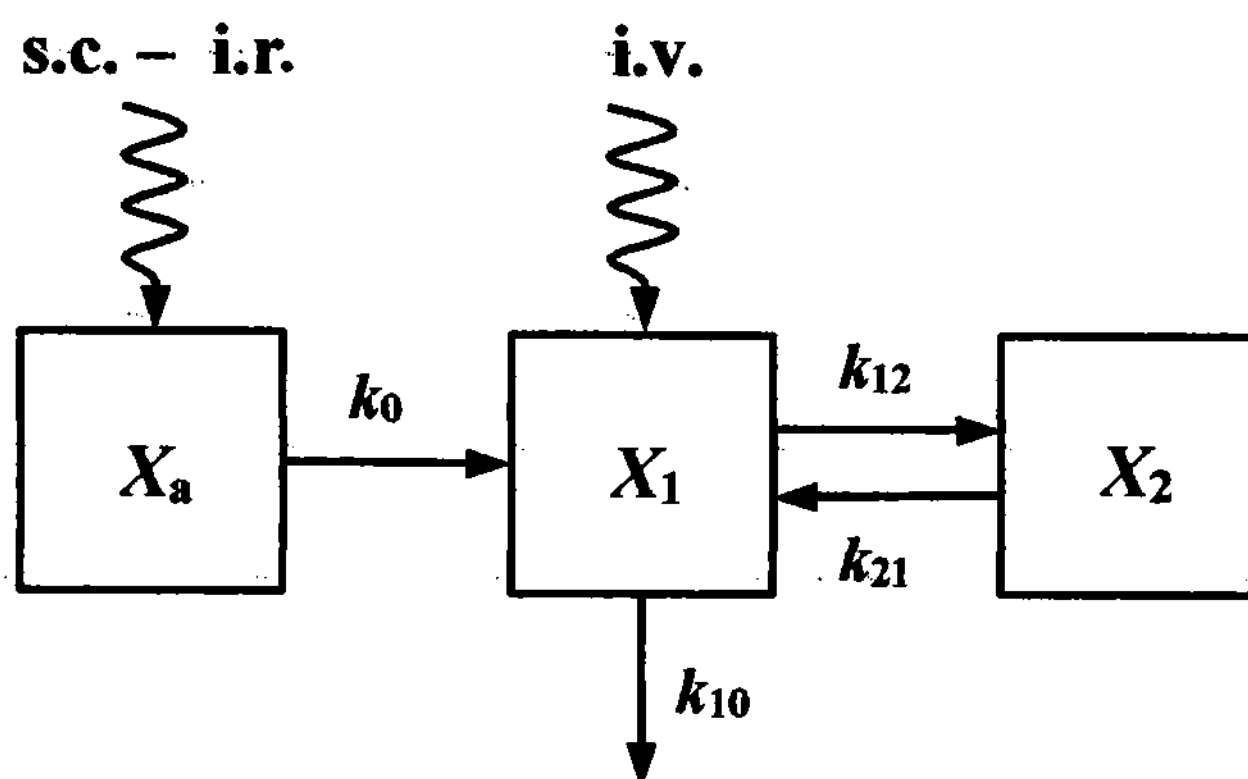


**Figura IV.9.** Gráficas de las cantidades biodisponibles de RBZ remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) calculadas con el método de Loo-Rielgelman luego de la administración i.r. a terneros de una suspensión experimental al 10% a una dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores corresponden a la cantidad remanente entre periodos de dos horas y fueron calculados por medio de la siguiente relación:  $(\text{Dosis} \times F \times \% \text{ absorbido})/100$ . El valor de  $k_0$  ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) es estimado por medio de un análisis de regresión simple.

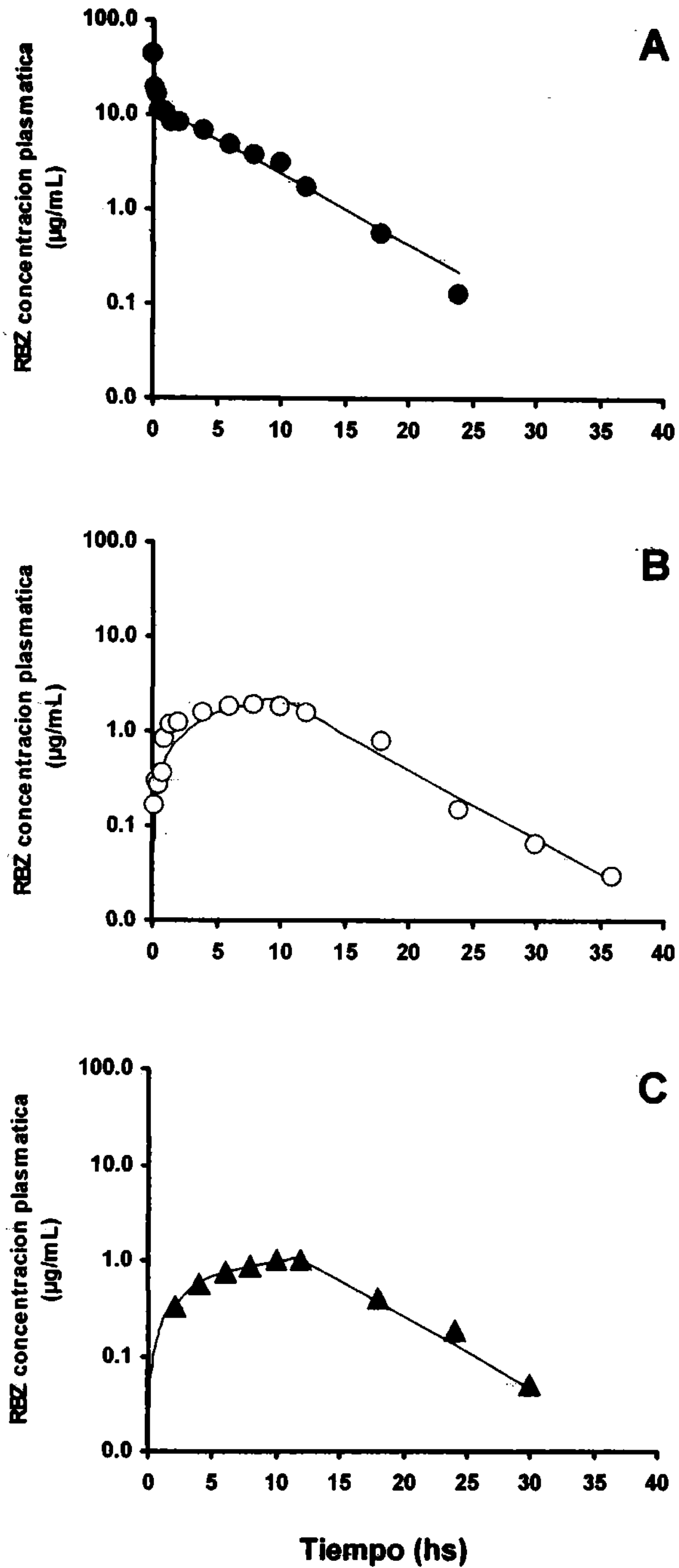
**Tabla IV.4.** Comparación de los valores de  $k_0$  de RBZ obtenidos después de la administración en terneros por vía s.c. de una solución al 15% (Sintyotal-R®) y por la vía i.r. de una suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores fueron estimados mediante los métodos de Loo-Riegelman, los mismos están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Loo-Riegelman		
	RBZ s.c.	RBZ i.r.
Parámetros	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	$3.80 \pm 0.70$	$3.57 \pm 1.24$





**Figura IV.10.** Representación gráfica del modelo bicompartimental utilizado para el estudio de la disposición plasmática de RBZ administrado a terneros por vía i.v. en forma de solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  donde  $X_a$  es la cantidad de RBZ presente en el sitio de absorción;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de RBZ presentes en los compartimentos central y periférico;  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero aparente;  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de primer orden aparente de eliminación, distribución y redistribución respectivamente.



**Figura IV.11.** Concentraciones plasmáticas de RBZ obtenidas luego de su administración a terneros por vía i.v (A), s.c. (B) e i.r. (C) ajustadas mediante análisis farmacocinético simultáneo de los tres perfiles. Los datos pertenecen a un animal representativo del grupo.

**Tabla IV.5.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los parámetros fueron calculados mediante análisis farmacocinético individual y simultáneo. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Análisis individual	Análisis simultáneo
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$C_p(0)$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	34.5 $\pm$ 14.06	36.1 $\pm$ 12.3
$A_1$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	24.5 $\pm$ 10.7	25.9 $\pm$ 10.8
$\lambda_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.37 $\pm$ 0.081	0.35 $\pm$ 0.081
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	1.9 $\pm$ 0.44	2.1 $\pm$ 0.60
$A_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	10.1 $\pm$ 2.77	10.4 $\pm$ 1.97
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0031 $\pm$ 0.0002	0.0029 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	225 $\pm$ 15	247 $\pm$ 35
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0102 $\pm$ 0.0022	0.0097 $\pm$ 0.0024
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.2507 $\pm$ 0.071	0.2421 $\pm$ 0.0706
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1127 $\pm$ 0.0178	0.1038 $\pm$ 0.0166
$V_c$ (mL/kg)	247 $\pm$ 94	224 $\pm$ 64
$V_{ss}$ (mL/kg)	767 $\pm$ 234	718 $\pm$ 146
$V_{area}$ (mL/kg)	784 $\pm$ 244	733 $\pm$ 140
$Cl_B$ ( $\text{mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	2.40 $\pm$ 0.68	2.08 $\pm$ 0.42
$AUC_{0-clast}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	3681 $\pm$ 782	3681 $\pm$ 782
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	3716 $\pm$ 789	3719 $\pm$ 791

$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{area}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal.

**Tabla IV.6.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros por vía s.c. como solución al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los parámetros fueron calculados mediante análisis farmacocinético individual y simultáneo con los datos de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Administración subcutánea		
	Análisis individual	Análisis simultáneo
Parámetros	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	4.42 $\pm$ 0.74	4.65 $\pm$ 0.67
$t_{\text{abs}}$ (min)	795 $\pm$ 170	766 $\pm$ 178
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1.80 $\pm$ 0.51	1.82 $\pm$ 0.59
$AUC_{0-\text{clast}}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1673 $\pm$ 609	1673 $\pm$ 609
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1692 $\pm$ 609	1694 $\pm$ 609
$F$ (%)	45 $\pm$ 12	45 $\pm$ 12

Administración intrarruminal		
	Análisis individual	Análisis simultáneo
Parámetros	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	3.64 $\pm$ 0.90	3.48 $\pm$ 1.30
$t_{\text{abs}}$ (min)	742 $\pm$ 052	749 $\pm$ 50
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1.52 $\pm$ 0.46	1.51 $\pm$ 0.48
$AUC_{0-\text{clast}}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1433 $\pm$ 437	1433 $\pm$ 437
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1460 $\pm$ 428	1465 $\pm$ 426
$F$ (%)	38 $\pm$ 12	38 $\pm$ 12

$k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $t_{\text{abs}}$  es el tiempo estimado de la duración del proceso de absorción;  $C_{\text{max}}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $AUC_{0-\text{clast}}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs. tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $F$  (%) es la fracción absorbida o biodisponible expresada en porcentaje de la dosis administrada calculada por el método trapezoidal.

**Tabla IV.7.** Comparación de los valores de  $k_0$  de RBZ obtenidos después de la administración en terneros por vía s.c. de una solución al 15% (Sintyotal-R®) a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores fueron estimados mediante los métodos de Loo-Riegelman y por modelización, los mismos están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	RBZ s.c..	
	Loo-Riegelman	Modelización
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0 (\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1})$	$3.80 \pm 0.70$	$4.65 \pm 0.68^*$

(\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .

**Tabla IV.8.** Comparación de los valores de  $k_0$  de RBZ obtenidos después de la administración en terneros por vía i.r. de una suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores fueron estimados mediante los métodos de Loo-Riegelman y por modelización, los mismos están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	RBZ i.r.	
	Loo-Riegelman	Modelización
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0 (\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1})$	$3.57 \pm 1.24$	$3.48 \pm 1.31$

**Tabla IV.9.** Parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros por vía i.v., s.c. e i.r. El análisis farmacocinético de los tres perfiles de concentración plasmática vs. tiempo de cada animal fue realizado en forma simultánea. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

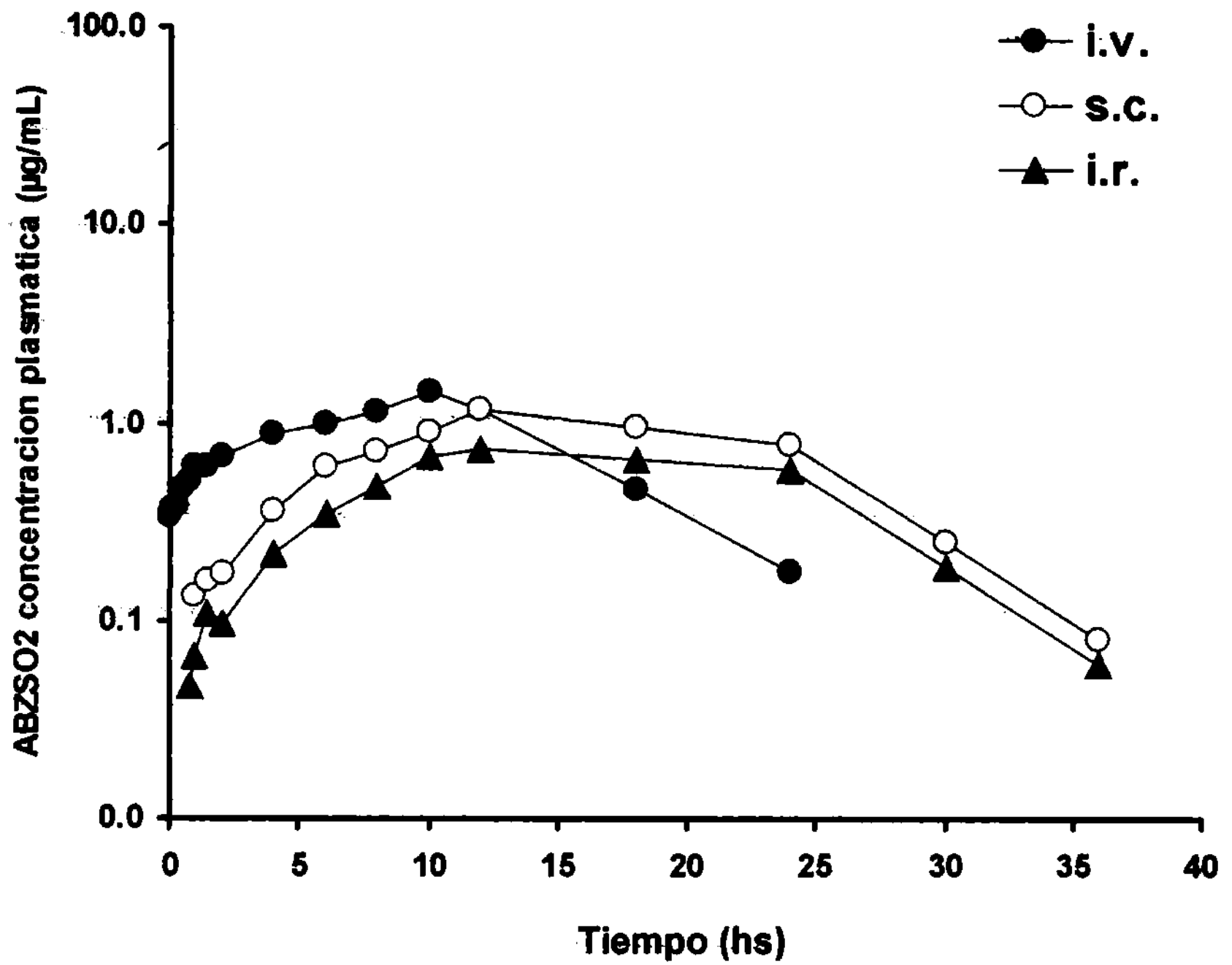
Parámetros	Análisis simultáneo		
	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$C_p(0)$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	36.1 $\pm$ 12.3		
$A_1$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	25.9 $\pm$ 10.8		
$\lambda_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.35 $\pm$ 0.081		
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	2.1 $\pm$ 0.60		
$A_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	10.4 $\pm$ 1.97		
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0029 $\pm$ 0.0004		
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	247 $\pm$ 35		
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0097 $\pm$ 0.0024		
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.2421 $\pm$ 0.0706		
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1038 $\pm$ 0.0166		
$V_c$ (mL/kg)	224 $\pm$ 64		
$V_{ss}$ (mL/kg)	718 $\pm$ 146		
$V_{\text{area}}$ (mL/kg)	733 $\pm$ 140		
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.08 $\pm$ 0.42		
$AUC_{0-\text{clast}}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ )	3681 $\pm$ 782	1673 $\pm$ 609	1433 $\pm$ 437
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ )	3719 $\pm$ 791	1694 $\pm$ 609	1465 $\pm$ 426
$k_0$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )		4.65 $\pm$ 0.67	3.48 $\pm$ 1.30
$t_{\text{abs}}$ (min)		766 $\pm$ 178	749 $\pm$ 50
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		1.82 $\pm$ 0.59	1.51 $\pm$ 0.48
$F$ (%)		45 $\pm$ 12	38 $\pm$ 12

$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{\text{area}}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-\text{clast}}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $t_{\text{abs}}$  es el tiempo estimado de la duración del proceso de absorción;  $C_{\text{max}}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $F$  es la fracción absorbida o biodisponible de la dosis administrada calculada por el método trapezoidal; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .

**Tabla IV.10.** Estimación del coeficiente de extracción y de la fracción de RBZ presente en el compartimento central tras su administración en terneros por vía i.v. de una solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Los valores están expresados en forma individual y como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Promedio $\pm$ DE
$f_c$	$0.31 \pm 0.057$
$f_p$	$0.69 \pm 0.057$
$f_c^*$	$0.30 \pm 0.057$
$f_p^*$	$0.70 \pm 0.057$
$Cl_B (\text{mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1})$	$2.08 \pm 0.42$
$Q (\text{mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1})$	71
$ER$	$0.029 \pm 0.006$

$f_c$  y  $f_p$  son las fracciones de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico al estado de equilibrio estacionario;  $f_c^*$  y  $f_p^*$  son las fracciones de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico al estado de pseudo equilibrio estacionario;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método trapezoidal;  $Q$  es el gasto cardiaco expresado como volumen de sangre;  $ER$  es el coeficiente de extracción;  $t_{el} 95\%$  es el tiempo en el que se ha producido la eliminación del 95% de la dosis administrada.



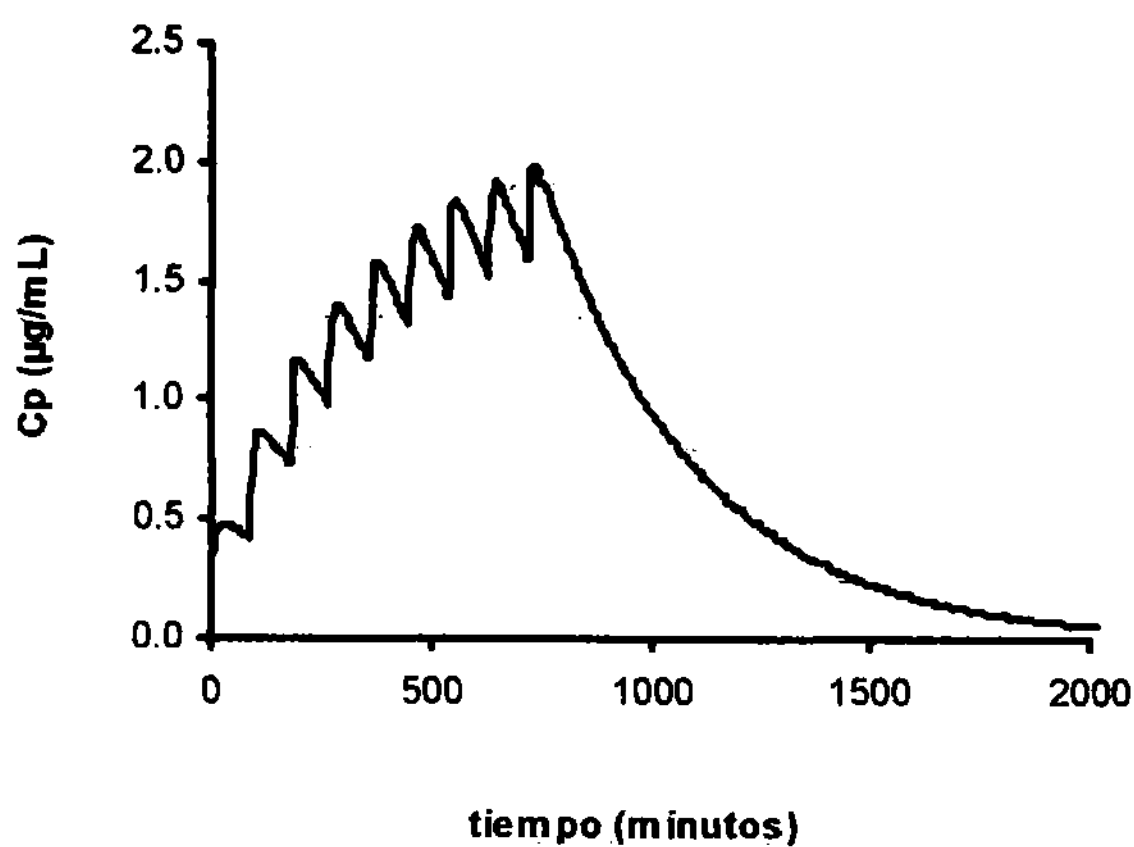
**Figura IV.12.** Concentraciones plasmáticas de ABZSO2 obtenidas tras la administración de RBZ a terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. en forma de suspensión experimental al 10% a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor medio ( $n = 6$ ).



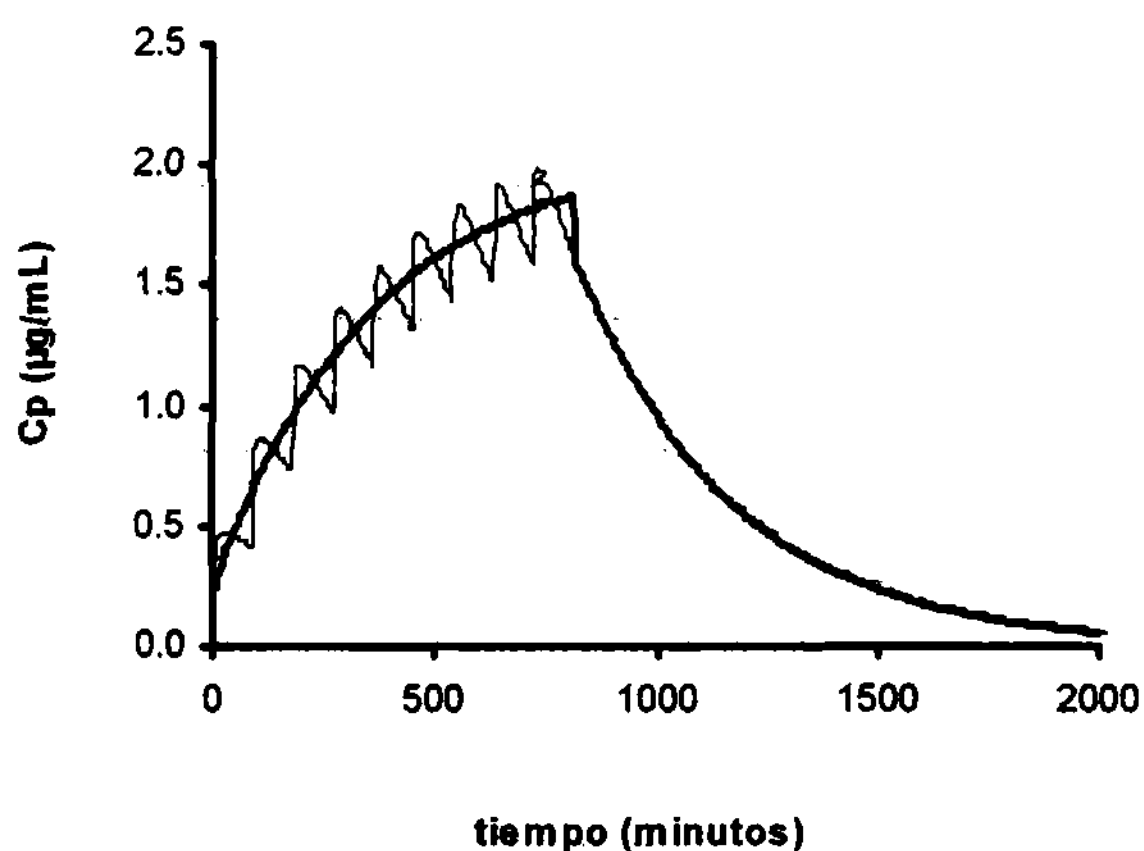
**Tabla IV.11.** Parámetros farmacocinéticos de ABZSO2 calculados a partir de las concentraciones plasmáticas obtenidas luego de la administración de RBZ en terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) e i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio ± desvío estándar.

Parámetros	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
$AUC_{0-clast}$ (µg.min/mL)	1191 ± 259	1349 ± 271	1675 ± 493
$AUC_{0-\infty}$ (µg.min/mL)	1220 ± 254	1381 ± 269	1708 ± 485
$C_{max}$ (µg/mL)	1.15 ± 0.28	0.68* ± 0.19	1.02 ± 0.16
$t_{max}$ (min)	420 ± 38	680 ± 62	672 ± 107
SO2/RBZ	0.33* ± 0.024	0.85* ± 0.12	1.17* ± 0.077

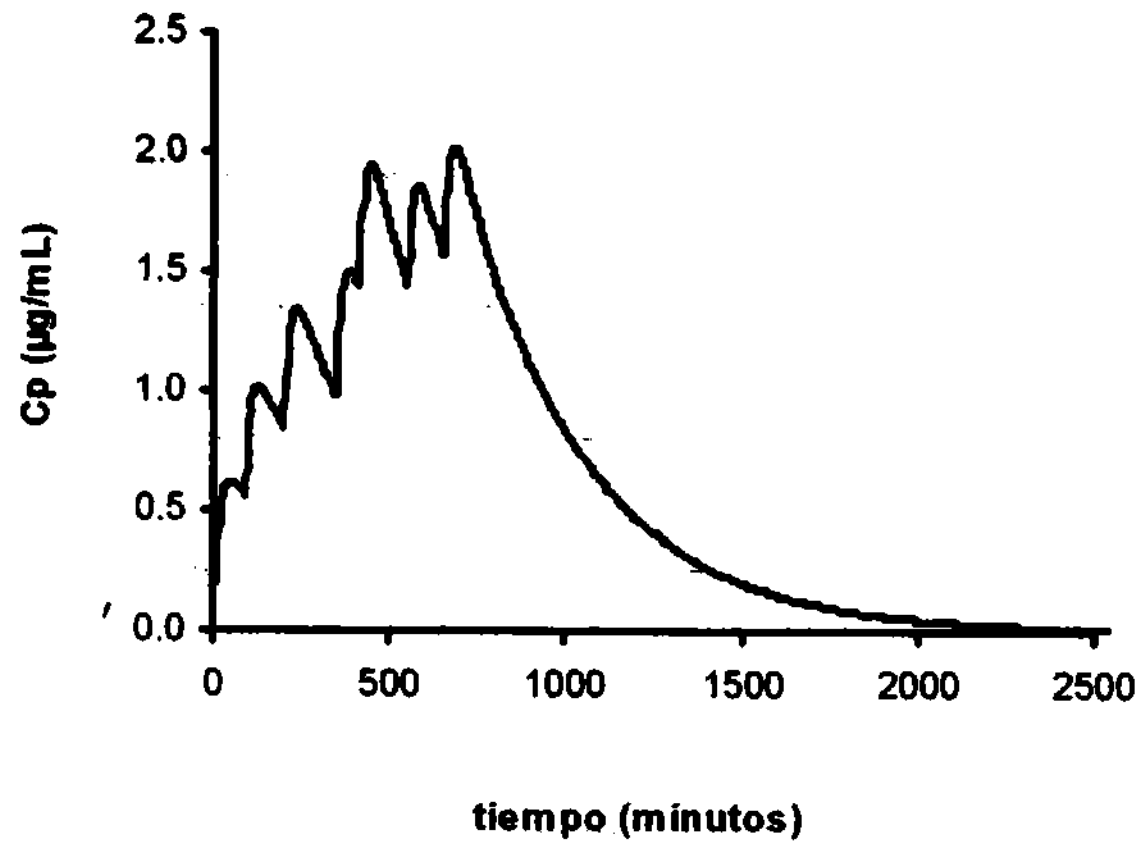
$AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs. tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $C_{max}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{max}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática; SO2/RBZ es la relación entre las AUCs de ABZSO2 y RBZ.; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .



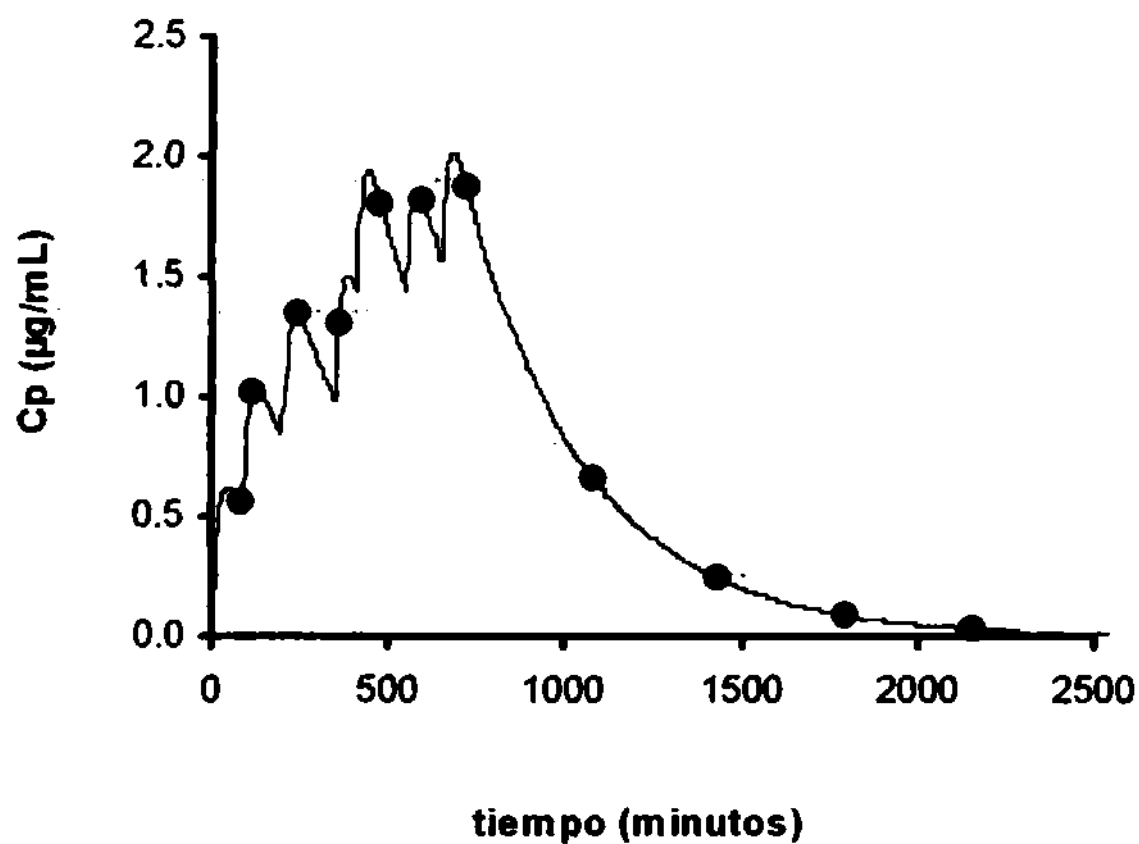
**Figura IV.13.** Simulación de concentraciones plasmáticas de RBZ considerando un modelo de dos compartimentos con administraciones extravasculares múltiples y absorción de orden uno. El número de administraciones, las dosis y la duración de los intervalos fueron asignadas arbitrariamente.



**Figura IV.14.** Las concentraciones plasmáticas de RBZ considerando un modelo de dos compartimentos con administraciones extravasculares múltiples y absorción de orden uno pudieron ser explicadas mediante un modelo que considera el ingreso del fármaco mediante un proceso de orden cero.



**Figura IV.15.** Perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo de RBZ simulados con WinNonlin. La simulación se realizó considerando un modelo de administraciones extravasculares múltiples con absorción de orden uno. El número de administraciones, las dosis y la duración de los intervalos fueron asignadas arbitrariamente.



**Figura IV.16.** Perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo de RBZ simulados con WinNonlin. En este gráfico se indican las concentraciones plasmáticas simuladas en los tiempos correspondientes al muestreo experimental. La simulación se realizó considerando un modelo de administraciones extravasculares múltiples con absorción de orden uno. El número de administraciones, las dosis y la duración de los intervalos fueron asignadas arbitrariamente.

## IV.4. DISCUSIÓN

### IV.4.1. Administración i.v.

Los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración de RBZ por vía i.v. mostraron que el fármaco luego de una fase de distribución rápida es eliminado del organismo en forma relativamente lenta tal como lo demuestra el tiempo de semivida de la fase terminal ( $247 \pm 35$  min).

#### IV.4.1.1. Distribución

Con respecto a la distribución del RBZ, hay que considerar que el valor absoluto del volumen de distribución no es un parámetro que nos permite inferir de manera directa la capacidad de difusión del fármaco fuera del espacio vascular. La utilidad de los  $V_d$  radica en operar como factores de proporcionalidad relacionando la cantidad de medicamento presente en el organismo en un momento determinado con la  $C_p$  presente en ese momento. En el caso del  $V_{ss}$  este representaría una medida teórica del volumen en el cual el fármaco estaría distribuido en el momento de alcanzarse el estado de equilibrio estacionario. Sin embargo para el RBZ los valores de  $V_{ss}$  son similares a los valores de  $V_{area}$  lo que indica un comportamiento farmacocinético particular que analizaremos a continuación.

Para evaluar la magnitud de la difusión del RBZ fuera del espacio vascular debemos calcular cual es la cantidad de RBZ presente en el compartimento central expresada como fracción de la cantidad RBZ presente en el organismo. Esta fracción de RBZ presente en el compartimento central al momento del estado de equilibrio o  $f_c$  presenta un valor de  $0.30 \pm 0.057$  de la totalidad por lo que un 70% del RBZ presente en el organismo se encuentra en el espacio extravascular. Este valor puede ser explicado por el hecho de que siendo los BZDs bases débiles con un  $pK_a \sim 7.8$ , en plasma una gran fracción se encontraría en su forma no iónica, lo que facilitaría su difusión desde el mismo a otros sitios extravasculares especialmente el abomaso y los fluidos intestinales. <sup>(65)</sup> De esta manera los grandes volúmenes de los líquidos digestivos de los rumiantes serían un importante factor que determinarían en gran medida los valores de los  $V_d$  estimados.

Sin embargo debemos considerar que el valor de la fracción presente en el compartimento central no es estático y que en el caso de una administración intravenosa su valor varía de acuerdo a la interrelación de los procesos de eliminación, distribución y predistribución respectivamente. De manera que dicho valor debe ser corregido y calculado en el momento de haberse alcanzado el estado de pseudoequilibrio o dicho de otro modo durante la pendiente de la fase de disposición terminal.

Esta fracción ( $f_c^*$ ) curiosamente presenta el mismo valor muy próximo a la estimada al estado de equilibrio estacionario lo que se explica por el hecho de que el valor de  $k_{10}$  es menor con respecto a los valores de  $k_{12}$  y  $k_{21}$ . En este caso los procesos de distribución y redistribución se producen rápidamente y la permanencia del fármaco en el compartimento central se torna dependiente del bajo valor de  $k_{10}$ , siendo este el factor limitante. Tal como fuera expuesto por Abramsom, <sup>(1)</sup> los fármacos que exhiben bajos valores de  $k_{10}$  con respecto a  $k_{12}$  y  $k_{21}$  se caracterizan por presentar una prolongada permanencia en el organismo a causa de su lenta eliminación y esto explica el porque los valores de  $f_c$  y  $f_c^*$  presenten valores similares y por consiguiente también explica la similitud de los valores de  $V_{ss}$  y  $V_{area}$ . Aunque  $k_{10}$  es la velocidad con la cual se produce la eliminación del medicamento desde el compartimento central, la evaluación del mismo es un tanto difícil ya que esta expresada en forma de una constante de velocidad fraccionaria. En este caso se la transforma en el volumen del compartimento central que es depurado del medicamento por unidad de tiempo lo que da lugar al valor del  $Cl_B$ .

#### IV.4.1.2. Clearance

La depuración o  $Cl_B$  de los BZDs se lleva a cabo que se producen en los distintos órganos por los cuales el fármaco ingresa a través de la sangre arterial siendo los más importantes el hígado, <sup>(101)</sup> el riñón, <sup>(40)</sup> al igual que debe ser considerado que una fracción importante ingresa al tubo digestivo desde la circulación general desde donde es eliminada o biotrasformada por acción de la microflora presente. <sup>(63)</sup>

Podemos decir que el valor del  $Cl_B$  es la resultante de la sumatoria de los  $Cl$  parciales, es decir el clearance hepático ( $Cl_H$ ), el clearance renal ( $Cl_R$ ), el clearance digestivo ( $Cl_D$ ) y el clearance llevado a cabo en otros sitios no especificados ( $Cl_{otros}$ ) que se producen en los distintos órganos por los cuales el fármaco ingresa a través de la sangre arterial. En ese caso el  $Cl_B$  es igual a:  $Cl_H + Cl_R + Cl_D + Cl_{otros}$  y por definición la máxima capacidad de depuración expresada como volumen de plasma depurado por unidad de tiempo estaría definida como el volumen de sangre arterial que arriva a los órganos en donde se lleva a cabo la depuración, de lo que se deduce que salvo en el caso de moléculas que se eliminan en plasma y/o pulmón, el volumen ventricular ( $Q$ ) representa el máximo volumen capaz de ser depurado por unidad de tiempo.

