CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 *Farmacocinética*

La Farmacocinética es la rama de la Farmacología que estudia el curso del medicamento en el organismo en función del tiempo. Forman parte de ella, la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación de los fármacos y determina los *siguientes parámetros:* Vida Media ($T_{1/2}$), Volumen de Distribución (Vd), Constante de Absorción (Ka), Constante de eliminación (Ke), Biodisponibilidad (% de absorción), que junto con la dosis, rigen la concentración de un medicamento, en el órgano efector, y en consecuencia, la intensidad del efecto en función del tiempo.[1,3]

Su estudio es la base para el desarrollo de formas óptimas de administración, el establecimiento de pautas de dosificación y la comprensión de muchas interacciones.

La Farmacocinética requiere para la expresión conceptual de sus diversos elementos, de símbolos, palabras y ecuaciones matemáticas con los que se puede predecir el comportamiento temporal de los medicamentos en el organismo y la magnitud del efecto. [1,3]

Los conceptos farmacocinéticos se expresan con palabras de uso universal, que no varían sensiblemente entre los distintos idiomas y no es necesario un conocimiento particular de matemáticas para entender dichos conceptos.

Los símbolos tienen un significado definido y se usan también de manera universal.

Las ecuaciones matemáticas permiten el cálculo de las concentraciones en el organismo, y muestran las relaciones que existen entre las distintas variables. [1,2]

Absorción

La absorción es el proceso por el cual un fármaco atraviesa membranas para penetrar en el organismo. En el que participan tres elementos: el medicamento, el medio y la membrana.

La inmensa mayoría de los medicamentos son ácidos o bases débiles, lo cual significa que se encuentran parcialmente ionizados y en equilibrio constante la fracción ionizada con la no ionizada. El tamaño de dichas fracciones depende del pKa del fármaco y pH del medio, según se deriva de la expresión de Henderson-Hasselbach.[4]

$$HA \Leftrightarrow H^+ + A^-$$

y

$$\log\left(\frac{\text{forma protonada}}{\text{forma no protonada}}\right) = pKa - pH$$

La expresión de equilibrio constante significa que cualquier cambio que hubiere entre las fracciones llevaría de inmediato al equilibrio entre ellas.

El término "Medio" expresa el ambiente que rodea al fármaco, el cual puede ser intracelular o extracelular y está constituido por lo menos por agua, lípidos, proteínas, sales e hidrogeniones. Estos últimos determinan el pH del medio y por lo tanto de nuevo el tamaño de las fracciones en equilibrio (fracción ionizada y no ionizada).[2,5]

La membrana es una estructura que aísla componentes vitales para la célula (núcleo, mitocondrias, peroxisomas, etc.) del medio extracelular. La membrana se describe clásicamente como una doble capa de lípidos sostenida por proteínas, que le confieren por la magnitud de sus moléculas, una presencia proteica predominante en las superficies externa e interna de la membrana.[1,2,5] La constitución particular de las proteínas (aminoácidos ácidos y básicos), mas la presencia de lípidos le confieren a la membrana la particularidad de ser semipermeable, ya que deja pasar a través de ella solo

a la fracción no ionizada, a sustancias liposolubles y a partículas de un diámetro menor a 8 Å(poros).[2,6]

La fracción ionizada no atraviesa membranas, pero tan pronto como una parte de la fracción no ionizada ha penetrado la membrana, se restablece el equilibrio entre las fracciones y ocurre un flujo del fármaco que tiende a ser continuo hacia el interior de la membrana, de tal manera que el gerundio seria la expresión idiomática más propia para la Farmacocinética, ya que la absorción como las otras partes de ella son fenómenos que tienden al infinito.

El fenómeno de absorción puede darse de dos maneras: con o sin consumo de energía. Cuando se requiere energía, ésta se aporta a una tasa constante (cinética de orden 0) y cuando no se consume energía, el fenómeno ocurre a favor de un gradiente de concentración (cinética de primer orden).

La velocidad de absorción de un fármaco es directamente proporcional a la superficie de la membrana y al tiempo de permanencia frente a ella e inversamente proporcional al espesor de la membrana, multiplicada por el diferencial de concentración o la tasa de energía disponible (principio de Fick).[5]

$$\frac{dn}{dt} = -D \bullet a \bullet \frac{dc}{dx}$$

donde el cociente diferencial **dn/dt** describe la velocidad de decremento del numero de partículas en un sitio determinado de mayor concentración. El coeficiente de difusión **D** es el tamaño específico de la sustancia en relación a la unidad de medida cm^2/s. **a** es la superficie a ser atravesada. **dc** es el diferencial de la concentración y **dx** es el diferencial de la vía de difusión

Adicionalmente, de manera práctica, la vía de administración y diversos factores, entre otros la velocidad de la desintegración y de disolución (si el fármaco ha sido administrado en forma sólida), la concentración de fármaco, el flujo sanguíneo regional en el sitio de absorción, también participan en el fenómeno.

Generalmente la absorción de los fármacos sigue una cinética de primer orden.[2]

Agonista

Un agonista es un fármaco o una sustancia endógena que produce una reacción biológica claramente definida. Se considera que la magnitud de la respuesta es directamente proporcional a la ocupación de los receptores por las moléculas de un agonista determinado. La respuesta observada es una relación concordante con la concentración plasmática. Para fines prácticos, el logaritmo de la concentración plasmática del agonista es directamente proporcional al efecto entre el 20 % y el 80 % de la respuesta máxima. [1,4,5,6]

Biodisponibilidad

La biodisponibilidad es un parámetro que indica la velocidad y la proporción de la absorción del fármaco administrado, a partir de una forma farmacéutica particular. La biodisponibilidad sistémica (θ) se describe mediante la determinación de la cantidad relativa de una dosis administrada que alcanza la circulación general. [7]

Dosis

Del gr. *dosein* (dar) [8] se entiende en el lenguaje farmacocinético como la $\int c \bullet t$; que actualmente se denomina: Área Bajo la Curva (AUC). La concentración máxima de dicha AUC ($C_{máx.}$), y el momento ($t_{máx.}$) en el que ésta es alcanzada, son también parámetros farmacocinéticos de importancia.[5,6]

En general, con los fármacos administrados a dosis múltiples, la cantidad total del fármaco que se ha absorbido (AUC) suele ser más importante que su velocidad de absorción. Por otra parte los valores de $t_{máx.}$ y de $C_{máx.}$ pueden ser críticos para los fármacos administrados a dosis única o para los fármacos cuya acción depende de la obtención rápida de concentraciones plasmáticas e hísticas elevadas.[2,4,5,6]

Además de depender de la formulación y presentación farmacéutica de un medicamento, la biodisponibilidad sistémica también depende del metabolismo en la pared intestinal o en el hígado o en ambos puntos, antes de que el fármaco llegue a la circulación sistémica (efecto de primer paso).[7]

Distribución

La distribución es la dispersión de un fármaco en los tejidos orgánicos. El grado y el tipo de distribución dependen del peso molecular, el pKa, liposolubilidad del fármaco, la fijación a las proteínas plasmáticas e hísticas, la eventual existencia de procesos de transporte activo, el flujo sanguíneo regional y del tipo de farmacocinética compartimental que tenga el fármaco.[7]

Volumen de distribución

El volumen de distribución (Vd) es el volumen aparente de líquido en el que el fármaco parece distribuirse con una concentración igual a la plasmática. El cálculo del Vd se puede hacer solo si el fármaco ha sido administrado por vía endovenosa o si se conoce su biodisponibilidad sistémica, ya que solo en estas circunstancias se puede conocer exactamente la cantidad de fármaco presente en el organismo.

$$Vd = \frac{\text{cantidad de fármaco administrado}}{\text{concentración de fármaco en plasma}} = \frac{F \bullet D}{kel \bullet AUC_{0\to\infty}}$$

en donde: F = fracción de la dosis absorbida, D = dosis, kel = constante de eliminación $AUC_{0\to\infty}$ = área bajo la curva de concentraciones plasmáticas entre el momento de la administración del cero al infinito. [1]

Área Bajo la Curva (AUC).

Si se determinan con cierta frecuencia las concentraciones plasmáticas de un fármaco después de su administración, se obtiene un perfil de los valores de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo. A esto se le llama Área Bajo la Curva (AUC).

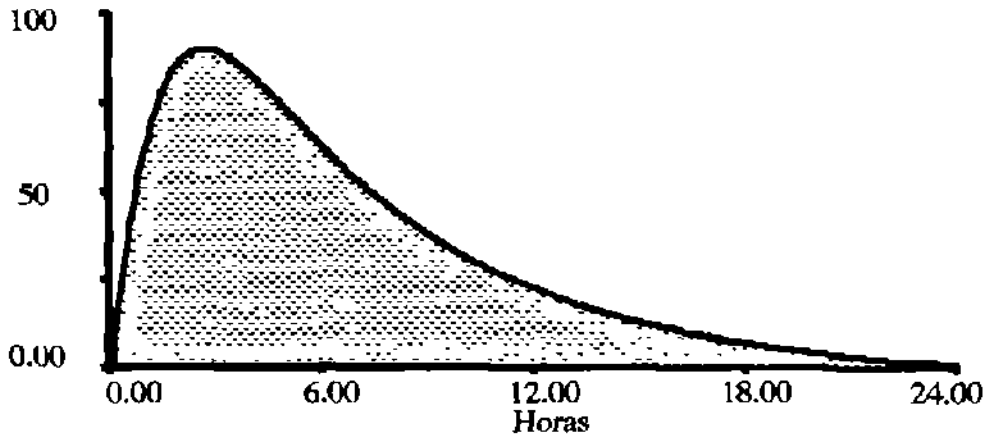


Fig. # 1 Área Bajo la Curva (AUC) de un medicamento que ha alcanzado la concentración plasmática a través de un fenómeno de absorción. El área sombreada corresponde al AUC o sea $\int C \times T$. Trazada con el programa de Stella ® [11]

La AUC se expresa en unidades de concentración x tiempo (por ejemplo, $\mu g \cdot ml^{-1} \cdot min.$, o $mg \cdot l^{-1} \cdot horas$) y puede ser determinada por diversos métodos: mediante un planímetro, por el método de <<cortar y pesar>>, en el que se recorta la superficie de la curva dibujada en un eje de coordenadas con escalas aritméticas y se pesa; por la regla trapezoidal y por integración. Se debe definir el intervalo durante el cual se mide el

AUC, por ejemplo, $AUC_{0\to t}$ área bajo la curva del 0 a la última determinación, $AUC_{0\to\infty}$,área bajo la curva del 0 al infinito.

El valor de la AUC puede ser utilizado para comparar la biodisponibilidad de dos o más formas farmacéuticas de un mismo fármaco. El valor de $AUC_{0\to\infty}$ puede ser utilizado para determinar el volumen de distribución de un fármaco después de su administración intravenosa o por otras vías, cuando se conoce con precisión la biodisponibilidad.

