



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.

TÍTULO:

**DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO
DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL PARA EVALUAR LA
LIBERACIÓN DE FÁRMACOS EN MEDICAMENTOS
ADMINISTRADOS POR VÍA INTRAMUSCULAR.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

ISRAEL LÓPEZ CERVANTES.

ASESOR: Q.F.B. JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS.

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2014.



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.

A Dios por darme la oportunidad de vivir, crecer y otorgarme los mejores padres que pudiera haber tenido un hijo.

A mis padres por todo el apoyo que me dieron durante el trayecto de mi vida, este pequeño trabajo es dedicado a ustedes como recompensa a todo el esfuerzo que han hecho para que sea una mejor persona.

Muchas gracias por todos los regaños y pláticas, que me han hecho ser una mejor persona, no olvidaré nunca esta gran lección de vida que me otorgaron que no cambiaría por nada en el mundo, creo que las palabras sobran, simplemente **GRACIAS**.

Agradezco infinitamente a todos mis profesores, ya que en mayor o menor medida han contribuido a la conclusión de este trabajo, gracias por los buenos consejos que me hicieron crecer como persona, y también los regaños y desaires que me enseñaron a no claudicar y luchar hasta conseguir mis objetivos, no hay un imposible si me lo propongo.

Agradezco a todos mis compañeros de estudio, ya que de cada uno de ellos me llevo una enseñanza que jamás olvidaré, sería una lista interminable, pero creo que cada uno de ellos sabrá lo que me brindo, su amistad y apoyo, muchas gracias.

Gracias Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas, por tener la paciencia para apoyarme en este proyecto que emprendí, aunque con retrasos por tiempos valió la pena, espero algún día llegar a poseer todos los conocimientos en el área de Biofarmacia y Desarrollo Analítico al igual que usted, gracias por sus consejos y sobre todo por enseñarme a realizar mi propio trabajo, es un ejemplo a seguir.

Gracias a ti Cristina por estar conmigo en este momento tan importante, por tu apoyo y sobre todo por soportar mi carácter. Recuerda que pase lo que pase siempre tendrás un lugar en mi corazón TQM.

Dedicado de igual forma pero sin restar importancia a mis perros: Rocky y Pelusa donde quiera que estén.

Lo imposible cuesta solo un poco más...

*El dolor es temporal, el orgullo para siempre... **Israel López Cervantes***





ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.	5
Índice de tablas.	6
Índice de gráficos.....	9
Lista de abreviaturas.....	11
1. Introducción.	14
2. Justificación.....	15
3. Objetivos.	19
1. Objetivo general.	19
2. Objetivos específicos.....	19
3. Hipótesis.....	19
4. Marco teórico.	20
1. Farmacocinética.....	20
2. Evolución temporal de los fármacos en el organismo.....	21
3. Cinética de los procesos.	21
1. Cinética de orden uno y cero, ecuación de velocidad.....	21
2. Cinética de michaelis-menten.....	23
4. Análisis compartimental.....	25
5. Modelo monocompartimental.....	26
1. Cinética de dosis única (bolo intravenoso).....	28
2. Interpretación de las curvas de niveles plasmáticos.	29
3. Constante de eliminación.....	29
4. Semivida de eliminación.....	30
5. Significado de la expresión $e - kel.t$	31
6. Volumen de distribución.....	32
7. Área bajo la curva de niveles plasmáticos.	33
8. Relación existente entre el área bajo la curva y el volumen de distribución.	37
9. Depuración plasmática.....	37





6.	Administración extravasal. Modelo monocompartimental.	38
	42
1.	Parámetros relacionados con la absorción.	
2.	Estimación de la constante de absorción.	46
7.	Velocidad de disolución.	50
1.	Ensayos de velocidad de disolución <i>in vitro</i>	51
2.	Proceso de disolución.	52
3.	Mecanismos de disolución.	53
4.	Ecuación de noyes-whitney.	54
8.	Factores que afectan la velocidad de disolución.	55
9.	Sistema de clasificación biofarmacéutica.	56
10.	Importancia del desarrollo de métodos analíticos.	58
1.	Desarrollo de métodos analíticos.	59
2.	Fases del desarrollo analítico.	60
11.	Validación de métodos analíticos.	61
	Clasificación de métodos analíticos.	62
12.	Quimiometría.	68
5.	Procedimiento experimental.	70
1.	Equipos e instrumentos.	70
2.	Reactivos.	70
3.	Material.	71
4.	Diagrama de flujo de las actividades desarrolladas.	73
5.	Curva de calibración de cafeína.	74
6.	Curva de calibración de paracetamol.	75
7.	Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental empleando cafeína.	75
8.	Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental empleando paracetamol.	76
9.	Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental con un proceso de absorción empleando paracetamol.	78





6. Resultados y discusión.	79
1. Curva de calibración de cafeína.....	80
2. Curva de calibración de paracetamol.....	84
3. Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental empleando cafeína.	88
4. Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental empleando paracetamol.	99
7. Conclusiones.	125
8. Anexos.....	126
Monografía de los fármacos.....	126
1. Paracetamol.....	126
2. Cafeína.....	128
9. Referencias bibliográficas.	129





ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1 Representación esquemática de un compartimento.

Figura 2 Representación esquemática del modelo monocompartimental con administración intravenosa.

Figura 3 Representación esquemática del modelo monocompartimental con administración extravasal.

Figura 4 Perfil farmacocinético mostrando una administración extravasal.

Figura 5 Esquema del modelo abierto de un compartimento con proceso de absorción.

Figura 6 Curvas de niveles plasmáticos obtenidos al administrar un fármaco por vía extravasal.

Figura 7 Método de retroproyección o residuales para obtención de la constante de velocidad de absorción.

Figura 8 Factores que afectan la velocidad de disolución.

Figura 9 Dimensiones del simulador farmacocinético.

Figura 10 Simulador farmacocinético. Compartimento A, vástago del sistema de eliminación y sistema de toma de muestra tipo Vacutainer.

Figura 11 Simulador farmacocinético. Compartimento B.

Figura 12 Estructura química del paracetamol.

Figura 13 Estructura química de la cafeína.





ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1 Criterios de aceptación para linealidad del sistema.

Tabla 2 Criterios de aceptación para la linealidad del método.

Tabla 3 Criterios de aceptación para la precisión del sistema.

Tabla 4 Criterios de aceptación de repetibilidad.

Tabla 5 Criterios de aceptación de precisión intermedia.

Tabla 6 Criterios de aceptación de exactitud del método.

Tabla 7 Características físicas y químicas de los fármacos utilizados.

Tabla 8 Dimensiones del simulador farmacocinético.

Tabla 9 Datos obtenidos de la curva de calibración de cafeína.

Tabla 10 Análisis de regresión de los datos de la curva de calibración de cafeína.

Tabla 11 Parámetros estadísticos de la curva de calibración de cafeína.

Tabla 12 Análisis de regresión de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de cafeína.

Tabla 13 Parámetros estadísticos de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de cafeína.

Tabla 14 Datos obtenidos de la curva de calibración de paracetamol.

Tabla 15 Análisis de regresión de los datos de la curva de calibración de paracetamol.

Tabla 16 Parámetros estadísticos de la curva de calibración de paracetamol.

Tabla 17 Análisis de regresión de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de paracetamol.

Tabla 18 Parámetros estadísticos de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de paracetamol.

Tabla 19 Perfiles cinéticos experimentales de cafeína (100 mg) a 25°C.

Tabla 20 Perfiles cinéticos experimentales de cafeína (100 mg) a 37°C.

Tabla 21 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Tabla 22 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

Tabla 23 Análisis de varianza de los 6 perfiles de cafeína (100 mg).

Tabla 24 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de cafeína (100 mg).

Tabla 25 Constantes cinéticas de cafeína obtenidas a partir del simulador monocompartimental.





Tabla 26 Perfiles cinéticos teóricos de cafeína (100 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tabla 27 Datos experimentales de cafeína obtenidos al tener como variable la velocidad de agitación.

Tabla 28 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Tabla 29 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Tabla 30 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (100 mg) a 25°C.

Tabla 31 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (100 mg) a 37°C.

Tabla 32 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Tabla 33 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

Tabla 34 Análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (100 mg).

Tabla 35 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (100 mg).

Tabla 36 Constantes cinéticas de paracetamol (100 mg) obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Tabla 37 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (100 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tabla 38 Análisis de varianza de perfiles de cafeína y paracetamol (100 mg).

Tabla 39 Resultados del análisis de varianza de los perfiles de cafeína y paracetamol (100 mg).

Tabla 40 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (500 mg) a 25°C.

Tabla 41 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (500 mg) a 37°C.

Tabla 42 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Tabla 43 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Tabla 44 Análisis de varianza de 6 perfiles de paracetamol (500 mg).

Tabla 45 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (500 mg).

Tabla 46 Constantes cinéticas de paracetamol (500 mg) obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Tabla 47 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (500 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tabla 48 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (600 mg), empleando una bolsa de difusión a 25°C.

Tabla 49 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (600 mg), empleando una bolsa de difusión a 37°C.

Tabla 50 Prueba F para varianzas de dos muestras.





UNAM
CUAUTITLÁN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



Tabla 51 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Tabla 52 Análisis de varianza de 6 perfiles de paracetamol (600 mg).

Tabla 53 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (600 mg).

Tabla 54 Constantes cinéticas de paracetamol (600 mg) empleando una bolsa de difusión obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Tabla 55 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión calculados mediante el programa Kinetica 5.1





ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1 Concentración experimental de cafeína ($\mu\text{g/mL}$) vs Absorbancia.

Gráfico 2 Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$) vs Concentración estimada ($\mu\text{g/mL}$).

Gráfico 3 Concentración experimental de paracetamol ($\mu\text{g/mL}$) vs Absorbancia.

Gráfico 4 Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$) vs Concentración estimada ($\mu\text{g/mL}$).

Gráfico 5 Perfil cinético experimental de cafeína. Escala decimal.

Gráfico 6 Perfil cinético experimental de cafeína. Escala semilogarítmica.

Gráfico 7 Perfil cinético teórico de cafeína (100 mg). Escala decimal.

Gráfico 8 Perfil cinético teórico de cafeína (100 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 9 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de cafeína. Escala decimal.

Gráfico 10 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de cafeína. Escala semilogarítmica.

Gráfico 11 Comparación de perfiles de disolución de cafeína (100 mg) teniendo como variable la velocidad agitación.

Gráfico 12 Perfil cinético experimental de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

Gráfico 13 Perfil cinético experimental de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 14 Perfil cinético teórico de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

Gráfico 15 Perfil cinético teórico de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 16 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

Gráfico 17 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 18 Comparación entre perfiles cinéticos experimentales de cafeína y paracetamol (100 mg). Escala decimal.

Gráfico 19 Comparación entre perfiles cinéticos experimentales de cafeína y paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 20 Perfil cinético experimental de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

Gráfico 21 Perfil cinético experimental de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 22 Perfil cinético teórico de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

Gráfico 23 Perfil cinético teórico de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.





UNAM
CUAUTLILAN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



Gráfico 24 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

Gráfico 25 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.

Gráfico 26 Perfil cinético experimental de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

Gráfico 27 Perfil cinético experimental de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.

Gráfico 28 Perfil cinético teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

Gráfico 29 Perfil cinético teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.

Gráfico 30 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

Gráfico 31 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.





UNAM
CUAUTLILAN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



LISTA DE ABREVIATURAS.

%AUC_{t-∞}: Porcentaje del área bajo la curva extrapolado.

AUC₀^t: Área bajo la curva desde tiempo cero hasta un tiempo determinado t .

AUC₀[∞]: Área bajo la curva desde el tiempo 0 al tiempo infinito o área total bajo la curva.

°C: Grado centígrado.

A: Absorción.

Abs: Absorbancia.

AINE: Antiinflamatorios no esteroideos.

AUC_{t-∞}: Área bajo la curva desde el tiempo t al tiempo infinito.

AUC: Área total bajo la curva.

B: Biotransformación.

BPF: Buenas Prácticas de Fabricación.

b_0 : Ordenada al origen.

b_1 : Pendiente.

C : Concentración de fármaco en el compartimento a un momento dado.

C_a : Concentración del fármaco en el lugar de absorción.

C_i : Concentración en el seno del líquido.

Cl : Depuración plasmática.

$C_{máx}$: Concentración máxima.

CME: Concentración mínima efectiva.

CMT: Concentración mínima tóxica.

C_0 : Concentración inicial de fármaco.

C_s : Solución saturada.

CV : Coeficiente de variación.

D : Distribución.

dC/dt : Velocidad de desaparición del fármaco desde el lugar considerado (Concentración/tiempo).

D_{IV} : Dosis de fármaco administrada por vía intravenosa.

D_0 : Dosis administrada.

E : Excreción.

FDA: Food and Drug Administration.

FEUM: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.





G: Energía libre de Gibbs.

GVMA: Guía de validación de métodos analíticos del Colegio Nacional de QFB A.C.

$IC\mu$: Intervalo de confianza para la media poblacional.

ICH: International Conference on Harmonization.

$IC\beta_0$: Intervalo de confianza para la ordenada.

$IC\beta_1$: Intervalo de confianza para la pendiente.

IM: Intramuscular.

K : Constante de primer orden (tiempo^{-1}).

ka : Constante de absorción.

kel : Constante de eliminación.

Km : Cantidad de fármaco relativa a una velocidad que es la mitad de la velocidad máxima ($Vm/2$).

Ko : es la constante de orden cero (masa/tiempo).

L: Liberación.

l: litros.

MAUC: Modelo abierto de un compartimento.

mg: miligramos.

min: minutos.

mL: mililitros.

mm: milímetros.

MRT: Tiempo medio de residencia.

NMDA: ácido N-metil-D-aspartico.

NOM: Norma Oficial Mexicana.

nm: nanómetros.

PG: Prostaglandinas.

pH: potencial de hidrógeno.

PNO's: Procedimientos Normalizados de Operación.

Q : Cantidad de fármaco en el compartimento.

Qa : Cantidad de fármaco remanente en el lugar de absorción a un tiempo dado tras la administración.

Qel : Cantidad de fármaco eliminada.

RPM: Revoluciones por minuto.

S: Desviación estándar.





UNAM
QUAUITLÁN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



SCB: Sistema de clasificación biofarmacéutica.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SSA: Secretaría de Salud.

$t_{1/2}$: Tiempo de vida media o semivida biológica.

T: Temperatura termodinámica.

t : tiempo transcurrido.

t_0 : Periodo de latencia.

$t_{máx}$: Tiempo máximo.

V: Volumen determinado.

V_d : Volumen de distribución del fármaco.

V_m : Velocidad máxima del proceso.

y : Media aritmética.

ΔH : Cambio de entalpía del sistema.

ΔS : Cambio de entropía del sistema.

Δt : Intervalo de tiempo muy corto.





1. INTRODUCCIÓN.

En muchas situaciones, cuando se tiene interés en cuantificar el componente en una muestra, es necesario contar con una metodología de medición (método analítico). Por ello las empresas, principalmente farmacéuticas, requieren este tipo de metodologías, pudiendo utilizar métodos farmacopeicos o bien, dedicar tiempo para su desarrollo, partiendo del hecho de que deben cumplir el atributo de confiabilidad. Como en muchas de las actividades de la industria farmacéutica se hace uso del método científico para alcanzar este atributo, es necesario llevar a cabo en la mayoría de las ocasiones estudios experimentales que permitan demostrar la confiabilidad de lo que se está midiendo. El proceso que permite cumplir con este fin es la validación.

Como se sabe todos los productos farmacéuticos deben reunir atributos de identidad, pureza, concentración, potencia, inocuidad y disponibilidad para cumplir con los aspectos normativos oficiales (externos), propios de la empresa (internos) y los éticos (que no son menos importantes), por lo que si un método analítico, que finalmente es el medidor de las características críticas de calidad del producto, no es confiable, se corre el grave riesgo de afectar al paciente.

Desde este enfoque, la validación de métodos analíticos es un sistema involucrado en los procesos de fabricación en el área de calidad de la empresa y, bajo la filosofía de validación, las autoridades regulatorias verifican que las empresas sustenten estos sistemas con actividades documentadas, como se indica en la NOM-059-SSA1-2013 y en otros lineamientos regulatorios internacionales.

El objetivo final de un dictamen de calidad, es la liberación (enviar a su venta) o no liberación de un producto sobre la base de las especificaciones previamente establecidas. Esta decisión es tomada generalmente por el profesional farmacéutico, en gran medida basado en resultados obtenidos al aplicar uno o diversos métodos analíticos. Si estos no son farmacopeicos y no están validados, su decisión puede ser errónea y afectar al usuario del producto y a la empresa.

La validación proporciona a quien aplica la metodología una seguridad de la confiabilidad de dichos métodos, y puede tomar la decisión final con certeza.





No debemos pasar por alto el hecho de que el factor más importante durante la validación de todo método analítico es siempre el criterio del profesional, responsable de la decisión, que es necesario aplicar después de tomar en cuenta todos los factores relacionados con él, o los principios activos, concentraciones, forma farmacéutica, tipo de muestra, método de análisis, propósito de la técnica analítica, instrumentación, sustancias relacionadas, etc. (Alcántara P. A. 2002. Guía de Validación de Métodos Analíticos).

2. JUSTIFICACIÓN.

Un método analítico está definido como la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra. Un analito se define como un componente específico en una muestra a medir en un análisis; por lo que un método analítico mide un componente específico (analito) en una muestra y como todo proceso de medición, éste debe ser confiable para ser utilizado con un propósito definido. La validación de métodos analíticos es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada, es decir, cumple con su propósito. Esta actividad puede ser justificada por los siguientes aspectos:

Moral y ética: El profesional farmacéutico es el responsable de los procesos farmacéuticos y por lo tanto de la calidad de estos. Todo producto farmacéutico (materias primas, producto intermedio, producto a granel y producto terminado) debe satisfacer requisitos y para ello se utilizan métodos para medir componentes específicos en el producto, lo cual es llevado a cabo por métodos analíticos.

Aseguramiento de calidad: Los métodos analíticos están definidos como un sistema crítico en el aseguramiento de calidad en una empresa farmacéutica, ya que impactan de manera directa en la calidad de un producto.

Económica: La carrera de muchas empresas por alcanzar una productividad elevada a costos menores, está determinada, entre otros factores, al dictamen del producto en menor tiempo, utilizando métodos de prueba a menor costo, mantenimiento o tiempos de análisis, entre otros.





Regulatoria: La validación de métodos analíticos debe ser justificada con base a las siguientes referencias regulatorias:

1. FDA. Guideline for industry. Analytical procedures and methods validation, 2000.
2. Guideline on the validation of analytical procedures; methodology ICHQ2B, 1996.
3. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Décima edición, 2011.
4. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013 Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.
5. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2013 Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.
6. Reglamento de Insumos para la Salud, 04 de febrero de 1998.
7. Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-2013 Buenas prácticas de fabricación para fármacos.

Reglamento de Insumos para la Salud. Publicado en el Diario oficial de la Federación el 4 de febrero de 1998 (<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/ris.html>) referente a los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos (medicamentos, fármacos, materias primas o aditivos), establece lo siguiente:

Artículo	Contenido
15	Los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos, llevarán el control analítico de éstos. Dicho control deberá incluir: III. La validación de las técnicas empleadas;

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2013 Buenas prácticas de fabricación de medicamentos (http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5307536).

Numeral de la norma	Contenido
9.1	Un elemento esencial para el cumplimiento de las BPF es la validación, que nos permite demostrar que la fabricación de los medicamentos cumple las características fundamentales de





Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



	funcionalidad, consistencia y robustez, para asegurar la calidad de los medicamentos.
9.11	Validación de métodos analíticos. 9.11.1 Los métodos analíticos no farmacopeicos deben validarse conforme a la FEUM y sus suplementos. 9.11.2 Cuando se utilizan métodos farmacopeicos, se debe demostrar la verificación del sistema y su aplicabilidad al producto e instalaciones.

Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-2013, Buenas prácticas de fabricación para fármacos. (<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/164ssa18.html>).

Numeral de la norma	Contenido
9.11	Validación de métodos analíticos. 9.11.1 Los métodos analíticos no farmacopeicos o que no estén en una referencia estándar reconocida deben validarse y debe considerarse para su validación al menos las siguientes características: especificidad, linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y robustez. 9.11.2 Cuando se utilizan métodos farmacopeicos o que estén en una referencia estándar reconocida, deben ser probados y demostrar a través de una verificación que son confiables, exactos y reproducibles, si la verificación tiene resultados satisfactorios éstos no requieren validarse.

El control de calidad de un producto farmacéutico, es cotidiano, para lo cual debe contarse con especificaciones detalladas, así como los métodos adecuados para su evaluación. Las especificaciones comprenden los criterios y los límites para la aceptación o rechazo.

En algunos casos la biodisponibilidad de un fármaco en una formulación, representa un parámetro de calidad de enormes proporciones por lo que la atención que se presenta en la





UNAM
CUAUITLÁN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



actualidad a la equivalencia de los productos farmacéuticos provenientes de fuentes múltiples, pone mucho énfasis a la formulación de tales productos.

El control de disolución siempre ha sido un aspecto importante en el aseguramiento de calidad y es un requerimiento farmacopeico para las formas de dosificación oral sólidas, donde la absorción del fármaco es necesaria para que éste lleve a cabo el efecto terapéutico.

Actualmente es de mayor interés el perfil de disolución utilizándolo como una herramienta predictiva del desarrollo del producto *in vivo*, cuando existe una correlación *in vitro-in vivo*, éste se debe realizar cuando existen cambios en la formulación y manufactura de los productos, no sólo nos permite determinar la liberación del fármaco a partir de su forma farmacéutica, sino también establecer que formulación permite mayor biodisponibilidad, por lo cual es muy útil en los análisis de control de laboratorio, ya que se ha demostrado en diversas ocasiones el papel importante que juega este proceso en la eficiencia de una forma farmacéutica sólida (comprimido, cápsula, etc.) en la biodisponibilidad de los medicamentos y además nos permite distinguir en un momento dado los lotes buenos de los lotes defectuosos. La disolución tiene un papel importante en la liberación de fármacos de preparaciones farmacéuticas.

El presente trabajo se enfoca en determinar las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental diseñado con la finalidad de realizar la determinación experimental de la velocidad o cantidad con la que un principio activo se disuelve en todo un intervalo de tiempo, bajo condiciones experimentales controladas, específicamente para la vía intramuscular empleando como fármacos de prueba cafeína y paracetamol porque pertenecen a la clase I bajo el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, es decir, son altamente permeables y solubles lo que facilita los objetivos planteados.

El simulador farmacocinético fue diseñado en el Laboratorio de Ensayos de Desarrollo Farmacéutico, el cual simula una administración por vía intramuscular, obteniéndose los resultados y después de un tratamiento estadístico se puede emplear para evitar en un futuro que estas pruebas se realicen en animales o humanos y puedan ser afectados por los efectos adversos que todos los medicamentos tienen asociados a su administración.





3. OBJETIVOS.

1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para la vía intramuscular, empleando cafeína y paracetamol como fármacos de prueba para determinar las constantes cinéticas que caracterizan el proceso de liberación.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Realizar el estudio cinético *in vitro* de la cafeína y paracetamol por medio de la utilización de un modelo abierto de un compartimiento (MAUC) simulando una administración intramuscular, para determinar los parámetros cinéticos que caracterizan el proceso.
2. Desarrollar y validar un método analítico para su empleo en la determinación de la concentración de fármaco disuelto en los estudios cinéticos *in vitro*.
3. Obtener los parámetros cinéticos, a partir de los perfiles realizados empleando un análisis estadístico y establecer si existen o no diferencias significativas entre los ensayos realizados.

3. HIPÓTESIS.

Los fármacos tienen constantes cinéticas que les son características dependientes de sus propiedades intrínsecas y pueden ser estimadas mediante estudios cinéticos *in vitro*. Al determinar las condiciones específicas de funcionamiento del simulador farmacocinético, este puede ser empleado para estudios *in vitro* de diversos medicamentos administrados por diferentes vías y obtener sus respectivas constantes.





4. MARCO TEÓRICO.

1. FARMACOCINÉTICA.

La palabra Farmacocinética fue empleada por primera vez para describir los procesos de velocidad de cambio de las concentraciones de fármacos en el organismo humano o animal, su propósito es el estudio de las velocidades de cambio de concentración de fármacos y sus productos de biotransformación en los fluidos biológicos, tejidos y excretas, así como también de la respuesta farmacológica y la construcción de modelos adecuados para la interpretación de la información obtenida. Asimismo, la Farmacocinética es indispensable en la evaluación de la biodisponibilidad y por ello, desempeña un papel fundamental en los estudios biofarmacéuticos.

La Farmacocinética es la rama de la Farmacología que se encarga del estudio de los cambios de concentración de un fármaco y/o sus productos de biotransformación de fluidos, tejidos o excreciones en el hombre o en animales, con el fin de determinar la forma en que se efectúa la absorción, distribución y excreción del fármaco. Se apoya en modelos matemáticos y métodos analíticos.

Los modelos farmacocinéticos son una representación física, esquemática o matemática que describen y explican los cambios de concentración de un fármaco o su (s) producto (s) de biotransformación en función del tiempo, ayudando a predecir las concentraciones bajo otras perspectivas y así conocer los procesos de absorción, distribución y excreción del mismo.

La elaboración de modelos farmacocinéticos presenta la ventaja de poder usar el razonamiento matemático, lo que permite definir cierto número de parámetros a los cuales se les pueden atribuir diferentes valores numéricos con el objeto de aproximarse al máximo, a los hechos biológicos. Al realizar estudios de Farmacocinética *in vitro*, la interpretación de los datos experimentales se realiza con la ayuda de modelos basados en compartimentos. La utilización de modelos en Farmacocinética supone al organismo dividido en diferentes regiones, unidas entre sí, en las cuales el fármaco se distribuye después de su entrada al torrente circulatorio.





2. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LOS FÁRMACOS EN EL ORGANISMO.

La administración de un fármaco en una forma farmacéutica a un organismo humano o animal somete las moléculas del fármaco a una serie de procesos que se pueden resumir en la liberación (L), absorción (A), distribución (D), biotransformación (B) y excreción (E).

La liberación a partir de la forma de dosificación es el primer proceso que debe sufrir el fármaco o principio activo, finalizando con la disolución del mismo, para el caso de las soluciones este proceso no existe. Posteriormente tiene lugar la absorción mediante el cual las moléculas del fármaco alcanzan la circulación general sanguínea. Una vez que las moléculas han alcanzado la circulación general sanguínea tiene lugar su distribución por el organismo llegando a un estado de equilibrio. El tiempo necesario para que se alcance dicho equilibrio es muy variable para los distintos fármacos, de modo que su mayor o menor rapidez condicionará el modelo cinético.

Desde el momento de su llegada a la circulación sanguínea y al mismo tiempo de su distribución, tiene lugar la eliminación del fármaco, que puede ser mediante biotransformación y/o excreción como fármaco inalterado por orina y bilis principalmente.

La biotransformación y la excreción constituyen la eliminación; por otra parte la distribución y la eliminación componen la disposición del fármaco (**Doménech** y Martínez. 2001. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen I).

3. CINÉTICA DE LOS PROCESOS.

Se han descrito tres posibles cinéticas relacionadas con los procesos de LADBE caracterizadas por el orden de reacción: orden cero, orden uno y orden mixto o cinética de Michaelis-Menten.

1. CINÉTICA DE ORDEN UNO Y CERO, ECUACIÓN DE VELOCIDAD.

La cinética de primer orden es cualquier proceso en el que la variable dependiente guarda relación proporcional con la primera potencia de la variable dependiente. En Farmacocinética, es el proceso cuya velocidad es proporcional a la concentración de fármaco, por ejemplo, la





velocidad de la caída de las concentraciones plasmáticas de un fármaco eliminado por un proceso de primer orden es proporcional a su concentración sin dependencia de otro factor.

$$\frac{dC}{dt} = -k.C \quad Ec. 1$$

Donde:

C : Concentración de fármaco en un momento determinado.

k : Constante de primer orden (tiempo⁻¹).

dC/dt : Velocidad de desaparición del fármaco desde el lugar considerado (Concentración/tiempo).

Resolviendo la ecuación diferencial:

$$C = C_0.e^{-k.t} \quad Ec. 2$$

Expresión en la que C_0 es la concentración inicial de fármaco (o concentración a tiempo cero) y t es el tiempo transcurrido. Transformando en la ecuación de una recta:

$$\ln C = \ln C_0 - k.t \quad Ec. 3$$

El proceso cuya velocidad es constante e independiente de la concentración, se refiere a una cinética de orden cero. En Farmacocinética, es la cinética de eliminación o de transferencia de fármacos que opera a velocidad constante. Esta cinética describe, por ejemplo, la eliminación del alcohol por metabolización, a las concentraciones habituales (Murray Robert. 2010. Bioquímica de Harper).

Las ecuaciones equivalentes a las anteriores para la cinética de orden cero son respectivamente:

$$\frac{dC}{dt} = -k_0 \quad Ec. 4$$





$$C = C_0 - k_0 \cdot t \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

k_0 : es la constante de orden cero (masa/tiempo).

Observamos que la cinética de orden cero es una línea recta sin necesidad de transformación adicional.

2. CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

La cinética de Michaelis-Menten describe la velocidad de reacción de muchas reacciones enzimáticas. Recibe este nombre en honor a Leonor Michaelis y Maude Menten. Este modelo sólo es válido cuando la concentración del sustrato es mayor que la concentración de la enzima, y para condiciones de estado estacionario, es decir, cuando la concentración del complejo enzima-sustrato es constante.

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde:

V_m : Velocidad máxima del proceso.

K_m : Cantidad de fármaco relativa a una velocidad que es la mitad de la velocidad máxima ($V_m/2$).

Ecuación integrada:

$$t = \frac{1}{V_m} \left(C_0 - C + K_m \cdot \ln \frac{C_0}{C} \right) \quad \text{Ec. 7}$$

Sin embargo la solución integrada de la ecuación no halla C de forma explícita. Pero existen dos situaciones límite que permiten la simplificación de la ecuación anterior. Así cuando la cantidad de fármaco es muy inferior al valor de K_m , puede despreciarse C frente a K_m , con lo que se obtiene:

$$\frac{dC}{dt} \simeq -\frac{V_m \cdot C}{K_m} = -k \cdot C \quad \text{Ec. 8}$$





Obtenemos una ecuación de primer orden aparente, siendo en este caso el valor de k igual al cociente de V_m y K_m . Por el contrario, cuando la cantidad de fármaco es muy superior al valor de K_m , puede despreciarse este valor frente a C con lo que se obtiene:

$$\frac{dC}{dt} \simeq -\frac{V_m \cdot C}{K_m} = -k_o \quad \text{Ec. 9}$$

Siendo el valor de K_o igual al valor de V_m .