En bovinos el mencionado volumen puede ser estimado mediante alometría siendo para un bovino con un peso promedio de 160 kg. el valor de  $Q$  sería de  $71 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . En este caso el  $ER$  estimado tendría un valor de  $0.0292 \pm 0.0059$ , es decir que del débito sanguíneo solo el 3% es depurado por unidad de tiempo, lo que constituye un valor muy pequeño que indicaría la baja capacidad del organismo para eliminar el RBZ. Esto último es de gran

importancia para la determinación de la causa de la baja biodisponibilidad sistémica obtenida luego de las administraciones extravasculares.

#### **IV.4.2. Administraciones s.c. e i.r**

##### **IV.4.2.1. Biodisponibilidad**

Considerando los innumerables factores que afectan la disponibilidad sistémica de los agentes BZDs cuando son administrados por vía digestiva, el desarrollo de una formulación para administración parenteral tendría como objeto pasar por alto o evitar todos los factores capaces de reducir la fracción disponible para ingresar a la circulación sistémica y de esa manera se podrían obtener mayores concentraciones en el sitio de localización parasitaria y de esa manera se lograría maximizar la eficacia de los mencionados agentes. Sin embargo ese no es el caso de los resultados obtenidos en el presente estudio en donde las fracciones biodisponibles no solo no presentaron diferencias entre las vías s.c. e i.r. sino que además sus valores de  $F$  fueron valores medios siendo de un 45% en el caso de la administración s.c. y de 38% para el caso de la administración i.r.

Siendo el organismo bovino poco eficiente en la eliminación del RBZ ingresado a la circulación sistémica la baja biodisponibilidad hallada en las vías extravasculares dan cabida a una serie de consideraciones a los fines de dilucidar la posible causa de la misma.

Aunque la pérdida de una fracción de la dosis de cualquier medicamento administrada por vía oral se atribuye con mucha frecuencia a un efecto de primer pasaje hepático es necesario considerar la magnitud de las pérdidas ocasionadas tanto por eliminación como por la biotransformación que se producen en los fluidos digestivos por acción de la microflora presente en los mismos. Para evaluar las pérdidas producidas por el efecto del primer pasaje hepático podemos considerar en forma hipotética y con un ejemplo extremo que el hígado es el único órgano responsable del  $Cl_B$ , por lo que el clearance sería exclusivamente el  $Cl_H$ , con lo cual la máxima capacidad de extracción de este órgano estaría expresada en el volumen de sangre arterial que arriva al mismo por unidad de tiempo ( $Q_H$ ), el que se considera como un 30% de  $Q$ , lo que nos da un volumen de  $21 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  aproximadamente. En este caso el coeficiente de extracción hepático ( $ER_H$ ) estaría expresado por la razón entre el  $Cl_H$  y el  $ER_H$ , lo que arroja un valor aproximado de  $\pm 0.1$ .

Basándonos en ese valor extremo y sobredimensionado para el  $ER_H$  y asumiendo que el sistema se comporta de manera lineal y que por lo tanto los sistemas enzimáticos hepáticos no se encuentran saturados a las dosis administradas, solo un 10% de la sangre que arriva al hígado a través de la circulación portal es depurada del RBZ, lo que seguirá siendo un bajo coeficiente de extracción. Aún más; en el hipotético caso de que tras una

administración i.r. de BZDs la única causa de pérdida de medicamento antes de su ingreso a la circulación sistémica sea el efecto de primer pasaje hepático, entonces el valor del  $Cl_B$  sería igual al  $Cl_H$  y una estimación de la biodisponibilidad máxima esperada ( $F_{max}$ ) se podría calcular según ecuación propuesta por Benet & Zech: <sup>(13)</sup>

$$F_{max} = 1 - \frac{Cl_H}{Q_H} = 1 - ER \quad \text{Eq.29}$$

En este caso el valor de  $F_{max}$  sería ~90%, pero considerando que en efecto;  $Cl_H < Cl_B$ , entonces el  $ER_H$  estimado estaría sobredimensionado con respecto al valor real, y en ese caso el valor de  $F_{max}$  real sería mayor. Estos resultados indican que un efecto de primer pasaje hepático no explica los valores de pérdida de medicamento antes de ingresar a la circulación sistémica los que rondan según la vía de administración empleada entre el 55% y el 62% aproximadamente. Lo antedicho nos indicaría que el efecto de primer pasaje producido por el hígado no representaría en si mismo la causa de la pérdida de medicamento antes de ingresar a la circulación sistémica, antes bien parecería más razonable ubicar estas pérdidas a los ya reportados procesos de biotransformación que se producen en los líquidos digestivos a causa de la actividad enzimática de la microflora presente en los mismos. Sin embargo este no es el caso en la administración s.c. en donde de hecho los efectos de primer pasaje digestivo y hepático han sido evitados y aquí cuatro explicaciones surgen como posibles respuestas.

En primer lugar; que la reacción inflamatoria producida por el bajo pH de la solución inyectada hubiese impedido la difusión del medicamento permaneciendo este secuestrado en el sitio de inyección.

En segundo lugar, que el medicamento a causa de la diferencia de pH existente entre la solución administrada y el líquido intersticial hubiese precipitado y que su posterior disolución se produjera en forma lenta dando lugar a concentraciones plasmáticas debajo del límite de cuantificación de la técnica.

En tercer lugar; que el medicamento haya sufrido procesos de biodegradación en el sitio de inyección lo que disminuyendo de esta forma la magnitud de la fracción disponible.

En un estudio se analizaron muestras de músculo de la región en la que se había realizado la inyección de la misma solución comercial utilizada en este estudio y se encontraron elevadas concentraciones de ABZSO<sub>2</sub> al primer día posadministración lo que indicaría que el RBZ podría ser oxidado en el mismo sitio de inyección (Errecalde y col. en comunicación personal).

La cuarta explicación surge como la interacción de las tres causas mencionadas, y es la que por lógica nos parece la más acertada.

Otro elemento a considerar es la relación encontrada  $SO_2/RBZ$ . Teniendo en cuenta que las distintas formulaciones fueron realizadas en los mismos animales podemos asumir que el volumen de distribución del  $ABZSO_2$  ( $V_c$ ,  $V_{ss}$ ,  $V_{area}$ ) permaneció invariable cualquiera sea la vía de administración utilizada. De manera que las concentraciones plasmáticas necesariamente deben guardar relación directa con la cantidad de  $ABZSO_2$  presente en el organismo. En ese caso la relación  $SO_2/RBZ$  nos permite conocer en forma relativa la cantidad de metabolito formado con respecto a la cantidad de RBZ ingresado a la circulación sistémica. El valor de esta relación en la administración i.v. es del  $0.33 \pm 0.024$  que es un valor bajo en comparación con los obtenidos en las vías s.c. ( $0.85 \pm 0.12$ ) e i.r. ( $1.17 \pm 0.077$ ). Estos últimos no guardan relación con el bajo valor de ER calculado para el RBZ, lo que nos sugeriría que la gran parte del  $ABZSO_2$  es formado antes de ingresar a la circulación portal.

#### **IV.4.3. Justificación de un proceso de absorción de orden cero aparente**

##### IV.4.3.1. Presentación del fenómeno

Los perfiles de concentración plasmática en función del tiempo obtenidos tras la administración de RBZ por vía intrarruminal (suspensión al 10%) y por vía subcutánea (solución inyectable al 10%) no pueden ser descriptos con los modelos exponenciales clásicos. Estos modelos netamente descriptivos, se fundamentan en la aceptación "a priori" de que los procesos de absorción y de eliminación son procesos de primer orden, y aunque desde el punto de vista práctico científico es lógico que se considere ese supuesto básico, ese no es el caso con los perfiles obtenidos luego de la administración de una misma molécula por distintas vías de administración.

Las figuras IV.2. y IV.3. nos permiten apreciar la falta de ajuste entre las concentraciones plasmáticas observadas y las estimadas mediante un análisis de WLSNLR con el cual se busco describir el perfil de concentraciones plasmáticas mediante el empleo del conocido modelo biexponencial extravascular:  $C_2 e^{-k_{el} t} - C_1 e^{-k_a t}$ .

Dado que la constante de la fase terminal estimada mediante el método de las residuales no presentó diferencias con la obtenida tras la administración intravenosa, damos por cierto que es el proceso de absorción el que presenta cierto grado de complejidad y que no puede ser descrito en términos exponenciales. En este caso consideramos que el proceso de absorción es distinto de orden uno. Esto último se vio confirmado por las curvas de porcentaje de RBZ remanentes en el sitio de absorción estimadas mediante el método de



Loo-Riegelman, <sup>(72)</sup> las que transformadas en cantidades de RBZ permitieron estimar los valores de  $k_0$  mediante un modelo de regresión lineal simple.

#### IV.4.3.2. Justificación desde un punto de vista descriptivo

Tomaremos en consideración el caso de un modelo de dos compartimentos. Cuando un medicamento ingresa al compartimento central mediante una perfusión intravenosa a ritmo constante o sea mediante una cinética de orden cero las concentraciones plasmáticas describen una parábola que tiende a hacerse paralela al eje de las abcisas; es la  $C_{p(ss)}$  la que es función directa de  $k_0$  e inversa del  $Cl_B$ . (Figura IV.17.)

El modelo farmacocinético bicompartimental construido con ecuaciones integradas que describe este tipo de perfil plasmático es el siguiente:

$$C_p = \frac{k_0(k_{21} - \lambda_1)(e^{-\lambda_1 t})}{V_c(\lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1))} + \frac{k_0(k_{21} - \lambda_2)(e^{-\lambda_2 t})}{V_c(\lambda_2(\lambda_1 - \lambda_2))} \quad \text{Eq.30}$$

En un sentido más general, esta meseta de concentraciones plasmáticas se puede obtener mediante una cinética de dosis múltiples.

La administración de bolos intravenosos de idénticas dosis de medicamento a intervalos regulares da como resultado una curva de concentración plasmática acumulativa en donde se presentan concentraciones máximas y mínimas en cada intervalo de administración. Las concentraciones máximas coinciden con la administración del bolo y las mínimas con el momento inmediato anterior a la administración del bolo siguiente (Figura IV.18.), y cuando los intervalos entre las administraciones intravenosas tienden a un valor próximo a cero el rango de variación entre las concentraciones máximas y mínimas tiende a ser despreciable y dicho perfil puede ser representado por medio de una línea recta como la que se muestra en la figura IV.19. La observación detenida de la fase absorción de los dichos perfiles obtenidos en la fase experimental permite apreciar que las concentraciones presentan variaciones entre valores máximos y mínimos, a la manera de una cinética de dosis múltiples, ver Figura IV.2.

#### IV.4.3.3. Justificación desde un punto de vista fisiológico

El ingreso al compartimento central en forma de pulsos podría ser explicado por el hecho de la fuerte reacción inflamatoria producida en el sitio de administración. Esta reacción podría ser debida al bajo pH de la solución comercial administrada (alrededor de 1). Por tratarse de una base débil, el RBZ como todos los BZD metilcarbamatatos necesita un pH muy bajo para ser solubilizado. Esto último ha sido demostrado por la importancia de la

acidez de la secreción abomasal del rumiante y el necesario pasaje de este tipo de fármacos a través este órgano para lograr su disolución y favorecer su absorción a partir del duodeno.

Toda ingreso de este tipo de fármacos al abomaso en grandes cantidades, sobrepasa su capacidad de disolución, permitiendo que una gran fracción de la dosis ingresada ingresa al tracto digestivo posterior sin haberse disuelto, hecho que ha sido reportado como la causal de la baja biodisponibilidad en el caso de un cierre esporádico de la gotera esofágica. En vista de lo considerado anteriormente, una diferencia entre el pH ácido de la solución inyectada y el pH alcalino tisular podría dar lugar a la precipitación de una importante fracción del medicamento y su posterior disolución en forma lenta. Los picos de concentración plasmáticos hallados en las primeras fases del proceso de absorción parecerían corroborar lo anterior, ya que en principio una cantidad de medicamento considerable podría ingresar a la circulación general, antes de haberse instalado el proceso inflamatorio que favorecería la lenta absorción del fármaco.

En el caso de una administración i.r. los BZDs deben dispersarse en el contenido ruminal, hecho es producido por los movimientos de mezcla y propulsión de este órgano. Los BZDs en el contenido ruminal se presentan disueltos en la fase acuosa <sup>(88)</sup> y en una alta proporción unidos al material particulado de la ingesta. <sup>(48)</sup> Como mencionamos anteriormente la disociación del complejo formado por el material particulado y los BZDs es favorecido por el pH ácido del abomaso. <sup>(48)</sup> La velocidad de pasaje del material particulado de la ingesta de los rumiantes ha sido estudiada en profundidad y trabajos realizados en terneros y cabras por Balch <sup>(11)</sup> demuestran que el material particulado de la ingesta en un rumiante es retenido en el retículo rumen por un periodo de tiempo variable y que las curvas de excreción acumulativa de material particulado coloreado expresadas como porcentaje de la cantidad eliminada demuestran que casi un 80% del material presente en el tubo digestivo es eliminado a una velocidad constante.

Tomando en consideración, que gran parte de la dosis de los BZDs permanece en el rumen asociada al material particulado de la ingesta y que el pH ácido del abomaso es uno de los factores mas importantes en la disociación de ese complejo y la subsiguiente liberación de la molécula del fármaco, entonces si una cantidad constante de material particulado arriva al abomaso por unidad de tiempo ello garantizaría que una cantidad casi constante de BZDs se disocie del material particulado y este en condiciones de ser absorbido. Desde este punto de vista es posible explicar por que la cinética de la absorción del RBZ administrado por vía i.r. puede ser adecuadamente descripta por un proceso de orden cero.

#### IV.4.3.4. Justificación desde un punto de vista mecanicista

La reconstrucción de estos pulsos de ingreso de medicamento al compartimento central se ve dificultada por los siguientes factores:

a- Se hubieran necesitado muestras de sangre tomadas a intervalos muy pequeños para poder mediante una ecuación polinomial reconstruir con cierto grado de exactitud el número y la magnitud de cada pulso de ingreso para la estimación de la velocidad de absorción instantánea.

b- Aunque esto hubiera sido posible sería muy difícil prever el número de pulsos de ingreso.

c- De igual manera sería difícil prever la magnitud de dichos pulsos.

Sin embargo considerando los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  y  $t_{abs}$  se pudo reconstruir un perfil de concentraciones plasmáticas mediante un modelo de administraciones extravasculares múltiples. Los datos de concentración plasmática simulados con el mencionado modelo pueden ser explicados de manera simplificada mediante un modelo de perfusión intravenosa a débito constante, ya que en ambos casos las concentraciones plasmáticas tienden a alcanzar un estado de equilibrio estacionario. (Figura IV.14.). Considerando que en el caso del bovino, los intervalos de los pulsos de absorción aparente son impredecibles tanto como su magnitud y número, los perfiles resultantes se asemejarían al perfil obtenido en el tercer estudio de simulación. (Figura IV.15.)

En resumen, los perfiles obtenidos experimentalmente luego de las administraciones extravasculares de RBZ no solo son consecuencia de los factores anteriormente mencionados, sino que los mismos están fuertemente influenciados por el esquema de muestreo empleado en el desarrollo de la fase experimental. En la figura IV.16. puede apreciarse el efecto del esquema de muestreo en la descripción de un perfil obtenido con un modelo de administraciones múltiples y se puede observar la similitud de este perfil con el obtenido tras la administración de RBZ por vía i.r. en un animal representativo del grupo (Figura IV.2.). Considerando el objetivo de la modelización, creemos que un modelo simple de absorción de orden cero, logra explicar de manera satisfactoria la fase de absorción luego de las administraciones i.r. y s.c. de RBZ en bovinos con las formulaciones ensayadas. El modelo propuesto logra describir los perfiles plasmáticos de una manera simple y explicar el proceso de absorción en base a la interpretación fisiológica de  $k_0$  y  $t_{abs}$  y aunque como en toda modelización se pierde la exactitud de los datos originales, en este caso se gana el obtener una visión general del fenómeno y en la simplicidad con la cual un proceso extremadamente complejo puede ser explicado.

# **CAPÍTULO V**

---

**Farmacocinética de ricobendazole en  
terneros luego de la administración  
extravascul ar de ricobendazole y  
albendazole;  
influencia de las formulaciones y las vías  
de administración empleadas sobre la  
cinética de absorción**

## V.1. INTRODUCCIÓN

Uno de los procedimientos utilizados para estudiar el proceso de absorción de un medicamento consiste en administrarlo por diferentes vías usando diferentes formas farmacéuticas y observar el efecto que estos factores producen en el perfil de concentración plasmática resultante.

En este sentido el primer paso lo constituye el conocimiento del comportamiento farmacocinético obtenido tras su administración i.v., lo que permite estimar los parámetros farmacocinéticos primarios que determinarán su disposición plasmática. A partir de allí, los perfiles resultantes tras una administración extravascular serán consecuencia de factores tales como el orden y la velocidad de los procesos de absorción y la disponibilidad biológica. La evaluación de esos factores es fundamental al momento de tener que disponer de información precisa para elegir una determinada vía de administración, una determinada forma farmacéutica o bien definir el criterio y el objetivo de futuras investigaciones como por ejemplo el desarrollo de nuevas formulaciones.

Aunque son numerosos los trabajos en los que se ensayan distintas formulaciones, distintas vías de administración o más aun se compara el comportamiento farmacocinético entre distintas especies, en la gran mayoría de los casos no se dispone de datos obtenidos a partir de estudios de administración i.v., o si se dispone de los parámetros farmacocinéticos obtenidos en estos estudios, estos no han sido utilizados en toda su magnitud. Revisando la literatura, encontramos que cuando un estudio i.v. ha sido conducido, la utilización de los resultados obtenidos no va más allá de la estimación de una semivida de eliminación y un cálculo de biodisponibilidad absoluta. En una segunda instancia, si los parámetros farmacocinéticos son presentados estos no son totalmente interpretados y la significación de los mismos permanece oculta y de esta manera es muy poco lo que se aporta para la comprensión del efecto de una vía de administración o de una nueva formulación ensayada.

En este experimento el comportamiento farmacocinético del RBZ luego de la administración extravascular de RBZ y del ABZ son estudiadas con un modelo bicompartimental en donde los procesos de distribución, redistribución y eliminación son explicados mediante los parámetros farmacocinéticos del RBZ estimados en un experimento anterior tras su administración i.v. Este tipo de estudio permite discriminar disponibilidad biológica, orden y velocidad de los procesos de absorción y estimar los parámetros que explican los mencionados procesos.

## **V.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **V.2.1. Animales experimentales**

En este estudio se utilizaron seis terneros raza Holstein sanos y libres de parásitos con un peso promedio comprendido entre los 150 y 170 kg. Los animales fueron los mismos que se utilizaron en el experimento anterior. Durante las fases experimentales los mismos permanecieron en potreros de alfalfa disponiendo de agua a voluntad.

### **V.2.2. Medicamento administrado**

Los medicamentos administrados fueron el ABZ y su metabolito activo conocido como albendazole sulfóxido (ABZSO) o ricobendazole (RBZ). El RBZ fue administrado por las vías intraabomasal (i.a.) e i.r. y el ABZ por la vía i.r. según un diseño de cross-over con tres fases y con tres grupos de tratamiento compuestos de dos animales en cada uno. El periodo de espera entre el desarrollo de las fases fue de cuatro semanas. El RBZ fue administrado por vía i.a. e i.r. como solución comercial al 15% (Syntiotol-R®) mientras que el ABZ fue administrado por vía i.r. como suspensión comercial al 10% (Valbazen®). Los dos medicamentos fueron administrados a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Las muestras de sangre fueron tomadas a los siguientes tiempos posadministración: 1, 5, 15, 30, 45 y 60 minutos y 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48 y 60 hs.

### **V.2.3. Procedimiento analítico**

El tratamiento de las muestras, detección y cuantificación de los analitos fueron explicados en el capítulo II.

### **V.2.4. Análisis farmacocinético**

#### **V.2.4.1. Análisis farmacocinético del RBZ**

El análisis de los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos en el presente experimento se analizaron con un modelo bicompartimental considerando los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  obtenidos en la administración i.v. del experimento anterior. El uso de estos parámetros se fundamenta en el hecho de haber sido obtenidos en los mismos animales. Por otra parte asumimos que la variación intraindividual de dichos parámetros es despreciable y no afectaría en forma significativa el análisis farmacocinético. Los perfiles correspondientes a cada ensayo se analizaron en forma separada fijando los valores de los parámetros mencionados anteriormente dejando liberado al modelo para la estimación de los valores de los parámetros de los procesos de absorción.

En los tres casos los parámetros de los procesos de absorción fueron estimados a partir de los datos de concentración plasmática mediante regresión lineal ponderada de mínimos

cuadrados mediante el uso del programa Scientist™, MicroMath Software, Salt Lake City, UT. El análisis permitió discriminar entre un proceso de absorción de orden cero y de orden uno. La representación gráfica del modelo utilizado se presenta en la figura V.1.

#### V.2.4.2. Modelo bicompartimental con absorción de orden uno

El sistema de ecuaciones diferenciales que describen el modelo bicompartimental con un proceso de absorción de orden uno son las siguientes:

$$\frac{dX_a}{dt} = -(k_{00} + k_{01})X_a \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{21}X_2 + k_{10}X_a \quad \text{Eq.2}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.3}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.4}$$

En el caso de los modelos con procesos de absorción de primer orden la inspección visual de los perfiles de concentración plasmática no permitió distinguir la fase de disposición rápida asociada al proceso de distribución y por lo tanto pudieron ser descritas mediante un modelo biexponencial extravascular clásico, por lo que el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática ( $t_{\max}$ ) fue calculado de la siguiente manera:

$$t_{\max} = \frac{\ln k_{01} - \ln \lambda_2}{k_{01} - \lambda_2} \quad \text{Eq.5}$$

Mientras que la máxima concentración plasmática fue calculada con la siguiente relación:

$$C_{\max} = \frac{D F k_{01}}{V_{\text{area}} (k_{01} - \lambda_2)} e^{-\lambda_2 t_{\max}} - e^{-k_{01} t_{\max}} \quad \text{Eq.6}$$

La ecuación anterior se basa en el hecho de que los perfiles de concentración plasmática pudieron ser explicados mediante un modelo biexponencial y que  $C_{\max}$  se produce luego de que haberse alcanzado el estado de pseudoequilibrio estacionario. De manera que la relación entre la cantidad de medicamento presente en el organismo y la  $C_p$  pueden ser explicadas con el  $V_{\text{area}}$ .

### V.2.4.3. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero

El sistema de ecuaciones diferenciales que describen el modelo bicompartimental con un proceso de absorción de orden cero son las siguientes:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{21}X_2 + k_0 \quad \text{Eq.7}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.8}$$

$$C_p = \frac{dX_1}{dt} \quad \text{Eq.9}$$

Donde  $k_{00}$  y  $k_{01}$  son las constantes de orden uno aparente de pérdida del medicamento desde el sitio de absorción y de absorción real respectivamente. Los demás parámetros farmacocinéticos fueron estimados mediante la metodología ya descrita en el capítulo III.

### V.2.4.4. Análisis farmacocinético de ABZSO2

Los perfiles plasmáticos de ABZSO2 fueron analizados mediante estimación de las AUCs por el método trapezoidal,  $t_{\max}$  y  $C_{\max}$  fueron obtenidos mediante inspección visual de los mencionados perfiles.

La relación entre las AUCs de ABZSO2 y RBZ (SO2/RBZ), fueron calculadas por medio de la siguiente relación:

$$\text{SO2/RBZ} = \frac{AUC_{0-\infty} \text{ ABZSO2}}{AUC_{0-\infty} \text{ RBZ}} \quad \text{Eq.10}$$

### V.2.5. Análisis Estadístico

Para la realización del análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa MICROSTAT (1978-85 by Ecosoft, Inc.)

Los valores de las variables farmacocinéticas hallados en cada una de las experiencias realizadas expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar. Sobre la base de estos resultados se aplicó el análisis paramétrico de la varianza. El límite de probabilidad fue establecido en 0.05.



### V.3. RESULTADOS

Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras la administración de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) por vía i.a e i.r. y de una suspensión comercial de ABZ al 10% (Valbazen®) a la dosis de  $7.5 \text{ mg kg}^{-1}$  se presentan en la figura V.2., los valores se hallan representados como la media de los mismos ( $n = 6$ )

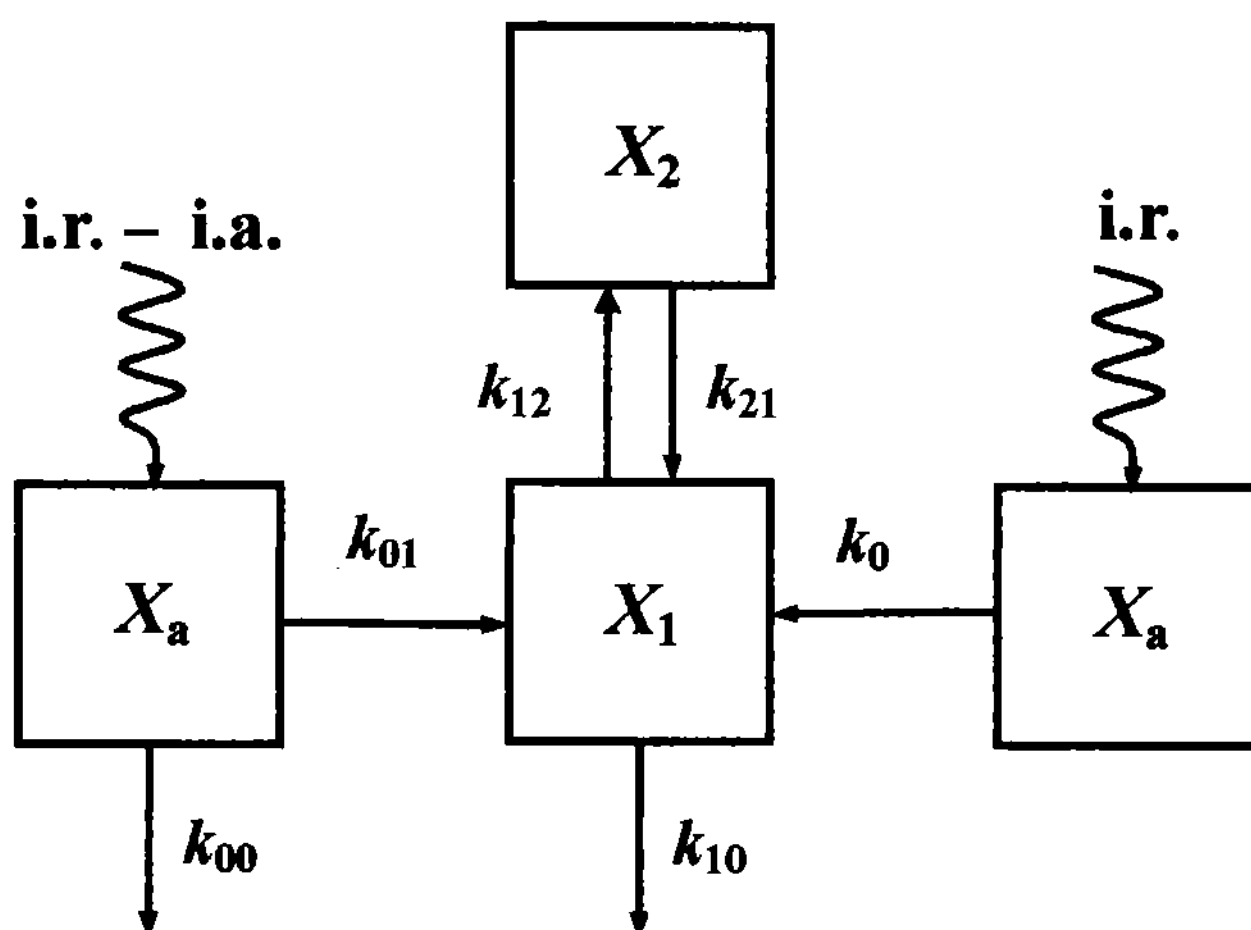
El análisis farmacocinético fue realizado mediante un modelo bicompartimental basando en los parámetros farmacocinéticos ( $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ ) obtenidos en el experimento anterior. La estimación previa de los valores de las pendientes de eliminación observadas tras la administración de RBZ por vías i.a. e i.r. y de ABZ por vía i.v. no presentaron diferencias con respecto a la pendiente estimada tras la administración de RBZ por vía i.v. (Tabla V.1.)

En la tablas V.2. se presentan los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados para cada vía de administración y tipo de formulación empleada los que son expresados como valores medios  $\pm$  desvío estándar.

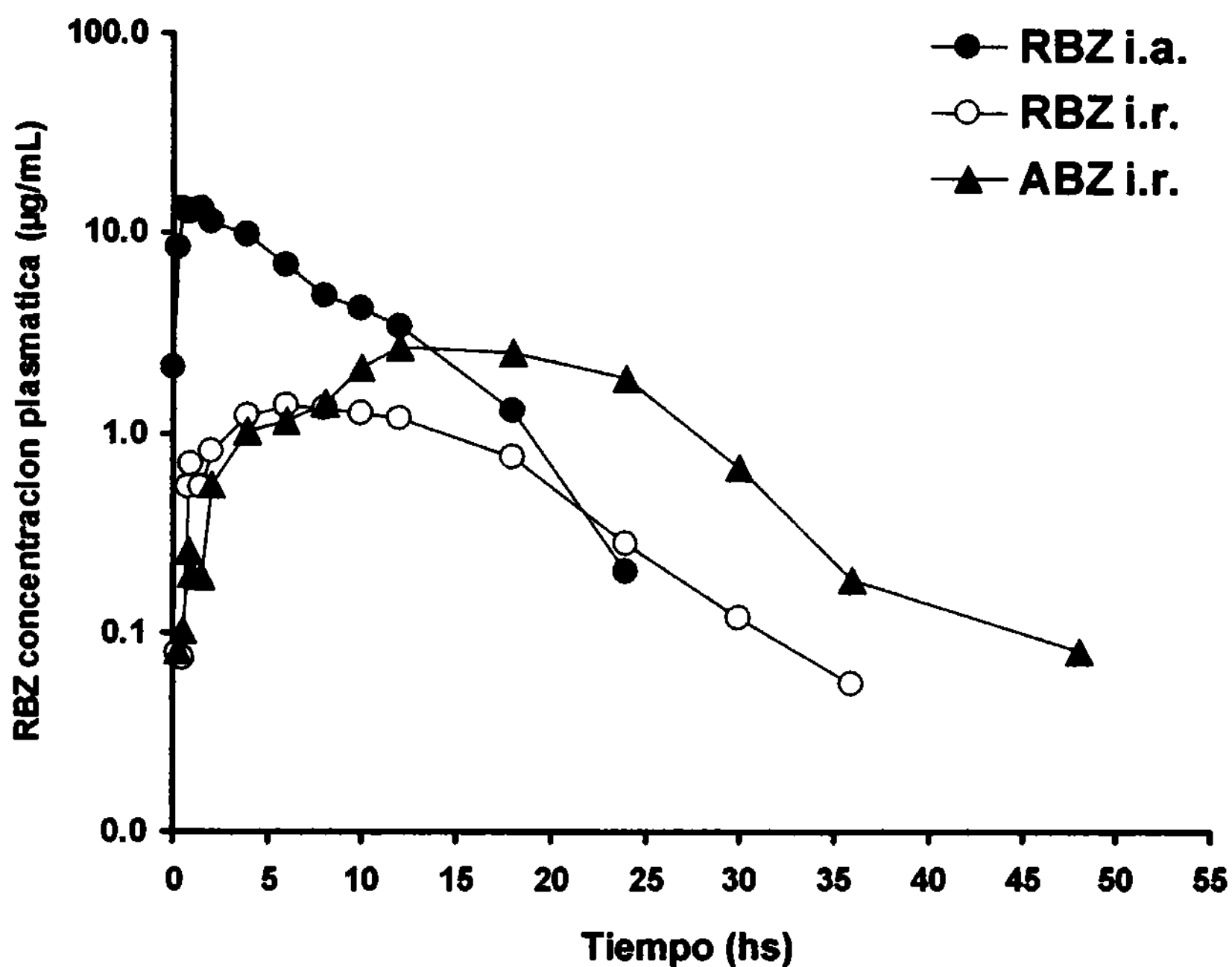
En el caso de la vía de administración i.a. todos los perfiles pudieron ser ajustados considerando un proceso de absorción de orden uno, mientras que en el caso de la administración de RBZ por vía i.r. la cinética de absorción se presentó variable y pudo discriminarse tanto un proceso de absorción de primer orden para cuatro animales como un proceso de absorción de orden cero aparente para los dos restantes. En el caso de la administración de ABZ, la cinética de absorción se presentó homogénea con respecto a un proceso de orden cero aparente. El ajuste de los perfiles de concentración plasmáticas obtenidos en cada una de las vías de administración en un animal representativo del grupo se presentan en la figura V.3.

Con respecto a la velocidad del proceso de absorción, la administración i.a. se caracterizó por una velocidad de absorción veinte veces mayor con respecto la observada tras la administración i.r. ( $0.025 \pm 0.014$  vs.  $0.00126 \pm 0.008 \text{ min}^{-1}$ ). Esto se corresponde con los elevados y tempranos valores de  $C_{\text{max}}$  observados en la administración i.a. en comparación con los bajos y tardíos valores de  $C_{\text{max}}$  observados en la administración i.r.

Aunque el número de individuos no permitió realizar un correcto estudio estadístico, los valores de  $k_0$  obtenidos en la administración i.r. de RBZ fueron menores que aquellos los obtenidos en la administración i.r. de ABZ ( $2.70 \pm 1.13$  vs.  $5.58 \pm 1.42 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ).



**Figura V.1.** Representación gráfica del modelo bicompartimental utilizado para el estudio de la disposición plasmática de RBZ administrado a terneros por vía i.a. e i.r. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y de ABZ por vía i.r. como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ;  $X_a$  es la cantidad de RBZ presente en el sitio de absorción;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de RBZ presentes en los compartimentos central y periférico;  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero aparente;  $k_{01}$  es la constante de absorción de primer orden aparente;  $k_{00}$  es la constante de primer orden aparente de pérdida de medicamento desde el sitio de absorción;  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de primer orden aparente de eliminación, distribución y redistribución respectivamente.

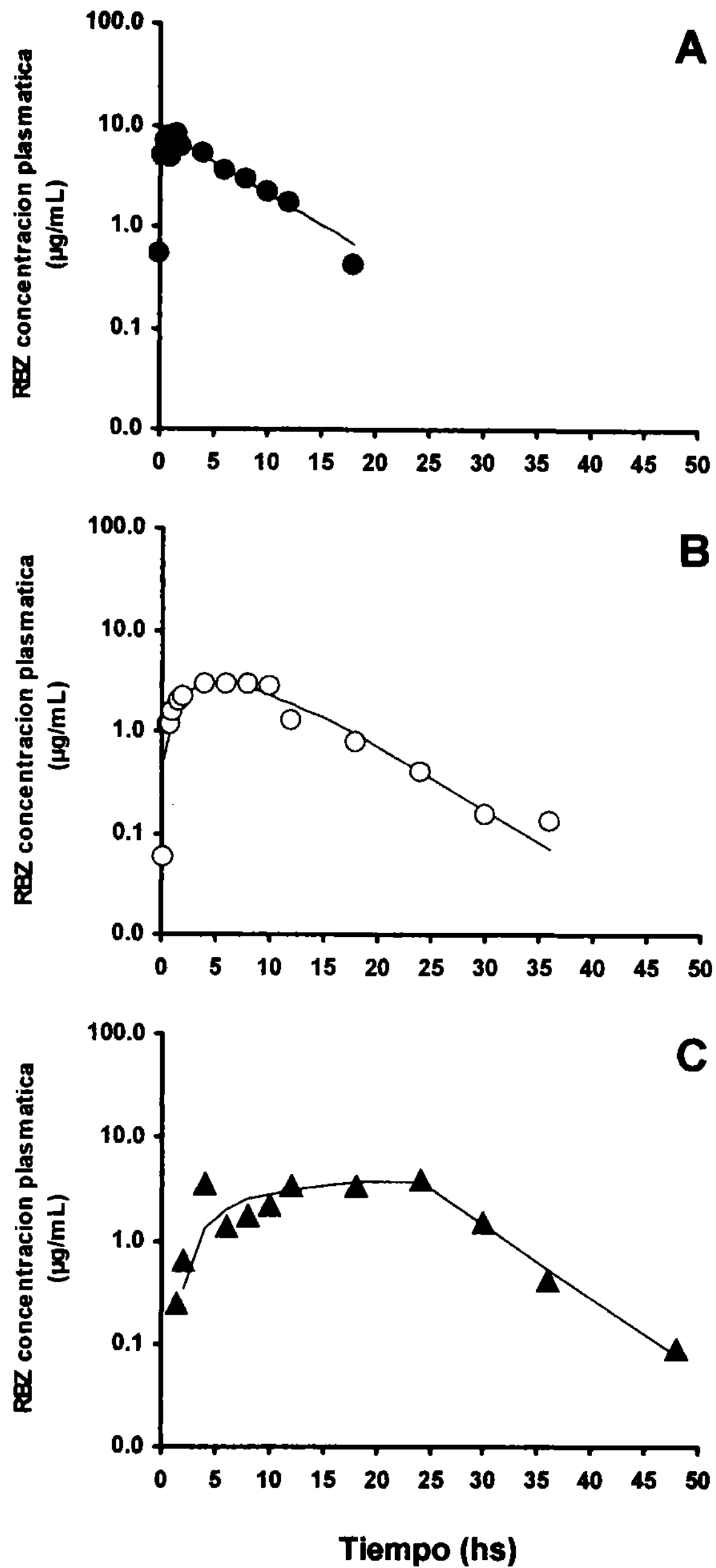


**Figura V.2.** Concentraciones plasmáticas de RBZ obtenidas tras su administración a terneros por vía i.a. e i.r. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y tras la administración de ABZ como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) por vía i.r. a la dosis de  $7.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor medio ( $n = 6$ ).

