

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLÁN

**"EVALUACIÓN DEL MECANISMO DE ABSORCIÓN *in vitro* DE LOS
COMPUESTOS LQM'S 302, 318, 319 Y 334 CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA
ANTIHIPERTENSIVA A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA SEMIPERMEABLE"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:

DIANA LILIANA MARTINEZ RICO

ASESORES:

DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO

DRA. FLORA ADRIANA GANEM RONDERO

M. EN F. C. MA. EUGENIA R. POSADA GALARZA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

AL PRINCIPAL QUE LE TENGO QUE AGRADECER ES A DIOS:

Diosito gracias por esta vida colmada de bendiciones, gracias por darme la familia que tengo, ya que sin ellos no sería lo que soy en éste momento, gracias por los amigos que siempre me han brindado la mano y me han hecho seguir adelante; gracias por todas las personas buenas que se cruzan por mi camino y que me orientan.

GRACIAS A MIS PAPAS: *Gracias Mamá por quererme tanto y alimentarme día con día mi confianza, ya que con sus palabras todo tiene sentido; me hace pensar que puedo lograr todo lo que me proponga y me enseñó que la felicidad se encuentra en uno mismo. Gracias Papá por enseñarme a vivir la vida de la mejor manera, brindándome tantos sabios consejos y por todo tu amor, por que me enseñas día a día que no hay imposibles.*

GRACIAS A TODA MI FAMILIA: *Gracias abuelita usted ha sido el mejor ejemplo a seguir en mi vida, la admiro, la respeto y la quiero mucho. Gracias Tíos por que siempre he contado con ustedes, primos con los que he crecido, a mis sobrinos que siempre iluminan mi vida con su sonrisa y a mis cuñadas que son como mis hermanas. Gracias: Ale con tu ejemplo a seguir marcaste mi camino y Jorge me enseñaste que en la vida todo tiene sentido.*

GRACIAS *a esa personita que me enseñó lo que es amar y que me apoyo por seis años incondicionalmente, espero que estés muy bien mugrosito, tienes un lugar muy especial en esta hoja, como en mi vida Alberto. A las personas que estuvieron todos estos años conmigo hasta el final, compartiendo alegrías, tristezas, malos ratos o pormenores, MUCHAS GRACIAS amiguis, amiguis: Mari, Estelita, Kariniux, Mayrilin, Vero, Quique, Rino, en general a toda la bandita Albert, Chava, Ramón, Fer, Cecy, Isra, etc. Y por todas las personas que me quieren, a las cuales estimo mucho Zarita, Paola, Pepe, Cahuis, Hermes, Toñito, Alex, Saul, Fernando gracias por tu ayuda incondicional; a mis amigas que he conservado durante mi vida Gris, Marisol, Lupe, Adriana, Viri, Diana, Fany; etc. A mis maestros que me guiaron desde niña Lolita, Carmelita, Hilda, Juanito Perez, Salcedo; etc.*

Esto era un reto para mi, algo que tenia que lograr y no dejarlo para luego, tal vez me tarde; pero bien dicen que mas vale tarde que nunca, así que agradezco por su paciencia a mis asesores M. en F. C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza, Dr. Enrique Angeles Anguiano, Dra. Adriana Ganem; que me apoyaron en todo momento; también agradezco al M. en C. Q. Víctor Hugo Abrego, a M. en C. Q. Clara Luisa Domínguez y al Dr. David Quintanar. A los proyectos PAPIIT/UNAM, N. IN203609, IN211108 y al proyecto CONACYT, por su apoyo económico parcial a la realización de este trabajo DGSCA por el uso de la computadora KAMBALAM para el apoyo de este trabajo en la realización de cálculos. A C. Barajas, F. Sotres, M. Hernández, D. Jiménez por su asistencia técnica GRACIAS POR EL GRAN APOYO QUE ME BRINDARON.

GRACIAS A EL EQUIPO DEL LAB. DE QUIMICA MEDICINAL, ya que este trabajo forma parte del proyecto Cátedra de Química Medicinal FESC-UNAM: Moni, Wendi, Hilda, Betti, Fabiola, Oscar, Abi, Edith; los cuales me contagiaron con su entusiasmo para seguir. GRACIAS A EL EQUIPO DEL LAB. COSMETOLOGIA: A Lupita, Eddy Cake, Néstor, Elizabeth y José Juan.

Y a todos esos angelitos que has puesto en mi camino para guiarme en la vida, también tengo que agradecer a esas personas que hacen más difícil mi camino, por que de esta manera me hago más fuerte, más perseverante y valoro a las personas que realmente me aman. La vida nos enseña muchas cosas una de estas es que no todo es blanco ó negro a pesar de como se vean las cosas existen matices y a veces se nos olvida por las circunstancias, por lo que siempre hay que tener fe y seguir hacia adelante, sin importar que tan difícil sea.

Guarda en tu corazón una razón para existir

Recuerda todo pasa por algo

Ama para ser realmente feliz

Cada vez que te caigas vuelve a levantarte

Ignora a las personas que te hieren y

Aprende de tus errores

Solo tú puedes hacerlo

INDICE:

I. INDICE DE ESQUEMAS:	5
II. INDICE DE GRAFICOS:	6
III. INDICE DE TABLAS.	7
IV. RESUMEN.	8
V. INTRODUCCION.	9
1. OBJETIVOS:	11
1.1. OBJETIVO GENERAL:	11
1.2. OBJETIVOS PARTICULARES:	11
2. HIPOTESIS:	12
3. GENERALIDADES.	13
3.1. ANTECEDENTES.	13
3.2. APLICACIONES.	15
3.3. BASES TEÓRICAS.	16
3.3.1. Farmacocinética.	16
3.3.1.1. Biodisponibilidad del fármaco.	16
3.3.1.2. Distribución del fármaco.	17
3.3.1.3. Biotransformación del fármaco.	20
3.3.1.4. Eliminación del fármaco.	20
3.3.2. Elaboración de modelos farmacocinéticos.	21
3.3.3. Dosificación del fármaco.	24
3.3.4. Parámetros farmacocinéticos.	26
3.3.5. Absorción.	28
3.3.5.1. Modelos experimentales para evaluar la absorción.	32
3.3.5.2. Primera ley de Fick	34
3.3.5.3. Factores que afectan la absorción.	35
3.3.5.4. Factores que regulan la absorción de los fármacos por vía oral.	37
3.3.5.5. Instrumentos para medir la absorción.	39
3.3.6. Factores gastrointestinales.	40
3.3.6.1. Anatomía y Fisiología del Estomago.	41
3.3.6.2. Anatomía y Fisiología del Intestino Delgado.	44
3.3.6.3. Mecanismos de transporte a través de la membrana	45
3.3.7. Sistema de clasificación biofarmaceutica	53
3.3.8. Validación de los métodos analíticos	54
4. CARACTERÍSTICAS DE LOS COMPUESTOS MORFOLINICOS	56
5. METODOLOGÍA.	58
6. RESULTADOS Y OBSERVACIONES.	62
6.1. LQM 302.	62
6.2. LQM 318.	68
6.3. LQM 319.	74
6.4. LQM 334.	79
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.	84
8. CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES.	89
GLOSARIO.	90
9. REFERENCIAS.	94

I. INDICE DE ESQUEMAS:

Esquema 1. Importancia de los estudios biofarmacéuticos y farmacológicos.	15
Esquema 2. Curva de Concentraciones vs. Tiempo. ¹²	18
Esquema 3. Proceso cinético de orden 1. ⁸	22
Esquema 4. Niveles del fármaco VS tiempo ¹¹	24
Esquema 5. Etapas de absorción y eliminación en la vía oral ¹⁷	30
Esquema 6. Celda de difusión horizontal. ²⁰	32
Esquema 7. Celda de difusión común ²¹	33
Esquema 8. Celda de difusión de Wurster y col. ²¹	33
Esquema 9. Celda de difusión de Aguiar y Weiner, ²¹	34
Esquema 10. Movimiento del fármaco a través del tracto gastrointestinal.	35
Esquema 11. Capas del tejido gastrointestina ²²	41
Esquema 12. Vista anterior de la anatomía interna del estomago. ²²	42
Esquema 13. Vista interior de las regiones del estomago. ²²	43
Esquema 14. Mecanismos de Transporte pasivo ²⁷	46
Esquema 15. Difusión Facilitada. ²⁷	47
Esquema 16. Mecanismos de transporte activo. ²⁷	49
Esquema 17. Celda de difusión tipo Franz ^{34,20}	61

II. INDICE DE GRAFICOS:

Gráfico 1. Longitud de onda vs. Absorbancia del compuesto LQM 302.....	62
Gráfico 2. Curva Promedio Concentración vs. Absorbancia del LQM 302.....	64
Gráfico 3. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 302.....	65
Gráfico 4. Resultados de los mg obtenidos del LQM 302.....	67
Gráfico 5. Longitud de onda vs. Absorbancia del compuesto LQM 318.....	68
Gráfico 6. Curva promedio de la concentración del LQM 318 vs. Absorbancia.....	70
Gráfico 7. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 318.....	71
Gráfico 8. Resultados de los mg obtenidos del LQM 318.....	72
Gráfico 9. Longitud de onda (nm) vs. Absorbancia del compuesto LQM 319.....	74
Gráfico 10 Curva promedio de la concentración del LQM 319 vs. Absorbancia.....	75
Gráfico 11. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 319.....	76
Gráfico 12. Resultados de los mg obtenidos del LQM 319.....	78
Gráfico 13. Longitud de onda (nm) vs. Absorbancia del compuesto LQM 334.....	79
Gráfico 14. Curva promedio. Concentración del LQM 334 vs. Absorbancia.....	80
Gráfico 15. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 334.....	81
Gráfico 16. Resultados de los mg obtenidos del LQM 334.....	82

III. INDICE DE TABLAS:

Tabla 1. Curvas de Calibración del LQM 302	63
Tabla 2. Resultados de las permeaciones del LQM 302.....	64
Tabla 3. Resultados de las concentraciones del LQM 302	66
Tabla 4. Resultados de los mg*10-4 del LQM 302 en las permeaciones.....	66
Tabla 5. Resultados de los mg en la solución donadora del LQM 302.	67
Tabla 6. Resultados estadísticos de las curvas de calibración del LQM 318.	69
Tabla 7. Lecturas de las permeaciones del LQM 318.	70
Tabla 8. Resultados de las concentraciones del LQM 318	71
Tabla 9. Resultados de los mg*10-4 del LQM 318 en las permeaciones.....	72
Tabla 10. Concentraciones en la sol. Donadora del LQM 318.....	73
Tabla 11. Curvas de Calibración del LQM 319.....	74
Tabla 12. Resultados de las permeaciones del compuesto LQM 319.	76
Tabla 13. Resultados de las concentraciones del LQM 319	77
Tabla 14. Resultados de los ng del LQM 319 en las permeaciones.	77
Tabla 15. Resultados de los mg en el tejido del compuesto LQM 319.	78
Tabla 16. Concentraciones en la sol. Donadora del LQM 319.....	78
Tabla 17. Curvas de Calibración del LQM 334.....	79
Tabla 18. Resultados de las permeaciones del compuesto LQM 334.	80
Tabla 19. Resultados de las concentraciones del LQM 334.....	81
Tabla 20. Resultados de los ng del LQM 334 en las permeaciones.	82
Tabla 21. Resultados de mg. en la sol. Donadora y en el tejido LQM 334.....	83

IV. RESUMEN.

Con el presente trabajo se pretende introducir al lector en el estudio de la farmacocinética y en particular en su primera parte, la absorción de los fármacos; ya que ésta es de gran importancia para definir la vía de administración del mismo. De esta manera es posible identificar las condiciones idóneas para que sea administrado, así como para determinar la dosis letal o tóxica.

Al conocer la concentración y la velocidad a la que un fármaco pasa a través de una membrana, es posible determinar la cantidad que debe contener el medicamento y la dosis que se debe de administrar; por medio de diferentes métodos para el estudio de la absorción se puede cuantificar el paso del fármaco a través de membranas semipermeables. El método que se empleó para realizar este trabajo fue la medición de la permeación de los compuestos a través de celdas de difusión tipo Franz, la cantidad de principio activo que pasa a través de la membrana se determinó por medio de un espectrofotómetro UV; para desarrollar el estudio fue importante conocer las propiedades fisicoquímicas del principio activo.

Se utilizó tejido de estómago de puerco para realizar permeaciones *in vitro*, las condiciones para llevar a cabo la experimentación se ajustaron de modo que se simularan las condiciones *in vivo* como: temperatura corporal, concentración de sales y pH. En los estudios de desarrollo de nuevos fármacos algunos de los candidatos seleccionados resultaron inactivos por su absorción gastrointestinal insuficiente o nula como el LQM 302 y el LQM 334 por lo que impiden que se alcancen los niveles de dosis eficaces en el organismo, por esto es de gran importancia realizar estos estudios antes de la preformulación, para predecir su biodisponibilidad oral. El LQM 318 y el LQM 319 aunque se encuentran protonados y por consiguiente su paso a través del tejido es mínimo, se observa una mejor biodisponibilidad para realizar un análisis *in vivo*, utilizando promotores de absorción.

V. INTRODUCCION.

La búsqueda constante de nuevos fármacos es una de las áreas prioritarias de la investigación farmacológica actual en México, donde son muy pocos los grupos de investigación que se dedican a esta búsqueda. Es de gran importancia la investigación farmacológica ya que contribuye con fármacos eficaces y seguros, para atacar enfermedades que siguen siendo diversas y abundantes; por lo que es necesario combatirlas para poder evitarlas.

En éste trabajo se llevó a cabo un proyecto de investigación en farmacología básica, encaminada a conocer el proceso farmacocinético que nuevos compuestos tienen en el organismo, principalmente nos enfocamos a la absorción, que es la primera etapa que lleva a cabo la cinética de un fármaco. Éste trabajo de investigación se enfoca al área de la salud, donde se busca la inclusión en el mercado de nuevos fármacos para un beneficio social relacionado con la mejora en la salud; encontrando medicamentos que contrarresten las enfermedades, con una aplicación directa en la sociedad mexicana.

Éste proyecto es solo una pequeña parte del proceso de patente de un fármaco, el proceso abarca diferentes puntos como el aislamiento, obtención, purificación, así como estudios teóricos; relación estructura - actividad farmacológica, farmacocinética, toxicidad, interacciones farmacológicas, reacciones adversas, etc. Esta investigación se realizó para llevar a cabo un estudio donde se tomará en cuenta las condiciones similares a las de nuestro organismo y así tener el modelo ideal para poder identificar qué compuesto se absorbe mejor, la constante de absorción, el tiempo medio de absorción, el coeficiente de permeabilidad, etc.

Para comprender la absorción de los fármacos y el paso a través de las barreras hematoencefálicas, es necesario conocer: las propiedades fisicoquímicas de las moléculas (la estructura, pka, punto de fusión, solubilidad, coeficiente de partición, etc.). Las características histológicas y fisiológicas del tejido, así como las condiciones en las que se lleva a cabo la experimentación, el tiempo, la concentración, la temperatura, etc.

Por último me encanto poner un grano de arroz para que se pueda realizar todo el proceso de estudio de los compuestos del Laboratorio de Química Medicinal, con actividad biológica antihipertensiva, que ayudaran a miles de personas en un futuro, además de que su costo será más accesible por ser una patente Mexicana. Esto no es algo que se logre de un día para otro, por lo que todos debemos de poner un granito para que sea una realidad, sobretodo se requiere de perseverancia y persistencia.

Mi contribución comienza a partir de la síntesis, purificación y obtención de algunos compuestos; además de estudiar su solubilidad en estomago e intestino, la realización de un método de análisis experimental para el estudio de la absorción y su cinética de permeación. El objeto de estudio es predecir la absorción de nuevos compuestos llevando a cabo la investigación mediante sus características fisicoquímicas y factores que intervienen en éste proceso; realizando una comparación en base a lo obtenido experimentalmente.

1. OBJETIVOS:

1.1. OBJETIVO GENERAL:

Medir el grado de absorción de los compuestos LQM 302, 318, 319 y 334; por medio de celdas de difusión tipo Franz; a través de mucosa gástrica de cerdo.

1.2. OBJETIVOS PARTICULARES:

- ⇒ Estudiar el grado de permeación *in vitro* para conocer algunos aspectos de la absorción de la molécula de cada uno de los compuestos, así como los factores que intervienen en éste proceso.
- ⇒ Comprender el paso a través de la mucosa gástrica de cerdo por medio de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos (la estructura, pka, punto de fusión, solubilidad, peso molecular, etc.) así como de información bibliográfica e investigación previa;
- ⇒ Conocer las características histológicas y fisiológicas del tejido de intestino delgado y/o estómago, para tener las condiciones óptimas para llevar a cabo esta experimentación (pH, tiempo, concentración, temperatura, etc.) controlando las variables y utilizando un modelo similar al del organismo.
- ⇒ Determinar los constantes de absorción, el tiempo de absorción y los coeficientes de permeabilidad de los compuestos.

2. HIPOTESIS:

“Si los compuestos LQM’s 302, 318, 319 y 334 son solubles en soluciones ácidas se encontrarán disueltos a $\text{pH} = 2$, lo cual facilitará el paso a través de la membrana y al conocer su capacidad de permeación de los compuestos, así como su solubilidad; será posible situarlos de acuerdo a la clasificación biofarmacéutica”.

3. GENERALIDADES.

3.1. ANTECEDENTES.

Todos los medicamentos llevan a cabo una serie de procesos dentro del organismo, estos procesos en conjunto reciben el nombre de farmacocinética; a principios de los años 70, “la OMS definió la Farmacocinética como el estudio de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos”, reciben el nombre de ADME por sus iniciales. Es importante desarrollar un modelo farmacocinético para la predicción del comportamiento de los fármacos en el organismo.

Los parámetros principales que nos van a indicar el comportamiento del fármaco, son¹:

Factores fisicoquímicos:	Factores fisiológicos:
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Solubilidad.</i> • <i>Estabilidad en pH acuoso.</i> • <i>Gradiente de concentración.</i> • <i>Cargas electrostáticas.</i> • <i>Forma y tamaño de molécula.</i> • <i>Coefficiente de partición lípido/agua del fármaco.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Temperatura corporal.</i> • <i>Volumen de distribución.</i> • <i>El coeficiente de partición.</i> • <i>El tiempo de vida media.</i> • <i>Condición del tejido en el sitio de administración.</i> • <i>Flujo sanguíneo en los tejidos.</i> • <i>La afinidad hacia las proteínas plasmáticas.</i>

El desarrollo de éste proceso es fundamental ya que todos estos factores dependen de la velocidad de absorción²:

- *La rapidez de acción de los fármacos.*
- *La vía de administración del fármaco.*
- *La dosis del fármaco.*

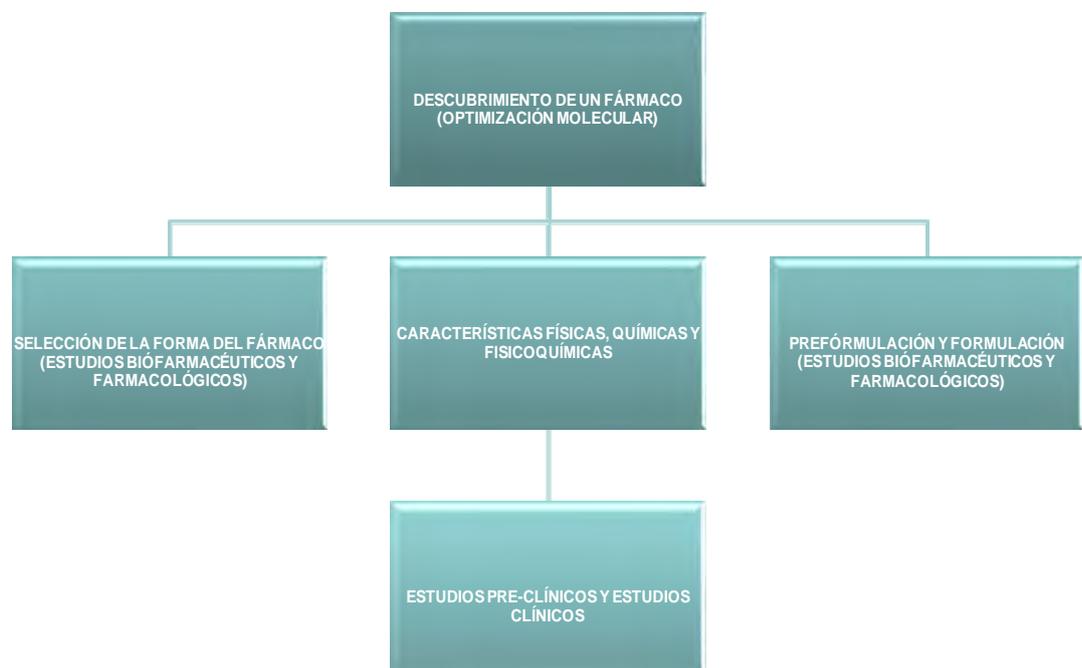
La velocidad de absorción se obtiene a través de la constante de velocidad que es “el cambio de la concentración del fármaco en un compartimiento”, por lo regular las constantes de velocidad son de primer orden; ya que depende de la concentración del fármaco en los diferentes compartimientos³. Éste estudio se puede realizar de 2 formas, *in Vitro* e *in Vivo* utilizando animales de experimentación, o partes de ellos, como tejido, piel, etc. para encontrar la vida media biológica de los fármacos; en diversos órganos y así conocer su biodisponibilidad, no se asegura la integridad y viabilidad de la membrana durante todo el experimento si se prolonga excesivamente, se debe de utilizar el tejido solo por un periodo corto de tiempo para que sea estable y de acuerdo a las condiciones del organismo; para conservarla de la mejor forma, y obtener los mejores resultados⁴.

La sangre y la orina son los fluidos que se utilizan para medir la concentración del fármaco ya que éstos son fáciles de obtener y manipular, el modelo más común es el “modelo abierto de un compartimiento”,⁵ ya que supone la misma concentración del fármaco dentro de todo el organismo. Las micro emulsiones son “soluciones coloidales transparentes y termodinámicamente estables, que aumentan la capacidad de solubilidad de los fármacos”, lo que permite una mejor absorción hacia los tejidos ya que éstas llevan como vehículo surfactantes o tensoactivos que van a aumentar la permeabilidad de las membranas.⁶

3.2. APLICACIONES.

Un estudio farmacocinético *in vitro* reduce los estudios *in vivo* para no experimentar con animales sanos; aumenta la calidad del producto, ya que se observa más claramente todos los factores que influyen y la forma en que lo hacen, basándose en principios científicos y en pruebas prácticas, que ayudan a desarrollar una prefórmula, realizar estudios preclínicos, primero con animales, por último se desarrolla en personas. Es por esto que para sacar cualquier medicamento al mercado es necesario hacer éste tipo de investigación.

La predicción de la capacidad de absorción intestinal y estomacal de los fármacos administrados por vía oral; se requiere para el desarrollo de un nuevo medicamento; durante sus diferentes etapas de investigación y descubrimiento.



Esquema 1. Importancia de los estudios biofarmacéuticos y farmacológicos.

3.3. BASES TEÓRICAS.

3.3.1. Farmacocinética.

La farmacocinética se encarga del estudio de todo el proceso que sigue un fármaco a través del organismo desde la administración local o sistémica, absorción a través de barreras biológicas (paso del fármaco a través de las membranas hasta llegar a las células sanguíneas) y la distribución (viaja por el torrente sanguíneo hacia los tejidos donde ejerce su efecto farmacológico). Después se da la biotransformación del compuesto para que se degrade, en esta etapa se pueden formar metabolitos tóxicos, se debe de evitar su formación para no generar, ninguna reacción secundaria y se lleve a cabo la eliminación sin ningún tipo de daño hacia la salud del paciente⁷.

El objetivo general de la Farmacocinética puede resumirse en traducir los datos o cifras a parámetros significativos y usar datos simplificados para realizar predicciones; por lo que es preciso la aplicación de modelos y ecuaciones matemáticas a los resultados obtenidos en los estudios. Cada fármaco lleva una farmacocinética completamente distinta, de acuerdo a sus propiedades y a su comportamiento dentro del organismo.⁸

3.3.1.1. Biodisponibilidad del fármaco.

La administración de un fármaco es la manera en la cual un fármaco es introducido al organismo, esta debe ser la vía de administración en la cual se encuentre más disponible; es decir donde se facilite su absorción, dentro del organismo. La absorción es el paso del fármaco desde su forma de dosificación y vía de administración; hasta llegar al sistema circulatorio.

Solo en un caso el paso de la absorción no se lleva a cabo y éste es cuando se administra por vía intravenosa o intravascular, no siempre se absorbe todo el fármaco, lo más común es que cierta cantidad de la administrada se pierda; la parte que se absorbe se conoce como fracción biodisponible con valores teóricos de 0 (ninguna absorción = 0 %) a 1 (absorción completa = 100 %). La vía de administración intravascular permite siempre una biodisponibilidad de 1; para que un fármaco ejerza una acción sistémica, debe absorberse una vez que ha sido liberado de su forma de dosificación en el sitio donde ejerce su acción (vía extravascular), donde su biodisponibilidad es menor a 1.⁹

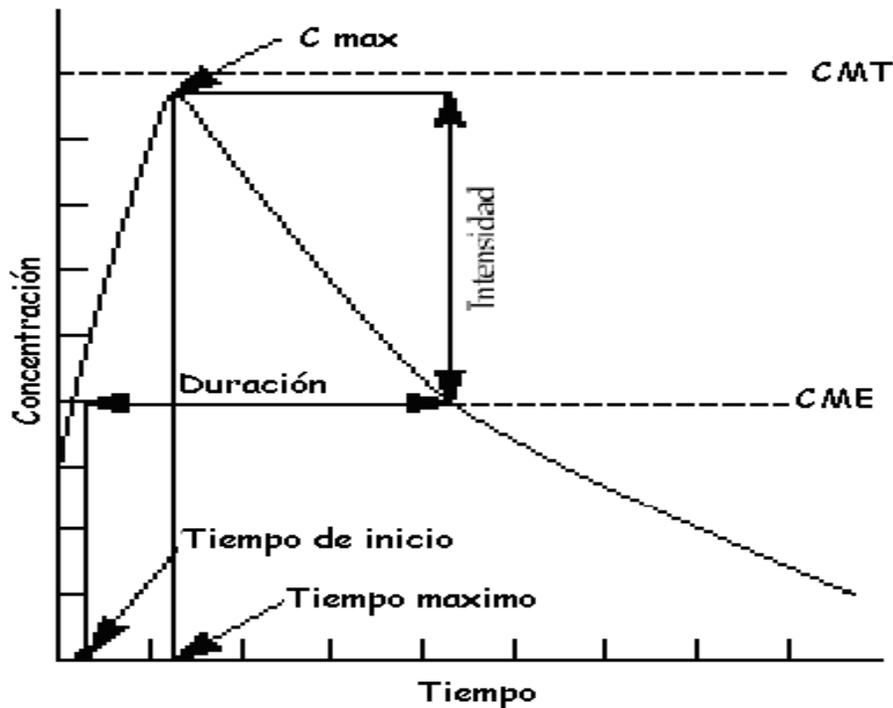
En la práctica clínica la absorción de un fármaco se expresa en función de dos parámetros, la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo en el que se alcanza dicha concentración ($t_{m\acute{a}x}$). Estos valores expresan la capacidad para alcanzar la circulación sistémica y dan como resultado el equilibrio dinámico entre los diferentes procesos cinéticos que regulan la disposición del fármaco en el organismo; por lo tanto para la absorción son importantes los parámetros que se refieren a la velocidad y al grado de absorción (biodisponibilidad), la primera es un paso limitante del inicio del efecto terapéutico, mientras que el segundo se relaciona con la magnitud de dicho efecto, ya que, en la gran mayoría de los casos, hay una correlación directa entre la cantidad de droga que llega a la sangre y la cantidad que llega al sitio de acción, habiendo concordancia con el efecto a lograr (relación dosis-efecto)¹⁰.

3.3.1.2. Distribución del fármaco.

El proceso de distribución es rápido y se caracteriza por ser reversible, así el fármaco presente en la sangre se encuentra en estado de equilibrio con el fármaco en otros líquidos, tejidos u órganos de distribución; como consecuencia de éste equilibrio, los cambios de concentración del fármaco en la sangre indican cambios de concentración en otros compartimentos¹¹.

El método para demostrar la existencia de compartimentos de distribución consiste en el esquema 2 un grafico semilogaritmo de concentración plasmática vs. tiempo luego de administración IV; el número de funciones exponenciales de la ecuación de la curva corresponde al número de compartimentos demostrables. Esto proviene del hecho que cada compartimento tiene su propia velocidad de penetración característica, de modo que el equilibrio de su concentración con la del plasma ocurre en un tiempo característico¹².