Los procesos de liberación-absorción suelen presentarse, en su conjunto como un proceso de orden uno o pseudoorden uno, por lo que la cinética con la que el fármaco accede a la sangre puede presentarse del siguiente modo:

$$\frac{dCa}{dt} = -k_a \cdot Ca \quad \text{Ec. 10}$$

Donde Ca representa la concentración de fármaco en el lugar de absorción y k_a es la constante de absorción. En ocasiones la absorción puede tener lugar de acuerdo a una cinética de Michaelis-Menten:

$$\frac{dCa}{dt} = -\frac{V_m \cdot Ca}{K_m + Ca} \quad \text{Ec. 11}$$

Por otra parte, las características de la forma farmacéutica pueden ocasionar que la desaparición del fármaco desde el lugar de absorción discurra según una cinética aparente de orden cero, como sucede frecuentemente cuando se utilizan sistemas de liberación sostenida:

$$\frac{dCa}{dt} = -k_o \quad \text{Ec. 12}$$

La biotransformación es un proceso que intrínsecamente corresponde a una cinética de Michaelis-Menten. No obstante, si las concentraciones de fármaco en plasma no son muy elevadas, dicho proceso puede aproximarse mediante una cinética de orden uno. La excreción





por vía renal puede tener lugar por varios mecanismos. Así la filtración glomerular y la reabsorción tubular son procesos de primer orden, mientras que la secreción tubular activa es un proceso con cinética de Michaelis-Menten, pero si la concentración de fármaco no es muy elevada, puede presentarse como un proceso de primer orden aparente (**Hiemenz P. C.** y **Rajagopalan, R. S.** 1997. Principles of Colloid and Surface Chemistry).

El estudio del LADBE de un fármaco puede efectuarse en animales de experimentación y en humanos. Los animales permiten un mayor número de posibilidades para tomar muestra de prácticamente todos los tejidos con el fin de caracterizar la distribución del fármaco, en humanos principalmente se muestrea sangre y orina por lo que la representación frente a tiempo de los datos anteriores configura:

1. Las curvas de nivel plasmático.
2. Las curvas de excreción urinaria.

4. ANÁLISIS COMPARTIMENTAL.

Los seres vivos son sistemas complejos y resulta difícil establecer una relación cuantitativa entre la dosis de fármaco, vía de administración empleada, la cantidad o concentración de fármaco en distintas zonas anatómicas y el tiempo transcurrido. Con el fin de lograr una adecuada descripción de lo anterior recurrimos a modelos matemáticos que expresan las velocidades del paso del fármaco a través del organismo, llevando a ecuaciones que describen y predicen las concentraciones del fármaco en el cuerpo en función del tiempo.

Un compartimento representa una fracción de material biológico en el que el fármaco se supone uniformemente distribuido y en el que presenta las mismas propiedades cinéticas como se puede apreciar en la figura 1.

Un compartimento se encuentra definido por sectores acuosos que ocupan un volumen determinado (V) y que contiene una cantidad determinada de fármaco (Q), la concentración del fármaco (C) en el compartimento vendrá dada por el cociente Q/V ($C=Q/V$).



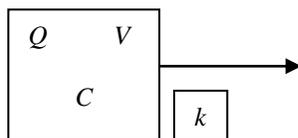


Figura 1 Representación esquemática de un compartimento.

Siendo k la constante de velocidad de primer orden. Consideremos que un compartimento es una unidad conceptual, ya que a veces zonas muy próximas del organismo pueden pertenecer a compartimentos distintos.

5. MODELO MONOCOMPARTIMENTAL.

El modelo monocompartimental es el modelo más sencillo constituido por un solo compartimento. Propuesto en 1924 por E. Widmark y J. Tanberg, sin embargo fue tomado en cuenta hasta de 1950 por F. H. Dost ensayando sus aplicaciones clínicas.

El modelo (figura 2) considera al organismo como un compartimento único de carácter acuoso, las moléculas del fármaco tras una administración intravenosa rápida sufrirán una distribución instantánea a aquellas zonas del organismo a las que el fármaco accede en cuestión.

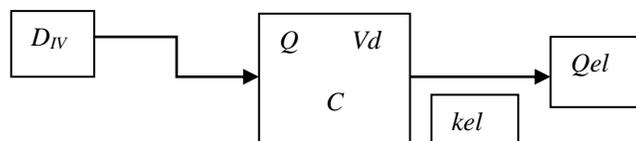


Figura 2 Representación esquemática del modelo monocompartimental con administración intravenosa.

Donde:

D_{IV} : Dosis de fármaco administrada por vía intravenosa.

V_d : Volumen de distribución del fármaco.

C : Concentración de fármaco en el compartimento a un momento dado.

Q : Cantidad de fármaco en el compartimento.

k_{el} : Constante de eliminación.

Q_{el} : Cantidad de fármaco eliminada.





Ecuación de velocidad.

$$\frac{dQ}{dt} = -kel \cdot Q \quad \text{Ec. 13}$$

Dividiendo por Vd en ambos miembros, se obtiene la expresión de velocidad en función de la concentración del fármaco en el compartimento:

$$\frac{dC}{dt} = -kel \cdot C \quad \text{Ec. 14}$$

Cuando la administración no es intravenosa rápida, sino extravasal, existe una fase o periodo durante el cual se absorbe el fármaco. El modelo esquemático viene representado por la figura 3.

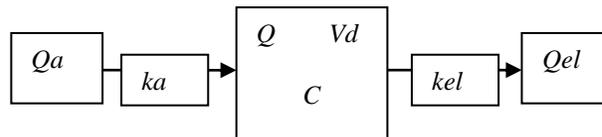


Figura 3 Representación esquemática del modelo monocompartimental con administración extravasal.

Donde:

Qa : Cantidad de fármaco remanente en el lugar de absorción a un tiempo dado tras la administración.

ka : Constante de absorción.

La ecuación que rige la variación de la cantidad de fármaco en el organismo es la siguiente:

$$\frac{dQ}{dt} = ka \cdot Qa - kel \cdot Q \quad \text{Ec. 15}$$





1. CINÉTICA DE DOSIS ÚNICA (BOLO INTRAVENOSO).

En este modelo y por esta vía de administración, el tránsito del fármaco a través del organismo se explica mediante el proceso de eliminación, representado con la siguiente expresión:

$$\frac{dC}{dt} = -kel.C \quad Ec. 16$$

Donde:

dC/dt : Variación de la concentración de fármaco en función del tiempo (velocidad de eliminación).

kel : Constante de eliminación.

C : Concentración de fármaco remanente en el lugar donde se produce el proceso.

El signo negativo del segundo miembro indica un proceso de pérdida de fármaco. La constante de velocidad de eliminación es un factor de proporcionalidad que relaciona la velocidad de eliminación con la cantidad de fármaco en el organismo en cualquier instante considerado.

Esta ecuación describe la concentración de fármaco en el organismo en cualquier instante, desde tiempo cero (administración) hasta un determinado tiempo t . Integrando la ecuación se obtiene una ecuación logarítmica que posteriormente se puede expresar como función exponencial:

$$\frac{dC}{dt} = -kel.C \quad Ec. 17$$

$$\frac{dC}{C} = -kel.dt \quad Ec. 18$$

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -kel \int_0^t dt \quad Ec. 19$$

$$\ln C - \ln C_0 = -kel.(t - 0) \quad Ec. 20$$

$$\ln C = -kel.t + \ln C_0 \quad Ec. 21$$





Tras la administración intravenosa, la concentración de fármaco en el organismo a tiempo cero C_0 está dada por la dosis administrada (D) disuelta instantáneamente en el volumen de distribución (D/V_d).

$$C = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t} \quad Ec. 22$$

2. INTERPRETACIÓN DE LAS CURVAS DE NIVELES PLASMÁTICOS.

La concentración de fármaco en el organismo, a cualquier tiempo considerado, se obtiene del cociente de la cantidad de fármaco (Q) en ese instante entre el volumen acuoso en el que se halla aparentemente disuelta o, dicho de otra manera, distribuida (V_d) por consiguiente:

$$C = \frac{D}{V_d} \cdot e^{-k_{el} \cdot t} \quad Ec. 23$$

La ecuación 23 es indicativa del tránsito del fármaco en el organismo de acuerdo con el modelo monocompartimental tras una administración intravenosa rápida (bolus). La velocidad de eliminación es mayor al inicio del proceso que hacia el final del mismo, dado que la cantidad de fármaco es superior al principio que transcurrido cualquier periodo de tiempo considerado.

3. CONSTANTE DE ELIMINACIÓN.

La constante de velocidad de eliminación equivale al valor absoluto de la inclinación de la recta que relaciona los logaritmos neperianos de las concentraciones plasmáticas frente a los tiempos, obtenida por regresión lineal simple:

$$\ln C = -k_{el} \cdot t + \ln C_0 \quad Ec. 24$$

En la cual C es la concentración plasmática al tiempo t y k_{el} la constante de eliminación, siendo C_0 la concentración plasmática inicial. La constante de eliminación se expresa en forma de tiempo recíproco ($h^{-1} \cdot \min^{-1}$):





$$\frac{dC}{dt} = -kel.C \quad Ec. 25$$

$$kel = \frac{\frac{dC}{dt}}{C} \quad Ec. 26$$

Dado que la concentración de fármaco en el momento de su administración intravenosa (bolus), a tiempo cero, equivale a $C_0 = D/Vd$ puede expresarse el transito del fármaco en función de su concentración en cualquier instante según la siguiente expresión:

$$C = C_0 \cdot e^{-kel.t} \quad Ec. 27$$

4. SEMIVIDA DE ELIMINACIÓN.

La constante de eliminación rige la velocidad del proceso, pero la permanencia o fugacidad del fármaco en el organismo se estima con mayor facilidad a través de un parámetro denominado semivida biológica ($t_{1/2}$). Se define como el tiempo en que una determinada concentración del fármaco se reduce a la mitad de su valor. En un proceso cinético de orden uno, la semivida es un valor constante e independiente de la dosis administrada y de la concentración inicial considerada (administración intravenosa).

Puede observarse que siendo la concentración a tiempo cero igual a la dosis D , dividida por el volumen de distribución Vd , la semivida equivaldrá al tiempo en que dicha concentración se ha reducido a la mitad $D/ (Vd/2)$.

$$\frac{D}{2.Vd} = \frac{D}{Vd} \cdot e^{-kel.t_{1/2}} \quad Ec. 28$$

Si se divide ambos términos por D/Vd obtenemos:

$$\frac{1}{2} = e^{-kel.t} \quad Ec. 29$$

$$2 = e^{kel.t_{1/2}} \quad Ec. 30$$





Tomando logaritmos neperianos:

$$\ln 2 = kel \cdot \frac{t_1}{2} \cdot \ln e \quad Ec. 31$$

$$\frac{t_1}{2} = \frac{\ln 2}{kel} \quad Ec. 32$$

La constante de eliminación equivale a:

$$kel = \frac{\text{velocidad de eliminación del fármaco}}{\text{cantidad de fármaco remanente en el organismo}}$$

La constante de eliminación puede expresarse como una constante de proporcionalidad entre la velocidad del proceso de eliminación del fármaco y la cantidad del mismo remanente en el organismo en cualquier instante considerado.

5. SIGNIFICADO DE LA EXPRESIÓN $e^{-kel.t}$

Partiendo de la siguiente ecuación:

$$\frac{Q}{D} = e^{-kel.t} \quad Ec. 33$$

Siendo Q/D la fracción de dosis remanente en el organismo. Si expresamos el valor de t en unidades de semivida, $t_{1/2}$ es decir $t = n \cdot t_{1/2}$ y teniendo presente el valor de la semivida:

$$t = n \cdot (0.693/kel)$$

Sustituyendo el valor de t en la ecuación 33 proporciona el correspondiente a la fracción de dosis remanente en el organismo:

$$\frac{Q}{D} = e^{-kel \cdot \frac{0.693}{kel} \cdot n} = e^{-0.693.n} \quad Ec. 34$$





Y tomando en cuenta que $e^{-0.693} = 1/2$, se obtiene la siguiente expresión:

$$\text{Fracción de dosis remanente} = \left(\frac{1}{2}\right)^n$$

Indicando que transcurrida una semivida (cuando $n=1$) se ha eliminado el 50% de la dosis; transcurridas dos semividas ($n=2$) solo queda como remanente un 25% de dosis, es decir, se ha eliminado el 75% de la misma y transcurridas siete a ocho semividas, se ha eliminado prácticamente la totalidad de la dosis administrada.

6. VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN.

El volumen de distribución teóricamente representa el volumen acuoso del organismo en el cual es capaz de disolverse una cantidad determinada de fármaco de acuerdo a sus características fisicoquímicas como se observa en la ecuación 35. En el modelo monocompartimental, es el volumen acuoso en el que instantáneamente se distribuye un fármaco.

$$Vd = \frac{Q}{C} \quad \text{Ec. 35}$$

Donde Q es la cantidad de fármaco en el organismo y C la concentración de fármaco en el plasma. El hecho que un fármaco se distribuya en unas u otras zonas acuosas del organismo (agua intersticial, agua intracelular) dependerá de sus características fisicoquímicas (en particular de su pKa y de su coeficiente de reparto entre el agua corporal y los lípidos de las membranas celulares que el fármaco ha de atravesar para distribuirse), de su unión a los materiales biológicos y del pH del medio.

Para el cálculo del volumen de distribución se precisará conocer, a un determinado tiempo, tanto la cantidad de fármaco remanente en el organismo así como su concentración plasmática. Este último valor puede determinarse fácilmente, puesto que la sangre es un fluido biológico muestreable siendo el plasma su fracción acuosa. El valor del volumen de distribución se calcula para el único instante concreto en el cual se conoce la cantidad de fármaco remanente en el organismo: a tiempo cero, dado que la cantidad de fármaco en el organismo es toda la





dosis administrada, mientras que la concentración plasmática es C_0 (Doménech y Martínez. 2001. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen I).

7. ÁREA BAJO LA CURVA DE NIVELES PLASMÁTICOS.

La mayoría de los estudios farmacocinéticos se llevan a cabo utilizando las curvas de niveles plasmáticos frente a tiempo. En estas gráficas es posible determinar el área comprendida bajo la curva de niveles plasmáticos frente al tiempo (AUC_0^t), cuyo valor es representativo de la cantidad de fármaco que se ha incorporado, en forma inalterada, al organismo tras la administración de una determinada dosis. Si conocemos el valor del nivel mínimo eficaz (CME: concentración mínima efectiva), es decir, la concentración de fármaco por debajo de la cual no se produce un efecto farmacológico mensurable, el tiempo durante el cual la concentración plasmática es igual o superior a aquel nivel corresponde a la duración del efecto. La intensidad del efecto se refleja en el valor del área bajo la curva por encima de dicho nivel y está limitada por la concentración mínima tóxica (CMT).

Dado que el valor de AUC_0^t es representativo de la cantidad de fármaco que accede inalterado al organismo, a partir de este concepto y para cualquier tiempo considerado, el valor de AUC_0^t es indicativo de la fracción de dosis eliminada, mientras que el valor correspondiente al periodo comprendido entre este instante y tiempo infinito, corresponde a la fracción que todavía queda por eliminar, es decir, remanente en el organismo:

$$\left(\frac{AUC_0^t}{AUC_0^\infty}\right) \cdot 100 = \% \text{dosis eliminada} \quad \text{Ec. 36}$$

$$\left(\frac{AUC_t^\infty}{AUC_0^\infty}\right) \cdot 100 = \% \text{dosis remanente} \quad \text{Ec. 37}$$

1. **CÁLCULO DEL ÁREA BAJO LA CURVA A PARTIR DE LA ECUACIÓN REPRESENTATIVA DEL MODELO ABIERTO DE UN SOLO COMPARTIMENTO.**





Si consideramos que entre dos tomas de muestras consecutivas ha transcurrido un periodo de tiempo muy pequeño (Δt), durante el cual la concentración plasmática promedio es C , el valor del área bajo la curva de niveles plasmáticos para este intervalo puede asimilarse al área de un rectángulo:

$$\text{Área} = \Delta t \cdot C$$

Si contabilizamos todos los intervalos de tiempo considerados desde tiempo cero a un determinado tiempo (t), puede escribirse:

$$AUC_0^t = \sum_0^t \Delta t \cdot C \quad \text{Ec. 38}$$

De acuerdo con la teoría de los límites transformamos la ecuación y la expresamos en la siguiente forma:

$$AUC_0^t = \int_0^t C \cdot dt \quad \text{Ec. 39}$$

Suponemos que la eliminación del fármaco es cinéticamente un proceso de primer orden, su velocidad es directamente proporcional a la cantidad de fármaco remanente en el organismo, por lo que el proceso progresa cada vez más lentamente a medida que pasa el tiempo y, teóricamente, finaliza a tiempo infinito. Por esta razón, las curvas de niveles plasmáticos, frente al tiempo se hacen asintóticas respecto a la abscisa, lo cual significa que la concentración se hace igual a cero a tiempo infinito, Esta interpretación matemática indica que si se pretende calcular el área total bajo la curva de niveles plasmáticos, la ecuación correspondiente es la número 46.

$$AUC_0^\alpha = \int_0^\alpha C \cdot dt \quad \text{Ec. 40}$$

$$C = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t} \quad \text{Ec. 41}$$

$$AUC_0^t = \int_0^t C \cdot dt = \int_0^t C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t} \quad \text{Ec. 42}$$





$$\int_0^t C. dt = \left(-\frac{Co}{kel} \cdot e^{-kel.t} + \frac{Co}{kel} \right) \text{ Ec. 43}$$

$$\int_0^t C. dt = \frac{Co}{kel} \cdot (1 - e^{-kel.t}) \text{ Ec. 44}$$

$$AUC_0^t = \frac{Co}{kel} \cdot (1 - e^{-kel.t}) \text{ Ec. 45}$$

Si se considera $t=\alpha$, obtenemos

$$AUC_0^\alpha = \frac{Co}{kel}, \text{ dado que } e^{-kel.\alpha} = 0 \text{ Ec. 46}$$

Para un fármaco administrado por vía intravenosa y con un comportamiento único, puede calcularse el área bajo la curva de niveles plasmáticos si se conoce el valor de la constante de eliminación, kel y su concentración plasmática a tiempo cero Co .

2. CÁLCULO DEL ÁREA BAJO LA CURVA MEDIANTE INTEGRACIÓN NUMÉRICA (MÉTODO DE LOS TRAPEZOIDES).

Se basa en calcular el área entre dos puntos experimentales consecutivos de la curva de niveles plasmáticos. El área bajo la curva del intervalo correspondiente a dos tomas de muestras consecutivas puede asimilarse al área de un trapecio (que como es sabido, equivale al producto de la semisuma de las bases por la altura) de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Área} = \Delta t. \frac{C1 + C2}{2} \text{ Ec. 47}$$

Siendo $\Delta t=t_2-t_1$

El área total bajo la curva desde tiempo cero a tiempo t , equivaldrá a la suma de las áreas de todos los trapecios considerados en este periodo de tiempo:

$$AUC_0^t = \sum_0^t \Delta t. \frac{C_{t-1} + C_t}{2} \text{ Ec. 48}$$





El cálculo del área total bajo la curva (AUC_0^∞) se obtiene de acuerdo con la siguiente consideración:

$$AUC_0^\infty = AUC_0^t + AUC_t^\infty \quad Ec. 49$$

El valor de AUC_0^t se obtiene por el método de los trapezoides, mientras que el de AUC_t^∞ , donde C_0 se sustituye por la concentración plasmática correspondiente al último valor experimental de que se dispone, es decir, C_t . El área relativa a AUC_t^∞ corresponde a la fracción extrapolada mas allá del último tiempo de toma de muestras.

Respecto al cálculo del área bajo la curva por integración numérica, deben hacerse las siguientes consideraciones:

1. El cálculo del valor del área correspondiente al primer trapecio, es decir, desde tiempo cero a la primera toma de muestras, presenta la dificultad inherente al hecho de que se desconoce el valor de la concentración plasmática a tiempo cero (no es posible administrar el fármaco y determinar, simultáneamente, su concentración plasmática). Por este motivo, se estima esta concentración por extrapolación de la recta semilogarítmica que se obtiene de las concentraciones obtenidas con las dos primeras toma de muestras. Para una mayor exactitud del cálculo, se recomienda que las primeras tomas de muestras correspondan a tiempos lo más cercano posible al momento de administración.
2. El área extrapolada AUC_t^∞ se estima con mayor exactitud del cociente entre el valor de la concentración experimental correspondiente a la última toma de muestra y el valor absoluto de la inclinación.
3. Dado que el cálculo de la fracción de área extrapolada no se basa en ningún valor obtenido experimentalmente, por lo que se desconoce el tramo recto semilogarítmico desde el último tiempo de toma de muestra y el tiempo infinito, con la finalidad de evitar errores de estimación de importancia, se recomienda que el valor de área extrapolada no sea superior al 20% del valor del área total (**Gibaldi, M. y Perrier, D. 1982. Pharmacokinetics**).





8. RELACIÓN EXISTENTE ENTRE EL ÁREA BAJO LA CURVA Y EL VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN.

En función de la ecuación $Vd=D/Co$ y $AUC_0^\infty = \frac{Co}{kel}$ respectivamente.

$$Co = AUC_0^\infty \cdot kel \quad Ec. 50$$

Combinando ambas ecuaciones

$$Vd = \frac{D}{AUC_0^\infty \cdot kel} \quad Ec. 51$$

$$AUC_0^\infty = \frac{D}{Vd \cdot kel} \quad Ec. 52$$

De acuerdo con un tratamiento farmacocinético monocompartimental, la ecuación 52 relaciona el área total bajo la curva de niveles plasmáticos frente al tiempo, obtenida tras su administración intravenosa, con el volumen de distribución del fármaco y con su constante de eliminación.

9. DEPURACIÓN PLASMÁTICA.

Representa el volumen de sangre totalmente depurado de fármaco por unidad de tiempo, por parte del órgano eliminador considerado (Depuración renal, hepática, etc.), o por el organismo (Depuración plasmática, Cl_p).

La depuración plasmática relaciona la velocidad de eliminación del fármaco con su concentración plasmática al mismo tiempo:

$$Cl_p = \frac{dQ}{dt} \cdot \frac{1}{C} \quad Ec. 53$$

De lo que deducimos





$$\frac{dQ}{dt} = Cl_p \cdot C \quad Ec. 54$$

Tenemos que

$$\frac{dQ}{dt} = kel \cdot Q \quad y \quad Vd = \frac{Q}{C}$$

Podemos combinar ambas ecuaciones y obtenemos la siguiente:

$$kel \cdot Q = Cl_p \cdot C \quad y \quad kel \cdot Vd = Cl_p \cdot C$$

De donde:

$$Cl_p = Vd \cdot kel \quad Ec. 55$$

Es decir, la depuración plasmática representa la eliminación del fármaco en función del volumen de distribución. Es un parámetro relacionado con la eliminación, puesto que es la constante de proporcionalidad existente entre la velocidad de eliminación y la concentración de fármaco en el plasma.

De acuerdo al valor de la semivida biológica $t_{1/2} = \frac{0.693}{kel}$ e introduciendo el valor en la ecuación anterior obtenemos la siguiente:

$$t_{1/2} = \frac{Vd \cdot 0.693}{Cl_p} \quad Ec. 56$$

6. ADMINISTRACIÓN MONOCOMPARTIMENTAL.

EXTRAVASAL.

MODELO





Cuando se administra un fármaco por vía extravasal (oral, intramuscular, subcutánea, transdérmica, rectal, etc.) su entrada no es instantánea, como ocurre tras la administración por vía intravenosa. Administrado el fármaco por vía extravasal, se produce el proceso de absorción antes de que acceda a la circulación sistémica. La velocidad de entrada del fármaco en el organismo depende de varios factores que influyen directamente sobre el proceso:

1. Vía de administración: las características anatomofisiológicas del lugar de la administración (sitio de absorción) utilizada condicionan la velocidad de absorción del fármaco.
2. Características fisicoquímicas del fármaco: puesto que para que el fármaco se absorba a través de las membranas biológicas de la zona de absorción, debe hallarse disuelto en los fluidos circundantes, sus propiedades fisicoquímicas juegan un importante papel en la absorción; concretamente su hidrosolubilidad y su coeficiente de reparto entre el agua y los lípidos de la membrana absorbente, el pK_a .
3. Cinética de liberación: excepto cuando se trata de formas de dosificación en las cuales el fármaco ya se halla disuelto, este debe liberarse previamente de la formulación que lo contiene y, posteriormente, disolverse en los fluidos interluminales de la zona de absorción.

El análisis de un perfil cinético de un fármaco administrado por vía extravasal se lleva a cabo partiendo de un tabulado experimental obtenido mediante la toma de distintas muestras de sangre o de orina a tiempos prefijados y determinando la cantidad o concentración del fármaco en cada una de ellas. Las concentraciones del fármaco en el plasma o las cantidades excretadas en orina, frente al tiempo generan las curvas de los niveles correspondientes, representativas del tránsito del fármaco en el organismo y de su entrada en él, englobándose en esta última información los procesos de liberación y absorción; por este motivo, la constante que rige el proceso de entrada del fármaco se considera como una constante aparente de absorción.

Tras la administración extravasal del fármaco, las curvas de niveles plasmáticos que se observan presentan una morfología peculiar a la mostrada en la figura 4. En ellas se consideran distintos aspectos básicos para su interpretación:





1. Desde el mismo instante en que el fármaco se ha absorbido, se elimina a pesar de que la velocidad de absorción es más rápida que la de eliminación y, por consiguiente la curva en función del tiempo presenta una fase ascendente. Este hecho es lógico puesto que tanto el proceso de absorción como el de eliminación se consideran que representan cinéticas de primer orden regidas por ka y kel respectivamente. En los primeros tiempos tras la administración, la concentración del fármaco remanente en el lugar de absorción (A) es superior a la existente en plasma (C); por consiguiente, de acuerdo con el concepto de cinética de primer orden, inicialmente la velocidad de absorción es superior a la de eliminación:

$$ka.A = \frac{dA}{dt} > \frac{dC}{dt} = kel.C$$

2. Cuando la velocidad de absorción se iguala a la de eliminación, se alcanza el valor máximo en la curva de los niveles plasmáticos, $C_{máx}$, que corresponde al tiempo conocido como $t_{máx}$:

$$ka.A = kel.C; \frac{dA}{dt} = \frac{dC}{dt}$$

3. A partir del tiempo correspondiente a $t_{máx}$ la velocidad de eliminación es superior a la de absorción con lo que la curva de niveles plasmáticos se hace descendente. Debe tenerse presente por lo tanto que, a lo largo de este tramo de la curva todavía coexisten, de hecho procesos de absorción y de eliminación. Es decir:

$$ka.A = \frac{dA}{dt} < \frac{dC}{dt} = kel.C$$

4. A partir del tramo descendente de la curva se asume para efectos prácticos, que se ha absorbido toda la cantidad de fármaco susceptible de absorberse y, por consiguiente, que ha cesado de hecho el proceso de absorción. El tramo final de la curva sería representativo casi exclusivamente del proceso de eliminación y, por consiguiente, los puntos experimentales de este tramo de la curva de niveles plasmáticos pueden tratarse





mediante las mismas ecuaciones que se utilizan tras la administración del fármaco por vía intravenosa. Es decir, prevalece para este tramo la ecuación diferencial:

$$-\frac{dC}{dT} = k_{el} \cdot C$$

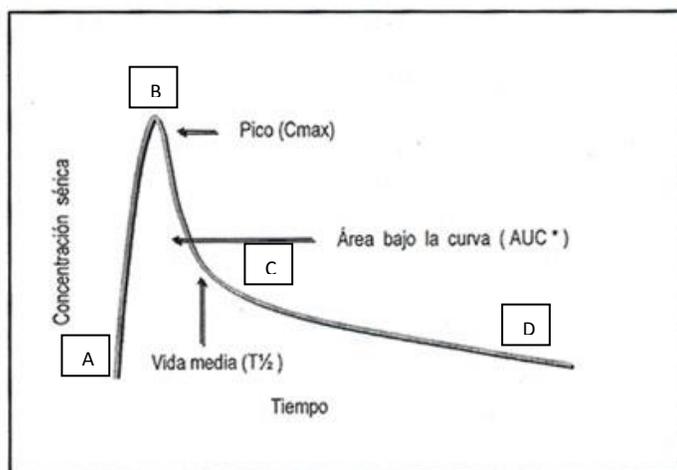


Figura 4 Perfil farmacocinético mostrando una administración extravasal (<http://www.scielo.cl/fbpe/img/rci/v21s1/beltran-fig2.jpg>).

Cuando la administración no es intravenosa rápida, sino extravasal, existe una fase o periodo durante el cual se absorbe el fármaco. El modelo es en este caso, se representa en la figura 5.

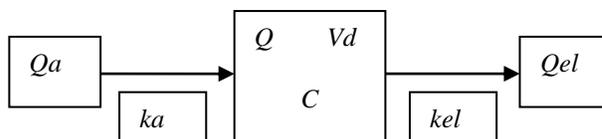


Figura 5 Esquema del modelo abierto de un compartimento con proceso de absorción.

Siendo Q_a la cantidad de fármaco remanente en el lugar de la absorción a un tiempo dado tras la administración. La k_a representa la constante de absorción, que se supone de primer orden. La ecuación que rige la variación de la cantidad de fármaco en el organismo es, en este caso, la siguiente:





$$\frac{dC}{dt} = ka \cdot Ca - kel \cdot C$$

En el modelo monocompartimental extravasal se consideran dos compartimentos cinéticos uno externo (lugar de absorción) y uno interno (fracción del organismo al que accede el fármaco), es decir, se considera al organismo como un único compartimento. El paso del fármaco desde el compartimento externo al interno se supone es un proceso cinético de primer orden, regido por una constante de velocidad ka , referida a la cantidad de fármaco disuelto remanente en el compartimento externo. Por consiguiente, es importante tener en cuenta que la velocidad de absorción del fármaco en el lugar de absorción se refiere siempre a la concentración o cantidad disuelta remanente en el lugar de absorción y no a la concentración plasmática, como ocurre con la constante de velocidad de eliminación.

Otra cuestión importante es que, en general, para que se obtengan niveles plasmáticos eficaces, la velocidad de absorción debe ser superior a la de eliminación, lo que, en primera instancia, es de suponer se logrará si el valor de la constante ka , es muy superior al de la constante de eliminación kel .

1. PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA ABSORCIÓN.

1. PERIODO DE LATENCIA.

Cuando el fármaco se administra por vía extravasal, generalmente transcurre un cierto tiempo antes de que acceda a la circulación sistémica en cantidad suficiente para que pueda detectarse en el plasma mediante un método analítico apropiado y sensible. Este lapso se conoce como periodo de latencia (t_0). El fenómeno es lógico, ya que el fármaco contenido en la forma de dosificación debe liberarse tras su administración, disolverse en la zona de absorción y atravesar las membranas que lo separan de la circulación general.