Metabolismo

El metabolismo es el proceso de transformación biológica de un fármaco o de una sustancia endógena. Generalmente, los procesos metabólicos tienen lugar en el hígado, pero pueden llevarse a cabo en el riñón, plasma o en otros tejidos. Los metabolitos pueden ser activos o inactivos, tóxicos o no.[9,10]

Cinética de Michaelis-Menten

El trasporte activo y los procesos metabólicos en los que interviene una enzima presentan una capacidad limitada para la cantidad de substrato que pueden tratar. La velocidad máxima del sistema (V_m) depende de cada enzima o de cada sistema de transporte.

La velocidad de la disminución de la concentración de un fármaco (–dC/dt) es directamente proporcional a la concentración (C) del fármaco y a la velocidad máxima del sistema (V_m) según la ecuación de Michaelis-Menten:

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{V_m C}{K_m + C}$$

donde K_m es la constante de Michaelis-Menten.

Cinética de orden cero

(de capacidad limitada)

Muchos de los sistemas enzimáticos del organismo, como los procesos metabólicos, la excreción renal y biliar; y la absorción gastrointestinal activa y facilitada, son procesos saturables; pero aunque habitualmente, la concentración plasmática de un fármaco se sitúa dentro de la capacidad de un sistema dado, no siempre ocurre así. Puede ocurrir en algunos casos que exista transición de la cinética de primer orden a la de orden cero. En estas circunstancias, la relación constante que existe entre la dosis del fármaco y la concentración plasmática se pierde y el nivel plasmático aumenta de manera desproporcionada al aumentar la dosis. Esto se debe, a medida que los sistemas enzimáticos se saturan, a un aumento progresivamente menor de la velocidad de eliminación, en relación a un aumento de la concentración del substrato (Michaelis-Menten). [12,13]

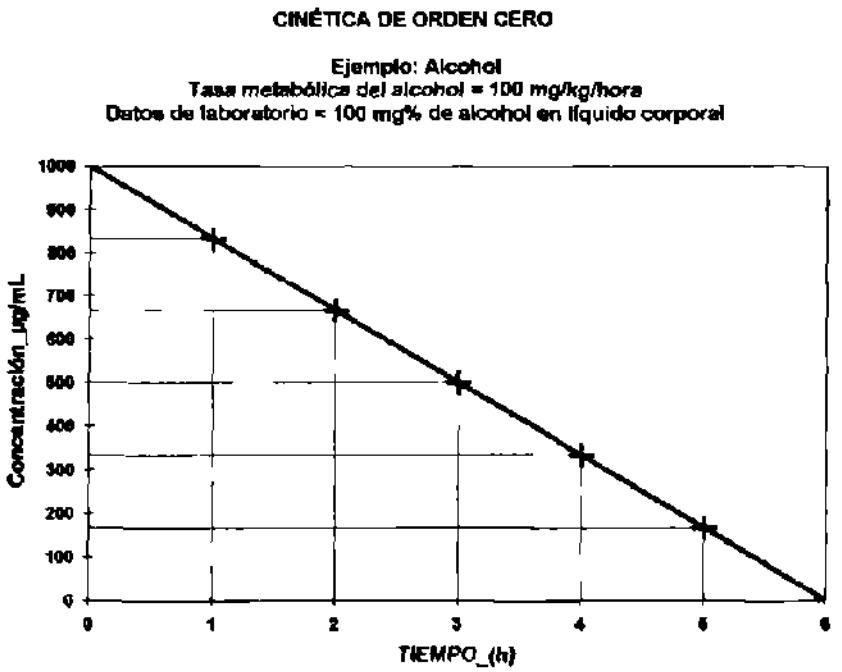


Fig.# 2 Trazada con el programa Stella® [11]

Cinética de primer orden

La transferencia de una fracción constante (independiente de la concentración previa), de un fármaco o de un substrato por unidad de tiempo se conoce como cinética de primer orden. Ejemplos de está son la absorción pasiva y la filtración glomerular. Así pues, la velocidad de transferencia es directamente proporcional a un gradiente de concentración.

El metabolismo, la secreción tubular renal y la secreción biliar son procesos activos, que se describen clásicamente con la cinética de Michaelis-Menten. Sin embargo, para fines prácticos, estos procesos pueden seguir una cinética de primer orden en el margen terapéutico de la mayoría de los fármacos. [13,14]

$$\frac{dA}{dt} = -kA$$

En donde: A = cantidad de fármaco k = constante de velocidad en proceso

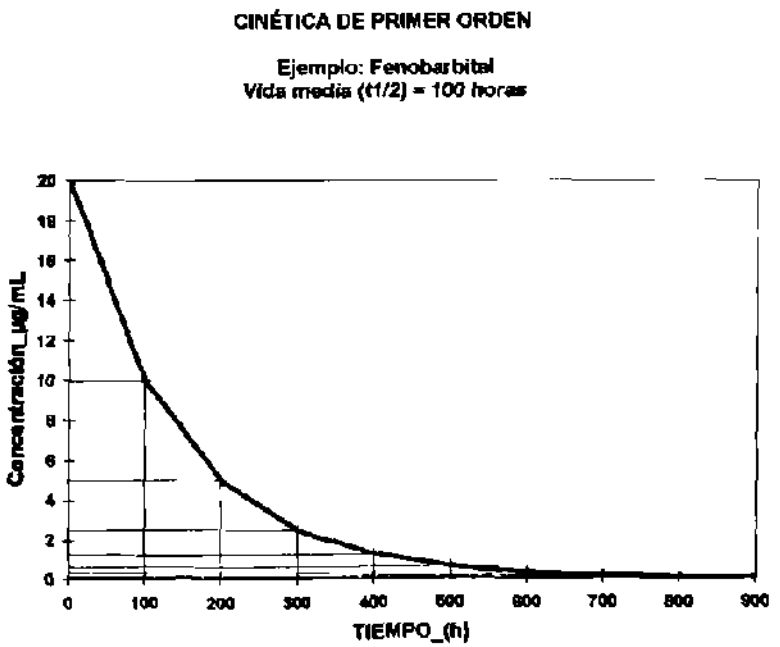


Fig. # 3 Trazada con el programa Stella® [11]

La integración y la transformación de esta expresión da lugar a la siguiente ecuación, en la que se relacionan la cantidad del fármaco en un momento t (A_t) y la cantidad inicial (A_0):

$$At = Aoe^{-kt}$$

Ya que el objetivo de la farmacocinética es el describir el curso temporal de las concentraciones del medicamento en el organismo, y de ello desarrollar propuestas de dosificación, se han descrito a la fecha tres modelos para conceptualizar dicho curso. Estos son: la Farmacocinética de Modelo Compartimental; la Farmacocinética del Momento Estadístico y la Farmacocinética del Modelo Fisiológico. [5]

La Farmacocinética del Momento Estadístico y la Farmacocinética en Modelo Fisiológico presuponen que todos los procesos a los que se encuentra el fármaco son de primer orden [5]; por lo que estos modelos se excluyen de esta tesis.

El modelo compartimental puede ser de uno, dos o tres compartimientos. Se le llama modelo mono-compartimental a aquel cuyas fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas se acompaña simultáneamente de fluctuaciones en la misma magnitud en las concentraciones tisulares; y de dos o tres compartimientos cuando las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas y las tisulares no guardan una correlación temporal directa.

En un modelo mono-compartimental es posible relacionar la concentración en un momento t (C_t) con la concentración inicial (C_0) dividiendo ambos lados de la ecuación por el volumen de distribución.

Esta ecuación puede ser útil para predecir los cambios de concentración en función del tiempo.

Cuando se representa gráficamente un proceso de primer orden, existe una relación lineal con una pendiente k entre el tiempo y el logaritmo de las concentraciones o de las cantidades.

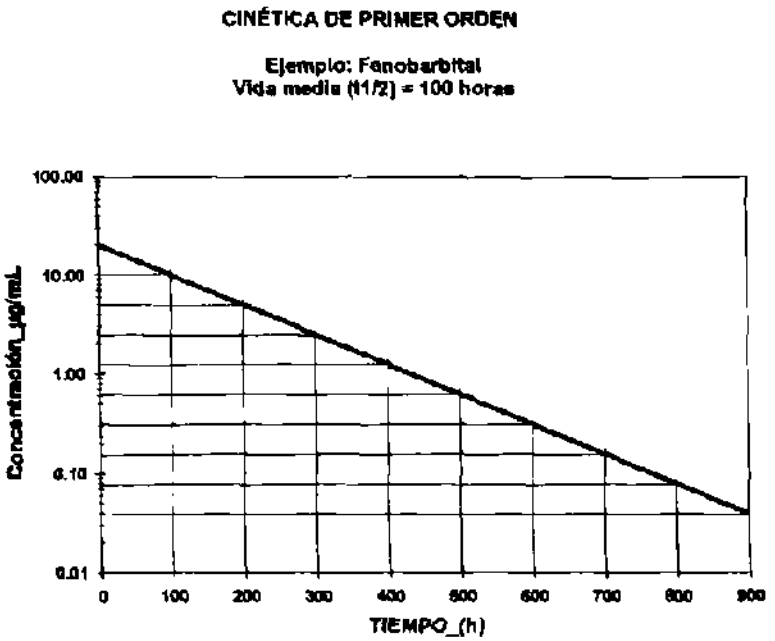


Fig. # 4 Transformación logarítmica de las concentraciones plasmáticas.

Trazada con el programa Stella® [11]

Se puede ver un ejemplo sencillo de un proceso de primer orden en la disminución observada de la concentración de un fármaco con una vida de 100 horas. La concentración inicial de 20 μg/mL disminuye a 10 μg/mL al cabo de 100 horas, de 5 μg/mL a las 200 horas, 2.5 μg/mL a las 300 horas. Es claro que la reducción del nivel es numéricamente inferior en cada intervalo sucesivo a pesar de que la fracción reducida se mantiene constante.

Compartimiento

Este es un concepto más matemático que fisiológico, y se utiliza para describir las características de la distribución de un fármaco en el organismo.

El modelo farmacocinético más sencillo tiene sólo un compartimiento (Fig. # 5), lo que indica que el fármaco presente en el plasma alcanza un equilibrio instantáneo con los tejidos en los que penetra.

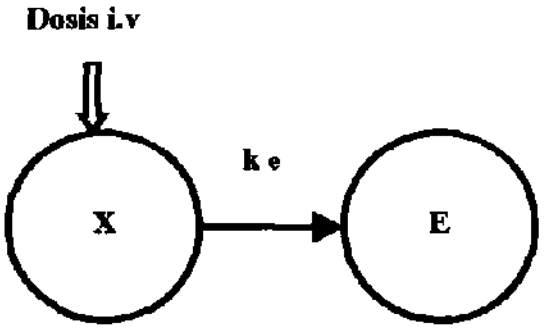


Fig. # 5 Modelo de un compartimiento donde D la dosis, X es el medicamento en el organismo, E es el medicamento eliminado, y ke la constante de eliminación. [5]

El modelo bicompartimental es conveniente para la descripción del comportamiento cinético de muchos fármacos. Después de su administración intravenosa se observa una disminución bifásica de la concentración plasmática. En términos simples, puede considerarse que el compartimiento central representa el plasma y otros tejidos en los que el fármaco penetra con rapidez, mientras que el compartimiento periférico estaría formado por otros tejidos en los que el fármaco penetra de una forma mucho más lenta.