La disminución del nivel sanguíneo en las etapas preliminares, refleja la desaparición de la droga hacia todos sus compartimentos; además de la desaparición por metabolismo y excreción, una vez alcanzado el estado de equilibrio la disminución del nivel plasmático depende principalmente del metabolismo, así como de la excreción, por lo que la pendiente es cada vez menor. La cuantificación de la concentración del fármaco en el organismo a diferentes tiempos tras su administración, origina una curva de concentraciones plasmáticas-tiempo como en el esquema 2, que cuando la administración es extravasal presenta la siguiente forma:



Esquema 1. Curva de Concentraciones vs. Tiempo.¹²

La curva de concentraciones plasmáticas (C_p) vs. Tiempo (t), muestra directamente los valores de dos parámetros cinéticos, la concentración máxima (C_{max}), que depende de la dosis administrada y de la relación entre las constantes de velocidad de absorción (K_a) y eliminación (K_e); el tiempo necesario para que se alcance C_{max} , (t_{max}) que es proporcional a la velocidad media de absorción.

El área bajo la curva (ABC), se relaciona con la cantidad de fármaco que accede inalterado a la circulación sistémica, y el tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$), que es el tiempo que tarda la concentración plasmática en reducirse a la mitad. Los procesos cinéticos experimentados por un fármaco en el organismo ocurren con el tiempo, al principio en la parte ascendente de la curva, predomina la absorción y posteriormente el predominio corresponde a los procesos de distribución y eliminación (metabolismo y excreción) que en conjunto reciben el nombre de disposición.

La relación de la curva de concentraciones plasmáticas con algunos parámetros farmacodinámicos se nota en la ilustración donde CME y CMT representan la concentración mínima eficaz y la concentración máxima tolerada, respectivamente; puesto que, realmente, el efecto farmacológico está en relación con las concentraciones en el lugar de acción y la concentración plasmática está en equilibrio con la concentración en tejidos, la CME representa a la concentración mínima necesaria en los receptores para que se produzca el efecto farmacológico deseado; de forma similar, la CMT representa la concentración a la cual se comienzan a manifestar los efectos indeseables; el tiempo de inicio corresponde al tiempo necesario para que se alcance la CME.

3.3.1.3. Biotransformación del fármaco.

El metabolismo (biotransformación) de fármacos se realiza, en gran parte en el hígado; en éste órgano hay reacciones químicas que convierten el fármaco en una sustancia menos soluble y más ionizada, por lo tanto, menos absorbible, menos reutilizable un ejemplo es la reabsorción intestinal a partir de la bilis; aunque puede darse el caso de una transformación metabólica necesaria para que ocurra el efecto biológico. Un proceso de bioactivación, donde el metabolismo medicamentoso puede inhibirse o estimularse debido a enfermedades sistémicas y locales, malformaciones o exposición previa a otros fármacos, es un proceso irreversible¹³.

3.3.1.4. Eliminación del fármaco.

La transferencia del fármaco de la sangre a la orina o a otros compartimentos de excreción, así como los procesos de biotransformación de los fármacos en el plasma o tejidos a productos metabolitos, la mayoría de las veces inactivos, suelen ser irreversibles. Esta irreversibilidad da origen al proceso llamado eliminación, que comprende todos aquellos mecanismos ya sea por excreción urinaria, metabolismo o eliminación por otras vías¹⁴.

La eliminación de un fármaco se efectúa por medio del metabolismo, el almacenamiento y la excreción; todos estos procesos tienden a disminuir los niveles extracelulares del fármaco. El proceso más frecuente es el de la excreción a través de los riñones, sistema biliar, intestino y en ocasiones, los pulmones; la excreción renal de fármacos representa el mecanismo predominante de eliminación; las diferentes porciones de la nefrona (unidad funcional del riñón) realizan funciones de filtración, secreción y excreción diferencial las cuales pueden alterarse por cambios fisiológicos o patológicos¹⁵.

La acidificación de la orina tiene como consecuencia una mayor ionización del fármaco y aumento en la eliminación de sustancias con pH —grado de acidez— elevado (bases débiles); una aplicación de éste principio sería administrar bicarbonato (un álcali) para acelerar la eliminación de barbitúricos (que son ácidos) en casos de intoxicación y restablecer el equilibrio ácido-básico. Los procesos de eliminación de un fármaco pueden expresarse mediante el aclaramiento (Cl), relación existente entre la velocidad de eliminación (K_e) y la concentración en plasma (C), ($Cl = K_e/C$); esta relación permanece constante para cada fármaco y expresa el volumen de plasma que es depurado del fármaco por unidad de tiempo¹⁶.

Cuando se considera el proceso de eliminación global de un fármaco se hace referencia a la aclaración plasmático (Clp), que es la suma de diferentes aclaramientos (renal, metabólico, biliar, etc.). El ritmo de absorción y eliminación de un fármaco depende de estos procesos y determina la frecuencia de administración del medicamento; la farmacocinética integral utiliza el concepto de vida media, que es el tiempo necesario para que la concentración sanguínea del fármaco se reduzca a la mitad, al administrar un fármaco se trata de establecer una concentración terapéutica en los fluidos biológicos; esta concentración eficaz, es una propiedad característica del fármaco sobre la cual no tenemos control¹⁷.

3.3.2. Elaboración de modelos farmacocinéticos.

La farmacocinética se caracteriza fundamentalmente por la construcción de modelos que representan un sistema de compartimentos en el organismo y en los cuales se supone que se distribuye el fármaco, después de su introducción al torrente sanguíneo por un proceso de absorción o con una inyección intravenosa. Se deben de tener en cuenta las siguientes bases teóricas para la elaboración de modelos farmacocinéticos: la ventaja de poder usar el razonamiento matemático, permite definir un cierto número de parámetros a los cuales se les puede atribuir diferentes valores numéricos con el objeto de aproximarse al máximo a los hechos biológicos.

Para utilizar un modelo monocompartimental; la eliminación del medicamento se realizara en el organismo según una cinética de primer orden; es decir, la velocidad de eliminación del medicamento en el organismo es proporcional en cualquier instante a la cantidad del medicamento presente en el organismo en ese instante.



Esquema 2. Proceso cinético de orden 1.⁸

Al realizar estudios de farmacocinética In Vitro la interpretación de los datos experimentales, se realiza con la ayuda de modelos basados en compartimentos, como el de la Esquema 3 y la utilización de estos modelos supone al organismo dividido en diferentes regiones, unidas entre sí, en las cuales el fármaco se distribuye después de su entrada al torrente circulatorio.

El modelo más simple, es el que se muestra en la Esquema 3 y precisamente el utilizado más comúnmente, es el MAUC (modelo abierto de un compartimento), el término “abierto” se refiere al hecho de que existe un sentido unidireccional de entrada y salida; es decir de absorción y eliminación; éste modelo supone al organismo como un todo homogéneo en el cual se distribuye el fármaco en forma semejante y casi instantánea cuando entra ya sea por un proceso de absorción o bien directamente por medio de una inyección intravenosa.

En el Esquema 3 se muestra K_a , que es la constante que representa la velocidad de absorción del fármaco dentro del organismo y K_e , la constante que representa la velocidad de eliminación del fármaco, esta es una manera muy sencilla de simular el proceso que sigue el fármaco en el organismo, mediante un compartimento; el cual es un área de distribución del fármaco.

Existen diversos tipos de modelos como los bicompartimentales, es decir de 2 compartimentos, el área de estos puede tener volúmenes aparentes que exceden sus verdaderos volúmenes; debido a las altas concentraciones en los sitios extravasculares resultantes de la unión a proteínas tisulares y dependiendo del grado de vascularidad de los tejidos.

Se han encontrado los diferentes tipos de compartimentos¹⁰:

- 1) **Plasma.**
- 2) **Tejidos altamente perfundidos:** glóbulos rojos, corazón, pulmones, sistema hepatoportal, riñones, glándulas, cerebro y médula espinal.
- 3) **Tejidos pobremente perfundidos:** músculo y piel.
- 4) **Tejido adiposo,** incluyendo médula.
- 5) **Tejidos con escasa perfusión:** huesos, dientes, ligamentos, tendones, cartílagos y cabello.

En la práctica clínica aunque existen varios compartimentos, es difícil demostrar experimentalmente más de tres¹⁰:

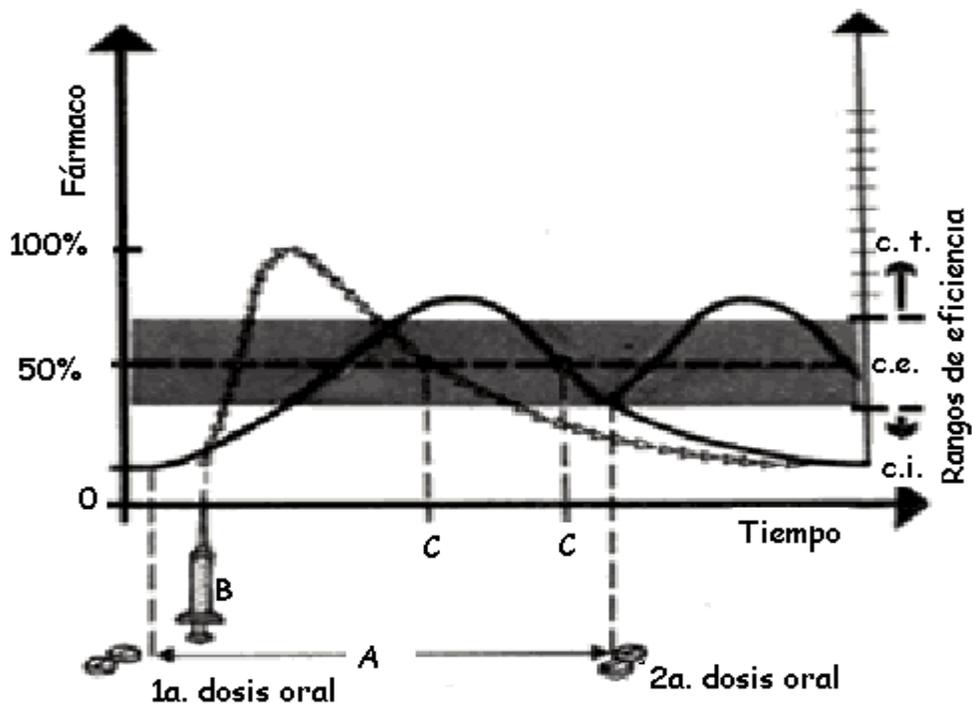
a) **El central:** constituido por el agua plasmática, intersticial e intracelular fácilmente accesible, es decir la de los tejidos ricamente irrigados, como corazón, pulmón, hígado, riñón, glándulas endocrinas, cerebro y médula espinal.

b) **El periférico superficial:** constituido por el agua intracelular poco accesible, es decir la de los tejidos pobremente irrigados, como el tejido adiposo, piel, músculos y médula ósea.

c) **El periférico profundo:** constituido por los depósitos tisulares a los que el fármaco se une más fuertemente y de los que se libera más lentamente.

3.3.3. Dosificación del fármaco.

Cuando el nivel de fármaco en el suero es insuficiente la respuesta deseada no ocurre, por el contrario si el nivel del fármaco es más elevado aparecen signos de toxicidad; es por esto que es necesario conocer la dosis indicada para cada fármaco. Así éste puede realizar su mecanismo de acción en el tiempo correcto, en caso necesario la dosis debe ser unitaria; ya que cada individuo es diferente y reacciona de distinta manera.



Esquema 3. Niveles del fármaco VS tiempo¹¹

Los horarios de dosificación comprenden dos variables: la magnitud de la dosis única y la frecuencia con que se administra (intervalo entre las dosis). Las fluctuaciones de los niveles séricos que pueden observarse entre las administraciones son determinadas por varios factores; para un ritmo dado de eliminación, mientras más rápida es la absorción, más grande es la fluctuación, si la absorción es rápida, los niveles sanguíneos se elevan al principio, pero disminuyen también relativamente rápido y viceversa, se representa la evolución temporal de las concentraciones sanguíneas del fármaco administrado por vía intravenosa (curva punteada) o por vía oral (curva continua).

En el esquema 4 en la escala de la izquierda se observan los porcentajes de la concentración sanguínea del fármaco y en la de la derecha la escala de eficacia, indicando el rango de concentraciones efectivas (c. e.) o terapéuticas (franja sombreada), así como las concentraciones insuficientes (c. i.) y las tóxicas (c. t.) del fármaco.

La administración intravenosa produce niveles máximos en tiempos cortos, mientras que la administración oral produce niveles del fármaco que aumentan más lentamente y que alcanzan concentraciones menores. El intervalo entre las tomas, indicado con la letra A, está determinado por la vida media del fármaco, representado por la letra C, señala el tiempo en el que la concentración sanguínea de la droga disminuye a la mitad (50%).

El proceso cinético es de orden cero o infusión, cuando la administración es continua a velocidad constante y cuando la velocidad de eliminación desde el sistema es de tipo exponencial, la cantidad de fármaco tiende a acumularse hasta alcanzar un estado de equilibrio estacionario, que significa que la cantidad de fármaco en el sistema ha aumentado hasta un valor máximo, que se mantiene constante, lográndose un nivel constante o estacionario, en el cual la velocidad de eliminación se iguala con la velocidad de entrada del fármaco al volumen de distribución; el estado estacionario puede ser alterado si se modifica la velocidad a la cual se administra la infusión y por cambio de la constante de velocidad de eliminación o ambos parámetros; entonces será de orden cero.

3.3.4. *Parámetros farmacocinéticos.*

∞ **Volumen de distribución (Vd):**

Es el volumen aparente del fármaco que se disuelve en el organismo, es igual a la dosis administrada entre la concentración plasmática a tiempo cero. Relaciona la cantidad de fármaco en el organismo con su concentración (C) en sangre o plasma y depende de dónde se realice su medición.

Es el volumen de líquido que se requiere para contener todo el fármaco presente en el organismo, con la misma concentración que en sangre o plasma; a lo que se le denomina volumen aparente de distribución y es un parámetro utilizado para poder expresar las características de distribución de un fármaco. Se debe tener en cuenta a la hora de interpretar las concentraciones de fármaco en el organismo en relación con la dosis administrada, ya que es el factor que relaciona la cantidad de fármaco en el organismo (Qt) con la concentración (Ct) determinada a un tiempo dado (t). Se obtiene de la siguiente manera: $Vd = Qt/Ct$.³

No tiene un significado fisiológico en términos de espacio real, es decir no se refiere a ningún compartimento identificable del cuerpo; es solo el tamaño de un compartimento hipotético necesario para contener la cantidad de fármaco existente en el organismo si todo él presentase la misma concentración que se encuentra en plasma. El principal factor que puede afectar al Vd es el grado de fijación a las proteínas plasmáticas y tisulares, un ejemplo es cuando se presenta una disminución en la unión a las proteínas tisulares; esto ocasiona una disminución del Vd por aumento de la concentración plasmática; por el contrario una disminución en la unión a las proteínas plasmáticas tenderá a incrementar el Vd, como consecuencia de un aumento de la fracción libre de fármaco que es la fracción capaz de distribuirse y eliminarse¹¹.

Área Bajo la curva (ABC):

Área graficada bajo una curva de concentración plasmática de fármaco respecto al tiempo, después de una sola dosis o durante un intervalo sencillo de dosificación; es importante para calcular la biodisponibilidad de un medicamento administrado por cualquier vía diferente a la IV.³

∞ Constante de absorción(Ka):

Es la velocidad a la cual se absorbe el fármaco dentro del organismo, a los tejidos y a los órganos, etc. La Velocidad de absorción depende de la concentración o dosis del fármaco, ya que a mayor cantidad se tenga presente el principio activo; mayor va ha ser su capacidad de absorberse.

∞ Constante de eliminación (Ke):

Es la velocidad a la cual se elimina el fármaco dentro del organismo.

∞ Depuración o aclaración (Cl):

Constituye uno de los parámetros farmacocinéticos de mayor importancia, especialmente en su proyección clínica. La depuración de un fármaco da información sobre la capacidad del organismo para eliminar los fármacos, así como sus modificaciones en determinadas situaciones fisiopatologías.

∞ Dosis.

Cantidad que se administra de un fármaco a un paciente, casi siempre se da en mg/kg. De peso para tener una dosis terapéutica.

∞ Tiempo de vida media.

Es el tiempo necesario para eliminarse la mitad del fármaco en el organismo vivo.

3.3.5. *Absorción.*

Es la primera etapa de la farmacocinética, comprende el ingreso de la molécula al organismo; desde su sitio de administración inicial hasta alcanzar la circulación sistémica, es decir llegar al torrente sanguíneo. Estudia la penetración de los fármacos, así como los factores que condicionan la absorción por cada vía y los factores que pueden alterarla¹⁰.

La velocidad de absorción K_a y el grado de absorción (biodisponibilidad) son muy importantes; la primera es un paso limitante del inicio del efecto terapéutico. El grado de absorción se relaciona con la magnitud de dicho efecto, en la gran mayoría de los casos, hay una correlación directa entre la cantidad de droga que llega a la sangre y la cantidad que llega al sitio de acción, por lo que hay concordancia con el efecto a lograr (relación dosis-efecto).

Se deben de hacer algunas determinaciones previas antes de determinar la absorción como:

- ❖ Solubilidad del principio activo a diferentes condiciones de temperatura y medios de disolución.
- ❖ Preparación, purificación y caracterización de los principios activos.

Los determinantes de la absorción son los descritos para todo paso de sustancias a través de membranas, los cuales son¹:

1) Velocidad de absorción. Depende de la concentración o dosis del fármaco, ya que a mayor cantidad se tenga presente el principio activo; mayor va a ser su capacidad de absorberse.

2) Sitio de Absorción. Dependiendo el sitio, el fármaco va a requerir diferentes características, para absorberse. Es el lugar en el cual se va a absorber el fármaco, de acuerdo al órgano blanco.

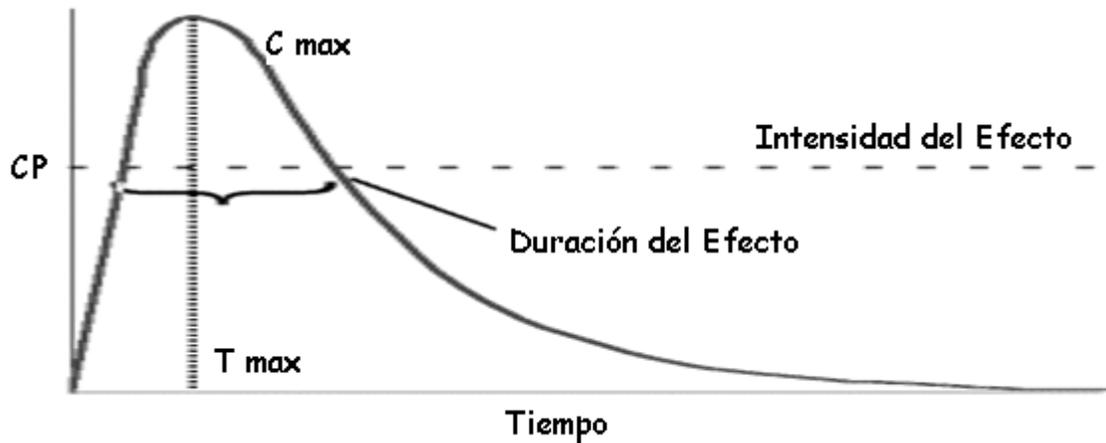
3) Superficie. La mayor fracción de absorción se da a nivel del intestino delgado, por que posee una mayor superficie. Es la longitud del tejido que se encuentra expuesta, a mayor superficie que está en contacto con el fármaco; mayor absorción. En cuanto mayor es el área de contacto mayor es el grado de absorción del fármaco.

4) Flujo sanguíneo. Es la circulación de la sangre a través del organismo, una gran vascularización permite el paso más rápido a la circulación, en especial en los casos en los que los vasos implicados presenten una gran permeabilidad.

5) Vía de administración. Las vías de administración sistémicas o inmediatas, son las que no pasan por el proceso de absorción, donde el fármaco llega al torrente sanguíneo; en cambio la vía mediata el fármaco debe atravesar membranas, para poder absorberse (vía oral, vía intramuscular, vía subcutánea o vía tópica).

Los determinantes de la absorción del Fármaco, son⁶ :

- 1. Solubilidad:** la del fármaco como tal y la influencia de la “forma farmacéutica”.
- 2. Concentración:** un mayor gradiente de concentración favorecerá los procesos de transferencia.
- 3. Transferencia de sustancias a través de membranas:** mediado por procesos ya conocidos.
- 4. Difusión.** Es el proceso en el que se realiza la transferencia de masa de moléculas, dada por movimientos moleculares aleatorios, se asocia a un gradiente de concentración.
- 5. Transporte Activo.** Se da por difusión molecular.
- 6. Factores Físico-químicos.**



Esquema 4. Etapas de absorción y eliminación en la vía oral¹⁷.

La absorción representa un proceso positivo, que aumenta la concentración plasmática del fármaco, en contraposición a mecanismos de metabolismo, excreción y en algunos casos, de distribución. Como puede observarse en el Esquema 5, esto conlleva a que siempre se presente una suma algebraica entre procesos positivos y negativos, llevando a la consecución de una curva que posee una rama ascendente, que representa el período de tiempo en el cual los procesos positivos sobrepasan a los negativos; esta “fase” termina al alcanzar un máximo que se denomina justamente Concentración Plasmática Máxima ($C_{p_{max}}$), momento a partir del cual comienza la rama descendente de la curva (C_{p0}).

En general (aunque no siempre) hay una buena correlación entre los niveles que un fármaco alcanza en la sangre y los que se logran en el sitio específico de acción; por lo que es común que el momento en el que se alcanza la concentración C_{p0} coincida con el máximo efecto del fármaco. No todos los niveles plasmáticos de un fármaco son necesariamente suficientes para promover la aparición de una respuesta, necesitándose un mínimo de concentración para que tal cosa ocurra; esta concentración mínima requerida para la producción de un efecto significativo se conoce como Concentración Umbral; el rango de efecto que media entre el primero mostrado (al alcanzar el umbral) y el máximo posible se conoce como Intensidad del Efecto.

La Duración del Efecto farmacológico se obtiene por la determinación del tiempo que media entre el momento que se rebasa la concentración umbral al subir la concentración plasmática y el momento en el que alcanza la máxima concentración de la droga en plasma disminuye por debajo del umbral. Estos aspectos generales son aplicables a un gran número de drogas, pero existen excepciones, como el caso de los fármacos que producen metabolitos activo o aquellos que “desaparecen” del plasma, pero siguen concentrados en el sitio de acción.

Una vez que la sustancia es absorbida en el torrente sanguíneo, se distribuye por el organismo pero en forma unida a una proteína transportadora como lo es la albúmina; si el fármaco no se separa de estas proteínas no podrá abandonar el torrente sanguíneo y no llegará a su(s) sitio(s) de acción, los fármacos competirán con otras moléculas endógenas contenidas en la sangre (ejemplo: hormonas, bilirrubina, vitaminas, iones, etc.) por los sitios de transporte con consecuencias potencialmente peligrosas de acumulación. El paso de fármacos a través de las barreras biológicas está condicionado por las características fisicoquímicas de la sustancia, tamaño o peso molecular; grado de ionización (carga eléctrica) y liposolubilidad (capacidad de disolverse en las grasas).³

Una sustancia pequeña poco ionizada y muy liposoluble atraviesa rápidamente las membranas celulares; tal es el caso de la mayoría de los anestésicos volátiles, agentes broncodilatadores o solventes orgánicos. La transferencia (translocación) de fármacos a través de barreras membranales puede realizarse por filtración, difusión, transporte activo, pinocitosis o fagocitosis (procesos en los que la célula envuelve e introduce moléculas a su interior)².

La diferencia de estos procesos depende del tamaño de la droga que se transporte, su solubilidad y la necesidad de acarreadores membranales; para la filtración y la difusión, la velocidad de transferencia depende también del gradiente de concentración del fármaco en ambos lados de la membrana.

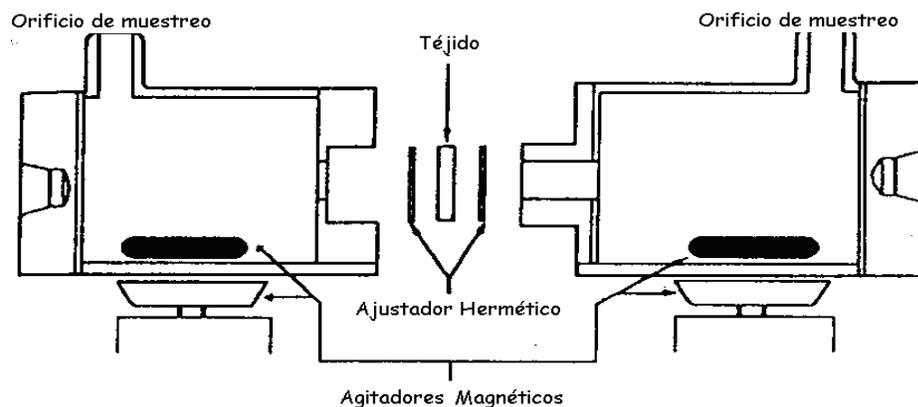
En el caso del transporte activo, una sustancia puede ser introducida al espacio intracelular independientemente de su tamaño o liposolubilidad; en esta situación se requiere de cierta especificidad estructural; ya que éste transporte activo es un mecanismo saturable y dependiente de energía¹⁸.

Es necesario considerar la biodisponibilidad entendida como la facilidad con la que un fármaco se incorpora a sus sitios de acción; aquí se incluye la presentación farmacéutica en la que se ofrece el medicamento; la absorción no es la misma para una tableta que para una cápsula, que para una preparación de liberación prolongada.

En éste último caso, la sustancia activa se halla incluida en una matriz de degradación lenta que va liberando gradualmente el principio activo, y como la dosis que se administra representa varias dosis únicas, existe el peligro potencial de una liberación masiva del fármaco contenido en la preparación y los consecuentes efectos tóxicos por sobredosis¹⁹.

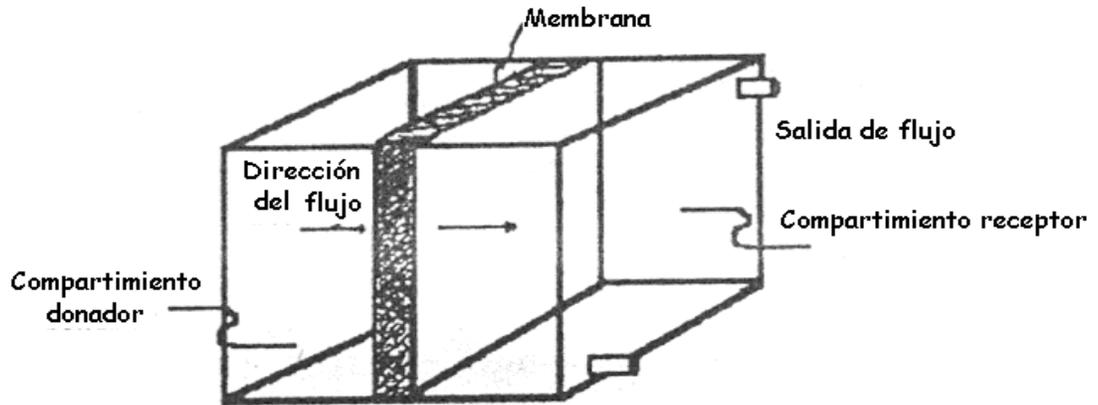
3.3.5.1. Modelos experimentales para evaluar la absorción.