El periodo de latencia puede ser más o menos largo en función de la forma farmacéutica en la que se halla el fármaco.





2. ÁREA BAJO LA CURVA DE NIVELES PLASMÁTICOS TRAS ADMINISTRACIÓN EXTRAVASAL.

Se trata del mismo concepto que en el modelo intravenoso.

$$\text{Área} = \Delta t \cdot C$$

Si contabilizamos todos los intervalos de tiempo considerados desde tiempo cero a un determinado tiempo (t), puede escribirse:

$$AUC_0^t = \sum_0^t \Delta t \cdot C$$

De acuerdo con la teoría de los límites transformamos la ecuación y la expresamos en la siguiente:

$$AUC_0^t = \int_0^t C \cdot dt$$

Si suponemos que la eliminación del fármaco es cinéticamente un proceso de primer orden, su velocidad es directamente proporcional a la cantidad de fármaco remanente en el organismo, por lo que el proceso progresa cada vez más lentamente a medida que pasa el tiempo y, teóricamente, finaliza a tiempo infinito. Esta interpretación matemática indica que si se pretende calcular el área total bajo la curva de niveles plasmáticos, la ecuación correspondiente es la siguiente:

$$AUC_0^\alpha = \int_0^\alpha C \cdot dt$$

3. CÁLCULO DE LAS ÁREAS BAJO LAS CURVAS DE NIVELES PLASMÁTICOS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO TRAS ADMINISTRACIÓN EXTRAVASAL.





Existen dos procedimientos para la estimación de los valores de las áreas totales y parciales bajo las curvas de niveles plasmáticos; el método de los trapezoides y el método matemático. Nos enfocamos al método matemático, ya que el método de los trapezoides fue abordado en la administración intravenosa.

MÉTODO MATEMÁTICO.

El valor del área parcial bajo la curva de niveles plasmáticos, AUC_0^t se calcula, en el caso de que no exista periodo de latencia de la siguiente manera:

$$\int_0^t C. dt = \int_0^t C_0. e^{-kel.t} . dt - \int_0^t A_0. e^{-ka.t} . dt \quad Ec. 57$$

Resolviendo las integrales del segundo miembro, se obtiene:

$$\int_0^t C. dt = -\frac{C_0}{kel} . e^{-kel.t} + \frac{A_0}{ka} . e^{-ka.t} + \frac{C_0}{kel} - \frac{A_0}{ka} \quad Ec. 58$$

Reordenando y dado que $\int_0^t C. dt = AUC_0^t$, se obtiene:

$$AUC_0^t = \frac{C_0}{kel} (1 - e^{-kel.t}) - \frac{A_0}{ka} (1 - e^{-ka.t}) \quad Ec. 59$$

El valor de AUC_0^∞ es igual a:

$$AUC_0^\infty = \frac{C_0}{kel} - \frac{A_0}{ka} \quad Ec. 60$$

En el caso, más frecuente, de que exista un periodo de latencia, el valor del área total bajo la curva de niveles plasmáticos, corresponde a la suma del área desde el tiempo 0 a t_0 y del área desde tiempo t_0 hasta tiempo infinito:

$$AUC_0^\infty = AUC_0^{t_0} + AUC_{t_0}^\infty \quad Ec. 61$$





El valor de $AUC_0^{t_0}$ es negativo, por lo que, consiguientemente, la expresión algebraica: $AUC_0^\infty = AUC_0^{t_0} + AUC_{t_0}^\infty$ corresponde a una diferencia.

El valor correspondiente al área bajo la curva de niveles plasmáticos desde tiempo cero al tiempo de latencia es:

$$AUC_0^{t_0} = \frac{C_0}{kel} (1 - e^{-kel.t_0}) - \frac{A_0}{ka} (1 - e^{-ka.t_0}) \quad Ec. 62$$

El valor del área parcial desde tiempo cero a tiempo t , cuando existe un periodo de latencia equivale a:

$$AUC_0^t = \frac{C_0}{kel} (1 - e^{-kel.t}) - \frac{A_0}{ka} (1 - e^{-ka.t}) - \left[\frac{C_0}{kel} (1 - e^{-kel.t_0}) - \frac{A_0}{ka} (1 - e^{-ka.t_0}) \right] \quad Ec. 63$$

Y el correspondiente a tiempo infinito:

$$AUC_0^\infty = \frac{C_0}{kel} - \frac{A_0}{ka} - \left[\frac{C_0}{kel} (1 - e^{-kel.t_0}) - \frac{A_0}{ka} (1 - e^{-ka.t_0}) \right] \quad Ec. 64$$

4. CÁLCULO DE $C_{máx}$ Y DE $t_{máx}$.

Para el cálculo de estos dos parámetros se asume que en el máximo de la curva de niveles plasmáticos la velocidad instantánea de absorción del fármaco es igual a la velocidad instantánea de eliminación (en este preciso instante, la ganancia y la pérdida de fármaco se equilibran).

Matemáticamente se escribe:

$$\frac{dA}{dt} = \frac{dC}{dt}$$

Tomamos en cuenta las siguientes igualdades:





$$\frac{dA}{dt} = -ka \cdot A \quad \text{Ec. 65}$$

$$A = A_0 \cdot e^{-ka \cdot t} \quad \text{Ec. 66}$$

Y que:

$$\frac{dC}{dt} = -kel \cdot A \quad \text{Ec. 67}$$

$$C = C_0 \cdot e^{-kel \cdot t} \quad \text{Ec. 68}$$

Para $t_{m\acute{a}x}$ se cumple lo siguiente:

$$ka \cdot A_0 \cdot e^{-ka \cdot t_{m\acute{a}x}} = kel \cdot C_0 \cdot e^{-kel \cdot t_{m\acute{a}x}} \quad \text{Ec. 69}$$

Tomamos logaritmos neperianos y reordenamos los términos:

$$-ka \cdot t_{m\acute{a}x} + \ln ka + \ln A_0 = -kel \cdot t_{m\acute{a}x} + \ln kel + \ln C_0 \quad \text{Ec. 70}$$

$$t_{m\acute{a}x}(ka - kel) = \ln \frac{ka}{kel} + \ln \frac{A_0}{C_0} \quad \text{Ec. 71}$$

$$t_{m\acute{a}x} = \frac{\ln \left(\frac{ka}{kel} \cdot \frac{A_0}{C_0} \right)}{ka - kel} \quad \text{Ec. 72}$$

La ecuación anterior permite el cálculo de $t_{m\acute{a}x}$ cuando se presenta un periodo de latencia. En el caso de no existir dicho periodo de latencia, se cumple que $A_0=C_0$ y se simplifica a la siguiente ecuación:

$$t_{m\acute{a}x} = \frac{\ln \left(\frac{ka}{kel} \right)}{ka - kel} \quad \text{Ec. 73}$$

$$C_{m\acute{a}x} = C_0 \cdot e^{-kel \cdot t_{m\acute{a}x}} - A_0 \cdot e^{-ka \cdot t_{m\acute{a}x}} \quad \text{Ec. 74}$$

2. ESTIMACIÓN DE LA CONSTANTE DE ABSORCIÓN.





El cálculo de la constante de velocidad de absorción de un fármaco administrado por vía extravasal puede llevarse a cabo por métodos directos (trabajando con animales de experimentación) e indirectos (método de la retroproyección o de los residuales y el método basado en la absorción acumulativa de Wagner y Nelson) (Doménech y Martínez. 2001. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen I).

1. MÉTODO DE LA RETROPROYECCIÓN O DE LOS RESIDUALES.

Cuando se administra un fármaco de características monocompartimentales por vía extravasal, se observa que las curvas de niveles plasmáticos representan una morfología análoga a la figura 6.

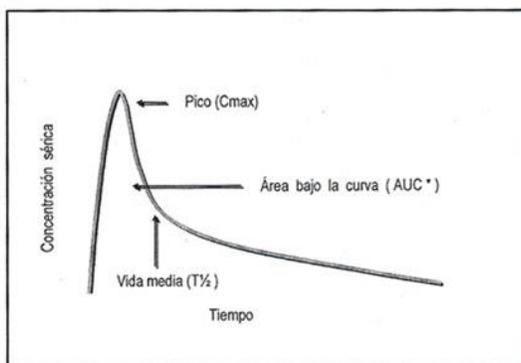


Figura 6 Curvas de niveles plasmáticos obtenidos al administrar un fármaco por vía extravasal (<http://www.scielo.cl/fbpe/img/rci/v21s1/beltran-fig2.jpg>).

La variación de la concentración de fármaco por unidad de tiempo viene dada por:

$$\frac{dC}{dt} = (ka \cdot A) - (kel \cdot C) \quad \text{Ec. 75}$$

La variación de la concentración de fármaco en función del tiempo en el compartimento interno (el organismo) proviene de la ganancia instantánea de fármaco por absorción ($ka \cdot A$) y la pérdida instantánea de fármaco por eliminación ($kel \cdot C$).

Integrando la diferencial anterior obtenemos la siguiente ecuación:





$$C = C_o \cdot e^{-kel.t} - A_o \cdot e^{-ka.t} \quad Ec.76$$

En la que C_o y A_o son las ordenadas en el origen correspondiente a cada una de las dos exponenciales. Tratándose de un proceso biexponencial formado por la diferencia entre la exponencial correspondiente al proceso de eliminación y la representativa de la absorción.

En la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos, el valor $A_o \cdot e^{-ka.t}$ tiende rápidamente a cero, se asume que el valor de ka es muy superior al de kel y, consiguientemente, la exponencial negativa correspondiente al producto del tiempo por la constante de velocidad tiende más rápidamente a cero al aumentar el valor de t en el caso de ka que en el de kel .

Como resultado de este hecho, en la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos la ecuación anterior se simplifica a:

$$C = C_o \cdot e^{-kel.t} \quad Ec.77$$

La última ecuación es representativa del proceso de eliminación del fármaco. Si tomamos logaritmos neperianos se transforma en la ecuación representativa de una recta descendente en función del tiempo:

$$\ln C = -kel.t + \ln C_o \quad Ec.78$$

Si para cada tiempo considerado, antes de llegar a la fase terminal, a la concentración teórica de fármaco se le resta la concentración experimental de fármaco, de hecho se realiza la siguiente operación matemática:

$$A = C_o \cdot e^{-kel.t} - (C_o \cdot e^{-kel.t} - A_o \cdot e^{-ka.t}) \quad Ec.79$$

La diferencia entre la exponencial representativa de la fase terminal y la biexponencial representativa de la concentración de fármaco en cualquier instante, se obtiene la ecuación monoexponencial cuya representación semilogarítmica es una recta representativa del proceso de absorción:





$$\ln A = -ka \cdot t + \ln A_0 \quad \text{Ec. 80}$$

Teniendo presente que la cinética de absorción se asume de primer orden, también cabe considerar el parámetro correspondiente a la semivida de absorción, es decir, el tiempo necesario para que la cantidad disuelta o la concentración de fármaco en el lugar de absorción se reduzca a la mitad.

$$t_{a_{1/2}} = \frac{\ln 2}{ka} \quad \text{Ec. 81}$$

Cuando se usa el método de los residuales (figura 7), casi siempre ocurre que las intersecciones de las rectas semilogarítmica extrapoladas con el eje de las ordenadas, correspondientes a las fases de absorción y de eliminación, no coinciden en un único punto. Esto se debe a la existencia, en la mayoría de los casos, de un periodo de latencia, motivado por el retraso con que se produce el inicio del proceso de absorción.

Cuando existe un periodo de latencia real (t_0), se emplea la siguiente ecuación generalizada:

$$C = C_0 \cdot (e^{-kel(t-t_0)} - e^{-ka(t-t_0)}) \quad \text{Ec. 82}$$

El periodo de latencia (t_0) puede determinarse gráficamente: corresponde al tiempo en el cual, en la gráfica semilogarítmica, interceden las dos rectas correspondientes a las fases de absorción y eliminación; sin embargo el valor hallado es solo aproximado.

Un método más exacto para estimar el valor del periodo de latencia tiene un fundamento matemático, basado en el siguiente principio: las ecuaciones correspondientes a las dos rectas semilogarítmica representativas de los procesos de absorción y de eliminación son:

$$\ln A = -ka \cdot t + \ln A_0 \quad \text{Ec. 83}$$

$$\ln C = -kel \cdot t + \ln C_0 \quad \text{Ec. 84}$$

En el tiempo de latencia (t_0), A y C tienen idéntico valor y, consecuentemente $\ln A = \ln C$, con lo cual se cumple:





$$-ka \cdot t_0 + \ln A_0 = -kel \cdot t_0 + \ln C_0 \quad \text{Ec. 85}$$

$$ka \cdot t_0 - kel \cdot t_0 = \ln A_0 - \ln C_0 \quad \text{Ec. 86}$$

Reordenando:

$$t_0 \cdot (ka - kel) = \ln \frac{A_0}{C_0} \quad \text{Ec. 87}$$

Finalmente:

$$t_0 = \frac{\ln \frac{A_0}{C_0}}{ka - kel} \quad \text{Ec. 88}$$

Puesto que se conocen los valores de A_0 , C_0 , ka y kel se obtienen el valor de t_0 por aplicación directa de la ecuación anterior (Gibaldi, M. y Perrier, D. 1982. Pharmacokinetics).

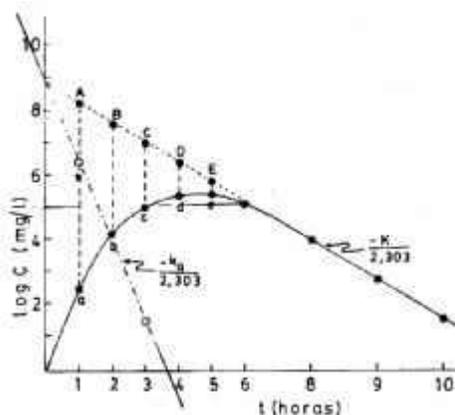


Figura 7 Método de retroproyección o residuales para obtención de la constante de velocidad de absorción (<http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb>).

7. VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN.

La velocidad de disolución es un parámetro que expresa la mayor o menor rapidez con la que un soluto se disuelve en un disolvente en determinadas condiciones de agitación y





temperatura, entre otros factores. Está muy relacionada con la solubilidad, mientras que la solubilidad es un concepto estático, que se refiere a un estado de equilibrio termodinámico.

Para que los fármacos puedan absorberse es preciso que se encuentren en solución en las proximidades del lugar de absorción. Si la velocidad de disolución es inferior a la de absorción, la disolución resultará ser en algunos casos un paso crítico y limitante que puede comprometer el aprovechamiento del medicamento por el organismo, es decir, su biodisponibilidad.

1. ENSAYOS DE VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN *IN VITRO*.

Es importante estandarizar las condiciones del estudio de disolución para que sirvan como método predictivo de las características biofarmacéuticas *in vivo* y posteriormente como medio de control rutinario de los lotes industriales a realizar cuando se comercialice el medicamento.

La disolución de un soluto está influenciada por diferentes propiedades fisicoquímicas, como la estructura cristalina, la forma y el tamaño de las partículas, la solubilidad y la humectabilidad de las partículas. Las condiciones para realizar estos ensayos se encuentran normalizadas en farmacopeas. Se regulan las siguientes condiciones que pueden influir en los ensayos de disolución:

1. Tipo de recipiente.
2. Medio de disolución
3. Temperatura.
4. Tipo de agitador y velocidad de agitación.

El recipiente y sus medidas se encuentran descritos en la FEUM, suelen ser de vidrio con fondo redondo y una capacidad de 1 l. El medio de disolución suele ser acuoso, ya que éste es el medio fisiológico normal en el que se debe producir la disolución del principio activo en el organismo. Generalmente se emplea un volumen de líquido de 900 mL. Es muy frecuente utilizar soluciones amortiguadoras con distinto pH que varía entre 1 hasta 7.4 aproximadamente. Estos son los valores de pH que se presentan en los fluidos con los que se van a encontrar los medicamentos ingeridos por vía oral al atravesar las diferentes partes del





tracto digestivo. Los estudios a distintos pH pueden predecir si el principio activo se va a disolver en el estómago o en el intestino y a qué velocidad.

La temperatura de los ensayos suele ser de 37°C, aunque existe la posibilidad de utilizar otras distintas. Existen varios dispositivos de agitación que simulan los movimientos peristálticos que existen en el tracto digestivo a los que van a estar expuestos los medicamentos administrados por vía oral. Normalmente se utilizan dos dispositivos de rotación conocidos como de canasta o el de paletas. Las velocidades de giro de ambos casos varían según el medicamento de prueba generalmente de 25-150 RPM.

2. PROCESO DE DISOLUCIÓN.

El proceso de disolución implica el movimiento de una molécula de soluto que pasa de un medio del que está rodeada por otras moléculas idénticas (partículas de activo) o moléculas diferentes (partículas de excipientes), y con las que experimenta interacciones intermoleculares, a una cavidad en el seno de un líquido, en donde está rodeada por moléculas del solvente (solvatada), con las que puede interactuar de modo distinto.

Para que el proceso se produzca de manera espontánea a una presión constante, el cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG), debe ser negativo. La energía libre (G) es una medida de la energía disponible en un sistema para realizar un trabajo.

Dicha energía libre (energía de solvatación) viene definida por la siguiente ecuación termodinámica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Ec. 89}$$

Donde ΔH es conocido como el cambio de entalpía del sistema, y es la cantidad de calor absorbido o desarrollado al cambiar el sistema de estado termodinámico (disolución), T es la temperatura termodinámica y ΔS es el cambio en la entropía, que es una medida del grado de desorden o aleatoriedad en el sistema.

El valor del cambio de entropía suele ser positivo en cualquier proceso, como la disolución que implica la mezcla de dos o más componentes. En una solución ideal no se produce, ningún cambio neto en las fuerzas intermoleculares experimentadas por el soluto o el disolvente al producirse la disolución ($\Delta H=0$), por consiguiente, el cambio de energía libre durante la





formación de una solución ideal depende exclusivamente del término $T\Delta S$ (Guerrero González, Alejandra Joselyn. 2010. Tesis de licenciatura).

3. MECANISMOS DE DISOLUCIÓN.

La disolución de un sólido en un líquido consta de dos fases consecutivas:

1. Se produce una reacción superficial que da lugar a la liberación de moléculas de soluto de la fase sólida. Esto implica un cambio de fase, de manera que las moléculas del sólido se convierten en moléculas del soluto solvatadas en el disolvente en el que se disuelve. La solución en contacto con el sólido se saturará y su concentración será C_s , una solución saturada.
2. Las moléculas de soluto deben migrar a través de las capas limítrofes que rodean el cristal hacia la parte principal de la solución, su concentración será C_i (concentración en el seno del líquido), este paso implica el transporte de estas moléculas lejos de la unión sólido-líquido hacia la parte principal de la fase líquida por difusión o convección. Los estratos limítrofes son capas de líquido estáticas o de movimiento lento que rodean todas las superficies sólidas húmedas. Se produce una transferencia de masa más lenta a través de estas capas estáticas o de movimiento lento, que inhiben el movimiento de las moléculas de soluto desde la superficie del sólido a la parte principal de la solución (seno de la solución). La concentración de la solución en las capas limítrofes varía, y pasa de la saturación (C_s) en la superficie del cristal a la igualdad a la de la parte principal de la solución (C_i).

La velocidad global de disolución dependerá del más lento de estos pasos. En una disolución, el paso superficial es prácticamente instantáneo, de modo que la velocidad de disolución dependerá de la difusión del soluto disuelto a través de la capa limítrofe estática del líquido presente en la superficie de unión sólido-líquido.

La velocidad de disolución cumple la ley de difusión de Fick: la velocidad del cambio en la concentración del material disuelto a lo largo del tiempo es directamente proporcional a la diferencia de concentración entre ambos lados de la capa de difusión, es decir:





$$\frac{dC}{dt} \propto \Delta C \quad \text{Ec. 90}$$

$$\frac{dC}{dt} = k \Delta C \quad \text{Ec. 91}$$

Donde k es la constante de velocidad (tiempo⁻¹), ΔC es la diferencia de concentración de la solución en la superficie del sólido (C_1) y en la parte principal de la solución (C_2).

En equilibrio la solución en contacto con el sólido (C_1) estará saturada (concentración= C_s). Si la concentración de la parte principal de la solución (C_2) es superior, se dice que la solución estará sobresaturada y las moléculas del sólido se moverán de la solución a la superficie (como sucede en una cristalización), y si C_2 es inferior a la concentración saturada, las moléculas se moverán del sólido a la parte principal de la solución (como sucede en la disolución).

4. ECUACIÓN DE NOYES-WHITNEY.

Esta ecuación se ha desarrollado, para definir la disolución de una partícula esférica. La velocidad de transferencia de masa de moléculas o iones de soluto a través de una capa de difusión estática (dm/dt) es directamente proporcional a la superficie disponible para la migración molecular o iónica (A) y a la diferencia de concentración (ΔC) a través de la capa limítrofe, e inversamente proporcional al espesor de dicha capa limítrofe (h).

$$\frac{dm}{dt} = \frac{k A C}{h} \quad \text{Ec. 92}$$

O en una forma modificada de la ecuación:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{k A (C_s - C)}{h} \quad \text{Ec. 93}$$

Donde k es lo que se conoce como coeficiente de difusión (D) y se expresa en m²/s. Si se elimina el soluto del medio de disolución mediante algún proceso a una velocidad superior a la de su paso a la solución, entonces el termino ($C_s - C$) de la ecuación anterior equivale aproximadamente a C_s . Por otra parte, si el medio de disolución es tan voluminoso que C no puede superar el 10% de C_s , entonces se puede hacer la misma aproximación en particular. En





ambas circunstancias se dice que la disolución se produce en condiciones sink (sumergidas) y podemos simplificar la ecuación.

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D A C_s}{h} \quad \text{Ec. 94}$$

Las condiciones sink pueden producirse *in vivo* cuando se absorbe un fármaco a partir de su solución en los líquidos digestivos a mayor velocidad que la que se disuelve en esos líquidos a partir de un preparado sólido, como un comprimido.

Si se permite que el soluto se acumule en el medio de disolución hasta el punto que deja de tener validez la aproximación precedente (cuando $C > C_s/10$), entonces se dan las condiciones no sink (no sumergidas). Cuando $C = C_s$, se deduce que la velocidad global de disolución será cero, ya que el medio de disolución está saturado de soluto (**Gennaro, A. R.** (2000). *The Science and Practice of Pharmacy*).

8. FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN.

Pueden agruparse en dos categorías: factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco y factores dependientes de las condiciones en las que se realiza el estudio. Cuando el fármaco se encuentra dosificado en una forma farmacéutica, existe una tercera categoría que agrupa a los factores tecnológicos y de formulación (figura 8), así como a las condiciones ambientales de fabricación y de almacenamiento de la forma farmacéutica.



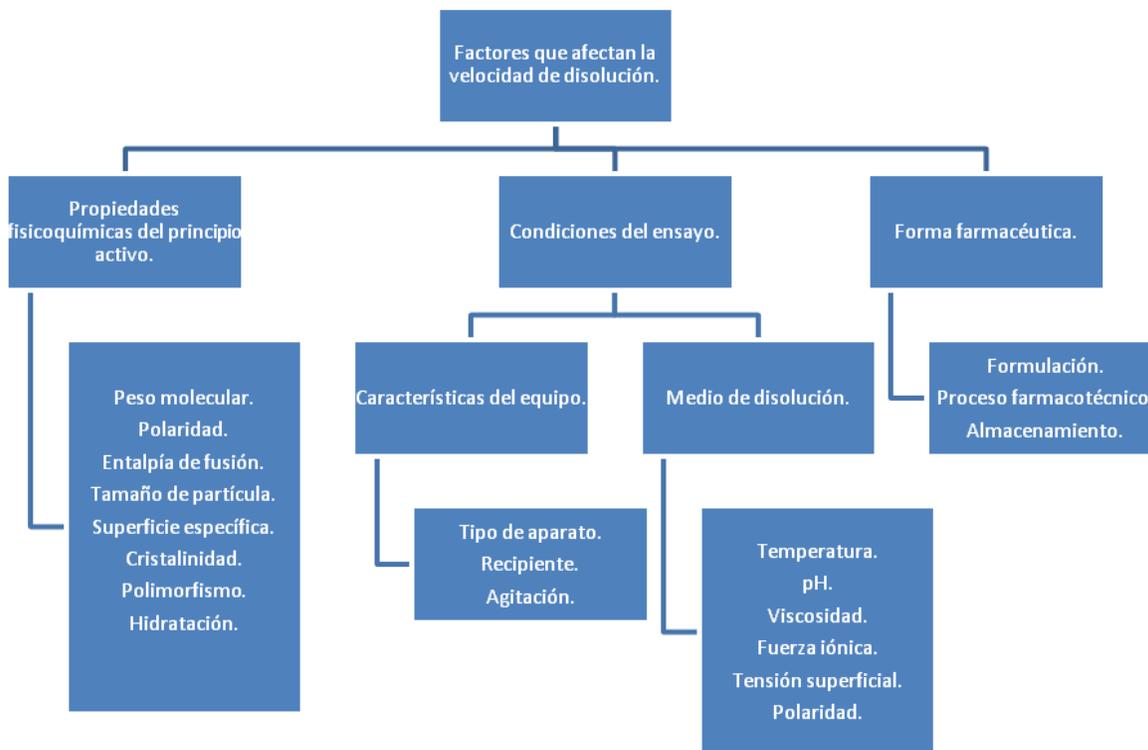


Figura 8 Factores que afectan la velocidad de disolución.

9. SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA.

El sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB), publicado en 1995, se basa en los parámetros de solubilidad y permeabilidad para clasificar un fármaco considerando factores muy relacionados con el proceso de absorción, y plantea como objetivo la posibilidad de establecer correlaciones *in vitro-in vivo* que permitan sustituir los ensayos realizados en humanos por ensayos de disolución *in vitro*, de acuerdo a la clasificación obtenida por el fármaco. Actualmente la aplicación del SCB se enfoca a los estudios de bioequivalencia para demostrar que es posible el intercambio de medicamentos, presentados en forma sólida de liberación inmediata de administración oral. También se enfoca al aseguramiento de que los cambios realizados durante el escalamiento o en las formulaciones o procesos de estos, una vez aprobados, no tengan incidencia en la eficacia del medicamento *in vivo*.





El SCB es un marco para clasificar los fármacos que se basa en las propiedades biofarmacéuticas que modifican la biodisponibilidad de principios activos.

El SCB establece que la solubilidad de los fármacos debe determinarse en medios acuosos en un rango de pH de 1.0 a 7.5 y a 37°C, se recomienda el uso de un método de agitación, o bien un análisis por un ensayo indicador de estabilidad validado.

La permeabilidad intestinal puede ser determinada por: a) estudios de perfusión intestinal *in vivo* en humanos, b) estudios de perfusión intestinal *in vivo* o *in situ* en animales, c) experimentos de permeación *in vitro* con secciones de tejidos intestinales humanos o animales o d) con experimentos de permeación *in vitro* a través de monocapas de células epiteliales.

Los fármacos se clasifican según sus características de solubilidad y permeabilidad como:

1. Clase I: Alta solubilidad y alta permeabilidad.
2. Clase II: Baja solubilidad y alta permeabilidad.
3. Clase III: Alta solubilidad y baja permeabilidad.
4. Clase IV: Baja solubilidad y baja permeabilidad.

Clase I. Son fármacos que poseen una buena absorción a través de la membrana intestinal, aunque su biodisponibilidad sea baja por efecto de primer paso. Se disuelven rápidamente cuando se presentan en formulaciones de liberación inmediata. Salvo que formen complejos insolubles o sean inestables en los líquidos gástricos, deben absorberse rápidamente y presentar una buena biodisponibilidad.

Están exceptuados de realizar estudios de bioequivalencia en humanos si se presentan en medicamentos sólidos de liberación rápida; en estos casos, la demostración de equivalencia entre el producto equivalente farmacéutico y el producto de referencia, siempre que no contengan excipientes que afecten la absorción del fármaco, se basa solamente en un estudio de disolución *in vitro*, pero si el fármaco se presenta en un medicamento sólido de liberación modificada, entonces debe demostrarse su bioequivalencia.





Clase II. La velocidad de disolución suele ser el paso limitante de la velocidad de absorción oral. Estos fármacos son apropiados para formulaciones que mejoren la velocidad de disolución y, por lo tanto, la biodisponibilidad oral.

Clase III. Se encuentran los fármacos que se disuelven rápidamente, pero son poco permeables. En este caso, la velocidad de disolución del fármaco no será el factor limitante para su absorción y los estudios *in vitro* pueden limitarse a la estimación de parámetros puntuales. La baja absorción limita la posibilidad de establecer correlaciones *in vitro-in vivo*. Es importante que las formas farmacéuticas que contengan fármacos de esta clase los liberen con rapidez, para que estos fármacos que atraviesan lentamente el epitelio, pasen el mayor tiempo en contacto con él.

Clase IV. Estos fármacos tienden a presentar una baja biodisponibilidad y su absorción oral puede ser tan lenta que no pueden administrarse por vía oral. Los estudios *in vitro* de velocidad de disolución corresponden al proceso completo, estimando sus parámetros representativos, así como el perfil de la curva de disolución. Para fármacos de este grupo es difícil obtener correlaciones *in vitro-in vivo*.

Un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis terapéutica más elevada empleada se disuelve en no más de 250 mL de agua en un intervalo de pH de 1.0 a 7.5. Por otro lado, un fármaco es altamente permeable cuando el grado de absorción en humanos es mayor o igual al 90% de una dosis administrada basada en un balance de masa o en comparación a una dosis intravenosa de referencia (**Amidon**, G. L. 1995. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification).

10. IMPORTANCIA DEL DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

La validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo de una nueva formulación y de la técnica de análisis de control de calidad de una forma farmacéutica, ya que es durante esta secuencia de pruebas y análisis, en donde el químico se da cuenta si el estudio, el cual está siendo evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para el cual fue diseñado.





De acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación como de Laboratorio, es necesario que todos los métodos analíticos que empleemos estén validados, bajo este marco consideramos a la validación de métodos analíticos como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

En el campo farmacéutico el desarrollo de métodos analíticos para cuantificar principios activos es una preocupación importante, debido a que se requieren métodos analíticos apropiados para evaluar que los productos farmacéuticos cumplan con los criterios de calidad establecidos para poder comercializarse. Para que los medicamentos sean aceptados en el mercado se necesita garantizar su calidad, funcionalidad y cumplimiento de las especificaciones establecidas, es decir, que son necesarios métodos analíticos que arrojen resultados veraces y exactos.

La importancia del desarrollo de un método analítico recae principalmente en la necesidad de la obtención de resultados confiables para poder determinar finalmente si se cumplen o no con especificaciones de calidad previamente establecidas.