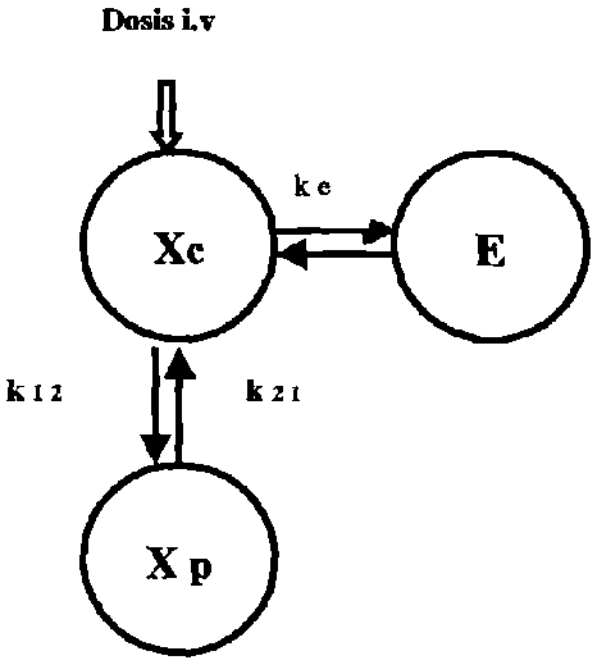


Fig. # 6 Modelo de dos compartimientos donde D es la dosis, Xc es compartimiento central, Xp es compartimiento profundo, E es la eliminación, k12 es constante de transferencia del compartimiento central al profundo, k 21 constante de transferencia del compartimiento profundo al central y ke constante de eliminación. [5]

El término de compartimiento profundo indica un tejido o tejidos en los que el fármaco penetra lentamente en un modelo multicompartimental y a partir del cual también tarda en salir durante la fase de eliminación.

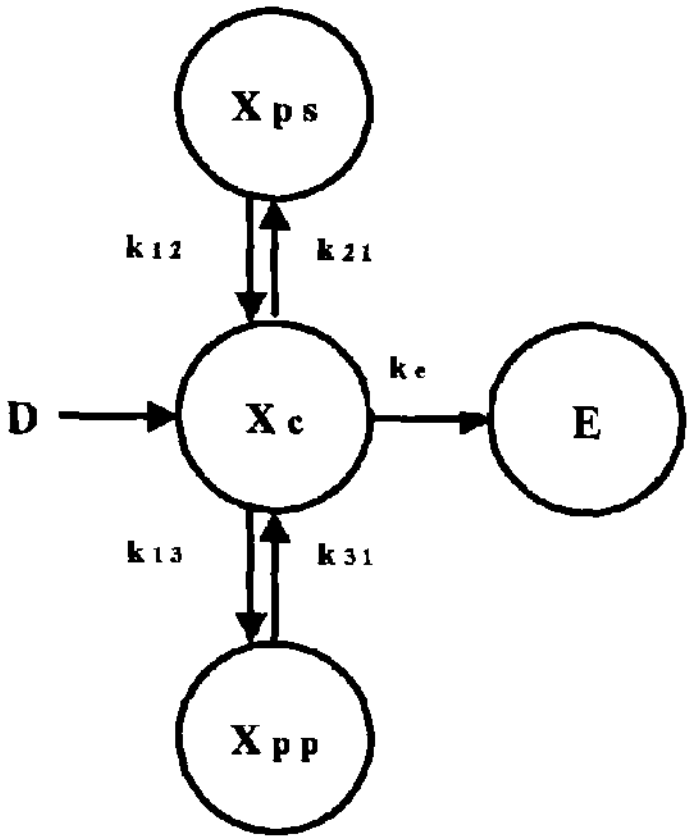


Fig. # 7 Modelo de tres compartimientos donde D es la dosis, Xc es medicamento en compartimiento central, X p s el compartimiento periférico superficial, X p p es el compartimiento periférico profundo, E es eliminación, ke la constante de eliminación, k12 y k21 constantes de transferencia entre el compartimiento central y el periférico superficial y k13 y k 31 constantes de transferencia entre el compartimiento central y el periférico profundo. [5]

$C_{máx.}$

$C_{máx.}$ es la concentración plasmática máxima alcanzada de un fármaco, después de su administración. Este término generalmente requiere referir dicha concentración a la dosis administrada, vía de administración, número de dosis administradas y tiempo transcurrido después de la dosis previa. $C_{1\ max}$ es la concentración plasmática máxima alcanzada después de la primera dosis. $C_{\infty\ max}$ es la concentración máxima en equilibrio. [13,16]

Eficacia

La capacidad de un fármaco para realizar una acción terapéutica determinada se denomina eficacia. Se mide como la máxima respuesta obtenible. Esta puede ser limitada, bien por el aplanamiento de la curva dosis-respuesta o bien por la aparición de efectos indeseables intolerables. La eficacia depende de las velocidades de absorción y de la eliminación, de la afinidad de un fármaco por el receptor sobre el que actúa y de su capacidad para producir una respuesta farmacológica en ese receptor. [13,14,15]

Eliminación

La eliminación es la suma de todos los procesos que terminan con la presencia de un fármaco en el organismo. Los fármacos son eliminados del organismo en forma inalterada y/o en forma de metabolitos. En general, los compuestos más polares o altamente ionizados, que son hidrosolubles, son eliminados en forma relativamente

inalterada. Los fármacos menos polares, liposolubles, no son excretados con facilidad debido a la reabsorción desde el túbulo renal hacia el plasma sanguíneo a través del epitelio tubular renal.

Generalmente la eliminación se caracteriza mediante la constante de eliminación (K o k_{el}), que es la suma de las constantes de cada uno de los procesos metabólicos y excretorios que actúan en el organismo. El tiempo que tarda en caer a la mitad la concentración plasmática se conoce con el término de vida media de eliminación ($T_{1/2}$); la cual está en relación con la constante de eliminación según la siguiente ecuación:

$$K_{el} = \frac{\ln 2}{t\,1/2} = \frac{0.693}{t\,1/2}$$

O bien

$$t\,1/2 = \frac{0.693}{K_{el}}$$

En general la vida media terminal y la constante de eliminación se determinan a partir de una representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo, preferentemente después de la administración intravenosa, de manera que se evita la influencia de la absorción. [14,15,16]

Vida media: fases α y β

Cuando se grafica el logaritmo de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo de un fármaco administrado por vía endovenosa cuya cinética se adapte a un modelo bicompartimental, la curva resultante tiene dos componentes claramente

definidos. Después de la distribución, la curva se transforma en una fase más lenta, ß, o de eliminación irreversible de un fármaco a partir del compartimiento central. La vida media ß se define como:

$$t\,\tfrac{1}{2} = \frac{\ln 2}{\beta} = \frac{0.693}{\beta}$$

En donde ß = pendiente de la curva. Las unidades de ß son recíprocas de tiempo, por ejemplo $hora^{-1}$.

La línea descrita por la fase terminal de eliminación o fase ß puede ser extrapolada hasta el valor de tiempo cero. Difiere claramente de las concentraciones observadas durante el período de distribución. La sustracción de los puntos de la línea extrapolada de los verdaderamente observados es un medio de valorar esta fase de distribución. (Fig. # 3)

1.2 T-514 del género *Karwinskia*

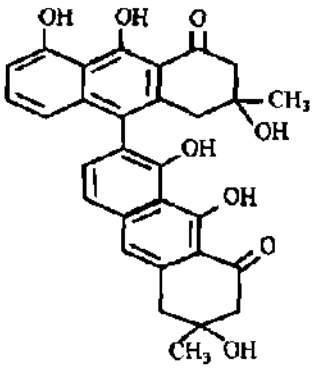
La T-514 es una de las antracenonas diméricas extraída de las plantas del género *Karwinskia* que pertenecen a las plantas de la familia de las *Rhamnaceas*, distribuidas prácticamente en todo el territorio mexicano, en el suroeste de los Estados Unidos de Norteamérica y en parte de Centro América. [17]

La *Karwinskia humboldtiana* fue descrita por primera vez en el siglo XVIII por el sacerdote Jesuita Francisco Javier Clavijero en el libro "Historia de la Antigua o Baja California" como una planta tóxica. El mismo autor sugiere que la toxicidad se encuentra en el endocarpio (semilla) lo que ha sido confirmado en épocas recientes. [18]

Desde la publicación de Clavijero han aparecido numerosos reportes de intoxicación con *K. humboldtiana* con casos de evolución fatal donde predomina un cuadro de parálisis flácida ascendente y progresiva. Pero en otras ocasiones, principalmente en los casos de evolución fatal, la sintomatología predominante es un cuadro de insuficiencia hepática y pulmonar agudas graves. [17,19]

En 1975 Dreyer y cols. aislaron del endocarpio de la *Karwinskia humboldtiana* cuatro compuestos antracenónicos diméricos a los que llamaron por su peso molecular T-496, T-514, T-516 y T-544; de los cuales se han publicado múltiples trabajos científicos sobre sus efectos tóxicos. [17,19,20,21,22,23] De estos efectos tóxicos, llamo la atención: el claro efecto citotóxico y lo empinado de las curvas de letalidad, cuando se

determinó la DL50%; por lo que se planteó la hipótesis de que la T-514 (Fig. # 8) pudiera tener toxicidad selectiva entre células de origen maligno y células normales. [17]



T-514

Fig. # 8 Estructura química de la T-514

Hecho que, posteriormente ha sido demostrado en líneas celulares benignas y malignas de pulmón, hígado y colon. Al comparar los resultados obtenidos con este compuesto con otros agentes antineoplásicos como la Vincristina, 5-Fluoruracilo, Doxorrubicina, Epidoxorrubicina y Mitomicina, se observó un mayor Índice Terapéutico para la T-514, lo cual hizo suponer que esta sustancia podría ser un potencial medicamento antineoplásico.