Existen varios modelos que se utilizan para evaluar la absorción, pero todos se basan principalmente en controlar la agitación, la temperatura, el tejido en óptimas condiciones, cuentan con orificios de muestreo y ajustadores herméticos, a continuación se muestran algunos modelos:

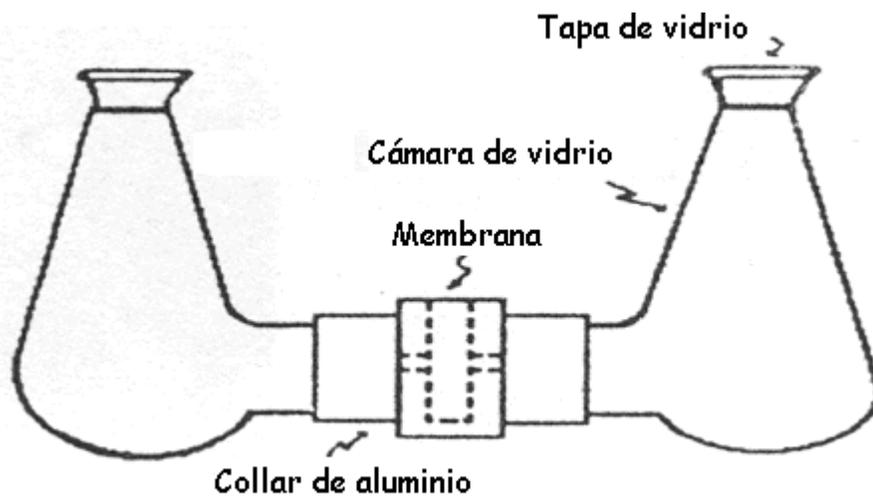


Esquema 5. Celda de difusión horizontal.²⁰

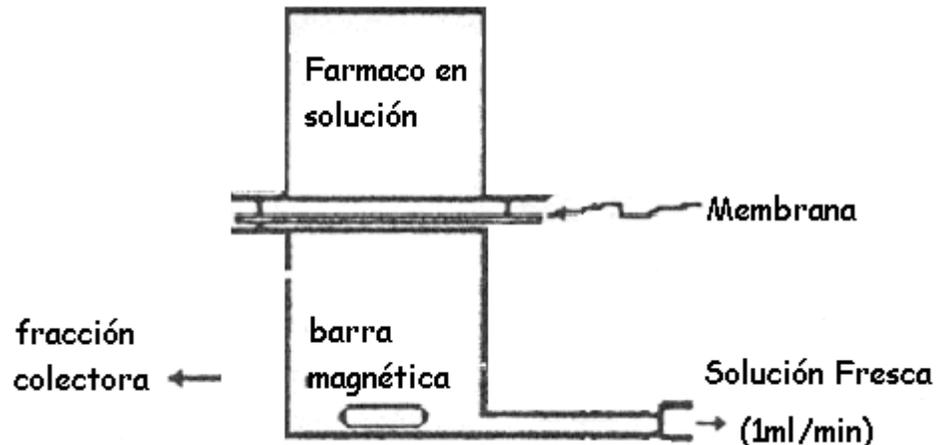
Consta de 2 cámaras que se sellan herméticamente, así como de agitados magnéticos.



Esquema 6. Celda de difusión consta de un comportamiento donador y un compartimiento receptor (salida del flujo) donde se toma la muestra.²¹



Esquema 7. Celda de difusión de Wurster y col. es práctico para construirlo en el laboratorio consta de 2 matraces Erlenmeyer que se conectan por medio de un collar de aluminio, la membrana se coloca en medio; donde cada uno tiene su tapa de vidrio.²¹



Esquema 8. Celda de difusión de Aguiar y Weiner.

La solución donadora se encuentra en la parte superior de la celda y la membrana se coloca en medio y abajo se encuentra la solución receptora con un orificio para sacar la fracción colectora; también consta de una barra magnética y posee un flujo constante de 1 ml./ min. de solución fisiológica²¹.

3.3.5.2. Primera ley de Fick²¹.

Mediante esta ley se puede determinar la permeabilidad efectiva y por lo consiguiente la velocidad de absorción, de la siguiente manera¹:

$$J_w = P_w \cdot C_w$$

w = pared intestinal

J_w = transporte de masas a través de la pared intestinal

P_w = permeabilidad efectiva

C_w = concentración del fármaco en la membrana

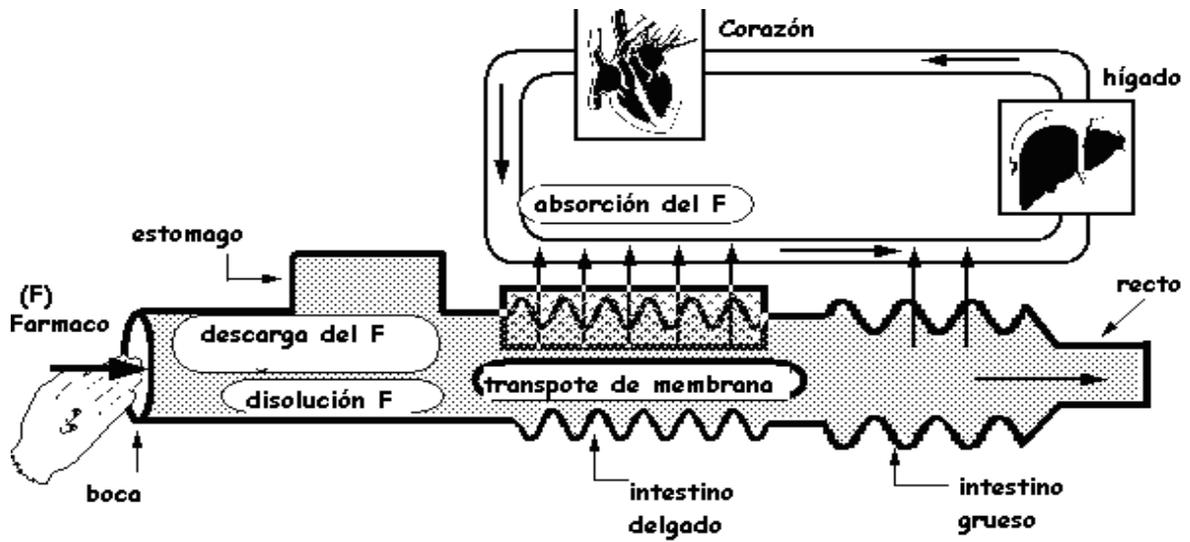
A = área superficial

Velocidad de absorción = dm/dt

La ecuación la podemos reducir como sigue: $dm/dt = P_w C_w / A$

Solubilidad y permeabilidad son variables fundamentales en el transporte de masas a través de una membrana.

En el Esquema 10 se muestra el paso del fármaco a través del organismo desde su administración por vía oral, primero se disuelve en el estómago, después llega al intestino delgado donde se absorbe por el mecanismo de transporte de membrana y luego pasa al sistema circulatorio hasta encontrar su órgano blanco; viaja hacia los pulmones y después al corazón, el fármaco que no se absorbe pasa al intestino grueso eliminándose por el recto.



Esquema 9. Movimiento del fármaco a través del tracto gastrointestinal.²²

3.3.5.3. Factores que afectan la absorción.

- El efecto de los antiácidos¹⁵:

Aluminio: disminuye la velocidad de absorción, ya que disminuye la velocidad del vaciamiento gástrico y retarda la llegada del fármaco al intestino.

Magnesio: aumenta la velocidad de absorción, ya que aumenta la motilidad gástrica y apresura la llegada del fármaco al intestino.

❖ Promotores de absorción ²³:

Incrementan la permeación membranal de una sustancia, por lo que disminuyen la barrera de permeabilidad, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas del fármaco, sitio de administración, grosor de la membrana, morfología celular, actividad enzimática, composición lipídica y proteínica, factores estructurales y funcionales; de la naturaleza del vehículo en el que se administre el fármaco – promotor, etc.

Este debe tener las siguientes características, como ²³:

- | | |
|---|----------------------------------|
| ☞ No tóxico. | ☞ Acción rápida y reversible. |
| ☞ No irritante. | ☞ Absorción sistémica nula. |
| ☞ No provoca alergias. | ☞ Químicamente estable e inerte. |
| ☞ Farmacológicamente inerte. | |
| ☞ Inoloro e incoloro. | |
| ☞ Compatible con los componentes de la formulación. | |

➤ Existen 5 mecanismos de acción de los promotores ^{23,24}:

- ⇒ Cambio reológico del moco.
- ⇒ Incremento de la fluidización de la bicapa lipídica de la membrana al disminuir la temperatura de transición vítrea.
- ⇒ Alteración de los componentes involucrados en la formación de enlaces intercelulares.
- ⇒ Inhibición de la barrera enzimática actividad proteolítica deficiente.
- ⇒ Incremento de la actividad termodinámica del fármaco.

Los promotores de absorción son no polares (azona, ácido oleico), de baja polaridad (dimetilsulfóxido, dimetilformamida, pirrolidonas), polaridad media (decilmetilsulfóxido), alta polaridad (propilenglicol) y de acuerdo a su naturaleza química son solventes, surfactantes y otros.

❖ Sustancias que disminuyen la cantidad de fármaco absorbido¹⁰:

Sustancias adsorbentes.

- Promazina.
- Tetraciclina.
- Digoxina.
- Doxiciclina.
- Rifampicina.
- Lincomicina.

3.3.5.4. Factores que regulan la absorción de los fármacos por vía oral.

❖ **Propios del fármaco**¹:

- ✓ **Solubilidad.** Se requiere de que el fármaco éste disuelto en la fase acuosa para ser absorbido, por que el cuerpo humano esta compuesto principalmente de agua.
- ✓ **Gradiente de concentración.** Se da por la diferencia de la concentración en ambos lados de la membrana, es muy importante, ya que la difusión pasiva se basa principalmente en el flujo del principio activo que se da por la diferencia de la concentración en ambos lados de la membrana.
- ✓ **Liposolubilidad.** Entre más liposoluble es el fármaco es más fácil de absorberse en el organismo por sus características similares a la de la membrana semipermeable, además de que aumenta el volumen de distribución y el grado de disociación; es por esto que son más fácil de absorberse los compuestos liposolubles.
- ✓ **Coefficiente de partición.** A mayor coeficiente de partición, mayor volumen de distribución; por lo tanto se absorbe mejor el fármaco en el organismo. Los fármacos idóneos son aquellos que tienen un coeficiente de reparto entre 10 y 100 n-octanol/agua.
- ✓ **Tamaño molecular.** A menor peso molecular, mayor volumen de distribución; por lo tanto mayor cantidad de fármaco absorbido.

- ✓ **Carácter ácido - base.** Es muy importante ya que de acuerdo a el p H del medio, es como se comportan de acuerdo a su naturaleza y así ser inmiscibles en el medio o solubles.
- ✓ **Grado de ionización.** El compuesto altamente ionizado es hidrosoluble, por lo tanto un compuesto no ionizado es liposoluble y se absorbe más fácilmente a través de la membrana semipermeable.
- ✓ **Punto de Fusión.** Es el cambio del compuesto de un estado sólido a un estado líquido, a menor temperatura de fusión aumenta el paso del fármaco a través de la membrana semipermeable.
- ✓ **Isomerismo.** Es cuando una molécula presentan varias formas isomericas, al variar su forma estructural, también cambian sus propiedades químicas del compuesto.
- ✓ **Formación de quelatos.** Forma compuestos que pueden ser tóxicos, y que cambian todas las propiedades del compuesto.
- ✓ **Formación de complejos.** Se forman compuestos que pueden cambiar el grado de toxicidad del fármaco, así como todas sus propiedades.
- ✓ **Forma farmacéutica.** Es la presentación farmacéutica, de acuerdo a esto se puede absorber más rápido el fármaco o ser más fácil de administrar.

En resumen para que se absorba el fármaco, se requiere de las siguientes características:

- Tamaño molecular bajo.
- Forma no ionizada.
- Carácter liposoluble.
- Vía de administración, es más fácil de absorber por la vía intramuscular, ya que la irrigación es inmediata y la oral es una vía mediata.
- Coeficiente de partición alto C_p mayor a 1.
- Superficie de contacto alta.

La absorción de los materiales se produce por difusión, difusión facilitada, osmosis y transporte activo.

3.3.5.5. Instrumentos para medir la absorción.

Los componentes básicos de los instrumentos de absorción, así como de emisión y espectroscopia de fluorescencia son muy parecidos* en cuanto a su funcionamiento y desempeño; independientemente de que estos instrumentos estén diseñados para radiación, UV, visible o IR, incluyen 5 compuestos:²⁸

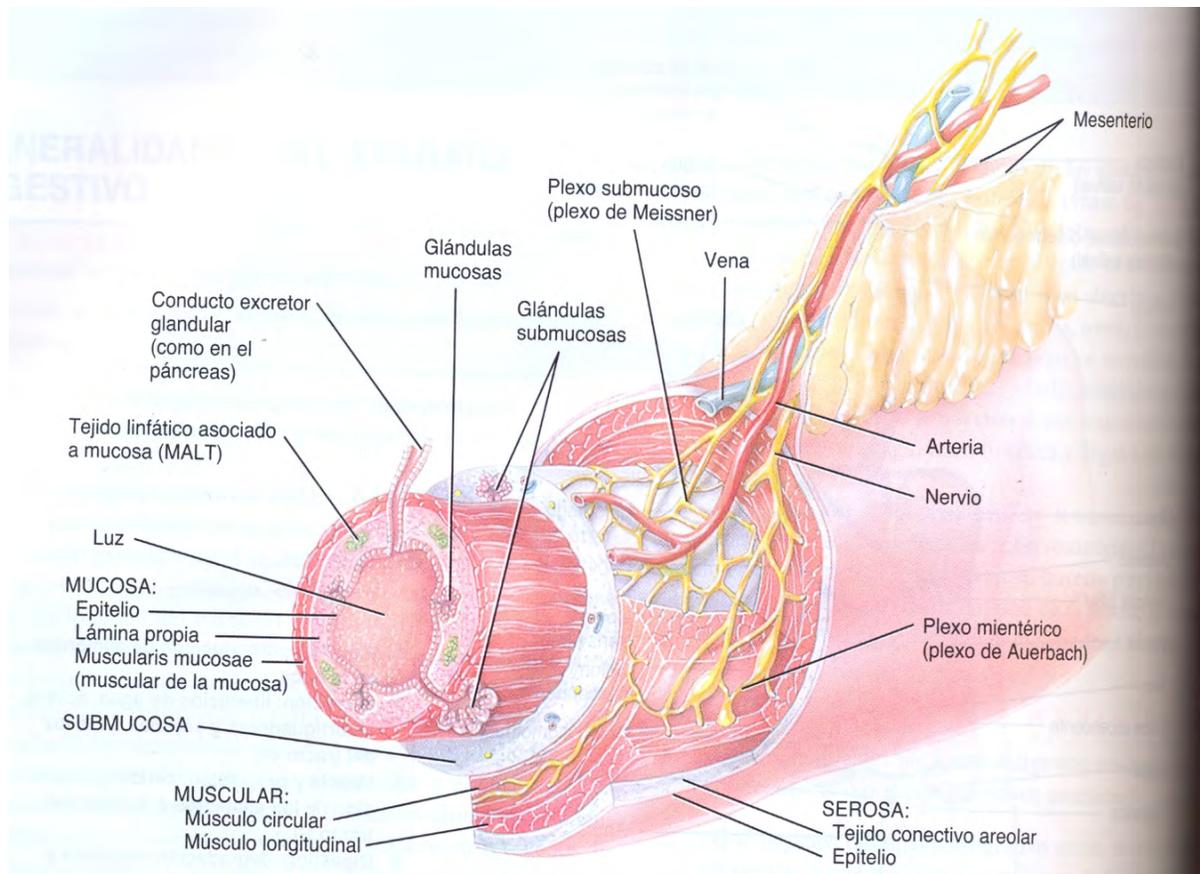
- 1) Fuente estable de energía radiante.
- 2) Selector de longitud de onda que aísla una región limitada del espectro para hacer la medición.
- 3) Uno o más recipientes para la muestra.
- 4) Detector de radiación, que convierte la energía radiante en una señal eléctrica que puede medirse.
- 5) Sistema que procesa lee la señal que consta, que actualmente de una computadora.

El vidrio común de silicato es adecuado para las regiones visibles y es de bajo costo, en la región UV a longitudes menores de 380 nm. El vidrio empieza a absorber por lo que se debe sustituir por sílice fundida o cuarzo; tanto el vidrio, como el cuarzo y la sílice fundida absorben en la región IR a longitudes de onda mayores de 2.5 micrómetros, por tanto los elementos ópticos para IR, comúnmente están hechos de sales de halogenuros o de materiales poliméricos.

3.3.6. Factores gastrointestinales.

El tracto gastrointestinal (GI) o tubo digestivo, es un tubo continuo que se extiende desde la boca hasta el ano (boca, faringe, esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso); su longitud es aproximadamente de 9 metros, la pared del tracto GI partiendo del esófago inferior hasta el conducto anal presenta la misma estructura básica con 4 capas de tejido (de el interior a la superficie) mucosa, submucosa, muscular y serosa²⁵.

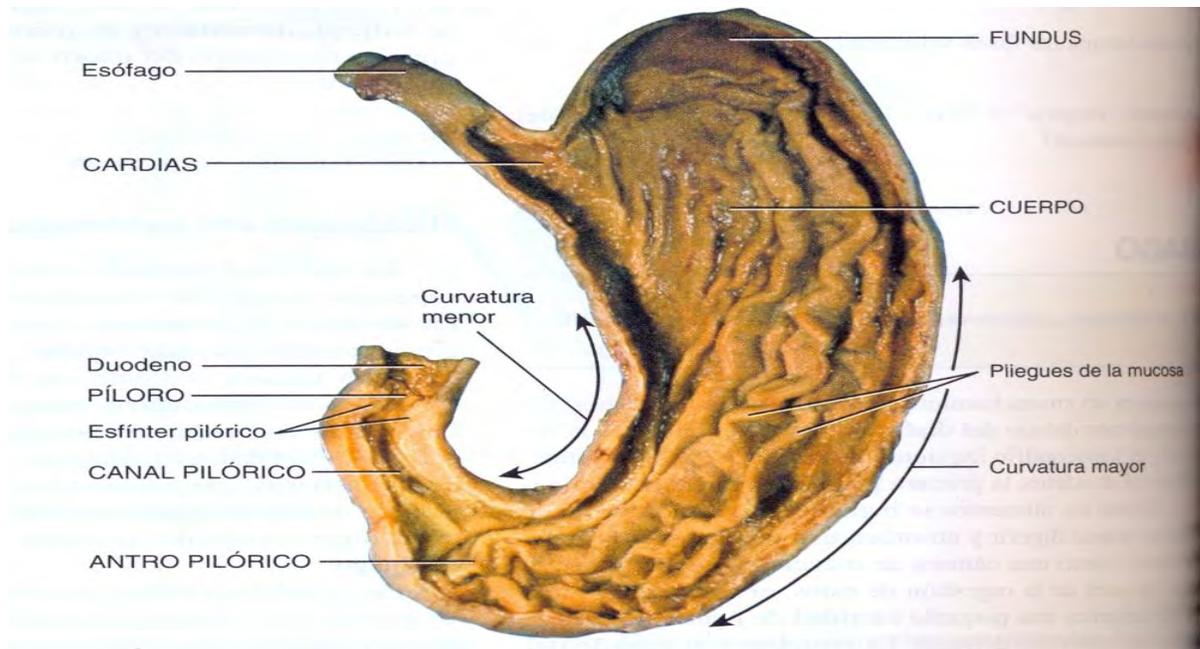
- ⇒ *Mucosa*: revestimiento interior del tracto GI, esta compuesta por una capa de epitelio cilíndrico simple con funciones de secreción y absorción en estomago y en intestino en contacto directo con el contenido luminal, otra capa de tejido conectivo areolar con muchos capilares sanguíneos y vasos linfáticos llamado lámina propia, en la cual los nutrientes absorbidos llegan a los otros tejidos del cuerpo y una fina capa de músculo liso, forma pliegues que aumentan la superficie de digestión y absorción de la membrana mucosa.
- ⇒ *Submucosa*: tejido conectivo areolar que une la mucosa a la muscular, posee gran profusión de capilares sanguíneos y linfáticos que reciben las moléculas de alimento absorbidas; además de una red neuronal (plexo submucoso), glándulas y tejido linfático.
- ⇒ *Muscular*: consiste en un músculo liso que se integra por 2 capas: capa interna de fibras circulares y externa de fibras longitudinales; realiza contracciones involuntarias para la degradación de alimentos, mezclarlos con secreciones digestivas y propulsarlos a lo largo del tubo digestivo. Contiene un segundo plexo neuronal (plexo mienterico).
- ⇒ *Serosa*: (membrana serosa) se denomina peritoneo visceral por formar parte de una porción del peritoneo. Es una capa superficial compuesta por tejido conectivo areolar y epitelio pavimentoso simple (mesotelio).



Esquema 10. Capas del tejido gastrointestinal²².

3.3.6.1. Anatomía y Fisiología del Estomago.

Se encuentra localizado en el lado izquierdo del cuerpo por debajo del diafragma en el epigastrio, la región umbilical y el hipocondrio izquierdo; conecta el esófago con el duodeno, es un órgano muscular. Sirve de una cámara de mezclado y reservorio de los alimentos, su principal función es la descomposición de los alimentos, las células de su revestimiento secretan enzimas, ácido clorhídrico, es la parte más distensible del tracto GI; continua la digestión de almidón, comienza la de proteínas y triglicéridos, el bolo semisólido se convierte en líquido y algunas sustancias se absorben, también produce sustancias mucosas que impiden el contacto con las paredes del estomago, es un órgano que almacena hasta litro y medio de comida.²⁵

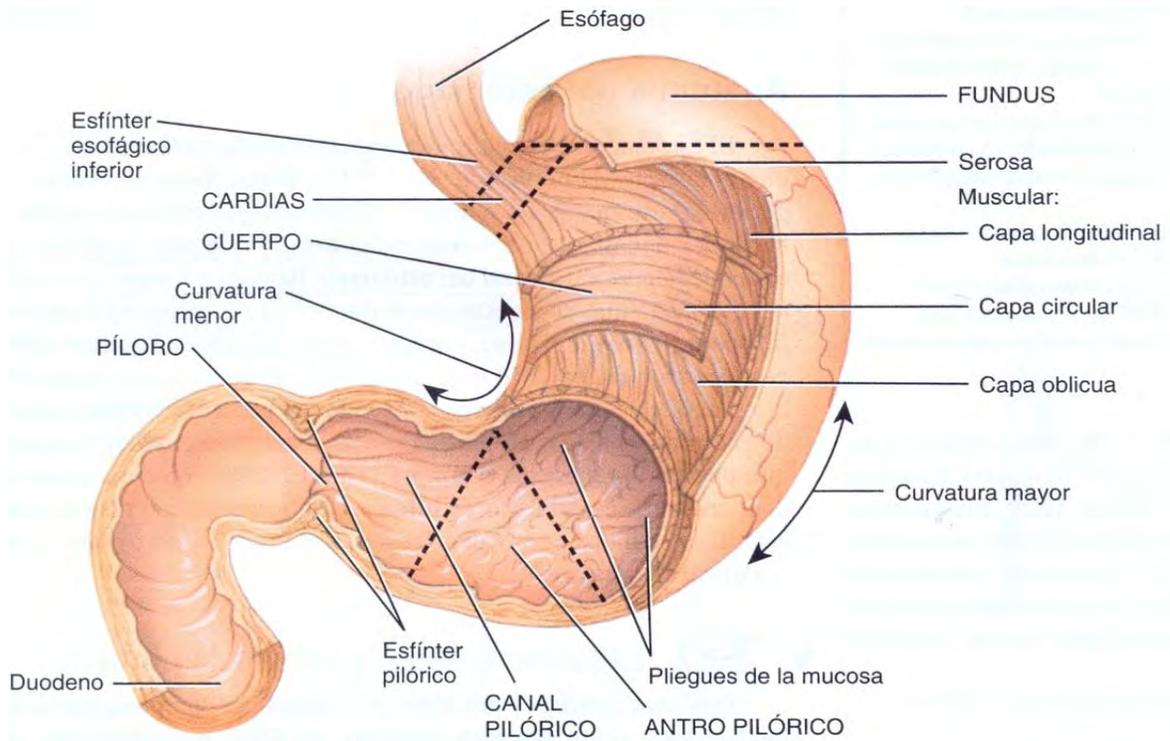


Esquema 11. Vista anterior de la anatomía interna del estomago. ²²

El estomago tiene 4 regiones principales: el cardias que rodea su orificio superior, el fundus es la porción redondeada que esta por encima y hacia la izquierda del cardias, el cuerpo la porción central por debajo del fundus y el píloro que posee 2 partes: antro pilórico que conecta con el cuerpo del estomago y el canal pilórico la porción que lo conecta con el duodeno el cual tiene un esfínter pilórico. Además de que posee 2 curvaturas: la menor que es el borde interno cóncavo y la mayor que es el borde externo convexo.

La pared del estomago está compuesta por las mismas 4 capas (mucosa, submucosa, muscular y serosa), las células epiteliales se extienden hacia dentro de la lámina propia, donde forman columnas de células secretoras llamadas glándulas gástricas las cuales contienen 3 tipos de células glandulares exocrinas: células mucosas del cuello (secretan moco), células principales (secretan pepsinógeno y lipasa gástrica) y células parietales (producen factor intrínseco para absorber la vitamina B12 y ácido clorhídrico), que limitan con conductos estrechos llamados criptas gástricas; las secreciones fluyen de las glándulas gástricas, hacia las criptas y después a la luz del estomago.

El jugo gástrico llega de 2 -3 litros por día y es generado por las secreciones de los 3 tipos de células glandulares, dentro de estas hay una célula enteroendocrina células G, que se localiza en el antro pilórico y secreta la hormona gastrina en el torrente sanguíneo.



Esquema 12. Vista interior de las regiones del estómago. ²²

Algunos minutos después de que los alimentos entran al estómago se producen movimientos peristálticos de 15-25 segundos (ondas de mezcla) desde el cuerpo hasta el píloro y se forma el quimo (jugo gástrico), el cual se expulsan 3 ml con cada onda a través del esfínter pilórico (vaciamiento gástrico). Los alimentos permanecen en el fundus alrededor de 1 hora sin mezclarse con el jugo gástrico, después de 2 a 4 horas de haber comido el estómago ya vació su contenido en el duodeno, en el estómago se absorben solo una cantidad pequeña de nutrientes por ser las células epiteliales impermeables a la mayoría de los materiales, en cambio las células mucosas absorben agua, iones y ácidos grasos de cadena corta, alcohol, así como algunos fármacos (aspirina), los carbohidratos permanecen menos tiempo, después le siguen los alimentos ricos en proteínas y los más lentos son los que contienen triglicéridos.

3.3.6.2. Anatomía y Fisiología del Intestino Delgado.

En el intestino delgado se llevan a cabo los procesos de digestión y absorción de los nutrientes es en un órgano tubular largo, su longitud es de 3 m. en una persona viva y 6.5 m. en un cadáver a causa de la pérdida del tono muscular liso después de la muerte, posee 2.5 cm. de diámetro promedio comienza en el esfínter pilórico del estómago, se pliega a través de la parte central e inferior de la cavidad abdominal y por último en el intestino grueso. Su pared esta compuesta por las 4 capas (mucosa, submucosa, muscular y serosa) en las cuales se absorbe alrededor del 90% de toda la absorción de nutrientes, el 10% restante en estomago e intestino grueso; su anatomía se divide en tres regiones:²⁶

- ⇒ *Duodeno*. Segmento más corto retroperitoneal (25 cm.), significa 12 por que su extensión equivale a 12 traveses de dedo.
- ⇒ *Yeyuno*. Mide alrededor de 1 m. y significa vacío, que es como se le encuentra después de la muerte.
- ⇒ *Íleon*. Mide alrededor de 2 m.

Morfología de la membrana intestinal.- se especializa en la absorción de nutrientes y no nutrientes; es una superficie útil para la absorción, posee pliegues en su pared. Estos aumentan el área de absorción hasta tres veces, se observan a simple vista en el duodeno y en el yeyuno; además de estos parten los villis o vellosidades intestinales.

Las vellosidades intestinales son proyecciones de la capa mucosa hacia el lumen en forma de pequeños dedos de 1 mm. de longitud, estas aumentan 10 veces la superficie intestinal respecto a los pliegues, los cuales se irrigan por una arteriola y una vénula que forman una red de capilares que garantizan la absorción. En las paredes de las vellosidades intestinales, aparecen las células columnares o enterocitos, en su borde apical se encuentran las microvilli; cada enterocito tiene alrededor de 1700 microvellosidades y se le denomina borde en cepillo o superficie microvellosa.²³

En el intestino delgado se encuentran poros acuosos, que se caracterizan por tener un diámetro pequeño y estar cargados; existe una barrera en la absorción de moléculas e iones de tamaño superior de 200- 250 Daltons, las cuales no son capaces de atravesar la barrera intestinal.

Intestino Delgado: pH = 7.6

Tensión superficial baja.

Tiempo de residencia: 2-4 hrs.

Permeabilidad alta comparada con otras partes.

3.3.6.3. Mecanismos de transporte a través de la membrana.¹⁸

La célula se encuentra rodeada por una membrana plasmática, actúa como una barrera de permeabilidad que permite mantener una composición citoplasmática distinta del medio extracelular. Contiene enzimas, receptores, antígenos, proteínas y fosfolípidos que presentan una cabeza polar y dos cadenas hidrofóbicas constituidas por ácidos grasos.