**Tabla V.1.** Valores de la constantes de las fases terminales y sus correspondientes semividas de RBZ después de su administración en terneros por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vías i.a. e i.r. de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. de ABZ como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

	i.v. (RBZ)	i.a. (RBZ)	i.r. (RBZ)	i.r. (ABZ)
Parámetros	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$\lambda_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.0029 $\pm$ 0.0004	0.0029 $\pm$ 0.004	0.0025 $\pm$ 0.004	0.0023 $\pm$ 0.0001
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	274 $\pm$ 35	245 $\pm$ 32	282 $\pm$ 49	306 $\pm$ 30

$\lambda_2$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son la constante y la semivida de la fase terminal o de disposición lenta.

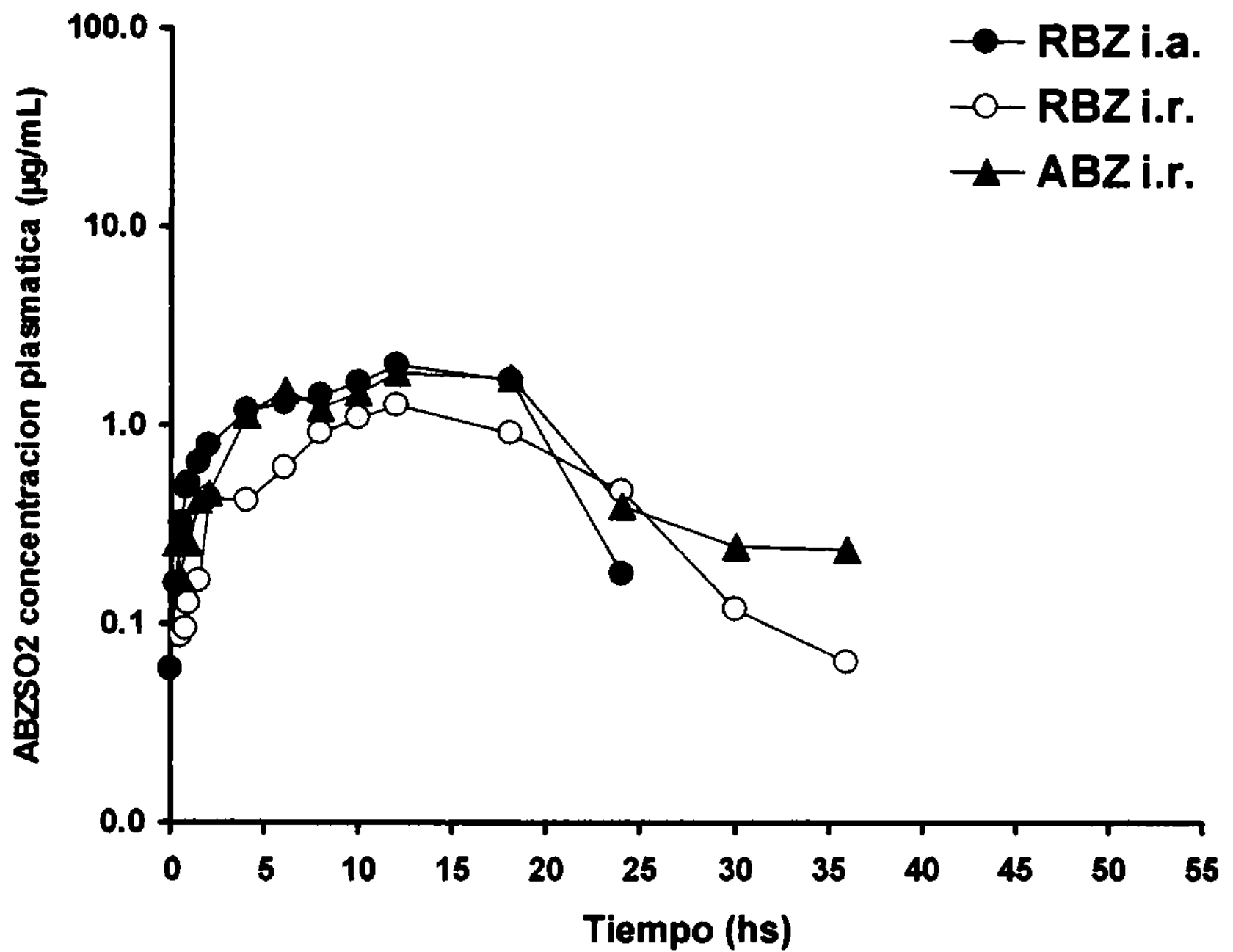


**Figura V.3.** Concentraciones plasmáticas de RBZ administrado a terneros por vía i.a. (A), i.r. (B) y obtenidos tras la administración de ABZ por vía i.r. (C) ajustadas mediante análisis farmacocinético simultáneo de los tres perfiles. Los datos pertenecen a un animal representativo del grupo.

**Tabla V.2.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros por las vías i.a. e i.r. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y tras la administración i.r. de ABZ como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales, los valores de  $k_{10}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $\lambda_2$ ,  $t_{1/2 \lambda_2}$  y  $V_c$  de cada animal fueron obtenidos tras la administración i.v. de RBZ. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	i.a. (RBZ)	i.r. (RBZ)	i.r. (ABZ)
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )		2.70 $\pm$ 1.13	5.58* $\pm$ 1.42
$t_{\text{abs}}$ (min)		719 $\pm$ 240	1197* $\pm$ 362
$k_{01}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0255* $\pm$ 0.014	0.00126 $\pm$ 0.008	
$t_{1/2 01}$ (min)	36* $\pm$ 25	767 $\pm$ 453	
$k_{00}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0079* $\pm$ 0.0034	0.0022 $\pm$ 0.001	
$t_{1/2 00}$ (min)	99* $\pm$ 36	360 $\pm$ 164	
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0097 $\pm$ 0.0024	0.0097 $\pm$ 0.0024	0.0097 $\pm$ 0.0024
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.2421 $\pm$ 0.0706	0.2421 $\pm$ 0.0706	0.2421 $\pm$ 0.0706
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1038 $\pm$ 0.0166	0.1038 $\pm$ 0.0166	0.1038 $\pm$ 0.0166
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0029 $\pm$ 0.0004	0.0029 $\pm$ 0.0004	0.0029 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2 \lambda_2}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	247 $\pm$ 35	247 $\pm$ 35	247 $\pm$ 35
$V_c$ (mL/kg)	224 $\pm$ 64	224 $\pm$ 64	224 $\pm$ 64
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	6.80* $\pm$ 1.26	1.43* $\pm$ 0.88	2.87* $\pm$ 0.91
$t_{\text{max}}$ (min)	94 $\pm$ 29	333* $\pm$ 92	
$AUC_{0-\text{clast}}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	2936 $\pm$ 742	1294* $\pm$ 764	2743 $\pm$ 1822
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	2957 $\pm$ 744	1316* $\pm$ 764	3057 $\pm$ 1574
$F$ (%)	81* $\pm$ 21	35 $\pm$ 16	

$k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $t_{\text{abs}}$  es el tiempo estimado de la duración del proceso de absorción;  $k_{01}$  es la constante de absorción de primer orden;  $t_{1/2 01}$  es la semivida de absorción;  $k_{00}$  es la constante de primer orden de pérdida de medicamento desde el sitio de absorción;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $\lambda_2$  es el exponente de la fase de disposición lenta;  $t_{1/2 \lambda_2}$  es la semivida de la fase de disposición lenta;  $V_c$  es el volumen del compartimento central;  $C_{\text{max}}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{\text{max}}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática;  $AUC_{0-\text{clast}}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $F$  es la fracción absorbida o biodisponible de la dosis de RBZ administrada calculada por el método trapezoidal, la misma esta expresada como porcentaje; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .



**Figura V.4.** Concentraciones plasmáticas de ABZSO<sub>2</sub> obtenidas tras la administración de RBZ a terneros por vía i.a. e i.r. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y tras la administración de ABZ como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) por vía i.r. a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor medio ( $n = 6$ ).

**Tabla V.3.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ABZSO2 calculados a partir de los datos de concentración plasmática obtenidos luego de la administración de RBZ en terneros por las vías i.a. e i.r. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y tras la administración i.r. de ABZ como suspensión comercial al 10% (Valbazen®) a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio ± desvío estándar.

Parámetros	i.a.(RBZ)	i.r. (RBZ)	i.r. (ABZ)
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
$AUC_{0-clast}$ (µg.min/mL)	930* ± 388	1302 ± 144	1922 ± 283
$AUC_{0-\infty}$ (µg.min/mL)	945* ± 386	1336 ± 148	1956 ± 288
$C_{max}$ (µg/mL)	0.84* ± 0.51	1.29 ± 0.09	2.36 ± 0.98
$t_{max}$ (min)	740 ± 177	840 ± 294	580 ± 220
SO2/RBZ	0.32* ± 0.13	1.32 ± 0.74	0.80 ± 0.38

$AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $C_{max}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{max}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática; ABZSO2/RBZ es la relación entre las AUCs de SO2 y RBZ.; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .



Los valores de biodisponibilidad del RBZ administrado como solución difieren sustancialmente respecto de la vía de administración empleada en donde la misma fue solo de un  $35 \pm 16\%$  en el caso de la administración i.r. en comparación con el  $81 \pm 21\%$  obtenido tras la administración de la misma formulación por vía i.a.

Los perfiles de concentración plasmática de ABZSO<sub>2</sub> obtenidos tras la administración de RBZ como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) por vía i.a e ir. y de una suspensión comercial de ABZ al 10% (Valbazen®) a la dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  se presentan en la figura V.4, los valores se hallan representados como la media de los mismos ( $n = 6$ ) y en la tabla V.3. se presentan los parámetros farmacocinéticos de ABZSO<sub>2</sub> estimados para cada vía de administración y formulación empleada expresados como valores medios  $\pm$  desvío estándar. El estudio de los perfiles de ABZSO<sub>2</sub> mostró que entre las distintas vías de administración y formulaciones empleadas que no existen diferencias entre los parámetros farmacocinéticos considerados.

## V.4. DISCUSIÓN

### V.4.1. Biodisponibilidad del RBZ

La administración i.a. de RBZ se caracterizó por presentar una disponibilidad biológica de  $\pm 81\%$  y de una rápida absorción. La rapidez con la que se produce este fenómeno se podría asociar a la proximidad del sitio de administración con el duodeno el que constituye el sitio potencial para su absorción. Es posible que inmediatamente luego de la administración el pequeño volumen inyectado haya sido impulsado hacia el duodeno a causa del peristaltismo gástrico, específicamente por acción de la bomba pilórica. Está demostrado que en los rumiantes la biodisponibilidad de los compuestos BZDs esta condicionada por su solubilidad acuosa, la que depende del pH del medio en el que se encuentran. <sup>(82)</sup> En ese caso dado el pH ácido del medio abomasal y considerando el bajo pH de la solución administrada una gran fracción de la dosis estaría en condiciones de ser absorbida considerando que las moléculas de RBZ se encontrarían en solución.

La rapidez de la absorción del RBZ lograda mediante la administración i.a. es concordante con la velocidad de absorción del febendazole (FBZ) administrado en forma de suspensión por la misma vía. <sup>(78)</sup> Sin embargo las concentraciones plasmáticas de FBZ fueron significativamente menores y estos persistieron por menos tiempo que las obtenidas tras la administración de la misma dosis por vía oral. Esta diferencia puede explicarse porque al ingresar la totalidad de la dosis en forma de suspensión al abomaso, las partículas de FBZ no pudieron permanecer el tiempo suficiente en medio ácido para poder

lograr su completa disolución y aunque la fracción disuelta pudo ser rápidamente absorbida una gran fracción por el contrario permaneció sin disolverse y fue excretada sin ser absorbida.

Teniendo en cuenta que en el acaso de la administración de RBZ por vía i.a. el medicamento evita la permanencia en rumen y los procesos de biodegradación presentes en el mismo, nos parece razonable que luego de la administración i.a. del RBZ en forma soluble la velocidad de absorción sea rápida y solo se produzca una pérdida de  $\pm 20\%$  del medicamento. Esto no ocurrió sin embargo en el caso de la administración de RBZ por vía i.r., en donde la fracción biodisponible fue muy pobre  $\pm 35\%$  en comparación con la obtenida tras la administración i.a. de la molécula. Los procesos de biodegradación llevados a cabo por la microflora presente en el tubo digestivo particularmente el rumen, permiten explicar la gran pérdida de medicamento que se produce antes de su ingreso a la circulación sistémica. Este proceso estaría favorecido por el hecho de necesitar la molécula de RBZ una sola reacción oxidativa para ser inactivada.

Otro factor importante a considerar lo constituye la forma física en la que se encuentra la molécula. En el caso de una suspensión, la molécula para ser liberada necesita de la disolución de las partículas del fármaco, para lo que el caso de los BZD metilcarbamatos el pH óptimo para ello se encuentra en el medio abomasal y no en el ruminal. Otro factor no menos importante a considerar es la fijación de las moléculas de los agente BZD al material fibroso de la dieta, <sup>(48)</sup> lo que daría lugar a que una importante fracción de la dosis administrada atravesase el tubo digestivo sin ser absorbida.

En el caso del ABZ creemos que no es oportuno hablar de biodisponibilidad, ya que estamos administrando una molécula distinta que por biotransformación en la luz del tubo digestivo o a través de su pasaje por el hígado dará lugar al RBZ. Sin embargo es importante remarcar un punto desarrollado anteriormente acerca del efecto de la forma física del medicamento sobre la disponibilidad biológica de los BZDs metilcarbamatos cuando se administran por vía digestiva en rumiantes. Sabemos que en bovinos el ABZ luego de su administración i.r. no puede ser detectado en plasma en ningún momento <sup>(44)(95)</sup> y que los valores de las AUCs de RBZ obtenidas tras la administración i.r. de ABZ no presentan diferencias con las obtenidas tras la administración i.a., pero son 2 a 2.5 veces mayores a las obtenidas tras la administración de RBZ por vía i.r. en forma de solución. En este caso podríamos considerar que aunque el ABZ necesitaría dos reacciones oxidativas para su biodegradación (ver Figura I.2), es la forma física o sea la de partículas en suspensión el factor que retardaría la misma en el ambiente ruminal y lo que le permitiría alcanzar mejores y prolongadas concentraciones plasmáticas.

#### **V.4.2. Orden y procesos de absorción del RBZ**

Es razonable esperar que luego de la administración de un medicamento en solución y en proximidades del sitio para su absorción esta pueda ser explicada mediante un proceso de orden uno. Sin embargo lo curioso de este experimento fue el comportamiento variable con respecto a la cinética de absorción encontrado en la administración de RBZ en solución por vía i.r., en donde un par de animales exhibieron perfiles plasmáticos que solo pudieron ser explicados con un modelo de absorción a velocidad constante.

Un comportamiento más homogéneo fue observado tras la administración i.r. de ABZ, en donde el proceso de absorción en todos los animales fue explicado mediante una cinética de orden cero. La prolongada permanencia del ABZ en el rumen con las partículas de la suspensión dispersas en todo el contenido ruminal permitiría que las mismas abandonaran el rumen al ritmo de la velocidad de vaciado de este órgano. De esta manera una fracción de la dosis administrada ingresaría al abomaso en donde las partículas se disolverían gracias al medio ácido pasando luego al duodeno en donde estarían libres para ser absorbidas. Así es como el rumen actuaría como un reservorio de las partículas en suspensión para su posterior disolución y absorción, prolongando el periodo de absorción que se asimilaría a un proceso de absorción a velocidad constante.

Podemos agregar aquí que un proceso de absorción de orden cero aparente también fue operativo tras la administración de RBZ por vía i.r. en forma de suspensión. De lo hallado proponemos que la variable cinética de absorción del RBZ administrado como solución i.r. puede ser explicada porque las moléculas al encontrarse en forma soluble pueden ser atacadas por los microorganismos ruminales dando lugar a una gran pérdida de la dosis administrada. Lo último es corroborado por el hecho que aunque siendo la misma solución la administrada la vía i.a., esta al evitar en primera instancia el contacto con la flora digestiva permitió que las moléculas del RBZ permanecieran a salvo de la degradación biológica favoreciendo una casi completa absorción de las mismas.

#### **V.4.3. Farmacocinética del ABZSO<sub>2</sub>**

Un dato curioso lo presenta el hecho que los parámetros obtenidos a partir de los perfiles plasmáticos de ABZSO<sub>2</sub> no presentaron diferencias, especialmente entre las relaciones SO<sub>2</sub>/RBZ observadas entre las distintas vías de administración y formulaciones empleadas. Como en el capítulo anterior, el estudio de los perfiles plasmáticos de ABZSO<sub>2</sub> no tienen un objetivo en si mismo sino en el hecho de esclarecer algunos aspectos de la cinética del RBZ. En este caso nos permite echar algo de luz sobre algunos aspectos de la biodisponibilidad.

Tras la administración intravenosa de RBZ la relación  $SO_2/RBZ$  tuvo un valor de  $-0.33$  lo que sugiere que más del 50% de  $ABZSO_2$  circulante es producido antes de ingresar a la circulación sistémica. Si consideramos el hipotético máximo valor de coeficiente de extracción hepático estimado en el experimento pasado ( $\pm 0.1$ ), las pérdidas por biotransformación del RBZ ingresado al hígado a través de la circulación portal no excedería el 11%. Estos resultados vuelven a sugerir que como en el experimento anterior, la mayor parte del  $ABZSO_2$  circulante hallado en plasma luego de una administración extravascular de RBZ sería producido por una biotransformación extrahepática del RBZ, precisamente por acción de la microflora presente en el tubo digestivo de los rumiantes.

## V.5. CONCLUSIÓN

El estudio farmacocinético del RBZ realizado tras la administración extravascular del mismo (i.a. e i.r.) y de su molécula madre el ABZ por vía i.r. se basó en el conocimiento del comportamiento farmacocinético del RBZ tras su administración i.v., lo que permitió conocer el valor de los parámetros farmacocinéticos primarios ( $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ ) que explican la disposición del medicamento en el organismo. El proceso de distribución del RBZ está presente aunque la fase de disposición rápida asociada a este fenómeno no pueda ser distinguida por la inspección visual de los perfiles plasmáticos obtenidos tras las administraciones extravasculares cualquiera sea la vía de administración utilizada. Asumiendo que la variación intraindividual de los parámetros farmacocinéticos es mínima, entonces es posible a partir de un modelo que fije los mencionados valores estimar orden y velocidad de los procesos de absorción y pérdida de medicamento ocurridas antes de ingresar a la circulación general. Lo antedicho constituye el objetivo del presente estudio que permitió establecer los diferentes parámetros que permitieron explicar en forma mecanicista los fenómenos que dieron lugar a los diferentes perfiles de concentración plasmática en función de la vía de administración y las formulaciones utilizadas. En este punto es importante remarcar la estrecha relación entre los fenómenos biológicos observables (concentraciones plasmáticas), y los modelos matemáticos utilizados para explicarlos. La explicación reside justamente en la interpretación de los parámetros farmacocinéticos estimados, que no son parámetros fisiológicos pero que su interpretación es fisiológica. En este sentido el análisis compartimental al permitir estimar los parámetros que determinan los comportamientos farmacocinéticos obtenidos en las administraciones extravasculares permite no solo cuantificar los mismos sino que a partir de esa cuantificación es posible realizar comparaciones para establecer de manera objetiva la elección de una vía de administración o una formulación determinada.

# **CAPÍTULO VI**

---

**Farmacocinética de ricobendazole  
en ovinos administrado  
por vía intravenosa y extravascular**

## VI.1. INTRODUCCIÓN

La escasa solubilidad acuosa de los BZDs es una limitante para su formulación, por lo que para ser utilizados en las especies rumiantes estos compuestos se presentan en forma de suspensiones para ser administrados por vía oral o por vía i.r.

Tal como ya fuera oportunamente explicado rumen se comporta como un reservorio fisiológico de las partículas del BZD, las que son liberadas lentamente hacia el tracto digestivo posterior, prolongando así el proceso de absorción y el tiempo de permanencia del antihelmíntico en el hospedador. <sup>(77)</sup> Sin embargo el tiempo de vaciado ruminal es modificado por tipo, la cantidad y la calidad de la dieta ingerida durante en tratamiento <sup>(41)(68)</sup> influyendo de manera significativa en la permanencia del antihelmíntico en el organismo hospedador. Las formulaciones inyectables de pro-BZDs y de BZDs han sido desarrolladas para evitar estas variaciones que afectan el comportamiento farmacocinético de ese tipo de fármacos y de esa manera al producir concentraciones plasmáticas sostenidas asegurar la eficacia de los mismos.

El RBZ como solución inyectable fue introducido en el año 1995 en el mercado Latino Americano para ser administrado por vía s.c. a bovinos. Aunque esta vía de administración evita el rumen y de esa manera todos los factores que relacionados con la fisiología digestiva pueden influir sobre el tiempo de permanencia del fármaco en el animal hospedador, debemos considerar que el mismo también puede ser afectado por el tipo de formulación empleada.

La disposición plasmática de RBZ y su metabolito ABZSO<sub>2</sub> luego de la administración por vía digestiva de ABZ en ovinos ha sido extensamente estudiada, sin embargo la cinética del RBZ y del ABZSO<sub>2</sub> luego de la administración s.c. de RBZ en ovinos no ha sido aun reportada. Aunque Sinyotal-R® es comercializado para ser utilizado solo en bovinos, pensamos que sería importante estudiar la cinética plasmática del RBZ luego de la administración esta formulación en ovinos a los fines de establecer diferencias o ventajas sobre las clásicas suspensiones para administración oral o i.r. del RBZ.

En este experimento el RBZ es administrado a ovinos por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sinyotal-R®) y por vía i.r. como suspensión experimental al 10%.

## VI.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### VI.2.1. Animales experimentales

En este estudio se utilizaron cinco ovinos hembra raza corriedale sanos y libres de parásitos con un peso comprendido entre los 40 y 50 kg. Durante la fase experimental los animales permanecieron en corrales consumiendo heno de alfalfa de buena calidad y teniendo libre acceso al consumo de agua.

### VI.2.2. Medicamento administrado

El medicamento estudiado fue el metabolito activo de ABZ también conocido como albendazole sulfóxido (ABZSO) o ricobendazole (RBZ), el que fue administrado por las vías i.v., s.c. e i.r. según un diseño de cross-over con tres fases, tres grupos de tratamiento y un periodo de espera de una semana entre cada fase de acuerdo al siguiente esquema:

**Tabla VI.1.** Esquema de cross-over con tres fases y tres grupos de tratamiento con el que se realizó la experiencia.

	Secuencia 1		Secuencia 2		Secuencia 3
	Ovino 1	Ovino 2	Ovino 3	Ovino 4	Ovino 5
Fase1	i.v.	i.v.	s.c.	s.c.	i.r.
Fase2	s.c.	s.c.	i.r.	i.r.	i.v.
Fase3	i.r.	i.r.	i.v.	i.v.	s.c.

El RBZ fue administrado la dosis de de 5 mg.kg<sup>-1</sup> en tres formas farmacéuticas:

- Como solución experimental al 10% en DMSO para su administración i.v.
- Como solución comercial al 15% (Syntiotol-R®) para su administración s.c.
- Como suspensión experimental al 10% para su administración i.r.

La solución inyectable estaba formulada en un vehículo conteniendo propilenglicol, polivinilpirrolidona, ácido hidroclicórico y agua destilada presentando un pH final de 1.05. Las muestras de sangre fueron tomadas por punción directa de la vena yugular a los siguientes tiempos posadministración: 1, 5, 15, 30, 45 y 60 minutos y 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48 y 60 hs. y fueron depositadas en tubos heparinizados, los que fueron refrigerados en recipientes con hielo. El plasma fue separado mediante centrifugación dentro de la hora de la extracción y almacenado a -20 °C hasta su posterior análisis.

### VI.2.3. Procedimiento analítico

El tratamiento de las muestras, detección y cuantificación de los analitos fueron explicados en el capítulo II.

#### VI.2.4. Análisis farmacocinético

##### VI.2.4.1. Análisis farmacocinético del RBZ (administración i.v.)

El análisis de los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras la administración i.v. fue realizado usando la misma metodología descrita en el capítulo III. Un modelo bicompartimental fue seleccionado para explicar el proceso de disposición plasmática del RBZ en ovinos, el que es descrito por las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{12}X_2 \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 + k_{21}X_2 \quad \text{Eq.2}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.3}$$

Los símbolos fueron explicados anteriormente al igual que la metodología utilizada para el cálculo de los demás parámetros farmacocinéticos.

##### VI.2.4.2. Análisis farmacocinético del RBZ (administraciones s.c. e i.r.)

La inspección visual de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras las administraciones s.c. e i.r. no permitieron distinguir la fase de de disposición rápida asociada con la fase de distribución, por lo que los perfiles plasmáticos de cuatro animales en el caso de la administración s.c. y todos los animales en el caso de la administración i.r. pudieron ser descritos por un clásico modelo biexponencial extravascular y solo un animal correspondiente a la administración s.c. presentó un perfil compatible con un proceso de absorción de orden cero aparente.

Con el objeto de saber si un fenómeno de *flip-flop* estaba presente, el valor de las pendientes de la fase terminal obtenido en las tres vías de administración fueron calculadas. En el caso de los perfiles que pudieron ser descritos con ecuaciones exponenciales el cálculo se realizó mediante el método de las residuales. En el caso en que un proceso de orden cero aparente estuvo presente en el proceso de absorción, la constante se estimó por transformación logarítmica de las concentraciones plasmáticas pertenecientes a la fase de eliminación y regresión lineal de las mismas.

El análisis de los datos de concentración plasmática de RBZ obtenidos en el presente experimento se analizaron con un modelo bicompartimental considerando los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  obtenidos en el análisis de los datos obtenidos tras la administración i.v. Los perfiles correspondientes a cada ensayo se analizaron en forma separada fijando los valores



de los parámetros mencionados anteriormente y dejando liberado al modelo para la estimación de los valores de los parámetros de los procesos de absorción. En los tres casos los parámetros de los procesos de absorción fueron estimados a partir de los datos de concentración plasmática mediante regresión lineal ponderada de mínimos cuadrados mediante el programa Scientist™, MicroMath Software, Salt Lake City, UT. El análisis permitió discriminar entre un proceso de absorción de orden cero y de orden uno. La representación grafica del modelo utilizado se presenta en la figura VI.2.

#### VI.2.4.2.1. Modelo bicompartimental con absorción de orden uno

El sistema de ecuaciones diferenciales que describen el modelo bicompartimental con un proceso de absorción de orden uno son las siguientes:

$$\frac{dX_a}{dt} = -(k_{00} + k_{01})X_a \quad \text{Eq.4}$$

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{21})X_1 + k_{21}X_2 + k_{01}X_a \quad \text{Eq.5}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.6}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.7}$$

donde  $k_{00}$  y  $k_{01}$  son las constantes de orden uno aparente de pérdida del medicamento y de absorción respectivamente.

En el caso de los modelos con procesos de absorción de primer orden los perfiles de concentración plasmática pudieron ser descriptos mediante un modelo biexponencial extravascular, por lo que el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática ( $t_{\max}$ ) fue calculado de la siguiente manera:

$$t_{\max} = \frac{\ln k_{01} - \ln \lambda_2}{k_{01} - \lambda_2} \quad \text{Eq.8}$$

Mientras que la máxima concentración plasmática fue calculada con la siguiente relación:

$$C_{\max} = \frac{D F k_{01}}{V_{\text{area}} (k_{01} - \lambda_2)} e^{-\lambda_2 t_{\max}} - e^{-\lambda_1 t_{\max}} \quad \text{Eq.9}$$

La ecuación anterior se basa en el hecho de que los perfiles de concentración plasmática pudieron ser explicados mediante un modelo biexponencial y que  $C_{\max}$  se produce luego de

que haberse alcanzado el estado de pseudoequilibrio estacionario, de manera que la relación entre la cantidad de medicamento presente en el organismo y la  $C_p$  pueden ser explicadas mediante el empleo del  $V_{area}$ .

#### VI.2.4.2.2. Modelo bicompartimental con absorción de orden cero

El sistema de ecuaciones diferenciales que describen el modelo bicompartimental con un proceso de absorción de orden cero son las siguientes:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12}X_1 + k_{21}X_2 + k_0) \quad \text{Eq.10}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.11}$$

$$C_p = \frac{X_1}{V_c} \quad \text{Eq.12}$$

En el caso de los modelos con absorción de orden cero, el  $t_{max}$  corresponde al tiempo que el proceso de absorción ( $t_{abs}$ ) casi ha finalizado y que es estimado por el modelo, el valor de  $C_{max}$  coincide con este momento y puede ser estimado de la siguiente manera:

$$C_{max} = \frac{k_0(k_{21} - \lambda_1)(e^{-\lambda_1 t_{abs}})}{V_c(\lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1))} + \frac{k_0(k_{21} - \lambda_2)(e^{-\lambda_2 t_{abs}})}{V_c(\lambda_2(\lambda_1 - \lambda_2))} \quad \text{Eq.13}$$

Los demás parámetros farmacocinéticos fueron estimados mediante la metodología ya descrita.

#### VI.2.4.3. Análisis farmacocinético simultaneo de los perfiles i.v., s.c. e i.r.

Los sistemas de ecuaciones diferenciales utilizados para las administraciones i.v. y extravasculares fueron integradas para analizar los tres perfiles en forma simultanea permitiendo de esa manera calcular los mejores valores estimados de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ ,  $k_{00}$ ,  $k_{01}$  y  $k_0$ .

#### VI.2.4.4. Análisis farmacocinético de ABZSO2

Los perfiles plasmáticos de ABZSO2 fueron analizados mediante estimación de las AUCs por medio del método trapezoidal,  $t_{max}$  y  $C_{max}$  fueron obtenidos mediante inspección visual de los mencionados perfiles. La relación entre las AUCs de ABZSO2 y RBZ (SO2/RBZ), fueron calculadas por medio de la siguiente relación:

$$\text{SO2/RBZ} = \frac{AUC_{0-\infty} \text{ ABZSO2}}{AUC_{0-\infty} \text{ RBZ}} \quad \text{Eq.14}$$

### **VI.2.5. Análisis estadístico**

Para la realización del análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa MICROSTAT (1978-85 by Ecosoft, Inc.) Los valores de las variables farmacocinéticas hallados en cada una de las experiencias realizadas fueron promediados y expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar. Sobre la base de estos resultados se aplicó el análisis paramétrico de la varianza. El límite de probabilidad fue establecido en 0.05.

## **VI.3. RESULTADOS**

### **VI.3.1. Análisis farmacocinético del RBZ**

Contrariamente a lo observado en bovinos no se observó reacción tisular en el sitio de inyección durante o después de la administración a pesar del bajo pH de la formulación empleada. Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras las administraciones i.v., s.c. e i.r. se presentan en la figura VI.1. Los valores de las concentraciones plasmáticas están expresados por su valor promedio ( $n = 6$ ).

#### **VI.3.1.1. Análisis compartimental simple**

Los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidas tras su administración i.v. fueron mejor descriptos mediante un modelo biexponencial en el que los términos pudieron ser asociados con los procesos de distribución y eliminación respectivamente, por lo que los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. se analizaron con un modelo bicompartimental abierto. Los resultados de ese análisis se presentan en la tabla VI.2. No se encontraron diferencias entre los valores de las pendientes calculadas a partir de las fases terminales obtenidas en las tres vías de administración ensayadas (Tabla VI.3.).

Aunque un proceso de distribución aparente puede ser discriminado a partir de la inspección visual de los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración i.v., en los perfiles obtenidos tras las administraciones extravasculares la pendiente de disposición rápida asociada al proceso de distribución no pudo ser distinguida por inspección visual. Sin embargo sumiendo que el proceso de distribución es operativo cualquiera sea la vía de administración utilizada y que los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  estimados en el análisis de los perfiles intravenosos presentan poca variación intraindividual es que los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras las administraciones s.c. e i.r. fueron analizados con un modelo bicompartimental fijando los parámetros antedichos. El modelo permitió discriminar un proceso de absorción de orden uno para todos los casos con excepción de un animal que tras la administración s.c. presentó un perfil de concentraciones plasmáticas asimilable a un proceso de absorción de orden cero aparente. Los parámetros

farmacocinéticos obtenidos en la administración s.c. e i.r. se presentan en las tablas VI.4. y VI.5.

#### VI.3.1.2. Análisis farmacocinético simultáneo

El modelo utilizado para analizar en forma simultánea los perfiles de concentración plasmática de RBZ obtenidos tras la administración i.v., s.c. e i.r. se encuentra representado en la figura VI.2., mientras que el modelo utilizado para analizar el perfil extravascular s.c. asimilable a un proceso de absorción de orden cero se presenta en la figura IV.10. El ajuste logrado con el modelo para cada perfil en un animal representativo del grupo se presenta en la figura VI.3. Los valores promedios  $\pm$  desvío estándar de los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados por análisis individual de los perfiles de concentración plasmática se presentan en la tabla VI.2. para la administración i.v. y en las tablas VI.4. y VI.5. para las administraciones s.c. e i.r.

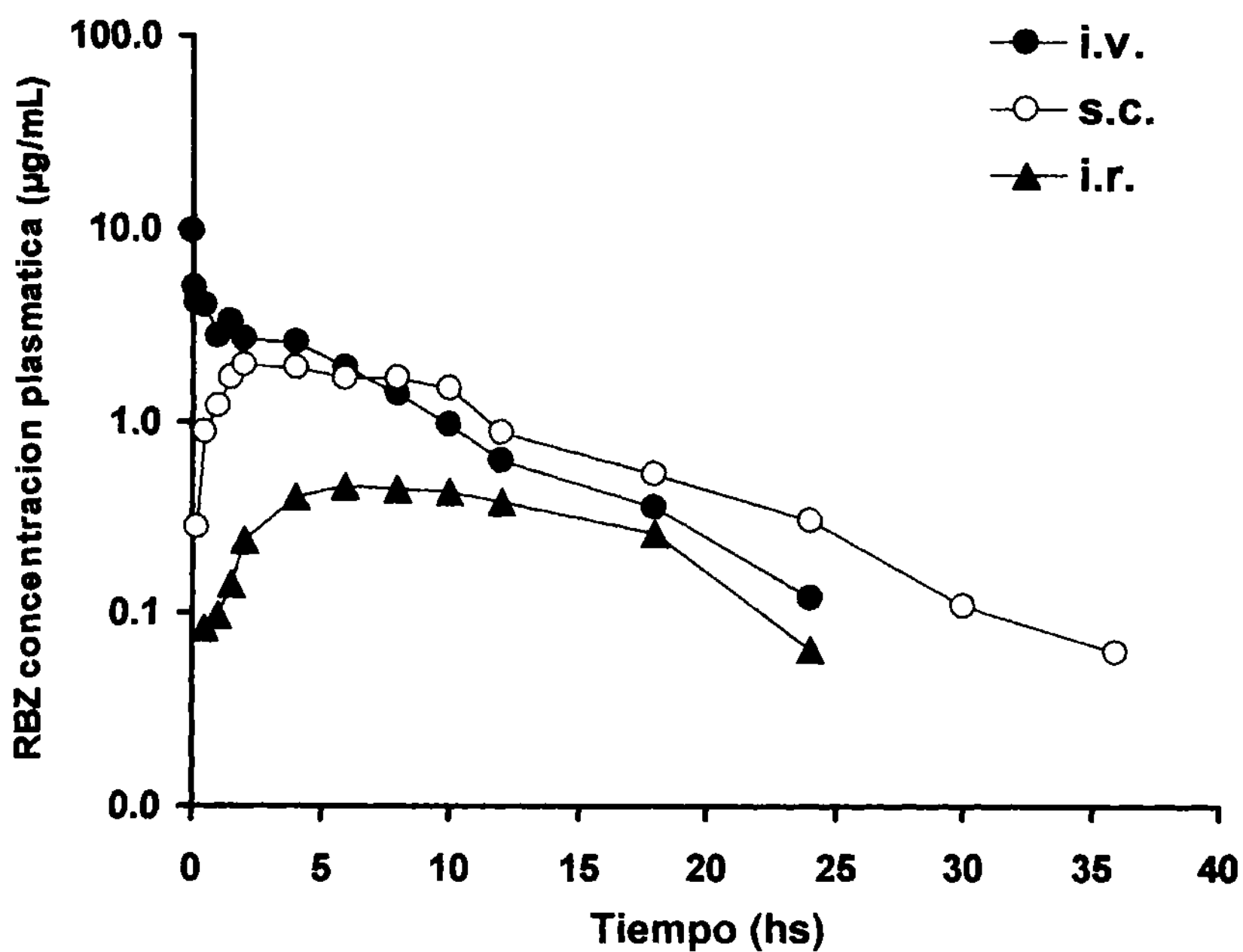
No se encontraron diferencias entre los valores de los parámetros farmacocinéticos estimados por medio del análisis compartimental individual y simultáneo (tablas VI.2., VI.4. y VI.5.).