Finalmente debemos considerar que el desarrollo de un método analítico no es sencillo ya que esto depende de diferentes factores como la pureza de los reactivos, el funcionamiento de los instrumentos, entre otros que conlleven a determinar la confiabilidad de los resultados.

1. DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

El proceso para el desarrollo del método analítico consiste en:

1. Definición del problema analítico. En esta etapa se plantea el tipo de análisis que se necesita: cualitativo o cuantitativo. Se establece también la necesidad analítica que se va a cubrir como la determinación del contenido químico, la uniformidad de contenido, límite de trazas, perfil de disolución, estabilidad, etc.
2. Selección del método analítico. Es un aspecto clave para la resolución del problema, se deben de tomar en cuenta la complejidad de la muestra y métodos analíticos existentes así como el tiempo de duración, facilidad, costo, disponibilidad del equipo y





confiabilidad. También considera el grado de precisión que debe lograrse así como el nivel de sensibilidad y sensibilidad que es necesaria.

3. Valoración de los resultados obtenidos. Se realiza para establecer si el problema ha sido resuelto de forma satisfactoria. De lo contrario, se debe reiniciar el proceso analítico.

2. FASES DEL DESARROLLO ANALÍTICO.

El desarrollo de un método implica proponerlo y desarrollarlo para un nuevo analito, sin embargo dentro de las fases o procesos del desarrollo analítico se encuentran procedimientos críticos que tienen más importancia dentro de éste. Para desarrollar con éxito un método analítico, el analista debe comprender ampliamente las partes del procedimiento: muestreo, preparación de la muestra, separación y reacciones de conversión si son necesarias y finalmente el método de cuantificación, aunque muchos análisis no requieren todos los pasos mencionados.

Para poder desarrollar un método analítico se deben seguir las siguientes fases.

1. Definición del problema. El analista debe definir los objetivos, identificar el analito de interés y tipo de método a desarrollar así como observar la complejidad de la muestra.
2. Selección del método. Para seleccionar correctamente un método analítico es esencial definir la naturaleza del problema analítico, debe describir la muestra, los métodos apropiados, identificar propiedades críticas, así como determinar la sensibilidad, selectividad y concentraciones a las que debe adaptarse.
3. Toma de muestra. Para que el resultado del análisis sea representativo, la muestra analizada debe ser representativa ya que es la conexión de todo el proceso con la realidad.
4. Tratamiento de la muestra. En esta etapa se deben considerar todas las operaciones necesarias a realizar, desde que se recibe la muestra o se toma, hasta que está en disposición de ser analizada en el equipo seleccionado.
 1. Proceso de preparación. Estos procesos se aplican a la muestra con la finalidad de acondicionarla de forma que pueda ser analizada de acuerdo a la técnica de análisis seleccionada, debido a que la mayoría de las técnicas, en especial la





espectrofotometría, exige que el analito o sustancia a analizar se encuentre en solución.

2. Proceso de separación. Necesario en todos los ensayos o en su mayoría, se auxilia de técnicas de separación como extracciones, filtraciones, precipitaciones, evaporaciones, destilaciones, sin embargo no se debe de perder de vista el costo y tiempo de duración del ensayo.
3. Proceso de detección. En este proceso se debe asegurar que la señal que da el instrumento sea solo del analito y no de sustancias químicas o físicamente similares, por lo que debemos tener en cuenta las propiedades fisicoquímicas del analito a analizar.
4. Obtención de datos. Puede ser necesario modificar alguna operación y repetir algún análisis para obtener la información deseada, es decir, optimizar cada operación del método.
5. Valoración de los datos. Una vez obtenidos los datos se procede a convertirlos en información útil y confiable, aplicando métodos estadísticos apropiados.
6. Valoración de los resultados. La información obtenida es finalmente el resultado analítico, y es útil para observar si se cumplen los objetivos inicialmente planteados para el método (**Roldán Velázquez, Diana Ivette. 2011. Tesina de licenciatura).**

11. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

De acuerdo a la prueba de calidad que se realiza y la aplicación del método analítico, se establecen los criterios a evaluar para la validación del mismo, por lo que los nuevos métodos analíticos o de los establecidos en farmacopea, se proponen dependiendo del tipo de método analítico, es decir de la categoría al cual pertenecen:

Categoría I: Métodos analíticos para cuantificar a un componente específico en muestras de producto terminado o en pruebas de estabilidad, ya sea de fármacos, u otros analitos de interés (conservador o solvente).

Categoría II: Métodos analíticos empleados para la determinación de impurezas (productos de degradación, sustancias relacionadas, isómeros ópticos, etc.) en muestras de fármacos, por





componente específico en muestras de producto terminado o en pruebas de estabilidad, ya sea en fármacos, aditivos o preparados farmacéuticos. Estos métodos pueden incluir determinaciones cuantitativas o pruebas límite.

Categoría III: Métodos analíticos utilizados en la determinación de un analito en una muestra con el objeto de evaluar una característica de desempeño del preparado farmacéutico (disolución de cápsulas, liberación controlada, entre otras).

Categoría IV: Pruebas de identificación de un analito en muestras de fármacos, aditivos o preparados farmacéuticos, cuyo propósito es establecer la presencia del analito de interés (FEUM, 2011).

CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

1. En función de su estado regulatorio:

Métodos farmacopeicos. Todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM, USP, BP, etc.).

Métodos no farmacopeicos. Aquellos métodos no comprendidos en una farmacopea.

2. En función de su aplicación (NOM-059-SSA1-2013 y NOM-073-SSA1-2005) en:

Métodos para producto a granel.

Métodos para producto terminado.

Métodos para materia prima.

Métodos indicadores de estabilidad.

3. En función de la naturaleza de la respuesta analítica en:

Métodos fisicoquímicos. Cuando la respuesta es de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje, etc.) o químico (consumo de iones $-OH$, consumo de acomplexante, etc.).

Métodos biológicos. Cuando la respuesta es de carácter biológico (crecimiento de un microorganismo, protección, muerte, etc.).





4. En función de propósito analítico en:

Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia).

Métodos para establecer la presencia de un analito a un límite.

Métodos para identificar el analito.

Cualquier método analítico puede estar constituido por técnicas de separación, extracción, etc., y por técnicas de medición (espectrofotometría, volumetría, colorimetría, potenciometría, etc.) que permiten medir la respuesta del analito en la muestra. A esta última técnica se le denomina sistema de medición.

5. En función de la naturaleza del sistema de medición en:

Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido (cromatógrafo de líquidos, cromatógrafo de gases, espectrofotómetro, etc.).

Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros, etc.).

1. CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Estos se evalúan utilizando herramientas estadísticas como desviación estándar, coeficiente de variación, coeficientes de correlación, ordenada al origen, pendiente, intervalos de confianza, etc.). De la información obtenida se obtiene la confiabilidad de la metodología usada que se empleará en el análisis; para validar se requiere experimentar y comprobar que los valores de referencia y los obtenidos están dentro de los límites establecidos por la entidad regulatoria.

1. LINEALIDAD.

La linealidad de un método analítico, es la capacidad que tiene el método, en el intervalo o rango de trabajo para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración (cantidad de analito) en la muestra.

LINEALIDAD DEL SISTEMA.





Procedimiento. Un analista debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (intervalo) de la solución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma solución concentrada) o por pesadas independientes (cuando no es posible prepararlas por dilución). La concentración central debe ser igual a la que se prepara la solución de referencia en el método o en ciertos casos, a la concentración que represente el 100% en la muestra procesada para su medición. El intervalo debe incluir la especificación para el caso de aquellos métodos utilizados para contenido, potencia o valoración. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, reportar la relación concentración vs respuesta analítica. Calcular el valor de la pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$).

Tabla 1 Criterios de aceptación para linealidad del sistema.

$r^2 \geq 0.98$
$IC\beta_1$, no debe incluir el cero.

LINEALIDAD DEL MÉTODO.

Procedimiento.

1. Se conocen los componentes de la muestra y es posible preparar un placebo analítico. Un analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) correspondiente al 100% de este en la muestra. Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad de analito (intervalo) y preparar el placebo adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de placebo analítico en los tres niveles. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición al placebo analítico. Determinar la cantidad recuperada del analito.
2. No se conocen los componentes de la muestra. Se debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido del analito. El mismo analista debe preparar por lo menos tres muestras adicionadas, por ejemplo utilizando la mitad





de la muestra analítica que originalmente requiere el método y adicionar el analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) hasta completar lo que represente el 100% de éste en la muestra. Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad de analito (intervalo) y preparar la muestra adicionada al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de muestra en los tres niveles. Las muestras adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra. Determinar la cantidad recuperada de analito.

Cuando no sea posible adicionar de manera directa el analito a la muestra, la adición puede ser llevada a cabo en alguna etapa del método. Se recomienda que la adición se lleve a cabo en las primeras etapas del método para poder asegurar que las etapas posteriores, no den lugar a resultados incorrectos.

Reportar la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada. Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados, calcular el valor de la pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$), el intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC\beta_0$) y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{y/x}$).

Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo adicionado o muestra adicionada, al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto a la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Calcular el promedio aritmético (\bar{y}), la desviación estándar (S), el coeficiente de variación (CV) y el intervalo de confianza para la media poblacional ($IC\mu$) del porcentaje de recobro.

Tabla 2 Criterios de aceptación para la linealidad del método.

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada.
$r^2 \geq 0.98$
El $IC\beta_1$, debe incluir la unidad.
El $IC\beta_0$, debe incluir el cero.
El CV del porcentaje de recobro no mayor de 3% para un método químico o espectrofotométrico.





Porcentaje de recobro. El $IC\mu$ debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo 97-103% si el método es químico o espectrofotométrico. El CV del porcentaje de recobro no mayor a 3% para métodos químicos o espectrofotométricos.

2. PRECISIÓN.

PRECISIÓN DEL SISTEMA.

La precisión del sistema se expresa por el grado de concordancia en las mediciones, es decir, el grado de dispersión o variabilidad entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestras homogéneas, bajo condiciones de trabajo preestablecidas.

Procedimiento. Un analista debe preparar por lo menos un sextuplicado de soluciones a la concentración del analito que represente la concentración de la solución de referencia utilizada, o en ciertos casos, la concentración que represente el 100% de la muestra procesada para su medición; preparadas por dilución o por pesadas independientes. Medir la respuesta bajo las mismas condiciones. Calcular la desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV) de la respuesta analítica.

Tabla 3 Criterios de aceptación para la precisión del sistema.

$CV \leq 1.5\%$ para métodos fisicoquímicos.
--

$CV \leq 3\%$ para métodos biológicos.
--

PRECISIÓN DEL MÉTODO.

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia relativa entre los resultados obtenidos al aplicar el método analítico, bajo las mismas condiciones analíticas (repetibilidad) o bajo diferentes condiciones analíticas (reproducibilidad), utilizando una muestra homogénea.





La precisión de un método analítico generalmente se expresa como la desviación estándar o como el *CV*. La precisión es determinada normalmente en 3 niveles: repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

REPETIBILIDAD.

Es una medición de la precisión bajo las mismas condiciones de operación, pero bajo un intervalo corto de tiempo, y representa la variabilidad, que se espera cuando un método es aplicado por un solo analista en un equipo.

Procedimiento. Analizar un mínimo de 9 determinaciones, cubriendo el rango específico de trabajo, es decir, tres concentraciones con tres replicas por ensayo. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y equipos.

Calcular la media aritmética (\bar{y}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV) del factor de referencia empleando todos los resultados obtenidos.

Tabla 4 Criterios de aceptación de repetibilidad.

El IC_{μ} debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % se incluya en el intervalo 97-103% si el método es químico o espectrofotométrico.

REPRODUCIBILIDAD.

Es la precisión expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizada bajo diferentes condiciones de análisis (instrumento, analista). Se evalúa por medio de un ensayo interlaboratorios y cada factor a evaluar se realiza con un mínimo de tres replicas.

PRECISIÓN INTERMEDIA.

Es definida como la variación en el mismo laboratorio y es más útil en casos específicos y se obtiene cuando se evalúa la reproducibilidad entre analistas en un mismo laboratorio.





Procedimiento. Analizar por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100% en el caso de contenido, potencia o valoración, o una muestra homogénea cuyo contenido este incluido en el intervalo lineal de concentración de linealidad del método (para el caso de impurezas), en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y equipos.

Calcular la media aritmética (\bar{y}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV) del contenido, potencia, valoración empleando todos los resultados obtenidos.

Tabla 5 Criterios de aceptación de precisión intermedia.

$CV \leq 3\%$ para métodos químicos o espectrofotométricos.

3. EXACTITUD DEL MÉTODO.

Se define como el grado de concordancia entre los valores que son denominados como valores verdaderos o los valores de referencia y los valores que son determinados. La exactitud es reportada como el porcentaje de recuperación después de aplicado el procedimiento analítico propuesto, ya que se conoce la cantidad de analito añadido a las muestra.

Procedimiento. Un analista debe de realizar un mínimo de 9 determinaciones, utilizando 3 niveles de concentraciones cubriendo el rango de trabajo. La exactitud se reporta como el porcentaje cuantificado y debe encontrarse entre el 98 y 102% para métodos químicos o espectrofotométricos (Alcántara P. A. 2002. Guía de Validación de Métodos Analíticos).

Tabla 6 Criterios de aceptación de exactitud del método.

El porcentaje cuantificado debe encontrarse entre el 98 y 102% para métodos químicos o espectrofotométricos.

12. QUIMIOMETRÍA.

La Quimiometría es una disciplina metrológica que aplica conocimientos matemáticos en base a tratamientos estadísticos de los datos, especialmente a proceso químicos, para extraer de los



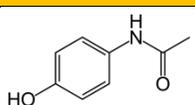
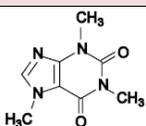


datos experimentales la mayor cantidad posible de información y extender el conocimiento del sistema químico.

Su objetivo es optimizar cada fase de análisis para potenciar e incrementar el conocimiento de todo el proceso analítico. En su conjunto se sustenta en modelos matemáticos sencillos o quizá algo más complejos para los sistemas multivariantes que hacen un mayor uso de álgebra matricial en sus diferentes versiones algorítmicas.

Estas técnicas son útiles para la cuantificación de principios activos en mezclas complejas, cuando dadas las características espectrales que posee, existe interferencia de uno o más componentes de la muestra y no se pueden resolver por métodos de espectroscopia tradicionales.

Tabla 7 Características físicas y químicas de los fármacos utilizados (Hanong C. Moffat, et. Al. 2004. Clarke's analysis of drug and poison).

Especificación.	Fármaco	
	Paracetamol	Cafeína
Estructura		
Sinónimos	Acetaminofén, <i>N</i> -Acetil- <i>p</i> -aminofenol.	1, 3, 7-trimetil- 1 <i>H</i> -purina- 2,6 (3 <i>H</i> , 7 <i>H</i>) -diona 1, 3,7-trimetilxantina.
Fórmula	C ₈ H ₉ NO ₂	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂
Punto de fusión	169°C	235°C
Peso molecular	151.2 g/mol	194.19 g/mol
Descripción	Polvo cristalino o prismas monoclinicos largos	Polvo o agujas blancas inodoras
Solubilidad	Etanol, dimetilformamida, cloroformo y éter.	metanol, acetona, Cloroformo, etanol y éter.
Solubilidad en agua	12.78 mg/mL a 20°C	21.7 mg/mL a 25°C
Log P (octanol/agua)	0.5	-0.07
<i>pKa</i>	9.5	1.22
Clasificación farmacológica	AINE	Estimulante del SNC.
Densidad	1.3 g/mL	1.23 g/mL





Dosis mínima	40 mg	50 mg
Dosis máxima	650 mg	250 mg
Clasificación biofarmacéutica	Clase I	Clase I
CAS	103-90-2	58-08-2

5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

1. EQUIPOS E INSTRUMENTOS.

Equipo o instrumento	Marca	Número de inventario	Modelo	Número de serie	Uso
Balanza analítica	OHAUS	19008788	AP250D	1114050584	Determinación de masa de estándares.
Espectrofotómetro UV-Visible	CARY	2077800	100	EL05043015	Determinación de absorbancias de muestras problema.
Espectrofotómetro UV-Visible	CARY	1675344	1E	EL97023472	Determinación de absorbancias de muestras problema
Purificador de agua	MILLIPORE	0232315	MILLI-Q	-----	Agua como medio de disolución.
Bomba peristáltica	Master flex	-----	7553-50	-----	Flujo directo para realizar perfiles de disolución.
Agitadores magnéticos	Ika lab disc S1	-----	IP 65	-----	Agitación en la realización de perfiles de disolución.
Calibrador Vernier	Mitutoyo	1601501	CD-6°C	0126799	Medición del simulador farmacocinético.

2. REACTIVOS.

1. Agua destilada (Millipore).
2. Estándar de cafeína.
3. Estándar de paracetamol.





3. MATERIAL.

Material	Capacidad	Marca
Matraz volumétrico	10, 25, 50 y 100 mL	Kimax, Clase A
Pipeta volumétrica	0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 mL	Kimax, Clase A
Vaso de precipitados	50, 100, 500 y 1000 mL	Kimax
Simulador farmacocinético	500 mL	-----
Probetas graduadas	25, 50, 100 y 500 mL	Kimax
Termómetro	100°C	-----
Tubos de ensayo	10 mL	Kimax
Gradillas	20 tubos	-----
Cronómetro	-----	-----
Piseta	1000 mL	-----
Bolsas de difusión	-----	-----

Tabla 8 Dimensiones del simulador farmacocinético.

A: 25.49 mm	B: 25.83 mm
C: 112.97 mm	D: 111.39 mm
E: 30.20 mm	F: 34.88 mm
G: 81.12 mm	H: 82.46 mm



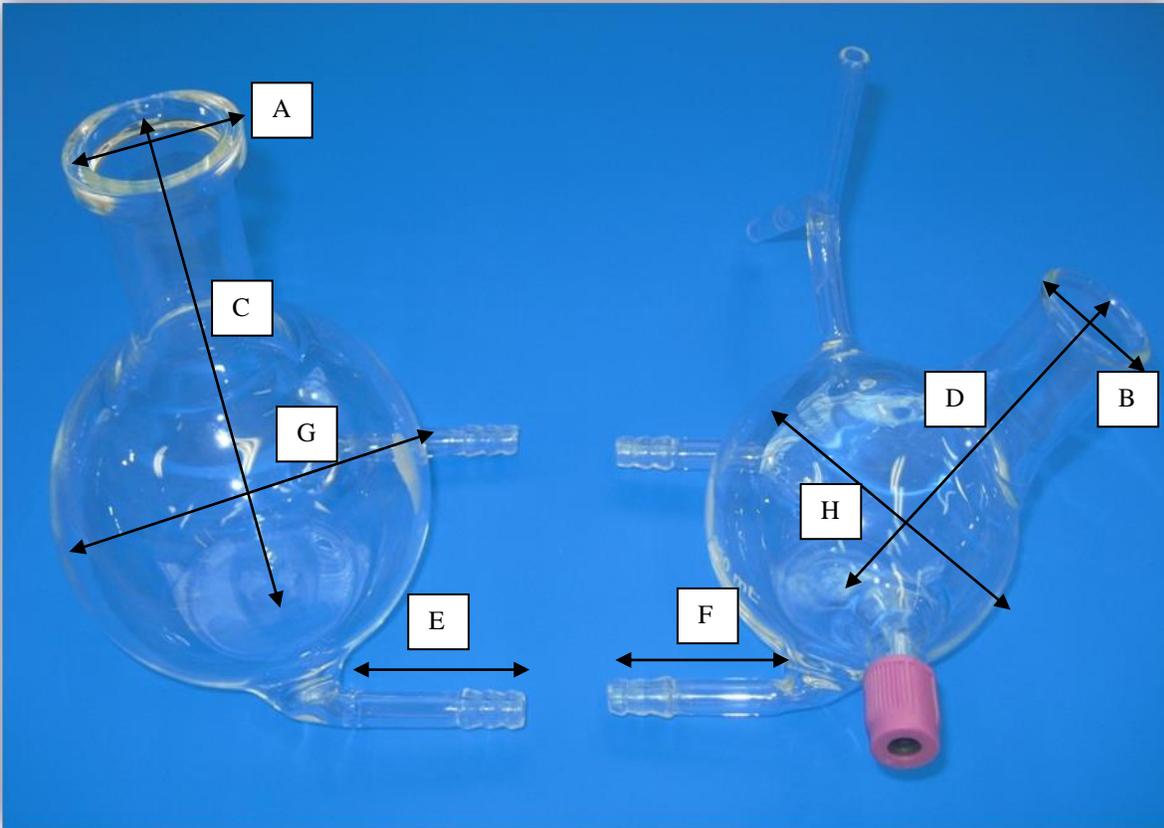


Figura 9 Dimensiones del simulador farmacocinético.



4. DIAGRAMA DE FLUJO DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS.





5. CURVA DE CALIBRACIÓN DE CAFEÍNA.

Procedimiento.

1. Pesar en un vaso de precipitados de 50 mL aproximadamente exactos 30 mg de cafeína (reactivo estándar) y disuelva mezclando el polvo con 25 mL de agua desionizada mediante agitación continua.
2. Vierta la solución contenida en el vaso anterior cuantitativamente en un matraz aforado de vidrio con capacidad volumétrica de 100 mL. Realizar tres enjuagues con agua desionizada al material donde realizó la disolución para evitar pérdida de muestra y adicione al matraz.
3. Llevar a volumen a la marca de aforo con agua desionizada el matraz que contiene la disolución de cafeína en agua. Agitar la mezcla fuertemente. La solución preparada será denominada stock.
4. Rotular aleatoriamente (emplee una calculadora científica) cinco series de tres matraces volumétricos de 25 mL con numeración ascendente del 1 al 5.
5. Adicionar a cada uno de los matraces anteriores de forma aleatoria con pipeta volumétrica la cantidad de mililitros de solución stock de acuerdo al número ascendente asignado y llevar a volumen de aforo con agua desionizada los 15 matraces anteriores.
6. Rotular aleatoriamente (emplee una calculadora científica) tres series de tres matraces volumétricos de 10 mL con numeración ascendente de 1, 3 y 5.
7. Adicionar la solución tomada de los tres matraces de 25 mL que tienen la dilución más baja (número 1) a cada uno de los matraces de 10 mL de forma aleatoria con pipeta volumétrica la cantidad de mililitros de acuerdo al número ascendente asignado, y llevar a volumen de aforo con agua desionizada los nueve matraces anteriores.
8. Leer en el espectrofotómetro a la longitud de onda óptima (260 nm), los veinticuatro matraces etiquetados que conforman la curva, y con los datos obtenidos realice un análisis estadístico para validar la curva de calibración de cafeína.





6. CURVA DE CALIBRACIÓN DE PARACETAMOL.

Procedimiento.

1. Pesar en un vaso de precipitados de 50 mL aproximadamente exactos 22.5 mg de paracetamol (reactivo estándar) y disuelva mezclando el polvo con 30 mL de agua desionizada mediante agitación continua.
2. Repetir los numerales b) al g) correspondientes a la curva de calibración de cafeína.
3. Leer en el espectrofotómetro a la longitud de onda óptima (245 nm), los veinticuatro matraces etiquetados que conforman la curva, y con los datos obtenidos realice un análisis estadístico para validar la curva de calibración de paracetamol.

7. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL EMPLEANDO CAFEÍNA.

Procedimiento.

1. Pesar aproximadamente exactos 100 mg de cafeína en un vaso de precipitados de 50 mL, y disolver con 25 mL de agua desionizada.
2. Vierta la solución contenida en el vaso anterior cuantitativamente en un matraz aforado de vidrio con capacidad volumétrica de 50 mL. Realizar tres enjuagues con agua desionizada al material donde realizó la disolución para evitar pérdida de muestra y adicione al matraz.
3. Llevar a volumen a la marca de aforo con agua desionizada el matraz que contiene la disolución de cafeína en agua. Agitar la mezcla fuertemente. La solución preparada será denominada stock.
4. Conectar con manguerillas de látex las olivas de los compartimentos A y B del simulador farmacocinético, el intervalo de distancia entre ambos compartimentos debe ser de 137.36 a 144.50 mm.
5. Colocar una barra magnética limpia previamente enjuagada con agua desionizada a los compartimentos A y B.
6. La barra magnética debe tener las siguientes dimensiones:
Largo 37.92 mm, ancho 9.56-9.62 mm, borde 4.76-4.77 mm.





7. Llenar con agua desionizada los compartimentos A y B, manteniendo siempre el volumen constante (550 mL) colocando tapones de hule horadados en la boca de los matraces. No debe existir fuga de agua en el simulador farmacocinético.
8. Montar el simulador farmacocinético sobre agitadores magnéticos planos y comenzar la agitación a la máxima velocidad posible sin que sea irregular o interrumpida, ambos agitadores deben girar en la misma dirección para asegurar la homogeneidad del proceso.
9. Colocar dentro del compartimento A el extremo de la manguera de salida de la bomba peristáltica y en un vaso de precipitados con 1 l de agua desionizada el extremo de la manguera de absorción de la bomba peristáltica, encenderla y ajustar el flujo a 15 mL/minuto.
10. Colocar en el vástago del compartimento A un vaso de precipitados de 1 l para coleccionar el agua de eliminación.
11. Tomar 3 mL (6 mg) de la solución stock de cafeína en una jeringa estéril y simule una administración intramuscular (IM) en el compartimento B.
12. Iniciar el conteo del tiempo al momento de simular la administración IM, tomando muestras de 3 mL con la jeringa directamente del compartimento A por medio del tapón tipo Vacutainer a los minutos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 75 y 90. Leer en el espectrofotómetro a 260 nm las muestras tomadas anteriormente y obtener las absorbancias correspondientes.
13. Calcular las concentraciones, las constantes cinéticas que caracterizan el proceso y trazar el perfil de disolución.
14. Repetir el procedimiento anterior 5 veces más para determinar estadísticamente si el simulador se comporta como un sistema monocompartimental para este fármaco.

8. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL EMPLEANDO PARACETAMOL.

Procedimiento 1.

1. Pesar aproximadamente exactos 100 mg de paracetamol en un vaso de precipitados de 50 mL, y disolver con 25 mL de agua desionizada.
2. Repetir los numerales b) al k) del procedimiento anterior sin cambio alguno.





3. Iniciar el conteo del tiempo al momento de simular la administración IM, tomando muestras de 3 mL con la jeringa directamente del compartimento A por medio del tapón tipo Vacutainer a los minutos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 y 70. Leer en el espectrofotómetro a 245 nm las muestras tomadas anteriormente y obtener las absorbancias correspondientes.
4. Calcular las concentraciones, las constantes cinéticas que caracterizan el proceso y trazar el perfil de disolución.
5. Repetir el procedimiento anterior 5 veces más para determinar estadísticamente si el simulador se comporta como un sistema monocompartmental para este fármaco.

Procedimiento 2.

1. Pesar aproximadamente exactos 500 mg de paracetamol en un vaso de precipitados de 100 mL, y disolver con 40 mL de agua desionizada.
2. Repetir los numerales b) al k) del procedimiento que emplea cafeína como fármaco de prueba.
3. Iniciar el conteo del tiempo al momento de simular la administración IM, tomando muestras de 3 mL con la jeringa directamente del compartimento A por medio del tapón tipo Vacutainer a los minutos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 75, 90 y 100. Leer en el espectrofotómetro a 245 nm las muestras tomadas anteriormente y obtener las absorbancias correspondientes. Realizar las diluciones necesarias si la muestra no puede ser leída directamente.
4. Calcular las concentraciones, las constantes cinéticas que caracterizan el proceso y trazar el perfil de disolución.
5. Repetir el procedimiento anterior 5 veces más para determinar estadísticamente si el simulador se comporta como un sistema monocompartmental para este fármaco.





9. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL CON UN PROCESO DE ABSORCIÓN EMPLEANDO PARACETAMOL.

Procedimiento.

1. Pesar aproximadamente exactos 600 mg de paracetamol y colocarlos directamente en una bolsa de difusión.
2. Conectar con manguerillas de látex las olivas de los compartimentos A y B del simulador farmacocinético, el intervalo de distancia entre ambos compartimentos debe ser de 137.36 a 144.50 mm.
3. Colocar una barra magnética limpia previamente enjuagada con agua desionizada a los compartimentos A y B.
4. La barra magnética debe tener las siguientes dimensiones:
Largo 37.92 mm, ancho 9.56-9.62 mm, borde 4.76-4.77 mm.
5. Llenar con agua desionizada los compartimentos A y B, manteniendo siempre el volumen constante (550 mL) colocando tapones de hule horadados en la boca de los matraces. No debe existir fuga de agua en el simulador farmacocinético.
6. Montar el simulador farmacocinético sobre agitadores magnéticos planos y comenzar la agitación a la máxima velocidad posible sin que sea irregular o interrumpida, ambos agitadores deben girar en la misma dirección para asegurar la homogeneidad del proceso.
7. Colocar dentro del compartimento A el extremo de la manguera de salida de la bomba peristáltica y en un vaso de precipitados con 1 l de agua desionizada el extremo de la manguera de absorción de la bomba peristáltica, encenderla y ajustar el flujo a 15 mL/minuto.
8. Colocar en el vástago del compartimento A un vaso de precipitados de 1 l para coleccionar el agua de eliminación.
9. Colocar la bolsa de difusión que contiene los 600 mg de paracetamol en polvo en el compartimento B, lo que simula una administración intramuscular con proceso de absorción. El agua desionizada debe bañar toda la bolsa de difusión.
10. Iniciar el conteo del tiempo al momento poner en contacto la bolsa de difusión con el agua desionizada del compartimento B, tomando muestras de 3 mL con la jeringa directamente del compartimento A por medio del tapón tipo Vacutainer a los minutos





- 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180 y 210. Leer en el espectrofotómetro a 245 nm las muestras tomadas anteriormente y obtener las absorbancias correspondientes. Realizar las diluciones necesarias si la muestra no puede ser leída directamente.
11. Calcular las concentraciones, las constantes cinéticas que caracterizan el proceso y trazar el perfil de disolución.
 12. Repetir el procedimiento anterior 5 veces más para determinar estadísticamente si el simulador se comporta como un sistema monocompartimental para este fármaco (**Horwitz, William, Latimer W. George. 2005. Official methods of analysis of AOAC International**).



Figura 10 Simulador farmacocinético. Compartimento A, vástago del sistema de eliminación y sistema de toma de muestra tipo Vacutainer.



Figura 11 Simulador farmacocinético. Compartimento B.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.





1. CURVA DE CALIBRACIÓN DE CAFEÍNA.

Tabla 9 Datos obtenidos de la curva de calibración de cafeína.