Funciones de la membrana plasmática:

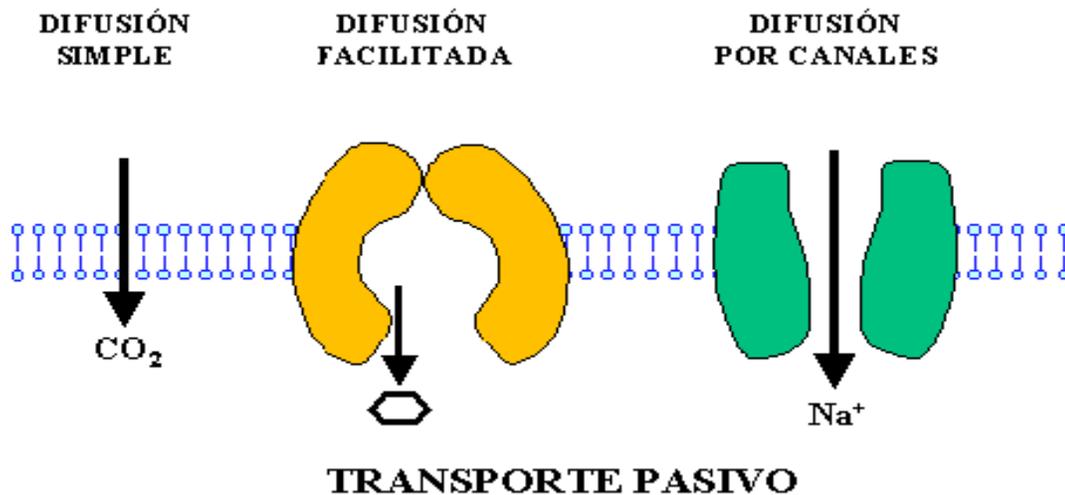
- Recepción de la información
- Especializaciones
- Mantenimiento de la identidad celular
 - fluidez.
 - asimetría química y funcional.
 - especificidad proteica.
 - polarización.
 - semipermeabilidad.

Permeabilidad: se refiere a la posibilidad de transferencia e intercambio de sustancias a través de la membrana esta efectúa el control cualitativo y cuantitativo de la entrada y salida de sustancias y es selectiva porque permite solo el pasaje de ciertas sustancias., poseen varios mecanismos de transporte; los cuales son:

⇒ Gradiente de concentración y potencial electroquímico.

⇒ Transporte pasivo. No consume energía celular, a favor del gradiente de concentración.

Involucra a moléculas e iones.



Esquema 13. Mecanismos de Transporte pasivo²⁷.

○ *Difusión simple.* Las sustancias liposolubles atraviesan fácilmente las membranas hasta que el soluto se equilibre a ambos lados de la bicapa. Las moléculas hidrofóbicas, moléculas polares de pequeño tamaño pero no cargadas se difunden más rápidamente, vitaminas liposolubles A, D, E y K; vitaminas hidrosolubles vitamina B y C. y las moléculas no polares, oxígeno, dióxido de carbono, atraviesan directamente la bicapa por su liposolubilidad.

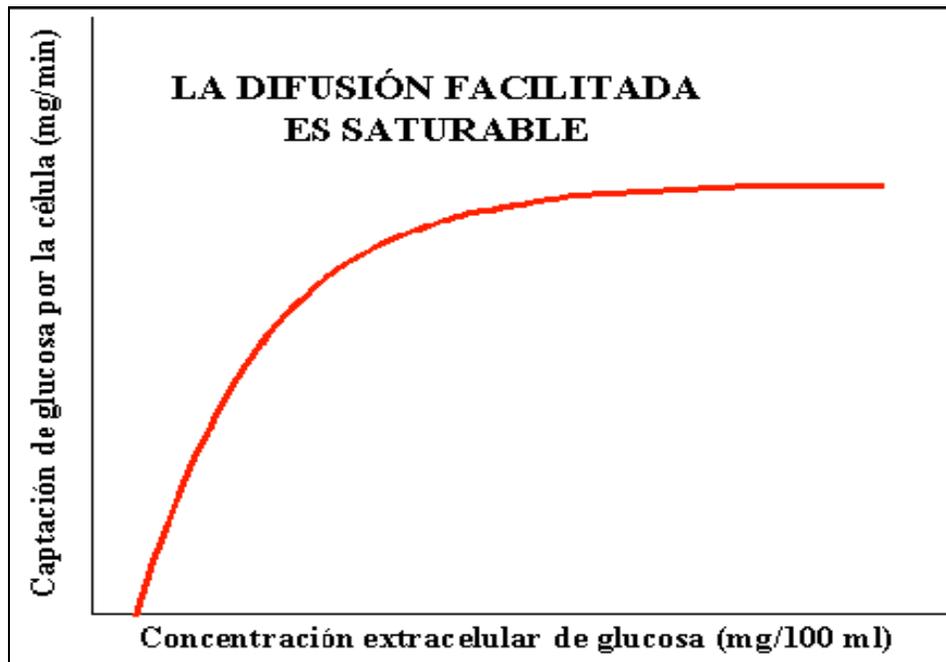
Las moléculas polares atraviesan canales formados por las proteínas. Algunas proteínas transmembrana presentan una estructura tridimensional en la cual los radicales polares de ciertos aminoácidos se disponen formando un canal hidrofílico que puede ser atravesado por agua (osmosis) y por iones hidratados como el sodio, potasio.

Algunos canales se mantienen permanentemente abiertos otros solo lo hacen cuando llega una molécula mensajera que se une a una zona receptora específica e induce a una variación de la configuración que abre el canal, o bien cuando ocurren cambios en la polaridad de la membrana. El pasaje de agua se denomina osmosis y el soluto diálisis.

Osmosis: se define como el flujo de agua a través de membranas semipermeables desde un compartimento de baja concentración hacia uno de concentración mayor. La osmosis se produce porque la presencia de solutos reduce el potencial químico del agua que tiende a fluir desde las zonas donde su potencial químico es mayor hacia uno menor.

○ Difusión facilitada. mecanismo pasivo a favor del gradiente de concentración que facilita el transporte de determinadas sustancias que en general son insolubles en lípidos, monosacáridos, ácidos grasos, aminoácidos. Esta difusión es mediada por un transportador, depende de proteínas integrales de la membrana, cada proteína transportadora es específica de una sola molécula o de un grupo de moléculas de estructura relacionada. Esta expone los sitios de reconocimiento a una de las caras de la membrana, cuando la molécula por transportar se une a ella cambia la conformación y expone los sitios hacia el lado opuesto donde se libera la molécula.

○ Difusión por canales. iones con carga negativa (bicarbonato, cloruro, yoduro y nitrato) siguen al sodio.



Esquema 14. Difusión Facilitada.²⁷

⇒ Transporte activo. Es el transporte de un soluto en contra de un gradiente de concentración, no puede producirse espontáneamente, sino que requiere una fuente de energía para conducir un soluto a través de la membrana celular desde un compartimento de baja concentración a uno de alta.

○ Transporte activo primario. Dependen de fuentes primarias de energía tales como la hidrólisis de ATP, Bomba de sodio y potasio, es un mecanismo para sacar iones de sodio de la membrana celular y al mismo tiempo introducir iones potasio a la célula. Esta bomba se encuentra en todas las células del cuerpo y se encarga de mantener las diferencias de concentración sodio – potasio a través de la membrana y establecer un potencial eléctrico negativo en el interior de las células.

La proteína acarreadora es un complejo de dos proteínas globulares separadas una con mayor peso molecular y otra más pequeña, la de mayor tamaño presenta tres características específicas para la función de bomba: Cuenta con tres sitios receptores para unir iones sodio en su porción situada en el interior de la célula, tiene dos sitios receptores para iones potasio en su lado exterior y la porción interna de esta proteína adyacente o cercana a los sitios de unión para sodio, muestra actividad de ATPasa. La bomba ATPasaNa-K, la proteína transportadora es una ATPasa que intercambia tres iones de sodio intercelulares por 2 iones de potasio extracelulares mientras hidroliza ATP para obtener energía. Bomba de calcio.

○ Transporte activo secundario o cotransporte. Los gradientes iónicos y los potenciales a través de membrana suministran la energía para que se realice el transporte, cuando se debe eliminar o incorporar una molécula muy grande o incluso un microorganismo entero, la membrana misma se compromete en el pasaje de la partícula organizando una vacuola donde esta queda contenida y es transportada. Se denomina exocitosis a la salida de la materia y endocitosis a la entrada a la célula.

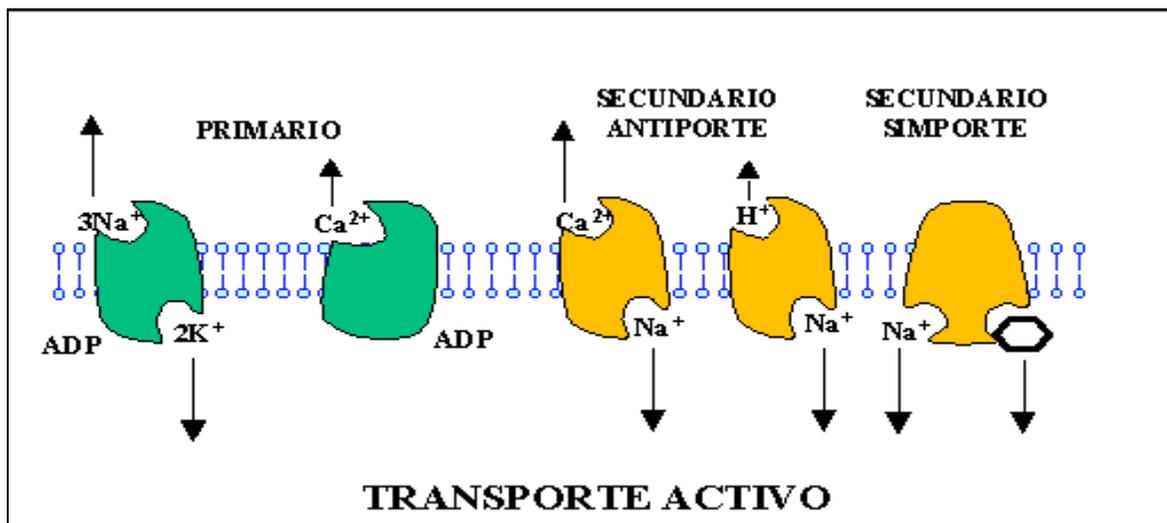
En casos particulares el proceso recibe distintos nombres:

Fagocitosis: cuando se trata de la incorporación de partículas grandes, partículas sólidas, consta de dos pasos:

- La membrana debe reconocer a la partícula a fagocitar y unirse a ella, esta unión determina el siguiente paso
- Consiste en una expansión de la membrana alrededor de la partícula proceso por el cual participan microfilamentos y se gasta energía.

Pinocitosis: cuando se trata de la incorporación de líquidos como el fluido extracelular. Es una captación inespecífica del líquido extracelular que baña la célula.

Exocitosis. Las células pueden liberar moléculas mediante este proceso, la liberación de neurotransmisores se produce por esto.



Esquema 15. Mecanismos de transporte activo.²⁷

Rutas de acceso celular²⁸:

- Ruta intercelular es el camino entre las células de la mucosa.
- Ruta transcelular es el camino a través de las células de la mucosa.

Disolución in vivo¹⁷.

Estómago: Permeabilidad baja comparada con intestino delgado.

Volumen = ~ 300 ml (Fluido gástrico + 250 ml de agua pH del fluido gástrico de 1-3)

Tensión superficial más baja que la del agua.

La velocidad con la que el fluido atraviesa el material es muy importante y depende de tres factores básicos, los cuales son⁶:

- **La porosidad del material**, en éste caso la membrana celular; ya que entre más poros posea el tejido más rápido se liberara el fármaco, es por esto que se debe tener un especial cuidado para tener a la membrana en condiciones optimas.

- **La densidad del fluido considerado**, ya que si éste es muy denso o muy viscoso el paso a través de la membrana será más difícil, por lo tanto se libera el fármaco más lentamente o viceversa; éste se puede modificar o afectar por su temperatura.

- **La presión a que está sometido el fluido**, ya que si posee una presión alta esta puede hacer que se libere más fácil el compuesto a través de la membrana o viceversa; si existe una presión negativa.

❖ **Propios del organismo³⁰:**

- **p H del medio.** La acidez y/o basicidad del medio de disolución donde se encuentren, determina la especie que se presente. De acuerdo al pH, se condicionan los p_{ka} del compuesto, y se forma la especie más estable, en algunas ocasiones el cambio de especie causa precipitación del principio activo y puede disminuir la solubilidad; también puede predominar la fracción ionizada del principio activo, que le permite permanecer soluble en la fase acuosa, pero disminuirá su capacidad de ser absorbida y por lo tanto tiene menos posibilidades de penetrar a la membrana semipermeable, lo mejor es que predomine la especie no ionizada, con baja polaridad.²⁹

Los fármacos agregados deben de tener un comportamiento de ácidos o bases débiles, para no perjudicar los tejidos en el organismo; la fórmula que se utiliza es:

$$pH = pK_{(ácido)} + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Para las bases se utiliza la siguiente fórmula:
$$pH = pK_{(base)} + \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

Donde:

pH = logaritmo de la concentración de iones H⁺.

pK_(ácido o base) = constante ácida o básica del principio activo.

[A⁻] = concentración de la especie ionizada (base conjugada).

[HA] = concentración de especie no ionizada (ácido).

[B] = concentración de la especie no ionizada (base).

[BH⁺] = concentración de la especie ionizada

La relación entre el pH y el pKa nos manifiesta el grado de ionización del fármaco:

pH - pKa	2	1	0	0.1	0.01
Forma ionizada	100	10	1	1	1
Forma no ionizada	1	1	1	10	100

Los ácidos débiles tienen un pka de 3 a 6 se absorben mejor en estómago ya que el pH del estómago es de 1 a 3, y las bases débiles tienen un pka de 8 a 9, se absorben mejor en intestino delgado que tiene un pH de 3 a 8.

- *Vaciamiento Gástrico.* Cuando se mantiene un tiempo mas prolongado en el estómago o en el intestino aumenta su absorción del fármaco, por lo tanto al disminuir el vaciamiento gástrico es mejor para facilitar su absorción del principio activo.

- *Movimiento Peristáltico.* Éste movimiento va a ayudar a que la absorción del compuesto sea más rápida y uniforme.

- *Presencia de alimento.* Cuando hay presencia de alimento es más difícil de que se absorba el compuesto, ya que se limita la superficie de contacto y se puede adherir a otras moléculas.
- *Integridad de la mucosa.* La capacidad de absorción se ve reducida en tejidos que se encuentran dañados.
- *Temperatura corporal.* A bajas temperaturas sucede una vasoconstricción que disminuye la permeabilidad y reduce el flujo sanguíneo, en cambio un clima calido genera una vasodilatación; pero no es muy significativo.
- *Patologías.* Es importante analizar individualmente cada patología, ya que algunas pueden inhibir o retrasar la absorción del principio activo como lo son las fallas cardiacas, en cambio otras pueden acelerar éste proceso, como el hipertiroidismo.
- *Edad.* A mayor edad, mayor contenido de tejido adiposo se encuentra en el organismo, por lo tanto el fármaco puede presentar mayor afinidad sobre estas zonas y quedarse acumulado; también por consecuencia del metabolismo. Un niño por tener más líquidos, tiene un mayor volumen de distribución y por lo tanto una menor concentración del principio activo que un adulto.
- *Sexo.* Las mujeres presentan mayor presencia de tejido adiposo que los hombres, y como estos son de metabolismo acelerado; por lo tanto absorben más rápido los fármacos que las mujeres.

3.3.7. Sistema de clasificación biofarmaceutica³¹.

Clase I: Solubilidad alta (SA)- permeabilidad alta (PA).

Clase II: Solubilidad baja (SB) - permeabilidad alta.

Clase III: Solubilidad alta - permeabilidad baja (PB).

Clase IV: Solubilidad baja - permeabilidad baja.

Es un marco para la clasificación de fármacos de administración oral, basada en su solubilidad y permeabilidad, además de ser una herramienta para el desarrollo de especificaciones de disolución in vitro para asegurar bioequivalencia entre 2 formas farmacéuticas orales sólidas de disolución rápida.

Límites del Sistema de Clasificación Biofarmaceutica³¹.

Disolución rápida -cuando el 85% o más de la cantidad de fármaco establecida en la etiqueta se disuelve durante 30 min. usando el aparato I de la USP a 100rpm. asegurar que la disolución in vivo no sea la etapa determinante.

Solubilidad alta- cuando la dosis más alta del fármaco es soluble en 250 ml o menos de medio acuoso en la gama de pH 1-7.5. asegurar que la solubilidad no sea la etapa determinante de la disolución y por lo tanto el paso determinante de la absorción.

Permeabilidad alta - cuando el grado de absorción del fármaco en humanos es más del 90% de la dosis administrada determinada usando un estudio de balance de masas en ausencia de inestabilidad gastrointestinal. Asegurar que el fármaco es completamente absorbido durante el tiempo de tránsito limitado a través del tracto gastrointestinal.

3.3.8. Validación de los métodos analíticos.³²

⇒ Ensayos de linealidad.- se debe de demostrar que existe linealidad entre la concentración de soluto y la propiedad que se mide; además se debe de observar ordenada en el origen. Las soluciones patrón se deben preparar a partir de una sol. Madre obtenida en las mismas condiciones y se realizan 3 determinaciones para cada una de las soluciones.

Se realiza una recta de calibración por triplicado, es decir que todas las soluciones se realizan por triplicado, por lo que se toman tres soluciones estándar para cada determinación y se leen; la gráfica se obtiene a partir de la absorbancia contra la concentración. Por lo que la relación nos da la siguiente ecuación:

$A = b * C$, cuando la ordenada al origen es de cero ó $A = a + b * C$. La ecuación de la línea recta.

Los ensayos de precisión y exactitud se realizan para evaluar la técnica analítica utilizada, la precisión del método de valoración se expresa para cada concentración ensayada mediante la desviación estándar y el coeficiente de variación de las 3 determinaciones efectuadas. La exactitud se expresa por el error absoluto y relativo de la media de dichas determinaciones.

⇒ Límite de cuantificación: su calculo se realiza mediante la siguiente expresión $LC = 10 * S / b$. S es la desviación estándar de la ordenada en el origen y b la pendiente de la recta de calibración.³³

⇒ Métodos Estadísticos para Criterio de Calidad: se emplean parámetros como el coeficiente de correlación (r), con este parámetro estadístico se puede evaluar el grado de concordancia entre los valores experimentales y los teóricos. Es más fiable cuando el valor absoluto de r se aproxime más a la unidad.

- ⇒ Error estándar: es un buen indicador de la fiabilidad de los datos ajustados, ya que expresa la precisión con la que se ha estimado los datos.

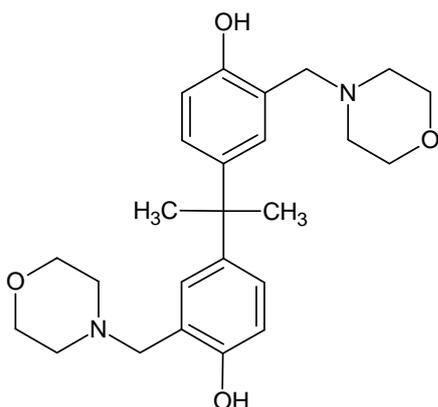
- ⇒ Coeficiente de variación de los parámetros: es la desviación estándar expresada como porcentaje respecto del valor del parámetro, nos indica la fiabilidad y la precisión; proporciona información sobre la certeza con la que se determina cada parámetro, será más fiable en cuanto menores sean los valores de los coeficientes de variación.

- ⇒ Suma de cuadrados: se utiliza para los resultados no lineales, representa la suma total de los cuadrados de las diferencias entre los valores reales y los teóricos predichos por la ecuación. Cuanto menor sea el valor obtenido de la suma de cuadrados más fiable será el ajuste teórico. Este valor depende del número de valores experimentales utilizados.

- ⇒ Pruebas de comparación de medias: el nivel de confianza debe de ser del 95%, por lo que la existencia de diferencias significativas cuando el valor de probabilidad p es menor del 5%, para aplicar este tipo de pruebas la distribución debe de ser normal y las varianzas homogéneas. Se realiza un ensayo de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene donde p debe ser mayor de 0.05 % para aplicar análisis de varianza (ANOVA) y determinar si las medias comparadas pertenecen a la misma población o proceden de poblaciones diferentes, por lo que en el segundo caso se debe realizar la prueba de comparación múltiple (Prueba de Scheffe) que permite la comparación entre combinaciones de grupos; determina la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medias comparadas.

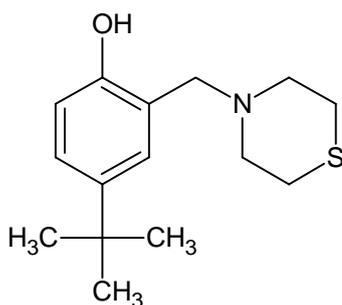
4. CARACTERÍSTICAS DE LOS COMPUESTOS MORFOLINICOS.³⁴

LQM 302.



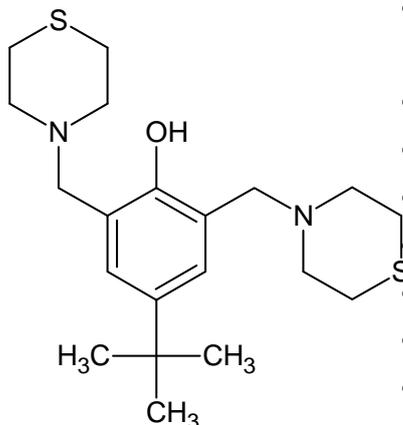
- **NOMBRE QUÍMICO:** 2,2-bis-(1-metil-il-morfolin)-bisfenol.
- **Fórmula Condensada:** C₂₅H₃₄N₂O₄
- **Características físicas:** Sólido Cristalino Translúcido.
- **p.m.** 426.54846 g/mol.
- **p.f.** 156- 158°C.
- **pka's** 4.5, 8.5.
- **Densidad:** 1.203 ± 0.06 g/cm³
- **Solubilidad:** Soluble en disolventes polares, metanol, etanol, acetato de etilo; poco soluble en hexano.
- **Actividad Biológica:** Antihipertensiva buena.
- **Dosis Efectiva 50:** 1.4091 mg/Kg.

LQM 318.



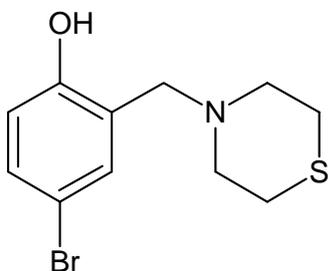
- **NOMBRE QUÍMICO:** 2-(1-metil-il-tiomorfolin)-4-terbutilfenol.
- **Fórmula Condensada:** C₁₅H₂₃NOS.
- **Características físicas:** sólido blanco cristalino.
- **p.m.** 265.414 g/mol.
- **p.f.** 85 -87°C.
- **pka's** 6.47, 11.068. (Estudios preliminares por E.C.).
- **Densidad:** 1.103 ± 0.06 g/cm³
- **Solubilidad:** soluble en disolventes polares, metanol, etanol, acetato de etilo; poco soluble en hexano.
- **Actividad Biológica:** Antihipertensiva BUENA.
- **Dosis Efectiva 50:** 1.041 mg/ Kg.
- **Log P:** 1.95

LQM 319.



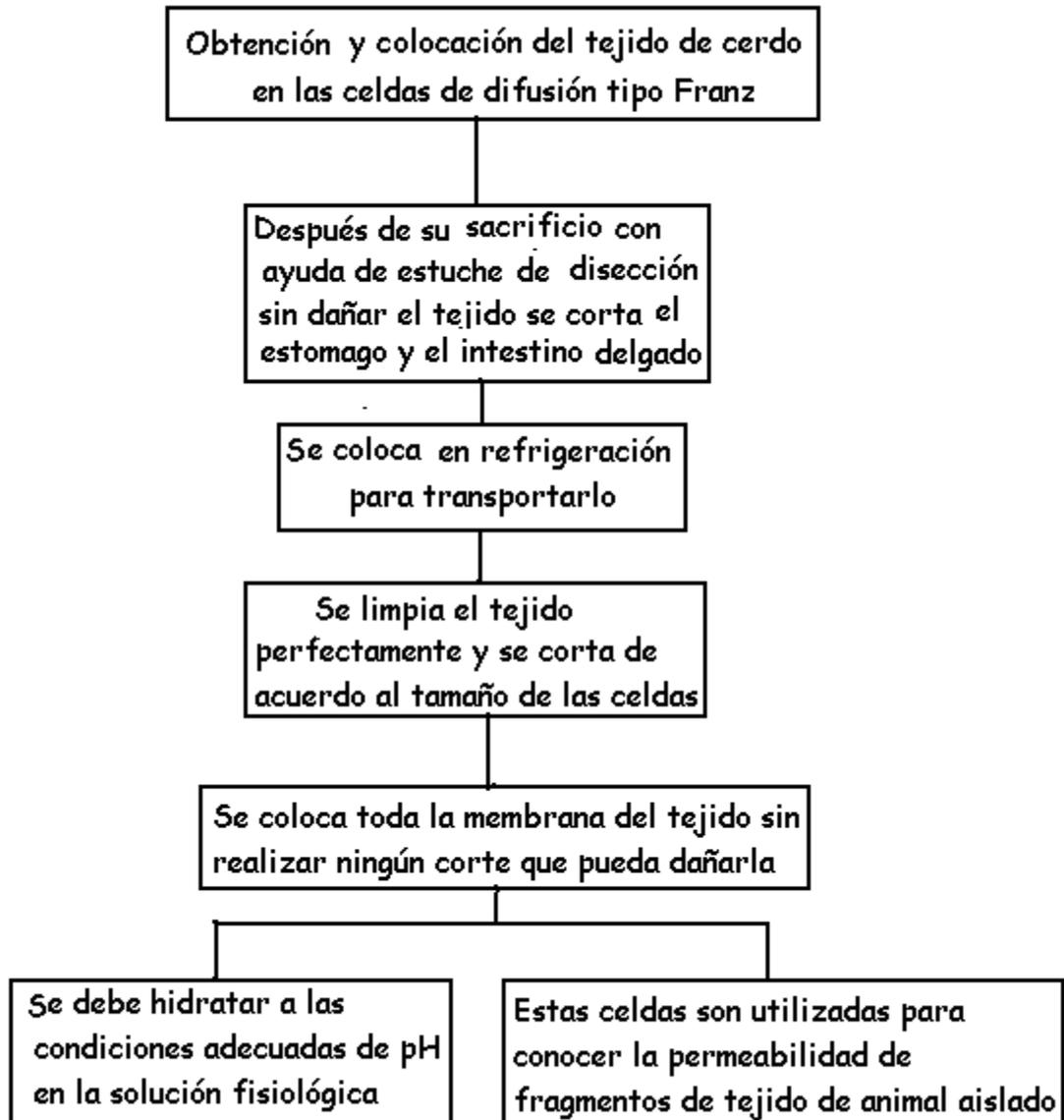
- **NOMBRE QUÍMICO:** 2,6-bis-(1-metil-il-tiomorfolin)-4-terbutilfenol.
- **Fórmula Condensada:** C₂₀H₃₂N₂O₂S₂
- **Características físicas:** pequeños cristales blancos.
- **p.m.** 380.61 g/mol.
- **p.f.** 95 – 97 ° C.
- **pka's** 6.47, 11.068. (Estudios preliminares por E.C.).
- **Densidad:** 1.166 ± 0.06 g/cm³
- **Solubilidad:** soluble en disolventes polares, metanol, etanol, acetato de etilo; poco soluble en hexano.
- **Actividad Biológica:** Antihipertensiva BUENA.
- **Dosis Efectiva 50:** 0.4111 mg/Kg.
- **Log P:** 1.87

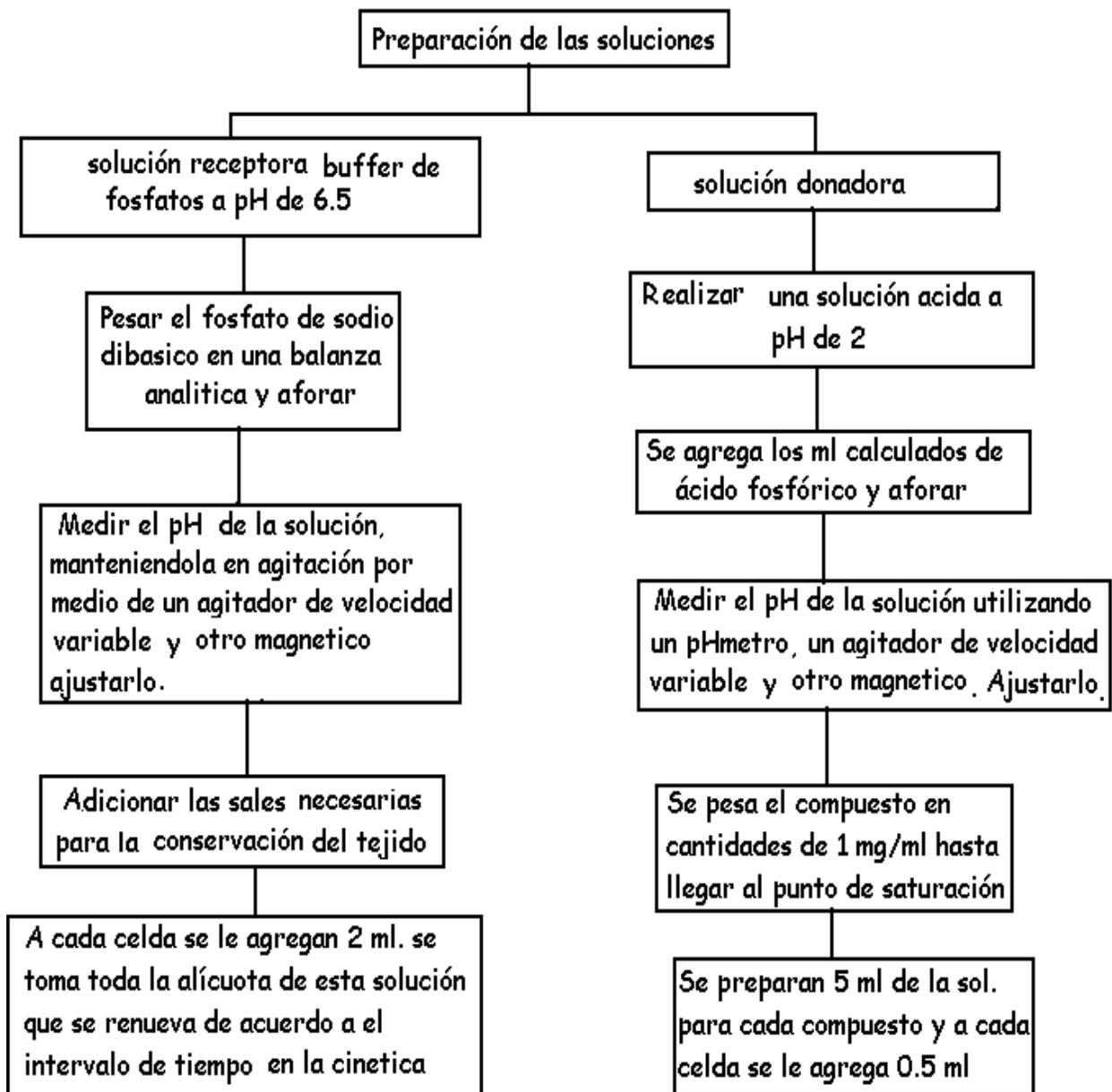
LQM 334.