Lo anterior ha sido motivo para obtener una patente otorgada por la Comunidad Económica Europea en 1995, así como, por los Estados Unidos de Norteamérica y Japón en 1996 y 1997 respectivamente. Y posteriormente por Canadá, Corea y México. [24,25,26,27,28,29]

Posteriormente se encontró la toxicidad selectiva de la T-514 reportada por Piñeyro L y cols. en otras 10 líneas celulares, todo esto en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León,() y en la Universidad de Friburgo donde se demostró marcada actividad antineoplásica en 29 de 40 líneas tumorales. En la misma Universidad, se encontró una disminución notoria en el crecimiento de tumores humanos transplantados en ratones atímicos, cuando se inyectó la T-514 en forma intratumoral, más no fue significativo el efecto cuando se hizo por vía sistémica. Esto se ha corroborado en estudios *in vitro* e *in vivo* realizados en el National Cancer Institute (NCI) en un panel de 60 líneas celulares de origen neoplásico. [30,31]

Con el protocolo I 1/15 inscrito en la subdirección de Investigación y Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina de la UANL, se lleva a cabo, con resultados positivos, en conjunto con el Departamento de Oncología del Hospital Universitario, estudios preliminares de fase clínica 1 en pacientes voluntarios con carcinomas terminales. Estos resultados han mostrado básicamente interrupción en el crecimiento del tumor, supresión del dolor existente y prolongación notoria de la sobrevida. [32]

En relación al posible mecanismo de acción de la T-514, Sepúlveda y cols. han reportado que ésta produce una marcada disminución en el número de peroxisomas de hepatocitos de rata y de mono. Adicionalmente, los mismos autores demostraron en estudios efectuados en levaduras metilotróficas (Candida boidinii y Hansenula polymorpha), que la T-514 afecta de manera selectiva e irreversible la integridad de la

membrana peroxisomal, lo que motivo a los investigadores a renombrar a la T-514 como Peroxisomicina A1 donde la letra A y el número 1 provienen de la nomenclatura para estereoisómeros de esta naturaleza establecida por Steglich y Gill. [30,31,33]

1.3 Estudio de Farmacocinética de fármacos en desarrollo

(Etapas preclínica y clínica)

Cuando una molécula nueva es sintetizada o extraída de alguna fuente natural como es el caso de la T-514, le siguen un conjunto de estudios de laboratorio (físico-químicos, toxicológicos, farmacológicos) conocidos como etapa preclínica y la investigación en humanos como etapa clínica dividida en cuatro fases. [35] En la etapa preclínica, Bermúdez y cols. [36] realizaron los estudios de toxicidad aguda (dosis letal 50 o dosis a la que muere el 50% de una población) en distintas especies animales (ratón, rata, coballo, hámster y macaco). Ha quedado pendiente un procedimiento para determinar la dosis efectiva 50 o DE 50 (dosis que genera el efecto terapéutico al 50% de la población) y correlacionarlo con la dosis letal 50 o DL 50. El cociente: DL 50/ DE 50 se conoce como índice terapéutico o el margen de seguridad. Un fármaco es más seguro cuanto mayor sea su índice terapéutico. [37,38]

En la elección de un medicamento importa conocer además, del efecto cualitativo de la sustancia, la correlación dosis-efecto, la vía y la forma de administración. Esta dosis debe ser tal, que nos permita mantener una concentración terapéutica por un tiempo dado y que a la vez no llegue a concentraciones tóxicas o a concentraciones no efectivas. [38,39,40]

En consecuencia tendríamos que contestar las siguientes preguntas.

¿Qué dosis debe recibir el paciente?

¿Qué forma y vía de administración es la mas adecuada?

¿Cuál es el esquema de dosificación optimo en la terapéutica?

Sabemos también que para que un fármaco ejerza sus efectos debe entrar en contacto con el órgano efector, que en caso de la quimioterapia de las neoplasias es el tumor mismo y para esto sería ideal que el fármaco se concentrara selectivamente en el tumor y no en los tejidos vecinos, eventualidad poco probable de que se de *ad integrum*.

Por ello, el conocimiento farmacocinético no solo nos proporciona elementos de juicio para alcanzar la máxima concentración en el sitio deseado, sino también para evitar concentraciones peligrosas en sitios no deseados.

Habitualmente las determinaciones cuantitativas del medicamento y de sus metabolitos en el organismo se llevan a cabo, por su mayor facilidad de obtención, en sangre y orina, aunque también se pueden investigar con objetivos farmacocinéticos otros líquidos corporales como saliva, bilis, liquido céfalo-raquídeo, líquido articular, etc. [5,41]

Como ya se ha mencionado, se han desarrollado distintos modelos para la comprensión de la Farmacocinética, de los cuales se eligió el modelo de compartimientos, porque no presupone que se trate de Farmacocinética lineal. [5]

Independientemente del modelo utilizado, se deben determinar los siguientes parámetros :

Vida media ($T_{1/2}$).

Volumen de distribución (Vd).

Depuración total y parcial (Cltot; Clren; Clmet ;Clbil).

Biodisponibilidad.

Algunos de estos parámetros fueron determinados de manera preliminar por Viader y cols., en el conejo y en pacientes (de vida media de 3.4 horas y un volumen de distribución de 5.6 l/Kg). [42]

Al margen de lo anterior, resulta de interés que los parámetros mencionados pueden variar por diversos factores como son: la especie; la raza; la edad; el sexo; el peso y la talla; la actividad física; interacciones con alimentos y con medicamentos; la hora del día en que se administra el medicamento (ritmo circadiano en la Farmacocinética); y naturalmente con la enfermedad, la cual de manera obvia puede modificar todos los parámetros mencionados.

Si todos estos factores son considerados en forma óptima, y se corroboran las concentraciones plasmáticas, es posible para un paciente determinado, alcanzar las concentraciones deseadas en el órgano blanco.

Aun más, es de importancia señalar que existe una correlación entre la concentración plasmática o del líquido investigado y el efecto terapéutico (correlación dosis efecto); y bajo el conocimiento de tales correlaciones farmacocinéticas y la información farmacodinámica, podrá predecirse que concentración plasmática producirá un particular efecto terapéutico o tóxico.

La instauración de tales correlaciones se acompaña ocasionalmente de dificultades, ya que a veces es difícil el cuantificar el llamado efecto terapéutico. Sin embargo, este no es el caso de la quimioterapia de las neoplasias, donde los criterios de curación se encuentran definidos por la erradicación del tumor o por el tiempo de sobre-vida del paciente.

Con lo anterior y al no conocerse la cinética de la T-514 se planteo el siguiente protocolo.

HIPÓTESIS

Todos los procesos farmacocinéticos de la T-514 son de 1er orden.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los parámetros farmacocinéticos de la T-514.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los siguientes items

1. Determinar si la cinética es lineal o no.
2. De existir farmacocinética no lineal, establecer su origen.
3. Establecer la depuración renal
4. Establecer la depuración biliar.
5. Establecer la naturaleza metabólica del compuesto.
6. Establecer el volumen de distribución y determinar si es Dosis-dependiente.
7. Determinar la existencia de compartimientos profundos.
8. Determinar la existencia de circulación entero hepática.
9. Determinar la Biodisponibilidad absoluta.
10. Determinar la existencia de un efecto saturable de 1er paso.

CAPÍTULO 2

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Material biológico

Estudio preliminar

Se llevo a cabo un estudio preliminar con el fin de dominar la técnica quirúrgica con 8 perros (Beagle), y 4 perros de la misma raza adicionales, con el fin de llevar a cabo pruebas analíticas preliminares. A estos 4 animales, previa anestesia con pentobarbital sódico a razón de 30 mg/kg, se les administro por vía intravenosa, en bolo, una dosis de 2mg/Kg. de T-514 pero con diferentes vehículos (propilenglicol, dimetilsulfóxido y gelatina) y se determinó, en plasma sus concentraciones a las 2, 4, 6 y 8 horas posteriores a su administración; en orina de 24 horas; bilis a las 2, 4, 6 y 8 horas posteriores a su administración y heces fecales de 24 horas. Las muestras de sangre y bilis tuvieron un volumen aproximado de 2 mL por muestra.

Estudio definitivo

9 perros Beagle adicionales (4 machos y 5 hembras) de 1 a 2 años de edad y de 9 a 15 kilos de peso corporal, marcados con un número particular durante todo el estudio.

Material no biológico

Se utilizó un gramo de T 514 del lote # 86, proporcionada por el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. (Anexo 1)

Alimento

Eukanuba® adulto mantenimiento

Material quirúrgico

Isodine®

Gasas # 10 estéril con banda radio-opaco

Torundas de algodón

Solución salina al 0.9% de 250 mL Pisa™

Alcohol al 96%

Hojas de rasurar doble filo Gillette™

Contenedor para material punzo-cortante desechable

Bolsas de recolección biológica

Guantes de látex estériles

Campos estériles

Cubre bocas

Ropa de quirófano

Xilacina i.v 2mg/Kg. Ronpun®

Sulfato de atropina 0.045 mg/Kg. Loefer™

Pentobarbital sódico 30 mg/Kg. de Pfizer™

Catéter i.v # 20 de Johnson & Johnson™

Cánula endotraqueal # 6 de Argyle™

Equipos de venoclisis Flebotec® de Pisa™

Cinta adhesiva

Hojas de bisturí mango 4, # 21

Jeringas de 3, 5 y 10 mL con aguja 22 x 32 B-D™

Sonda de alimentación pediátrica

Suturas absorbibles # 0,00 y 000

Suturas no absorbibles # 0,00 y 000

Equipo de disección simple

Separador de Goset

Antibióticos: Cefalotina, Metronidazol y Amikacina

Analgésicos: Metamizol y Ketorolaco

Diazepam

Tijeras quita puntos

Tapones-adaptador Luer-Lok

Jaulas metabólicas

Lista de reactivos

Alcohol etílico omnisolv grado HPLC

Acetonitrilo omnisolv grado HPLC

Metanol omnisolv grado HPLC

Acetato de Etilo omnisolv grado HPLC

Agua bidestilada

Solución glucosada al 5% (DX-5 Pisa™)

Reactivos del analizador químico ASCA LDM™ químico Merck®

Reactivos del analizador hematológico CELL-DYN 1400 CS ™ Abbot®

Material y equipo analítico

Analizador químico ASCA LDM™

Analizador hematológico CELL-DYN 1400 CS ™

Tubos de vidrio de 5 ml con EDTA (Vacutainer®)

Crio-tubos de 2 ml (Nalgene®)

Cajas criogénicas para crio-tubos de 2 ml (Nalgene®)

Tubos de vidrio 13 x 150 con tapón de rosca (Pyrex®)

Tubos Eppendorf de 1.5 ml

Pipeta automática, 10-100μl (Eppendorf)

Pipeta automática, 100-1000μl (Eppendorf)

Puntillas para pipetas automáticas

Micro-centrifuga 5415 C (Eppendorf)

Vortex (Scientific/Products™)

Ultra congelador Revco™ Modelo ULT 1386-7-A30

Centrifuga refrigerada Beckman-Coulter™ modelo allegra 6KR

Balanza analítica Metter Toledo™ modelo AB204

Membranas de 0.45mm de tamaño de poro (Millipore™)

Cromatógrafo de líquidos Agilent® modelo 1100 con detector ultravioleta visible.

Cromatógrafo de líquidos Agilent® modelo 1100 acoplado a un espectrómetro de masas

Columna ODS Hipersil con 5 μm de tamaño de partícula, de 100 mm de longitud y con un diámetro de 2.1mm.