#### VI.3.1.3. Valores finales

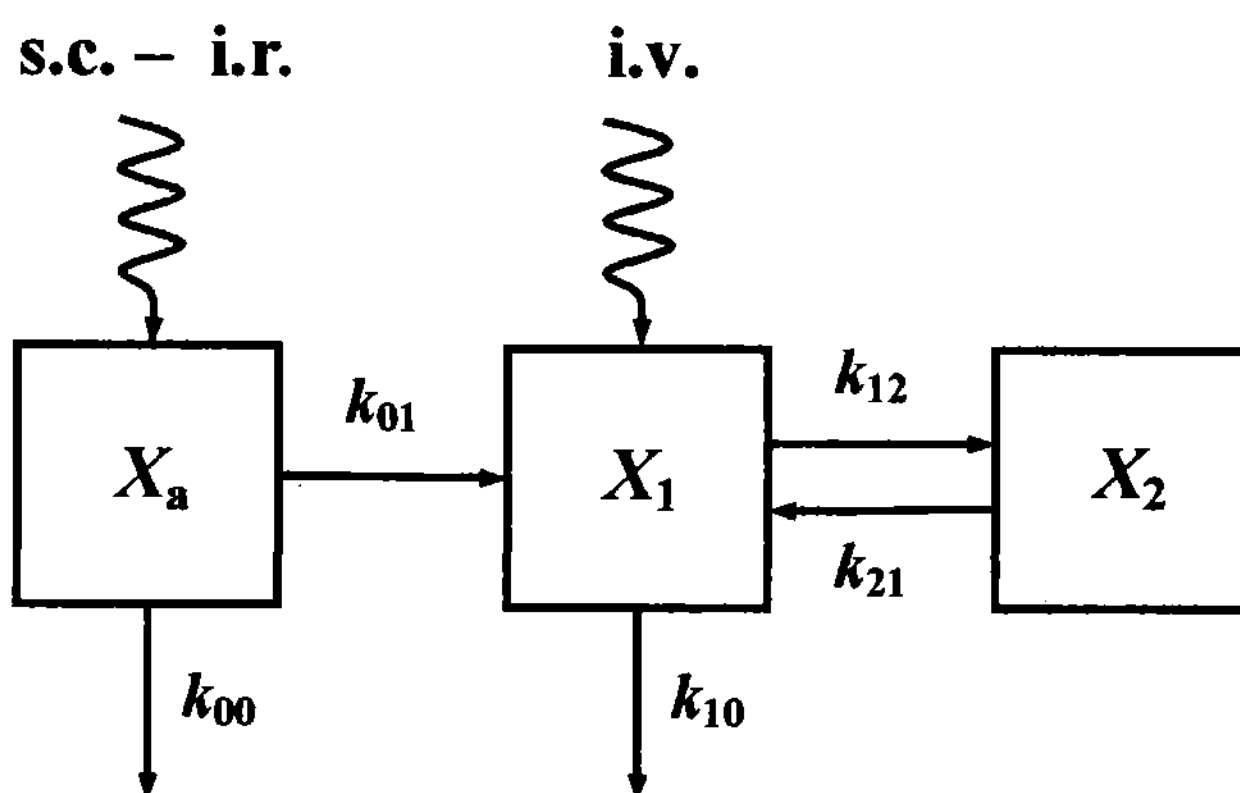
Los valores promedios  $\pm$  desvío estándar de los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados por análisis simultáneo de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras su administración i.v., s.c. e i.r. se presentan en la tabla VI.6. Los valores estimados del coeficiente de extracción y de la fracción de RBZ presente en el compartimento central se presentan en la tabla VI.7.

### VI.3.2. Análisis farmacocinético del ABZSO<sub>2</sub>

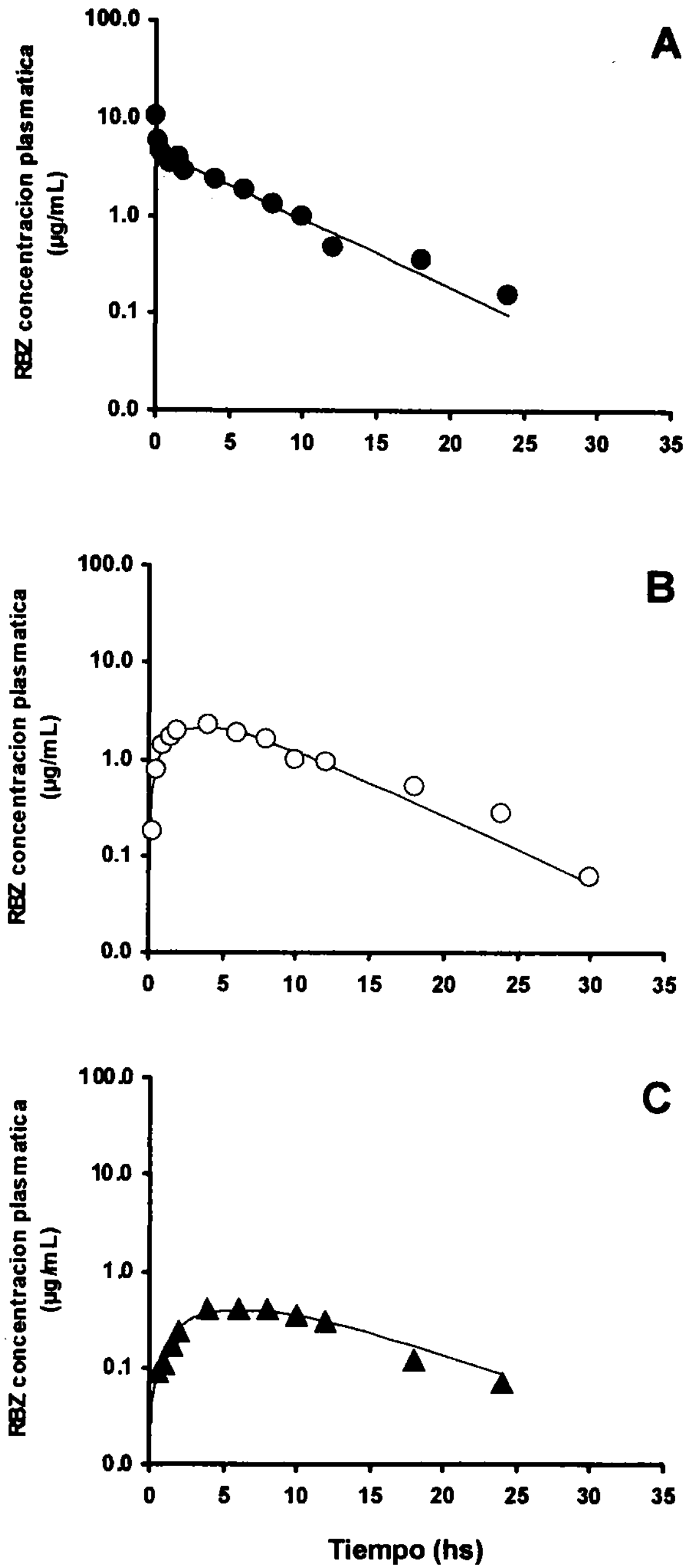
Los perfiles de concentración plasmática de ABZSO<sub>2</sub> obtenidos tras las administraciones i.v., s.c. e i.r. se presentan en la figura VI.4. Los valores de las concentraciones plasmáticas están expresados por su valor promedio ( $n = 6$ ). Los valores promedios  $\pm$  desvío estándar de los parámetros farmacocinéticos de ABZSO<sub>2</sub> obtenidos tras la administración i.v., s.c., e i.r. de RBZ se presentan en la tabla VI.8. Los valores de  $t_{\max}$  y  $C_{\max}$  no presentaron diferencias entre las vías i.v. y s.c. y en el caso de la administración i.r. el valor de  $C_{\max}$  fue menor y se presentó más tardíamente. Los valores de las AUCs resultantes de la administración de RBZ por las vías i.v., s.c. e i.r. fueron diferentes entre si, siendo el valor más grande para la obtenida tras la administración s.c y la menor para la obtenida tras la administración i.r. La relación SO<sub>2</sub>/RBZ presentó valores similares en las vías s.c. e i.r. mientras que presento un valor mas bajo en la administración i.v.



**Figura V.1.** Concentraciones plasmáticas de RBZ obtenidas tras su administración a ovinos por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. en forma de suspensión experimental al 10% a la dosis de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor promedio ( $n = 5$ ).



**Figura VI.2.** Representación gráfica del modelo bicompartmental utilizado para el estudio de la disposición plasmática de RBZ administrado a ovinos por vía i.v. en forma de solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>.  $X_a$  es la cantidad de RBZ presente en el sitio de absorción;  $X_1$  y  $X_2$  son las cantidades de RBZ presentes en los compartimentos central y periférico;  $k_{01}$  es la constante de absorción de primer orden aparente;  $k_{00}$  es la constante de primer orden aparente de pérdida de medicamento desde el sitio de absorción;  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  son las constantes de primer orden aparente de eliminación, distribución y redistribución respectivamente.



**Figura VI.3.** Concentraciones plasmáticas de RBZ administrado a ovinos por vía i.v. (A), s.c. (B) e i.r. (C) ajustadas mediante análisis farmacocinético simultáneo de los tres perfiles. Los datos pertenecen a un animal representativo del grupo.

**Tabla VI.2.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en ovejas por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los parámetros fueron calculados mediante análisis farmacocinético individual y simultáneo con los datos obtenidos tras las administraciones realizadas por vía s.c. e i.r. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Análisis individual	Análisis simultáneo
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$C_p(0)$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	12.74 $\pm$ 1.82	13.14 $\pm$ 1.06
$A_1$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	8.94 $\pm$ 2.17	9.21 $\pm$ 1.62
$\lambda_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.418 $\pm$ 0.079	0.49 $\pm$ 0.20
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	1.7 $\pm$ 0.4	1.54 $\pm$ 0.44
$A_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	3.79 $\pm$ 0.48	3.92 $\pm$ 0.61
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0022 $\pm$ 0.0003	0.0023 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	323 $\pm$ 58	311 $\pm$ 64
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0072 $\pm$ 0.0010	0.0075 $\pm$ 0.0003
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.2814 $\pm$ 0.055	0.3298 $\pm$ 0.1025
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1311 $\pm$ 0.052	0.1586 $\pm$ 0.101
$V_c$ (mL/kg)	400 $\pm$ 67	383 $\pm$ 33
$V_{ss}$ (mL/kg)	1304 $\pm$ 187	1269 $\pm$ 202
$V_{area}$ (mL/kg)	1320 $\pm$ 191	1284 $\pm$ 207
$Cl_B$ ( $\text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )	2.85 $\pm$ 0.11	2.88 $\pm$ 0.13
$AUC_{0-clast}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ )	1748 $\pm$ 40	1748 $\pm$ 40
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ )	1776 $\pm$ 40	1775 $\pm$ 38

$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{area}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal.



**Tabla V.3.** Valores de la pendiente de la fase terminal y semividas de RBZ después de su administración en ovejas por vía i.v. de una solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. de una solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. de una suspensión experimental al 10% a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados en forma individual y como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$\lambda_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.0022 $\pm$ 0.0003	0.0021 $\pm$ 0.0002	0.0030 $\pm$ 0.0005
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	323 $\pm$ 58	337 $\pm$ 43	236 $\pm$ 35

$\lambda_2$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son la constante y la semivida de la fase de disposición lenta.

**Tabla VI.4.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en ovejas por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los parámetros fueron calculados mediante análisis farmacocinético individual y simultáneo con los datos de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. de RBZ. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Administración subcutánea	
	Análisis individual	Análisis simultáneo
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	8.20	8.41
$t_{\text{abs}}$ (min)	718	791
$k_{01}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0071 $\pm$ 0.0006	0.0070 $\pm$ 0.0009
$t_{1/2\ 01}$ (min)	99 $\pm$ 8	101 $\pm$ 13
$k_{00}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0012 $\pm$ 0.0009	0.0012 $\pm$ 0.0010
$t_{1/2\ 00}$ (min)	878 $\pm$ 561	848 $\pm$ 570
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	2.08 $\pm$ 0.24	2.09 $\pm$ 0.24
$t_{\text{max}}$ (min)	228 $\pm$ 27	229 $\pm$ 27
$AUC_{0-\text{clast}}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1673 $\pm$ 190	1673 $\pm$ 190
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1704 $\pm$ 191	1703 $\pm$ 189
$F$ (%)	96 $\pm$ 9.5	96 $\pm$ 9.5

$k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $t_{\text{abs}}$  es el tiempo estimado de la duración del proceso de absorción;  $k_{01}$  es la constante de absorción primer orden;  $t_{1/2\ 01}$  es la semivida de absorción;  $k_{00}$  es la constante de primer orden de pérdida de medicamento desde el sitio de absorción;  $C_{\text{max}}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{\text{max}}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática;  $AUC_{0-\text{clast}}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $F$  es la fracción absorbida o biodisponible de la dosis administrada calculada por el método trapezoidal expresada como porcentaje.

**Tabla VI.5.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en ovejas por vía i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los parámetros fueron calculados mediante análisis farmacocinético individual y simultáneo con los datos de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. de RBZ. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Administración intraruminal	
	Análisis individual	Análisis simultáneo
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$k_{01}$ (min <sup>-1</sup> )	0.00071 $\pm$ 0.0001	0.00069 $\pm$ 0.0001
$t_{1/2\ 01}$ (min)	1014 $\pm$ 252	1042 $\pm$ 234
$k_{00}$ (min <sup>-1</sup> )	0.0017 $\pm$ 0.0004	0.0016 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2\ 00}$ (min)	417 $\pm$ 91	448 $\pm$ 133
$C_{max}$ ( $\mu$ g/mL)	0.44 $\pm$ 0.10	0.44 $\pm$ 0.10
$t_{max}$ (min)	437 $\pm$ 43	438 $\pm$ 39
$AUC_{0-clast}$ ( $\mu$ g.min/mL)	449 $\pm$ 99	449 $\pm$ 99
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu$ g.min/mL)	476 $\pm$ 105	475 $\pm$ 104
$F$ (%)	27 $\pm$ 5.7	27 $\pm$ 5.6

$k_{01}$  es la constante de absorción primer orden;  $t_{1/2\ 01}$  es la semivida de absorción;  $k_{00}$  es la constante de primer orden de pérdida de medicamento desde el sitio de absorción;  $C_{max}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{max}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $F$  es la fracción absorbida o biodisponible de la dosis administrada calculada por el método trapezoidal expresada como porcentaje.

**Tabla VI.6.** Parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en ovejas por vía i.v., s.c. e i.r. El análisis farmacocinético de los tres perfiles de concentración plasmática vs. tiempo de cada animal fue realizado en forma simultánea. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

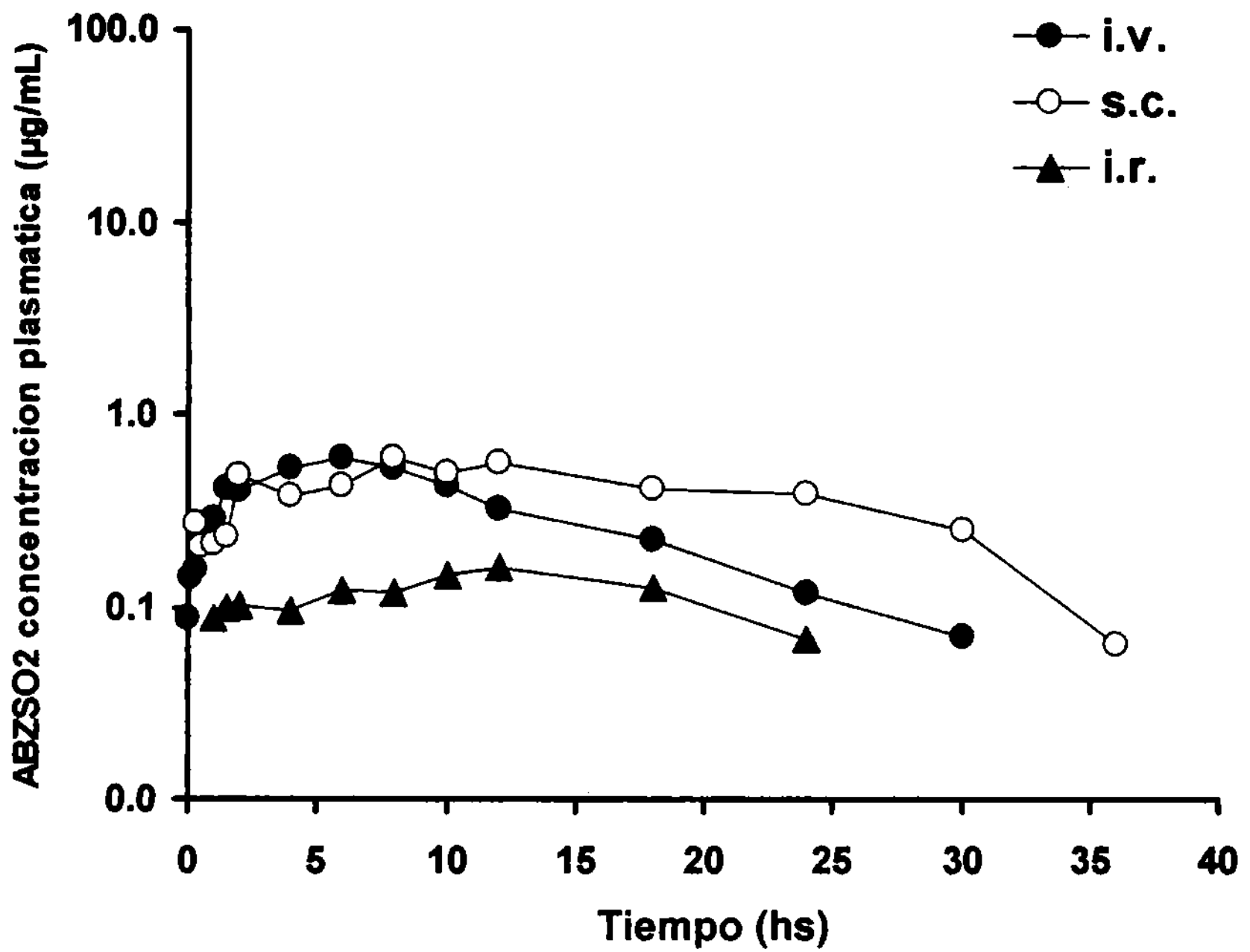
Parámetros	Análisis simultáneo		
	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$C_p(0)$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	13.14 $\pm$ 1.06		
$A_1$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	9.21 $\pm$ 1.62		
$\lambda_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.49 $\pm$ 0.20		
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	1.54 $\pm$ 0.44		
$A_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	3.92 $\pm$ 0.61		
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0023 $\pm$ 0.0004		
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	311 $\pm$ 64		
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0075 $\pm$ 0.0003		
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.3298 $\pm$ 0.1025		
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1586 $\pm$ 0.101		
$V_c$ (mL/kg)	383 $\pm$ 33		
$V_{ss}$ (mL/kg)	1269 $\pm$ 202		
$V_{area}$ (mL/kg)	1284 $\pm$ 207		
$Cl_B$ (mL.kg $^{-1}$ .min $^{-1}$ )	2.88 $\pm$ 0.13		
$AUC_{0-clast}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1748 $\pm$ 40	1673 $\pm$ 190	449* $\pm$ 99
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	1775 $\pm$ 38	1703 $\pm$ 189	475* $\pm$ 104
$k_0$ ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ .min $^{-1}$ )		8.41 $\S$	
$t_{abs}$ (min)		791 $\S$	
$k_{01}$ ( $\text{min}^{-1}$ )		0.0070 $\pm$ 0.0009	0.00069* $\pm$ 0.0001
$t_{1/2 01}$ (min)		101 $\pm$ 13	1042* $\pm$ 234
$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		2.09 $\pm$ 0.24	0.44* $\pm$ 0.10
$t_{max}$ (min)		229 $\pm$ 27	438* $\pm$ 39
$F$ (%)		96 $\pm$ 9.5	27* $\pm$ 5.6

$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{area}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero;  $t_{abs}$  es el tiempo estimado de la duración del proceso de absorción;  $k_{01}$  es la constante de absorción primer orden;  $t_{1/2 01}$  es la semivida de absorción;  $C_{max}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{max}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática;  $F$  es la fracción absorbida o biodisponible de la dosis administrada calculada por el método trapezoidal. ( $\S$ ) datos pertenecientes al animal 3; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás,  $p < 0.05$ .

**Tabla VI.7.** Coeficiente de extracción y fracción de RBZ presente en el compartimento central tras su administración a ovinos por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados en forma individual y como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros (unidades)	Promedio $\pm$ DE
$f_c$	0.310 $\pm$ 0.071
$f_c$	0.690 $\pm$ 0.071
$f_c^*$	0.307 $\pm$ 0.071
$f_c^*$	0.693 $\pm$ 0.071
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.88 $\pm$ 0.13
$Q$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	90
$ER$	0.032 $\pm$ 0.002

$Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $Q$  es el gasto cardiaco expresado como volumen de plasma;  $ER$  es el coeficiente de extracción expresado como porcentaje;  $f_c$  es la fracción de medicamento presente en el compartimento central al estado de equilibrio estacionario;  $f_c^*$  es la fracción de medicamento presente en el compartimento central al estado de pseudoequilibrio.



**Figura VI.4.** Concentraciones plasmáticas de ABZSO2 obtenidas tras la administración de RBZ a ovinos por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. en forma de solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por vía i.r. en forma de suspensión experimental al 10% a la dosis de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valor promedio ( $n = 5$ ).

**Tabla VI.8.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ABZSO2 calculados a partir de los datos de concentración plasmática obtenidos luego de la administración de RBZ en ovejas por vía i.v. de una solución experimental al 10% en DMSO, por vía s.c. como solución comercial al 15% (Sintyotal-R®) y por la vía i.r. como suspensión experimental al 10% a la dosis de 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Los valores están expresados como promedio ± desvío estándar.

Parámetros	i.v.	s.c.	i.r.
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
$AUC_{0-clast}$ (µg.min/mL)	518* ± 32	810* ± 128	162* ± 47
$AUC_{0-\infty}$ (µg.min/mL)	546* ± 43	841* ± 120	188* ± 50
$C_{max}$ (µg/mL)	0.60 ± 0.03	0.76 ± 0.30	0.18* ± 0.05
$t_{max}$ (min)	384 ± 54	576 ± 100	840* ± 224
SO2/RBZ	0.31 ± 0.03	0.50 ± 0.07	0.40 ± 0.06

$AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $C_{max}$  es la concentración plasmática máxima estimada;  $t_{max}$  es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática; ABZSO2/RBZ es la relación entre las AUCs de SO2 y RBZ.; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .

## VI.4. DISCUSIÓN

### VI.4.1. Fisiología digestiva y comportamiento farmacocinético del RBZ

La biodisponibilidad de los agentes BZDs en los rumiantes está estrechamente relacionada con la fisiología digestiva de estas especies. Cuando los BZDs son administrados ya sea por vía oral o i.r., el rumen actúa como un reservorio fisiológico del fármaco produciendo una liberación lenta de estos compuestos hacia las regiones posteriores del tracto digestivo, lo que prolonga el proceso de absorción y por consiguiente el tiempo de residencia de los mismos en el organismo del animal hospedador. <sup>(76)</sup> Es importante tener en cuenta que la velocidad de tránsito de la ingesta a través del aparato digestivo puede ser alterada por cambios en la calidad y cantidad de la dieta ingerida durante el tratamiento antihelmíntico <sup>(41)</sup> <sup>(68)</sup> ocasionando alteraciones en la disponibilidad sistémica de estos compuestos. En este sentido, la persistencia de los compuestos BZDs en el rumen puede ser prolongada simplemente por someter a los animales a un periodo de ayuno antes de recibir el tratamiento. <sup>(95)</sup>

Otra alternativa para mejorar la biodisponibilidad de los BZDs es el desarrollo de nuevas formulaciones. Un ejemplo de ello lo constituye una formulación inyectable de RBZ para ser usada en bovinos cuyo objetivo es lograr concentraciones plasmáticas estables por un prolongado periodo evitando las variaciones asociadas a factores relacionados con la fisiología digestiva y la dieta. Debido a que esta formulación podría ser utilizada en ovinos, hemos considerado desarrollar un modelo que permita estimar los parámetros farmacocinéticos del RBZ y estudiar la disposición de la mencionada molécula en esta especie.

### VI.4.2. Modelo farmacocinético

El objetivo del presente estudio no fue solo lograr el ajuste y la descripción de los perfiles de concentración plasmática del RBZ obtenidos tras la administración del mismo por las vías i.v. s.c. e i.r., sino lograr explicar en un sentido mecanicista la disposición de esta molécula en la especie ovina. Dado que la curva de concentraciones plasmáticas de RBZ obtenidas tras su administración i.v. fueron descritas por un modelo biexponencial, se optó por un modelo bicompartimental para explicar la disposición de la molécula. En este sentido asumimos que el proceso de distribución se encuentra presente cualquiera sea la vía de administración utilizada. Lo expresado es importante ya que en la gran mayoría de los perfiles de concentraciones plasmáticas obtenidos tras la administración extravascular de muchos fármacos no es posible distinguir la fase de disposición rápida que se asocia al proceso de distribución y un modelo monocompartimental puede ser incorrectamente propuesto para explicar la cinética del medicamento. De acuerdo a lo expuesto en una



primera instancia, la cinética del RBZ en la especie ovina fue estudiada mediante un modelo bicompartimental fijando los valores los parámetros farmacocinéticos estimados a partir del análisis de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v.

Habiendo observado que este tipo de análisis permite explicar la cinética del RBZ y discriminar no solo el orden y la velocidad del proceso de absorción sino también las pérdidas de fármaco producidas antes de su ingreso a la circulación sistémica se procedió a realizar el análisis simultáneo de los perfiles plasmáticos obtenidos tras las tres vías de administración ensayadas. Este análisis nos permitió calcular los mejores valores estimados de los parámetros farmacocinéticos que pudieron explicar y describir la disposición del RBZ en la especie bajo estudio. La similitud de los valores estimados mediante este tipo de análisis con respecto a los hallados mediante análisis compartimental simple y mediante el uso de modelos exponenciales pone de manifiesto la robustez y la confiabilidad del método analítico propuesto demostrando que el mismo es una herramienta útil para realizar estudios farmacocinéticos cuando los sistemas se comportan en forma lineal.

#### **VI.4.3. Distribución**

Debido a que el RBZ ejerce su efecto en el compartimento periférico, es importante evaluar la capacidad de la molécula para difundir fuera del compartimento central. En ese sentido los valores de los volúmenes de distribución considerados en forma absoluta no aportan información concreta acerca de lo anteriormente dicho, sino que solo se comportan como un factor de proporcionalidad para poder calcular la cantidad de medicamento presente en el organismo a partir de una concentración plasmática medida a un tiempo determinado. No obstante lo anterior, el  $V_{ss}$  representa una aproximación del volumen fisiológico en el cual el medicamento se halla distribuido cuando el estado de equilibrio estacionario posinfusión se ha alcanzado, por lo que resulta interesante estimar el valor de la fracción del medicamento absorbido ( $f_c$ ) se encuentra en el compartimento central en ese momento. El valor estimado de  $f_c$  fue de  $0.31 \pm 0.07$ , lo que indica que un 69% del medicamento ingresado al organismo se encuentra presente en el compartimento periférico en el momento de alcanzarse el estado de equilibrio estacionario, lo que constituye un interesante dato acerca de la difusión del medicamento fuera del espacio vascular.

Ha sido reportado que tras la administración de ABZ a ovinos por vía i.r. las concentraciones plasmáticas de RBZ se mantuvieron en equilibrio con las concentraciones abomasales, lo que sugiere que el fármaco difunde desde la circulación sistémica hacia el abomaso en donde alcanza elevadas concentraciones. <sup>(76)</sup> Considerando lo anterior y teniendo en cuenta el volumen de los fluidos digestivos en los rumiantes, es posible inferir que los mismos juegan un importante papel en la distribución de los compuestos BZDs.

Un dato curioso lo constituye el hecho de que en esta especie los  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  presentan valores casi idénticos y el calculo de la fracción de medicamento presente en el compartimento central luego de haberse alcanzado el estado de pseudo equilibrio ( $f_c^*$ ) fue de  $0.30 \pm 0.07$ , que casi no difiere del valor de  $f_c$ . Este hallazgo permite inferir que la fracción de RBZ presente en el compartimento central permanece casi constante durante todo el proceso de disposición, lo que es explicado porque al igual que en bovinos en este caso el valor de  $k_{10}$  es menor que los valores de  $k_{12}$  y  $k_{21}$ .<sup>(1)</sup> De esta manera la velocidad de los procesos de distribución y redistribución dan lugar a que el equilibrio entre los compartimentos central y periférico se alcance rápidamente siendo en este caso  $k_{10}$  la constante de velocidad limitante de la disposición plasmática.

#### VI.4.4. Clearance

La capacidad de un organismo para eliminar un fármaco no puede ser entendida solo por la inspección del valor de  $k_{10}$  ya que esta es una constante de velocidad fraccionaria. Por lo tanto asumiendo que la eliminación de un medicamento se realiza desde el compartimento central, entonces es posible a partir de  $k_{10}$  conocer cual el volumen del  $V_c$  que es depurado por unidad de tiempo según la relación  $V_c k_{10}$ , lo que nos da como resultado el  $Cl_B$  estimado por el método compartimental.

Por definición el  $Cl_B$  ( $2.88 \pm 0.13 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) tal como fuera explicado en el capítulo IV es la resultante de la eliminación del RBZ a través de distintos órganos, de manera que el mencionado valor corresponde a la sumatoria de todos los clearances parciales. Excepto en caso de medicamentos biotransformados en sangre y/o eliminados por pulmón, el máximo valor de  $Cl_B$  estaría expresado por el volumen ventricular ( $Q$ ), el que estimado por alometría para un ovino de 45 kg. de peso vivo sería  $\sim 90 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .<sup>(49)</sup> El coeficiente de extracción ( $ER$ ) calculado como  $Cl_B/Q$  muestra que solo el 3.19% del volumen ventricular es depurado por unidad de tiempo, lo que representa un bajo valor. Estos resultados indican que la baja capacidad del ovino para eliminar el RBZ desde la circulación sistémica y constituye un dato importante para estudiar cuales son las posibles causas de la baja disponibilidad sistémica del RBZ observada tras su administración i.r.

Nosotros proponemos un ejemplo para poder apreciar cuales o cual es el sitio en donde se producen las perdidas de medicamento antes de que este ingrese a la circulación sistémica.

Tal como fuera desarrollado anteriormente el valor del  $ER$  es la consecuencia de la sumatoria de los clearances parciales por los que el RBZ es depurado del organismo. Sin embargo para poner de manifiesto la verdadera magnitud del hígado como órgano

depurador del RBZ vamos a proponer un ejemplo extremo en el que este órgano sería el único responsable de la desaparición del RBZ de la circulación sistémica. De esa manera que el  $Cl_B$  sería en realidad el  $Cl_H$ . Considerando que el flujo de sangre arterial que arriba al hígado por unidad de tiempo ( $Q_H$ ) constituye aproximadamente el 30% del gasto cardiaco, entonces tendríamos que ese volumen en un ovino de 50 kg. de peso vivo sería aproximadamente de  $\sim 27 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . El valor estimado del coeficiente de extracción hepático ( $ER_H$ ) calculado como  $Cl_H/Q_H$  sería aproximadamente de un 11%, lo que a su vez sigue siendo un valor bajo. Cabe tener presente que a los fines explicativos este valor de  $ER_H$  está sobredimensionado y representa un valor extremo al considerar al hígado como el único órgano responsable de la eliminación del RBZ y por consiguiente el único responsable del valor del  $Cl_B$ .

Siguiendo esta línea de razonamiento, si consideraríamos que tras una administración de RBZ por vía i.r. no se producen pérdidas de medicamento de ninguna especie y que la totalidad de la dosis es absorbida e ingresa a la circulación portal, entonces a partir de los valores de  $Cl_H$  y  $Q_H$  se podría estimar el valor de biodisponibilidad máxima ( $F_{\max}$ ) según la ecuación propuesta por Benet & Zech. <sup>(13)</sup>

$$F_{\max} = 1 - \frac{Cl_H}{Q_H} = 1 - ER \quad \text{Eq. 15}$$

De la que resulta que si las pérdidas de RBZ se debieran solo a un efecto de primer pasaje hepático deberíamos esperar al menos una disponibilidad biológica de un 98%.

#### **VI.4.5. Biodisponibilidad**

Del ejemplo anterior se puede inferir que la mayoría de las veces se sobredimensiona el efecto de primer pasaje hepático como principal causa de bajos valores de  $F$  tras una administración por vía i.r. En segundo término podemos afirmar que la mayoría de las pérdidas presistémicas de RBZ administrado por vía i.r. se producirían por factores extrahepáticos. En ese caso es posible que gran parte del RBZ administrado haya sido eliminado sin ser absorbido o que haya sufrido procesos de biodegradación por acción de la flora presente en los fluidos digestivos y que aunque el RBZ pueda ser reducido por la flora ruminal a su molécula madre el ABZ, solo un paso metabólico es necesario para su oxidación irreversible a su metabolito inactivo el ABZSO<sub>2</sub>. <sup>(63)</sup>

Otro importante aspecto puede explicar el pobre perfil de concentraciones plasmáticas de RBZ obtenido tras la administración i.r. es el tipo y calidad de dieta ingerida durante este estudio. El fardo de alfalfa de buena calidad consumido durante el experimento probablemente contribuyó a acelerar tránsito de la ingesta disminuyendo el tiempo

disponible para la absorción y en consecuencia dio lugar a bajos valores de  $F$ . En ese sentido similares perfiles de concentraciones plasmáticas de RBZ y de ABZSO<sub>2</sub> fueron obtenidos luego de la administración i.r. de ABZ en forma de suspensión a ovinos que estaban consumiendo dieta verde <sup>(98)</sup> o fardo de alfalfa de buena calidad <sup>(36)</sup>, usando dosis similares a las usadas en el presente estudio. No obstante lo anterior, la liberación del RBZ desde el rumen hacia el tubo digestivo posterior prolongó el tiempo de absorción del mismo, lo que concuerda con el bajo valor de  $k_{01}$  y el prolongado tiempo medio de residencia del RBZ en el sitio de absorción. El tardío tiempo en el que se alcanzó la  $C_{max}$  es concordante con lo citado anteriormente.

#### **VI.4.6. Farmacocinética del ABZSO<sub>2</sub>**

Los elevados valores de  $F$  obtenidos tras la administración s.c. ( $96 \pm 9.2\%$ ) fue el hallazgo mas sorprendente del presente experimento. La sorprendente ausencia de una reacción tisular en el sitio de inyección pudo haber favorecido la rápida y casi completa absorción de la dosis administrada, lo que es justificado por el alto valor de  $k_{01}$  y el corto periodo de residencia del RBZ en el sitio de absorción. Como este experimento se realizo utilizando los mismos animales en cada una de las fases entonces podemos asumir que el volumen aparente de distribución del ABZSO<sub>2</sub> permaneció invariable cualquiera sea la vía de administración utilizada para el RBZ. De esta manera la relación entre los valores de las AUCs de RBZ y ABZSO<sub>2</sub> pueden ser utilizadas para estimar en forma relativa la cantidad de metabolito formado en cada una de las vías de administración empleadas. A pesar de la gran diferencia entre los valores de  $F$  observados, la razón entre los valores de las AUCs de ABZSO<sub>2</sub> y RBZ (SO<sub>2</sub>/RBZ) obtenidas en las vías de administración s.c. e i.r fueron similares, lo que sugiere que no hubo una cantidad adicional de ABZSO<sub>2</sub> producido como consecuencia de un efecto de primer pasaje hepático tras la vía de administración i.r.

#### **VI.4.7. Conclusión**

De acuerdo con lo hallado podemos inferir que la principal causa de los bajos valores de  $F$  obtenidos tras la administración i.r. de RBZ es debida a un efecto de pasaje digestivo más que hepático. Estos hallazgos ponen de manifiesto un aparente comportamiento superior de la formulación de RBZ para uso parenteral con respecto a la suspensión administrada por vía i.r., lo que podría ser explicado por el hecho de que la administración s.c. evita los factores relacionados a la fisiología digestiva de los rumiantes. En resumen, el RBZ presentó en ovinos un comportamiento farmacocinético caracterizado por una lenta eliminación del organismo y una gran capacidad para difundir hacia el espacio extravascular, sobretodo el tracto digestivo el que es el principal sitio en donde ejerce su acción antihelmíntica. Como el comportamiento farmacocinético del RBZ en ovinos pudo ser explicado por procesos de primer orden, las diferencias entre los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras

las administraciones s.c. e i.r. fueron consecuencia del orden y de la velocidad y el grado en que el medicamento fue absorbido. En el caso de la administración s.c. esos factores pueden ser modificados por cambios en la formulación empleada. Por último, los resultados obtenidos en el presente estudio corroboran que el modelo farmacocinético permitió realizar una comparación objetiva del comportamiento de diferentes formulaciones y vías de administraciones empleadas.

# **CAPÍTULO VII**

---

## **Comparación del comportamiento farmacocinético del ricobendazole en las especies bovina y ovina**

## VII.1. INTRODUCCIÓN

### VII.1.1. Consideraciones generales

Considerando la enorme cantidad de factores que influyen sobre el comportamiento farmacocinético de una molécula, no se discute que la especie es uno de los factores más importantes a tener en cuenta en el momento de administrar un medicamento y evaluar su efectividad y toxicidad. En ese sentido el comportamiento farmacocinético puede diferir tanto en la capacidad de eliminación del organismo de una especie animal con respecto a otra como así también por diferencias en la capacidad de difusión hacia el espacio extravascular. En el caso de las especies rumiantes, estas diferencias se acentúan aun más teniendo en cuenta la particular estructura anatómica de su aparato digestivo y su no menos complicada fisiología, ya que en los rumiantes el aparato digestivo ocupa con holgura más de un 40% del volumen abdominal y en el bovino adulto el volumen ruminal oscila entre unos 150 a 200 L y nunca se encuentra vacío.