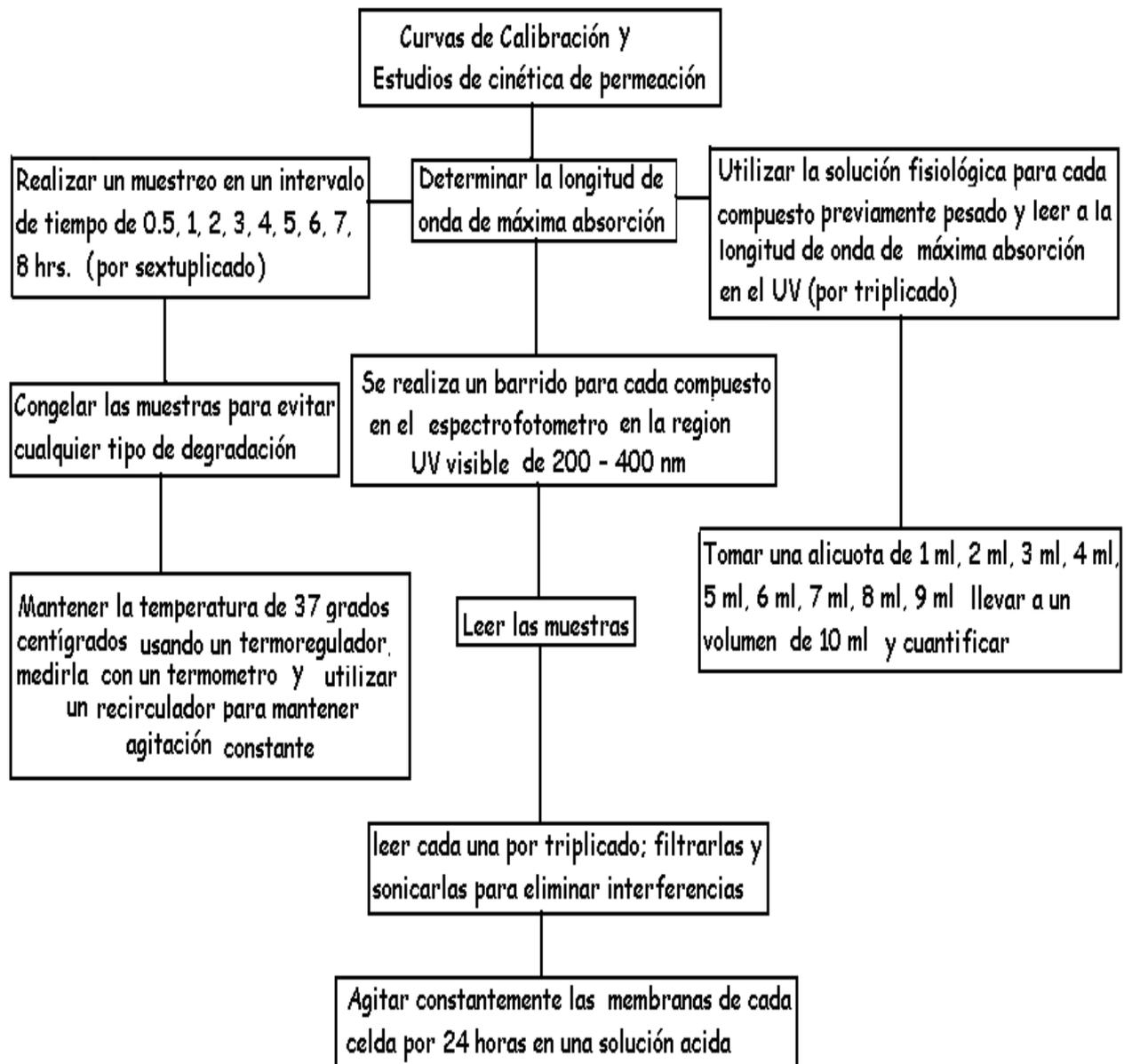


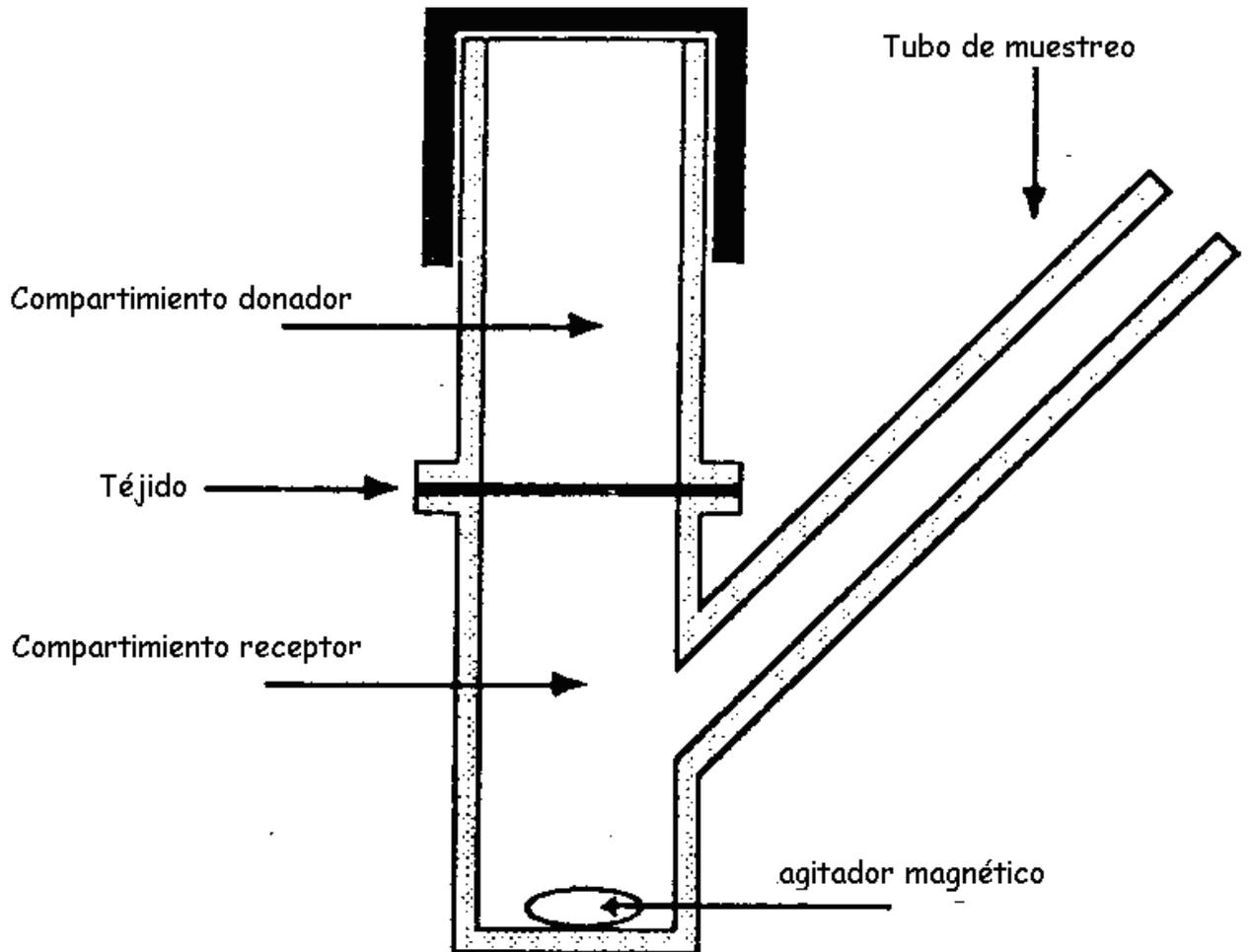
- **NOMBRE QUÍMICO:** 4-bromo-2-(tiomorfolin-4-ilmetil)-fenol.
- **Fórmula Condensada:** C₁₁H₁₄BrNOS.
- **Características físicas:** cristales blancos.
- **p.m.** 288.204 g/mol.
- **p.f.** 119 - 121 ° C.
- **pka's** 5.89, 10.37. (Estudios preliminares por E.C.).
- **Densidad:** 1.517 ± 0.06 g/cm³.
- **Solubilidad:** soluble en disolventes polares, metanol, etanol, acetato de etilo; poco soluble en hexano.
- **Actividad Biológica:** Antihipertensiva BUENA.
- **Dosis Efectiva 50:** 2.2122 mg/ Kg.

5. METODOLOGÍA.









Esquema 1. Celda de difusión tipo Franz^{34,20}.

Es la que se utilizó durante la experimentación, en la parte superior se encuentra la solución donadora, en medio se encuentra el tejido agarrado por medio de unas pinzas; el compartimento receptor se encuentra en la parte inferior, con su agitador magnético.

6. RESULTADOS Y OBSERVACIONES.

6.1. LQM 302.

Abs @ 283.0

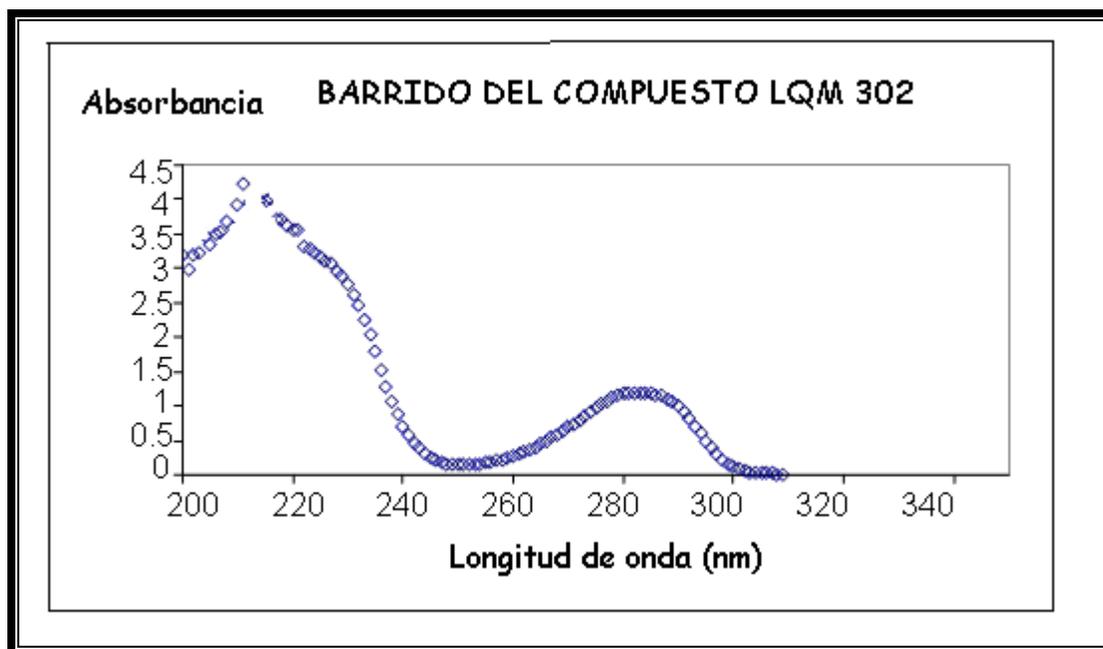


Gráfico 1. Longitud de onda vs. Absorbancia del compuesto LQM 302.

El gráfico 1 nos indica que el compuesto LQM 302 posee 3 longitudes de onda de máxima absorción, para lo cual se utilizó una solución de concentración de $2.49 \cdot 10^{-4} M$, su primera longitud de onda de máxima absorción fue a 211 nm con una absorbancia de 4.2414 se observa demasiada interferencia; la segunda longitud de onda de máxima absorción es de 216 nm, donde no se observa muy claramente su absorbancia de 3.9987 y la tercera longitud de onda fue a 283 nm con una absorbancia de 1.201 que es la más adecuada ya que no hay interferencias.

La absorbancia debe estar entre 0 a 1, si lo que queremos calcular es el porcentaje de transmitancia y se descartan las más cercanas a 200 nm por ser menos confiable la lectura, ya que en esta longitud de onda se absorben la mayoría de los compuestos por lo que puede haber interferencias, por esto se utilizó la longitud de 283 nm.

RESULTADOS Y OBSERVACIONES

C M*10-4	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	C. Prom.	Desv. Std	Coef. Var.	A/C
2.5220	1.2179	1.2199	1.2247	1.2208	0.0035	0.2863	4840.7349
2.2690	1.0538	1.0879	1.0993	1.0803	0.0237	2.1914	4761.2752
2.0180	0.9838	0.8848	0.9986	0.9557	0.0619	6.4740	4736.0423
1.7650	0.8691	0.8798	0.8972	0.8885	0.0142	1.5962	5033.9943
1.5130	0.7374	0.7580	0.7449	0.7468	0.0104	1.3962	4935.6686
1.2610	0.6208	0.6298	0.6308	0.6271	0.0055	0.8782	4973.3016
1.0080	0.4950	0.5071	0.5021	0.5014	0.0061	1.2127	4974.2063
0.7560	0.3729	0.3898	0.3766	0.3798	0.0089	2.3393	5023.3686
0.5040	0.2661	0.2577	0.2559	0.2599	0.0054	2.0948	5156.7460
0.2520	0.1355	0.1368	0.1277	0.1333	0.0049	3.6913	5291.0053
Coef. r2	0.9983	0.9919	0.9990	0.9984		PROMEDIO	4972.6343
Pend. m	4697.2814	4632.6462	4850.3675	4731.4247		DESV. STD	170.2976
Ord. Or. b	0.0238	0.0327	0.0131	0.0232		C.V. global	3.4247

Tabla 1. Curvas de Calibración del LQM 302 y Resultados Estadísticos a una longitud de onda de 283 nm.

En la tabla 1 se observan los 10 sistemas que se utilizaron para realizar la curva de calibración por triplicado del LQM 302, se tomo el volumen de las alícuotas en ml. desde 9 hasta llegar a 1 tomadas de una solución Stock de concentración de $2.4 \cdot 10^{-4}$ M; las nuevas concentraciones fueron calculadas a partir de esta aforando a un volumen total de 10 ml. y se muestran las lecturas de las concentraciones por medio del espectro UV, de estas se obtiene la curva promedio, así como la desviación estándar y el coeficiente de variación que validan el método.

Se observan los resultados estadísticos de las curvas de calibración, la curva promedio es aceptable; ya que su coeficiente de correlación es de 0.9984, la desviación estándar de 170.29 y el coeficiente de variación global es de 3.4247%. El punto 3 es el único que posee un coeficiente de variación arriba del 5 %

La curva promedio es la que se utiliza para las muestras de permeación. En el grafico 2 se observan los datos de la regresión lineal de la curva promedio del LQM 302, las cuales son:

⇒ La ordenada al origen de 0.0232.

⇒ La pendiente es de 4731.4247 que es el coeficiente de absorptividad.

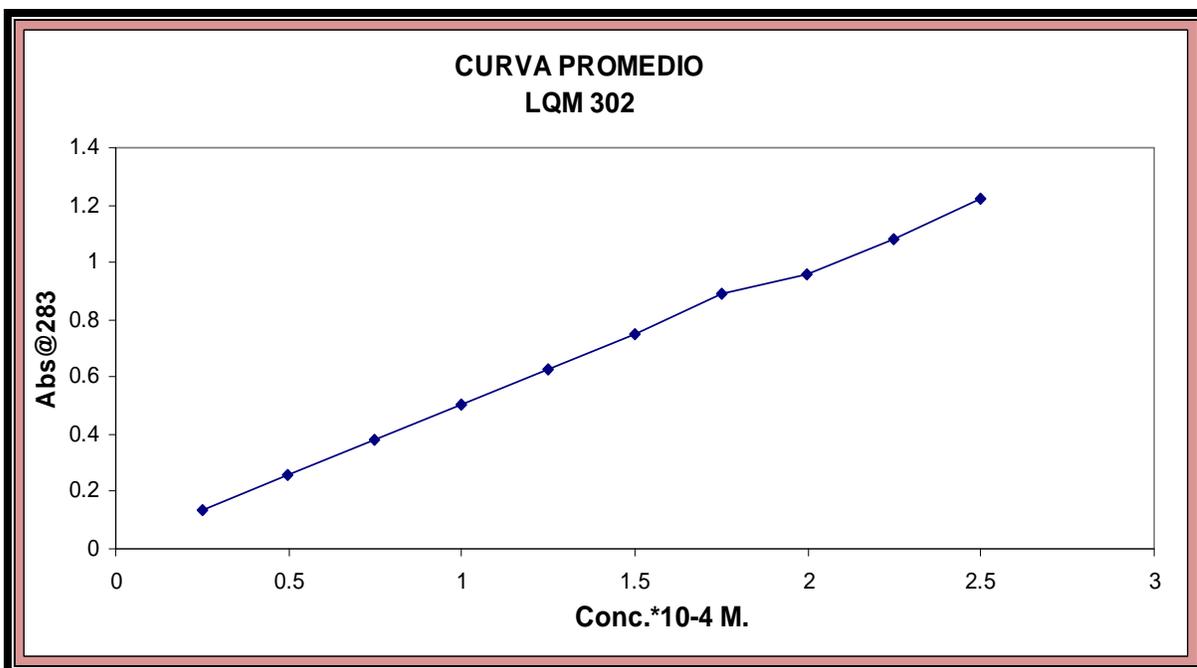


Grafico 2. Curva Promedio Concentración vs. Absorbancia del compuesto LQM 302.

Con los datos anteriores podemos tener una curva corregida y resultados más confiables al interpolar o extrapolar los resultados de las permeaciones, además de obtener el límite de detección, como se observa a continuación:

$$LD = (3.3 * Sy/x) / b1$$

$$LD = (3.3 * 170.2976) / 4731.4247 = 0.1186 * 10^{-4} M$$

Sy/x = desviación estándar de regresión

b 1= pendiente

$$LC = (10 * Sy/x) / b1$$

$$LC = (10 * 170.2976) / 4731.4247 = 0.3593 * 10^{-4} M$$

Tiempo	Abs. C1	Abs. C2	Abs. C3	Abs. C4	Abs. C5	Abs. C6	PROMEDIO
30 min.	0.0000	0.0084	0.0010	0.0084	0.0000	0.0379	0.0093
1 hr.	0.0248	0.0409	0.0010	0.0368	0.1348	0.0455	0.0473
2 hr.	0.0416	0.0409	0.0010	0.0368	0.1348	0.0455	0.0501
3 hr.	0.0416	0.0409	0.0010	0.0368	0.1348	0.0455	0.0501
4 hr.	0.0890	0.0568	0.0369	0.0368	0.1358	0.0455	0.0668
5 hr.	0.1293	0.0364	0.0387	0.0506	0.1358	0.0519	0.0738
6 hr.	0.1380	0.1002	0.0387	0.0506	0.1358	0.0519	0.0859
7 hr.	0.1494	0.1316	0.0387	0.0813	0.1358	0.1010	0.1063
8 hr.	0.1635	0.1316	0.0769	0.0967	0.1358	0.1337	0.1230

Tabla 2. Resultados de las permeaciones en celdas de difusión tipo Franz del compuesto LQM 302.

En la tabla 2 observamos los resultados de la permeación en tejido de estómago de cerdo para el compuesto LQM 302, para descartar resultados erróneos y verificar si atravesó el tejido debemos de conocer el límite de detección y el límite de cuantificación en nuestro método el cual fue de $0.1186 \cdot 10^{-4}M$ y $0.3593 \cdot 10^{-4}M$ respectivamente., no se garantiza que realmente halla pasado a través de el tejido, ya que solo en 4 celdas se puede detectar. Su paso fue en menor grado; ya que los resultados de las absorbancias son alrededor del 0.001 hasta 0.1635, esto se debe a las características del compuesto; ya que al pH de 2 se encuentra ionizado por lo que es difícil que atravesase el tejido por medio de difusión.

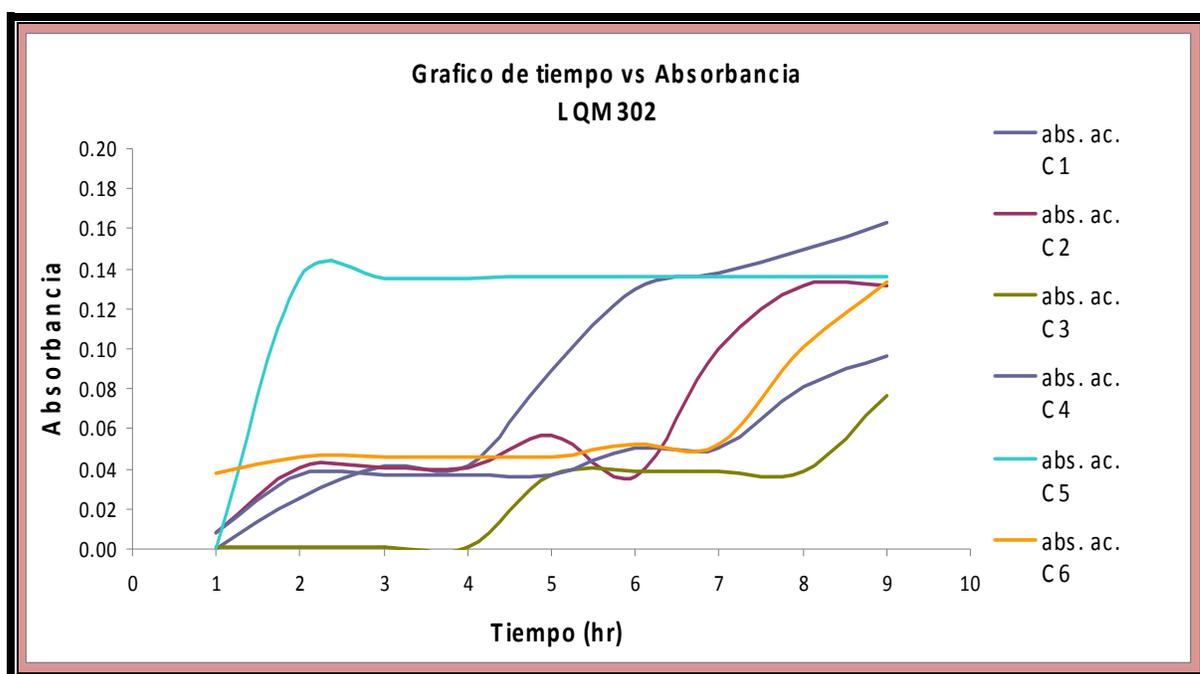


Grafico 3. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 302.

Como se muestra en el grafico 3 la permeación se realiza por sextuplicado para garantizar que los datos sean confiables, en las 6 celdas del compuesto LQM 302 se observa una tendencia positiva, que es más perceptible a partir de las 4 horas. En la tabla 3 se utilizaron los valores estadísticos de la curva promedio del LQM 302 para interpolar los resultados obtenidos y obtener la concentración que contenían las muestras.

En la celda 5 se observo un valor diferente a las demás celdas, este es mayor; esto se debió a un factor externo en la experimentación; probablemente el tejido estuviera dañado, por lo que no es un valor confiable. A partir de las concentraciones calculadas anteriormente, se obtuvieron los mg que pasaron a través de la membrana, como se muestra en la tabla 4, tomando en cuenta todo el procedimiento.

Tiempo	Conc.*10-4 M. C1	Conc.*10-4 M. C2	Conc.*10-4 M. C3	Conc.*10-4 M. C4	Conc.*10-4 M. C5	Conc.*10-4 M. C6
30 min.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0310
1 hr.	0.0033	0.0196	0.0000	0.0110	0.2358	0.0310
2 hr.	0.0033	0.0196	0.0000	0.0110	0.2358	0.0310
3 hr.	0.0033	0.0196	0.0000	0.0110	0.2358	0.0310
4 hr.	0.0545	0.0196	0.0268	0.0110	0.2358	0.0310
5 hr.	0.0906	0.0376	0.0268	0.0110	0.2358	0.0310
6 hr.	0.0906	0.0376	0.0268	0.0110	0.2358	0.0310
7 hr.	0.0906	0.0549	0.0268	0.0268	0.2358	0.0857
8 hr.	0.0906	0.0549	0.0585	0.0268	0.2358	0.1058

Tabla 3. Resultados de las concentraciones en las celdas de difusión tipo Franz del compuesto LQM 302 calculadas a partir de la curva promedio.

De acuerdo a los límites de detección y cuantificación ninguna de las celdas nos dan valores por arriba de estos por lo que no pasa a través del tejido, es por esto que se obtienen valores muy pequeños que no son perceptibles.

Tiempo	mg*10-4 C1	mg*10-4 C2	mg*10-4 C3	mg*10-4 C4	mg*10-4 C5	mg*10-4 C6
30 min.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	26.4759
1 hr.	2.8560	16.7394	0.0000	9.3469	201.1909	26.4759
2 hr.	2.8560	16.7394	0.0000	9.3469	201.1909	26.4759
3 hr.	2.8560	16.7394	0.0000	9.3469	201.1909	26.4759
4 hr.	46.4608	16.7394	22.8698	9.3469	201.1909	26.4759
5 hr.	77.2639	32.0364	22.8698	9.3469	201.1909	26.4759
6 hr.	77.2639	32.0364	22.8698	9.3469	201.1909	26.4759
7 hr.	77.2639	46.7925	22.8698	22.8409	201.1909	73.1458
8 hr.	77.2639	46.7925	49.8866	22.8409	201.1909	90.2459

Tabla 4. Resultados de los mg*10-4 del LQM 302 en las permeaciones.

La tabla 4 nos indica el paso del compuesto LQM 302 a través del tejido por lo que observamos este fue mínimo hacia la solución receptora. Su dosis efectiva es de 1.41 mg/Kg. Por lo que no se alcanzaría a administrar la dosis del fármaco para llevar a cabo su efecto terapéutico.