Programa estadístico

winNonlin 2.1

2.2 MÉTODOS

Criterios de inclusión:

Perros Beagle de ambos sexos de edad comprendida entre 1 y 2 años, con un peso corporal de 9 a 15 kilos, desparasitados, con las vacunas de rabia, parvovirus, hepatitis y leptospirosis, alimentados 360 gramos diarios de Eukanuba®, sin manifestaciones de enfermedad aparente, con pruebas de laboratorio, como biometría hemática, perfil bioquímico y examen parcial de orina dentro de los limites normales para la especie. (Anexo 2)

Criterios de exclusión:

Perros Beagle que no cumplan con el estándar de su raza, que hubiesen sido utilizado previamente para cualquier experimento, que hubiesen recibido cualquier tratamiento médico en los últimos 60 días, preñez y agresividad manifiesta.

Diseño experimental

Procedimiento quirúrgico

Los perros fueron sedados con xilacina i.v a razón de 2 mg/Kg y sulfato de atropina a una dosis de 0.045 mg/Kg.[43,44] Se rasuró el miembro anterior izquierdo y el reborde costal derecho. Se instalo un equipo de venoclisis Flebotec® en el miembro anterior izquierdo para la administración de solución salina al 0.9%, y pentobarbital sódico como anestésico, a una dosis de 30 mg/Kg. Una vez colocado el perro en la mesa quirúrgica se practico una incisión en el reborde costal derecho de 7 cm de longitud en 4 tiempos, se localizó y aisló la vesícula, se vació su contenido por punción y se introdujo una sonda de alimentación pediátrica calibre # 20; a esta sonda se le hicieron con tijera, 5 orificios laterales para facilitar el flujo biliar e impedir su obstrucción. La sonda se fijó a la vesícula con una jareta, se comprobó su permeabilidad y se le colocó en el extremo distal un tapón adaptador Luer-Lok. Se suturaron los planos quirúrgicos y el extremo distal de la sonda con su tapón se fijo a músculo con sutura no absorbible y quedo cubierta por la piel del animal.

(A) (B)

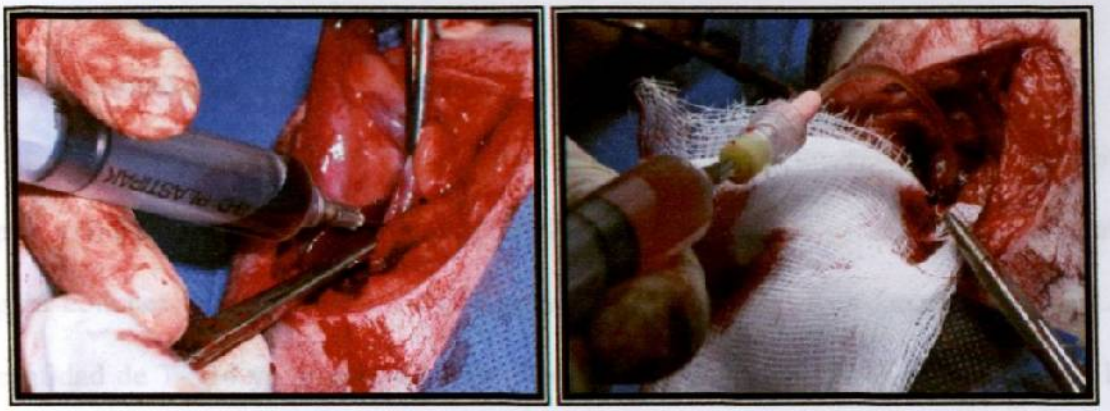


Fig. # 9 Drenaje de vesícula (A) y verificación de la colocación de la sonda con su tapón en la vesícula (B).

Por el equipo de venoclisis se administró como analgésico ketorolaco a una dosis de 30 mg. como dosis inicial y otros 30 mg. vía intramuscular a las 12 horas. Por vía intramuscular se administró metamizol a una dosis de 500mg cada 12 horas.

Adicionalmente, se les administró con fines profilácticos, por vía endovenosa cefalotina, 500 mg metronidazol 500 mg y amikacina 100 mg. Los antibióticos y analgésicos se administraron a la misma dosis cada 12 horas por tres días.[44,45,46,47,48]

30 días después de su intervención quirúrgica se consideraron los perros como aptos para el estudio farmacocinético, siempre y cuando cumplieran con sus criterios de inclusión y exclusión .

Procedimiento de administración de la T-514 y toma de muestras

Procedimiento para la preparación de la T-514.

La T-514 se conservó a una temperatura de -80° C y cubierta con papel aluminio para evitar la degradación por la luz. Doce horas antes de ser prepararla se pesó al perro para conocer la cantidad de T-514 necesaria y se pesó en la balanza analítica. La cantidad de T-514 ya pesada, se colocó en un tubo de vidrio de 13 x 150 mm. Se le agregó alcohol etílico grado HPLC y solución glucosada al 5 % en una relación 1:1 para evitar su precipitación y oxidación. A continuación se agito en vortex durante 1 minuto para lograr su disolución. La solución así hecha fue utilizada dentro de los siguientes 15 minutos.

Procedimiento para la administración de la T-514.

La administración de la T-514 se llevó a cabo por tres vías distintas (intravenosa, intraperitoneal y oral) y a la dosis de 1, 2 y 3 mg/Kg de peso. Estas dosis fueron seleccionadas de acuerdo al criterio de Gottlieb (1975) de iniciar el estudio posológico de nuevos medicamentos antineoplásicos, con una dosis equivalente a 1/3 de la dosis letal 10% de la especie animal mas sensible y posteriormente incrementarla en un 100%. Por tal razón, se utilizó como magnitudes de dosificación 1, 2 y 3 mg/Kg de peso, por ser las primeras dos dosis potencialmente terapéuticas y la tercera por ser una dosis sub-letal.

Para esto se utilizó un esquema de aplicación cruzada (CROSS-OVER) según figura adjunta.

1	AIV	MIV	BIV	AO	MO	BO	AP	MP	BP
2	MIV	BIV	AO	MO	BO	AP	MP	BP	AIV
3	BIV	AO	MO	BO	AP	MP	BP	AIV	MIV
4	AO	MO	BO	AP	MP	BP	AIV	MIV	BIV
5	MO	BO	AP	MP	BP	AIV	MIV	BIV	AO
6	BO	AP	MP	BP	AIV	MIV	BIV	AO	MO
7	AP	MP	BP	AIV	MIV	BIV	AO	MO	BO
8	MP	BP	AIV	MIV	BIV	AO	MO	BO	AP
9	BP	AIV	MIV	BIV	AO	MO	BO	AP	MP

Donde A es alta = 3 mg/Kg, M es media = 2 mg/Kg y B es baja = 1 mg/Kg;
y IV = intravenosa, IP = intraperitoneal, O = oral

Fig. # 10 Esquema de dosificación y vía de administración.

Procedimiento para la administración de la T-514.

48 horas antes de la administración de la T-514 se le tomó al perro una muestra de sangre para perfil bioquímico, biometría hemática y una muestra de orina controles para comprobar que el perro se encontrara dentro los criterios de inclusión. El animal permaneció en ayuno 12 horas y fue mantenido previó al estudio en aislamiento (fuera de estrés).

Previamente identificado con un número, que conservó durante todo el estudio, a cada perro se le rasuró las cuatro patas para poder visualizar mejor las venas. Y se le tomó una muestra de sangre previa a la administración, de la T-514 a la que llamamos tiempo 0.

Para su administración intravenosa de la T-514 se le colocó un catéter intracat número 20 en el miembro anterior derecho, y solo por esta vía se administró el medicamento con una jeringa de 10 mL. Lo cual se hizo en bolo y en un periodo no mayor a 20 segundos. Los otros tres miembros, anterior izquierdo, y posteriores, se utilizaron para la obtención de muestras de sangre.

Para la administración oral de la T-514 se llevo a cabo en bolo en un periodo no mayor a 20 segundos y se utilizó para ello una pajilla de inseminación adaptada a una jeringa de 10 mL. Se utilizaron los 4 miembros del animal, para la obtención de muestras de sangre.

Para la administración intraperitoneal se utilizó una jeringa de 10 mL con aguja de 22 x 32 y se inyectó en la línea media a nivel del ombligo (sitio donde el pelo de la región abdominal cambia de dirección) en un tiempo no mayor a 20 segundos. Se utilizaron los 4 miembros del animal, para la obtención de muestras de sangre.

Procedimiento para la obtención de plasma en perros.

Se utilizaron las cuatro patas del perro, excepto en el caso de la administración intravenosa, en donde se utilizaron solo 3 patas evitando usar la pata en la que se le administro la T-514. El volumen de la muestra sanguínea fue de aproximadamente 5 mL a los siguientes tiempos: dosis 1 (1 mg/Kg) 0.0083, 0.0167, 0.0333, 0.0833, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 horas. Para la dosis 2 (2 mg/Kg) se tomó una muestra adicional a las 24 horas. Para la dosis 3 (3 mg/Kg) adicionalmente de los tiempos mencionados, a las 18, 24 y 30 horas. Las muestras de sangre así tomadas se centrifugaron a 3000 r.p.m en centrifuga refrigerada a 5° C y el plasma de cada muestra se conservó a - 80° C.

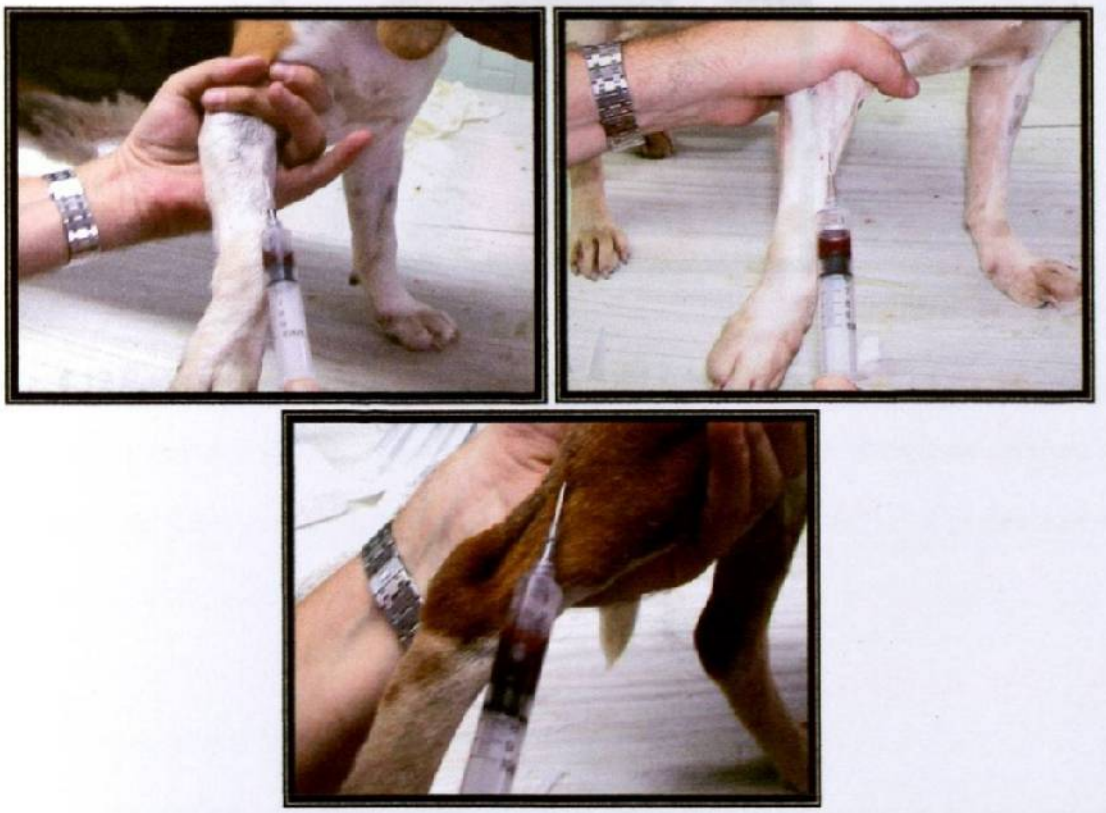


Fig. # 11 Representación de las tomas de sangre en distintas patas.