Estos datos nos hacen reflexionar acerca del gran volumen de líquidos presentes en el tubo digestivo que inciden significativamente en la distribución de los fármacos ingresados a la circulación sistémica. Por otra parte como oportunamente fuera explicado han sido reportadas diferencias en las velocidades de paso de la ingesta a través del tubo digestivo asociadas a la calidad y tipo de dieta, <sup>(41)</sup> <sup>(68)</sup> pudiendo establecerse “*a priori*” una relación inversa entre velocidad de tránsito digestivo y cantidad de medicamento absorbido cuando este ha sido administrado por vía oral o intrarruminal. Estos son solo algunos hechos que determinan que un comportamiento farmacocinético observado tras una administración extravascular en una especie rumiante no pueda ser extrapolado a otra especie rumiante y justifican el estudio comparativo de la farmacocinética de un fármaco en las especies en estudio administrando el mismo por vía i.v.

### VII.1.2. Farmacocinética de los BZDs en bovinos

El estudio de la cinética de los BZDs en bovinos es amplio, pudiendo mencionar estudios realizados sobre la cinética del febantel y metabolitos, <sup>(24)</sup> febendazole, oxfendazole, febantel, albendazole y thiabendazole, <sup>(90)</sup> netobimin <sup>(65)</sup> y febendazole. <sup>(99)</sup> Igualmente se ha estudiado la influencia de muchos factores sobre el comportamiento farmacocinético del albendazole como por ejemplo el tipo de formulación de la pro-droga (netobimin) administrada, <sup>(61)</sup> el ayuno previo al tratamiento <sup>(95)</sup> y la dieta ingerida durante el mismo. <sup>(96)</sup> También se han reportado estudios cinéticos comparativos entre albendazole, febendazole y oxfendazole, <sup>(82)</sup> febendazole y thiabendazole. <sup>(88)</sup> Sin embargo estos estudios solo se realizaron a partir de administraciones extravasculares, y solo se ha reportado un estudio i.v. de albendazole <sup>(95)</sup> y el comportamiento farmacocinético del ricobendazole administrado por vía i.v. <sup>(20)(21)(33)</sup>

En la mayoría de los trabajos mencionados la ausencia de datos obtenidos tras una administración i.v. no solo que no permitió conocer la disponibilidad absoluta obtenida por cada uno de los compuestos estudiados, sino que tampoco se pudo establecer la verdadera velocidad de desaparición del medicamento en el organismo, ni estimar el orden ni las velocidades de los procesos de absorción, ni inferir el origen de supuestas pérdidas de fármaco previas a su ingreso a circulación sistémica. Inclusive en los casos en los que un análisis de un perfil de concentraciones plasmáticas obtenidas tras una administración i.v. fue reportado, la información recabada no paso mas allá de la discriminación del número mínimo de compartimentos, el cálculo del valor de la pendiente de la fase terminal y su correspondiente semivida y el calculo del *AUC* para la estimación de una biodisponibilidad absoluta.

### **VII.1.3. Farmacocinética de BZDs en ovinos**

Al igual que en bovinos, son numerosos los trabajos que se han publicado a cerca de la farmacocinética de los agentes BZDs en la especie ovina, pudiendo citar el estudio del comportamiento farmacocinético del albendazole, <sup>(44)(76)</sup> febendazole, <sup>(78)</sup> oxfendazole, <sup>(77)</sup> mebendazole, <sup>(12)</sup> netobimin y metabolitos. <sup>(58)</sup> De la misma manera se ha estudiado la influencia de varios factores sobre el comportamiento farmacocinético de estos agentes como el efecto de la co-administración de inhibidores enzimáticos, <sup>(59)(62)(64)</sup> co-administración de un compuesto de la misma familia, <sup>(3)(45)</sup> edad de los animales tratados, <sup>(81)</sup> parasitosis <sup>(7)(35)</sup> y el tipo de dieta ingerida durante el tratamiento. <sup>(4)(83)</sup> En un mismo sentido se ha reportado un estudio cinético comparativo entre albendazole, febendazole y oxfendazole. <sup>(68)</sup>

Sin embargo al igual que en los ensayos realizados en bovinos todos estos estudios solo se realizaron a partir de administraciones extra vasculares y solo se reportan; un estudio i.v. de oxfendazole, <sup>(100)</sup> una administración i.v. de [<sup>14</sup>C]-ABZ <sup>(44)</sup> pero sin reportar los parámetros farmacocinéticos, solo diez años mas tarde se reporta el comportamiento farmacocinético del albendazole administrado por vía i.v. y sus correspondientes parámetros farmacocinéticos. <sup>(8)</sup> Al igual que en el caso anterior, la escasa información obtenida a partir de los análisis de los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración i.v. de ciertos compuestos no fue utilizada en toda su magnitud y se aportaron pocos elementos para la comprensión del comportamiento farmacocinético de las mencionadas moléculas.

### **VII.1.4. Farmacocinética de los BZDs; comparación entre especies rumiantes**

No son muchos los trabajos de este tipo que podemos encontrar. Cabe mencionar un estudio comparativo del febantel entre terneros y ovejas <sup>(25)</sup> oxfendazole entre cabras y ovejas, <sup>(15)(97)</sup> oxfendazole entre cabras y ovejas antes y después de una infección parasitaria <sup>(46)</sup> y la cinética del albendazole entre terneros y ovejas luego de la administración de una



cápsula intrarruminal de lenta liberación. <sup>(27)</sup> De la misma manera que en los casos anteriores, el estudio comparativo del comportamiento farmacocinético de los mencionados compuestos solo se llevo a cabo a partir de la información recabada de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración extravascular de los mismos. Solo en el caso de Bogan *et al.*, <sup>(15)</sup> el oxfendazole fue administrado por vía i.v. cabras y ovejas, pero los perfiles resultantes en ambas especies solo se utilizaron para el calculo de las AUCs y de las semividas de la pendientes terminales de las curvas de disposición plasmática.

Lo anteriormente expuesto pone de relieve que los resultados obtenidos en la mayoría de los casos no solo son pobremente interpretados sino que las conclusiones a las que se arriban no pueden ser adecuadamente explicadas en términos mecanicistas. La gran variedad de factores que intervienen en un proceso biológico tan complejo como la disposición de un medicamento en un organismo viviente solo puede ser adecuadamente explicada a partir de la obtención de parámetros farmacocinéticos que si bien no son parámetros fisiológicos los mismos pueden ser correctamente interpretados desde el punto de vista de los conocimientos de fisiología.

Conociendo de esta manera la capacidad de un organismo para eliminar una sustancia determinada y las velocidades que explican los procesos de distribución, redistribución y eliminación se pueden establecer las diferencias en el comportamiento de una molécula en individuos en el que los mencionados procesos están alterados en diferente grado. En un mismo sentido, en ausencia de los parámetros farmacocinéticos primarios la velocidad y grado de absorción de una molécula no pueden ser correctamente estimados al igual que establecer el sitio en donde con probabilidad se producirían las pérdidas de un fármaco antes de que este ingrese la circulación sistémica.

En resumen considerando un modelo bicompartimental, el desconocimiento de los valores de  $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  hace que resulte imposible desde el punto de vista mecanicista interpretar y explicar las consecuencias de una parasitosis o una deshidratación o una insuficiencia hepática sobre la cinética de cualquier molécula. Es por esa razón que proponemos la realización de un estudio cinético comparativo de RBZ en las especies bovina y ovina a partir del análisis de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras su administración i.v.; su interpretación nos permitirá establecer o no diferencias en el comportamiento del fármaco en las especies en estudio.

## VII.2. MATERIALES y MÉTODOS

### VII.2.1. Análisis farmacocinético

Para la realización del presente estudio se utilizaron los valores promedios de los parámetros farmacocinéticos de RBZ y ABZSO2 obtenidos luego de la administración i.v. de RBZ en bovinos y ovinos como solución experimental al 10% en DMSO a las dosis de 7.5 y 5 mg.kg<sup>-1</sup> respectivamente. A partir de estos parámetros fue posible construir para bovinos y ovinos las curvas de las cantidades de RBZ presentes en los compartimentos central y periférico en función del tiempo y la curva de eliminación acumulativa del fármaco. Las curvas fueron construidas con el programa Scientist™, Micromath, Software, Salt Lake, City. UT., utilizando un modelo bicompartimental con administración i.v. A los efectos de permitir la comparación visual, las curvas fueron realizadas considerando una dosis de RBZ de 10 mg.kg<sup>-1</sup>. El conjunto de ecuaciones diferenciales que explica la variación de las cantidades del RBZ en los compartimentos central y periférico y su eliminación acumulativa en función del tiempo son las siguientes:

$$\frac{dX_1}{dt} = -(k_{10} + k_{12})X_1 + k_{12}X_2 \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX_2}{dt} = -k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{Eq.2}$$

$$\frac{dX_{el}}{dt} = k_{10}X_1 \quad \text{Eq.3}$$

donde  $dX_{el}/dt$  es la derivada de la cantidad de medicamento eliminada en función del tiempo. Para el cálculo del *ER* total débito cardíaco fue calculado en base a una aproximación alométrica mediante la aplicación de la siguiente ecuación:

$$Y = a P^b \quad \text{Eq.4}$$

En donde Y es el valor del parámetro fisiológico en este caso el débito cardíaco, a es el coeficiente alométrico, P es el peso expresado en kg. y b es el exponente. Reemplazando términos y dividiendo el resultado por el peso del animal. El débito cardíaco (Q) esta expresado en mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>

$$Q = (187 P^{0.81})/P \quad \text{Eq.5}$$

donde 187 es el coeficiente y 0.81 es el exponente. <sup>(49)</sup>

Para el estudio del RBZ i.v., el valor de  $Q$  fue calculado para bovinos con un peso promedio de 160 kg. y para ovinos con un peso de 45 kg. El coeficiente de extracción ( $ER$ ) fue calculado usando la siguiente relación:

$$ER = \frac{Cl_B}{Q} \quad \text{Eq.6}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento central al momento del estado de equilibrio estacionario fue calculada por medio de la siguiente ecuación:

$$f_c = \frac{k_{21}}{(k_{12} + k_{21})} \quad \text{Eq.7}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento periférico al momento del estado de equilibrio estacionario fue calculada por medio de la siguiente ecuación:

$$f_p = 1 - f_c \quad \text{Eq.8}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento central al momento del estado de pseudoequilibrio estacionario fue calculada por medio de la siguiente ecuación:

$$f_c^* = \frac{k_{21} - \lambda_2}{(k_{12} + k_{21} - \lambda_2)} \quad \text{Eq.9}$$

La fracción de medicamento presente en el compartimento periférico al momento del estado de pseudoequilibrio estacionario fue calculada por medio de la siguiente ecuación:

$$f_p^* = 1 - f_c^* \quad \text{Eq.10}$$

La relación entre las  $AUC$ s de ABZSO2 y RBZ (SO2/RBZ), en el caso de la administración i.v. de RBZ fue calculada por medio de la siguiente relación:

$$SO2/RBZ = \frac{AUC_{0-\infty} ABZSO2}{AUC_{0-\infty} RBZ} \quad \text{Eq.11}$$

Todos los símbolos fueron explicados anteriormente.

### VII.2.2. Análisis estadístico

Los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados para bovinos y ovinos fueron comparados entre si mediante el test de *t* de Student. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado significativo.

## VII.3. RESULTADOS.

Los parámetros farmacocinéticos de RBZ estimados a partir de los datos de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. de una solución experimental de RBZ al 10% en DMSO en bovinos y ovinos a las dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  y  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  respectivamente se presentan en la tabla VII.1. De los parámetros farmacocinéticos de RBZ reportados en ambas especies no se encontraron diferencias entre los valores de  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $t_{1/2}$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ .

Los gráficos de las cantidades de RBZ en los compartimentos central y periférico y su curva de cantidad eliminada acumulativa en función del tiempo tras su administración i.v. a bovinos y ovinos se presentan en la figura VII.1. Con respecto a los parámetros reportados en la tabla VII.2. podemos decir que con excepción del valor del  $Cl_B$  no se encontraron diferencias entre los valores comparados de ambas especies. El tiempo en el que se eliminó el 95% de la dosis de RBZ fue de 17.16 y 20.16 horas en bovinos y ovinos respectivamente.

Los parámetros farmacocinéticos de ABZSO<sub>2</sub> estimados a partir de los datos de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. de una solución experimental de RBZ al 10% en DMSO en bovinos y ovinos a las dosis de  $7.5 \text{ mg.kg}^{-1}$  y  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  se presentan en la tabla VII.3. No se encontraron diferencias con respecto a los valores de  $t_{\max}$  y de SO<sub>2</sub>/RBZ.

## VII.4. DISCUSIÓN

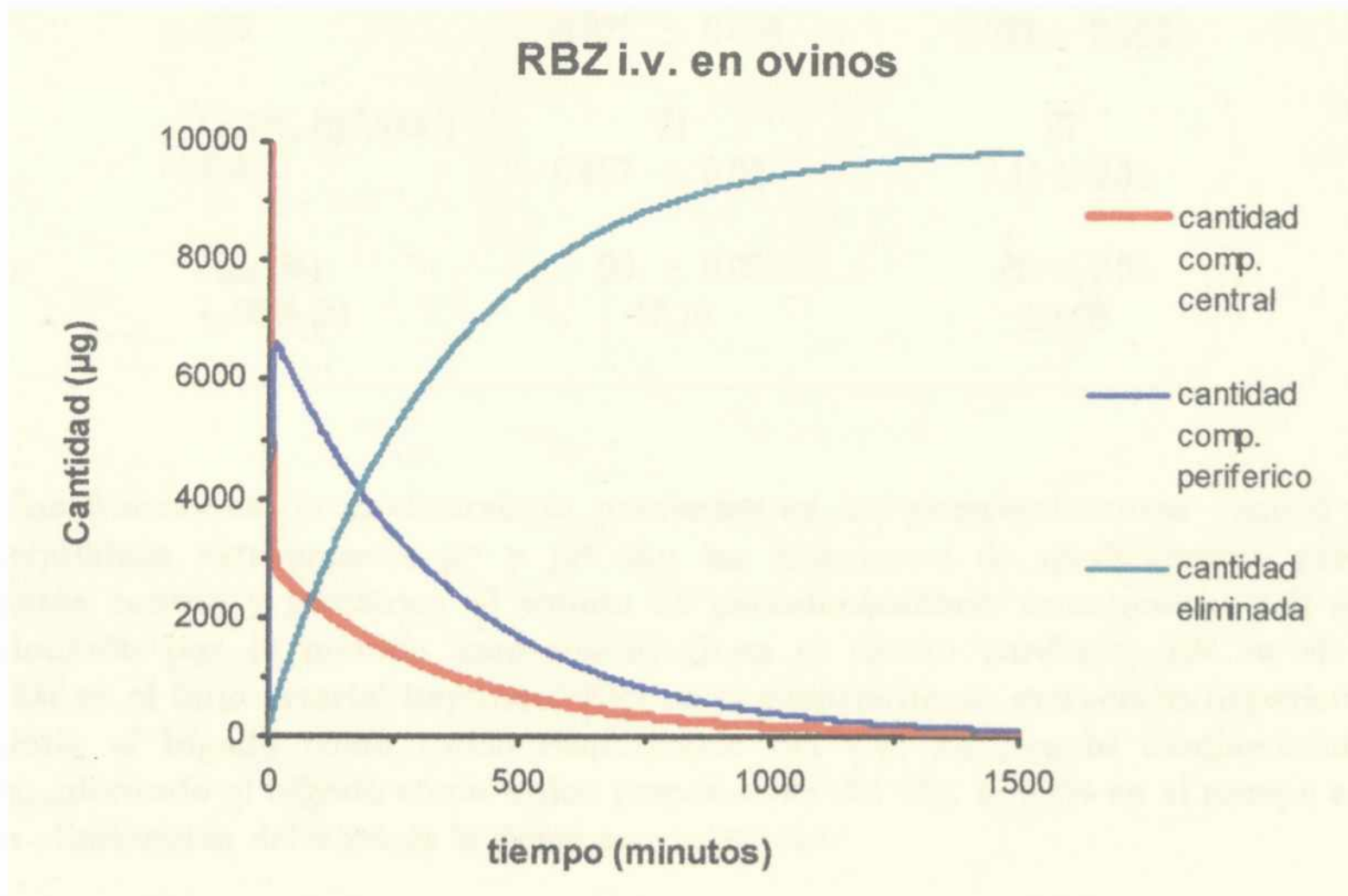
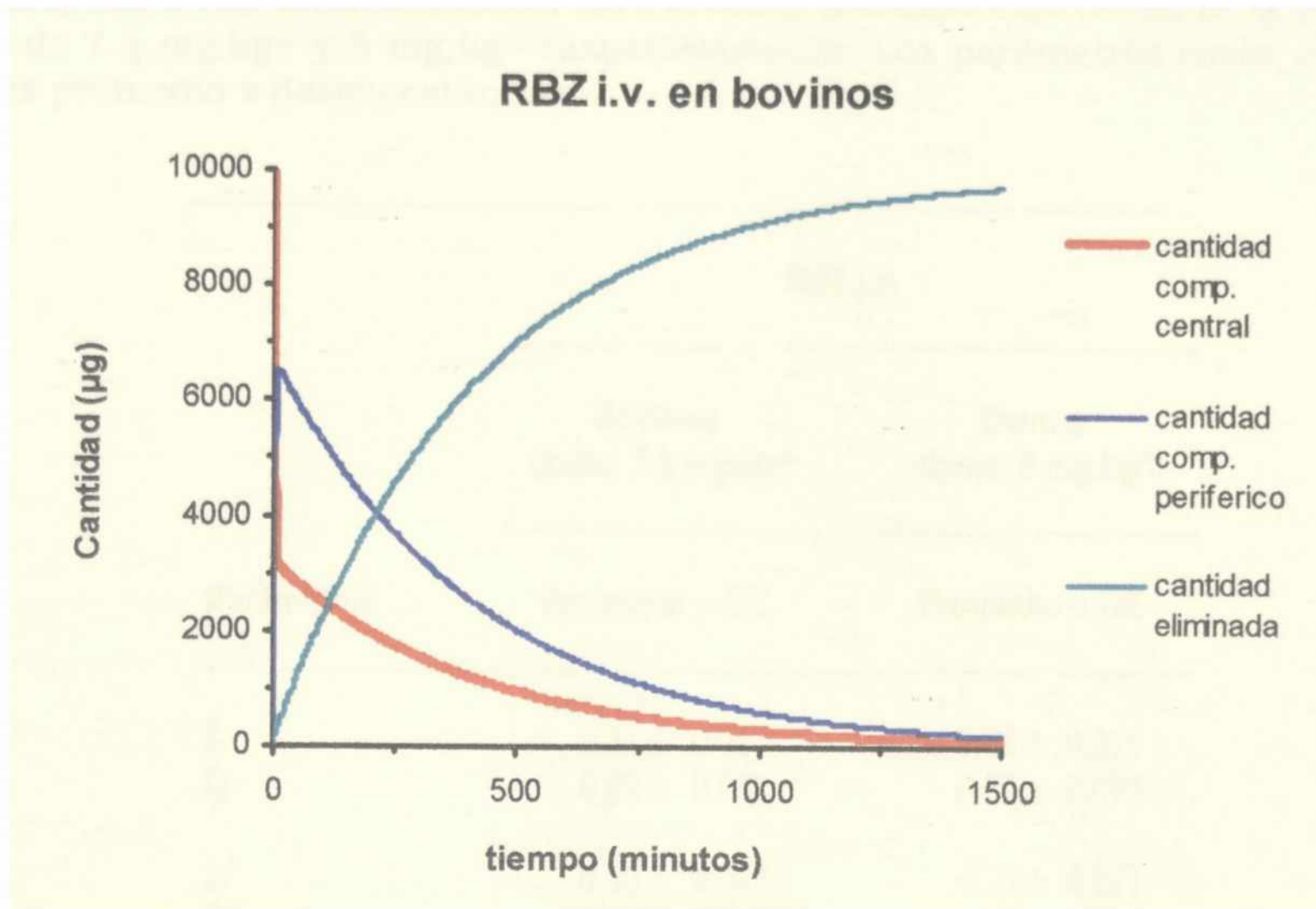
### VII.4.1. Modelo bicompartimental

La administración i.v. del RBZ en bovinos y ovinos dio lugar a una curva de concentraciones plasmáticas que pudo ser descripta convenientemente por una ecuación biexponencial, en donde los términos pudieron ser asociados a la existencia un proceso de distribución aparente y de un proceso eliminación aparente. El proceso de distribución esta

**Tabla VII.1.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos que describen la disposición plasmática de RBZ después de su administración en terneros y ovejas por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a las dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup> y 5 mg.kg<sup>-1</sup> respectivamente. Un modelo de dos compartimentos abierto fue ajustado a los datos experimentales. Los valores están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar.

Parámetros	Análisis simultáneo	
	Terneros	Ovejas
	Promedio $\pm$ DE	Promedio $\pm$ DE
$C_p(0)$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	36.1 $\pm$ 12.3	13.1* $\pm$ 1.06
$A_1$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	25.9 $\pm$ 10.8	9.21* $\pm$ 1.62
$\lambda_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.35 $\pm$ 0.081	0.49 $\pm$ 0.20
$t_{1/2 \lambda_1}$ (min)	2.1 $\pm$ 0.60	1.5 $\pm$ 0.44
$A_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	10.4 $\pm$ 1.97	3.92* $\pm$ 0.61
$\lambda_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0029 $\pm$ 0.0004	0.0023 $\pm$ 0.0004
$t_{1/2 \lambda_2}$ (min)	247 $\pm$ 35	311 $\pm$ 64
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.0097 $\pm$ 0.0024	0.0075 $\pm$ 0.0003
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.2421 $\pm$ 0.0706	0.3298 $\pm$ 0.1025
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.1038 $\pm$ 0.0166	0.1586 $\pm$ 0.101
$V_c$ (mL/kg)	224 $\pm$ 64	383* $\pm$ 33
$V_{ss}$ (mL/kg)	718 $\pm$ 146	1269* $\pm$ 202
$V_{area}$ (mL/kg)	733 $\pm$ 146	1292 $\pm$ 202
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.08 $\pm$ 0.42	2.88* $\pm$ 0.13
$AUC_{0-clast}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	3681 $\pm$ 782	1748* $\pm$ 40
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g.min/mL}$ )	3719 $\pm$ 791	1775* $\pm$ 38
$AUC/Dosis$	0.51 $\pm$ 0.105	0.35* $\pm$ 0.008

$C_p(0)$  es la concentración plasmática estimada a tiempo cero;  $A_1$  y  $A_2$  son los coeficientes de las fases de disposición rápida y lenta;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son los exponentes de las fases de disposición rápida y lenta;  $t_{1/2 \lambda_1}$  y  $t_{1/2 \lambda_2}$  son las semividas de las fases de disposición rápida y lenta;  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden desde el compartimento central;  $k_{12}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento central al periférico;  $k_{21}$  es la constante de transferencia de primer orden desde el compartimento periférico al central;  $V_c$  es el volumen del compartimento central,  $V_{ss}$  es el volumen de distribución al estado de equilibrio;  $V_{area}$  es el volumen de área;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método compartimental;  $AUC_{0-clast}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal;  $AUC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal;  $AUC/Dosis$  es el área bajo la curva normalizada por la dosis; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás:  $p < 0.05$ .



**Figura VII.1.** Simulación de los perfiles de las cantidades de RBZ en función del tiempo en los compartimentos central y periférico y curva de cantidad eliminada acumulativa tras su administración i.v. como solución experimental al 10% en DMSO en bovinos y ovinos a una dosis de  $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . El estudio fue realizado con el programa Scientist™, MicroMath Software, SALT Lake City, UT, considerando los parámetros farmacocinéticos de RBZ calculados en los experimentos realizados en el desarrollo de esta tesis (Capítulos IV y VI).

**Tabla VII.2.** Estudio comparativo del comportamiento farmacocinético del RBZ en bovinos y ovinos después de su administración vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup> y 5 mg.kg<sup>-1</sup> respectivamente. Los parámetros están expresados en sus valores promedio ± desvío estándar.

Parámetros	RBZ i.v.	
	Bovinos dosis: 7.5 mg.kg <sup>-1</sup>	Ovinos dosis: 5 mg.kg <sup>-1</sup>
	Promedio ± DE	Promedio ± DE
$f_c$	0.31 ± 0.057	0.31 ± 0.071
$f_p$	0.69 ± 0.057	0.69 ± 0.071
$f_c^*$	0.30 ± 0.057	0.31 ± 0.071
$f_p^*$	0.70 ± 0.057	0.69 ± 0.071
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.08 ± 0.42	2.88 ± 0.13
$Q$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	71	90
$ER$	0.029 ± 0.006	0.032 ± 0.002
$Q_H$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	21	27
$ER_H$	0.097 ± 0.02	0.11 ± 0.05
$F_{max}$ (%)	90 ± 0.02	89 ± 0.05
$t_{el}$ 95% (h)	17.16	20.16

$f_c$  y  $f_p$  son las fracciones de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico al estado de equilibrio estacionario;  $f_c^*$  y  $f_p^*$  son las fracciones de medicamento presentes en los compartimentos central y periférico al estado de pseudoequilibrio estacionario;  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método trapezoidal;  $Q$  es el débito cardíaco;  $ER$  es el coeficiente de extracción;  $Q_H$  es el flujo arterial hepático;  $ER_H$  es el coeficiente de extracción hepático considerando hipotéticamente al hígado como único responsable del  $Cl_B$ ;  $F_{max}$  es la biodisponibilidad máxima esperada considerando al hígado como único responsable del  $Cl_B$ ;  $t_{el}$  95% es el tiempo en el que se ha producido la eliminación del 95% de la dosis administrada.

**Tabla VII.3.** Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ABZSO2 calculados a partir de las concentraciones plasmáticas obtenidas luego de la administración de RBZ en terneros y ovejas por vía i.v. como solución experimental al 10% en DMSO a la dosis de 7.5 mg.kg<sup>-1</sup> y 5 mg.kg<sup>-1</sup> respectivamente. Los valores están expresados como promedio ± desvío estándar.

Parámetros	Terneros	Ovejas
	Promedio ± DE	Promedio ± DE
<i>AUC</i> <sub>0-clast</sub> (µg.min/mL)	1191 ± 259	518* ± 32
<i>AUC</i> <sub>0-∞</sub> (µg.min/mL)	1220 ± 254	546* ± 43
<i>C</i> <sub>max</sub> (µg/mL)	1.15 ± 0.28	0.60* ± 0.03
<i>t</i> <sub>max</sub> (min)	420 ± 38	384 ± 54
SO2/RBZ	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.03

*AUC*<sub>0-clast</sub> es el área bajo la curva de concentración plasmática desde tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración medida calculada por el método trapezoidal; *AUC*<sub>0-∞</sub> es el área bajo la curva de concentración plasmática en vs. tiempo extrapolada al infinito calculada por el método trapezoidal; *C*<sub>max</sub> es la concentración plasmática máxima estimada; *t*<sub>max</sub> es el tiempo al que se alcanza la máxima concentración plasmática; ABZSO2/RBZ es la relación entre las *AUCs* de SO2 y RBZ.; (\*) es un valor estadísticamente diferente a los demás: *p* < 0.05.



explicado por la capacidad de la molécula de RBZ de difundir a través de las membranas biológicas fuera del compartimiento central. Considerando que el RBZ es una base débil con un  $pK_a$  de 7.8, una fracción de la cantidad circulante en plasma se encontraría en estado no iónico lo que favorecería su difusión a través de las membranas biológicas.

En este sentido es importante tener en cuenta el rol del importante volumen de líquidos contenidos en aparato digestivo de los rumiantes en el proceso de distribución de este tipo de fármacos. Un dato importante al respecto lo constituye la presencia de ABZ en el contenido del tubo digestivo de bovinos y ovinos luego de la administración de ABZ por vía i.v. <sup>(8)(95)</sup> En vista de lo expuesto es que se discriminó un modelo de dos compartimentos para explicar el comportamiento farmacocinético de esta molécula en ambas especies.

#### **VII.4.2. Parámetros farmacocinéticos primarios**

Por definición la farmacocinética tiene por objeto la estimación de la velocidad a la que se producen los fenómenos de eliminación, distribución y redistribución de un fármaco luego de haber ingresado al organismo. De manera que la evaluación de las constantes de velocidad que rigen estos procesos debe ser el objeto de un análisis profundo y minucioso porque a partir de los mismos serán calculados el resto de los parámetros farmacocinéticos. Tal como se presentan en la tabla VII.1, con excepción del  $V_c$ , al cual nos referiremos posteriormente, los valores de  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  del RBZ no presentaron diferencias entre bovinos y ovinos. De lo antedicho se explica la similitud de los valores de  $\lambda_2$  y su correspondiente semivida, teniendo en cuenta la naturaleza híbrida de este parámetro. <sup>(38)</sup>

Una evaluación de los valores de los mencionados parámetros pone de relieve que la cinética del RBZ se caracteriza por una velocidad de eliminación menor ( $k_{10}$ ) que la de los procesos de distribución ( $k_{12}$ ) y redistribución ( $k_{21}$ ). En este caso tal como fuera reportado por Abramsom, <sup>(1)</sup> siendo  $k_{10}$  la velocidad limitante del proceso de eliminación las variaciones de  $k_{10}$  serán seguidas por una variación proporcional de los valores de  $\lambda_2$ .

#### **VII.4.3. Distribución**

La diferencia encontrada en los valores de los volúmenes de distribución  $V_c$ ,  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  radica en la talla de la especie y en la relación existente entre el peso y el volumen de agua corporal. Es por ello que estos diferentes valores no deben ser comparados en términos absolutos. Es conveniente aquí recordar que el volumen de distribución no constituye otra cosa que un factor de proporcionalidad que permite calcular la cantidad de medicamento presente en el organismo a un tiempo determinado con respecto a la concentración plasmática medida a ese mismo tiempo.

Si recordamos los procedimientos de cálculo de los  $V_d$  tenemos que:

$$V_c = \frac{D}{C_{p(0)}} \quad \text{Eq.12}$$

$$V_{ss} = V_c \left( 1 + \frac{k_{12}}{k_{21}} \right) \quad \text{Eq.13}$$

$$V_{area} = \frac{V_c k_{10}}{\lambda_n} \quad \text{Eq.14}$$

En este sentido, el único volumen que puede ser estimado a partir de los datos experimentales es el  $V_c$ , mientras que  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  son volúmenes que se estiman a partir de los parámetros farmacocinéticos primarios ( $V_c$ ,  $k_{10}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ). De lo anteriormente explicado se deduce que la comparación de sus valores en forma directa no aporta información acerca de la capacidad de difusión de una molécula fuera del espacio vascular, pues dos animales de una misma especie, pero de distinta talla pueden presentar valores de  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  distintos mientras que la molécula puede presentar idénticas propiedades para difundir fuera del espacio vascular.

En nuestro caso, el  $V_c$  presentó en bovinos un valor de  $224 \pm 64$  mL/kg., mientras que para ovinos este valor fue de  $383 \pm 33$  mL/kg., siendo este último mayor que el primero desde el punto de vista estadístico. Sin embargo esta diferencia es aparente puesto que por tratarse de bovinos con un peso promedio de 160 kg. el volumen total sería de 39 L, mientras que en ovinos con un peso promedio de 50 kg. este volumen sería de 16 L. Encontramos que nuevamente se presenta una diferencia entre las especies pero esta vez en sentido inverso. Esta diferencia aparente desaparece si se estima la fracción de medicamento presente en el compartimento central en el momento del estado de equilibrio estacionario ( $f_c$ ). En este caso notaremos que ese valor es de  $0.31 \pm 0.057$  en bovinos y de  $0.31 \pm 0.031$  en ovejas, es decir que en ambas especies al momento de alcanzarse el estado de equilibrio estacionario un 69% del medicamento se encuentra fuera del compartimento central.

Lo expuesto indica que pesar de las diferencias halladas entre los valores de los volúmenes de distribución estimados, la capacidad de difusión del RBZ hacia el compartimento periférico no difiere entre bovinos y ovinos. Con este ejemplo se pone en relieve que la capacidad de difusión de una molécula no debe ser evaluada a partir de la información reportada por los valores absolutos de los volúmenes de distribución y en consecuencia estos valores tampoco son útiles para establecer diferencias entre especies.

En la tabla VII.1. puede observarse la similitud entre los valores de  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  que constituye una característica particular del comportamiento farmacocinético del RBZ. La explicación a este fenómeno reside en que el valor de  $f_c^*$  es dependiente del valor de  $\lambda_2$  (ver Eq.9), y considerando que  $k_{12}$  y  $k_{21}$  presentan valores similares y que  $k_{10} \ll k_{12}; k_{21}$ , de esta manera  $k_{10}$  constituye la constante de velocidad limitante que va a influir en forma directa sobre el valor de  $\lambda_2$ , y por lo tanto podemos establecer que cuando el valor de  $k_{10} \rightarrow 0$  entonces el valor de  $\lambda_2 \rightarrow 0$  y por consiguiente  $f_c - f_c^* \rightarrow 0$ .

En nuestro caso donde el RBZ en ambas especies presenta un pequeño valor de  $\lambda_2$ , es posible observar que en el momento del estado de equilibrio estacionario los valores de  $f_c$  prácticamente no difieren de los valores de  $f_c^*$  calculados en el momento de alcanzarse el estado de pseudoequilibrio estacionario. Esto da lugar a que la relación entre cantidad de medicamento presente en el organismo a partir de una concentración plasmática medida durante la fase  $\lambda_2$  pueda ser estimada a partir de un factor de proporcionalidad o  $V_d$  ( $V_{area}$ ) cuyo valor es similar al  $V_{ss}$ .

En la grafica VII.1. puede observarse el resultado de un estudio de simulación en el que se utilizaron los parámetros i.v. del RBZ que fueron obtenidos en los experimentos previos y que se encuentran reportados en la tabla VII.1. Puede apreciarse que tanto en bovinos como en ovinos los perfiles de la variación de las cantidades de RBZ presentes en los compartimentos central y periférico no presentan diferencias manifiestas, lo que es coherente con la similitud de los valores de  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$  hallados en ambas especies. Esto demuestra que el comportamiento farmacocinético de una molécula debe ser evaluada en forma independiente de los valores absolutos de los volúmenes de distribución.

#### VII.4.3.1 Distribución gastrointestinal; su relación con el $pK_a$

El RBZ es una base débil que presenta un  $pK_a$  de 7.8, por lo que la relación entre su forma iónica y su forma no iónica depende del pH del medio en el que se encuentra. Considerando que luego de su administración i.v. toda la dosis se encuentra en el compartimento central en disolución y que el pH del plasma tiene un valor promedio de 7.4, (102) la fracción no ionizada del RBZ en plasma puede ser calculada por medio de la siguiente ecuación:

$$F_{\text{non-ionic}} = 100 - \frac{100}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}} \quad \text{Eq.15}$$

donde  $F_{\text{non-ionic}}$  es la fracción no ionizada del RBZ y pH corresponde al valor del pH plasmático.

Esta ecuación nos permite estimar que en un instante determinado solo un 28.5% del RBZ circulante se encontraría en estado no iónico y por lo tanto en condiciones de difundir a través de las membranas biológicas. Sin embargo la liposolubilidad no solo esta determinada por el estado no iónico sino también por el coeficiente de partición entre la matriz lipídica de las membranas biológicas y el medio acuoso que las rodea. Pero en vista que desconocemos cual es el coeficiente de partición que gobierna la velocidad de difusión del RBZ, podemos aceptar en forma general que es la fracción no ionizada la que esta en condiciones de difundir fuera del espacio vascular.

Tal como se mencionó anteriormente, el enorme volumen del tubo digestivo de los rumiantes seria un importante factor que determinaría la distribución del RBZ, donde la diferencia de pH entre los distintos segmentos del tubo digestivo con respecto al plasma da lugar a diferentes gradientes de pH que determinarían la magnitud de las concentraciones totales del fármaco tanto en plasma como en los distintos segmentos del tubo digestivo.

Aceptamos que el pasaje desde un compartimento a otro se produciría por un mecanismo de difusión pasiva, por lo que la velocidad de difusión estaria determinada por el gradiente de concentración de la forma no ionizada del RBZ en el espacio extravascular y en el caso de producirse un estado de equilibrio, las concentraciones de la forma no ionizada serian iguales tanto en plasma como en la luz del tubo digestivo. Sin embargo las concentraciones de la forma ionizada dependerán exclusivamente del  $pK_a$  del fármaco y del pH de las regiones separadas por las membranas biológicas. El coeficiente entre las concentraciones en plasma y en los distintos segmentos del tubo digestivo en estado de equilibrio teórico puede calcularse para una base débil con la siguiente ecuación:

$$R_{x/y} = \frac{1 + 10^{pK_a - pH_x}}{1 + 10^{pK_a - pH_y}} \quad \text{Eq. 16}$$

donde  $R_{x/y}$  es la relación entre la concentración plasmática y la concentración en el tubo digestivo,  $pH_x$  corresponde a los valores de pH plasmáticos y  $pH_y$  corresponde al pH de los distintos segmentos del tubo digestivo.

En la tabla VII.4. se presenta un estudio de simulación en el que en base a datos publicados de los valores de pH medidos en los fluidos de distintos segmentos del tubo digestivo de un rumiante es posible estimar en un estado de equilibrio teórico la relación entre las concentraciones totales de RBZ en plasma y el interior de los distintos segmentos considerados. Considerando un estado de equilibrio teórico y teniendo en cuenta que el RBZ accede al tubo digestivo vía circulación sanguínea se presentan los porcentajes de RBZ en

plasma y en la luz del tubo digestivo con respecto a la cantidad de fármaco que se encuentra en el mencionado segmento en un momento determinado.