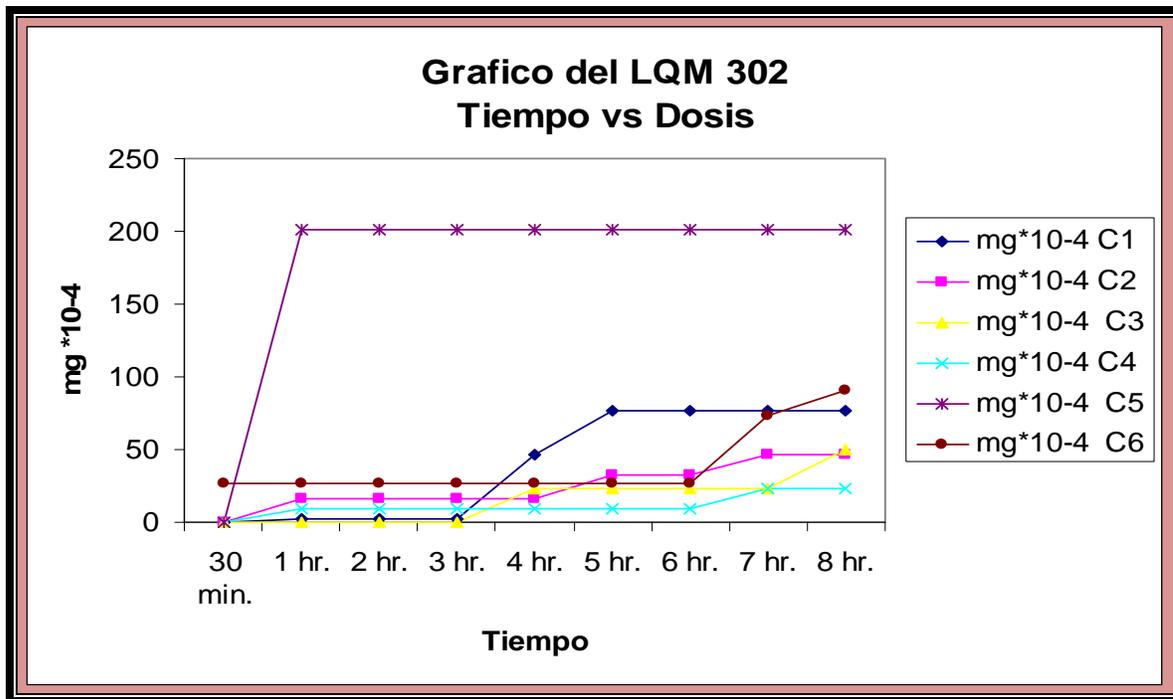


Grafico 4. Resultados de los mg obtenidos a partir del paso a través de la membrana del LQM 302.

En el grafico 4 se observan los mg del LQM 302 que atravesaron el tejido en cada celda. La cantidad más alta es la de 0.009 mg en la celda 6 y la mínima es de 0.002 mg.

.LQM 302	Abs @ 283.0	conc.*10-4M.	mg*10-4
SOL. DON.	3.0657	6.4304	10971.4690

Tabla 5. Resultados de los mg en la solución donadora del LQM 302.

En la Tabla 5 se observa que la absorbancia de la solución donadora del LQM 302 es de 3.0657, esto nos indica que el paso del compuesto de LQM 302 a través de la membrana no se percibe, ya que contiene 1.0971 mg del LQM 302, lo que nos da una concentración de 6.4304 *10-4 M. Al iniciar todo el proceso la solución donadora contenía lo que equivale a 1.25 mg, por lo que podemos decir que alrededor de 0.0923 mg se queda atrapado en la membrana del tejido.

6.2. LQM 318.

Abs @ 216.0

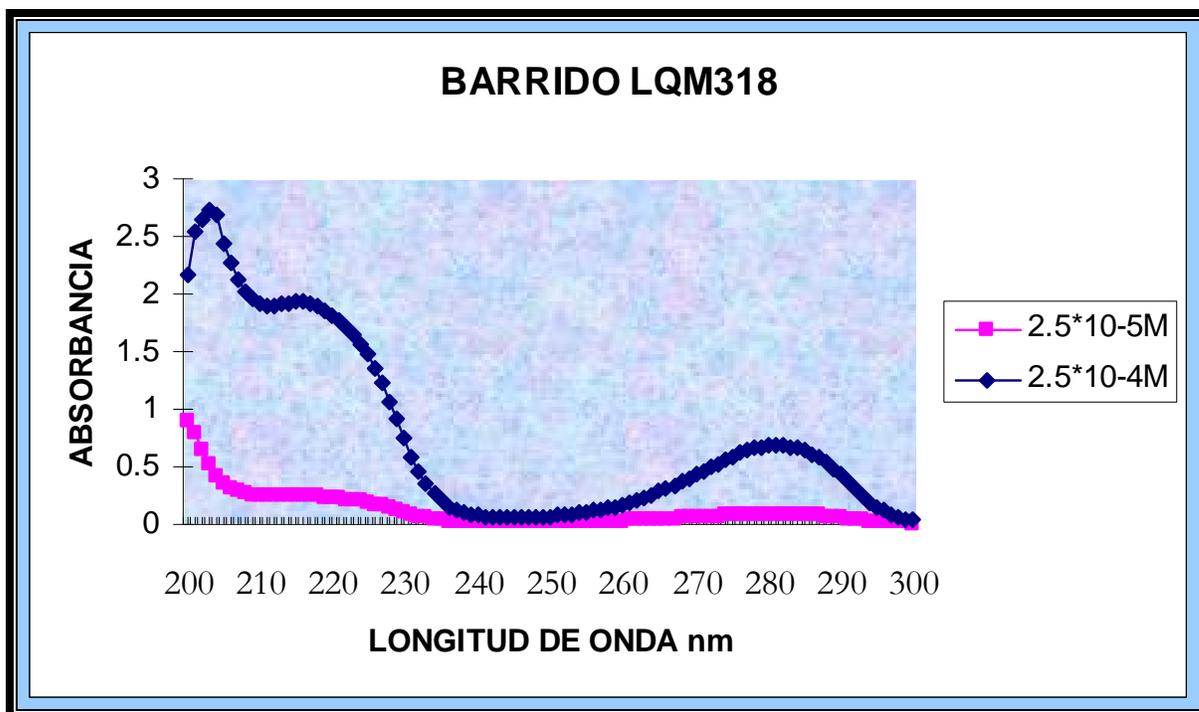


Gráfico 5. Longitud de onda vs. Absorbancia del compuesto LQM 318.

En el gráfico 5 se compara la concentración más baja del compuesto LQM 318 que es de $2.5 \cdot 10^{-5}$ M. (línea rosa), en la cual se observa que no se alcanza a distinguir las bandas de máxima absorción, en cambio con la concentración más alta $2.5 \cdot 10^{-4}$ M. (línea azul) se observan las 3 bandas de máxima absorción. La primera banda de máxima absorción es 203 nm., donde la más concentrada nos da una absorbancia de 2.727; en la concentración más baja éste punto no es perceptible, aunque tenga una absorbancia de 0.521 no se distingue un punto máximo de absorción a esta longitud de onda.

La segunda banda de máxima absorción es de 216 nm donde la concentración más alta es de 1.9276 y en la concentración más baja de 0.247 es imperceptible. La tercera banda de máxima absorción es a 281 nm donde la absorbancia de la solución más concentrada es de 0.682, y la absorbancia de la solución menos concentrada es de 0.0867, la cual también es imperceptible; por lo que éste es el límite de detección; experimentalmente se tomo la longitud de onda de 216 nm por ser la que nos daba mejores resultados en las curvas de calibración.

RESULTADOS Y OBSERVACIONES

CONC.*10-4	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	C. PROM.	Desv. Std.	Coef. Var.	A/C
2.5170	1.9076	1.9145	1.9384	1.9202	0.0162	0.8418	7628.7909
2.2650	1.7360	1.7380	1.7605	1.7448	0.0136	0.7797	7703.4584
2.0130	1.5217	1.5322	1.5832	1.5457	0.0329	2.1283	7678.5892
1.7620	1.4870	1.3687	1.3901	1.4153	0.0630	4.4541	8036.7216
1.5100	1.1490	1.1675	1.1948	1.1704	0.0230	1.9685	7756.3508
1.2580	0.9601	0.9772	1.0249	0.9874	0.0336	3.4011	7855.2108
1.0070	0.7672	0.7849	0.8411	0.7977	0.0386	4.8369	7937.6451
0.7550	0.5691	0.6036	0.6542	0.6090	0.0428	7.0288	8087.2067
0.5030	0.3776	0.4000	0.4704	0.4160	0.0484	11.6406	8303.3932
0.2520	0.2413	0.2112	0.2493	0.2339	0.0201	8.5879	9394.9130
r2	0.9932	0.9998	0.9996	0.9991		PROMEDIO	7887.4852
m	7603.8480	7522.9437	7382.0346	7502.9421		DESV. STD	223.6961
b	0.0182	0.0276	0.0880	0.0441		C.V.	2.8361

Tabla 6. Resultados estadísticos de las curvas de calibración realizados a una longitud de onda de 216 nm del compuesto LQM 318.

En la tabla 6 se observan los resultados del LQM 318 que se obtuvieron al leer los 10 sistemas por medio del espectrofotómetro UV, para llevar a cabo las curvas de calibración, que se realizan por triplicado y se toma su lectura 3 veces para confirmar que los datos son confiables y reproducibles, se obtiene el valor promedio.

$$LD = (3.3 * Sy/x) / b1$$

$$LC = (10 * Sy/x) / b1$$

$$LD = (3.3 * 223.6961) / 7887.4852$$

$$LC = (10 * 223.6961) / 7887.4852$$

$$LD = 0.0935 * 10^{-4} M$$

$$LC = 0.2835 * 10^{-4} M$$

**Sy/x = desviación estándar de
regresión**

b 1= pendiente

Su límite de detección es de $0.0935 * 10^{-4} M$, y su límite de cuantificación es de $0.2835 * 10^{-4} M$ los datos menores a estos no serán confiables. Los resultados que se observan en la tabla anterior indican que la curva promedio es confiable ya que su coeficiente de correlación es de 0.9991, donde su desviación estándar es de 223.6961 y su coeficiente de variación es de 2.8361%, por lo que se encuentra dentro del margen estipulado de acuerdo a la guía de validación de métodos analíticos, esto se muestra a continuación en el gráfico número 6 donde observamos la curva promedio del compuesto LQM 318 este es el gráfico que se utiliza para interpolar resultados de las muestras de permeación, además su coeficiente de absortividad es de 7887.4852.

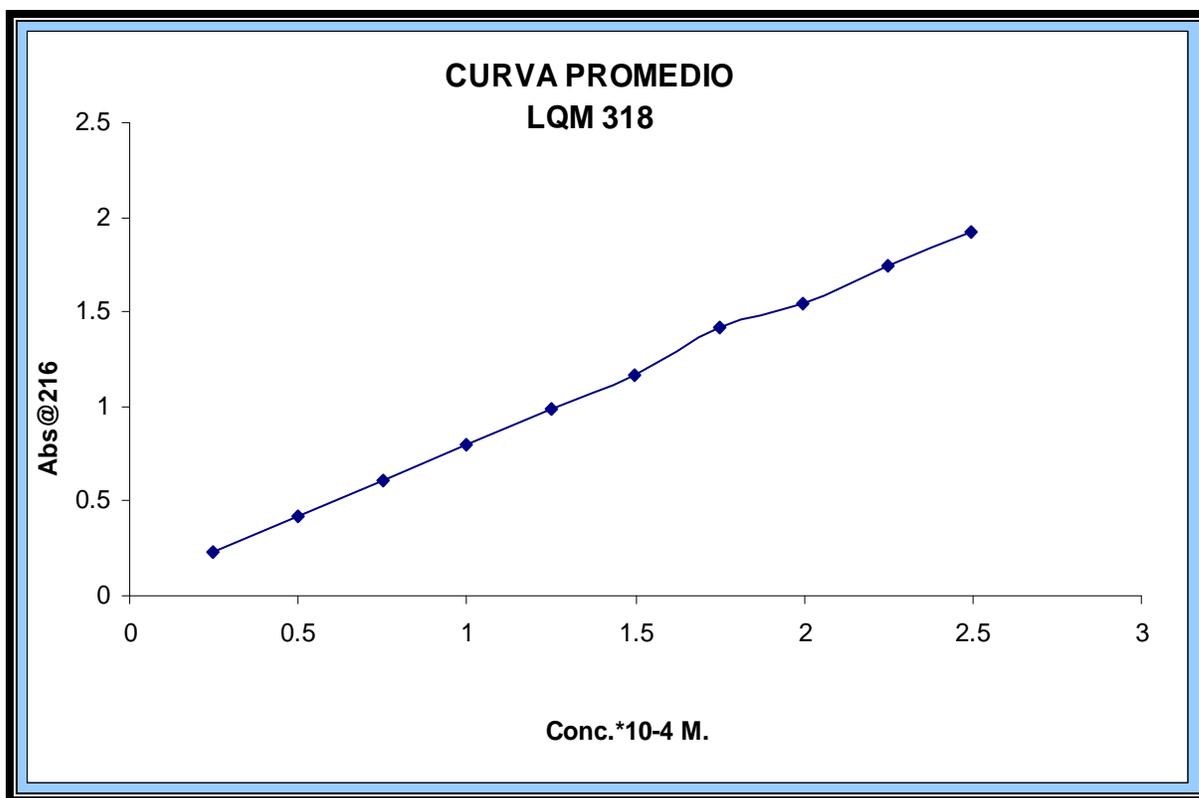


Gráfico 6. Curva promedio de la concentración del compuesto LQM 318 vs. Absorbancia.

Tiempo	celda 1	celda 2	celda 3	celda 4	celda 5	celda 6	promedio
30 min.	2.0193	2.1790	1.3408	0.0000	0.6678	0.8172	1.1707
1 hr.	2.0193	2.3594	1.3831	0.0174	0.6947	0.9456	1.2366
2 hr.	2.1850	2.5335	1.7155	0.0174	0.8753	0.9493	1.3793
3 hr.	2.1850	2.5335	1.7155	0.0174	0.8753	0.9493	1.3793
4 hr.	2.1850	2.5421	1.7155	0.0267	0.8900	0.9493	1.3848
5 hr.	2.1850	2.5421	1.7155	0.0267	0.8937	0.9516	1.3858
6 hr.	2.1850	2.5421	1.7155	0.0267	0.8937	0.9516	1.3858
7 hr.	2.1850	2.5421	1.7155	0.0267	0.8937	0.9516	1.3858
8 hr.	2.1850	2.5421	1.7155	0.0267	0.8937	0.9516	1.3858

Tabla 7. Lecturas de las permeaciones a 216 nm del compuesto LQM 318.

Como podemos observar en la tabla 7 notamos que atravesó la membrana el compuesto LQM 318 a los primeros 30 minutos, por lo que se absorbe rápidamente.

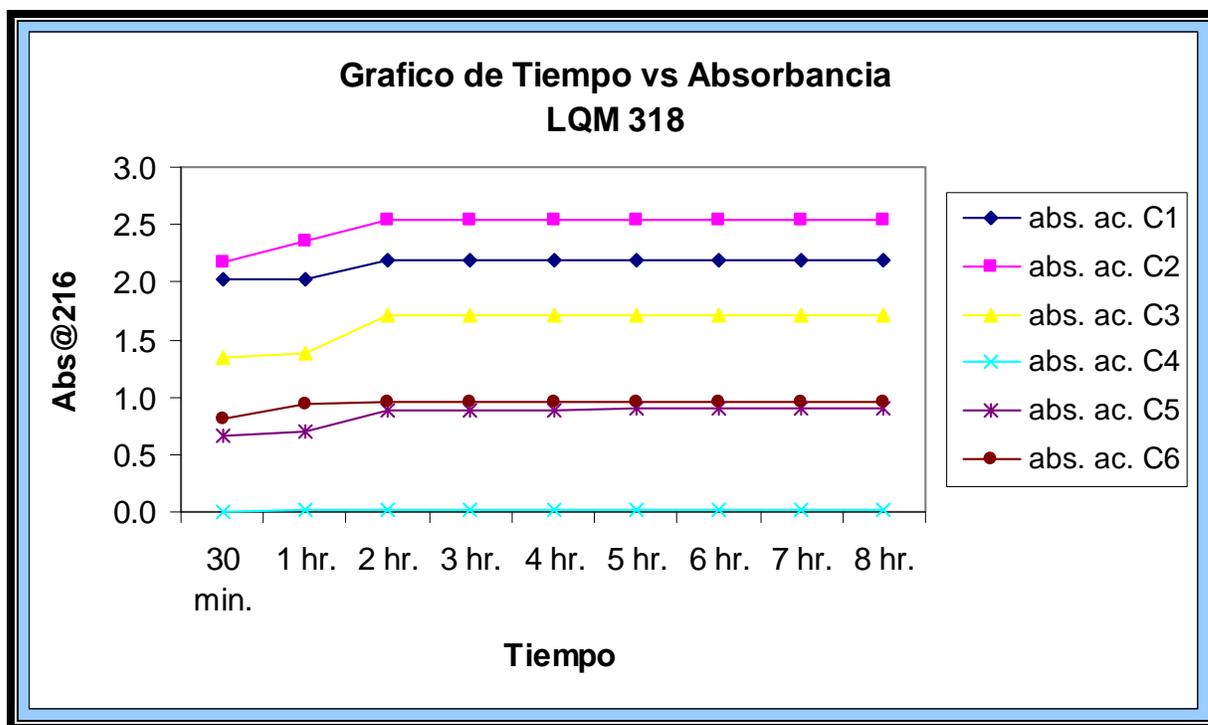


Grafico 7. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 318.

Como se muestra en el grafico 7 la permeación del LQM 318 se realizó por sextuplicado para garantizar que los datos sean confiables, en 5 de 6 celdas el compuesto atravesó la membrana ya que es posible detectarlo y cuantificarlo, en todas se observa una tendencia positiva, por lo que se descartan los valores de la celda 4, la cual se vació por la agitación, el soporte y las pinzas.

Tiempo	Conc.*10-4 M. C1	Conc.*10-4 M. C2	Conc.*10-4 M. C3	Conc.*10-4 M. C4	Conc.*10-4 M. C5	Conc.*10-4 M. C6	PROMEDIO
30 min.	2.6291	2.8417	1.7260	0.0000	0.8301	1.0290	1.5093
1 hr.	2.6291	3.0231	1.7260	0.0000	0.8301	1.1412	1.5582
2 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
3 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
4 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
5 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
6 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
7 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083
8 hr.	2.7909	3.1961	2.1097	0.0000	1.0118	1.1412	1.7083

Tabla 8. Resultados de las concentraciones en las celdas de difusión tipo Franz del compuesto LQM 318 calculadas a partir de la curva promedio.

En la tabla 8 se utilizaron los valores estadísticos de la curva promedio del LQM 318 para poder interpolar los resultados obtenidos y encontrar las concentraciones que contenían las muestras.

Tiempo	mg*10-4 C1	mg*10-4 C2	mg*10-4 C3	mg*10-4 C4	mg*10-4 C5	mg*10-4 C6
30 min.	1395.5977	1508.4372	916.1890	0.0000	440.6665	546.2283
1 hr.	1395.5977	1604.7208	916.1890	0.0000	440.6665	605.7701
2 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
3 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
4 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
5 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
6 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
7 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701
8 hr.	1481.4947	1696.5530	1119.8715	0.0000	537.0914	605.7701

Tabla 9. Resultados de los mg*10-4 del LQM 318 en las permeaciones.

A partir de las concentraciones calculadas anteriormente, en la tabla 9 se obtuvieron los mg del LQM 318 que pasaron a través de la membrana y se observa el comportamiento de cada celda en el grafico 8.

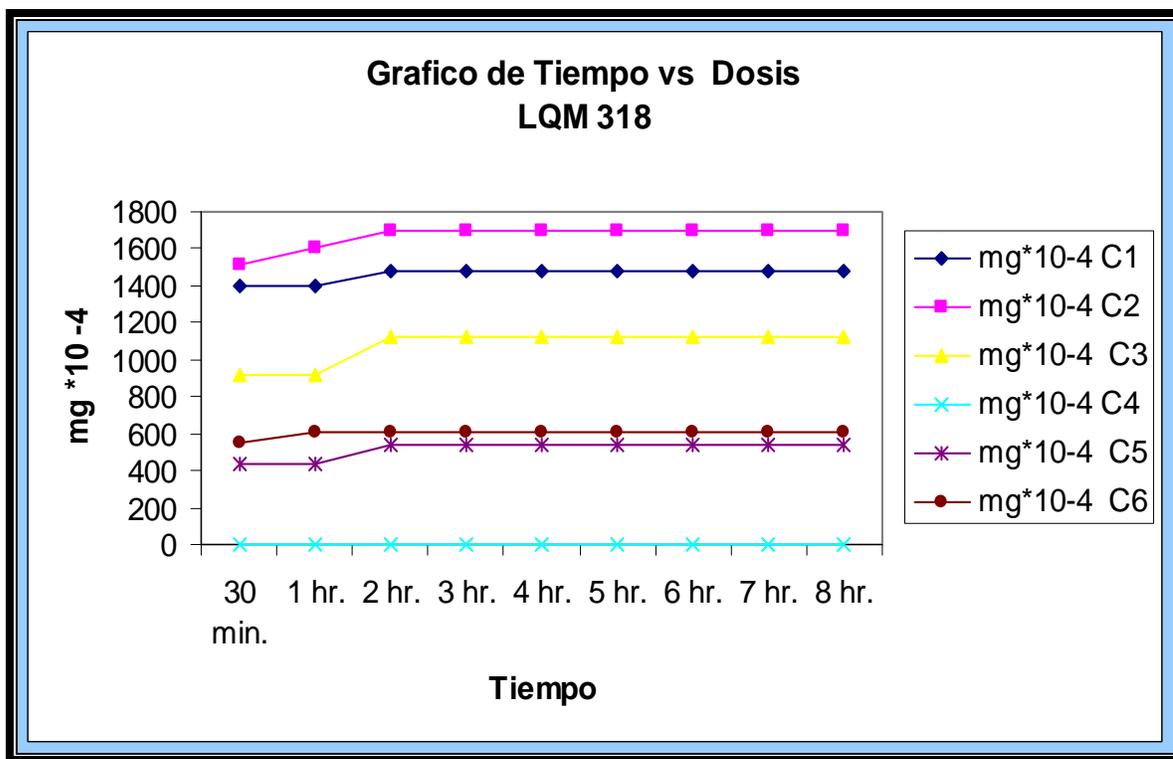


Grafico 8. Resultados de los mg obtenidos a partir del paso a través de la membrana del LQM 318.

LQM 318	Abs @ 283	conc.*10-4M.	mg*10-4
MEMBRANA	0,6021	0,7427	1182,7342
SOL. DON. 1	0,7782	0,9771	1037,3439
SOL. DON. 2	0,7782	0,9771	1037,3439
SOL. DON. 3	0,6812	0,8480	900,2691
SOL. DON. 4	0,6812	0,8480	900,2691
SOL. DON. 5	0,5351	0,6535	693,8089
SOL. DON. 6	0,5351	0,6535	693,8089

Tabla 10. Resultados de las concentraciones en el tejido y en la sol. Donadora del compuesto LQM 318.

La absorbancia de la solución donadora del LQM 318 se muestra en la Tabla 10 la mínima es de 0.5351, contiene 0.0693mg lo que nos da una concentración de $0.6535 \cdot 10^{-4}$ M. y la máxima es de 0.7782 u.a. que contiene 0.1037 mg lo que nos da una concentración de $0.9771 \cdot 10^{-4}$ M. Al iniciar todo el proceso la concentración que tenía la solución donadora era de 2 mg en 0.5 ml, por lo que el resto se quedó atrapado en la solución donadora, ya que en la sol. Receptora dio un valor máximo de 0.1696 mg, en el tejido se encontraba 0.1182 mg y como la dosis efectiva 50 es de 1.041 mg/Kg se necesitarían 20 mg. para que se pueda absorber la dosis terapéutica por Kg. del paciente y así llegue a su efecto terapéutico.

6.3. LQM 319.

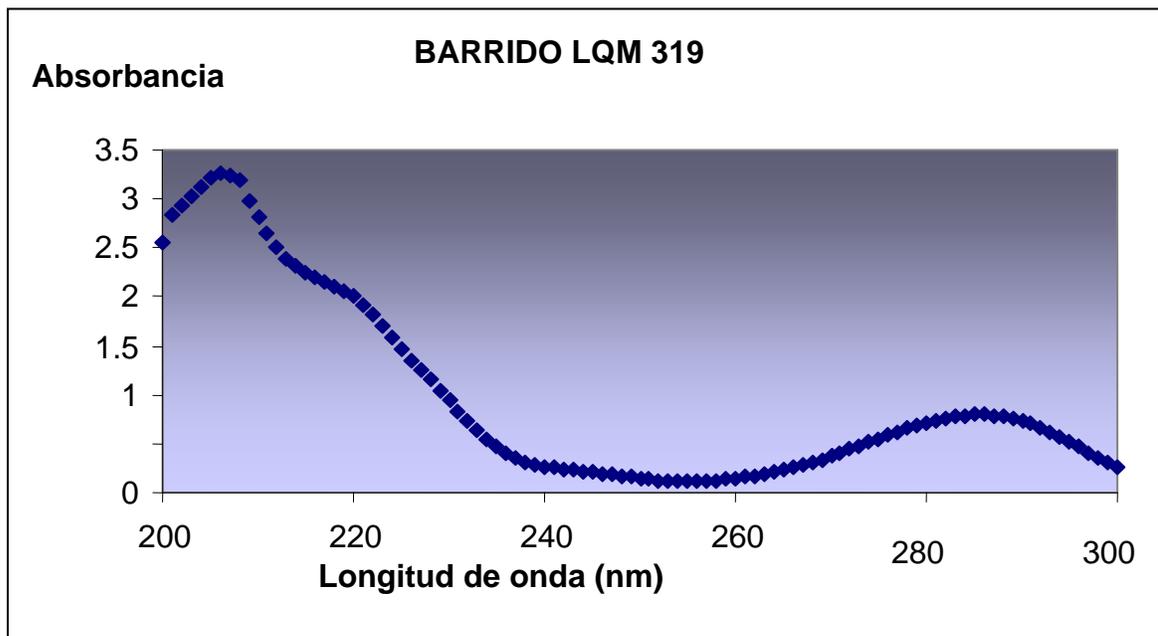


Gráfico 9. Longitud de onda (nm) vs. Absorbancia del compuesto LQM 319.

En el gráfico 9 se observa que el compuesto LQM 319 posee dos bandas de máxima absorción, la primero es a una longitud de onda de 206 nm; donde absorbe 3.26 unidades de absorbancia y la segundo punto de máxima absorción es de 285 nm, donde absorbe 0.7953 a una concentración de $2.5 \cdot 10^{-4}$ M. la longitud de onda a la que se leerán las muestras es de 285 nm. Por ser la más confiable y la más reproducible.

CONC.*10-4	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	C. PROM.	Desv. Std.	Coef. Var.	A/C
2.5120	0.7882	0.7898	0.7965	0.7915	0.0044	0.5563	3150.8758
2.2600	0.7005	0.7080	0.6973	0.7019	0.0055	0.7824	3105.8997
2.0090	0.5965	0.6291	0.6132	0.6129	0.0163	2.6596	3052.4568
1.7580	0.5270	0.5437	0.5437	0.5437	0.0096	1.7734	3096.2415
1.5070	0.4489	0.4736	0.4567	0.4597	0.0126	2.7464	3056.7376
1.2560	0.3831	0.3901	0.3907	0.3880	0.0042	1.0891	3098.7753
1.0050	0.3028	0.2990	0.3127	0.3048	0.0071	2.3202	3048.3333
0.7530	0.2334	0.2408	0.2417	0.2386	0.0046	1.9086	3190.2852
0.5020	0.1626	0.1646	0.1621	0.1631	0.0013	0.8111	3288.3065
0.2510	0.0852	0.0816	0.0881	0.0850	0.0033	3.8324	3482.2404
r2	0.9974	0.9992	0.9986	0.9990		PROMEDIO	3157.0152
m	3041.4141	3111.2795	3063.6123	3076.1183		DESV. STD	136.0765
b	0.0013	0.0009	0.0057	0.0026		C.V.	3.4623

Tabla 11. Curvas de Calibración del LQM 319 y Resultados Estadísticos a una longitud de onda de 285 nm.

En la tabla 11 observamos los resultados de las curvas de calibración realizadas a través de una sol. Stock de $2.5 \cdot 10^{-4}$ M. Los resultados de la curva de calibración promedio del LQM 319 son confiables ya que su coeficiente de correlación es de 0.999, su desviación estándar de 136.0765 y su coeficiente de variación es de 3.46%. Su coeficiente de absorptividad es de 3157,0152, el límite de detección es de $0.0026 \cdot 10^{-4}$ M, pero hasta un valor mayor de $0.085 \cdot 10^{-4}$ M es confiable.