Concentración experimental (µg/mL)	Absorbancia	Factor de referencia (y/x)	Concentración estimada (µg/mL)	% Cuantificado
1.21	0.0381	0.0314	1.2139	100.1552
1.21	0.0383	0.0316	1.2203	100.6809
1.21	0.0382	0.0315	1.2158	100.3129
1.21	0.0379	0.0312	1.2059	99.4980
1.21	0.0381	0.0314	1.2142	100.1815
1.21	0.0380	0.0314	1.2110	99.9186
3.64	0.1144	0.0315	3.6448	100.2428
3.64	0.1136	0.0312	3.6193	99.5418
3.64	0.1142	0.0314	3.6385	100.0675
3.64	0.1128	0.0310	3.5939	98.8408
3.64	0.1125	0.0309	3.5843	98.5779
3.64	0.1125	0.0309	3.5843	98.5779
12.12	0.3835	0.0316	12.2185	100.8124
12.12	0.3829	0.0316	12.1993	100.6546
12.12	0.3843	0.0317	12.2439	101.0227
12.12	0.3854	0.0318	12.2790	101.3118
12.12	0.3901	0.0322	12.4287	102.5473
12.12	0.3822	0.0315	12.1770	100.4706
36.36	1.1492	0.0316	36.6140	100.6984
36.36	1.1506	0.0316	36.6586	100.8211
36.36	1.1515	0.0317	36.6872	100.9000
36.36	1.1542	0.0317	36.7733	101.1366
36.36	1.1516	0.0317	36.6904	100.9087
36.36	1.1526	0.0317	36.7223	100.9964
60.60	1.8999	0.0314	60.5315	99.8870
60.60	1.9029	0.0314	60.6271	100.0448
60.60	1.8958	0.0313	60.4009	99.6715
60.60	1.8998	0.0313	60.5482	99.8818
60.60	1.8954	0.0313	60.3882	99.6505
60.60	1.9012	0.0314	60.5730	99.9554





Promedio	0.0315		100.2656
S	0.0003		0.8373
CV	0.8351		0.8351

Tabla 10 Análisis de regresión de los datos de la curva de calibración de cafeína.

Parámetro	Coefficientes	Intervalo de confianza inferior 95%	Intervalo de confianza superior 95%
Intercepción	0.0024	-0.0006	0.0053
Pendiente	0.0314	0.0313	0.0315

Tabla 11 Parámetros estadísticos de la curva de calibración de cafeína.

Parámetro	Valor	Criterio de Aceptación	Evaluación
Coefficiente de correlación múltiple r	0.9999	$r > 0.99$	Aceptado
Coefficiente de determinación r^2	0.9998	$r^2 > 0.98$	Aceptado
Pendiente	0.0314 (0.0313, 0.0315)	$ICI < m < ICS$	Aceptado

El coeficiente de variación (CV) es un parámetro estadístico que indica, en términos porcentuales, la dispersión de una serie de datos respecto al valor medio. El valor del CV es igual a 0 cuando no existen diferencias entre los puntos, resultando entonces una distribución totalmente homogénea.

Como puede observarse en los resultados de la tabla 9, el coeficiente de variación del factor de referencia (Abs/Concentración) es menor al 2% recomendado para análisis de muestras por volumetría y espectrofotometría; otra fuente como es la guía de validación de métodos analíticos expedida por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A.C. en su versión del año 2002 indican que el CV no debe superar el 1.5% para métodos fisicoquímicos.

Desde el punto de vista práctico, resulta improbable la obtención de curvas de calibración que presenten valores de CV iguales a cero, por lo que para la validación de métodos analíticos se dan grados de libertad donde dicho método tenga exactitud, precisión, repetibilidad y que sea confiable. El CV es de 0.8351% indicando que es el porcentaje de dispersión de todos los datos del factor de referencia con respecto al valor medio que es de 0.0315





La desviación estándar (S) es una medida que nos permite determinar el promedio aritmético de fluctuación de los datos respecto a su punto central o media. Nos da como resultado un valor numérico que representa el promedio de diferencia que hay entre los datos y la media. La S del factor de referencia es de 0.0003

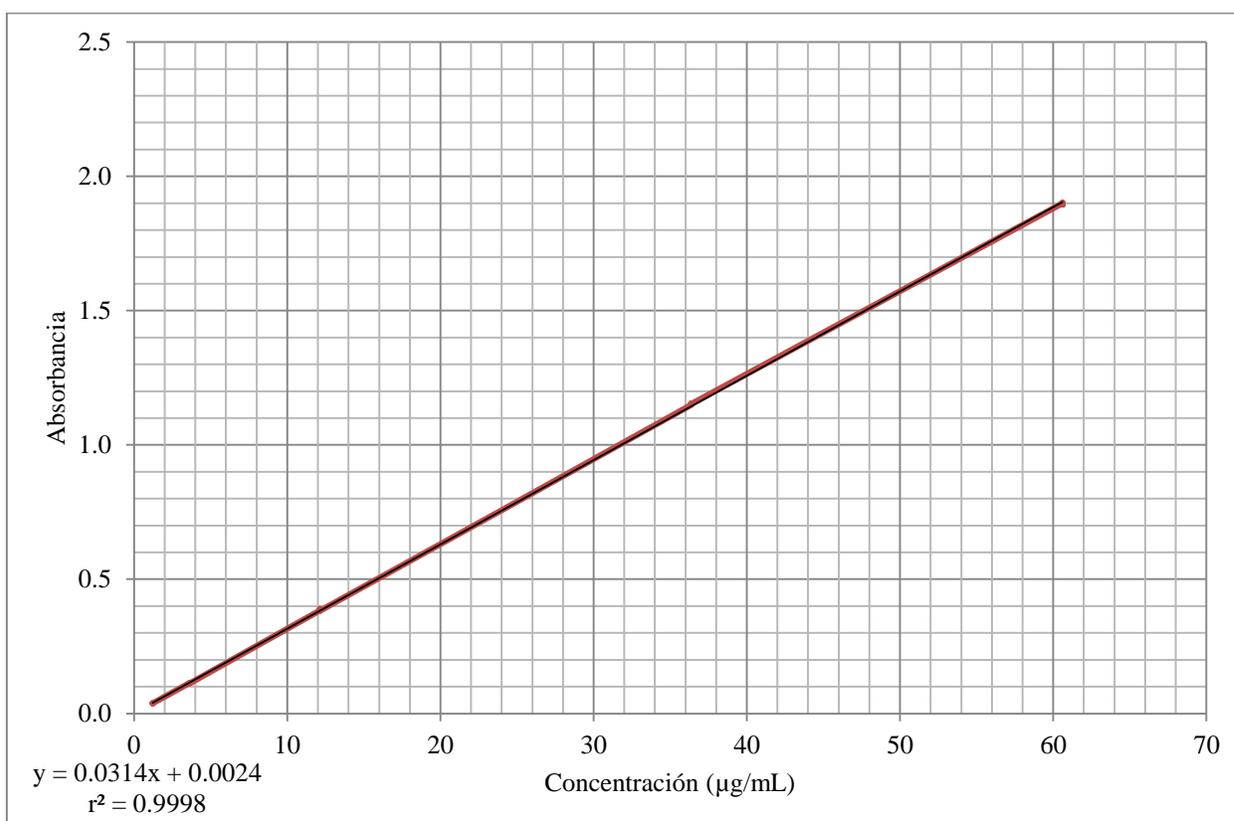


Gráfico 1 Concentración experimental de cafeína ($\mu\text{g/mL}$) vs Absorbancia.

El gráfico 1 muestra la relación de todas las absorbancias en función de las concentraciones experimentales. Observamos que el coeficiente r^2 es de 0.9998, indicando que hay una buena relación lineal entre las dos variables aleatorias cuantitativas (concentración y absorbancia), cuando este valor es 1 se puede afirmar que la relación entre las variables es perfecta. r^2 indica que hay una buena relación lineal entre las variables involucradas, más no que tenga un buen poder de análisis predictivo. El criterio de aceptación es que r^2 sea mayor o igual que 0.98; se determina que la curva de calibración es lineal ya que r^2 0.9998 indicando que el 99.98% de la





variabilidad total puede ser explicada por el modelo planteado, aunque no es un criterio para determinar el poder de predicción o estimación por parte del método de análisis.

El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el cero, pero el valor de la misma debe de estar entre el límite superior e inferior. La pendiente tiene un valor de 0.0314, el intervalo es de 0.0313 a 0.0315, y podemos afirmar que hay linealidad del sistema con un 95% de confianza de acuerdo a los resultados obtenidos y que se visualizan en las tablas 10 y 11.

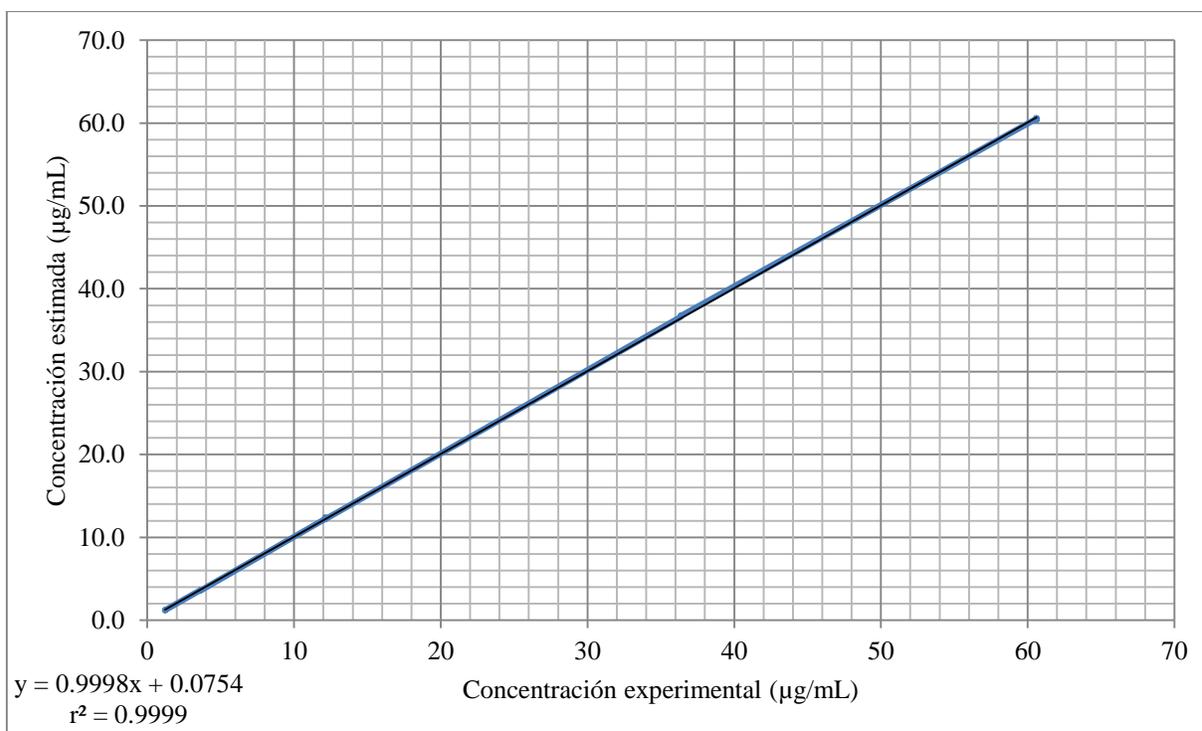


Gráfico 2 Concentración experimental (µg/mL) vs Concentración estimada (µg/mL).

En el gráfico 2 podemos observar la relación entre la concentración experimental y la estimada que se realizó con la finalidad de establecer la linealidad del método. En las tablas 12 y 13 se muestran los parámetros obtenidos de esta curva determinando que cumple con los criterios de aceptación, por lo que la curva de calibración de cafeína tiene buena predictibilidad con un 95% de confianza de acuerdo al análisis estadístico realizado.

Tabla 12 Análisis de regresión de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de cafeína.





Parámetros	Coefficientes	Intervalo de confianza inferior 95%	Intervalo de confianza superior 95%
Intercepción	0.0754	-0.0176	0.1685
Pendiente	0.9998	0.9970	1.0027

Tabla 13 Parámetros estadísticos de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de cafeína.

Parámetro	Valor	Criterio de Aceptación	Evaluación
Coefficiente de correlación múltiple r	0.9999	$r > 0.99$	Aceptado
Coefficiente de determinación r^2	0.9998	$r^2 > 0.98$	Aceptado
% Cuantificado	100.2656 CV = 0.8351	97.0-103.0 CV < 3.0	Aceptado

2. CURVA DE CALIBRACIÓN DE PARACETAMOL.

Tabla 14 Datos obtenidos de la curva de calibración de paracetamol.

Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia	Factor de referencia (y/x)	Concentración estimada ($\mu\text{g/mL}$)	% Cuantificado
0.90	0.0553	0.0611	0.8964	99.1564
0.90	0.0555	0.0614	0.9008	99.6409
0.90	0.0560	0.0620	0.9085	100.5022
0.90	0.0555	0.0614	0.9009	99.6588
0.90	0.0551	0.0610	0.8941	98.9052
0.90	0.0551	0.0610	0.8941	98.9052
2.71	0.1675	0.0618	2.7170	100.1852
2.71	0.1668	0.0615	2.7057	99.7665
2.71	0.1664	0.0614	2.6992	99.5272
2.71	0.1625	0.0599	2.6359	97.1946
2.71	0.1678	0.0619	2.7219	100.3646
2.71	0.1684	0.0621	2.7316	100.7235
4.52	0.2765	0.0612	4.4851	99.2282
4.52	0.2734	0.0605	4.4348	98.1157
4.52	0.2776	0.0614	4.5030	99.6229



UNAM
QUAUITLÁN

Determinación de las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartimental para evaluar la liberación de fármacos en medicamentos administrados por vía intramuscular.



4.52	0.2758	0.0610	4.4738	98.9770
4.52	0.2756	0.0610	4.4705	98.9052
4.52	0.2709	0.0599	4.3943	97.2185
9.04	0.5595	0.0619	9.0757	100.3945
9.04	0.5555	0.0614	9.0108	99.6768
9.04	0.5563	0.0615	9.0238	99.8203
9.04	0.5545	0.0613	8.9946	99.4973
9.04	0.5512	0.0610	8.9410	98.9052
9.04	0.5601	0.0620	9.0854	100.5022
18.08	1.1165	0.0618	18.1108	100.1702
18.08	1.1173	0.0618	18.1238	100.2420
18.08	1.1101	0.0614	18.0070	99.5960
18.08	1.1202	0.0620	18.1708	100.5022
18.08	1.1156	0.0617	18.0962	100.0895
18.08	1.1178	0.0618	18.1319	100.2869
27.12	1.6796	0.0619	27.2448	100.4603
27.12	1.6831	0.0621	27.3016	100.6697
27.12	1.6790	0.0619	27.2351	100.4244
27.12	1.6785	0.0619	27.2270	100.3945
27.12	1.6789	0.0619	27.2335	100.4184
27.12	1.6898	0.0623	27.4103	101.0704
36.16	2.2300	0.0617	36.1729	100.0356
36.16	2.2391	0.0619	36.3205	100.4439
36.16	2.2356	0.0618	36.2637	100.2869
36.16	2.2298	0.0617	36.1696	100.0267
36.16	2.2345	0.0618	36.2459	100.2375
36.16	2.2289	0.0616	36.1550	99.9863
45.20	2.7789	0.0615	45.0766	99.7270
45.20	2.7745	0.0614	45.0052	99.5691
45.20	2.7769	0.0614	45.0442	99.6552
45.20	2.7875	0.0617	45.2161	100.0356
45.20	2.7720	0.0613	44.9647	99.4794
45.20	2.7784	0.0615	45.0685	99.7091
	Promedio	0.0615		99.7690
	S	0.0005		0.8007





CV	0.8026	0.8026
----	--------	--------

Tabla 15 Análisis de regresión de los datos de la curva de calibración de paracetamol.

Parámetro	Coefficientes	Intervalo de confianza inferior 95%	Intervalo de confianza superior 95%
Intercepción	0.0001	-0.0026	0.0028
Pendiente	0.0616	0.0615	0.0617

Tabla 16 Parámetros estadísticos de la curva de calibración de paracetamol.

Parámetro	Valor	Criterio de Aceptación	Evaluación
Coefficiente de correlación múltiple r	0.9999	$r > 0.99$	Aceptado
Coefficiente de determinación r^2	0.9998	$r^2 > 0.98$	Aceptado
Pendiente	0.0616 (0.0615, 0.0617)	$ICI < m < ICS$	Aceptado

En el gráfico 3 observamos que el coeficiente r^2 es de 0.9999, indicando que hay una buena relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas (concentración y absorbancia), cuando este valor es 1 se puede afirmar que la relación entre las variables es perfecta. r^2 indica que hay una buena relación lineal entre las variables involucradas, más no que tenga un buen poder de análisis predictivo. El criterio de aceptación es que r^2 sea mayor o igual que 0.98, se determina que la curva de calibración es lineal ya que r^2 0.9999 indicando que el 99.99% de la variabilidad total puede ser explicada por el modelo planteado, aunque no es un criterio para determinar el poder de predicción o estimación por parte del método de análisis.

El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el cero, pero el valor de la misma debe de estar entre el límite superior e inferior. La pendiente tiene una valor de 0.0616, el intervalo es de 0.0615 a 0.0617, y podemos afirmar que hay linealidad del sistema con un 95% de confianza a partir de un análisis estadístico empleando la t de Student, datos mostrados en las tablas 15 y 16.



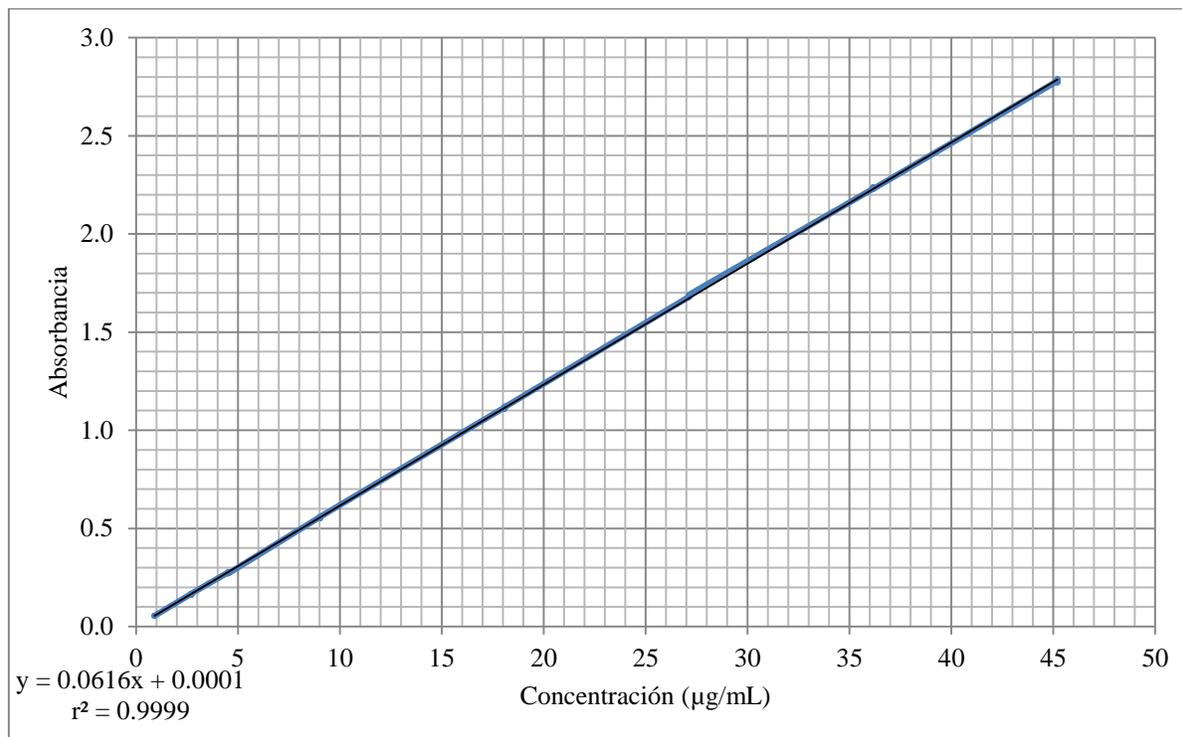


Gráfico 3 Concentración experimental de paracetamol ($\mu\text{g/mL}$) vs Absorbancia.

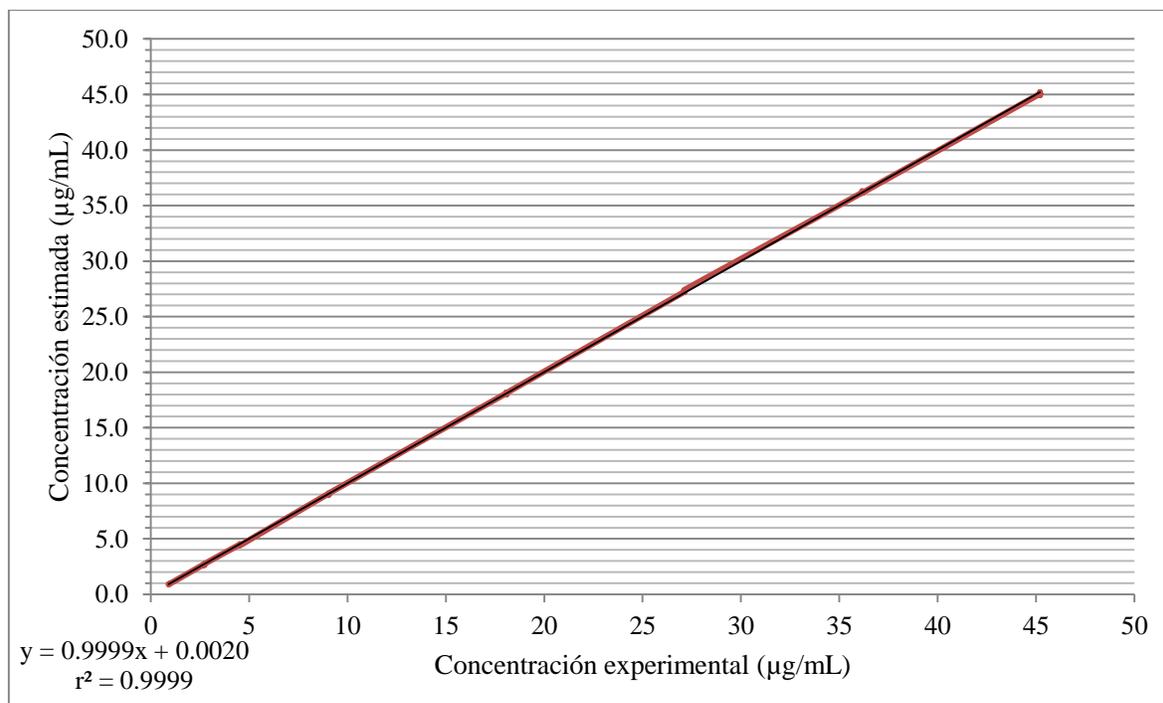


Gráfico 4 Concentración experimental ($\mu\text{g/mL}$) vs Concentración estimada ($\mu\text{g/mL}$).





En el gráfico 4 podemos observar la relación entre la concentración experimental y la estimada que se realizó con la finalidad de establecer la linealidad del método. En las tablas 17 y 18 se muestran los parámetros obtenidos de esta curva determinando que cumple con los criterios de aceptación, por lo que la curva de calibración de paracetamol tiene buena predictibilidad con un 95% de confianza de acuerdo al análisis estadístico realizado.

Tabla 17 Análisis de regresión de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de paracetamol.

Parámetros	Coeficientes	Intervalo de confianza inferior 95%	Intervalo de confianza superior 95%
Intercepción	0.0020	-0.0426	0.0468
Pendiente	0.9999	0.9981	1.0018

Tabla 18 Parámetros estadísticos de la curva Concentración experimental vs Concentración estimada de paracetamol.

Parámetro	Valor	Criterio de Aceptación	Evaluación
Coefficiente de correlación múltiple r	0.9999	$r > 0.99$	Aceptado
Coefficiente de determinación r^2	0.9998	$r^2 > 0.98$	Aceptado
% Cuantificado	99.7690 C.V. 0.8026	97.0-103.0 C.V. <3.0	Aceptado

Después de realizar el análisis estadístico de las curvas de calibración de cafeína y paracetamol determinamos que son lineales, exactas y precisas de acuerdo a los resultados obtenidos por lo que pueden ser empleadas para determinar las condiciones de funcionamiento del simulador monocompartmental a partir de lecturas directas de las muestras obtenidas aplicado el método analítico.

3. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL EMPLEANDO CAFEÍNA.

Inicialmente se realizaron pruebas a temperaturas distintas de 25 y 37°C (tres perfiles) empleando cafeína para determinar estadísticamente si dicha condición influye en el





funcionamiento del simulador farmacocinético, los resultados se muestran en las tablas 19 y 20.

Tabla 19 Perfiles cinéticos experimentales de cafeína (100 mg) a 25°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (25°C)	Perfil 3 (25°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
1	3.2160	3.5168	3.3605	3.3645
2	4.9533	5.0592	5.4599	5.1574
3	7.7181	7.3240	7.1669	7.4030
4	8.1693	8.0708	8.7036	8.3146
5	10.4079	10.3186	10.2928	10.3398
6	10.3195	10.2487	10.1858	10.2513
7	10.2197	10.1788	10.0906	10.1631
8	9.6801	9.9341	9.8533	9.8225
9	9.2469	9.7911	9.6976	9.5785
10	9.1388	9.5655	9.3992	9.3678
15	8.4636	8.3642	8.4317	8.4199
20	6.5755	7.3696	7.1117	7.0189
25	6.2081	6.4003	6.5204	6.3763
30	5.2262	5.8060	5.2561	5.4294
40	4.3124	4.4236	4.5350	4.4237
50	3.2129	3.4703	3.3626	3.3486
60	2.7883	2.7616	2.8875	2.8125
75	2.1934	2.0752	2.3605	2.2097
90	1.2440	1.4936	1.2410	1.3262

Tabla 20 Perfiles cinéticos experimentales de cafeína (100 mg) a 37°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (37°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (37°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
1	3.8834	3.8739	3.0274	3.5949
2	5.7846	5.3780	5.6555	5.6060
3	7.4903	7.8748	7.4257	7.5970
4	8.5263	8.6725	8.7517	8.6502
5	9.9680	10.1746	9.9868	10.0431





6	9.8208	10.0399	9.9830	9.9479
7	9.7612	9.9210	9.9154	9.8659
8	9.5401	9.7685	9.6933	9.6673
9	9.3144	9.5127	9.6479	9.4917
10	9.1428	9.3507	9.5230	9.3388
15	8.1577	8.5702	8.7836	8.5038
20	6.9011	7.1547	7.1966	7.0841
25	6.2018	6.0475	6.7555	6.3349
30	5.5836	5.3516	5.3355	5.4236
40	4.2393	4.0931	4.6918	4.3414
50	3.1448	3.1016	3.3659	3.2041
60	2.2982	2.7612	2.6653	2.5749
75	2.1150	2.0701	2.2081	2.1310
90	1.3684	1.4777	1.3805	1.4089

La prueba F se utilizó para determinar de acuerdo a los resultados obtenidos a 25 y 37°C, si las varianzas son iguales o difieren y así decidir que prueba de t emplear en el análisis de resultados.

Tabla 21 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Media	6.7646	6.7341
Varianza	9.0445	8.8193
Observaciones	18	18
Grados de libertad	17	17
F	1.0255	
$P (F \leq f)$ una cola	0.4795	
Valor crítico para F (una cola)	2.2718	

Dado que el estadístico $F=1.0255$ es menor que el valor crítico $F=2.2718$ y que la probabilidad de estadístico 0.4795 es superior a 0.05, asumimos que las varianzas no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 22 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

Media	6.7646	6.7341
Varianza	9.0445	8.8193
Observaciones	18	18





Varianza agrupada	8.9319	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	36	
Estadístico t	0.0305	
$P (T \leq t)$ dos colas	0.9757	
Valor crítico de t (dos colas)	2.0322	

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en las medias comparadas.

H_a : Existe diferencia significativa en las medias comparadas.

En este caso la aceptación de la hipótesis nula estará en función de la probabilidad del estadístico. Podemos ver como el estadístico $t=0.0305$, se encuentra dentro del valor crítico de t (-2.0322 a 2.0322) por tanto, podemos aceptar la hipótesis nula que afirma que las diferencias entre las medias es igual a cero, y así concluir que no hay diferencia significativa entre los resultados de los perfiles realizados a 25°C contra los realizados a 37°C para cafeína.

Tabla 23 Análisis de varianza de los 6 perfiles de cafeína (100 mg).

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Perfil 1	19	123.2941	6.4891	9.2707
Perfil 2	19	123.2418	6.4864	8.5389
Perfil 3	19	126.1720	6.6406	9.1538
Perfil 4	19	125.1943	6.5891	9.0356
Perfil 5	19	125.9168	6.6272	9.1038
Perfil 6	19	125.9924	6.6311	9.0621

Tabla 24 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de cafeína (100 mg).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	0.4859	5	0.0971	0.0107	2.2984
Dentro de los grupos	974.9740	108	9.0275		
Total	975.4599	113			

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en los perfiles comparados.

H_a : Existe diferencia significativa en por lo menos un perfil.





Dado que el estadístico $F=0.0107$ es menor que el valor crítico $F=2.2984$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no hay diferencia significativa entre los 6 perfiles de cafeína comparados con una confianza del 95%, basándonos en los resultados obtenidos y que se muestran en las tablas 23 y 24.