Este estudio -por cierto muy esquemático y simplista- nos permite predecir que siendo en todos los casos el valor del pH del interior de los segmentos del tubo digestivo menores al pH plasmático y siendo el  $pK_a$  del RBZ de 7.8, el tubo digestivo en general tiende a comportarse como una gran trampa iónica en donde el fármaco tiende a presentar mayores concentraciones con respecto a plasma existiendo en el caso del abomaso un verdadero flujo neto de moléculas desde plasma hacia el lumen del mismo.

**Tabla VII.4.** Partición del RBZ ( $pK_a$  7.8) entre plasma y distintos segmentos del tubo digestivo de un rumiante a un instante determinado considerando un estado de equilibrio teórico.

Partición del RBZ entre plasma (x) y el tubo digestivo (y); efecto del pH y del $pK_a$				
Compartimentos	pH	$R_{x/y}$		% $x/y$
Plasma (x)	7.4 $\S$	3.5	% x	11.85 – 20.54
Rumen (y)	6.4* – 6.7*	26.1 – 13.6	% y	88.15 – 79.46
Plasma (x)	7.4 $\S$	3.5	% x	0
Abomaso (y)	1.5* – 2.8*	1995263-100001	% y	100
Plasma (x)	7.4 $\S$	3.5	% x	20.54
Duodeno (y)	6.7*	13.6	% y	79.46
Plasma (x)	7.4 $\S$	3.5	% x	36.88
Yeyuno (y)	7.1*	6.0	% y	63.12
Plasma (x)	7.4 $\S$	3.5	% x	50.00 – 57.60
Ileum (y)	7.4* – 7.6*	3.5 – 2.6	% y	50.00 – 42.40
			promedio % x	23.85 – 27.11
			promedio % y	76.15 – 72.89

$R_{x/y}$  es la relación entre la cantidad total de moléculas de RBZ en plasma (x) y el segmento del tubo digestivo considerado (y); % $_{x/y}$  es el porcentaje del total de moléculas de RBZ presentes en plasma (x) y el segmento del tubo digestivo considerado (y). Los valores corresponden a un instante determinado en un estado de equilibrio teórico. \*(63) §(102) °(85)

Estos resultados explicarían el hecho del por que luego de un tratamiento oral con netobimin, el RBZ fuera detectado en plasma solo por 30-36 hs, mientras que en los diferentes compartimentos gastrointestinales pudo ser detectado hasta 72 hs postratamiento. <sup>(63)</sup> Otro dato curioso y coincidente lo constituyen los valores obtenidos a partir del promedio de todos los porcentajes de RBZ presentes en plasma y en el tubo digestivo tal como se presentan en la tabla VII.3. Allí se puede apreciar que en condiciones de equilibrio teórico y a un instante determinado la fracción de RBZ en plasma tendría un valor de 0.24 (23.85%) – 0.27 (27.11%) mientras que en la totalidad del tubo digestivo la fracción tendría un valor de 0.76 (76.15%) – 0.73 (72.89%). Los mencionados valores presentan similitud con los valores de  $f_c$  (0.31) y  $f_p$  (0.69) reportados en la tabla VII.2.

Estos resultados de ninguna manera deben ser interpretados en forma absoluta, ya que se trata de valores obtenidos tras la simulación de un estado de equilibrio teórico en el que no se considera la difusión a otros tejidos ni el coeficiente de partición lípido/agua del RBZ. Sin embargo aportan suficiente información para considerar que el tubo digestivo de los rumiantes es uno de los principales factores que determinan la distribución del RBZ.

Un aspecto relacionado con lo anterior es la discriminación de un modelo bicompartimental para explicar la disposición del RBZ, en donde se necesita al menos un compartimento periférico para explicar el proceso de distribución y considerando al tubo digestivo como el principal componente del compartimento periférico, los valores de  $k_{12}$  y  $k_{21}$  estimados por el modelo se corresponderían con las velocidades de difusión y reingreso del RBZ entre el plasma y lumen del tubo digestivo. Estos procesos serían casi instantáneos a comparación de la lenta eliminación determinada por el pequeño valor de  $k_{10}$ , lo que permitiría que la fracción del RBZ eliminada desde el compartimento central sea rápidamente repuesta desde el tubo digestivo gracias al gradiente de concentración de la forma no ionizada. De esa manera se mantendría casi invariable la fracción de la cantidad de RBZ presente en el compartimento central durante la fase de eliminación, es decir  $f_c \cong f_c^*$ .

#### VII.4.4. Clearance corporal

El clearance o aclaramiento se define como una constante de proporcionalidad entre una velocidad de transferencia o eliminación y una concentración de referencia, lo que se expresa por la siguiente ecuación:

$$Cl = \frac{T}{C} = \frac{MT^{-1}}{MV^{-1}} = VT^{-1} \quad \text{Eq.17}$$

donde  $T$  es la velocidad de transferencia o eliminación que tiene la dimensión de masa por unidad de tiempo  $MT^{-1}$  y  $C$  es la concentración de referencia, que tiene la dimensión de masa por unidad de volumen  $MV^{-1}$ . Por definición entonces el  $Cl_B$  tiene una dimensión de flujo, es decir de un volumen depurado por unidad de tiempo  $VT^{-1}$ . Esta ecuación no debe confundirse con las ecuaciones correspondientes a los modelos de clearance ni con aquellas ecuaciones de trabajo utilizadas para calcular el mismo como por ejemplo  $Dosis / AUC$ .

In vivo, el  $Cl_B$  puede ser modelizado es decir expresado en términos matemáticos con una significación biológica y que expresan la capacidad de un organismo para eliminar un fármaco. En este sentido, asumiendo que el medicamento es eliminado desde compartimento central entonces el  $Cl_B$  puede ser modelizado en su expresión más sencilla de la siguiente manera:

$$Cl_B = V_c k_{10} \quad \text{Eq.18}$$

donde  $k_{10}$  es la constante de eliminación de primer orden aparente desde el compartimento central. Este modelo expresa que una fracción constante del volumen del compartimento central es depurado por unidad de tiempo. En el caso de bovinos y ovinos el valor del  $Cl_B$  es significativamente mayor en ovinos ( $2.88 \pm 0.13 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) que en bovinos ( $2.08 \pm 0.42 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Sin embargo este volumen no constituye de por sí un elemento de juicio para evaluar objetivamente la capacidad de un organismo para eliminar una molécula. Como puede deducirse de la ecuación anterior, el valor del  $Cl_B$  depende tanto de  $V_c$  y de  $k_{10}$ , por lo que como en este caso, en individuos con el mismo valor de  $k_{10}$  pero con distintos valores de  $V_c$ , el valor del  $Cl_B$  sería diferente. Sin embargo aunque  $k_{10}$  es la constante de velocidad de eliminación tampoco esta por sí misma puede proporcionarnos una medida de la capacidad de las especies para eliminar el RBZ.

Considerando que la eliminación de un medicamento se lleva a cabo en órganos a los cuales este llega vía circulación sanguínea, la velocidad de eliminación del analito (es decir masa por unidad de tiempo) estaría expresada por la diferencia entre la cantidad de fármaco que ingresa a los órganos depuradores vía sangre arterial y la cantidad que egresa de los mismos vía sangre venosa. En ese caso la capacidad máxima de depuración de un organismo estaría dada por el volumen de sangre arterial impulsado por el corazón por unidad de tiempo o gasto cardiaco ( $Q$ ), por lo que el verdadero elemento de juicio para evaluar la capacidad de eliminación de un organismo es el coeficiente de extracción o  $ER$  que se calcula como la razón entre el  $Cl_B$  y el  $Q$ . Este  $ER$  nos proporciona una medida global de la capacidad depuradora de un organismo que es la fracción del  $Q$  que es depurada por unidad de tiempo y el mismo es independiente del volumen.

Teniendo en cuenta que el valor máximo del  $ER$  es la unidad, han propuesto en forma arbitraria valores críticos de  $ER$  para evaluar su magnitud siendo estos valores de 0.7 y 0.3 y la interpretación se realiza considerando que los valores comprendidos entre estas dos cifras pueden ser considerados como valores medios, un valor por encima de 0.7 correspondería a un elevado coeficiente de extracción, mientras que valores por debajo de 0.3 se considerarían medicamentos con bajo coeficiente de extracción. En nuestro caso, más allá de las diferencias estadísticas encontradas a partir de la comparación de los valores de  $Cl_B$ , se hallaron valores similares de  $ER$  tanto bovinos (0.029) como ovinos (0.032), indicando que por unidad de tiempo solo el 3% del gasto cardiaco es depurado, lo que en si representa un bajo valor. La lenta eliminación puede ser apreciada en la grafica VII.1. en donde se representan las curvas de eliminación acumulativas para el RBZ tras su administración i.v. en bovinos y ovinos. Lo anterior se pone de manifiesto por el tiempo necesario para eliminar el 95% de la dosis administrada, el que en ambas especies ronda en el orden de las 17 a las 20 horas posadministración (Tabla VII.3.).

#### VII.4.4.1. Participación del intestino en el $Cl_B$

Teniendo en cuenta que el  $Cl_B$  es el volumen del compartimento central depurado por unidad de tiempo, lo que definido como  $V_c \cdot k_{10}$  y que es una fracción constante del mismo, este valor es el resultante de todos los procesos de eliminación producidos en otros órganos entre los que podemos nombrar por orden de importancia el hígado y riñón. En el caso de los BZDs estos pueden reingresar hacia la luz del tubo digestivo es necesario considerar el aporte de los enterocitos al  $Cl_B$ , y si consideramos que  $ER$  es la fracción de  $Q$  que es depurada por unidad de tiempo cuyo cálculo se realiza de la siguiente manera:

$$ER = \frac{Cl_B}{Q} \quad \text{Eq.19}$$

y siendo los  $Cl$  parciales aditivos:

$$Cl_B = Cl_H + Cl_R + Cl_I + Cl_{\text{otros}} \quad \text{Eq.20}$$

donde  $Cl_H$ ,  $Cl_R$ ,  $Cl_I$  y  $Cl_{\text{otros}}$  son los valores de clearance hepático, renal, intestinal y el producido en otros órganos. Considerando la aditividad del  $Cl$  el  $ER$  puede expresarse como:

$$ER = \frac{Cl_H + Cl_R + Cl_I + Cl_{\text{otros}}}{Q} \quad \text{Eq.21}$$

separando términos tenemos que:

$$ER = \frac{Cl_H}{Q} + \frac{Cl_R}{Q} + \frac{Cl_I}{Q} + \frac{Cl_{\text{otros}}}{Q} \quad \text{Eq.22}$$



lo que nos permite calcular la fracción de  $Q$  depurada por cada órgano, entonces el  $ER$  puede ser expresado como:

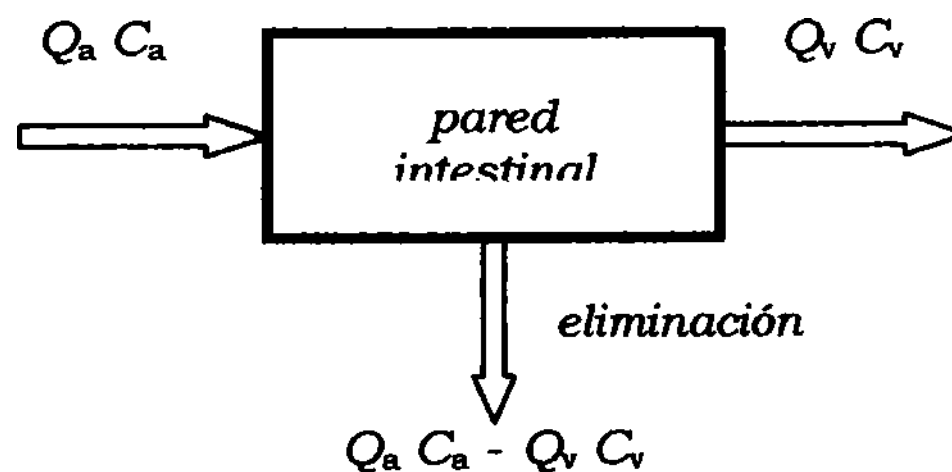
$$ER = f_H + f_R + f_I + f_{\text{otros}} \quad \text{Eq.23}$$

Donde  $f_H$ ,  $f_R$ ,  $f_I$  y  $f_{\text{otros}}$  son las fracciones de  $Q$  que son depuradas en hígado, riñón, intestinos y otros órganos, y por lo tanto:

$$ER = \sum_{i=1}^n f_n \quad \text{Eq.24}$$

donde  $ER$  es la fracción depurada de  $Q$  por unidad de tiempo y  $f_n$  son las pequeñas fracciones de  $Q$  eliminadas por unidad de tiempo a partir de cada órgano depurador considerado. Una consideración que debemos hacer con respecto de  $f_I$ , es que los BZDs que arriban a la pared intestinal vía arteria mesentérica pueden ser sometidos a procesos de biotransformación de fase I y II en los enterocitos. La potencial pérdida de medicamento desde este sitio contribuiría a la depuración del medicamento desde el organismo y por lo tanto puede ser considerado un potencial componente del valor del  $Cl_B$ . De manera que si consideramos el  $Cl_I$ , un modelo fisiológico del mismo sería como el representado en la figura VII.2.

**Figura VII.2.** Representación esquemática de un modelo fisiológico del clearance intestinal.



donde  $C_a$  es la concentración arterial,  $C_v$  es la concentración venosa,  $Q_a$  es el flujo de sangre arterial y  $Q_v$  es el flujo sangre venosa.

La cantidad de RBZ eliminado en su pasaje por la pared intestinal ( $X_{el(i)}$ ) esta expresada por la siguiente ecuación:

$$X_{el(i)} = Q_a C_a \frac{Q_a C_a - Q_v C_v}{Q_a C_a} \quad \text{Eq.25}$$

en donde  $X_{el(i)}$  es la cantidad de BZDs eliminada desde la pared intestinal y tiene la dimensión de  $MT^{-1}$ .

Debe considerarse que los BZDs a su vez pueden difundir hacia la luz del tubo digestivo, y aunque este último proceso es reversible, se establecen diferencias entre las cantidades de ingreso al mismo y su retorno a la circulación esplácnica debido a pérdidas ocasionadas tanto por biodegradación a causa de la flora digestiva y de eliminación a través de la excreta. Esto último es importante considerarlo por la capacidad de los BZDs de fijarse al material fibroso de la dieta. <sup>(48)</sup> Lo antedicho permite descomponer el valor de  $X_{el(i)}$  de la siguiente manera:

$$X_{el(i)} = X_{el(p)} + X_{el(t)} \quad \text{Eq.25}$$

donde  $X_{el(p)}$  y  $X_{el(t)}$  son las cantidades de RBZ eliminadas por unidad de tiempo por biotransformación en la pared intestinal y por difusión sin retorno al tubo digestivo, y considerando que:

$$X_{el(t)} = X_{el(m)} + X_{el(e)} \quad \text{Eq.26}$$

donde  $X_{el(m)}$  y  $X_{el(e)}$  son las cantidades de RBZ eliminadas por unidad de tiempo desde el interior del lumen digestivo por metabolismo y por excreta, por lo que  $V_{el(i)}$  queda expresada por la siguiente ecuación:

$$X_{el(i)} = X_{el(p)} + (X_{el(m)} + X_{el(e)}) \quad \text{Eq.27}$$

entonces considerando que  $Q_a C_a$  es igual a la cantidad ingresada a la pared intestinal ( $X_{in}$ ) entonces tenemos que:

$$ER_1 = \frac{X_{el(i)}}{X_{in}} \quad \text{Eq.28}$$

entonces deducimos que:

$$f_1 = \frac{Q_1 X_{el(i)}}{X_{in}} / Q \quad \text{Eq.29}$$

y por consiguiente el  $ER$  es definido como:

$$ER = \sum_{i=1}^n \frac{Q_n X_{el(n)}}{X_{in(n)}} / Q = \sum_{i=1}^n f_n \quad \text{Eq.30}$$

que es una expresión idéntica a la Eq.24, donde se pone en evidencia que la cantidad de RBZ eliminada desde el lumen digestivo solo representa una fracción de  $f_1$ , la que a su vez representa otra fracción del  $ER$  global.

Entonces se deduce que cualquiera que sea el valor con el que  $f_i$  contribuya al  $ER$  global de lo expuesto podemos inferir a partir de las ecuaciones de balance de masa que luego de su administración intravenosa, las pérdidas de RBZ desde el lumen del tubo digestivo representan una pequeña fracción de la capacidad depuradora del RBZ en el organismo de los bovinos y ovinos.

#### **VII.4.5. Cinética del RBZ evaluada a partir de los perfiles de ABZSO2**

El ABZSO2 es el primer metabolito inactivo del RBZ del que difiere estructuralmente en un átomo de oxígeno. Esta emparentada estructura química le confiere propiedades que permiten extraerlo de la matriz plasmática con la misma metodología con la que se realiza la extracción del RBZ. <sup>(36)</sup> De la misma manera puede ser detectado y cuantificado usando las mismas técnicas cromatográficas. <sup>(79)</sup> Aunque la farmacocinética del ABZSO2 tras su administración i.v. no fue realizada en los presentes estudios, su perfil plasmático obtenido tras la administración i.v. de la molécula madre el RBZ nos aportan datos que corroboran los resultados presentados en los párrafos anteriores.

En la tabla VII.4. puede observarse que tanto en los valores de  $AUCs$  y  $C_{max}$ , pueden establecerse diferencias significativas a favor de la especie bovina. Pero ya vimos que el  $AUC$  depende del valor del  $Cl_B$  y la dosis. (Eq. III.20.) En este caso la Dosis se correspondería con la cantidad de ABZSO2 formada, y el caso del  $Cl_B$  ( $V_c \cdot k_{10}$ ) podríamos hipotetizar una capacidad similar del organismo ambas especies por eliminar el metabolito, por lo que propondríamos en primera instancia que si existen diferencias en el valor del  $Cl_B$  para el ABZSO2, estas serían a consecuencia de diferencias en el valor del  $V_c$ .

Sin embargo con respecto al  $t_{max}$  puede observarse que no se encuentran diferencias lo que nos permite inferir que la velocidad con la que el ABZSO2 se forma no difiere entre las especies para el RBZ.

Otro elemento importante lo constituye la relación entre las  $AUCs$  de ABZSO2 y RBZ. Es probable que dada la similitud de la cinética del RBZ en las especies bovinas y ovinas, podamos asumir que la capacidad de difusión extravascular del ABZSO2 no difiere significativamente en las dos especies, y entonces los valores similares de ABZSO2/RBZ nos permitirían inferir que la cantidad de metabolito formado a partir de la dosis de RBZ administrada aparentemente es la misma en ambas especies, con lo que se estaría corroborando la similitud del comportamiento cinético del RBZ en las dos especies en estudio.

### **VII.5. Conclusión**

Podemos definir el comportamiento farmacocinético del RBZ en bovinos y ovinos como el de un fármaco con un bajo coeficiente de extracción, hecho que está determinado por la baja capacidad de depuración del mismo por parte del organismo de las mencionadas especies.

Por otra parte es importante remarcar que desde el punto de vista farmacocinético no hemos detectado diferencias atribuibles a la especie en lo que respecta a bovino y ovinos.

En vista de lo expuesto y asumiendo que no existen diferencias en los procesos de distribución, redistribución y eliminación del mencionado fármaco, la variación de los perfiles plasmáticos obtenidos tras la administración del mismo por vías diferentes a la intravenosa se deben solamente a modificaciones tanto de la fracción biodisponible como en el orden y la velocidad de los procesos de absorción.

# **CAPÍTULO VIII**

---

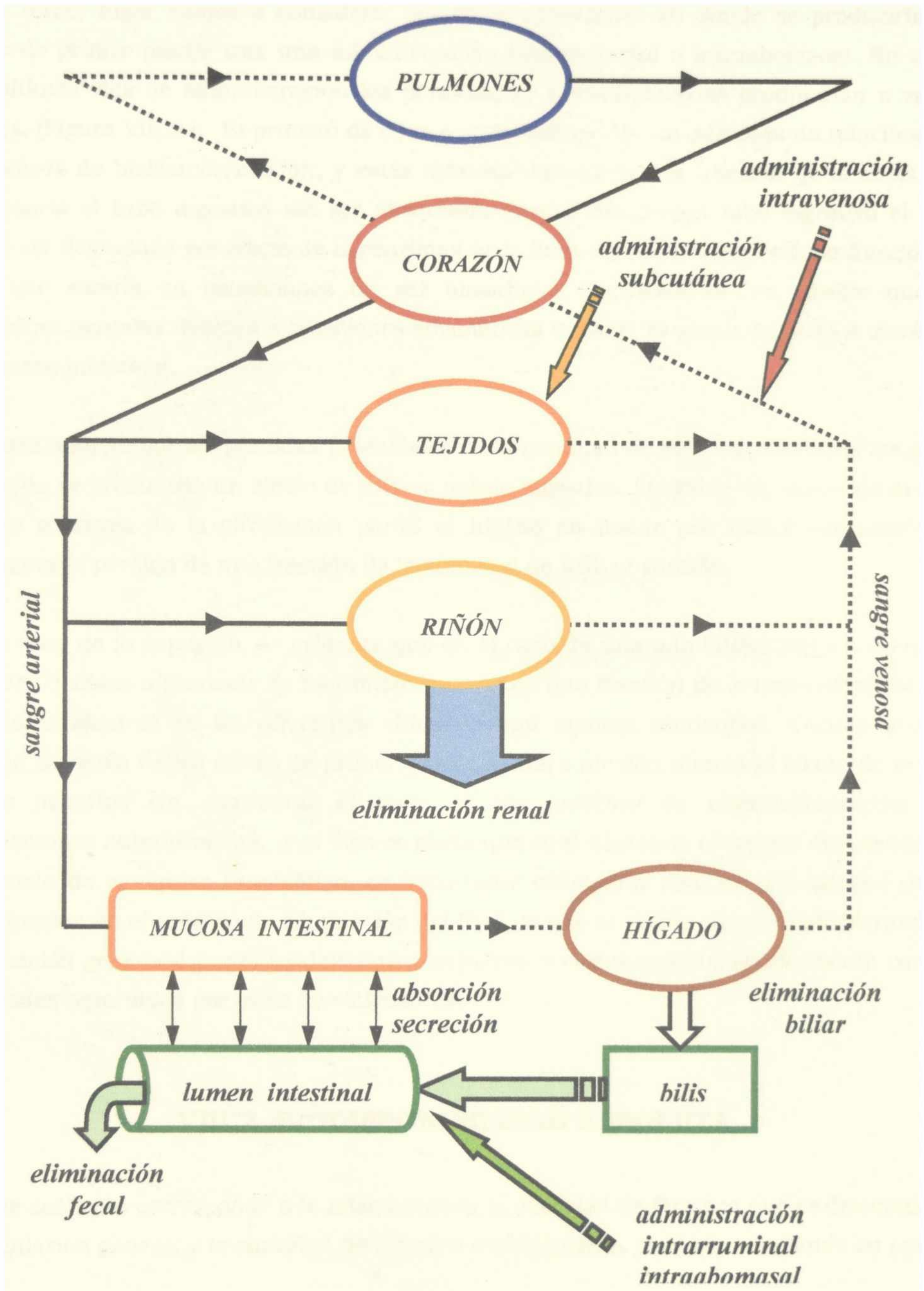
**Algunas consideraciones acerca de la  
biodisponibilidad del ricobendazole  
en las especies bovina y ovina**

## VIII.1. INTRODUCCIÓN

La disponibilidad biológica de un medicamento o también conocida como biodisponibilidad, se define como la cantidad y la velocidad con la que un medicamento ingresa inalterado a la circulación sistémica luego de ser administrado por una vía distinta de la intravenosa. Tal como fuera presentado en los capítulos anteriores, el valor de la fracción biodisponible de la dosis administrada o "*F*" es el resultado de pérdidas de medicamento que se producen en mayor o menor grado en una instancia previa a su ingreso a la circulación general. La diferencia entre la cantidad de medicamento administrada y la cantidad ingresada muchas veces es consecuencia de procesos de biotransformación que se producen en distintos sitios del trayecto recorrido por el fármaco desde su sitio de administración hasta su llegada a la circulación general. Este fenómeno se conoce como efecto de primer pasaje.

En la figura VIII.1. se presenta un esquema en el que se puede apreciar el recorrido de un medicamento en el organismo. Nosotros vamos a referirnos a la trayectoria que comienza a partir de los sitios de administración del RBZ que fueron ensayados en los diferentes experimentos realizados durante el desarrollo de esta tesis doctoral, a los fines de considerar los potenciales lugares en donde se pueden producir pérdidas de fracciones de la dosis de RBZ a causa de un efecto de primer pasaje. Aunque para el cálculo de la biodisponibilidad absoluta la vía de administración i.v. fue la que se utilizó por razones de comodidad y bajo riesgo antes que la vía de administración intraarterial, es posible que una parte de la dosis pudiera haber sido biotransformada a través de su primer pasaje por los pulmones. (Ver figura VIII.1.). Los pulmones constituyen un tejido con un equipamiento enzimático muy importante en donde la sangre se encuentra distribuida en una multitud de arteriolas, capilares y vénulas, por lo que existen muchas posibilidades de difusión del RBZ hacia el tejido pulmonar y su posterior biotransformación. Sin embargo carecemos de información al respecto, por lo que asumiremos que tras una administración i.v. las pérdidas del RBZ ocasionadas por el efecto de primer pasaje pulmonar son insignificantes o inexistentes. De esta manera el valor de las *AUCs* de concentraciones plasmáticas obtenidas a partir de la sangre venosa serían proporcionales a la totalidad de la dosis administrada y constituirían el valor máximo de disponibilidad biológica esperable.

En segundo lugar vamos a considerar el efecto de los tejidos luego de la administración s.c., ya que el mismo constituye un sitio potencial para que cierta fracción de la dosis administrada no sea biodisponible ya sea por precipitación en el mismo sitio de administración dando lugar al secuestro de una fracción de la dosis administrada o bien por posibles procesos de biotransformación que pudiesen ocurrir en el mismo sitio.



**Figura VIII.1.** Trayecto del RBZ en el organismo de un rumiante luego de su administración por las vías intravenosa, subcutánea, intrarruminal e intraabomasal. Modificado de Labaune 1984. <sup>(54)</sup>

En tercer lugar vamos a considerar los sitios potenciales en donde se produciría un efecto de primer pasaje tras una administración intrarruminal o intraabomasal. En estas dos últimas vías de administración las pérdidas de medicamento se producirían a varios niveles. (Figura VIII.2.). El primero de ellos se correspondería con pérdidas no relacionadas a procesos de biotransformación, y éstas estarían asociadas a la fracción de la dosis que atravesaría el tubo digestivo sin ser absorbida. Dentro del mismo tubo digestivo el RBZ puede ser degradado por efecto de las enzimas de la flora digestiva reduciendo la fracción de RBZ que estaría en condiciones de ser absorbida. Seguidamente es posible que se produzcan pérdidas debidas a reacciones enzimáticas durante el pasaje del RBZ a través de la mucosa intestinal.

Hasta aquí serían las pérdidas potenciales de la cantidad de RBZ administrado los sitios en donde se produciría un efecto de primer pasaje digestivo. Luego de su absorción el RBZ ingresa a través de la circulación portal al hígado en donde por biotransformación se produciría la pérdida de una fracción de la cantidad de RBZ absorbido.

En vista de lo expuesto, es evidente que en el caso de una administración i.r. o i.a. las pérdidas debidas a procesos de biotransformación de una fracción de la dosis administrada pueden producirse en los diferentes sitios de una manera secuencial. Corrientemente, cuando se habla de un efecto de primer pasaje se hace alusión directa al efecto de primer pasaje hepático sin considerar el resto de los procesos de biotransformación que mencionamos anteriormente, y si bien es cierto que es el hígado es el órgano depurador por excelencia de cualquier xenobiótico, es importante considerar cual es la magnitud de su participación en el proceso de eliminación del RBZ, lo que se puede obtener considerando la información generada por el modelo farmacocinético y corroborarse posteriormente con los resultados reportados por otros investigadores.

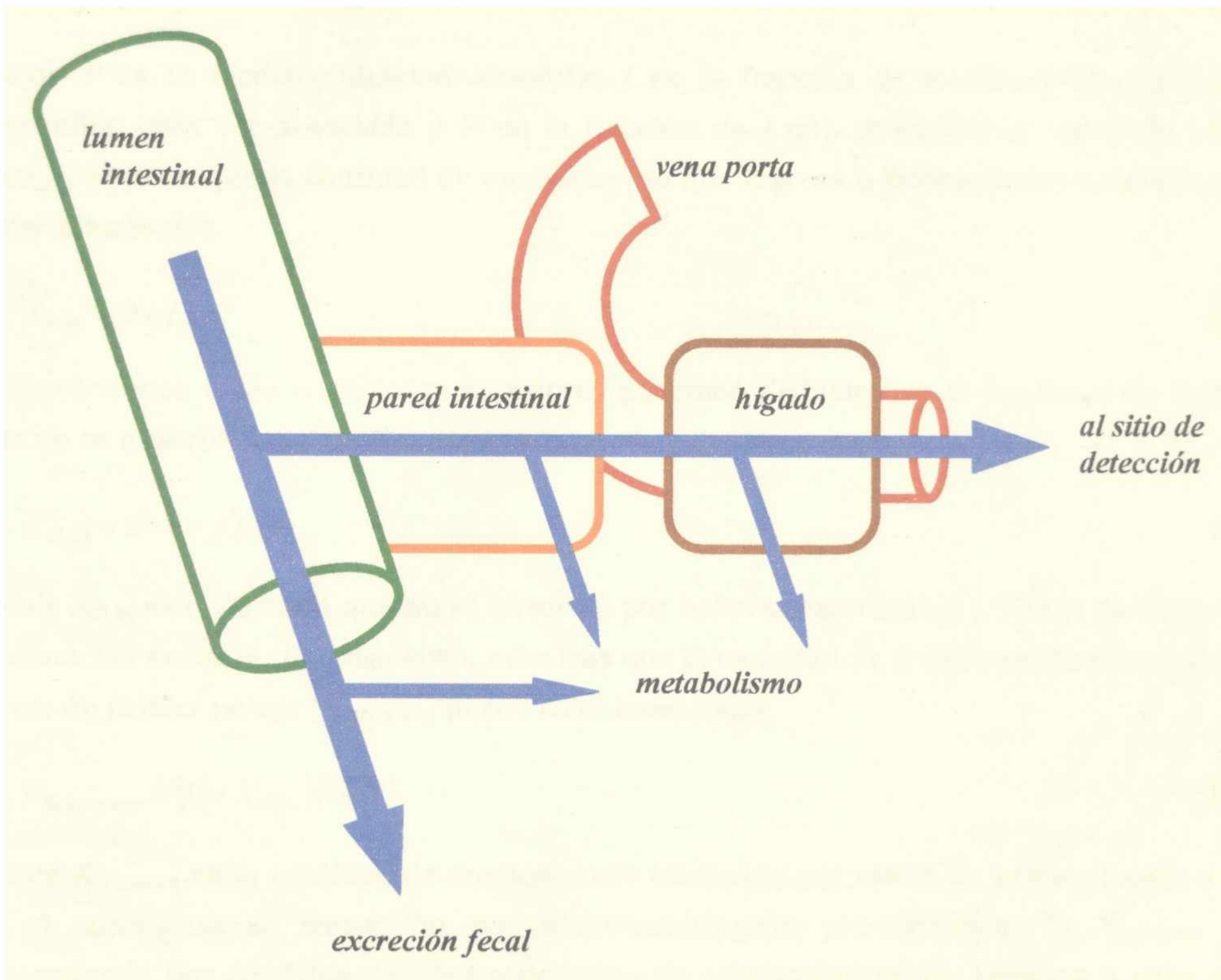
## VIII.2. BIODISPONIBILIDAD ABSOLUTA

Este concepto corresponde a la relación entre la cantidad de fármaco que es detectado en la circulación general y la cantidad de fármaco administrado, por lo que teniendo en cuenta que:

$$X_{\text{abs}} = AUC_{\text{ev}} \times Cl_B \quad \text{Eq.1}$$

donde  $X_{\text{abs}}$  es la cantidad de medicamento que ingresó a la circulación general;  $AUC_{\text{ev}}$  es el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas obtenida tras la administración extravascular y  $Cl_B$  es el clearance corporal calculado tras la administración intravenosa.





**Figura VIII.2.** El RBZ administrado en forma de suspensión o solución por la vía digestiva encuentra varias barreras y sitios de pérdida durante su proceso de absorción. Una disolución incompleta de las partículas que componen la suspensión favorece la excreción fecal de una fracción no absorbible, procesos metabólicos en el lumen intestinal por acción de la flora rumino-intestinal o en la pared del tubo digestivo por acción de enzimas presentes en los enterocitos son causas potenciales de una pobre absorción. La eliminación de una fracción de la cantidad absorbida durante su primer pasaje por el hígado contribuye a reducir la fracción biodisponible. Tomado de Rowland & Totzer 1995. <sup>(94)</sup>

De manera que la biodisponibilidad absoluta puede calcularse como:

$$F = \frac{X_{\text{abs}}}{D} \quad \text{Eq.2}$$

Sin embargo la biodisponibilidad así calculada no hace distinción entre el fármaco que se eliminó por biotransformación del que se eliminó sin ser absorbido. En ese caso el valor de  $F$  está compuesto por:

$$F = f \times F' \quad \text{Eq.3}$$

donde  $F$  es la biodisponibilidad absoluta;  $f$  es la fracción de medicamento que quedó disponible para ser absorbido y  $F'$  es la fracción de  $f$  que sobrevivió al efecto de primer pasaje, es decir que la cantidad de medicamento que ingresa a la circulación sistémica esta determinado por:

$$X_{\text{abs}} = D \times f \times F' \quad \text{Eq.4}$$

Basándonos a las ecuaciones anteriores podemos deducir que la cantidad de fármaco que no se absorbió por haberse excretado puede calcularse como:

$$X_{\text{el(e)}} = D \times (1 - f) \quad \text{Eq.5}$$

donde  $X_{\text{el(e)}}$  es el fármaco que no se absorbió por haberse excretado y  $1-f$  es el coeficiente de eliminación desde el tubo digestivo, mientras que la cantidad de medicamento eliminado por efecto de primer pasaje ( $X_{\text{first-pass}}$ ) puede calcularse como:

$$X_{\text{first-pass}} = (D - X_{\text{el(e)}})(1 - F') \quad \text{Eq.6}$$

donde  $X_{\text{first-pass}}$  es la cantidad de medicamento eliminado por efecto de primer pasaje y  $1-F'$  es el coeficiente de extracción por biotransformación pre-sistémica. El  $X_{\text{first-pass}}$  está determinado por pérdidas debidas a procesos de biotransformación llevados a cabo en el lumen intestinal por acción de las enzimas de la flora digestiva del rumiante y por el pasaje a través de los enterocitos y del hígado. Como estos procesos de biotransformación se encuentran ordenados en forma secuencial entonces podemos expresar que las fracciones que escapan a los procesos de biotransformación en cada una de las secuencias y que componen  $F'$  pueden expresarse de la siguiente manera:

$$F' = f_{\text{el(m)}} \times f_{\text{el(p)}} \times f_{\text{el(h)}} \quad \text{Eq.7}$$

donde  $f_{\text{el(m)}}$  es la fracción de  $f$  que escapó a la biotransformación por la flora digestiva;  $f_{\text{el(p)}}$  es la fracción de  $f_{\text{el(m)}}$  que escapó a la biotransformación por los enterocitos y  $f_{\text{el(h)}}$  es la fracción de  $f_{\text{el(p)}}$  que escapó a la biotransformación hepática.