Procedimiento para la toma de bilis.

Previamente a cada perro se le verificó la permeabilidad de la sonda colocada en la vesícula biliar. Se tomó una muestra inicial de bilis para vaciar la vesícula y tomarla como tiempo cero, y posteriormente se tomó 2 ml aprox. a los siguientes tiempos: 2, 4, 6, 8 y 12 horas para la dosis de 1mg/Kg , adicionalmente a horario anterior se tomó a las 18 y 24 horas para la dosis de 2 mg/Kg y finalmente para la dosis de 3 mg/Kg se tomó una muestra mas a las 30 horas. La bilis se conservó a -80° C.

Fig. # 12 Representación de la toma de bilis a nivel subcutáneo.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Para la extracción de la T-514 de las muestras de plasma y bilis se utilizó el método descrito por Salazar y cols.[47] modificado y validado Gómez-Silva. [21]

Extracción de plasma

Se tomaron 250 μL de plasma y se colocaron en un tubo Eppendorf de 1.5 mL + 500 μL de acetonitrilo. El tubo se agitó durante 30 segundos en Vortex y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 r.p.m. A continuación, el sobrenadante se transfirió a otro tubo Eppendorf y se centrifugó durante 3 minutos a 7000 r.p.m. El sobrenadante se filtró en membrana de celulosa de 0.45 μm de poro y se transfirió a un vial para su análisis en HPLC con detector de ultravioleta visible.

Extracción de bilis

Se tomó 1 μL de bilis y se colocó en un tubo Eppendorf de 1.5 mL + 1000 μL de agua/metanol (1:1). El tubo se agitó durante 30 segundos en Vortex y se centrifugó durante 10 minutos a 7000 r.p.m. El sobrenadante se filtró en membrana de celulosa de 0.45 μm de poro y se transfirió a un vial para su análisis en HPLC con detector de masas.

Determinación de T-514 en plasma

Se utilizó un cromatógrafo Agilent modelo 1100 con detector ultravioleta visible; con una columna ODS Hipersil con 5 μm de tamaño de partícula, de 100 mm de

longitud y con un diámetro de 2.1mm; cantidad inyectada 7 μL; cromatografía de gradiente; eluentes: A) Metanol, B) Agua-Acetonitrilo-Ácido acético (70:30:1.6)

Tiempo(min.)	%A	%B
0-4	65	35
4-6	100	0
6-8	100	0
8-10	65	35

Flujo: 0.4 mL/min. Temperatura: 25.0 °C Longitud de Onda: 410 nm.

Determinación de T-514 en bilis

Se utilizó un cromatógrafo Agilent modelo 1100 con detector de masas modelo SL.; Con una columna Synergi de 4 μm de tamaño de partícula, de 150 mm de longitud y con un diámetro de 4.6 mm. Cantidad inyectada 5 μL; cromatografía isocrática. Eluente: acetonitrilo-metanol-acetato de amonio 50 mM-tetrahidrofurano (220:95:170:15); Flujo: 0.7 mL/min; temperatura: 50.0 °C. Ion monitoreado 515.1 m/z. (21, 51, 52)

Validación del Método Analítico (plasma)

Los parámetros validados fueron: linealidad, precisión, exactitud, % de recuperación y estabilidad (Anexo 3).

2.2.3 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO Y ESTADÍSTICO

Se utilizó el paquete computacional winNonlin 2.1

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

Estudio preliminar:

En el estudio preliminar no se encontró T-514 en orina ni en heces fecales. Se demostró la presencia de la T-514 en plasma y bilis, por lo que el estudio definitivo solo se referirá a estas dos matrices biológicas.

Estudio definitivo:

A continuación se presentan tabular y gráficamente las concentraciones plasmáticas de T-514 en μg/mL, encontradas después de su administración por distintas vías y dosis. Las representaciones gráficas conservan inicialmente las mismas escalas para poder apreciar la magnitud comparativa entre las distintas vías de administración. En segunda presentación aparece modificada la escala de tiempo con la intención de que se aprecien los concentraciones plasmáticas en los primeros tiempos de muestreo.

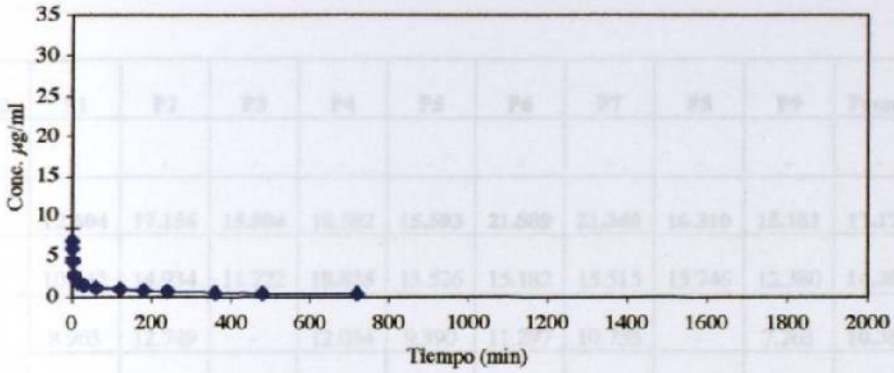
En el anexo 4 se aprecian los cromatográmas de las muestras plasmáticas de un perro al que se le administró la T-514 a las tres diferentes dosis por vía endovenosa.

Tabla # 1

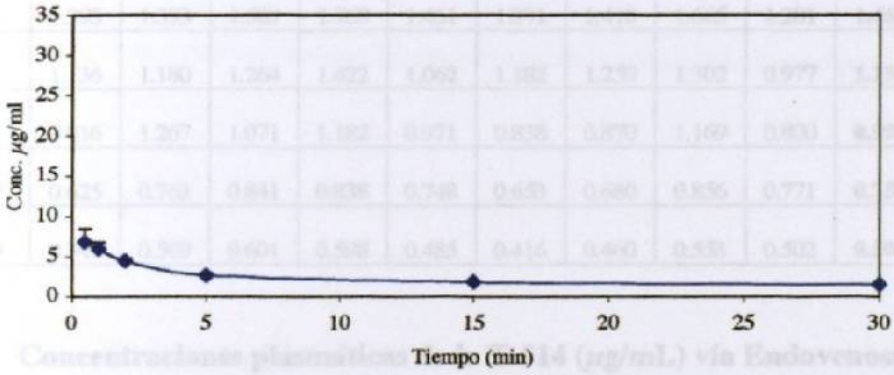
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	-	7.215	5.095	8.987	5.272	-	-	8.249	6.557	**6.896**	**1.568**
0.0167	-	6.270	5.066	6.327	5.371	-	-	7.267	5.605	**5.984**	**0.801**
0.0333	-	5.195	4.069	4.495	4.153	-	-	4.411	4.209	**4.422**	**0.411**
0.0833	-	3.079	2.622	2.519	2.364	-	-	2.914	2.612	**2.685**	**0.264**
0.2500	-	1.964	1.962	1.650	1.571	-	-	1.792	2.001	**1.823**	**0.182**
0.5000	-	1.530	1.571	1.304	1.264	-	-	1.519	1.613	**1.467**	**0.146**
1.0000	-	1.279	1.215	1.139	1.012	-	-	1.143	1.314	**1.184**	**0.110**
2.0000	-	0.955	1.008	0.974	0.796	-	-	1.012	1.042	**0.965**	**0.088**
3.0000	-	0.831	0.857	0.786	0.670	-	-	0.793	0.818	**0.793**	**0.065**
4.0000	-	0.735	0.703	0.755	0.550	-	-	0.652	0.688	**0.681**	**0.073**
6.0000	-	0.706	0.542	0.513	0.447	-	-	0.527	0.530	**0.544**	**0.086**
8.0000	-	0.516	0.518	0.445	0.370	-	-	0.465	0.456	**0.462**	**0.054**
12.0000	-	0.497	0.447	0.354	0.294	-	-	0.417	0.437	**0.408**	**0.072**

Concentraciones plasmáticas de la T-514 (*μg/mL*) vía Endovenosa

Dosis: 1 mg/Kg



Gráfica #1. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 1.



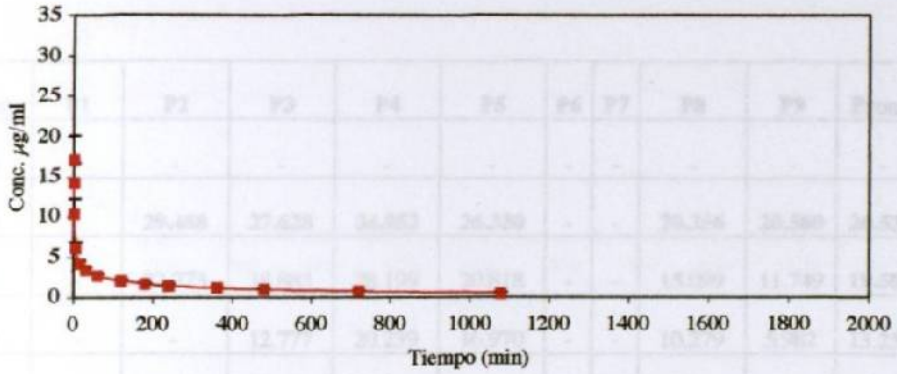
Gráfica # 1 A. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 1 modificada la escala de tiempo.