Tabla 25 Constantes cinéticas de cafeína obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Parámetro cinético	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (25°C)	Perfil 4 (37°C)	Perfil 5 (25°C)	Perfil 6 (37°C)	Promedio	S	CV (%)
k_{el} (min ⁻¹)	0.0241(5-90 min)	0.0240(5-90 min)	0.0235 (5-90 min)	0.0236 (5-90 min)	0.0238 (5-90 min)	0.0236 (5-90 min)	0.0238	0.0003	1.1135
$t_{1/2}$ (min)	28.7143	28.8563	29.4943	29.4105	29.1287	29.3988	29.1672	0.3235	1.1090
k_a (min ⁻¹)	0.3675	0.4018	0.3421	0.3861	0.3626	0.3581	0.3697	0.0212	5.7459
$t_{1/2}$ (min)	1.8863	1.7249	2.0263	1.7952	1.9118	1.9356	1.8800	0.1066	5.6688
AUC_{0-t} (µg/mL*min)	400.1534	395.6850	414.3600	402.2100	413.7250	414.7440	406.8129	8.4499	2.0771
AUC_{t-a} (µg/mL*min)	54.5885	54.3677	60.5081	58.2183	58.0093	59.4074	57.5166	2.5199	4.3811
AUC (µg/mL*min)	454.7420	450.0530	474.8680	460.4280	471.7350	474.1510	464.3295	10.7082	2.3062
% AUC_{t-a}	12.0043	12.0803	12.7421	12.6444	12.2970	12.5292	12.3829	0.3037	2.4524
V_d (mL)	546.5850	555.0110	537.6410	552.9220	534.4990	536.7110	543.8948	8.8464	1.6265
Cl (mL/min)	13.1943	13.3318	12.6351	13.0314	12.719	12.6542	12.9276	0.2997	2.3183
Dosis (µg)	6000	6000	6000	6000	6000	6000			
$C_{máx}$ (min)	10.4079	9.9680	10.3186	10.1746	10.2928	9.9868	10.1915	0.1819	1.7845
$t_{máx}$ (min)	5	5	5	5	5	5			
MRT (min)	35.6776	36.9483	36.6724	35.9166	36.9773	37.3395	36.5886	0.6531	1.7850
$C_{máx}$ teórico (µg/mL)	9.6770	9.5688	9.8622	9.7753	9.8133	9.8175	9.7524	0.1095	1.1225
$t_{máx}$ teórico (min)	7.5817	7.1984	8.0344	7.3395	7.7364	7.8262	7.6194	0.3117	4.0903



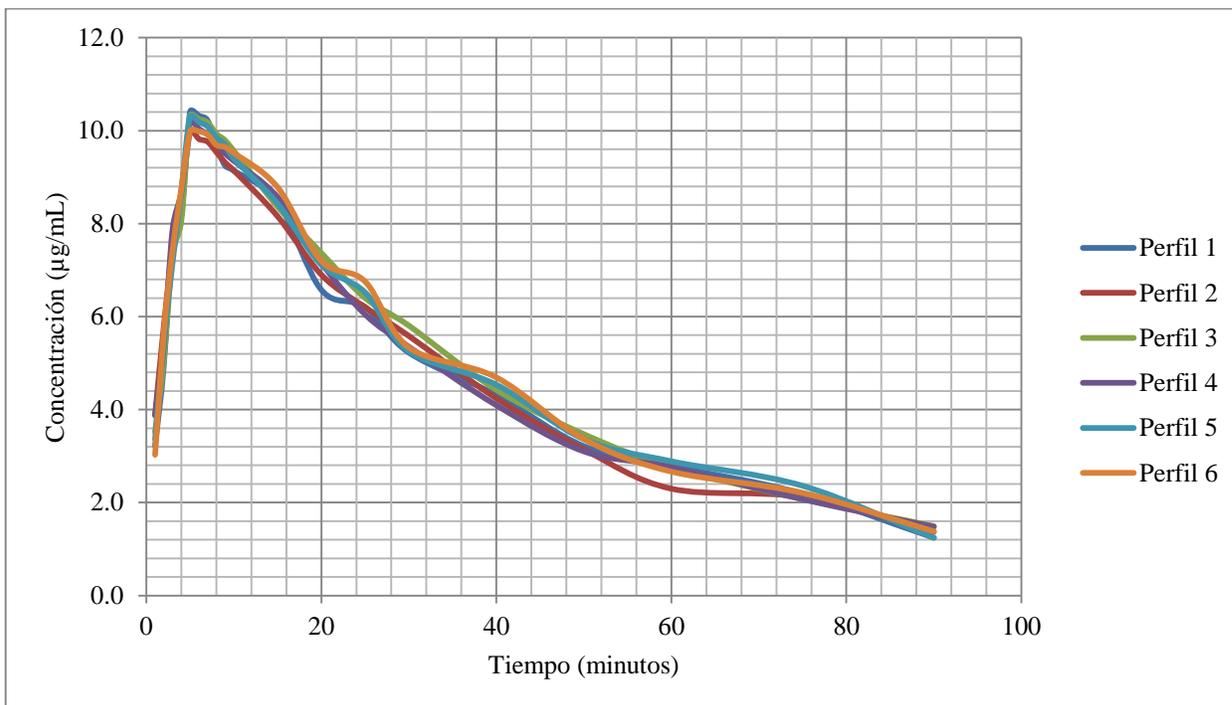


Gráfico 5 Perfil cinético experimental de cafeína. Escala decimal.

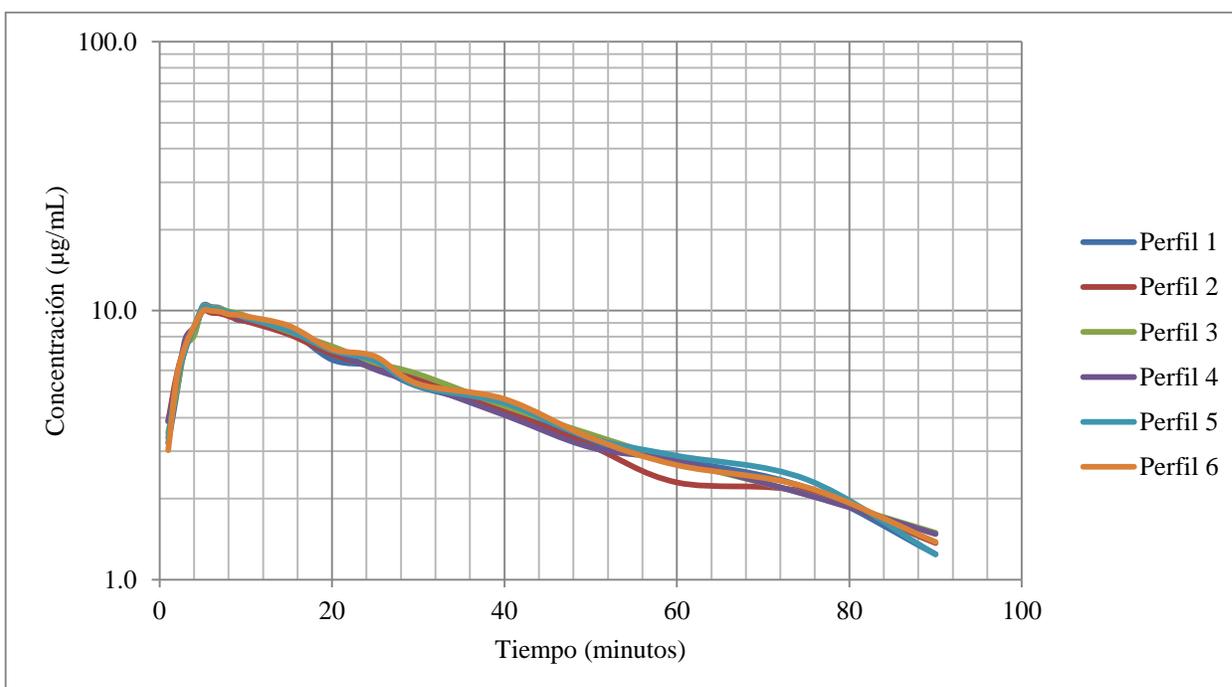


Gráfico 6 Perfil cinético experimental de cafeína. Escala semilogarítmica.





Tabla 26 Perfiles cinéticos teóricos de cafeína (100 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tiempo (minutos)	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Concentración teórica promedio (µg/mL)
	Concentración teórica (µg/mL)						
1	3.6261	3.7925	3.5062	3.7847	3.6266	3.5930	3.6549
2	6.0369	6.2288	5.9023	6.2532	6.0535	6.0096	6.0807
3	7.6089	7.7603	7.5124	7.8299	7.6482	7.6063	7.6610
4	8.6027	8.6891	8.5668	8.8033	8.6663	8.6324	8.6601
5	9.1988	9.2171	9.2288	9.3693	9.2855	9.2620	9.2603
6	9.5221	9.4796	9.6145	9.6612	9.6296	9.6168	9.5873
7	9.6587	9.5667	9.8061	9.7690	9.7845	9.7817	9.7278
8	9.6687	9.5389	9.8621	9.7544	9.8101	9.8161	9.7417
9	9.5933	9.4366	9.8240	9.6589	9.7478	9.7615	9.6704
10	9.4610	9.2866	9.7211	9.5109	9.6265	9.6466	9.5421
15	8.4572	8.2769	8.7837	8.4721	8.6562	8.6955	8.5569
20	7.3886	7.2515	7.7187	7.3996	7.6018	7.6487	7.5015
25	6.4285	6.3367	6.7448	6.4422	6.6469	6.6973	6.5494
30	5.5890	5.5351	5.8869	5.6056	5.8073	5.8591	5.7138
40	4.2231	4.2226	4.4822	4.2434	4.4314	4.4827	4.3476
50	3.1911	3.2214	3.4125	3.2121	3.3814	3.4295	3.3080
60	2.4111	2.4578	2.5980	2.4315	2.5801	2.6237	2.5170
75	1.5836	1.6375	1.7258	1.6014	1.7198	1.7557	1.6706
90	1.0402	1.0911	1.1464	1.0547	1.1463	1.1749	1.1089

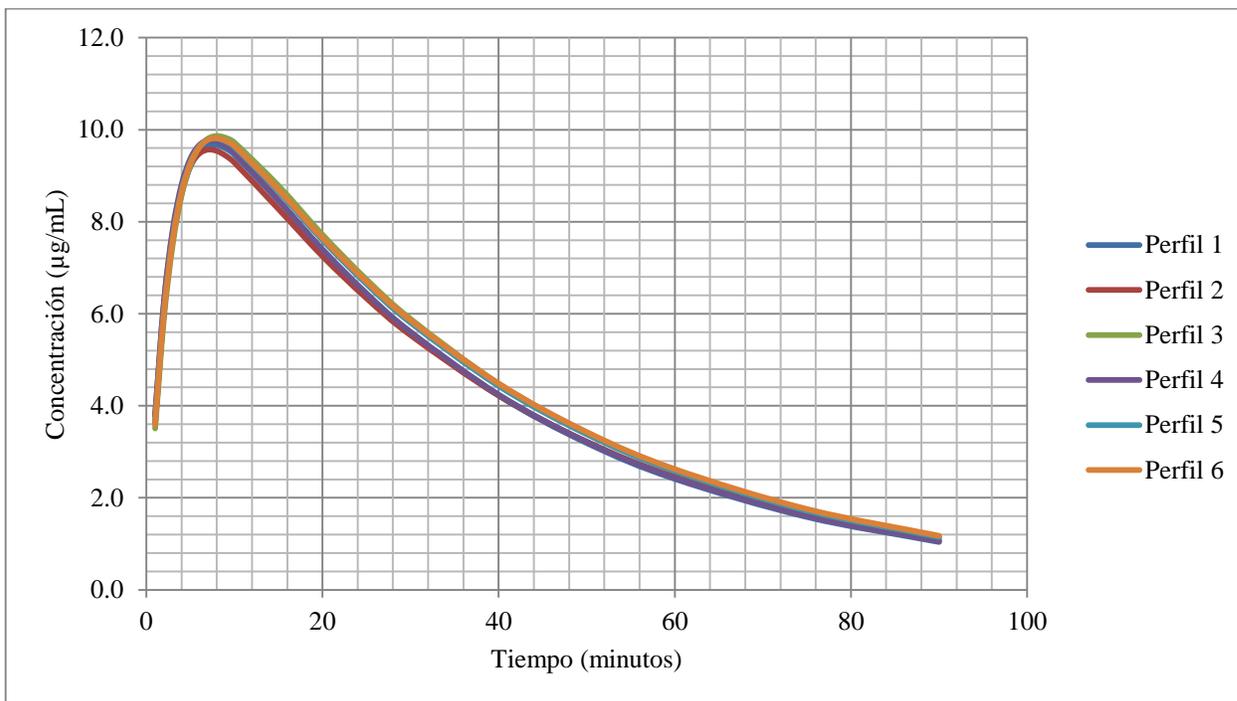


Gráfico 7 Perfil cinético teórico de cafeína (100 mg). Escala decimal.

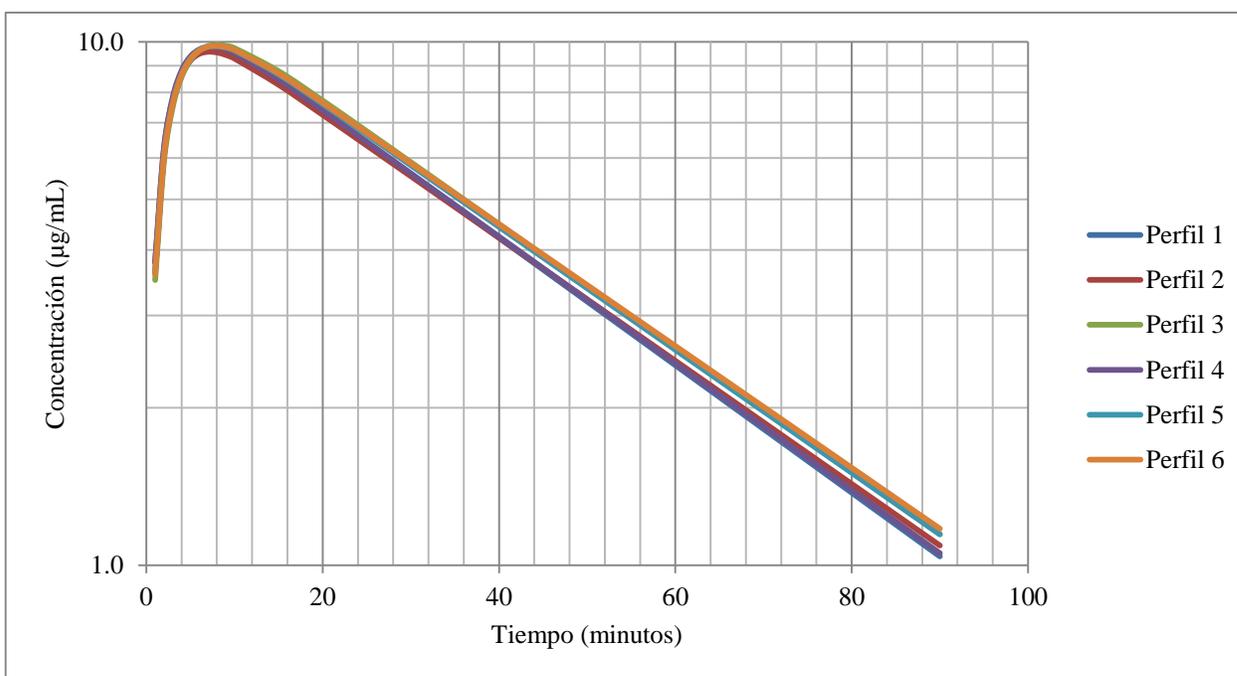


Gráfico 8 Perfil cinético teórico de cafeína (100 mg). Escala semilogarítmica.



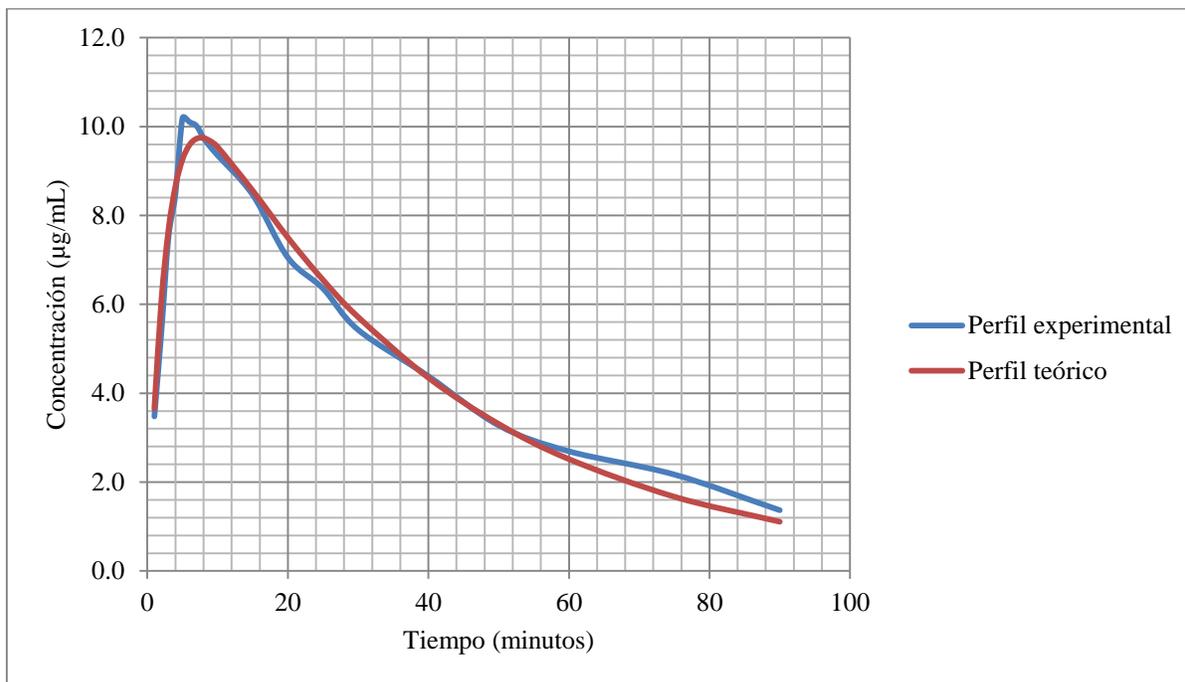


Gráfico 9 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de cafeína. Escala decimal.

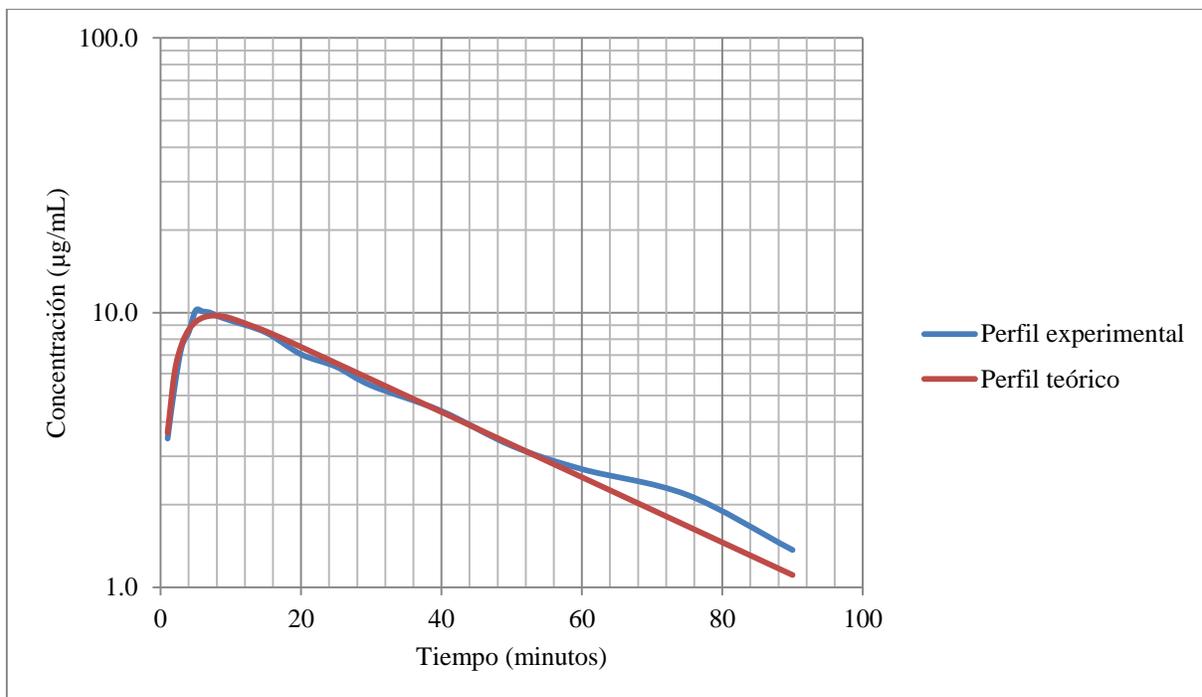


Gráfico 10 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de cafeína. Escala semilogarítmica.





Tabla 27 Datos experimentales de cafeína obtenidos al tener como variable la velocidad de agitación.

Tiempo (Minutos)	Concentración experimental PROMEDIO ($\mu\text{g/mL}$) Baja agitación.	Concentración experimental PROMEDIO ($\mu\text{g/mL}$) Alta agitación.
1	0.5151	3.4797
2	2.8471	5.3817
3	0.4459	7.5000
4	0.2293	8.4824
5	2.1338	10.1915
6	0.6433	10.0996
7	0.0987	10.0145
8	0.1051	9.7449
9	0.1369	9.5351
10	1.2118	9.3533
15	2.1019	8.4618
20	1.4841	7.0515
25	1.8025	6.3556
30	1.8471	5.4265

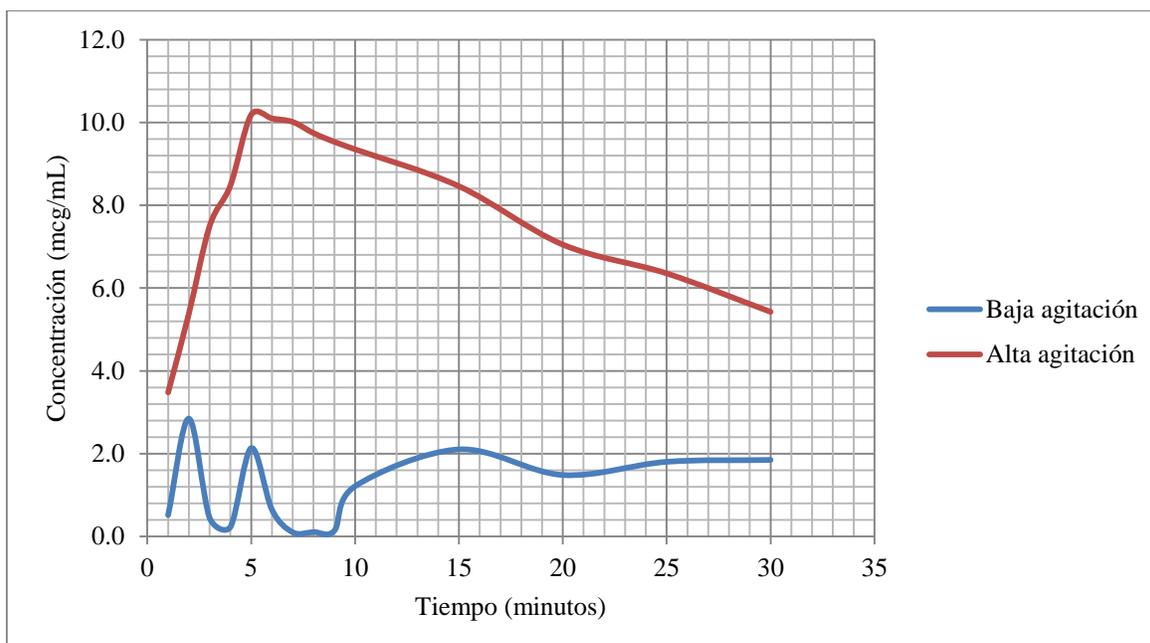


Gráfico 11 Comparación de perfiles de disolución de cafeína (100 mg) teniendo como variable la velocidad agitación.



Tabla 28 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Media	1.1144	7.9341
Varianza	0.8454	4.5117
Observaciones	13	13
Grados de libertad	12	12
F	0.1873	
$P (F \leq f)$ una cola	0.0024	
Valor crítico para F (una cola)	0.3880	

Dado que el estadístico $F=0.1873$ es menor que el valor crítico $F=0.3880$ y que la probabilidad de estadístico 0.0024 es inferior a 0.05, asumimos que las varianzas presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 29 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Media	1.1144	7.9341
Varianza	0.8454	4.5117
Observaciones	14	14
Diferencia hipotética de las medias	6.8196	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	-22.0491	
$P (T \leq t)$ dos colas	1.777E-14	
Valor crítico de t (dos colas)	2.1009	

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en las medias comparadas.

H_a : Existe diferencia significativa en las medias comparadas.

Podemos ver como el estadístico $t=-22.0491$, se encuentra fuera del valor crítico de t (-2.1009 a 2.1009) por tanto, rechazamos la hipótesis nula que afirma que las diferencias entre las medias es igual a cero, y así concluir que si hay diferencia significativa entre los resultados de los perfiles realizados a baja y alta agitación. La condición de agitación seleccionada debe ser la más alta para este simulador farmacocinético, y obtener perfiles en los cuales no exista una diferencia significativa estadísticamente después de realizar una análisis de varianza.





4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO DEL SIMULADOR MONOCOMPARTIMENTAL EMPLEANDO PARACETAMOL.

Tabla 30 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (100 mg) a 25°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (25°C)	Perfil 3 (25°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
1	5.5096	5.4246	5.7733	5.5692
2	6.5170	6.4077	6.5089	6.4779
3	7.9099	8.0067	8.0364	7.9844
4	9.3321	9.2633	9.1148	9.2367
5	9.5250	9.8050	9.4915	9.6072
6	9.3499	9.7023	9.3505	9.4675
7	9.2142	9.4558	9.2688	9.3129
8	9.1067	9.2855	9.1583	9.1835
9	8.7369	9.0672	8.7899	8.8647
10	8.5164	8.9715	8.5548	8.6809
15	7.6002	7.7921	7.2894	7.5606
20	6.9527	6.7689	6.3808	6.7008
25	5.4573	5.7986	5.4149	5.5570
30	4.4836	4.6041	4.6220	4.5699
40	3.4609	3.4204	3.5091	3.4634
50	2.5253	2.6031	2.7431	2.6238
60	2.0107	2.1437	1.9524	2.0356
70	1.4324	1.4594	1.4248	1.4388

Tabla 31 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (100 mg) a 37°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (37°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (37°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
1	5.5228	5.7176	5.7344	5.6583
2	6.4878	6.3834	6.8122	6.5611
3	7.9077	7.5915	8.1272	7.8755
4	9.2958	9.2748	9.2618	9.2775
5	9.5153	9.5639	9.5915	9.5569





6	9.3850	9.4310	9.4180	9.4113
7	9.2029	9.3559	9.2867	9.2818
8	9.1466	9.1440	9.1154	9.1353
9	9.0423	8.8683	8.4953	8.8020
10	8.4040	8.7061	8.4564	8.5222
15	7.8451	7.4332	7.6586	7.6456
20	6.9494	6.4505	6.9013	6.7671
25	5.7749	5.5782	5.4906	5.6145
30	4.5765	4.7139	4.6133	4.6346
40	3.5317	3.6193	3.7534	3.6348
50	2.7117	2.7080	2.5539	2.6579
60	2.0999	1.9994	2.0659	2.0550
70	1.5021	1.4870	1.4210	1.4700

Tabla 32 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Media	6.6332	6.6413
Varianza	8.0553	7.8025
Observaciones	17	17
Grados de libertad	16	16
F	1.0324	
$P (F \leq f)$ una cola	0.4749	
Valor crítico para F (una cola)	2.3334	

Dado que el estadístico $F=1.0324$ es menor que el valor crítico $F=2.3334$ y que la probabilidad de estadístico 0.4749 es superior a 0.05, podemos asumir que las varianzas no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 33 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

Media	6.6332	6.6413
Varianza	8.0553	7.8025
Observaciones	17	17
Varianza agrupada	7.9289	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	32	
Estadístico t	-0.0083	
$P (T \leq t)$ dos colas	0.9933	





Valor crítico de t (dos colas)	2.0369	
----------------------------------	--------	--

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en las medias comparadas.

H_a : Existe diferencia significativa en las medias comparadas.

En este caso la aceptación de la hipótesis nula estará en función de la probabilidad del estadístico. Podemos ver como el estadístico $t=-0.0083$, se encuentra dentro del valor crítico de t (-2.0369 a 2.0369) por tanto, podemos aceptar la hipótesis nula que afirma que las diferencias entre las medias es igual a cero, y así concluir que no hay diferencia significativa entre los resultados de los perfiles realizados a 25°C contra los realizados a 37°C para paracetamol en concentración de 100 mg.

Tabla 34 Análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (100 mg).

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Perfil 1	18	117.6408	6.5356	7.5828
Perfil 2	18	118.9014	6.6056	7.4180
Perfil 3	18	119.9797	6.6655	7.9901
Perfil 4	18	118.0258	6.5569	7.4138
Perfil 5	18	117.3838	6.5213	7.4018
Perfil 6	18	118.7568	6.5976	7.4076

Tabla 35 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (100 mg).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	0.2560	5	0.0512	0.0067	2.3034
Dentro de los grupos	768.6447	102	7.5357		
Total	768.9008	107			

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en los perfiles comparados.

H_a : Existe diferencia significativa en por lo menos un perfil.

Dado que el estadístico $F=0.0067$ es menor que el valor crítico $F=2.3034$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no hay diferencia significativa entre los 6 perfiles de





paracetamol comparados con una confianza del 95%, basándonos en los resultados obtenidos y que se muestran en las tablas 34 y 35.