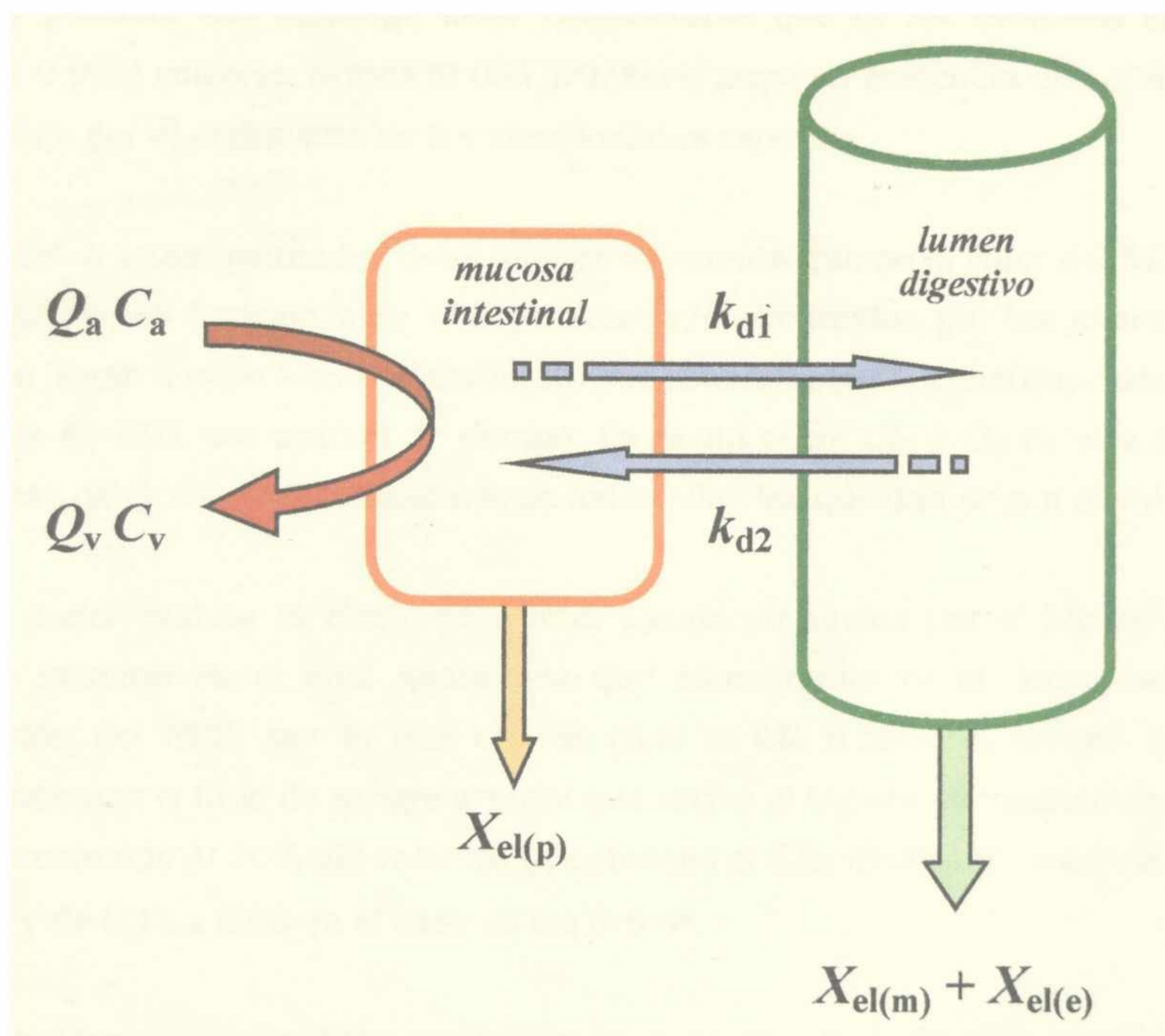
### VIII.2.1. Pérdidas de RBZ a nivel intestinal

Tanto la capacidad de depuración de la mucosa intestinal como la del el hígado pueden expresarse en términos de coeficientes de extracción, los que se calculan en base a la razón entre la cantidad de fármaco eliminada y la cantidad de fármaco ingresada al sistema por vía de la circulación sanguínea tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$$ER_n = \frac{X_{in} - X_{out}}{X_{in}} = \frac{Q(C_{in} - C_{out})}{Q C_{in}} \quad \text{Eq.8}$$

donde  $Q$  es el flujo de sangre expresado como volumen/minuto,  $ER_n$  es el coeficiente de extracción de un tejido en particular donde  $X_{in}$  es la cantidad de medicamento ingresada al sistema y  $X_{out}$  es la cantidad que sale del sistema. Tal como se presenta en esta ecuación, cuando la capacidad de depuración del sistema no esta saturada el  $ER$  es constante e independiente del valor de  $Q$ . Este concepto puede ser aplicado para el hígado o los enterocitos pero no para el coeficiente de extracción del lumen intestinal ( $1-f_{el(m)}$ ) ya que el ingreso al sistema no puede ser expresado en términos de flujo de sangre arterial y concentración plasmática.

Las perdidas producidas en el intestino comprenden al medicamento eliminado sin ser absorbido (excretado) ( $X_{el(e)}$ ), el medicamento biotransformado (metabolizado) por la flora digestiva ( $X_{el(m)}$ ) y el medicamento eliminado por los enterocitos (pared intestinal)( $X_{el(p)}$ ) tal como se representa en la figura VIII.3. En el caso del RBZ, ha sido reportado que existe un equilibrio entre las concentraciones plasmáticas y las concentraciones en el lumen del tubo digestivo debido a procesos de difusión y reabsorción, <sup>(76)</sup> y considerando que un modelo bicompartimental fue discriminado por el análisis farmacocinético y que el aparato digestivo del rumiante constituiría una gran parte del compartimento periférico, entonces podemos asumir que los valores de las constantes de difusión ( $k_{d1}$ ) y reabsorción ( $k_{d2}$ ) entre el plasma y el tubo digestivo se corresponderían con los valores de  $k_{12}$  y  $k_{21}$ . De esta manera, si tenemos en cuenta que a la mucosa intestinal arriva un volumen de sangre arterial con una determinada concentración de medicamento, la cantidad eliminada estaría representada no solo por la fracción biotransformada en los enterocitos, sino también por aquella fracción que luego de difundir hacia el lumen intestinal no vuelve a reingresar al sistema ya sea por haber sido biotransformada por la flora digestiva o por ser eliminada en la excreta. En vista de lo expuesto, el clearance intestinal ( $Cl_{int}$ ) estaría compuesto por los tres tipos de pérdidas antes mencionadas. En el capítulo anterior hicimos referencia a este fenómeno y a la escasa contribución del  $Cl_{int}$  al  $Cl_B$  y en este capitulo procederemos a analizar las razones de los valores de  $F$  obtenidos para el RBZ y hasta que punto los bajos valores obtenidos tras las administraciones intrarruminales son consecuencia del efecto de primer pasaje intestinal y hepático.



**Figura VIII.3.** Componentes del clearance intestinal; se indican las distintas fracciones de RBZ eliminadas desde los enterocitos y desde el lumen digestivo.  $Q_a$  es el flujo de sangre arterial que arriva a la pared intestinal,  $C_a$  es la concentración arterial de RBZ;  $Q_v$  es el flujo de sangre venosa que abandona la pared intestinal  $C_v$  es la concentración venosa de RBZ;  $k_{d1}$  y  $k_{d2}$  son las constantes de difusión entre la pared intestinal y la luz del tubo digestivo;  $X_{el(p)}$  es la cantidad de RBZ eliminada en la pared intestinal,  $X_{el(m)}$  y  $X_{el(e)}$  son las cantidades de RBZ eliminadas por metabolismo y excreción desde el lumen digestivo.

### VIII.2.2. Metabolismo hepático y efecto de primer pasaje

Tal como lo comentamos oportunamente, cuando se habla de pérdidas de la cantidad de medicamento biodisponible tras una administración por vía oral se habla del impacto del efecto de primer pasaje y en este sentido casi siempre se le atribuye al hígado la responsabilidad de tal proceso. El valor de  $F$  obtenido en bovinos tras la administración i.r. de RBZ en forma de suspensión fue de  $38 \pm 12\%$  y de  $35 \pm 16\%$  cuando se administró en forma de solución, mientras que en ovinos, la administración i.r. del RBZ en forma de suspensión fue de  $27 \pm 16\%$ , lo que pone de manifiesto la magnitud de la cantidad de fármaco perdido. Sin embargo debe considerarse que el  $ER$  estimado tanto en bovinos ( $0.029 \pm 0.006$ ) como en ovinos ( $0.032 \pm 0.0014$ ) puso en evidencia que el RBZ es eliminado lentamente por el organismo de las mencionadas especies.

En base a estos resultados debe tenerse en cuenta que en el valor del  $ER$  es la resultante de las diferentes fracciones de  $Q$  depuradas y/o eliminadas por los diferentes órganos en donde se llevan a cabo estos procesos. En ese contexto, el  $Cl_H$  constituye una fracción del  $Q_H$  depurada de RBZ por unidad de tiempo. La razón entre  $Cl_H$  y  $Q_H$  es otra de las fracciones depuradas de  $Q$ , siendo la sumatoria de todas ellas las que dan origen al valor del  $ER$  total.

Para poder evaluar el efecto de primer pasaje producido por el hígado proponemos un ejemplo extremo en el cual asumimos que este órgano es el único responsable de la depuración del RBZ, por lo que en ese caso el  $Cl_H$  tendría el mismo valor que el  $Cl_B$ . Asumiendo que el flujo de sangre arterial que arriva al hígado por unidad de tiempo tiene un valor aproximado al 30% del valor de  $Q$ , entonces el  $ER_H$  tendría un valor de  $0.097 \pm 0.02$  en bovinos y de  $0.11 \pm 0.05$  en el caso de los ovinos.

Si consideráramos también que la totalidad de una dosis de RBZ administrada por la vía i.r. es absorbida y que ingresa íntegramente a la circulación portal, en ese caso solo se producirían pérdidas del 9 al 11% de la dosis administrada (Tabla VIII.1). Calculando entonces el valor de una biodisponibilidad máxima simulada mediante la siguiente ecuación:

$$F_{\max(\text{sim})} = 1 - ER_{H(\text{sim})} \quad \text{Eq.9}$$

donde  $F_{\max(\text{sim})}$  es la biodisponibilidad máxima simulada,  $ER_{H(\text{sim})}$  es el coeficiente de extracción hepático simulado. Considerando que como ejemplo extremo asumimos que el  $Cl_H$  tiene el mismo valor que  $Cl_B$  entonces  $ER_{H(\text{sim})}$  es igual a:

$$ER_{H(\text{sim})} = \frac{Cl_H}{Q_H} = \frac{Cl_B}{Q_H} \quad \text{Eq.10}$$

**Tabla VIII.1.** Estimación de un valor hipotético de biodisponibilidad máxima considerando al hígado como único responsable de la eliminación del RBZ del organismo de bovinos y ovinos.

Parámetros	RBZ i.v.	
	Bovinos dosis: 7.5 mg.kg <sup>-1</sup>	Ovinos dosis: 5 mg.kg <sup>-1</sup>
	Promedio ± DE	Promedio ± DE
$Cl_B$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	2.08 ± 0.42	2.88 ± 0.13
$Q$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	71	89
$ER$	0.029 ± 0.006	0.032 ± 0.0014
$Q_H$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	21	27
$ER_H$	0.097 ± 0.02	0.11 ± 0.05
$F_{max}$ (%)	90 ± 0.02	89 ± 0.05

$Cl_B$  es el clearance corporal calculado por el método trapezoidal;  $Q$  es el gasto cardíaco expresado como volumen de sangre;  $ER$  es el coeficiente de extracción;  $Q_H$  es el flujo arterial hepático expresado como volumen de sangre por minuto estimado en un 30% del débito cardíaco;  $ER_H$  es el coeficiente de extracción hepático considerando al hígado como único responsable del  $Cl_B$ ;  $F_{max}$  (%) es la biodisponibilidad máxima esperada considerando al hígado como único responsable del  $Cl_B$  expresada como porcentaje.

por lo que:

$$F_{\max(\text{sim})} = 1 - \left( \frac{Cl_B}{Q} \right) \quad \text{Eq.11}$$

Lo que nos haría esperar valores de  $F_{\max(\text{sim})} \sim 90\%$ , pero considerando que por definición:

$$Cl_H < Cl_B \quad \text{Eq.12}$$

Entonces el  $ER_H(\text{sim}) > ER_H(\text{real})$ , y por consecuencia:

$$F_{\max(\text{sim})} < F_{\max(\text{real})} \quad \text{Eq.13}$$

donde  $F_{\max(\text{real})}$  sería la fracción biodisponible real.

Es decir que considerando que el valor del  $ER_H(\text{real})$  es menor el valor del  $ER_H(\text{sim})$  ya que por definición el  $Cl_H < Cl_B$ , entonces el valor simulado de  $F_{\max(\text{sim})}$  resultaría ser un valor mínimo del valor real de  $F_{\max(\text{real})}$ . Este ejemplo pone de manifiesto que en el caso del RBZ, los bajos valores de  $F$  obtenidos tras la su administración por vía i.r. tanto en bovinos como ovinos no serían consecuencia de pérdidas ocasionadas por un efecto de primer pasaje hepático y que por lo tanto las pérdidas de fármaco ocasionadas por este fenómeno no serían significativas.

### VIII.2.3. Mucosa intestinal y efecto de primer pasaje

Aunque el intestino puede ser considerado un órgano con una actividad netamente absorbente, es importante considerar que las pérdidas de medicamento que se producen en la luz del mismo y en su pasaje a través de los enterocitos contribuyen a la eliminación presistémica de numerosos xenobióticos. Por esto debe considerársele como un sitio potencial de eliminación de fármacos capaz de determinar los bajos valores de  $F$  obtenidos para varios medicamentos que son administrados por la vía digestiva. <sup>(71)(112)</sup> En este sentido es importante considerar que los enterocitos presentan un sistema o pool enzimático que se asemeja mucho al del hígado, lo que da lugar a que puedan producirse reacciones de oxidación, hidroxilación, reducción, acetilación, glucoconjugación y sulfoconjugación, aunque esta capacidad metabólica de la mucosa intestinal debería considerarse mucho menor a la del hígado. <sup>(54)</sup>

La reducción de la fracción de la dosis biodisponible de ciertos medicamentos por acción de los enterocitos fue corroborada tanto por el efecto de biotransformación de la molécula original como en el caso de la ciclosporina, <sup>(55)(108)</sup> como así también por la eliminación de los

metabolitos resultantes hacia la luz del tubo digestivo de fármacos como la 7 ethoxicumarina <sup>(2)</sup> y la ciclosporina. <sup>(52)</sup>

En el caso de los BZDs, trabajos realizados en *loop* de intestino de rata mostraron que luego de la administración de una dosis de ABZ solubilizado al 1% en DMSO dentro de un *loop* intestinal se hallaron diferencias entre el lumen y la sangre mesentérica de un 25 a un 50% con respecto a la dosis administrada, siendo el RBZ el metabolito hallado tanto en sangre mesentérica como en lumen intestinal. <sup>(91)</sup> Sin embargo, la ausencia de ABZSO<sub>2</sub> estaría indicando que en el proceso de biotransformación del ABZ por los enterocitos el proceso de sulfonación estaría ausente <sup>(70)(91)</sup> y que estaría limitado solo al proceso de sulfoxidación y el mismo estaría catalizado por los sistemas P-450 y FMO. <sup>(91)</sup>

Los resultados reportados por estos autores no pueden ser interpretados en términos absolutos por tratarse de resultados obtenidos en condiciones experimentales "in vivo", pero aportan importante información para considerar que en el caso de existir pérdidas de RBZ por efecto de un primer pasaje a través de la mucosa intestinal, estas serían de escasa magnitud y que en todo caso serían menores a las que se producirían por efecto del primer pasaje por el hígado.

#### **VIII.2.4. Flora digestiva y efecto de primer pasaje**

La capacidad metabólica de la flora digestiva del rumiante es un elemento muy importante a considerar cuando se evalúan los posibles sitios del aparato digestivo que estarían involucrados en un efecto de primer pasaje y que podrían incidir en los bajos valores de *F* de los compuestos BZDs cuando estos son administrados por la vía i.r. Debemos entonces considerar al retículo rumen y el resto del tracto digestivo posterior (con excepción del abomaso) como potenciales sitios en donde se podrían producir pérdidas de la dosis de los BZDs por transformación metabólica. Debido a que los microorganismos de la flora rumino reticular e intestinal viven en un medio esencialmente anaerobio es que en el mismo predominan las reacciones de reducción antes que las reacciones de oxidación. En el caso del RBZ, la molécula puede ser reducida a su molécula madre el ABZ mediante un proceso reversible, <sup>(60)</sup> mientras que por otra parte el RBZ puede ser transformado por oxidación a ABZSO<sub>2</sub> en un proceso irreversible <sup>(101)</sup> y esto es importante considerarlo debido a que la actividad metabólica de los fluidos ruminales se caracteriza por una marcada acción reductora. <sup>(97)</sup>

Aunque los procesos de reducción del RBZ a su molécula madre al ABZ en el tubo digestivo son un hecho importante, es de considerar que no constituyen un elemento de juicio para evaluar las pérdidas de la dosis del RBZ administrado por la vía digestiva ya que



el mencionado proceso es reversible y ambas moléculas son activas. De manera que consideramos importante tener en cuenta cual es la capacidad de la flora rumino reticular e ileal de inactivar el compuesto dando origen al ABZSO<sub>2</sub> que es el primer metabolito inactivo del RBZ.

Como fuera mencionado anteriormente la acción de la microflora rumino-reticular sobre el ABZ y el RBZ es predominantemente reductora antes que oxidativa. Luego de una incubación de 360 minutos en fluidos ruminales, el porcentaje de RBZ transformado en ABZSO<sub>2</sub> resulto ser del  $2.2 \pm 0.8\%$  en el caso del ovino y del  $5.0 \pm 0.1\%$  en el caso del bovino. <sup>(63)</sup> Por otra parte una incubación de una dosis de RBZ durante el mismo período de tiempo en fluidos del ileum fue transformado a ABZSO<sub>2</sub> en un  $1.4 \pm 0.2\%$  en ovinos y en un  $1.5 \pm 0.1\%$  en bovinos. <sup>(63)</sup> Pequeños porcentajes de ABZSO<sub>2</sub> fueron también obtenidos luego de la incubación de NTB en fluidos ruminales e ileales de terneros y ovejas. <sup>(60)</sup>

En base a estos resultados se puede considerar que el bovino presenta en su aparato digestivo una mayor actividad oxidativa que en la oveja. Sin embargo estos resultados estarían en apariencia demostrando que las pérdidas de las moléculas activas ABZ o RBZ no serían de una magnitud suficiente como para producir pérdidas de alrededor del  $55 \pm 12\%$  y  $62 \pm 12\%$  en el caso de una administración i.r. en el bovino ni del  $73 \pm 5.6\%$  en el caso de una administración i.r. en el ovino. Estos resultados estarían sugiriendo que las pérdidas debidas a biotransformación por parte de la flora del tubo digestivo de los rumiantes no serían demasiado importantes.

En un punto anterior ya discutimos la intervención del tubo digestivo, en particular del intestino en su contribución al valor del  $Cl_B$ , y en base a los elementos de juicio obtenidos ya sea por la lectura de la información proporcionada por el modelo como por hallazgos reportados por otros autores es evidente que en una primera instancia los bajos valores de  $F$  obtenidos tras la administración i.r. de los BZDs no se deberían -al menos no totalmente- a pérdidas por metabolismo de primer pasaje ya sea este por bioconversión por acción de las bacterias presentes en el tubo digestivo, por acción de los enterocitos o por acción hepática.

#### **VIII.2.5. Características fisicoquímicas del RBZ y efecto de primer pasaje**

Los BZDs metilcarbamatos presentan escasa hidrosolubilidad, y es justamente esta característica la que condiciona su formulación en forma de polvos, pastas o suspensiones para poder ser administrados a los animales domésticos y en las especies rumiantes es la suspensión la forma farmacéutica comúnmente utilizada para vehiculizarlos.

Considerando que para ser absorbido, un fármaco debe encontrarse en estado de disolución, y dentro de esta fracción disuelta, la forma no ionizada es la que en términos generales esta disponible para ser absorbida, y si asumimos que el proceso de absorción se realiza por difusión pasiva de la forma no ionizada entonces la velocidad a la que se lleva a cabo este proceso estará condicionada por el coeficiente de partición entre la matriz lipídica de las membranas biológicas y el medio acuoso que las rodea.

Con respecto al RBZ administrado por vía i.r. y considerando la escasa solubilidad de este compuesto, los porcentajes de RBZ en forma no ionizada presentados en la tabla VII.4. corresponden al fármaco que se encuentra en disolución, el que constituye una fracción menor con respecto a la cantidad total administrada. Prichard *et al.* <sup>(88)</sup> hallaron que tras la administración de FBZ en terneros una proporción variable de la dosis administrada era eliminada en la excreta del tubo digestivo. Este mismo fenómeno fue corroborado por Hennessy *et al.* <sup>(48)</sup> quienes demostraron que en el caso del FBZ y metabolitos, la fracción de los mismos unida al material particulado en rumen presento un valor 800 veces mayor que el presente en la fase líquida del rumen. Los BZDs tienden a unirse al material particulado de la ingesta, siendo esta unión de tipo físico la que estaría favorecida por la gran superficie de contacto presentada por el material particulado. Considerando que el RBZ puede ser biotransformado por acción de la flora del aparato digestivo de los rumiantes, es necesario tener en cuenta que las moléculas que pueden ser biotransformadas deben encontrarse disueltas en la fase acuosa del contenido digestivo. Este hecho en teoría excluiría a todas aquellas moléculas que permanecen adsorbidas a la superficie del material particulado de la ingesta como así también aquellas que permanecen agregadas en partículas de la suspensión que no pudieron ser disueltas oportunamente.

En vista de lo expuesto se puede inferir que siendo la fracción en estado de disolución menor que la fracción unida al material particulado o no disuelta, la fracción disponible para ser absorbida esta limitada por la velocidad de disolución y de liberación desde el material particulado. Ambos procesos estarían favorecidos por el bajo pH del abomaso Hennessy *et al.*, <sup>(48)</sup> ya que los compuestos BZDs son mas solubles en el medio abomasal que en el ruminal. <sup>(80)</sup> El pasaje por abomaso del complejo *material particulado-RBZ*, permitiría aumentar la fracción presente en la fase líquida de la ingesta y en consecuencia disponible para ser absorbida.

Los resultados reportados por Hennessy *et al.* <sup>(48)</sup> muestran que en el caso del FBZ y metabolitos en el abomaso la fracción unida al material particulado es aproximadamente 150 veces mayor a la fracción presente en la fase acuosa indicando que la forma soluble aumenta notablemente con respecto a los valores hallados en el contenido ruminal.

Teniendo en cuenta la aparente baja eficacia reportada en ensayos “*in vitro*” tanto de los microorganismos de la flora digestiva, los enterocitos y de las bajas pérdidas del fármaco asociadas al efecto de primer pasaje hepático estimadas por el modelo, es posible inferir que la principal causa de la baja biodisponibilidad de este compuesto se deba que una gran fracción del mismo atraviesa el tubo digestivo sin ser absorbido por no presentarse en estado de disolución.

En forma general podemos aceptar que considerando el valor de la biodisponibilidad absoluta la cual fue definida en la ecuación 3 como:

$$F = f \times F' \quad \text{Eq.3}$$

entonces en base a los conceptos revisados hasta ahora podemos en una primera instancia inferir que:

$$f \ll F' \quad \text{Eq.14}$$

donde  $F$  es la biodisponibilidad absoluta;  $f$  es la fracción de medicamento que quedó disponible para ser absorbido y  $F'$  es la fracción de  $f$  que sobrevivió al efecto de primer pasaje. En otras palabras la ecuación anterior puede ser expresada en términos de coeficientes de extracción de la siguiente manera:

$$1 - f \gg 1 - F' \quad \text{Eq.15}$$

donde  $1 - f$  es el coeficiente de eliminación de RBZ desde el tubo digestivo que no se hallaba en condiciones de ser absorbido y  $1 - F'$  es el coeficiente de extracción por efecto de primer pasaje de la fracción en condiciones de ser absorbida.

#### **VIII.2.6. Forma farmacéutica, vía de administración y efecto de primer pasaje**

Teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del RBZ de ser una débil con un  $pK_a$  de 7.8, de ser escasamente soluble en agua y considerando por otra parte los requisitos que una molécula debe reunir para encontrarse en condiciones de ser absorbida, parecería lógico esperar que luego de administrar este compuesto por la vía i.r. en forma de suspensión se obtengan bajos valores de  $F$ . La escasa solubilidad de los BZDs en los líquidos ruminales <sup>(80)</sup> determinarían una lenta tasa de disolución de las partículas que forman la suspensión y por otra parte una gran fracción del RBZ disuelto se uniría al material particulado de la ingesta Hennessy *et al.* <sup>(48)</sup>

Dada la diferencia de velocidad con la que las fracciones líquidas y sólidas de la ingesta abandonan el rumen, una gran fracción de la dosis permanecería en el mismo durante un

periodo de tiempo variable que prolongaría el proceso de absorción garantizando una permanencia prolongada del antihelmíntico en el organismo. <sup>(43)</sup> Pese a este efecto reservorio del rumen y que la prolongada permanencia del RBZ en el tubo digestivo sería un factor que favorecería el proceso de disolución del mismo, esto en apariencia no parecería ser suficiente para mejorar la biodisponibilidad del mismo. Sin embargo la disolución del RBZ en el rumen no asegura por si misma una mayor disponibilidad biológica. Tal como se reporta en el capítulo V, la disponibilidad biológica obtenida en bovinos tras la administración del RBZ en forma de solución por vía i.r. en bovinos ( $35 \pm 16\%$ ). En este caso la absorción de una gran fracción de las moléculas administradas al material particulado de la ingesta podrían explicar los bajos valores de  $F$  obtenidos tras la administración de la solución siendo en este caso de suma importancia la disociación del complejo *material particulado-RBZ*.

Sin embargo tras la administración i.a. de la misma solución el RBZ se absorbió rápidamente y se obtuvo una disponibilidad biológica del  $81 \pm 21\%$ . La presencia del RBZ en estado de solución en el sitio de absorción es entonces el factor limitante de la disponibilidad biológica del compuesto. Dada la rapidez con la que se produjo el proceso de absorción ( $t_{1/2 \text{ abs}} 36 \pm 25 \text{ min}$ ) los perfiles plasmáticos resultantes presentaron similitud con los obtenidos tras una administración i.v. (Figura V.1.). Considerando que la solubilización del RBZ es un factor crucial para su absorción desde el tubo digestivo, la formulación para administración parenteral en donde el RBZ se presenta en solución para ser administrado por vía s.c. podría representar una ventaja al evitar los factores relacionados tanto a la fisiología digestiva como a los que influyen en la solubilización del mismo. En este aspecto el comportamiento del RBZ en lo que a biodisponibilidad se refiere presentó marcadas diferencias entre las especies bovina y ovina. En bovinos la administración por vía s.c. dio lugar a una inmediata reacción inflamatoria en el sitio de inyección con la formación de edema que persistió por espacio de tres a cuatro días y el valor de la biodisponibilidad obtenida ( $45 \pm 12\%$ ) no se diferenció de los valores obtenidos tras las administraciones i.r. del RBZ en forma de suspensión o solución.

La ausencia en el organismo de una importante fracción de la dosis administrada supone que la misma pudo haber permanecido secuestrada en el sitio de administración como consecuencia de la reacción inflamatoria o bien que la misma pudo haber desaparecido por biotransformación en el sitio de inyección, lo que constituiría un efecto de primer pasaje producido en el sitio de administración. Sin embargo en el caso de los ovinos, la administración de la misma solución fue en apariencia bien tolerada por el tejido s.c., ya que no se observaron reacciones inflamatorias ni formación de edemas en las zonas de inyección. Por otra parte este hecho se correlaciona con una rápida absorción del

medicamento y una biodisponibilidad del  $96 \pm 9.5\%$ . Considerando que los experimentos se realizaron administrando la misma formulación tanto en una como en otra especie, podríamos establecer "*a priori*" una relación entre la biodisponibilidad y la reacción tisular, la que estaría determinada por una diferencia entre las especies.

#### **VIII.2.7. Farmacocinética del ABZSO<sub>2</sub> y el efecto de primer pasaje**

A partir de los resultados obtenidos en los presentes experimentos, la farmacocinética del RBZ no presentó diferencias entre las especies bovinas y ovinas, sin embargo la biodisponibilidad del RBZ presentó diferencias en las especies bovinas y ovinas y estas estuvieron relacionadas tanto con el tipo de formulación como por la vía de administración utilizada.

Aunque no disponemos de los parámetros farmacocinéticos que describan el comportamiento del ABZSO<sub>2</sub> en el organismo de las mencionadas especies, es posible inferir que dada la similitud estructural que presenta esta molécula con respecto su molécula madre el RBZ, -de la que se diferencia en un átomo de oxígeno de más-, el comportamiento del ABZSO<sub>2</sub> no presentaría diferencias entre las dos especies. Esto equivale a considerar que el fármaco presentaría similares patrones de distribución tanto en bovinos como en ovinos, es decir que los valores de las fracciones presentes tanto en el compartimento central como en el periférico no diferirían entre especies. Esto nos permitiría asumir que la relación entre las AUCs del ABZSO<sub>2</sub> y el RBZ (SO<sub>2</sub>/RBZ), nos proporcionan información relativa a cerca de la cantidad adicional de ABZSO<sub>2</sub> formado tras la administración del RBZ por diferentes vías extravasculares. Los datos presentes en la tabla VII.3. permiten apreciar que tanto en bovinos como en ovinos tras una administración i.v. de RBZ, la relación SO<sub>2</sub>/RBZ no presenta diferencias, lo que guarda relación con la similitud del comportamiento farmacocinético del RBZ en ambas especies.

Sin embargo el valor de esta relación aumenta cuando el RBZ es administrado por las vías i.r. y s.c., lo que en principio nos indicaría que existe una cantidad extra de ABZSO<sub>2</sub> que ingresa al sistema, cuya magnitud dependería de la magnitud del efecto de primer pasaje. En el caso de las administraciones i.r. estos valores son mayores en bovinos, que en ovinos, lo que nos permite inferir que habría una mayor formación de ABZSO<sub>2</sub> en los primeros con respecto a segundos, lo que se correlacionaría con la mayor capacidad oxidativa del medio digestivo de los bovinos con respecto a los ovinos. <sup>(63)</sup>

En una primera instancia se podría asociar el exceso de ABZSO<sub>2</sub> con los bajos valores de *F*, pero esa sería una interpretación demasiado simplificada que asumiría que las pérdidas del RBZ serían solo la consecuencia de una extensa transformación metabólica del RBZ. Sin

embargo en ovinos el valor de esta relación no es proporcional con respecto a los valores de  $F$ , ya que tras la administración i.v. la relación  $SO_2/RBZ$  es  $0.31 \pm 0.030$  y tras la administración i.r. este valor fue de  $0.40 \pm 0.056$  mientras que el valor de  $F$  fue  $0.27 \pm 0.057$ . Es decir que la relación entre  $ABZSO_2$  y  $RBZ$  se mantuvo casi invariable, indicando que solo una pequeña cantidad de  $RBZ$  fue biotransformada por un efecto de primer pasaje dando origen a una pequeña cantidad extra de  $ABZSO_2$  que ingreso al sistema, cuando en realidad se produjo una perdida de medicamento de aproximadamente un 70%. Este hecho nos hace pensar que gran parte de las perdidas en la especie ovina podrían deberse a factores extrametabólicos. Siguiendo la misma línea de razonamiento y dentro de una misma especie, las razones estimadas ( $SO_2/RBZ$ ) tras las administraciones i.v. y e.v. del  $RBZ$  nos permitirían realizar una estimación aproximada de la cantidad del  $ABZSO_2$  formado por un efecto de primer pasaje.

Un estudio realizado por Weiss, <sup>(109)</sup> <sup>(110)</sup> considerando la relación de  $AUC$ s de molécula activa y metabolitos obtenidos tras administración i.v. y e.v., permitiría calcular en forma aproximada la fracción del metabolito circulante que no fue formado por un efecto de primer pasaje. Aplicando ese procedimiento podemos calcular en forma aproximada la fracción del  $ABZSO_2$  circulante que fue formada por un efecto de primer pasaje tras una administración extravascular de  $RBZ$ .

$$f_{ev} = \frac{AUC_{RBZ\ ev} / AUC_{RBZ\ iv}}{AUC_{RBZ\ ev} / AUC_{SO_2\ iv}} \quad \text{Eq.16}$$

donde  $f_{ev}$  es la fracción del  $ABZSO_2$  detectada en plasma que no fue formada por un efecto de primer pasaje;  $AUC_{RBZ\ ev}$  y  $AUC_{RBZ\ iv}$  son los valores de  $AUC$ s del  $RBZ$  administrado por vía extravascular e intravenosa;  $AUC_{SO_2\ ev}$  y  $AUC_{SO_2\ iv}$  son los valores de  $AUC$ s del  $ABZSO_2$  tras la administración del  $RBZ$  por vía extravascular e intravenosa. Los resultados obtenidos nos muestran que en el caso de los bovinos, tras la administración de  $RBZ$  tanto por vía s.c. como i.r. el valor de  $f_{ev}$  fue del 0.3 a 0.4 es decir que el 60% (s.c.) al 70% (i.r.) del  $ABZSO_2$  circulante fue formado por un efecto de primer pasaje. Un caso interesante lo constituye la administración i.a. en donde la cantidad estimada de  $ABZSO_2$  formada por efecto de primer pasaje fue casi nula. En el caso de los ovinos el valor de  $f_{ev}$  es mayor siendo en s.c. de 0.6 y en i.r. de 0.7, es decir que solamente el 30% (s.c.) y el 40% (i.r.) del  $ABZSO_2$  circulante fue formado por un efecto de primer pasaje.

Hasta aquí el análisis y la estimación de la magnitud de las perdidas producidas por transformación metabólica asociadas a un efecto de primer pasaje.

El interrogante que nos surge a partir de la estimación de las fracciones de ABZSO<sub>2</sub> formadas por efecto de primer pasaje es acerca del sitio en donde esta biotransformación se lleva a cabo. La estimación de una  $F_{\max}$  nos permitió descartar la hipótesis de un efecto de primer pasaje hepático responsable de los bajos valores de  $F$  obtenidos en ambas especies tras las administraciones por la vía i.r. Estimando una  $F_{\max}$  de alrededor del 90% y considerando que el  $Cl_H$  es menor al estimado, sería razonable esperar valores de  $F$  más elevados.

En segundo lugar debemos considerar que en base a los ensayos (*in vivo*) realizados por otros investigadores, la actividad metabólica de los enterocitos no es suficiente para la formación de ABZSO<sub>2</sub>, por lo que podríamos considerar que el pasaje del RBZ por los mismos no sería afectado por transformación metabólica y que las posibles pérdidas producidas a este nivel serían despreciables.

En tercer lugar nos queda considerar las pérdidas por biotransformación producidas por las bacterias de la flora digestiva, cuya existencia ha sido debidamente demostrada. En ese caso es notoria la mayor capacidad oxidativa de la flora digestiva del bovino con respecto al ovino, <sup>(63)</sup> lo que explicaría la mayor cantidad de ABZSO<sub>2</sub> formada en instancias previas a su ingreso a la circulación portal. Sin embargo los experimentos "*in vitro*" aunque demostraron la actividad metabólica de los fluidos digestivos de ambas especies también mostraron que la capacidad de formación de ABZSO<sub>2</sub> es muy limitada y que las pérdidas de RBZ debidas a su transformación a ABZSO<sub>2</sub> no sobrepasan el 10%. <sup>(63)</sup> De todas maneras deberíamos considerar que tratándose de ensayos "*in vitro*" es posible que la actividad oxidativa "*in vivo*" pueda ser mucho mayor, lo que en ese caso justificaría la gran fracción de ABZSO<sub>2</sub> formada por efecto de primer pasaje en la luz del tubo digestivo sobre todo en bovinos.

En el caso de la administración i.a. debemos recordar que las moléculas se administraron en forma de solución en un sitio próximo al duodeno que es el sitio potencial para que se realice su absorción. Lo curioso de esta administración no solo fue su elevada disponibilidad biológica ( $81 \pm 21\%$ ) sino que la relación SO<sub>2</sub>/RBZ fue similar a la obtenida tras la administración i.v. y la cantidad estimada de ABZSO<sub>2</sub> formada por un efecto de primer pasaje fue insignificante. La rapidez con la que el RBZ alcanzó la circulación general hace pensar en el escaso tiempo que las moléculas permanecieron en el sitio de absorción y por lo tanto en contacto con las bacterias de la flora digestiva capaces de biotransformarlo. Entonces considerando que casi la totalidad de la dosis ingresó a la circulación portal, se corrobora que el primer pasaje a través de la mucosa intestinal y el hígado no disminuyeron sustancialmente la cantidad de fármaco que ingreso a la circulación general, fenómeno que pudo ser dilucidado "*a priori*" por la información generada por el modelo farmacocinético.

Con respecto a la administración s.c., una de las hipótesis de trabajo que han sido manejadas en la presente tesis fue la consideración de que justamente esta vía de administración evitaría el efecto de primer pasaje obligado con el uso de la vía digestiva logrando de esa manera un aumento en los valores de  $F$ . Lo anterior ha sido corroborado en la especie ovina en donde los valores de  $F$  fueron casi del 100%, sin embargo esto no sucedió en bovinos donde no solo que la disponibilidad biológica no presento diferencias con respecto a las obtenidas con el uso de las vía de administración i.r. sino que una gran cantidad extra de ABZSO<sub>2</sub> fue encontrada en la circulación sistémica atribuible a un efecto de primer pasaje a nivel tisular. Este fenómeno -aunque en menor medida- también fue observado en ovinos, lo que nos llevaría a considerar que existe la posibilidad de procesos oxidativos a nivel del sitio de inyección que contribuyen a disminuir la fracción de fármaco disponible para ingresar a la circulación sistémica.

### **VIII.3. CONCLUSIONES**

En base a lo expuesto podemos dejar en claro algunos conceptos con respecto al efecto de primer pasaje y la biodisponibilidad del RBZ.

- a- La baja biodisponibilidad del RBZ no es a consecuencia de un efecto de primer pasaje hepático.
- b- La participación de la mucosa intestinal en el efecto de primer pasaje seria despreciable.
- c- La mayor parte de las pérdidas se producirían en la luz intestinal ya sea a causa de la actividad metabólica de la flora digestiva y de la eliminación de una fracción de la dosis que no se encuentra en condiciones de ser absorbida, predominando en bovinos la primera causa y en ovinos la segunda.
- d- En el caso de la administración s.c. es posible considerar un proceso de oxidación en el sitio de administración como responsable de perdidas de fármaco previas a su ingreso a la circulación sistémica.



# **CAPÍTULO IX**

---

## **Conclusión general**

## **IX.1. INTRODUCCIÓN**

### **IX.1.1. Información obtenida a partir de un estudio extravascular**

Los perfiles de concentración plasmática de cualquier molécula que se obtienen a partir de la administración extravascular de las mismas son utilizados con mucha frecuencia para explicar su comportamiento farmacocinético. En este aspecto, los mismos son utilizados para establecer diferencias del comportamiento farmacocinético asociadas a diferentes formulaciones empleadas y vías de administración ensayadas. De la misma manera los mismos son utilizados muchas veces para establecer diferencias en el comportamiento farmacocinético entre especies. No obstante lo anterior, la información obtenida a partir de un perfil plasmático producto de una administración extravascular no aporta una verdadera idea acerca del comportamiento farmacocinético de la molécula estudiada.