Tabla # 2

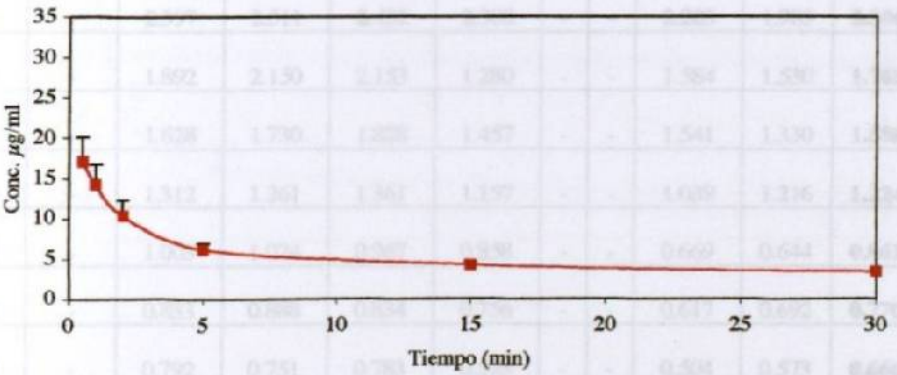
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	**12.604**	**17.156**	**15.904**	18.582	**15.593**	**21.889**	**21.340**	**16.310**	**15.181**	**17.173**	**2.985**
0.0167	10.942	14.934	11.722	**18.825**	13.526	15.182	15.515	15.746	12.380	**14.308**	**2.435**
0.0333	8.963	12.749	-	12.054	9.390	11.297	10.753	-	7.263	**10.353**	**1.919**
0.0833	6.383	6.375	7.301	7.064	5.890	5.688	5.330	6.508	5.011	**6.172**	**0.761**
0.2500	4.018	4.219	4.163	5.044	4.435	4.043	4.139	4.578	3.536	**4.242**	**0.418**
0.5000	3.522	3.311	3.156	3.781	3.387	3.352	3.654	3.656	2.821	**3.405**	**0.295**
1.0000	2.730	2.482	2.817	2.992	2.663	2.526	3.058	3.039	2.230	**2.726**	**0.282**
2.0000	2.150	1.838	2.064	2.314	2.004	2.046	2.266	2.316	1.795	**2.088**	**0.193**
3.0000	1.682	1.719	1.703	1.982	1.683	1.643	1.733	1.844	1.536	**1.725**	**0.126**
4.0000	1.393	1.393	1.509	1.769	1.461	1.371	1.418	1.665	1.201	**1.464**	**0.168**
6.0000	1.136	1.180	1.264	1.422	1.062	1.182	1.259	1.302	0.977	**1.198**	**0.133**
8.0000	0.816	1.267	1.071	1.182	0.971	0.838	0.870	1.169	0.800	**0.998**	**0.179**
12.0000	0.625	0.763	0.841	0.838	0.748	0.653	0.680	0.856	0.771	**0.753**	**0.085**
24.0000	0.349	0.569	0.601	0.598	0.485	0.416	0.460	0.553	0.502	**0.504**	**0.086**

Concentraciones plasmáticas de la T-514 (μg/mL) vía Endovenosa

Dosis: 2 mg/Kg



Gráfica # 2. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 2.



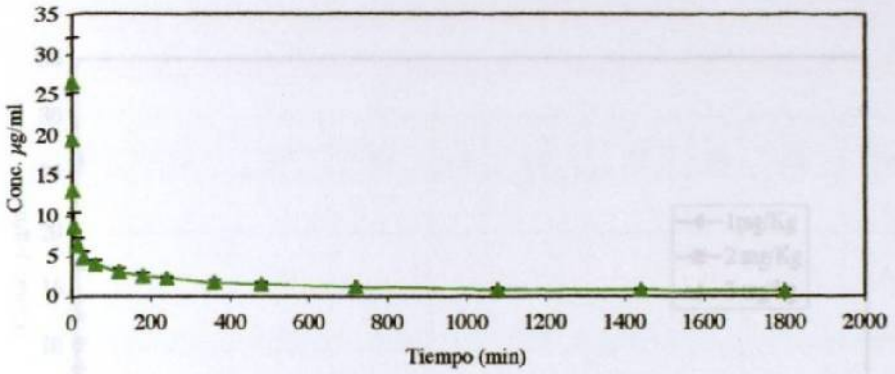
Gráfica # 2 A. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 2 modificada la escala de tiempo.

Tabla # 3

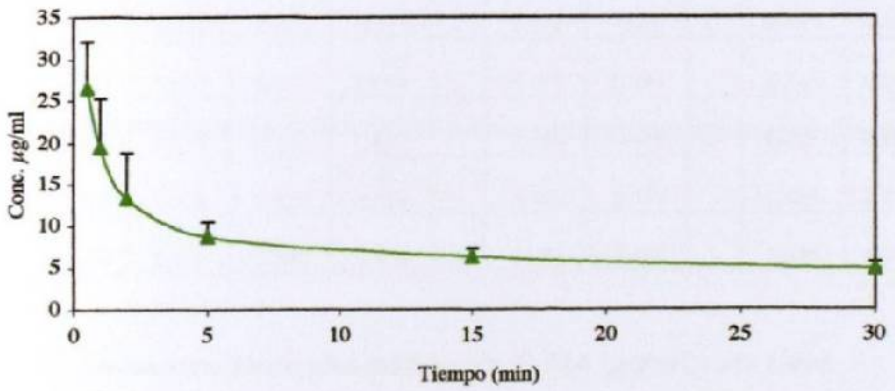
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	-	29.488	27.628	34.952	26.330	-	-	20.256	20.560	26.536	5.584
0.0167	-	22.273	18.883	28.199	20.818	-	-	15.099	11.749	19.504	5.743
0.0333	-	-	12.777	20.239	16.970	-	-	10.279	5.982	13.250	5.580
0.0833	-	11.031	8.305	9.208	9.909	-	-	7.372	6.340	8.694	1.711
0.2500	-	7.618	6.152	5.873	6.846	-	-	6.419	4.789	6.283	0.952
0.5000	-	5.961	4.596	4.827	5.137	-	-	4.911	3.597	4.838	0.769
1.0000	-	4.569	3.988	4.516	4.055	-	-	4.034	3.053	4.036	0.545
2.0000	-	3.592	3.078	3.627	2.877	-	-	2.886	2.347	3.068	0.485
3.0000	-	2.453	2.900	2.939	2.624	-	-	2.716	1.850	2.580	0.400
4.0000	-	2.397	2.511	2.432	2.308	-	-	2.203	1.983	2.306	0.190
6.0000	-	1.892	2.150	2.153	1.280	-	-	1.584	1.530	1.765	0.357
8.0000	-	1.628	1.730	1.828	1.457	-	-	1.541	1.330	1.586	0.182
12.0000	-	1.312	1.261	1.361	1.157	-	-	1.039	1.216	1.224	0.115
18.0000	-	1.003	1.024	0.967	0.858	-	-	0.669	0.644	0.861	0.168
24.0000	-	0.833	0.888	0.834	0.756	-	-	0.617	0.692	0.770	0.102
30.0000	-	0.792	0.751	0.783	0.593	-	-	0.504	0.573	0.666	0.124

Concentraciones plasmáticas de la T-514 (µg/mL) vía Endovenosa

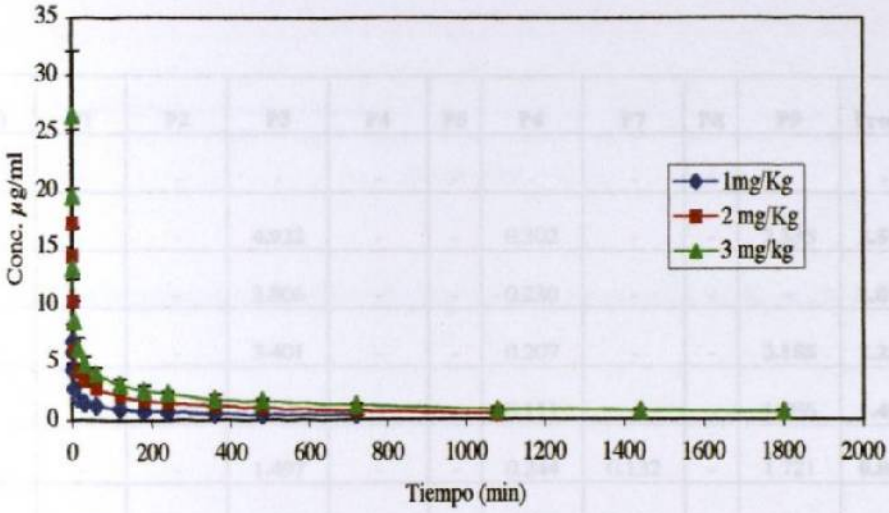
Dosis: 3 mg/Kg



Gráfica # 3. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 3.



Gráfica # 3 A. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 3 modificada la escala de tiempo.



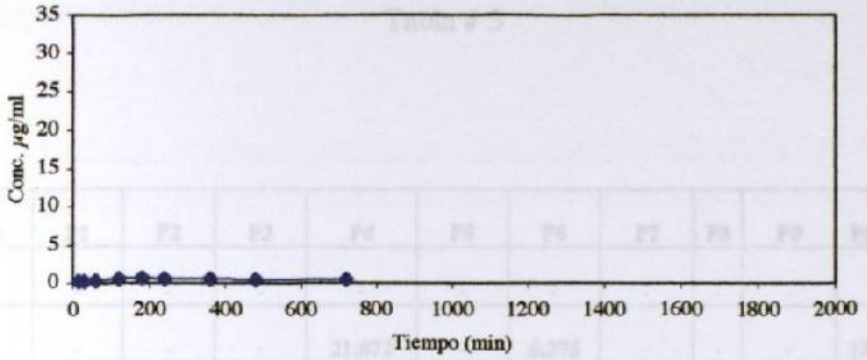
Gráfica # 4. Representación gráfica de los valores promedio de las tablas # 1, 2 y 3.