Tabla 36 Constantes cinéticas de paracetamol (100 mg) obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Parámetro cinético	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (25°C)	Perfil 4 (37°C)	Perfil 5 (25°C)	Perfil 6 (37°C)	Promedio	S	CV (%)
k_{el} (min ⁻¹)	0.0296 (5-70 min)	0.0287 (5-70 min)	0.0295 (5-70 min)	0.0290 (5-70 min)	0.0293 (5-70 min)	0.0292 (5-70 min)	0.0292	0.0003	1.0887
$t_{1/2}$ (min)	23.4503	24.1135	23.4619	23.9175	23.6756	23.7482	23.7278	0.2591	1.0919
k_a (min ⁻¹)	0.5470	0.5406	0.5035	0.5389	0.5757	0.6001	0.5510	0.0333	6.0441
$t_{1/2}$ (min)	1.2671	1.2823	1.3766	1.2861	1.2040	1.1551	1.2619	0.0761	6.0302
AUC_{0-t} (µg/mL*min)	323.8620	331.1390	330.8850	327.1860	322.8570	329.3070	327.5393	3.5454	1.0824
$AUC_{t-\alpha}$ (µg/mL*min)	48.4825	52.3510	49.9168	49.5491	49.2604	50.7885	50.0581	1.3556	2.7081
AUC (µg/mL*min)	372.3440	383.4900	380.8020	376.7350	372.1170	380.0960	377.5973	4.6821	1.2400
% $AUC_{t-\alpha}$	13.0209	13.6512	13.1083	13.1523	13.2379	13.3620	13.2554	0.2261	1.7056
V_d (mL)	542.6850	538.4800	531.0070	531.3450	546.7470	540.8330	538.5162	6.2977	1.1695
Cl (mL/min)	16.1141	15.6468	15.7562	15.9263	16.1240	15.7855	15.8922	0.1971	1.2402
Dosis (µg)	6000	6000	6000	6000	6000	6000			
C_{max} (min)	9.5250	9.5153	9.8050	9.5639	9.4915	9.5915	9.5820	0.1149	1.1991
t_{max} (min)	5	5	5	5	5	5			
MRT (min)	33.3151	34.5073	32.6264	33.7446	33.6173	34.7878	33.7664	0.7897	2.3387
C_{max} teórico (µg/mL)	9.3605	9.3911	9.5886	9.3638	9.3182	9.3723	9.3991	0.0959	1.0202
t_{max} teórico (min)	5.6145	5.7195	5.9191	5.6954	5.4269	5.3179	5.6155	0.2161	3.8485



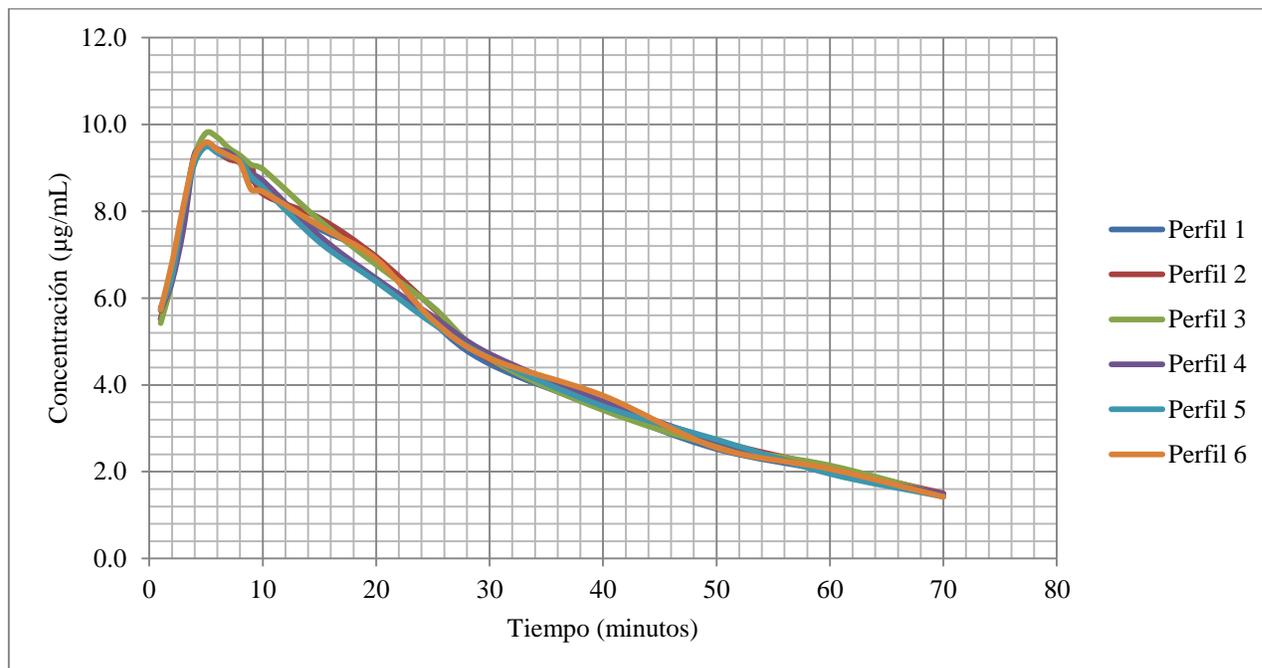


Gráfico 12 Perfil cinético experimental de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

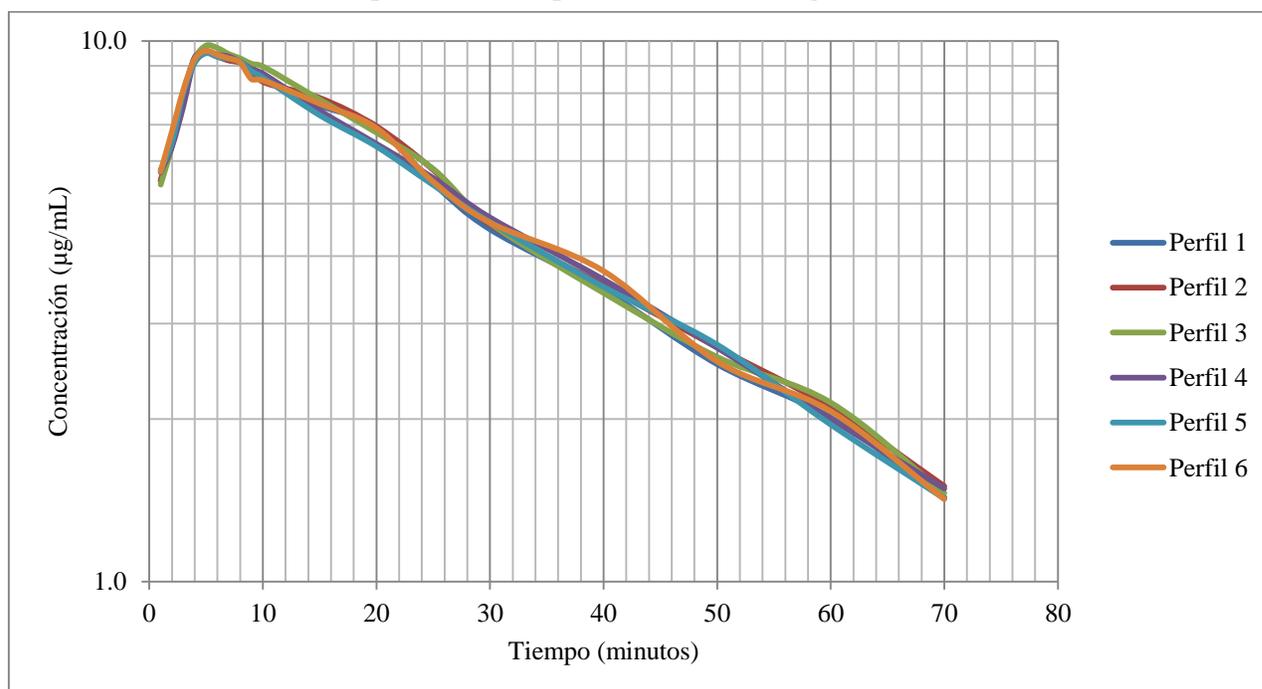


Gráfico 13 Perfil cinético experimental de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.



Tabla 37 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (100 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tiempo (minutos)	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Concentración teórica promedio (µg/mL)
	Concentración teórica (µg/mL)						
1	4.5922	4.5561	4.4731	4.5447	4.7158	4.8509	4.6221
2	7.1137	7.0796	7.0416	7.0633	7.2293	7.3753	7.1505
3	8.4411	8.4228	8.4631	8.4037	8.5085	8.6269	8.4777
4	9.0813	9.0824	9.1952	9.0606	9.0975	9.1840	9.1168
5	9.3277	9.3472	9.5145	9.3224	9.3023	9.3635	9.3629
6	9.3499	9.3856	9.5881	9.3573	9.2947	9.3395	9.3859
7	9.2458	9.2953	9.5167	9.2632	9.1744	9.2073	9.2838
8	9.0722	9.1334	9.3612	9.0972	8.9864	9.0191	9.1116
9	8.8617	8.9328	9.1583	8.8925	8.7702	8.8034	8.9032
10	8.6330	8.7128	8.9300	8.6684	8.5396	8.5758	8.6766
15	7.4692	7.5795	7.7231	7.5172	7.3888	7.4509	7.5215
20	6.4308	6.5599	6.6307	6.4848	6.3693	6.4545	6.4883
25	5.5347	5.6753	5.6890	5.5919	5.4892	5.5905	5.5951
30	4.7634	4.9097	4.8807	4.8218	4.7306	4.8420	4.8247
40	3.5282	3.6745	3.5923	3.5852	3.5134	3.6323	3.5877
50	2.6133	2.7501	2.6440	2.6657	2.6094	2.7248	2.6679
60	1.9357	2.0582	1.9460	1.9820	1.9380	2.0441	1.9840
70	1.4337	1.5404	1.4323	1.4737	1.4393	1.5334	1.4755

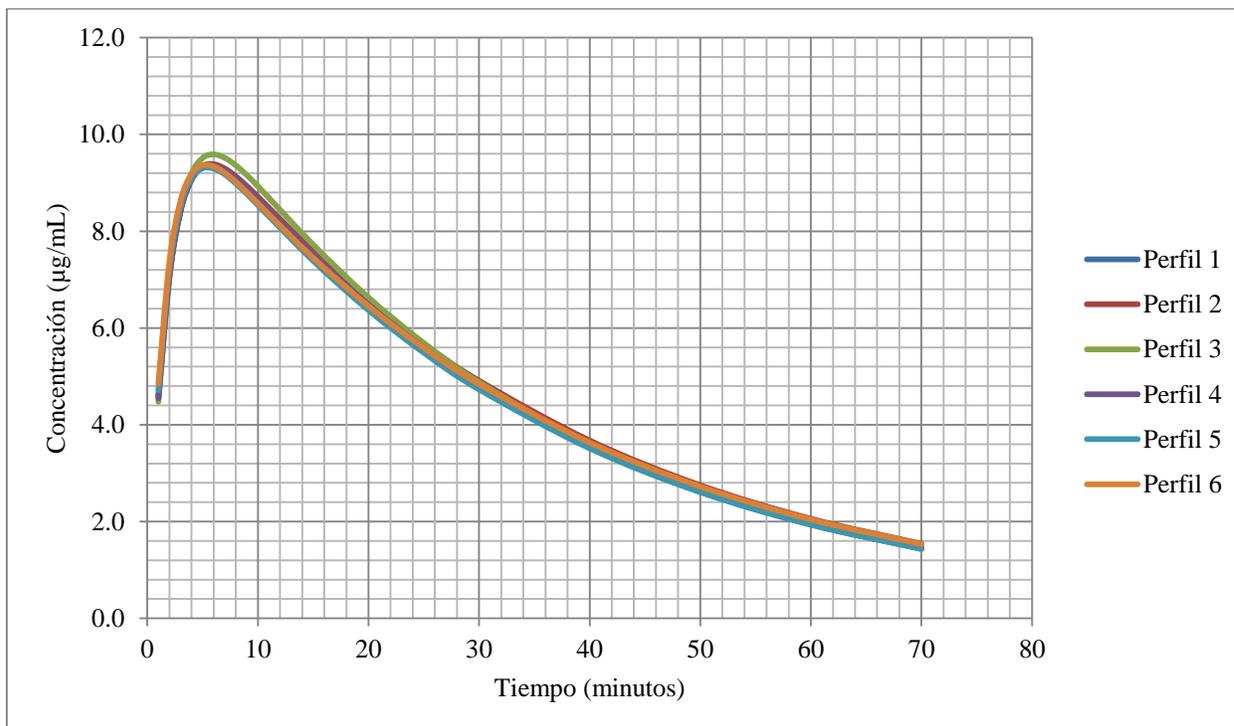


Gráfico 14 Perfil cinético teórico de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

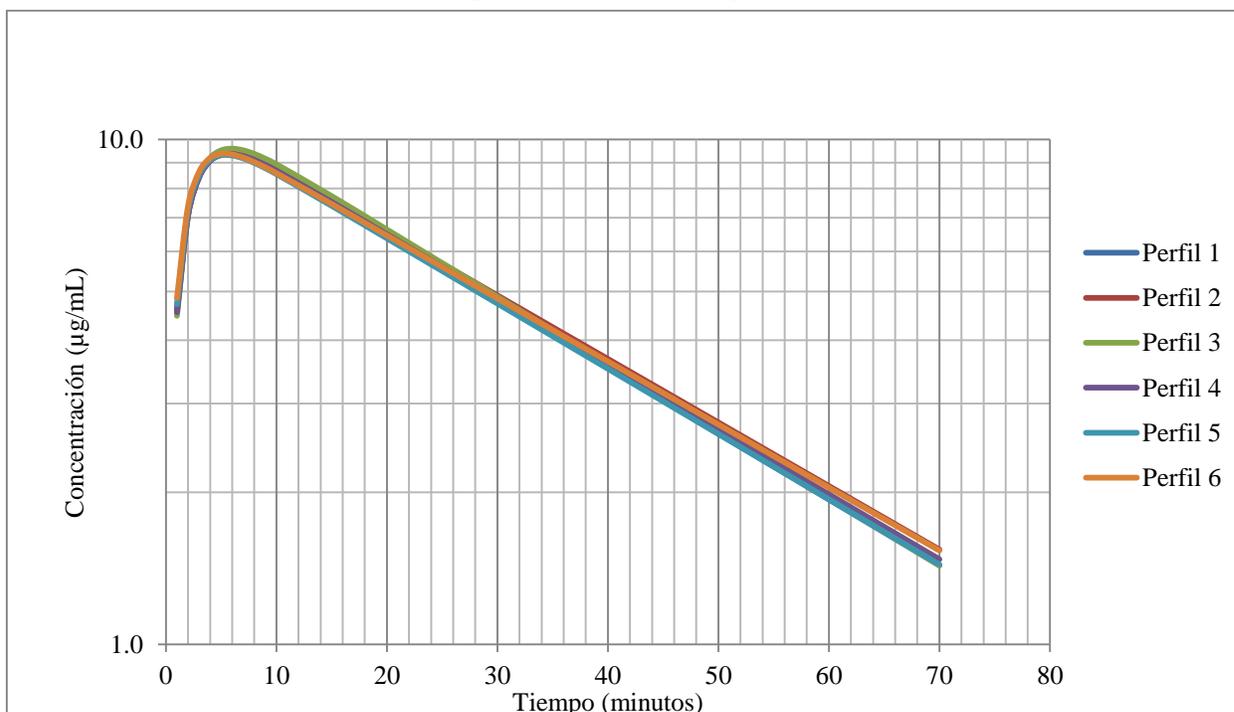


Gráfico 15 Perfil cinético teórico de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.



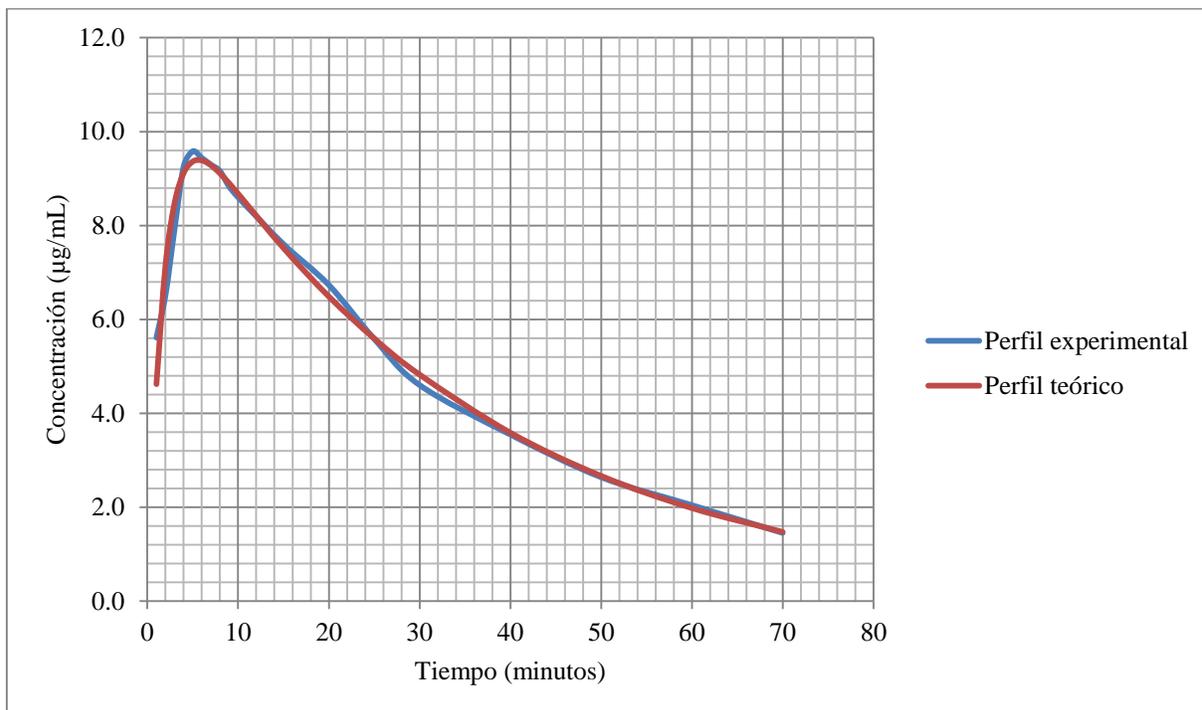


Gráfico 16 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (100 mg). Escala decimal.

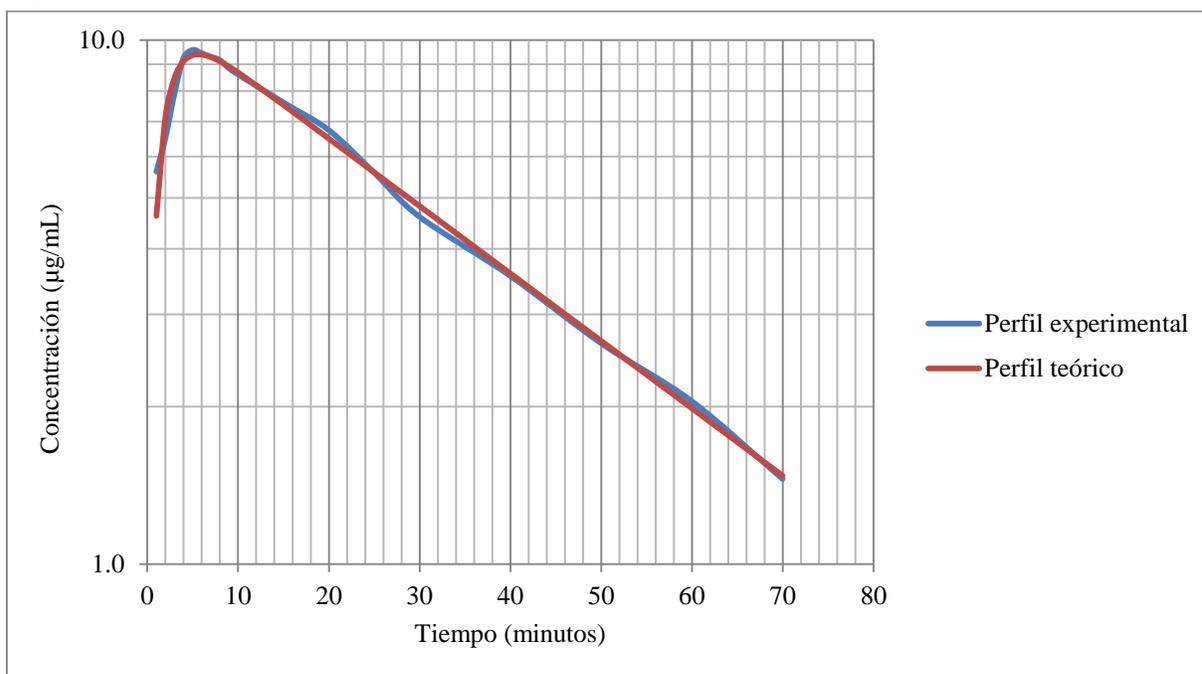


Gráfico 17 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.



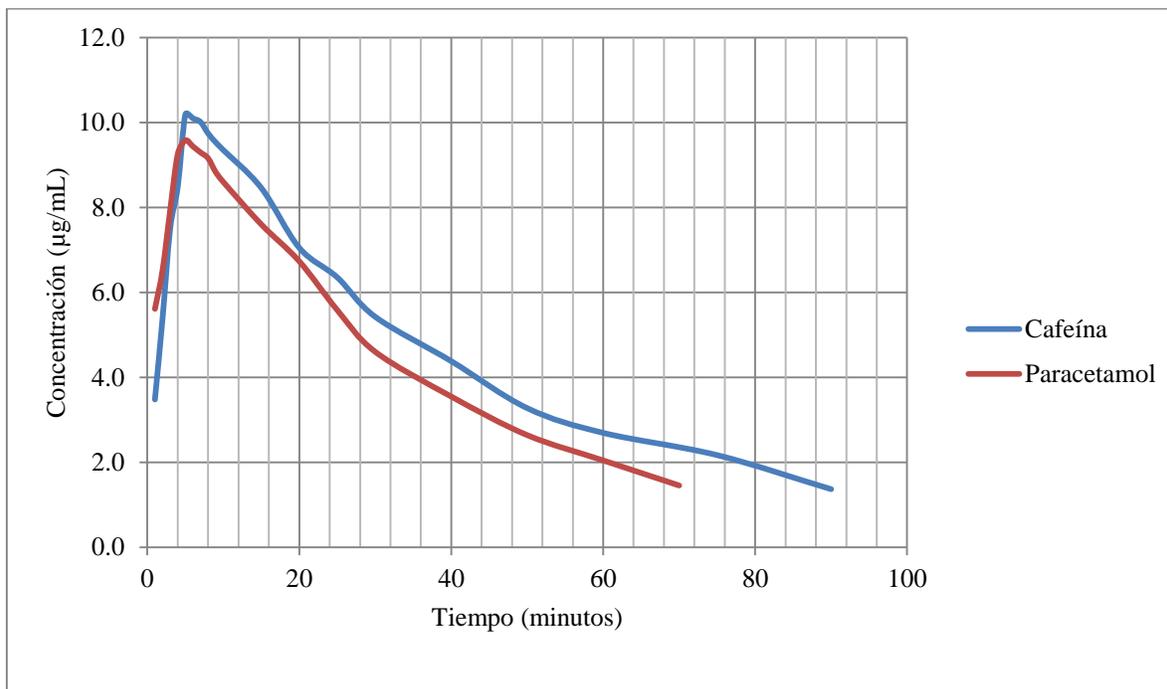


Gráfico 18 Comparación entre perfiles cinéticos experimentales de cafeína y paracetamol (100 mg). Escala decimal.

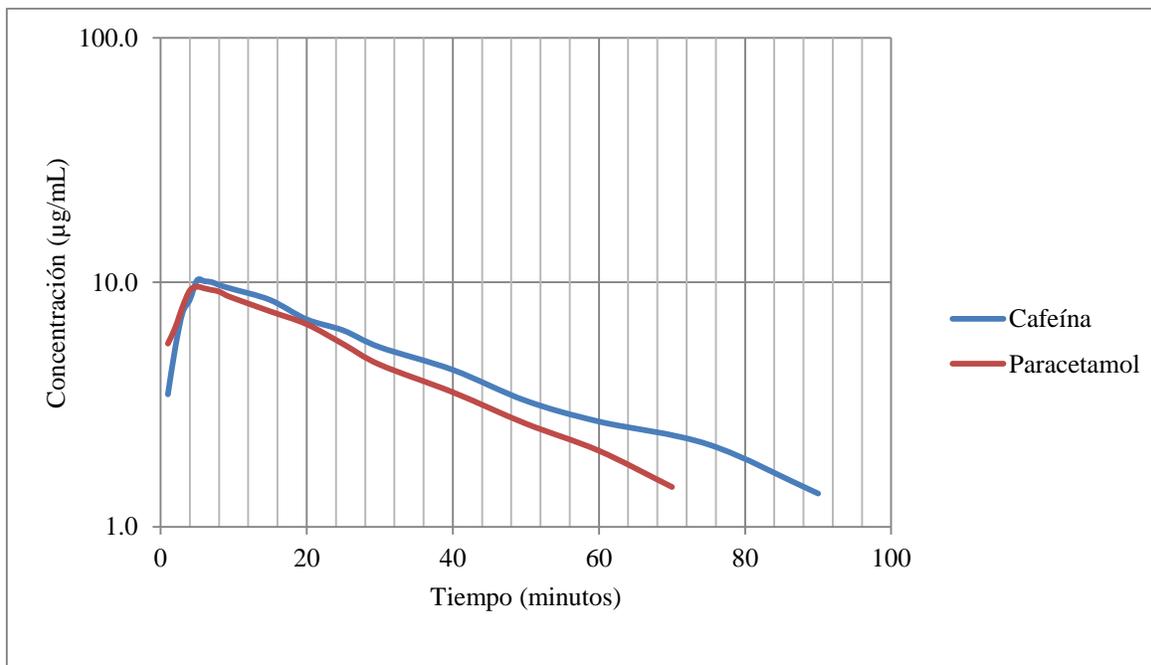


Gráfico 19 Comparación entre perfiles cinéticos experimentales de cafeína y paracetamol (100 mg). Escala semilogarítmica.





Tabla 38 Análisis de varianza de perfiles de cafeína y paracetamol (100 mg).

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Cafeína	17	119.8567	7.0503	7.2220
Cafeína	17	119.7584	7.0446	6.4437
Cafeína	17	122.6032	7.2119	6.9927
Cafeína	17	121.6465	7.1556	6.9148
Cafeína	17	122.3153	7.1950	6.9483
Cafeína	17	122.4039	7.2002	6.9050
Paracetamol	17	116.2085	6.8357	6.3333
Paracetamol	17	117.3994	6.9058	6.1579
Paracetamol	17	118.5203	6.9717	6.6959
Paracetamol	17	116.5389	6.8552	6.1761
Paracetamol	17	115.9590	6.8211	6.1455
Paracetamol	17	117.3358	6.9021	6.0972

Tabla 39 Resultados del análisis de varianza de los perfiles de cafeína y paracetamol (100 mg).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	4.2348	11	0.3849	0.05845	1.8387
Dentro de los grupos	1264.5286	192	6.5860		
Total	1268.7635	203			

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en los perfiles comparados.

H_a : Existe diferencia significativa en por lo menos un perfil.

Dado que el estadístico $F=0.05845$ es menor que el valor crítico $F=1.8387$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no hay diferencia significativa entre los 12 perfiles de cafeína y paracetamol comparados con una confianza del 95%, basándonos en los resultados obtenidos y que se muestran en las tablas 38 y 39.



Tabla 40 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (500 mg) a 25°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (25°C)	Perfil 3 (25°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
2	31.1236	33.4380	32.4840	32.3485
3	33.8956	34.5233	34.5042	34.3077
4	35.2357	36.5621	36.5909	36.1295
5	39.2136	38.6690	38.6836	38.8554
6	41.8966	40.7352	41.7198	41.4505
7	43.5896	43.7748	43.7672	43.7105
8	46.2564	45.8342	46.8241	46.3049
9	43.1257	43.7641	42.7516	43.2138
10	40.2146	41.6942	41.7326	41.2138
15	36.1259	38.5870	36.6232	37.1120
20	32.1259	34.4697	34.4969	33.6975
25	28.2146	27.3398	28.3516	27.9687
30	25.7846	26.2498	27.2629	26.4324
35	20.1459	21.0030	22.0034	21.0508
40	18.2357	18.9034	19.9138	19.0176
45	14.2557	16.6572	15.7179	15.5436
50	13.0125	12.5659	13.5553	13.0445
55	11.2564	11.4209	11.4672	11.3815
60	10.8956	10.3884	10.3038	10.5293
75	6.2569	7.8337	8.9637	7.6848
90	4.2159	4.4389	4.5664	4.4071
100	3.2590	3.1814	3.3194	3.2533

Tabla 41 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (500 mg) a 37°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (37°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (37°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
2	33.3262	30.5063	32.5896	32.1407
3	34.1564	32.5310	33.2564	33.3146
4	36.9302	35.6090	36.2660	36.2684
5	40.8856	39.7108	39.7894	40.1286
6	42.1142	43.7404	41.2569	42.3705
7	44.6031	44.7978	43.2569	44.2193





8	45.3525	45.8145	45.7895	45.6522
9	46.7709	46.8453	42.5896	45.4019
10	43.3751	43.7699	41.7896	42.9782
15	40.9823	40.7131	37.4562	39.7172
20	35.1213	35.5588	33.0126	34.5642
25	29.1756	29.3733	28.5490	29.0326
30	27.8862	27.3281	26.1248	27.1130
35	21.5466	23.0702	20.1548	21.5906
40	19.2084	19.9553	18.4259	19.1965
45	15.2948	16.7275	15.1479	15.7234
50	12.6459	13.5373	12.8746	13.0192
55	10.0406	12.3066	11.7896	11.3789
60	9.4981	11.2511	10.0126	10.2539
75	7.2439	8.9802	7.1255	7.7832
90	4.3292	5.4654	4.7896	4.8614
100	2.8796	4.0577	3.7412	3.5595

Tabla 42 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Media	26.4909	27.0536
Varianza	206.6826	217.0924
Observaciones	21	21
Grados de libertad	20	20
F	0.9520	
$P (F \leq f)$ una cola	0.4567	
Valor crítico para F (una cola)	0.4707	

Dado que el estadístico $F=0.9520$ es mayor que el valor crítico $F=0.4707$ y que la probabilidad de estadístico 0.4567 es superior a 0.05, asumimos que las varianzas presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 43 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Media	26.4909	27.0536
Varianza	206.6826	217.0924
Observaciones	21	21
Diferencia hipotética de las medias	0.5627	
Grados de libertad	40	
Estadístico t	-0.2505	





$P(T \leq t)$ dos colas	0.8034	
Valor crítico de t (dos colas)	2.0210	

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en las medias comparadas.

H_a : Existe diferencia significativa en las medias comparadas.

El estadístico $t=-0.2505$, se encuentra dentro del valor crítico de t (-2.0210 a 2.0210) por tanto, podemos aceptar la hipótesis nula que afirma que las diferencias entre las medias es igual a cero, y así concluir que no hay diferencia significativa entre los resultados de los perfiles realizados a 25°C contras los realizados a 37°C para paracetamol a 500 mg.

Tabla 44 Análisis de varianza de 6 perfiles de paracetamol (500 mg).

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Perfil 1	22	578.3358	26.2879	199.4096
Perfil 2	22	603.3668	27.4257	223.4904
Perfil 3	22	592.0338	26.9106	200.8145
Perfil 4	22	611.6496	27.8022	204.1935
Perfil 5	22	595.6034	27.0728	195.9064
Perfil 6	22	585.7880	26.6267	197.9681

Tabla 45 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (500 mg).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	32.6001	5	6.5200	0.0320	2.2861
Dentro de los grupos	25657.4421	126	203.6304		
Total	25690.0422	131			

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en los perfiles comparados.

H_a : Existe diferencia significativa en por lo menos un perfil.

Dado que el estadístico $F=0.0320$ es menor que el valor critico $F=2.2861$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no hay diferencia significativa entre los 6 perfiles de paracetamol (500 mg) comparados con una confianza del 95%, basándonos en los resultados obtenidos y que se muestran en las tablas 44 y 45.