### **IX.1.2. Que información se genera y no se genera a partir de un perfil extravascular**

Un perfil extravascular nos permite estimar el  $AUC$ , y la constante de eliminación aparente a partir de la pendiente de la fase terminal. Si bien la semivida estimada a partir de este último parámetro nos proporciona información a cerca del tiempo necesario para que el medicamento desaparezca del organismo tras una administración extravascular y calcular de esa manera los intervalos de administración en el diseño de un esquema terapéutico, la misma no siempre se corresponde con la verdadera velocidad de eliminación del medicamento desde el organismo, la que solo puede ser estimada a partir del perfil de concentraciones plasmáticas obtenido tras una administración intravenosa. En ese caso a menudo se presenta una velocidad de absorción menor a la de eliminación ( $k_a < k_{el}$ ), siendo en ese caso  $k_a$  el factor limitante del proceso de eliminación, fenómeno que se conoce como *flip-flop*, en donde la constante calculada a partir de la fase terminal extravascular corresponde a  $k_a$ . A partir de allí, el  $t_{max}$ , no siempre constituye un indicador fidedigno de la proximidad de la finalización del proceso de absorción.

Con respecto a la distribución del fármaco, la velocidad a la que los procesos de distribución y redistribución se llevan a cabo, son por lo general mayores que la velocidad del proceso de absorción y por ende es muy difícil llegar a discriminar el número de compartimentos a partir de un perfil extravascular. Una información muy interesante que se pierde al no disponer de datos de administración intravenosa es el valor de  $F$ . A partir de allí, el resto de los parámetros farmacocinéticos van a estar condicionados por ese valor, ya que la constante de absorción estimada ( $k_a$ ) es en realidad  $k_{01}/F$ , el clearance estimado ( $Cl_B$ ) es en realidad  $Cl_B/F$ , y el volumen de distribución que se puede estimar ( $V_{area}$ ) solo corresponde al volumen de área  $V_{area}/F$ . En resumen, el análisis farmacocinético de un perfil extravascular, solo nos proporciona una limitada información a título descriptivo.

### **IX.1.3. El análisis compartimental; paradigma de la farmacocinética**

#### **IX.1.3.1. Información generada a partir de un perfil intravenoso**

Considerando un modelo bicompartimental abierto la información generada es en primer lugar la estimación de los parámetros farmacocinéticos primarios, que son:

- 1- Volumen del compartimiento central o  $V_c$
- 2- Clearance y a partir del mismo estimar la capacidad depuradora del organismo ( $ER$ ).
- 3- Micro constantes de eliminación y transferencia:  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  y  $k_{21}$

A partir de estos parámetros básicos se pueden estimar el resto de los parámetros farmacocinéticos, entre ellos:

- La constante de distribución aparente también llamada:  $\alpha$
- La verdadera constante de eliminación aparente, llamada:  $\beta$
- Los valores de  $V_{ss}$  y  $V_{area}$  y a partir de ellos estimar la cantidad de fármaco presente en el organismo a partir de una concentración plasmática medida en un momento determinado y la capacidad de la molécula de difundir hacia los tejidos periféricos
- El valor del  $AUC$  considerando una biodisponibilidad del 100%
- Y tal como se presentó en el capítulo VII, la correcta interpretación de los mismos permite establecer diferencias farmacocinéticas entre especies.

#### **IX.1.3.2. Interpretación de los perfiles extravasculares**

La información generada por un análisis compartimental de un perfil intravenoso nos permite interpretar un perfil extravascular generándonos la siguiente información:

- Biodisponibilidad absoluta, la que es influida por la forma farmacéutica empleada y la vía de administración utilizada.
- Presencia de un fenómeno de *flip-flop*, en la que la constante calculada a partir de la fase terminal corresponde a la constante del proceso de absorción.
- Discriminar orden y la velocidad del proceso de absorción, permitiendo conocer las variables que determinan dichos procesos y establecer diferencias entre distintas vías de administración y comparar el comportamiento de diferentes formulaciones.

Como puede observarse, la única información que se obtiene es acerca de los fenómenos referidos al único proceso que está ausente en la administración intravenosa: el proceso de absorción. Ya que el verdadero comportamiento farmacocinético es decir: la distribución, la redistribución y la eliminación no son modificados por el proceso de absorción.

#### IX.1.3.3. Desarrollo de modelos farmacocinéticos

En una instancia más avanzada del estudio de la farmacocinética de una molécula el desarrollo de modelos farmacocinéticos presenta tres objetivos fundamentales:

- 1- En una primera instancia, lograr describir el perfil plasmático obtenido tras una administración intravenosa o extravascular.
- 2- En una segunda etapa, explicar los procesos involucrados desde un punto de vista mecanicista en base a la interrelación de los distintos parámetros farmacocinéticos estimados, que si bien no son parámetros fisiológicos, su significado debe interpretado a la luz de los conocimientos de fisiología.
- 3- En una etapa superior, predecir el comportamiento de la molécula ante la modificación de ciertas variables como ser: dosis y/o intervalo entre dosis y modificación de ciertos parámetros como el  $Cl_B$  o el  $V_d$  como en el caso de los estados patológicos.

#### IX.1.3.4. El análisis farmacocinético compartimental y los esquemas terapéuticos

La gran limitante de la modelización farmacocinética lo constituye la enorme cantidad de variables biológicas que intervienen en la cinética de una molécula, lo que da lugar a la variabilidad. En los sistemas físicos, el número de variables que intervienen son perfectamente conocidas y las interrelaciones entre las mismas están bien definidas, es por eso que este tipo de modelos permiten predecir el comportamiento de un sistema con enorme exactitud.

Esto no sucede con los sistemas biológicos, en donde las variables que intervienen y la interrelación entre ellas no son totalmente conocidas lo que da lugar a un elemento que está fuera de nuestro control y que es la variabilidad. Sin embargo una correcta modelización permite predecir el comportamiento farmacocinético de una molécula con un grado de error aceptable, y es así que la modelización interviene en el estudio y desarrollo de los esquemas terapéuticos. En este sentido, sin un conocimiento del  $Cl_B$ , y el  $V_d$  es imposible diseñar un esquema terapéutico racional, especialmente cuando se deben obtener concentraciones plasmáticas efectivas ya preestablecidas y evitar los efectos indeseables originados por

elevadas concentraciones o la falta de eficacia asociada a concentraciones deficientes debidas a subdosificación.

Lo antedicho se ratifica mediante la utilización de los mencionados parámetros farmacocinéticos para el desarrollo de esquemas terapéuticos. Asumiendo que los procesos de absorción y de eliminación son de primer orden, el cálculo de la concentración plasmática promedio cuando se alcanza un estado de equilibrio durante una administración intermitente se estima mediante la siguiente ecuación:

$$\overline{C}_{P(ss)} = \frac{F D}{Cl_B T} \quad \text{Eq.1}$$

donde  $\overline{C}_{P(ss)}$  es la concentración promedio cuando se alcanza el estado de equilibrio durante una administración intermitente y  $T$  es el intervalo entre administraciones. Los demás símbolos fueron explicados anteriormente. Basándonos en la Eq.1. podemos de calcular la dosis para obtener una concentración promedio durante una administración intermitente.

$$D = \frac{\overline{C}_{P(ss)} Cl_B T}{F} \quad \text{Eq.2}$$

La dosis de saturación o de choque para alcanzar la concentración promedio luego de la primera administración durante una administración intermitente se estima por medio de la siguiente ecuación:

$$D_{(sat)} = \frac{C_{p(esp)} V_{ss}}{F} \quad \text{Eq.3}$$

donde  $D_{(sat)}$  es la dosis de saturación, y  $C_{p(esp)}$  es la concentración plasmática esperada.

En conclusión, resulta por demás evidente la importancia de la modelización en el estudio de la farmacocinética de una molécula, ya que para la terapéutica el mero análisis descriptivo no basta, sino que se debe conocer la mecánica de la cinética de una molécula y de esa manera poder llegar predecir su comportamiento en base a las exigencias de la terapéutica.

## **IX.2. FARMACOCINÉTICA DEL RBZ EN BOVINOS Y OVINOS**

La interpretación de los parámetros farmacocinéticos calculados a partir del análisis de los perfiles de concentración plasmática obtenidos tras la administración i.v. del RBZ en ovinos y ovinos, permitió establecer que el fármaco se comporta de manera similar en una y otra especie. En base a eso, los diferentes perfiles plasmáticos hallados tras la administración de diferentes formulaciones por diferentes vías de administración intra e inter especie son originados solamente por diferencias en los valores de  $F$  y por diferencias en el orden y la velocidad del proceso de absorción.

Considerando que en los mencionados experimentos se utilizaron los mismos animales, se acepta que los volúmenes de distribución como los procesos de eliminación ( $k_{10}$ ), distribución ( $k_{12}$ ) y redistribución ( $k_{21}$ ) permanecieron constantes, es decir que la cinética de la molécula no se modifica por el proceso de absorción ni por la biodisponibilidad. Lo anterior fue corroborado al realizar el ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas tras las administraciones i.v., i.r. y s.c. de manera simultánea mediante un análisis compartimental asumiendo la existencia de al menos dos compartimientos necesarios para explicar la farmacocinética de la molécula.

En bovinos, el modelo permitió en las administraciones i.r. la discriminación de un fenómeno de absorción asimilable a un proceso de orden cero, ratificó la función del retículo rumen como un sistema de liberación sostenida de los BZDs administrados por vía i.r. De la misma manera el mismo modelo permitió caracterizar el comportamiento de una formulación inyectable y estimar la velocidad con la que el fármaco presente en solución ingresa a la circulación general, la cual fue asimilable a un proceso de orden cero.

En el caso de los ovinos, la existencia de procesos de absorción de primer orden tanto en las administraciones i.r. como s.c., el modelo fue capaz de estimar las constantes de absorción ( $k_{01}$ ) y de pérdidas ( $k_{00}$ ) desde el sitio de absorción, y a partir de las mismas estimar el valor de  $F$  ( $k_{01}/(k_{00}+k_{01})$ ). En base a lo expuesto, es claro que las diferencias observadas en el comportamiento farmacocinético tras la administración s.c. son consecuencia de diferencias en el comportamiento de una misma formulación inyectable, probablemente debidas a diferencias en la reacción del tejido subcutáneo de las especies tratadas. En las administraciones por la vía i.r., surge como evidente que la fisiología digestiva de ambas especies influye de manera significativa en la biodisponibilidad de este tipo de compuestos y en la cinética de los procesos de absorción.

### **IX.3. COMENTARIOS ACERCA DE LAS HIPÓTESIS**

A manera de epílogo, creemos conveniente a presentar algunos comentarios a cerca de las hipótesis que se plantearon al comienzo del trabajo.

En primer lugar, se planteó la hipótesis de que la persistencia en plasma del RBZ administrado por la vía i.v. es menor a la que se obtiene luego de las administraciones i.r. y s.c.

En el planteo de este supuesto se consideró el efecto reservorio del rumen y por ende que la permanencia del RBZ en plasma estaría condicionada por la duración del proceso de absorción, el que a su vez estaría condicionado por la lentitud con que el RBZ abandonaría el rumen hacia el sitio de absorción en el tracto digestivo posterior. En segundo término, el bajo pH de la solución inyectable nos hizo suponer que en el sitio de inyección se producirían reacciones titulares que retardarían el ingreso del fármaco a la circulación sistémica.

Estos supuestos se corroboraron tras la administración en bovinos del RBZ en solución por vía i.a. la que fue seguida de una rápida absorción, por lo que el tiempo permanencia detectable en plasma fue idéntico al observado tras la vía i.v. (24 hs). Los resultados obtenidos confirman que esta primera hipótesis es válida para las administraciones s.c. en bovinos y ovinos, siendo en estos casos el tiempo de permanencia detectable en plasma de 36h. Para las administraciones intrarruminales del RBZ en suspensión y solución en bovinos el tiempo de permanencia detectable en plasma exhibió el mismo valor.

La segunda hipótesis que se planteó fue que biodisponibilidad del RBZ administrado como solución por la vía s.c. es mayor a la que se obtiene por la vía i.r.

Este supuesto se planteó asumiendo que un fármaco administrado por vía parenteral en forma de solución presenta grandes probabilidades de ser absorbido en su totalidad. Esta hipótesis se corroboró en ovinos. La ausencia aparente de una reacción tisular manifiesta en esta especie nos hace suponer que fue el factor que permitió que el RBZ permaneciera en el sitio de inyección en forma de solución facilitando de esa forma la casi completa absorción del mismo. Este no fue el caso observado en la especie bovina, en la cual la enorme respuesta tisular observada (inflamación y edema) se correspondió con un valor de  $F$  ( $45 \pm 12\%$ ) similar al obtenido tras la administración i.r. del RBZ ya sea como suspensión ( $38 \pm 12\%$ ) o como solución ( $35 \pm 16\%$ )

La tercera hipótesis planteada sugiere que la persistencia en plasma del RBZ administrado por vía s.c. es menor al hallado luego de su administración por vía i.r.

Esta hipótesis no fue confirmada ni en bovinos ni ovinos. En este caso hallamos que sorpresivamente en el caso de los bovinos, la solución inyectable de RBZ se comportó como una formulación de liberación sostenida, siendo el ingreso del fármaco a la circulación general asimilable a un proceso de orden cero, al igual que tras la administración del RBZ por vía i.r. tanto como en forma de solución o suspensión. En este caso el tiempo teórico en el que el proceso de absorción finaliza estuvo determinado por el valor de  $t_{max}$ , el que presentó similares valores en las dos vías de administración mencionadas. En ovinos, los bajos valores de  $F$  obtenidos tras la administración i.r. ( $27 \pm 5.6\%$ ) en contraposición con los elevados valores obtenidos tras la administración s.c. ( $96 \pm 9.5\%$ ) serían la causa de la corta permanencia en plasma de concentraciones detectables.

La cuarta hipótesis planteada propone que la biodisponibilidad y la persistencia del RBZ en plasma luego de su administración s.c. están netamente vinculadas a la formulación del preparado.

Esta última hipótesis se ve claramente corroborada en base a los resultados obtenidos en los diferentes estudios realizados y los conceptos anteriormente expuestos.

#### **IX.4. CONCLUSIÓN FINAL**

En vista de los resultados obtenidos e los experimentos realizados, se ha cumplido el objetivo general de esta tesis doctoral que ha sido el de realizar un estudio farmacocinético del RBZ en las especies rumiantes bovina y ovina por medio del análisis compartimental.

En este sentido se ha obtenido toda la información que es posible generar a partir del análisis compartimental de un perfil plasmático intravenoso. A su vez esta información se ha corroborado a la luz de los hallazgos reportados por diferentes autores. Esto demuestra que un modelo farmacocinético utilizado correctamente es eficiente tanto en la descripción como en la explicación mecánica de la cinética de un medicamento en un organismo viviente.



# REFERENCIAS

---

1. ABRAMSON, F.P. (1981) Two-compartment pharmacokinetic models: computer simulations on their characteristics and clinical consequences. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **70**, 141-146.
2. ALBERS, R. & ROSENBERG D.W. (1991) In vivo intestinal metabolism of 7-ethoxycoumarin in the rat: Production and distribution of phase I and II metabolites in the isolated, perfused intestinal loop. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **109**, 507-513.
3. ALI, N.A.K.; BOGAN, J.A.; MARRINER, S.E. and RICHARDS, J.R. (1986) Pharmacokinetics of triclabendazole alone or in combination with febendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **9**, 442-445.
4. ALI, D.N. and CHICK, B.F. (1992) Effect of feed type on pharmacokinetic disposition of oxfendazole in sheep. *Research in Veterinary Science*. **52**, 382-383.
5. ALI, D. & HENNESSY, D. (1993) The effect of the feed intake on the rate of flow of digesta and the disposition and activity of oxfendazole in sheep. *International Journal of Parasitology*. **23**, 477-484
6. ALI, D. & HENNESSY, D. (1995) The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition of oxfendazole in sheep. *International Journal of Parasitology*. **25**, 63-70.
7. ALVAREZ, L.I.; SANCHEZ, S.F. and LANUSSE, C.E. (1997) Modified plasma and abomasal disposition of albendazole in nematode-infected sheep. *Veterinary Parasitology*. **69**, 241-253.
8. ALVAREZ, L.I.; SANCHEZ, S.F. and LANUSSE, C.E. (1999) In vivo and ex vivo uptake of albendazole and its sulphoxide metabolite by cestode parasites: relationship with their kinetic behaviour in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **22**, 77-86.
9. BAGGOT, J. (1977) *Principles of Drugs Disposition in Domestic Animals*. W.B. Saunders Co. Philadelphia.

10. BAGGOT, J. & McKELLAR, Q. (1994) The absorption, distribution and elimination of anthelmintic drugs: the role of pharmacokinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutics*. **17**, 409-419
11. BALCH, C.C. (1950) Factors affecting the utilization of food by dairy cows. I. The rate of passage of food through the digestive tract. *The British Journal of Nutrition*. **4**, 361-388.
12. BEHM, C.A.; CORNISH, R.A. and BRYANT, C. (1983) Mebendazole concentrations in sheep plasma. *Research in Veterinary Science*. **34**, 37-41.
13. BENET, L.Z. & ZECH, K. (1994) Pharmacokinetics-a relevant factor for the choice of a drug? *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 8 (Suppl. 1): 25-32. Campbell, W. (1990) Benzimidazoles: veterinary uses. *Parasitology Today*. **6**, 130-133.
14. BERETTA, C.; FADINI, L.; MALVISI, J. & MONTESISSA, C. (1987) In vitro febantel transformation by sheep and cattle ruminal fluids and metabolism by hepatic subcellular fractions from different animals species. *Biochemistry & Pharmacology*. **36**, 3107-3114.
15. BOGAN, J.; BENOÎT, E. and DELATOUR, P. (1987) Pharmacokinetics of oxfendazole in goats: a comparison with sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **10**, 305-309.
16. BOXENBAUM, H. (1992) Pharmacokinetics: Philosophy of Modeling. *Drug Metabolism Reviews*. **24**(1), 89-120.
17. BOXENBAUM, H.G.; RIEGELMAN, S. and ELSHOFF, R.M. (1974) Statistical estimations in pharmacokinetics. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. **2**, 123-148.
18. BROWN, H.D.; MATZAK, A.R.; ILVES, I.R.; PETERSON, L.H.; HARRIS, S.A.; SARETT, L.H.; EGERTON, J.R.; YAKSTIS, J.J.; CAMPBELL, W.C. and CUCKLER, A.C. (1961) 2-(4'-thiazolyl)-benzimidazole; a new anthelmintic. *Journal of American Chemistry Society, Antiparasitic drugs IV.*, **83**, 1764.
19. COOKE, R.G. & NICHOLSON, T. (1981) The reticular groove and drug absorption. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **4**, 311-313.

20. CRISTOFOL, C.; VIRKEL, G.; ALVAREZ, L.; SANCHEZ, S.; ARBOIX, M. and LANUSSE, C. (2000) Comparative disposition of ricobendazole enantiomers after intravenous and subcutaneous administration of a racemic formulation to calves. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. **21**, 303-311.
21. CRISTOFOL, C.; VIRKEL, G.; ALVAREZ, L.; SANCHEZ, S.; ARBOIX, M. and LANUSSE, C. (2001) Albendazole sulphoxide enantiomeric ratios in plasma and target tissues after intravenous administration of ricobendazole to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **24**, 117-124.
22. CRUTHERS, L.; HAUGWITZ, R.; HASLANGER, M.; MAURER, B.; WATROUS, J. & LINKEHEIMER, W. (1978) Injectable benzimidazole anthelmintics effective against liver flukes, tapeworms and gastrointestinal roundworms. *Experientia*. **34**, 1574.
23. D'ARGENIO, D. & SCHUMITZKY, A. (1979) A program package for simulation and parameter estimation in pharmacokinetic systems. *Computer Programs in Biomedicine*. **9**, 115-134.
24. DELATOUR, P.; GARNIER, F. and BENOÎT, E. (1983) Kinetics of four metabolites of febantel in cow's milk. *Veterinary Research Communications*. **6**, 37-42.
25. DELATOUR, P.; TIBERGHIE, M.P.; GARNIER, F. and BENOÎT, E. (1985) Comparative pharmacokinetics of febantel and its metabolites in sheep and cattle. *American Journal Veterinary Research*. **46**, 1399-1402.
26. DELATOUR, P. (1987) Pharmacokinetics of albendazole administered by an intraruminal pulse release electronic device in cattle. *Research in Veterinary Science*. **43**, 284-286.
27. DELATOUR, P.; BENOÎT, E.; LECHENET, J. and BESSE, S. (1990) Pharmacokinetics in sheep and cattle of albendazole administered by intraruminal slow release capsule. *Research in Veterinary Science*. **48**, 271-275.
28. DOHERTY, M.M. & PANG K.S. (1997) First-pass effect: significance of the intestine for absorption and metabolism. *Drug and Chemical Toxicology*. **20**, 329-344.
29. DOST, F.H. (1953) *Der Blutspiegel*, Leipzig: Thieme.

30. ERRECALDE, J.O. (1983) Pharmacological studies on aminophylline in the horse. (Tesis), University of Pretoria. Onderstepoort, Republic of South Africa.
31. ERRECALDE, J.O.; MESTORINO, N. and MARIÑO, E.L. (1997) The effects of the method of calculation on the evaluation of the pharmacokinetic parameters of the oxytetracycline after intravenous administration to calves. *Veterinary research Communications*. **21**, 273-281.
32. FETERER, R. and REW, R. (1984) Interaction of liver flukes with albendazole and its metabolites. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **7**, 113-118.
33. FORMENTINI E.A.; MESTORINO O.N. & ERRECALDE J.O. (2001) Pharmacokinetics of ricobendazole in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **24**, 199-202.
34. GALTIER, P.; ALVINERIE, M. & DELATOUR, P. (1986) In vitro sulfoxidation of albendazole by ovine liver microsomes: assay and frequency of various xenobiotics. *American Journal of Veterinary Research*. **46**, 447-450.
35. GALTIER, P.; ALVINERIE, M.; PLUSQUELLEC, Y.; TUFENKJI, A.E. and HOUIN, G. (1991) Decrease in albendazole sulphonation during experimental fasciolosis in sheep. *Xenobiotica*. **7**, 917-924.
36. GALTIER, P.; ALVINERIE, M.; STEIMER, J.; FRENCHETEAU, P.; PLUSQUELLEC, Y. & HOUIN, G. (1991) Simultaneous pharmacokinetic modelling of a drug and two metabolites: application to albendazole in sheep. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **80**, 3-7.
37. GIBALDI, P. & PERRIER, D. (1975) *Pharmacokinetics*, 1st Ed. Marcel Decker Inc. New York.
38. GIBALDI, P. & PERRIER, D. (1982) *Pharmacokinetics*, 2nd Ed. Marcel Decker Inc. New York.
39. GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S. and TAYLOR, P. (1991) *Goodman y Gilman: Las bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 8a Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

40. GYURIK, R.J.; CHOW, A.W.; ZABER, B.; BRUNNER, E.L.; MILLER, J.A.; VILLANI, A.J.; PETKA, L.A. & PARISH, R.C. (1981) Metabolism of albendazole in cattle, sheep, rats and mice. *Drug metabolism and Disposition*. **9**, 503-508.
41. HENNESSY, D.R. (1997) Modifying the formulation or delivery mechanism to increase the activity of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*. **72**, 367-390.
42. HENNESSY, D.R. (1997) Physiology, pharmacology and Parasitology. *International journal of Parasitology*. **27**(2), 145-152.
43. HENNESSY, D. (1989) Exploiting physical and chemical characteristics of anthelmintic drugs to improve efficiency. In: *Veterinary Therapeutics* (ed.): Australian College of Veterinary Scientists. Indooroopilly, Australia, pp. 1-26.
44. HENNESSY, D.R.; STEEL, J.W.; LACEY, E.; EAGLESON, G.K. & PRICHARD, R.K. (1989) The disposition of albendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **12**, 421-429.
45. HENNESSY, D.R.; STEEL, J.W.; PRICHARD, R.K., and LACEY, E. (1992) The effect of co-administration of parbendazole on the disposition of oxfendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **15**, 10-18.
46. HENNESSY, D.R.; SANGSTER, N.G., STEEL, J.W. and COLLINS, G.H. (1993) Comparative kinetic disposition of oxfendazole in sheep and goats before and during infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **16**, 245-253.
47. HENNESSY, D.; STEEL, J. & PRICHARD, R. (1993) Biliary secretion and enter hepatic recycling of febendazole metabolites in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutics*. **12**, 421-429
48. HENNESSY, D.R.; ALI, D.N. and TREMAIN, S. (1994) The partition and fate of soluble and digesta particulate associated oxfendazole and its metabolites in the gastrointestinal tract of sheep. *International Journal of Parasitology*. **24**, 327-333.
49. HOLT, J.P.; RHODE, E.A. & KINES, H. (1968) Ventricular volumes and body weight in mammals. *American Journal of Physiology*. **215**, 704-715.

50. JENG, Y.J. and MARTIN, A. (1985) Residuals in multiple regression analysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **74**(10), 1053-1057.
51. KATZUNG, G.B. (1989) *Basic and Clinical Pharmacology*. Ed. A Lange Medical Book.
52. KOLARS, J.C; STETSON, P.L.; RUSH, B.D.; RUWART, M.J., SCHMIEDLIN-REN, P.; DUELL, E.A.; VOORHEES, J.J. and WATKINS, P.B. (1992) Cyclosporine metabolism by P450III<sub>A</sub> in the rat enterocytes-another determinant of oral bioavailability? *Transplantation*. **3**, 596-602.
53. KNOX, M. & STEEL, J. (1997) Effects of diet and species on the pharmacokinetics of febendazole in cattle. *Veterinary Research Communications*. **21**, 37-43.
54. LABAUNE, J.P. (1987) *Pharmacocinétique: Principes Fondamentaux*. 2e Ed. Masson. Paris.
55. LACEY, E & PRICHARD, R. (1986) Interactions of (BZ) with tubulin from BZ-sensitive and BZ-resistant isolates of *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. **19**, 171-181.
56. LACEY, E. (1988) The role of the citoeskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology*. **18**, 885-986.
57. LACEY, E. (1990) Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*. **6**, 112-115.
58. LANUSSE, C. & PRICHARD, R. (1990) Pharmacokinetic behaviour of netobimin and its metabolites in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **13**, 170-178.
59. LANUSSE, C. & PRICHARD, R. (1991) Enhancement of plasma concentration of albendazole sulphoxide in sheep following coadministration of parenteral netobimin and liver oxidase inhibitors. *Research in Veterinary Science*. **51**, 306-312.
60. LANUSSE, C.; NARE, B.; GASCON, L. & PRICHARD, R. (1991) Bioconversion of netobimin pro-drug by gastrointestinal fluids of ruminants. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. **17**, 121-128.

61. LANUSSE, C.; TRUDEAU, C.; RANJAN, S. & PRICHARD, R.K. (1991) Pharmacokinetic profiles of netobimin metabolites after oral administration of zwitterion and trisamine formulations of netobimin to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **14**, 101-108.
62. LANUSSE, C. & PRICHARD, R. (1992) Methimazole increases the plasma concentrations of the albendazole metabolites of netobimin in sheep. *Biopharmaceutic & Drug Disposition*. **13**, 95-103.
63. LANUSSE, C.; NARE, B.; GASCON, L. & PRICHARD, R. (1992) Metabolism of albendazole and albendazole sulphoxide by ruminal and ileal fluids of sheep and cattle. *Xenobiotica*. **22**, 419-426.
64. LANUSSE, C.; GASCON, L. & PRICHARD, R. (1992) Methimazole-mediated modulation of netobimin biotransformation in sheep: a pharmacokinetic assessment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **15**, 267-274.
65. LANUSSE, C.; GASCON, L. & PRICHARD, R. (1993) Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **16**, 38-47.
66. LANUSSE, C. & PRICHARD, R. (1993) Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Veterinary Parasitology*. **49**, 123-158.
67. LANUSSE, C. (1994) Bases farmacológicas de la terapéutica antihelmíntica. En: Nari, A. y Fiel C. (Eds.): *Enfermedades Parasitarias de Importancia Económica en Bovinos "Bases epidemiológicas para su prevención y control"*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, pp. 33-65
68. LANUSSE, C.; GASCON, L. & PRICHARD, R. (1995) Comparative plasma disposition kinetics of albendazole, febendazole, oxfendazole and their metabolites in adult sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **18**, 196-203.



69. LANUSSE, C.; VIRKEL, G.; SANCHEZ, S.; ALVAREZ, A.; LIFSCHITZ, A.; IMPERIALE, F. & MONFRINOTTI, A. (1998) Ricobendazole kinetics and availability following subcutaneous administration of a novel injectable formulations to calves. *Research in Veterinary Sciences*. **65**, 5-10
70. LAWRENZ, V.A.; EGLIT, S. and KROKER, R. (1992) Investigations on metabolism of albendazole in the isolated perfused gut of rats. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*. **99**, 416-418.
71. LENNERNÄS, H and REGÅRDH, C.G. (1993) Dose-dependent intestinal absorption and significant intestinal excretion (exsorption) of the beta-bloker pafenolol in the rat. *Pharmaceutical Research*. **10**, 727-731.
72. LOO, J.C.K. and RIEGELMAN, S. (1968) New method for calculating the intrinsic absorption rate of the drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **57**, 918-928.
73. LUBEGA, G. & PRICHARD, R. (1991) Interaction of benzimidazole anthelmintics with *Haemonchus contortus* tubulin: binding affinity and anthelmintic efficacy. *Experimental Parasitology*. **73**, 203-213.
74. MARIÑO, E.L.; LASTRA, C.F. y DOMÍNGUEZ-GIL, A. (1987) Estimación paramétrica en sistemas: aplicación en farmacocinética y monitorización de medicamentos en la práctica clínica (I). *Pharmaklinic*. **1**(3), 195-201.
75. MARIÑO, E.L.; LASTRA, C.F. y DOMÍNGUEZ-GIL, A. (1987) Estimación paramétrica en sistemas: aplicación en farmacocinética y monitorización de medicamentos en la práctica clínica (II). *Pharmaklinic*. **2**(1), 47-53.
76. MARRINER, S. & BOGAN, J. (1980) Pharmacokinetics of albendazole in sheep. *American Journal Veterinary Research*. **41**, 1126-1129.
77. MARRINER, S. & BOGAN, J. (1981) Pharmacokinetics of oxfendazole in sheep. *American Journal Veterinary Research*. **42**, 1143-1145.
78. MARRINER, S. & BOGAN, J. (1981) Pharmacokinetics of febendazole in sheep. *American Journal Veterinary Research*. **42**, 1146-1148.

79. MARRINER, S.; BOGAN, J. & VANDAELE, W. (1981) Comparison of the pharmacokinetics of albendazole and its major metabolites after oral administration of albendazole as a suspension and a paste formulation to sheep. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B.* **28**, 19-26.
80. McKELLAR, Q.A. & SCOTT, E. (1990) The benzimidazole anthelmintic agents-a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* **13**, 223-247.
81. McKELLAR, Q.A.; COOP, R.L. and JACKSON, F. (1995) The pharmacokinetics of albendazole metabolites following administration of albendazole, albendazole sulphoxide and netobimin to one-month and eight-month-old sheep. *International Journal of Parasitology.* **25**, 1207-1212.
82. NGOMUO, A.J; MARRINER, S.E. and BOGAN, J.A. (1984) Pharmacokinetic studies of febendazole and oxfendazole in cattle. *Veterinary Research Communications.* **8**, 187-193
83. OUKESSOU, M. & CHKOUNDA, S. (1997) Effect of diet variations on the kinetic disposition of oxfendazole in sheep. *International Journal for Parasitology.* **27**, 1347-1354.
84. PECK, C.C.; SHEINER, L.B. and NICHOLS, A.I. (1984) The problem of choosing weights in nonlinear regression analysis of pharmacokinetic data. *Drug Metabolism Reviews.* **15**(1&2), 133-148.
85. PHILLIPSON, A.T. (1981) Digestión en el rumiante. En: Dukes, H.H. y Swenson, M.J. (ed.): *Fisiología de los Animales Domésticos*. Aguilar, México. 585-586.
86. PLA DELFINA, y OJEDA, A. (1974) *Manual de Iniciación a la Biofarmacia (Farmacocinética Aplicada)*. Ed. Barcelona. Barcelona.
87. PRICHARD, R. & HENNESSY, D. (1981) Effect of oesophageal groove closure on the pharmacokinetic behaviour and efficacy of oxfendazole in sheep. *Research in Veterinary Science.* **30**, 22-27.
88. PRICHARD, R.; STEEL, J.W. & HENNESSY, D.R. (1981) Febendazole and thiabendazole in cattle: partition of gastrointestinal absorption and pharmacokinetic behaviour. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* **4**, 295-304.

89. PRICHARD, R. (1985) Getting anthelmintics to worms: reducing nematode infectation in ruminants. *Progress in Agriculture*. **28**, 72-74.
90. PRICHARD, R., HENNESSY, D.R., STEEL, J.W. & LACEY E. (1985) Metabolite concentrations in plasma following treatment of cattle with five anthelmintics. *Research in Veterinary science*. **39**, 173-178.
91. REDONDO, P.A.; ALVAREZ, J.L.; GARCIA, O.M.; LARRODÉ, O.M.; MERINO, G. and PRIETO, J.G. (1999) Presystemic metabolism of albendazole: experimental evidence of an efflux process of albendazole sulphoxide to intestinal lumen. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **27**, 736-740.
92. ROSENBERGER, G. (1981) *Exploración Clínica de los Bovinos*. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires.
93. ROULAND, Y. (1986) Reduction by gut microflora of animals and man. *Biochemical Pharmacology*. **35**, 27-32.
94. ROWLAND, M. and TOZER, T.N. (1995) *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications*. Williams and Wilkins, Baltimore.
95. SÁNCHEZ, S.; ALVAREZ, L. & LANUSSE, C. (1997) Fasting-induced changes to the pharmacokinetic behaviour of albendazole and its metabolites in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **20**, 38-47.
96. SÁNCHEZ, S.; ALVAREZ, L., PIS, A.; QUIROGA, M. and LANUSSE, C. (1999) Differences in plasma and abomasal kinetics of albendazole and its metabolites in calves grazed on pasture or feed a grain-based diet. *Research in Veterinary Science*. **66**, 223-230.
97. SANGSTER, N.C.; RICKARD, J.M.; HENNESSY, D.R.; STEEL, J.W. and COLLINS, G.H. (1991) Disposition of oxfendazole in goats and efficacy compared with sheep. *Research in Veterinary Science*. **51**, 258-263.
98. SINGH, D.; SANYAL, P.; SWARNKAR, C.; KHAN, F. & BHAGWAN, P. (1999) Influence of the diet type and pretreatment fasting on the disposition kinetics of albendazole in sheep. *Veterinary Research Communications*. **23**, 229-240.

99. SHORT, C.R.; BARKER, S.A.; HSIEH, L.C.; OU, S.P.; McDOWELL, T.; DAVIS, L.E.; NEFF-DAVIS, C.A.; KORITZ, G.; BEVILL, R.F., and MUNSIFF, I.J. (1987) Disposition of febendazole in cattle. *American Journal Veterinary Research*. **48**, 958-961.
100. SORACI, A.L; MESTORINO, N. & ERRECALDE, J.O. (1997) Some pharmacokinetic parameters of oxfendazole in sheep. *Veterinary Research Communications*. **21**, 283-287.
101. SOUHAILI-EL AMRI, H.; FARGETTON, X.; DELATOUR, P. & BATT, A. (1987) Sulphoxidation of albendazole by the FAD-containing and Cytochrome P-450 dependent mono-oxygenases from pig liver microsomes. *Xenobiotica*. **17**, 1159-1168.
102. SWENSON, M.J. (1981) La sangre: propiedades fisiológicas y constituyentes celulares y químicos. En: Dukes, H.H. y Swenson, M.J. (ed.): *Fisiología de los Animales Domésticos*. Aguilar, México. 70-71.
103. THEODORIDES, V.; GYURIK, R.; KINGSBURY, W. & PARISH, R. (1976) Anthelmintic activity of albendazole against liver flukes, tapeworms, lung and gastrointestinal roundworms. *Experientia*. **32**, 702-703.
104. TOWNSEND, L.B., and WISE, S.D. (1990) The synthesis and chemistry of certain anthelmintic benzimidazole. *Parasitology Today*. **6**, 107-112.
105. VAN DEN BOSSCHE, H. (1985) Pharmacology of anthelmintics. In: *Chemotherapy of Gastrointestinal Helminths* (Edited by Van den Bossche, H., Thienpont, D. & Janssens, G.). Springer, Berlin.
106. WAGNER, J. & NELSON, E. (1963) Per cent absorbed versus time from blood levels and urinary excretion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **52**, 610-611.
107. WAGNER, J.G. and NELSON, E. (1964) Kinetic analysis for calculating the intrinsic absorption rate of drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **53**, 1392-1403.
108. WATKINS, P.B. (1992) Drug metabolism by cytochromes P450 in the liver and small bowel. *Gastroenterology Clinics of North America*. **3**, 511-526.

109. WEISS, M. (1988) A general model of metabolite kinetics following intravenous and oral administration of the parent drug. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. **9**, 159-176.
110. WEISS, M. (1990) Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clinical Pharmacokinetics*. **18**(5), 419-422.
111. YAMAOKA, K.; NAKAGAWA, T. & UNO, T. (1978) Applications of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. **6**, 165-175.
112. YASUHARA, M.; KUROSAKI, Y; KIMURA, T. and SEZAKI, H. (1984) Drug elimination function of the rat small intestine: metabolism and intraluminal excretion. *Biochemical Pharmacology*. **20**, 3131-3136.