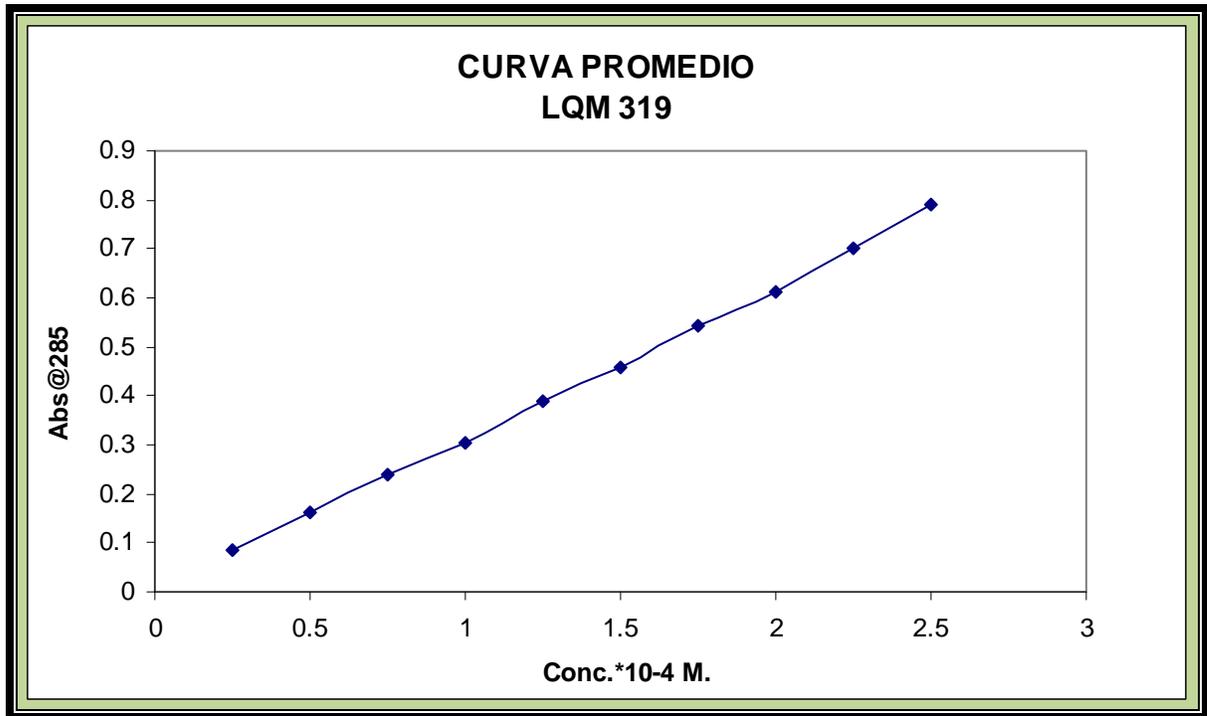


Gráfico 10 Curva promedio de la concentración del compuesto LQM 319 vs. Absorbancia.

En el gráfico 10 observamos la curva de calibración promedio del compuesto LQM 319, esta se utilizara para interpolar los resultados de las muestras de permeación.

$$LD = (3.3 \cdot Sy/x) / b1$$

$$LD = (3.3 \cdot 136.0765) / 3157,01520$$

$$LD = 0.1165 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

**Sy/x = desviación estándar de
regresión**

b 1= pendiente

$$LC = (10 \cdot Sy/x) / b1$$

$$LC = (10 \cdot 136.0765) / 3157,0152$$

$$LC = 0.3532 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

Tiempo	celda 1	celda 2	celda 3	celda 4	celda 5	celda 6	promedio
30 min.	0.1165	0.0820	0.1405	0.0871	0.0730	0.1351	0.1030
1 hr.	0.1389	0.0919	0.1405	0.0871	0.0730	0.1351	0.0512
2 hr.	0.1389	0.1134	0.1487	0.0876	0.0730	0.1490	0.0551
3 hr.	0.1395	0.1134	0.1487	0.0876	0.0730	0.1581	0.0520
4 hr.	0.1395	0.1134	0.1487	0.0876	0.0730	0.1581	0.0511
5 hr.	0.1395	0.1134	0.1487	0.0876	0.0730	0.1581	0.0511
6 hr.	0.1395	0.1134	0.1487	0.0876	0.0730	0.1581	0.0511
7 hr.	0.6452	0.3348	0.1840	0.0876	0.0730	0.1581	0.1897
8 hr.	0.6452	0.3348	0.1840	0.0876	0.0730	0.1581	0.1204

Tabla 12. Resultados de las permeaciones del compuesto LQM 319.

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de las permeaciones del LQM 319 y como su límite de detección de este compuesto es de $0.1165 \cdot 10^{-4}$ M, por lo que traspasa la membrana en 4 celdas, la celda 4 y 5 no son confiables por su comportamiento en la cinética de permeación, o bien por la posible interferencia de sustancias propias de la membrana usada para permear, ya que esta puede empezar a descomponerse en tiempos relativamente prolongados.

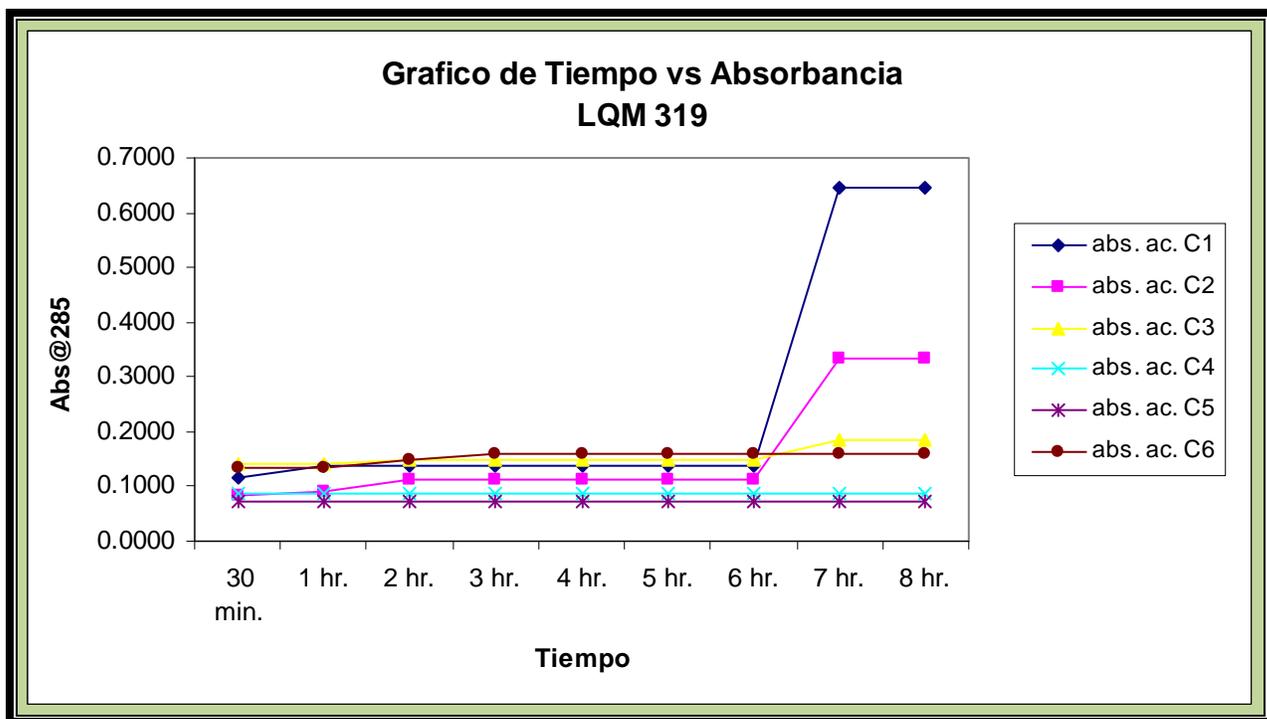


Grafico 11. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 319.

Como se observa en el gráfico 11, en las primeras 2 celdas a las 7 horas pasa el compuesto LQM 319 a través del tejido. En el estomago su tiempo de residencia es de 2 a 4 horas, por lo que no se puede hablar de un paso a través del tejido por que este resultaría nulo, en las otras 2 celdas también se observa un paso, pero no es tan evidente y en las ultimas el paso es imperceptible, por lo que no se tomaran en cuenta los últimos datos.

Tiempo	Conc.*10-4 M. C1	Conc.*10-4 M. C2	Conc.*10-4 M. C3	Conc.*10-4 M. C4	Conc.*10-4 M. C5	Conc.*10-4 M. C6	PROMEDIO
30 min.	0.3689	0.2571	0.4467	0.2737	0.2280	0.4292	0.3339
1 hr.	0.4330	0.2807	0.4467	0.2737	0.2280	0.4292	0.3485
2 hr.	0.4330	0.3418	0.4647	0.2737	0.2280	0.4657	0.3678
3 hr.	0.4330	0.3418	0.4647	0.2737	0.2280	0.4866	0.3713
4 hr.	0.4330	0.3418	0.4647	0.2737	0.2280	0.4866	0.3713
5 hr.	0.4330	0.3418	0.4647	0.2737	0.2280	0.4866	0.3713
6 hr.	0.4330	0.3418	0.4647	0.2737	0.2280	0.4866	0.3713
7 hr.	2.0630	1.0506	0.5705	0.2737	0.2280	0.4866	0.7787
8 hr.	2.0630	1.0506	0.5705	0.2737	0.2280	0.4866	0.7787

Tabla 13. Resultados de las concentraciones en las celdas de difusión tipo Franz del compuesto LQM 319 calculadas a partir de la curva promedio.

Se observa el mismo comportamiento en la tabla 13 la cual expresa los resultados de las concentraciones del LQM 319 en la solución receptora y por consiguiente se observa el comportamiento de la cinética de permeación en cada celda en el grafico 12.

Tiempo	mg*10-4 C1	mg*10-4 C2	mg*10-4 C3	mg*10-4 C4	mg*10-4 C5	mg*10-4 C6
30 min.	280.8401	195.7432	340.0380	208.3227	173.5440	326.7185
1 hr.	329.5752	213.6460	340.0380	208.3227	173.5440	326.7185
2 hr.	329.5752	260.1612	353.7477	208.3227	173.5440	354.4876
3 hr.	329.5752	260.1612	353.7477	208.3227	173.5440	370.4172
4 hr.	329.5752	260.1612	353.7477	208.3227	173.5440	370.4172
5 hr.	329.5752	260.1612	353.7477	208.3227	173.5440	370.4172
6 hr.	329.5752	260.1612	353.7477	208.3227	173.5440	370.4172
7 hr.	1570.4076	799.7454	434.3016	208.3227	173.5440	370.4172
8 hr.	1570.4076	799.7454	434.3016	208.3227	173.5440	370.4172

Tabla 14. Resultados de los ng del LQM 319 en las permeaciones.

Como su límite de cuantificación es de $0.3532 \cdot 10^{-4}M$ solo se puede cuantificar en las celdas 1, 3 y 6. En la tabla 14 se observan los mg acumulados que pasaron a través de la membrana del compuesto LQM 319 y en el grafico 12 se observa el comportamiento en cada celda.

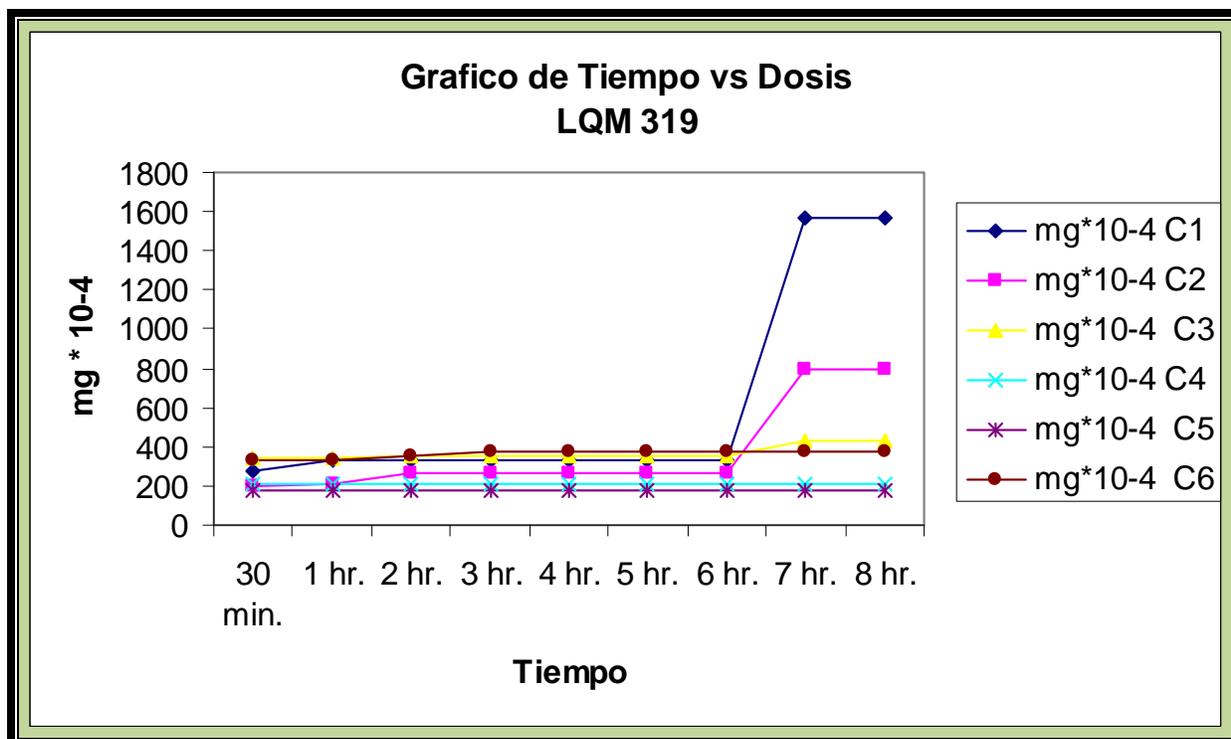


Grafico 12. Resultados de los mg obtenidos a partir del paso a través de la membrana del LQM 319.

LQM 319	Memb. 1	Memb. 2	Memb. 3	Memb. 4	Memb. 5	Memb. 6
Abs @ 285.0	2.1239	2.2999	1.9989	2.0569	2.203	2.0569
conc.*10-4M.	6.8735	7.4438	6.4685	6.6564	7.1298	6.6564
mg*10-4	15696.7485	16999.1019	14771.7816	15200.9662	16282.0675	15200.9662

Tabla 15. Resultados de los mg en el tejido del compuesto LQM 319.

LQM 319	Sol. Don. 1	Sol. Don. 2	Sol. Don. 3	Sol. Don. 4	Sol. Don. 5	Sol. Don. 6
Abs @ 285.0	2.1239	2.2999	1.9989	2.0569	2.203	2.0569
conc.*10-4M.	9.1942	10.1695	9.1942	14.5728	14.5728	14.5728
mg*10-4	13997.6258	15482.5060	13997.6258	22186.1726	22186.1726	22186.1726

Tabla 16. Resultados de las concentraciones en la sol. Donadora del LQM 319.

En la tabla 15 y 16 se muestran los resultados del compuesto LQM 319 donde la sol. Donadora tenía 4 mg en 0.5 ml y la cantidad obtenida al ultimo de esta es de 2.2186 mg; la que se quedo en el tejido es de 1.6999 mg se absorbe 0.0434 mg como su dosis efectiva 50 es de 0.411 mg/Kg se requerirán alrededor de 40 mg para obtener un efecto terapéutico por Kg. del paciente.

6.4. LQM 334.

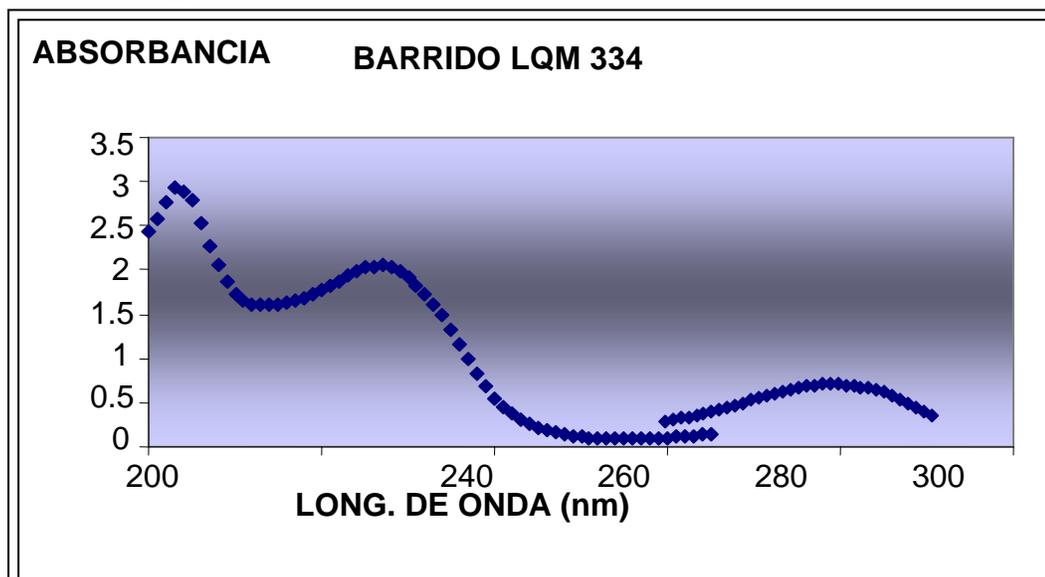


Gráfico 13. Longitud de onda (nm) vs. Absorbancia del compuesto LQM 334.

Como se puede observar en el gráfico 13 existen 3 bandas de máxima absorbancia para el compuesto LQM 334, la primera es a los 203 nm; donde su absorbancia es de 2.932. la segunda banda es de 227 nm. donde su absorbancia es de 2.049 y la tercera es a 287nm y su absorbancia es de 0.6113 la más confiable es la de 287 nm.

CONC.*10-4	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	C. PROM.	Desv. Std.	Coef. Var.	A/C
2.4980	2.0359	2.0392	2.0484	2.0412	0.0065	0.3174	8171.2036
2.2480	1.8394	1.8357	1.8261	1.8337	0.0069	0.3744	8157.1767
1.9980	1.6216	1.5252	1.615	1.5873	0.0539	3.3928	7944.2776
1.7490	1.4343	1.4365	1.414	1.4283	0.0124	0.8685	8170.8619
1.4990	1.2311	1.3022	1.29	1.2744	0.0380	2.9833	8507.5656
1.2490	1.0202	1.0456	1.0336	1.0331	0.0127	1.2299	8278.3120
0.9990	0.83	0.7666	0.7699	0.7888	0.0357	4.5243	7904.1416
0.7490	0.6115	0.6198	0.6199	0.6171	0.0048	0.7813	8249.5544
0.4990	0.4116	0.4188	0.4204	0.4169	0.0047	1.1243	8372.1553
0.2490	0.2027	0.2101	0.194	0.2023	0.0081	3.9842	8155.9140
r2	0.9999	0.9940	0.9978	0.9984		PROMEDIO	8191.1163
m	8137.6242	8042.0606	8168.1697	8115.9515		DESV. STD	179.6339
b	0.0054	0.0147	0.0005	0.0068		C.V.	2.1930

Tabla 17. Curvas de Calibración del LQM 334 y Resultados Estadísticos a una longitud de onda de 227 nm

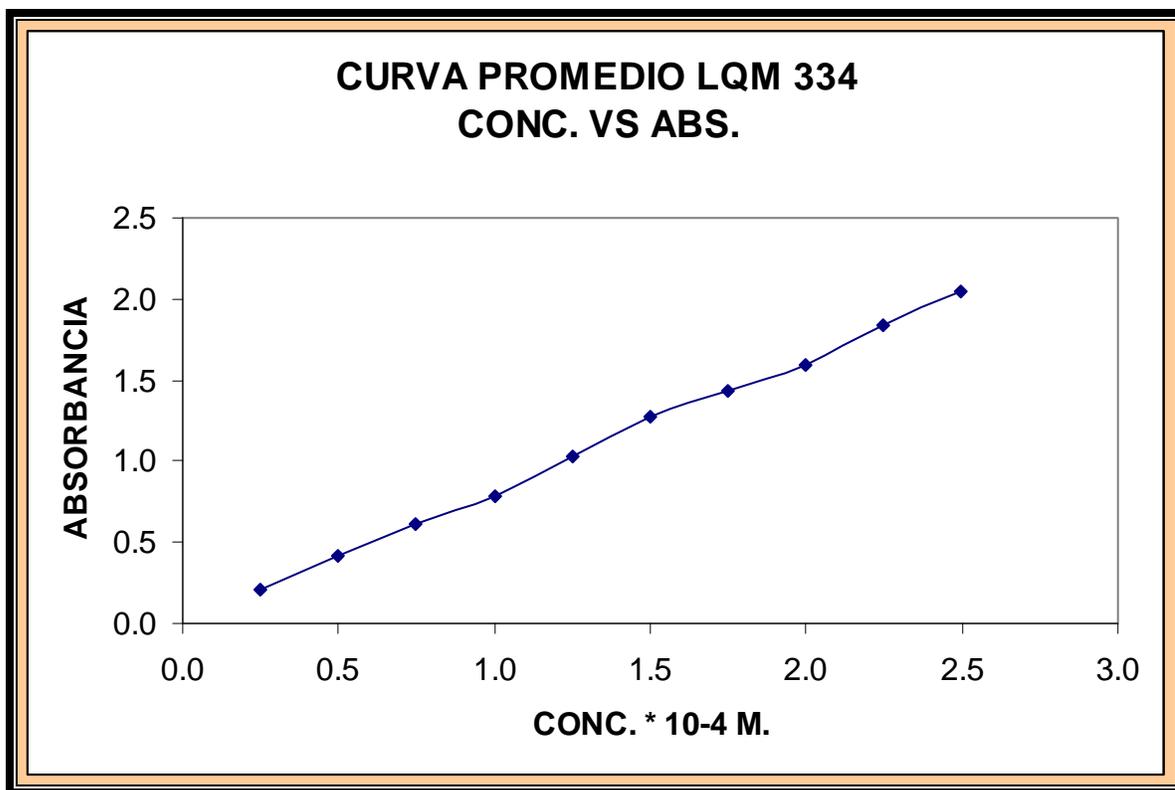


Gráfico 14. Curva de calibración promedio. Concentración del compuesto LQM 334 vs. Absorbancia.

Tiempo	celda 1	celda 2	celda 3	celda 4	celda 5	celda 6	promedio
30 min.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
1 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
2 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0034	0.0000	0.0594	0.0060
3 hr.	0.0000	0.0000	0.0081	0.0034	0.0000	0.0594	0.0018
4 hr.	0.0070	0.0000	0.0081	0.0034	0.0000	0.0594	0.0023
5 hr.	0.1125	0.0106	0.0081	0.0045	0.0000	0.0875	0.0255
6 hr.	0.1550	0.0106	0.0081	0.0045	0.0000	0.0969	0.0209
7 hr.	0.2044	0.0317	0.0081	0.0142	0.0000	0.1471	0.0353
8 hr.	0.2924	0.0317	0.0081	0.0142	0.0402	0.1726	0.0491

Tabla 18. Resultados de las permeaciones del compuesto LQM 334.

En la tabla 17 se observan los datos de las curvas de calibración del compuesto LQM 334 y en el Gráfico 14 se observa su curva promedio la cual es confiable por los resultados estadísticos, su coeficiente de correlación es de 0.9984, su desviación estándar de 179.6339 y su coeficiente de variación es de 2.1930%.

El coeficiente de absorptividad es de 8191.1163. En la tabla 18 se muestran los resultados de la permeación del compuesto LQM 334, como su límite de detección es de $0.0723 \cdot 10^{-4}M$, pero hasta $0.2192 \cdot 10^{-4}M$ se puede cuantificar.

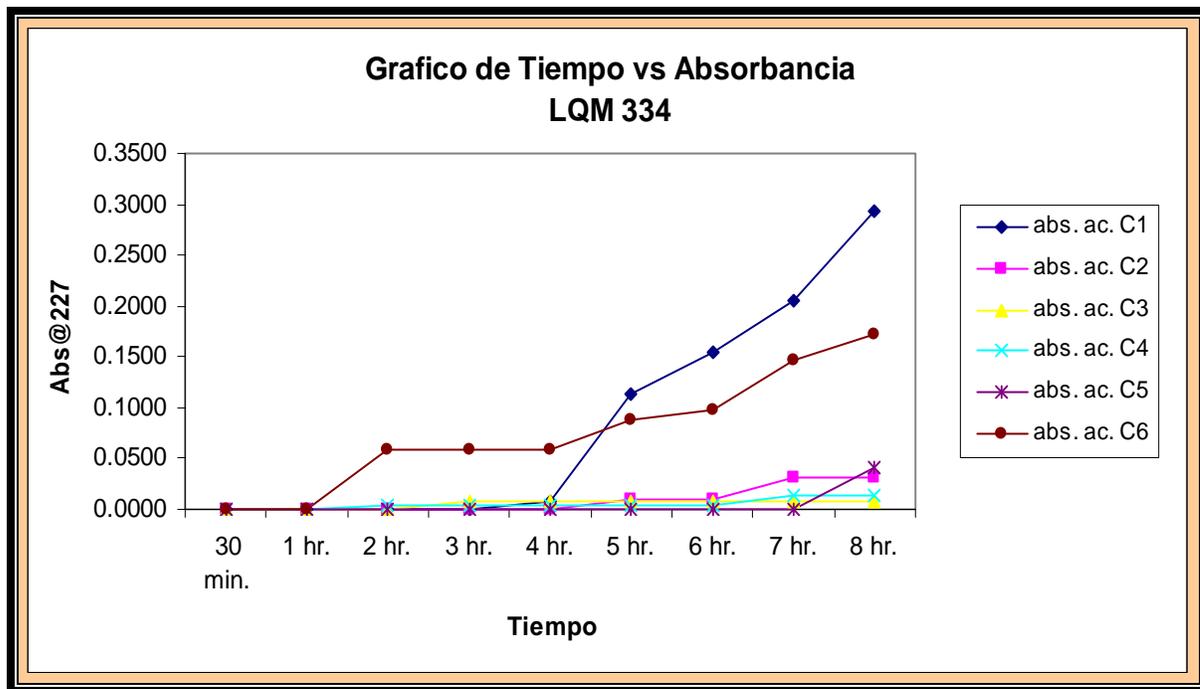


Grafico 15. Muestras de permeación Tiempo vs. Absorbancia del LQM 334.

Tiempo	Conc.*10-4 M. C1	Conc.*10-4 M. C2	Conc.*10-4 M. C3	Conc.*10-4 M. C4	Conc.*10-4 M. C5	Conc.*10-4 M. C6
30 min.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
1 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
2 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0647
3 hr.	0.0000	0.0000	0.0015	0.0000	0.0000	0.0647
4 hr.	0.0002	0.0000	0.0015	0.0000	0.0000	0.0647
5 hr.	0.1217	0.0046	0.0015	0.0000	0.0000	0.0909
6 hr.	0.1656	0.0046	0.0015	0.0000	0.0000	0.0940
7 hr.	0.2180	0.0222	0.0015	0.0035	0.0000	0.1474
8 hr.	0.3179	0.0222	0.0015	0.0035	0.0411	0.1704

Tabla 19. Resultados de las concentraciones en las celdas de difusión tipo Franz del compuesto LQM 334 calculadas a partir de la curva promedio.

La Tabla 19 muestra los resultados de la concentración del LQM 318 en cada celda, como se observa solo en ninguna celda se absorbe el compuesto, ya que se encuentra por debajo de su límite de detección y su proporción es mínima.

Tiempo	mg*10-4 C1	mg*10-4 C2	mg*10-4 C3	mg*10-4 C4	mg*10-4 C5	mg*10-4 C6
30 min.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
1 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
2 hr.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	37.3063
3 hr.	0.0000	0.0000	0.8911	0.0000	0.0000	37.3063
4 hr.	0.1103	0.0000	0.8911	0.0000	0.0000	37.3063
5 hr.	70.1407	2.6657	0.8911	0.0000	0.0000	52.3944
6 hr.	95.4506	2.6657	0.8911	0.0000	0.0000	54.2083
7 hr.	125.6584	12.7849	0.8911	2.0269	0.0000	84.9841
8 hr.	183.2664	12.7849	0.8911	2.0269	23.6773	98.2266

Tabla 20. Resultados de los mg del LQM 334 en las permeaciones.

En la tabla 20 se entiende más claramente el comportamiento del compuesto LQM 334, el valor máximo que atraviesa la membrana es de 0.0023 mg; ya que se descartan los valores más altos por que no se observa en todas las celdas este comportamiento, además de que se consideran los valores por debajo de 4 horas.