Tabla # 4

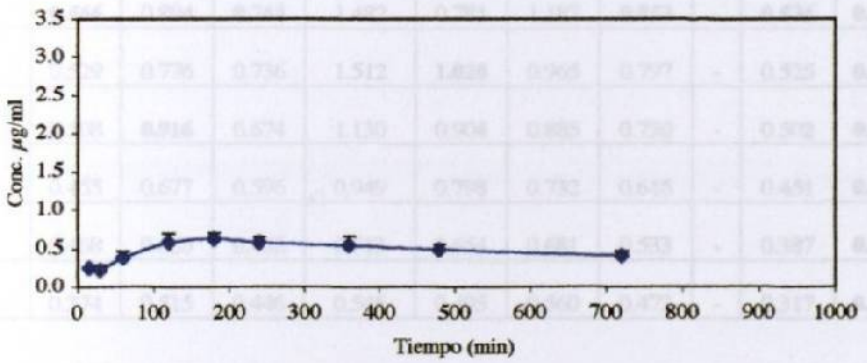
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	-	-	**4.922**	-	-	0.302	-	-	2.335	**2.519**	**2.316**
0.0167	-	-	3.806	-	-	0.230	-	-	-	**2.018**	**2.529**
0.0333	-	-	3.401	-	-	0.207	-	-	**3.155**	**2.254**	**1.777**
0.0833	-	-	2.576	-	-	0.111	-	-	1.786	**1.491**	**1.259**
0.2500	-	-	1.497	-	-	0.244	0.132	-	1.721	**0.899**	**0.827**
0.5000	0.146	-	1.145	-	-	0.242	0.199	-	1.068	**0.560**	**0.501**
1.0000	0.388	0.440	0.890	0.440	-	0.401	0.201	-	0.883	**0.520**	**0.263**
2.0000	0.517	**0.720**	0.816	**0.720**	-	0.555	0.515	-	0.673	**0.645**	**0.117**
3.0000	**0.546**	0.713	0.682	0.713	-	**0.570**	0.65	-	0.585	**0.637**	**0.070**
4.0000	0.527	0.607	0.637	0.607	-	0.493	**0.707**	-	0.542	**0.589**	**0.073**
6.0000	0.376	0.635	0.528	0.635	-	0.444	0.649	-	0.495	**0.537**	**0.106**
8.0000	0.416	0.518	0.410	0.518	-	0.402	0.577	-	0.488	**0.476**	**0.067**
12.0000	0.354	0.458	0.343	0.458	-	0.358	0.448	-	0.339	**0.394**	**0.057**

Concentraciones plasmáticas de T-514 (μg/mL) vía Oral

Dosis: 1 mg/Kg



Gráfica # 5. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 4.



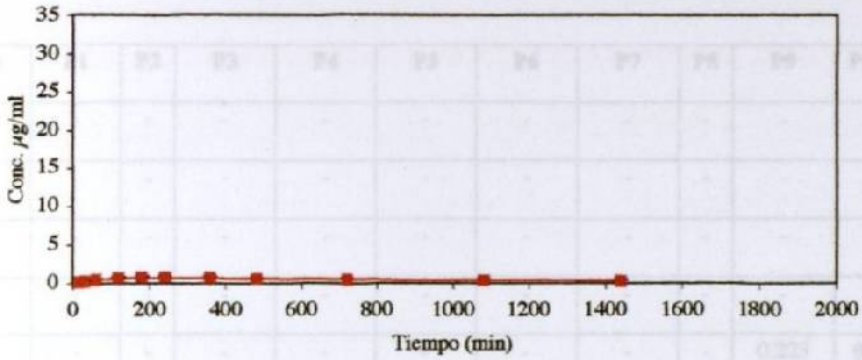
Gráfica # 5 A Representación Gráfica de los valores promedio de la tabla # 4 modificada la escala de tiempo y de concentración.

Tabla # 5

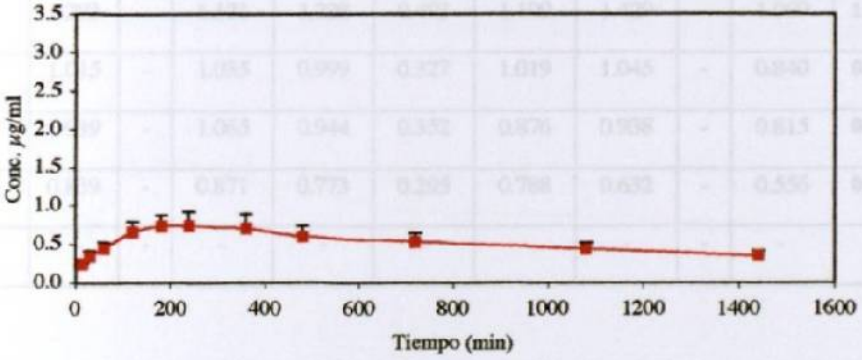
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	-	-	-	**21.872**	-	**5.375**	-	-	-	**13.623**	**11.665**
0.0167	-	-	-	9.730	-	5.225	-	-	-	**7.478**	**3.186**
0.0333	-	-	-	7.419	-	4.712	-	-	-	**6.065**	**1.914**
0.0833	-	0.088	-	4.271	-	2.942	-	-	-	**2.434**	**2.137**
0.2500	-	0.169	-	2.843	-	2.326	0.253	-	0.244	**1.167**	**1.307**
0.5000	0.311	0.310	-	2.488	0.322	1.775	0.462	-	0.318	**0.855**	**0.897**
1.0000	0.518	0.424	0.316	1.941	0.510	1.465	0.506	-	0.41	**0.761**	**0.599**
2.0000	0.564	0.821	0.576	1.660	0.715	1.239	0.767	-	0.492	**0.854**	**0.400**
3.0000	**0.566**	0.894	**0.764**	1.482	0.783	1.187	**0.853**	-	**0.536**	**0.883**	**0.316**
4.0000	0.529	0.776	0.736	1.512	**1.020**	0.965	0.797	-	0.525	**0.858**	**0.318**
6.0000	0.508	**0.916**	0.674	1.130	0.904	0.885	0.730	-	0.502	**0.781**	**0.218**
8.0000	0.455	0.677	0.596	0.949	0.798	0.732	0.616	-	0.451	**0.659**	**0.169**
12.0000	0.468	0.650	0.482	0.713	0.654	0.681	0.533	-	0.387	**0.571**	**0.119**
18.0000	0.374	0.515	0.446	0.545	0.495	0.560	0.472	-	0.317	**0.465**	**0.084**

Concentraciones plasmáticas de T-514 (μg/mL) vía Oral

Dosis: 2 mg/Kg



Gráfica # 6. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 5.



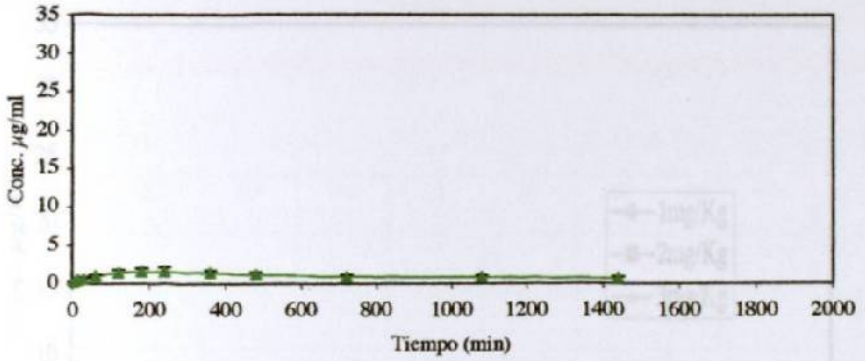
Gráfica # 6 A. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 5 modificada la escala de tiempo y concentración.

Tabla # 6

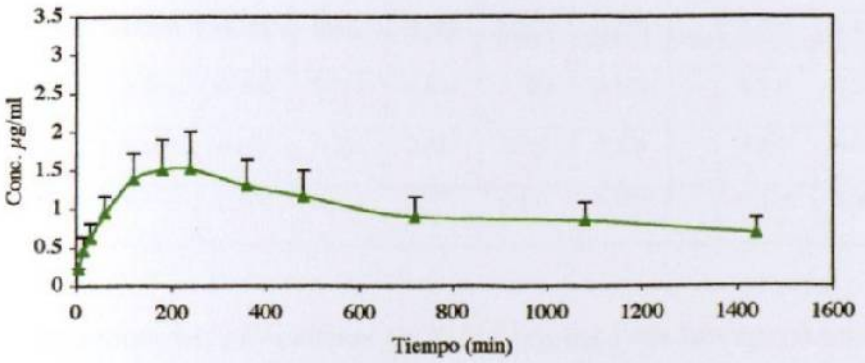
T (horas)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	Prom.	D.EST.
0.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0083	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0333	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0833	-	-	-	-	-	-	-	-	0.223	**0.223**	-
0.2500	0.663	-	0.224	0.322	-	-	0.477	-	0.580	**0.453**	**0.181**
0.5000	0.889	-	0.491	0.533	0.307	0.757	0.684	-	0.672	**0.619**	**0.192**
1.0000	1.288	-	0.973	0.979	0.578	1.078	0.866	-	0.806	**0.938**	**0.222**
2.0000	1.687	-	1.366	1.503	0.726	1.471	1.744	-	1.190	**1.384**	**0.345**
3.0000	1.832	-	1.380	1.516	0.751	1.610	2.001	-	1.460	**1.507**	**0.398**
4.0000	1.740	-	1.411	1.913	0.588	1.809	1.945	-	1.272	**1.525**	**0.484**
6.0000	1.502	-	1.509	1.442	0.561	1.347	1.543	-	1.161	**1.295**	**0.349**
8.0000	1.283	-	1.531	1.228	0.493	1.100	1.429	-	1.069	**1.162**	**0.338**
12.0000	1.015	-	1.035	0.999	0.327	1.019	1.045	-	0.840	**0.897**	**0.261**
18.0000	0.939	-	1.065	0.944	0.352	0.876	0.938	-	0.815	**0.847**	**0.231**
24.0000	0.839	-	0.871	0.773	0.295	0.788	0.632	-	0.556	**0.679**	**0.203**
30.0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Concentraciones plasmáticas de T-514 (μg/mL) vía Oral

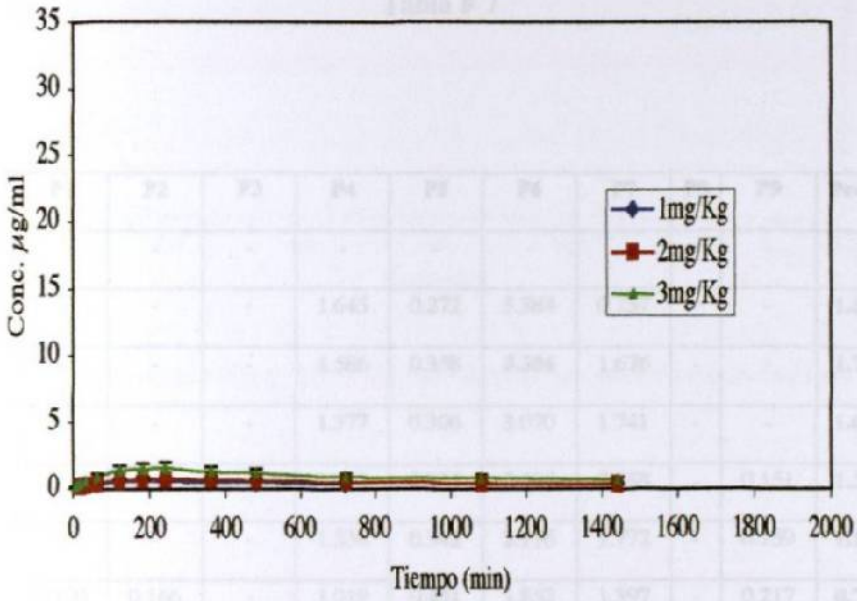
Dosis: 3 mg/Kg



Gráfica # 7. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 6.



Gráfica # 7 A. Representación gráfica de los valores promedio de la tabla # 6 modificada la escala de tiempo y concentración.



Gráfica # 8. Representación gráfica de los valores promedio de las tablas # 4, 5 y 6.