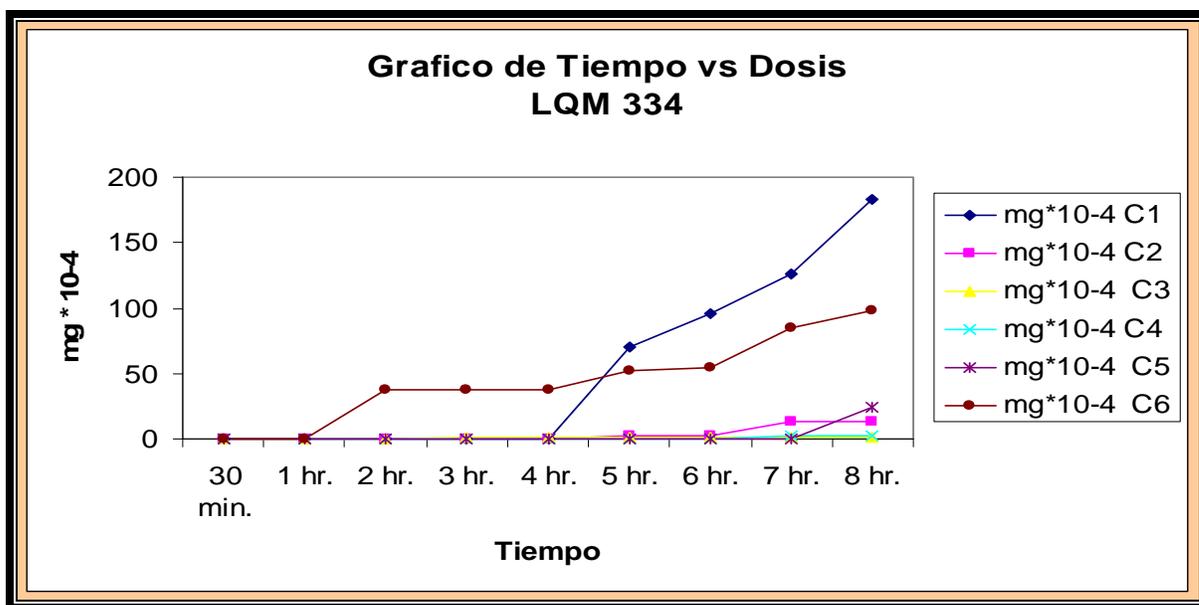


Grafico 16. Resultados de los mg obtenidos del LQM 334 a partir del paso a través de la membrana.

En el grafico 16 se observa que no atraviesa la membrana el compuesto LQM 334, y por consiguiente tampoco se cuantifica lo que pasa a través de esta.

$$LD = (3.3 * Sy/x) / b1$$

$$LD = (3.3 * 179.6339) / 8191.116 = 0.0723$$

Sy/x = desviación estándar de
regresión

b 1= pendiente

$$LC = (10 * Sy/x) / b1$$

$$LC = (10 * 179.6339) / 8191.116$$

LC= 0.2192

Como se observa en la Tabla 21 el LQM 334 lo máximo que se absorbe es 0.0183 mg, en el tejido se obtuvo 0.0626 mg y la sol. donadora contenía alrededor de 4.885 mg en 0.5 ml por lo que al final de la cinética de permeación se obtuvieron los 4.804 mg en la solución donadora.

LQM 334	Abs @ 227	conc.*10-4 M.	mg*10-4
MEMBRANA	0,1249	0,1454	251,4043

Tabla 21. Resultados de mg. en la sol. Donadora y en el tejido.

Por último se observan los resultados que se obtuvieron experimentalmente en las pruebas de solubilidad para los compuestos estudiados al pH=2 que representa al del estómago (sol donadora).

- **LQM 302:** 22.5 mg/ml.
- **LQM 318:** 4.15 mg/ml.
- **LQM 319:** 6.75 mg/ml
- **LQM 334:** 9.77 mg/ml.

A pesar de que el LQM 302 posee una solubilidad mayor a los compuestos tiomorfolinicos, se observa que el LQM 318 aunque es el menos soluble se absorbe con mayor facilidad a través del tejido; esto se debió a que es un compuesto morfolinico y a que su coeficiente de partición es mayor a 1. Además de su peso molecular bajo, al igual que su punto de fusión, ya que a menor punto de fusión aumenta el paso del compuesto a través de la membrana.

Por otro lado se realizó la prueba de solubilidad para los mismos compuestos pero ahora simulando el pH del intestino delgado (pH=7) donde se muestra que estos compuestos son insolubles. Lo cual explica a su vez que no se haya presentado una permeación elevada en un medio ácido; donde estos compuestos son permeables a un medio donde no son solubles, es decir cuando se encuentran en su forma neutra.

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

El estudio de la absorción de los compuestos LQM 302, LQM 318, LQM 319 y LQM 334; es complejo, ya que se toma en cuenta varios factores (agitación, temperatura, etc.) para controlar cualquier variable experimental en el desarrollo de el paso de cada uno de los fármacos a través del tejido de estomago de cerdo realizando la medición por medio del espectrofotómetro UV. Se verifico la adecuabilidad del sistema lo que nos permite asegurar la confiabilidad de los resultados en la metodología, se utilizaron celdas de difusión tipo Franz (ilustración 17), las cuales tienen un radio de 4.5 mm. y un diámetro de 9 mm., en la parte superior se encuentra la solución donadora 0.5 ml. y en la parte inferior se encuentra la solución receptora 2 ml.

El tejido se encontraba en óptimas condiciones, ya que procedía de animales recién sacrificados en el rastro de Cuautitlán autorizado por SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación); el cual se transporto en refrigeración para su conservación. El tejido utilizado no se debe de tocar para no dañarlo, se coloca hacia arriba la parte interior simulando las condiciones dentro del estomago; la capa interna permanece en contacto con la solución donadora a pH de 2.0, esta contiene el principio activo (solución saturada) la cual se preparo mediante la determinación de la solubilidad; asegurando el grado de saturación por medio de agitación constante y el control de la temperatura.

Se utilizo el antro la parte del estómago más cercana al duodeno, se encuentra en una solución de pH de 6.5 (pH fisiológico); el cual simula el torrente sanguíneo, por lo que de esta forma simulamos el paso del estómago a circulación sanguínea permeando a través del tejido, el cual se hidrata a las condiciones adecuadas de pH con las sales necesarias (sol. Receptora).

Es importante señalar que en estomago el tiempo de residencia es de 2 a 4 horas, los carbohidratos permanecen menos tiempo, después le siguen los alimentos ricos en proteínas y los más lentos son los que contienen triglicéridos; por lo que los compuestos deben de permear en un intervalo de tiempo lento, ya que como sabemos cuando comemos alimentos con alto contenido de grasa, estos aumentan el tiempo de residencia del fármaco en el estomago. Se mantiene la temperatura de 37 grados (temperatura en el organismo), agitación y flujo constante con ayuda de un recirculador, todo se realiza por sextuplicado, se congelan las muestras para evitar cualquier tipo de degradación y se leen por triplicado; se filtran para eliminar interferencias y evitar falsos resultados, de esta manera se observo repetibilidad en los resultados.

Se realizaron las curvas de calibración a la longitud de onda optima para cada compuesto, utilizando la solución Stock para determinar las curvas de calibración de cada compuesto, se realiza por triplicado; de acuerdo a la guía de validación de métodos analíticos, para los 4 compuestos se observa linealidad, además de precisión. El LQM 302 se diferencia de los otros en su estructura, ya que éste es un compuesto morfolinico y los otros son tiomorfolínicos, posee un peso molecular de 426.55g/mol por lo que es más difícil de absorber; ya que su peso es mas alto de 300 g/ mol, también de acuerdo a sus grupos funcionales

El LQM 318 se observa que a los primeros 30 minutos pasa el compuesto en la celda a través del tejido, por lo que es justificable ya que posee un peso molecular de 265.41g/mol menor a 300g/ mol, es tiomorfolinico; sus pka's son 6.47 y 11.068, por lo se encuentra en su forma ionizada y es difícil de absorberse; es por esto que la cantidad es mínima. Como el compuesto LQM 318 se comporta como anfolito por sus dos pKa's, el de 6.47 permite que se pueda comportar como un ácido débil y de esta forma absorberse en estomago, ya que los ácidos débiles tienen un pka de 3 a 6 por lo que se absorben mejor en estómago.

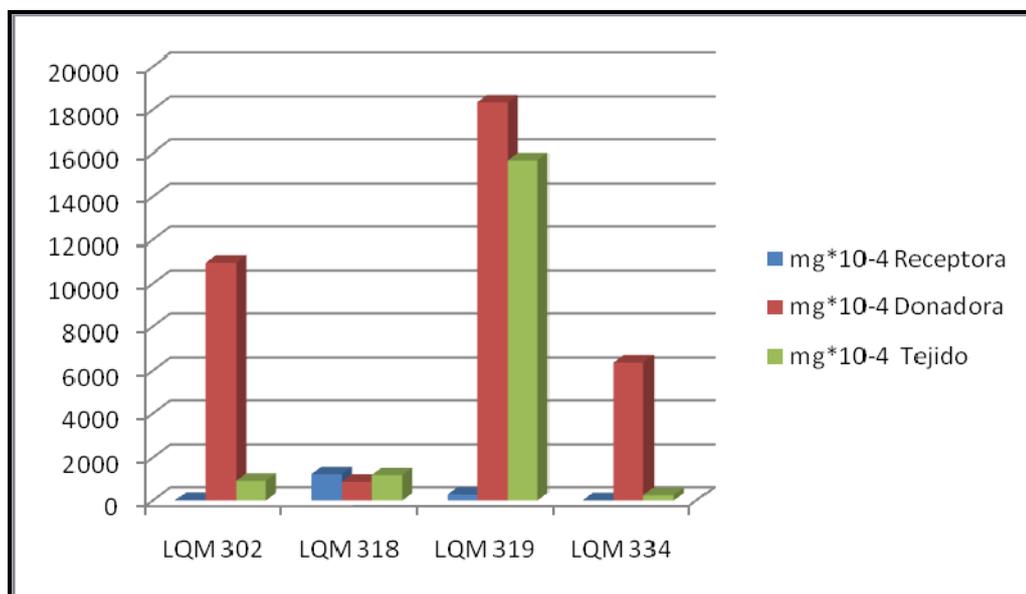
Los valores de P mayor a 1 indican que el compuesto LQM 318 es más soluble en lípidos que en agua porque su coeficiente de reparto es de 1.95. El LQM 319 posee un valor de P de 1.87 por lo que de esta manera se explican los valores positivos a los primeros 30 min. y el paso a través del tejido en todas las celdas, (ver tabla 12) a las 7 horas; solo es en la celda 1 y 2, su peso molecular del LQM 319 es de 380.61g/mol, se encuentra por arriba de 300 g/mol por lo que si paso a través de la membrana, pero en cantidades mínimas, por lo que para el LQM 319 de acuerdo al Log P se lleva a cabo la absorción oral.

El compuesto LQM 334 se permea en muy poca cantidad y solo es en 2 celdas, por lo que la mayoría del compuesto se quedo en la solución donadora, en la tabla 21 se observa que la cantidad de compuesto que se obtiene en la membrana es mínimo. Posee un peso molecular de 288.2 g/mol, ya que es menor de 300g/mol y por sus pka's que son de 5.89, 10.37, se esperaría que se absorbiera como el LQM 318 y el LQM 319; pero como se encuentra ionizado es difícil de absorberse, además que no se cuenta con su coeficiente de reparto.

Se contaron con variables extrañas que no se pudieron controlar del todo, se observo tejido diferente debido al grosor, contenido de grasa y vario un poco la agitación; su dosis efectiva es 2.2122 mg/Kg por lo que se necesitara alrededor de 590.52mg para llegar a la dosis efectiva por Kg. Además se garantiza la estabilidad de las muestras tanto en medio ácido como básico, por medio de estudios realizados anteriormente, por lo que los resultados son confiables, no se obtiene una cinética evidente por lo que no se obtiene la constante de absorción, el tiempo medio y el coeficiente de absorción.

Los compuestos atravesaron la membrana, por medio de un transporte pasivo y por difusión simple, las moléculas estudiadas se encuentran con cargas por lo que son más difíciles de absorber. No se asegura la integridad y viabilidad de la membrana durante todo el experimento si se prolonga excesivamente, se debe de utilizar el tejido solo por un periodo corto de tiempo para que sea estable.

Por último se muestra el gráfico de los resultados promedio obtenidos durante la experimentación.



Como se observa en el LQM 302, LQM 319 y LQM 334 la mayor parte de los compuestos se quedan en la solución donadora, en el LQM 302 se observa que no paso en la solución receptora, en el tejido solo se permea muy poco; al igual que el LQM 334. Para el LQM 318 se observa todo lo contrario, ya que si paso hacia la solución receptora y se permeo a través del tejido en mayor cantidad que el LQM 319 donde atraviesa una pequeña cantidad hacia la solución receptora y la mayoría se permea a través de la membrana.

Compuesto	mg*10-4 Receptora	mg*10-4 Donadora	mg*10-4 Tejido
LQM 302	24.3786	10971.4690	923.3200
LQM 318	1225.9223	877.1407	1182.7342
LQM 319	282.6280	18339.3793	15691.9387
LQM 334	12.7692	6378.9213	251.4043

8. CONCLUSIONES:

El propósito de este trabajo se cumplió al medir el grado de absorción de los compuestos LQM 302, 318, 319 y 334; por medio de celdas de difusión tipo Franz; a través de tejido de estomago de cerdo. Se estudio el grado de permeación *in vitro* para conocer algunos aspectos de la absorción de la molécula de cada uno de los compuestos, así como los factores que intervienen en éste proceso, se realizo la medición de los analitos mediante espectrofotómetro UV.

La capacidad de los compuestos para cruzar las paredes capilares y las membranas celulares dependen del grado de solubilidad en las fases acuosas y lípidicas, así como del tamaño y forma de las moléculas; por lo que el paso a través de la mucosa gástrica de cerdo para el LQM 318 y LQM 319 se ve favorecido de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas. Se llevo a cabo esta experimentación de acuerdo a sus características fisiológicas del tejido (pH, tiempo, concentración, temperatura, etc.) controlando las variables y utilizando un modelo similar al del organismo.

Los compuestos LQM's 302, 318, 319 y 334 son solubles en soluciones ácidas, por lo que se encuentran disueltos a pH =2, lo cual facilita el paso a través de la membrana y al conocer su capacidad de permeación de los compuestos, así como su solubilidad; de acuerdo al sistema de clasificación biofarmaceutica los compuestos estudiados son de clase IV: Solubilidad baja por que no son solubles en medio acuoso - permeabilidad baja, ya que el grado de absorción del fármaco es menos del 90%. Se simula la administración por vía oral, los analitos se disuelven rápidamente a pH de 2 es por esto que se probo en estomago ya que tenemos a favor la solubilidad en medio ácido, se realizo la cuantificación de cada uno de los compuestos, pero las cantidades encontradas fueron mínimas, lo cual nos lleva a concluir que no se pernean; además se obtuvieron algunos parámetros como las solubilidades, los límites de detección a las condiciones de análisis, las longitudes de máxima absorción y los coeficientes de absortividad; que son reportadas en la literatura para futuros estudios.

Recomendaciones.

Las expectativas de éste proyecto son muy amplias por lo que todavía no se cumplen por completo, el tejido de estomago es poco permeable en comparación con el intestino delgado, por lo que se espera que al estar en solución los compuestos a pH de 7 se absorban mejor en intestino, esto se logro a ultimas fechas por medio de la formación de micelas o en forma de microemulsion; ya que estas últimas son soluciones coloidales transparentes y termodinámicamente estables, que aumentan la capacidad de solubilidad de los fármacos, lo que va ha permitir una mejor absorción hacia los tejidos.. Esta es la siguiente etapa.

También es necesario realizar una posible preformulación, llevando como vehículo surfactantes o tensoactivos que aumentan la permeabilidad de las membranas o utilizando promotores de absorción como el propilenglicol, ya que a pH fisiológico es menos estable; el siguiente paso después de hacerlo en intestino delgado es realizarlo *in vivo* de acuerdo a la dosis efectiva y tomando en cuenta los resultados de los mg de los compuestos que se absorben. La absorción de los fármacos es de gran importancia para determinar dosis tóxica y dosis efectiva, esto solo es un pequeño paso para desarrollar la patente de un fármaco; por lo que se toma en cuenta condiciones similares a nuestro organismo.

La velocidad de absorción depende de la concentración o dosis del fármaco, ya que a mayor cantidad se tenga presente el principio activo; mayor va ha ser su capacidad de absorberse a través del tejido. En el estudio anterior predomino la fracción ionizada del principio activo lo que le permitio permanecer soluble en la fase acuosa, pero disminuille su capacidad de ser absorbida y por lo tanto tenia menos posibilidades de penetrar a la membrana semipermeable, por lo que es mejor que predomine la especie no ionizada, con baja polaridad.

GLOSARIO.

Absorción. Describe el paso de un fármaco desde el tracto gastrointestinal, músculo, piel, mucosa bucal, pulmón, etc. hacia el sistema circulatorio.

Adsorción. El fármaco solo se adhiere a la membrana semipermeable o a las barreras hematoencefálicas, no pasa a través de estas.

Biodisponibilidad. Rapidez y magnitud de la absorción de un fármaco en su forma farmacéutica, administración a un organismo vivo.

Biofarmacia. Ciencia farmacéutica que estudia la relación entre las propiedades físicas, químicas y físico-químicas del medicamento, su efecto después de administrarse para evaluar la eficacia del medicamento.

Biotransformación. Transformación metabólica necesaria para que ocurra el efecto biológico de eliminación.

Compartimiento. Es un área resguardada o un espacio apartado físico o virtual, sitio de absorción donde se encuentra el fármaco para que sea absorbido, área específica.

Concentración: es la cantidad de soluto que esta presente en cierta cantidad de disolvente, un mayor gradiente de concentración favorecerá los procesos de transferencia; las cconcentraciones máximas y mínimas de un fármaco en plasma o sangre deben ser medidas durante ciclos de administración repetida.

Calibración. Es el conjunto de operaciones que determinan la relación entre los valores indicados por un sistema de medición ó instrumento y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

Difusión. Es el proceso en el que se realiza la transferencia de masa de moléculas, dada por movimientos moleculares aleatorios, se asocia a un gradiente de concentración.

Distribución. Se puede conocer fácilmente de acuerdo al volumen teórico de los fluidos o tejidos corporales en los que el fármaco se disuelve.

Efecto. Acción terapéutica que provoca un fármaco o medicamento en un organismo vivo a través de una dosis administrada.

Especificaciones. Descripción del material, sustancia o producto que incluye la definición de sus propiedades y sus características con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.

Especificidad. Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

Estabilidad. Propiedad de una muestra preparada para su cuantificación de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito; después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Exactitud. Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Fármaco. Toda sustancia natural, sintética o biotecnológica que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presente en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.

Farmacocinética. Es la rama de la farmacología que estudia los cambios de concentración del fármaco y estudia la evolución cronológica de los fenómenos de absorción, distribución, biotransformación y excreción, así como de sus respuestas biológicas correspondientes.

Farmacodinamia. Acción que llevan a cabo los fármacos dentro del organismo, su forma de distribuirse en los órganos.

Limite de Cuantificación. Es la concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables en las condiciones de operación establecidas.

Limite de Detección. Es la concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada; pero no cuantificada en las condiciones de operación establecidas.

Medicamento. Toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas, cuando un producto contenga nutrientes, será considerado como medicamento, siempre que se trate de un preparado que contenga de manera individual o asociada: vitaminas, minerales, electrolitos, aminoácidos o ácidos grasos, en concentraciones superiores a las de los alimentos naturales y además se presente en alguna forma farmacéutica definida y la indicación de uso contemple los efectos.

Modelo. Es un patrón a seguir, una representación física esquemática o ecuación matemática que representa un proceso, que ayuda a predecir sus funciones más importantes; nos ayuda a estudiar un fenómeno, de esta forma podemos describir, explicar y predecir su comportamiento, puede ser un modelo monocompartmental, etc.

Modelo Abierto de un Compartimiento (MAUC). El fármaco entra en el organismo con una velocidad de entrada y se distribuye en todo el organismo de forma homogénea y sale independiente con una velocidad.

Modelos animales "in situ". Se basan en aislar el segmento intestinal de interés en el animal anestesiado, administrar el fármaco en su interior y medir la desaparición del mismo desde el citado segmento y/o su aparición en la sangre del animal.

Modelos animales "in Vitro". Consiste en aislar completamente el segmento intestinal y utilizarlo como una membrana semipermeable en un dispositivo adecuado, de manera que se dispone en un lado la disolución del fármaco y se mide su aparición en el lado opuesto. Ambos procedimientos poseen claros inconvenientes. (Doluisio y col 1969, Fargerholm y col 1996).

Precisión. Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando se lleva a cabo el mismo procedimiento una muestra homogénea de un producto o de una referencia.

Permeabilidad. Es la capacidad de un material para permitir que un fluido lo atraviese sin alterar su estructura interna. Se dice que un material es permeable si deja pasar a través de él una cantidad apreciable de fluido en un tiempo dado, e impermeable si la cantidad de fluido es despreciable.

Repetibilidad. Precisión de un método analítico, es la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista; usando los mismos instrumentos y métodos.

Reproducibilidad. Precisión del método analítico, es la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación): es una dependencia del poder ejecutivo federal, que lleva a cabo una política de apoyo para producir mejor y aprovechar las ventajas de nuestro sector agropecuario, integrar las actividades del medio rural a las cadenas productivas del resto de la economía y estimular la colaboración de las organizaciones de productores con programas y proyectos propios; cumplir con las metas y objetivos para el sector agropecuario en el plan nacional de desarrollo.

Transferencia de sustancias a través de membranas: Es el desplazamiento de sustancias a través de la membrana, mediado por procesos ya conocidos.

Transporte Activo. Es un mecanismo del paso de las moléculas a través de la membrana celular por difusión molecular.

Vía de administración. Es el paso del fármaco de acuerdo a su forma farmacéutica y a su función.

9. REFERENCIAS.

1. **Pezzuto John M.** “Biotecnology and pharmacy”; *New York USA*, 1993. pág. 116 - 151.
2. **Ruth R. Levine.** “Farmacología”, España; *Editorial Salvat* 1982, pág. 97-110.
3. **Domenech, Berrozpe J., Martínez Lanao, J. y Plá Delfina, J.M.** Biofarmacia y Farmacocinética. Vol. I. "Farmacocinética". *J. Editorial Síntesis*. Madrid. 1997.
4. **Artursson P, Borchardt R,** Intestinal Drug Absorption and Metabolism in Cell Cultures: Caco-2 and Beyond. *Pharmaceutical Research*.14:1655-1657, 1997.
5. **Domenech, Berrozpe J., Martínez Lanao, J. y Plá Delfina, J.M.** Biofarmacia y Farmacocinética. Vol. II. "Biofarmacia". *Editorial Síntesis*. Madrid. 1998.
6. **Zites William.** “Pharmaceutical Biotechnology”; *New York USA*, 1992. pág. 99-122.
7. **Litter Manuel.** “Farmacología Experimental y Clínica”, *Editorial El Atenco*, 1986. 7ª. Edición capítulo 1 y 2.
8. **Gibaldi, M y Perrier, D. (1982).** Pharmacokinetics. Marcel Dekker, Nueva York. Traducción española: "Farmacocinética", *Editorial Reverté, Barcelona*, 1982.
9. **Kalant, Harold;** Principles of Medical; 5th ed. *Ed. McGraw-Hill*; Canada; 1989.
10. **Goodman y Gilman.** “Las bases farmacológicas de la terapéutica”; México, *Mc. Graw Hill Interamericana* 1996, 9ª. Edición. Vol. 1, Cap. 1 y 2.
11. **Sanz Pedrero, Pablo.** Introducción a la farmacocinética. *The General Secretariat of the Organization of American states Washington, DC. USA* 1982.
12. **Notari E. R.** “Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics”. *Marcel Dekker*, 3ª. edición, U.S.A., 1980.
13. **Florez J. Armijo J. A., Mediavilla A.** Farmacología Humana. *Editorial Masson*, 3ª. Edición, 1997.
14. **Clark, Bruce., Smith, Dennis.** Introducción a la farmacocinética. *Editorial Acribia*. España 1989.
15. **Remington.** “Farmacología”, 7ª. Edición; Tomo I. *Medicina Panamericana S.A.* Buenos Aires; Argentina 1990, Pág. 1568-1569.
16. **Smith C y Reynard A.** “Farmacología”. *Editorial Médica-Panamericana*. 1º Edición Buenos Aires, 1993.
17. **Swarbrick James** Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences: Biopharmaceutics.

18. **Estrada E., Hernández M.** “Cinética de transporte a través de membranas”. *H. M. Blume (ed). Madrid (1976).*
19. **Aungust B. J., Saitoh H.** “Intestinal absorption barriers and transport mechanisms, including secretory transport, for a cyclic peptide, fibrinogen antagonist”. *Pharm. Res. 13 (1): 114- 119 (1996).*
20. **Jacques, Y.** “Systemes mucoadhesifs pour absorption bucale caracterisation des materiaux polymeriques et avaluation de dispositifs bioadhesifs” Dr. Tesis, Université de Genève (1996).
21. **Martin, A.** “Physical Pharmacy”. U.S.A., *Lea & Febiger*. 3ª. Edición, 1983; págs 399-408.
22. **Gerard J. Tortora, Bryan Derrickson.** “Principios de Anatomía y Fisiología” Editorial Medica Panamericana, 11ª. Edición, 2006; págs 902-905, 917-922, 927-937.
23. **Ganem Q. A., Kalia, Y. N., F. R. , F. Buri, P.** “Mechanisms of oral permeation enhancement” *Int. J. Pharm., 156 (1997) 127-142.*
24. **Hadgraft, J., Peck, J., Williams, D. G. , Pugh, W. J. and Allan, G.** “ Mechanisms of action of skin penetration enhancers/retarders: azone and analogues”. *Int. J. Pharm.* 141 (1996) 17-25.
25. **Lippert H.** “Anatomía, Estructura y Morfología del cuerpo Humano”, Editorial Marbán, S.L, 2000. 4ª. Edición capitulo 5 págs.415 – 416.
26. **Johnson L. R., Christensen J., Jacobson E. D., Jackson M. J., Waish J. H. .** “Physiology of the gastrointestinal tract”. 2nd ed. *L. R. Johnson (ed). Raven Press. Nueva York Vol. II (1987).*
27. **Alberts B et al.** “Transporte de moléculas pequeñas a través de la membrana y base iónica de la excitabilidad de la membrana”. En: *“Biología Molecular de la Célula”*, 3 Edición, Ed Omega, Barcelona, 1996, págs. 541-587
28. **Barry, B.** “Mode of action of penetration enhancers in human skin”, *J. Cont. Rel.* 6 (1987) 85-97.
29. **Skoog A. Douglas. West M.Donald , Holler james F., Crouch R. Stanley** “Química Analítica” capitulo 22. pag. 592.
30. * **Bates T. R., Gibaldi M.** “Gastrointestinal absorption of drugs, Biopharmaceutics”. *Lea and Febiger. Filadelfia 55-99 (1970).*

31. **Raimar Löbenberg and Gordon L. Amidon** “Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards”. *Eur. J. of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 50:3 - 12 (2000).
32. **Shah V. P., Midha K. K., Digue S., Mc. Gilveray I. J., Skelly J. P., Yacobi A., Layloff T., Viswanathan C. T., Cook C. E., Mc Dowall R. D., Pittman K. A., Spector S.** “Analitical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetics studies”. *Pharm Res* 9: 588-592 (1992).
33. **García Ma. Araceli, Soberon Evelyn, Cortés Miriam, Rodríguez Ramón, Herrera Jose Luis, Alcantara Alejandra.** “Guía de Validación de Métodos Analíticos.”. Editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C. Edición 2002. págs.
34. **A. Ma. Velazquez.** “Synthesis and antyhipertensive effects of new methylthiomorpholinphenol derivatives”. *European Journal of Medical Chemistry* 43 (2008).
35. **Aiache J. M.** “Biofarmacia”. Editorial *El manual moderno*. pá.g 377 – 409 (1983).
36. **Ballard S. T., Hunter J. H., Taylor A. E.** “Regulation of tight-junction permeability during nutrient absorpction across the intestinal epithelium”. *Ann. Rev. Nutrition* 15: 35-55 (1995).
37. **Barthe L., Bessouet M., Woodley J. F., Houin G.** “The improved everted gut sac: a simple method to study intestinal P- glycoprotein”. *Int. J. Pharmaceut.*173 (1-2): 255- 258 (1998).
38. **Flens M. J., Zaman G. J. R., Van der Valk P., Izquierdo M. A., Schroeijers A. B., Scheffer G. L., de Hass M. Meijer C. J. L. M., Sheper R. J.** “Tissue distribution of the multidrug resistnace- associated protein”. *Am. J. Pathol.*148: 1237 - 1247 (1996).
39. **Kaus L.C.; Gillespie W.R.; Hussain A.S.; Amidon G.L.** “The effect of in vivo dissolution, gastric emptying rate, and intestinal transit time on the peak concentration and arrea-under-the-curve of drugs with different gastrointestinal permeabilities”. *Pharm Res* 16: 272-280 (1999).