Tabla 46 Constantes cinéticas de paracetamol (500 mg) obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Parámetro cinético	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (25°C)	Perfil 4 (37°C)	Perfil 5 (25°C)	Perfil 6 (37°C)	Promedio	S	CV (%)
kel (min^{-1})	0.0288 (8-100 min)	0.0303 (9-100 min)	0.0285 (8-100 min)	0.0266 (9-100 min)	0.0278 (8-100 min)	0.0275 (8-100 min)	0.0282	0.0013	4.4907
$t_{1/2}$ (min)	24.1074	22.8665	24.3480	26.0503	24.9632	25.2007	24.5893	1.0869	4.4202
ka (min^{-1})	0.3800	0.3406	0.3897	0.3200	0.3944	0.3854	0.3683	0.0306	8.2954
$t_{1/2}$ (min)	1.8239	2.0350	1.7786	2.1662	1.7577	1.7986	1.8933	0.1673	8.8346
AUC_{0-t} ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	1745.6551	1831.6097	1817.4292	1919.7793	1845.7427	1788.3430	1824.7598	58.5720	3.2098
$AUC_{t-\alpha}$ ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	124.6517	79.6798	86.9680	126.2756	128.4523	144.2504	115.0463	25.6521	22.2972
AUC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	1870.3068	1911.2894	1904.3972	2046.0549	1974.1951	1932.5934	1939.8061	62.3227	3.2128
$\%AUC_{t-\alpha}$	6.6648	4.1689	4.5667	6.1717	6.5066	7.4641	5.9238	1.2841	21.6763
Vd (mL)	565.0711	523.8435	562.3493	525.8767	567.0855	564.5633	551.4649	20.6730	3.7487
Cl (mL/min)	16.0401	15.6962	15.7530	14.6624	15.1961	15.5232	15.4785	0.4870	3.1466
Dosis (μg)	30000	30000	30000	30000	30000	30000			
$C_{\text{máx}}$ (min)	46.2564	46.7709	45.8342	46.8453	46.8241	45.7895	46.3867	0.4956	1.0684
$t_{\text{máx}}$ (min)	8	9	8	9	8	8	8.3333	0.5164	6.1968
MRT (min)	34.4060	32.9973	35.6377	34.8938	36.7668	35.1690	34.9784	1.2593	3.6002
$C_{\text{máx}}$ teórico ($\mu\text{g/mL}$)	42.9105	45.2168	43.4969	44.9942	43.3953	43.1747	43.8647	0.9845	2.2444
$t_{\text{máx}}$ teórico (min)	7.3245	7.7969	7.2750	8.2821	7.2832	7.3027	7.5441	0.4137	5.4834



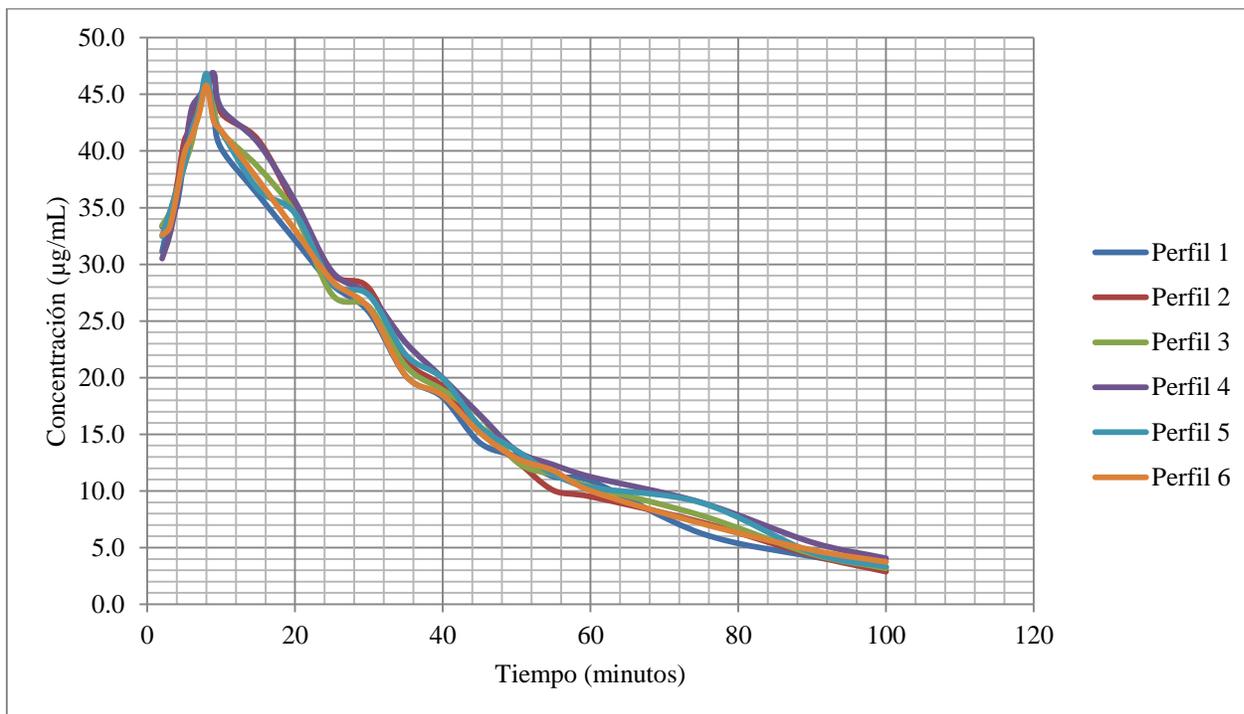


Gráfico 20 Perfil cinético experimental de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

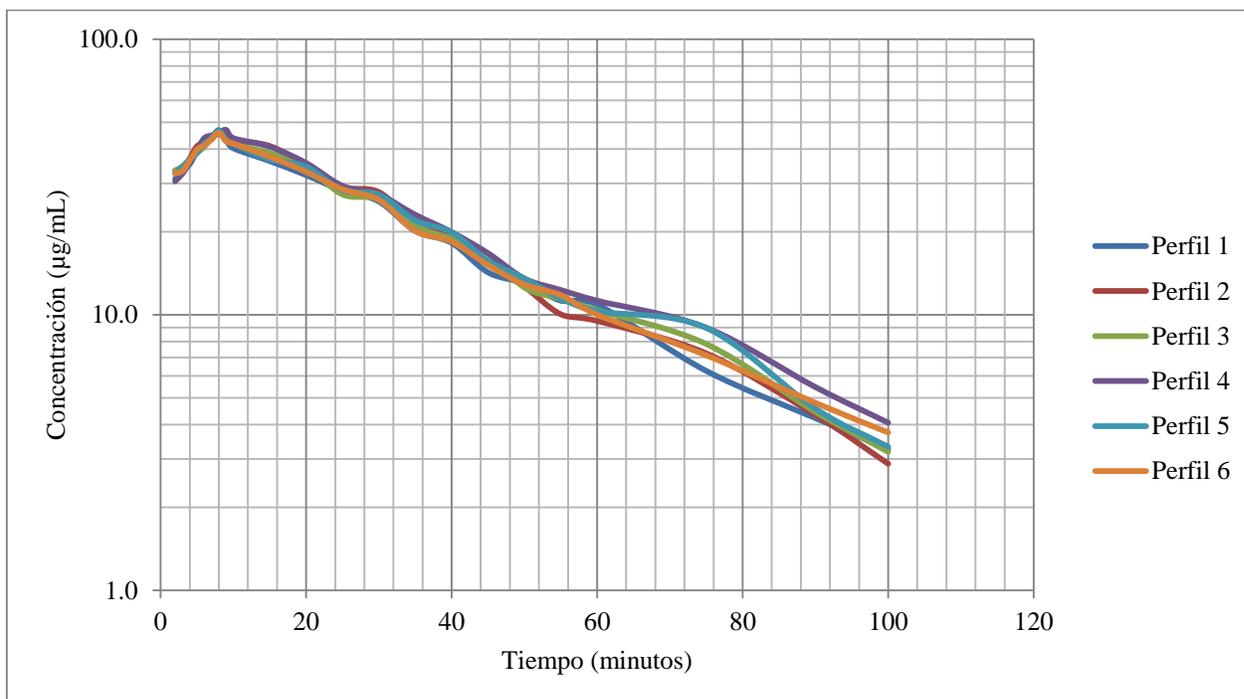


Gráfico 21 Perfil cinético experimental de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.





Tabla 47 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (500 mg) calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tiempo (minutos)	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Concentración teórica promedio (µg/mL)
	Concentración teórica (µg/mL)						
2	27.3584	27.3567	27.9822	26.1284	27.9917	27.6562	27.4123
3	34.3040	34.7725	34.9884	33.5047	34.9626	34.6256	34.5263
4	38.6068	39.5905	39.2896	38.4505	39.2299	38.9228	39.0150
5	41.1153	42.5743	41.7711	41.6430	41.6863	41.4148	41.7008
6	42.4091	44.2665	43.0321	43.5736	42.9333	42.6911	43.1510
7	42.8844	45.0529	43.4782	44.5988	43.3759	43.1521	43.7571
8	42.8117	45.2074	43.3837	44.9772	43.2870	43.0701	43.7895
9	42.3757	44.9245	42.9340	44.8963	42.8501	42.6297	43.4351
10	41.7022	44.3421	42.2545	44.4918	42.1888	41.9563	42.8226
15	36.9811	39.5196	37.5711	40.2498	37.6323	37.2739	38.2046
20	32.1166	34.2202	32.7738	35.2193	32.9598	32.4620	33.2920
25	27.7931	29.4555	28.5008	30.5868	28.7845	28.1785	28.8832
30	24.0370	25.3224	24.7724	26.5175	25.1268	24.4468	25.0372
35	20.7863	21.7635	21.5299	22.9802	21.9322	21.2073	21.6999
40	17.9748	18.7037	18.7117	19.9130	19.1436	18.3969	18.8073
45	15.5436	16.0739	16.2622	17.2547	16.7095	15.9588	16.3005
50	13.4412	13.8138	14.1335	14.9513	14.5848	13.8438	14.1281
55	11.6232	11.8715	12.2833	12.9553	12.7304	12.0091	12.2455
60	10.0511	10.2023	10.6754	11.2258	11.1117	10.4176	10.6140
75	6.4994	6.4755	7.0079	7.3034	7.3892	6.8004	6.9126
90	4.2028	4.1101	4.6004	4.7515	4.9137	4.4392	4.5029
100	3.1427	3.0355	3.4748	3.5675	3.7436	3.3405	3.3841

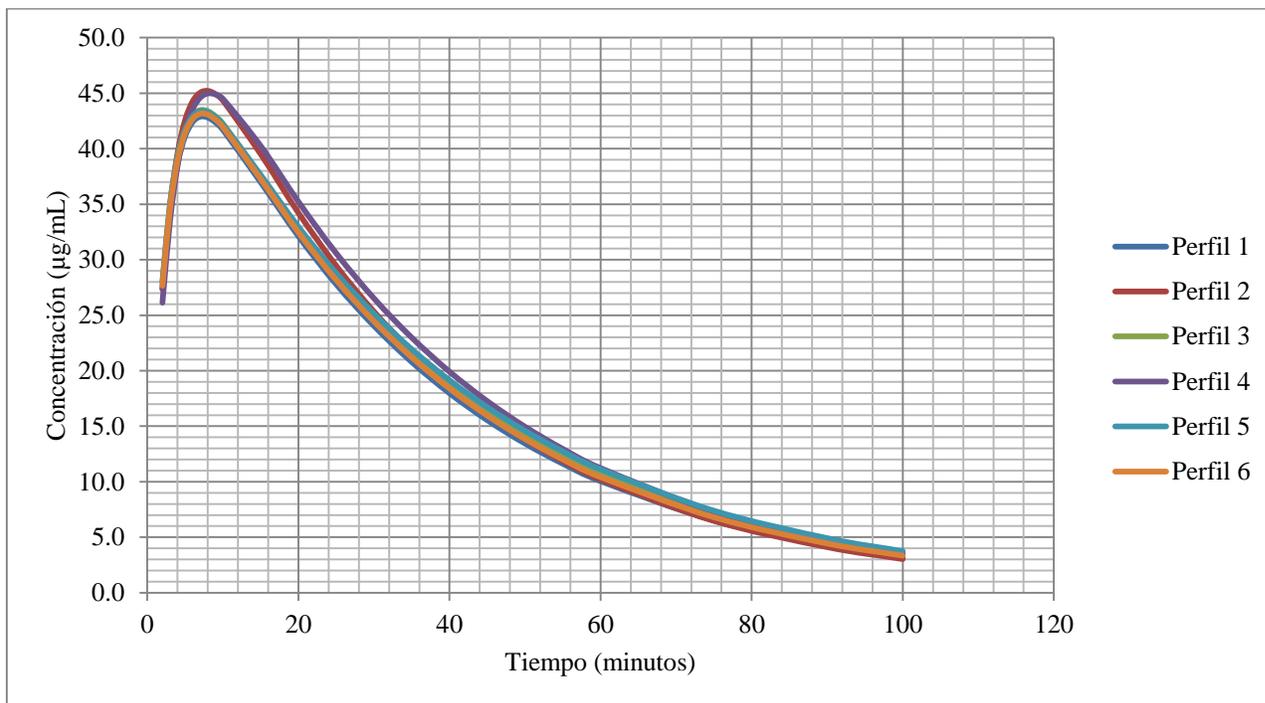


Gráfico 22 Perfil cinético teórico de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

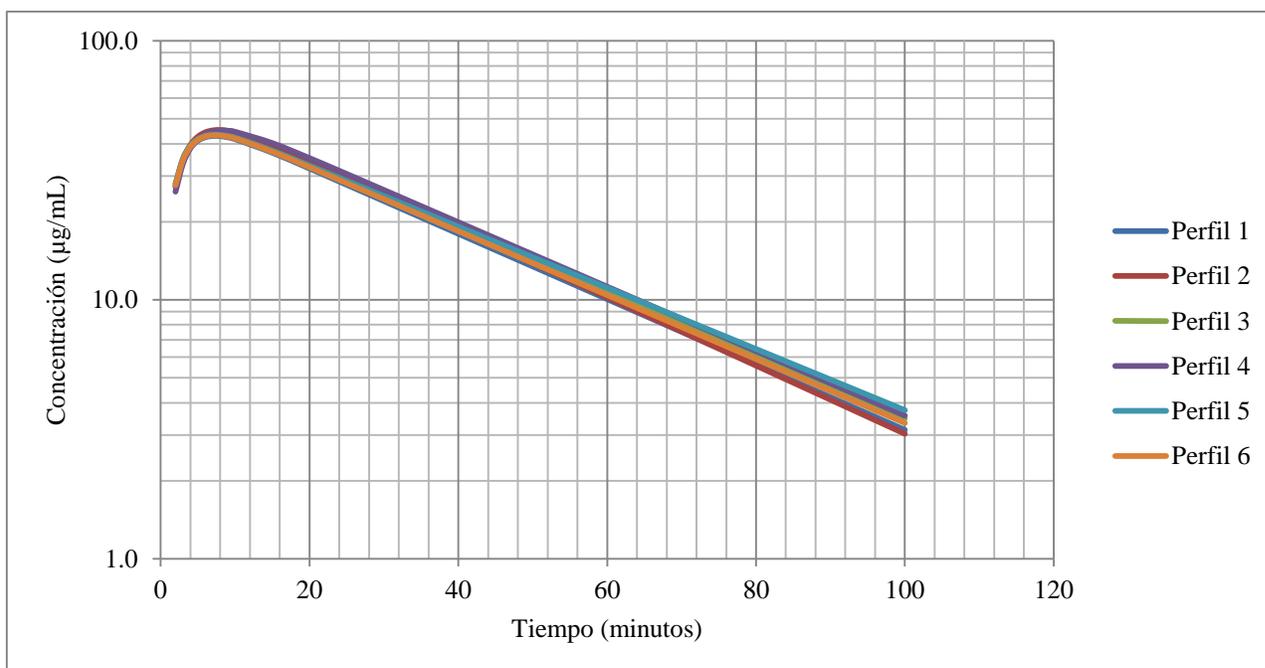


Gráfico 23 Perfil cinético teórico de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.



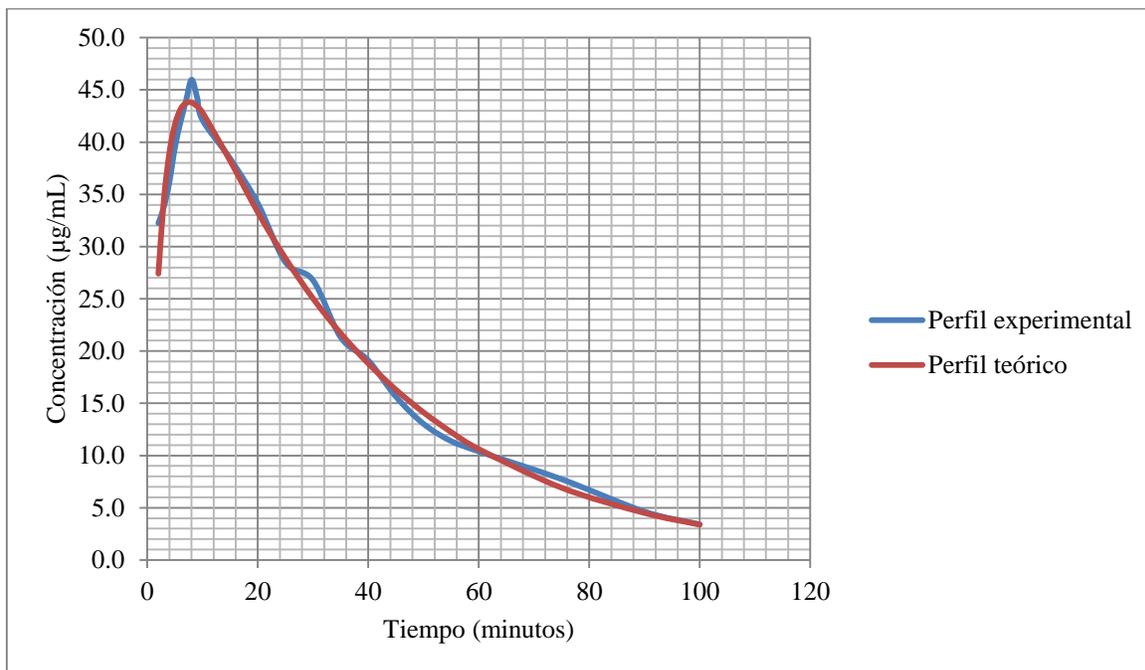


Gráfico 24 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (500 mg). Escala decimal.

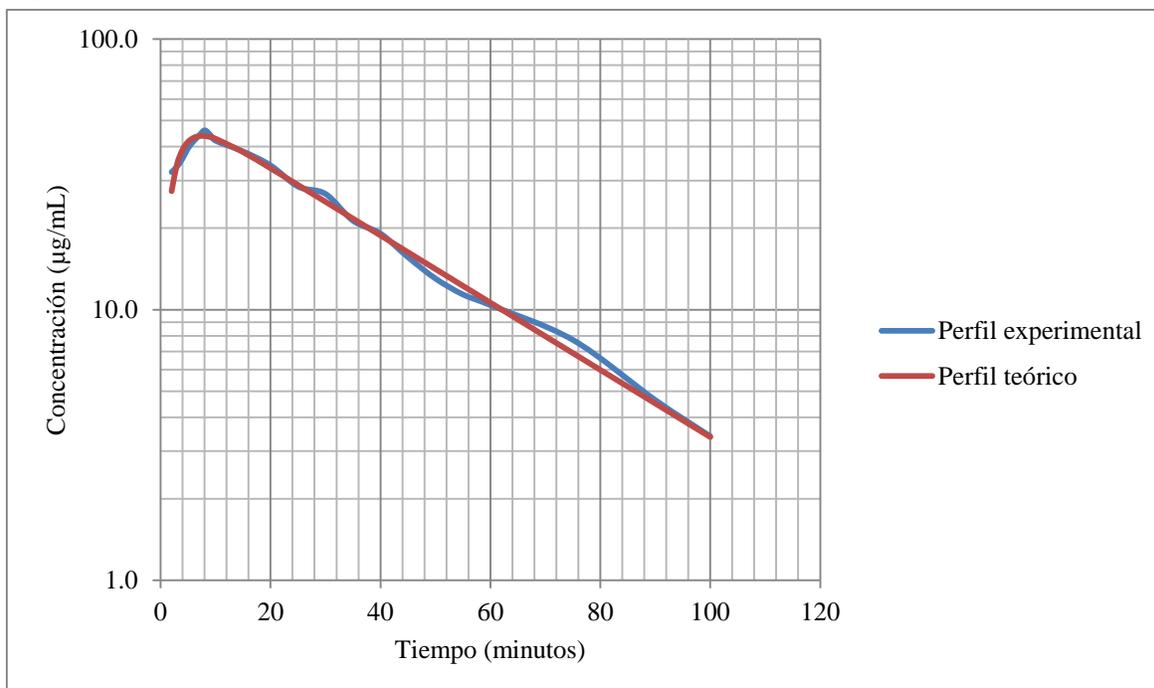


Gráfico 25 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (500 mg). Escala semilogarítmica.





Tabla 48 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (600 mg), empleando una bolsa de difusión a 25°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (25°C)	Perfil 3 (25°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
2	542.6536	524.0885	542.5482	536.4301
4	652.8384	645.9468	650.4741	649.7531
6	815.0750	802.1837	817.4879	811.5822
8	952.4208	909.5306	940.3807	934.1107
10	1130.0622	1130.9270	1127.3234	1129.4376
15	903.6930	892.2885	884.3625	893.4480
20	726.2138	735.8620	738.6949	733.5902
25	694.1880	680.7291	681.9793	685.6322
30	614.7723	620.3262	625.7308	620.2764
45	461.8596	454.7117	460.4391	459.0035
60	363.8771	371.4984	362.8734	366.0830
75	258.4273	270.3539	258.8214	262.5342
90	185.2790	186.2357	183.9574	185.1573
120	95.0426	94.0097	93.6157	94.2227
150	44.6268	44.5960	43.9588	44.3939
180	28.7210	28.7096	28.9302	28.7869
210	12.8119	12.7973	12.6011	12.7368

Tabla 49 Perfiles cinéticos experimentales de paracetamol (600 mg), empleando una bolsa de difusión a 37°C.

Tiempo (minutos)	Perfil 1 (37°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (37°C)	Concentración experimental promedio (µg/mL)
	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	Concentración experimental (µg/mL)	
2	551.2479	548.9550	546.4205	548.8745
4	664.2703	647.3478	661.3888	657.6690
6	822.2909	798.5497	814.9907	811.9438
8	952.7646	954.6829	947.4410	951.6295
10	1128.1974	1125.0189	1129.8660	1127.6941
15	865.2622	905.0308	898.8235	889.7055
20	735.4566	737.4738	732.6432	735.1912
25	679.7562	680.1827	679.9719	679.9702





30	624.4611	629.9958	627.3005	627.2525
45	478.1157	461.8207	463.1536	467.6967
60	363.9582	370.5628	353.6824	362.7345
75	266.6243	262.4666	260.4138	263.1682
90	185.2222	186.7903	183.3607	185.1244
120	93.8881	92.9881	94.9567	93.9443
150	44.3496	43.5453	44.9901	44.2950
180	28.7015	28.9448	28.7923	28.8129
210	12.7389	12.7860	12.7357	12.7535

Tabla 50 Prueba F para varianzas de dos muestras.

Media	494.4217	496.2240
Varianza	131251.771	132184.881
Observaciones	16	16
Grados de libertad	15	15
F	0.9929	
$P (F \leq f)$ una cola	0.4946	
Valor crítico para F (una cola)	0.4160	

Dado que el estadístico $F=0.9929$ es mayor que el valor crítico $F=0.4160$ y que la probabilidad de estadístico 0.4969 es superior a 0.05, podemos asumir que las varianzas presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 51 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales.

Media	494.4217	496.2240
Varianza	131251.771	132184.881
Observaciones	16	16
Diferencia hipotética de las medias	1.8022	
Grados de libertad	30	
Estadístico t	-0.0280	
$P (T \leq t)$ dos colas	0.9777	
Valor crítico de t (dos colas)	2.0422	

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en las medias comparadas.

H_a : Existe diferencia significativa en las medias comparadas.





El estadístico $t=-0.0280$, se encuentra dentro del valor crítico de t (-2.0422 a 2.422) por tanto, podemos aceptar la hipótesis nula que afirma que las diferencias entre las medias es igual a cero, y así concluir que no hay diferencia significativa entre los resultados de los perfiles realizados a 25°C contra los realizados a 37°C para paracetamol en concentración de 600 mg empleando una bolsa de difusión.

Tabla 52 Análisis de varianza de 6 perfiles de paracetamol (600 mg).

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Perfil 1	17	8482.56268	498.9742	124957.552
Perfil 2	17	8497.30587	499.8415	123399.65
Perfil 3	17	8404.79472	494.3996	121035.021
Perfil 4	17	8487.14201	499.2436	124152.381
Perfil 5	17	8454.17897	497.3046	123577.335
Perfil 6	17	8480.9314	498.8783	124818.612

Tabla 53 Resultados del análisis de varianza de los 6 perfiles de paracetamol (600 mg).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	340.6044	5	68.1208	0.00055	2.3092
Dentro de los grupos	11871048.8	96	123656.758		
Total	11871389.4	101			

H_0 : No hay diferencia estadística significativa en los perfiles comparados.

H_a : Existe diferencia significativa en por lo menos un perfil.

Dado que el estadístico $F=0.00055$ es menor que el valor crítico $F=2.3092$ se acepta la hipótesis nula concluyendo que no hay diferencia significativa entre los 6 perfiles de paracetamol (600 mg) comparados con una confianza del 95%, basándonos en los resultados obtenidos y que se muestran en las tablas 53 y 54.





Tabla 54 Constantes cinéticas de paracetamol (600 mg) empleando una bolsa de difusión obtenidas a partir del simulador monocompartimental.

Parámetro cinético	Perfil 1 (25°C)	Perfil 2 (37°C)	Perfil 3 (25°C)	Perfil 4 (37°C)	Perfil 5 (25°C)	Perfil 6 (37°C)	Promedio	S	CV (%)
kel (min^{-1})	0.0215 (10-210 min)	0.0215 (10-210 min)	0.0215 (10-210 min)	0.0216 (10-210 min)	0.0216 (10-210 min)	0.0215 (10-210 min)	0.0215 (10-210 min)	0.0000	0.1268
$t_{1/2}$ (min)	32.1992	32.1838	32.1969	32.1090	32.1319	32.2070	32.1713	0.0408	0.1267
ka (min^{-1})	0.2735	0.2874	0.2682	0.2714	0.2743	0.2784	0.2755	0.0067	2.4308
$t_{1/2}$ (min)	2.5347	2.4122	2.5842	2.5540	2.5267	2.4897	2.5169	0.0601	2.3859
AUC_{0-t} ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	53779.7	54023.4	53742.6673	53988	53640.6351	53708.8684	53813.8785	155.8828	0.2897
$AUC_{t-\alpha}$ ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	642.4290	641.0930	643.6570	635.2520	634.3376	642.1629	639.8219	3.9890	0.6235
AUC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)	54422.1000	54664.5000	54386.3000	54623.2000	54274.9727	54351.0313	54453.6840	155.6872	0.2859
$\%AUC_{t-\alpha}$	1.1805	1.1727	1.1835	1.1629	1.1687	1.1815	1.1750	0.0082	0.6967
Vd (mL)	422.8527	430.1080	428.6480	424.4560	425.7965	423.5894	425.9084	2.8976	0.6803
Cl (mL/min)	9.1874	9.1467	9.1435	9.1536	9.2124	9.1995	9.1738	0.0296	0.3230
Dosis (μg)	600000	600000	600000	600000	600000	600000			
$C_{\text{máx}}$ (min)	1130.0622	1128.1974	1130.9270	1125.0189	1127.3234	1129.8660	1128.5658	2.1801	0.1932
$t_{\text{máx}}$ (min)	10	10	10	10	10	10			
MRT (min)	44.2404	45.5372	44.9884	44.8412	44.5513	44.1701	44.7214	0.5129	1.1469
$C_{\text{máx}}$ teórico ($\mu\text{g/mL}$)	944.5425	940.2440	931.4013	941.8348	939.4881	945.2760	940.4644	4.9960	0.5312
$t_{\text{máx}}$ teórico (min)	9.9381	9.6624	10.1241	10.0321	9.9379	9.8111	9.9176	0.1631	1.6447

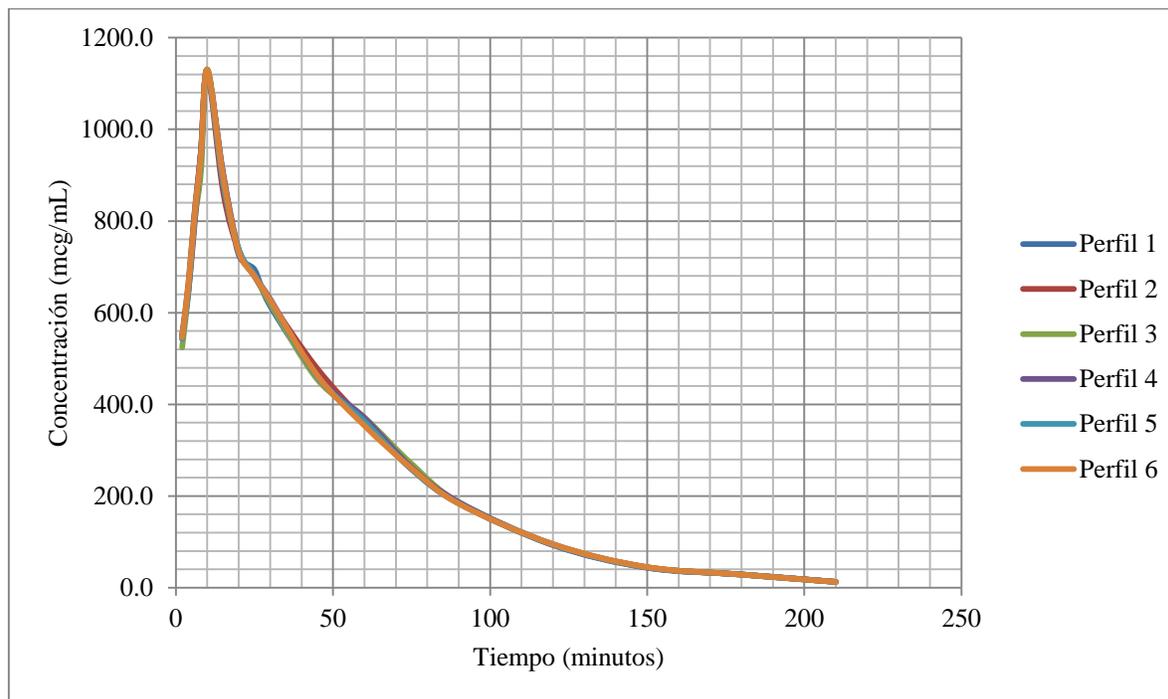


Gráfico 26 Perfil cinético experimental de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

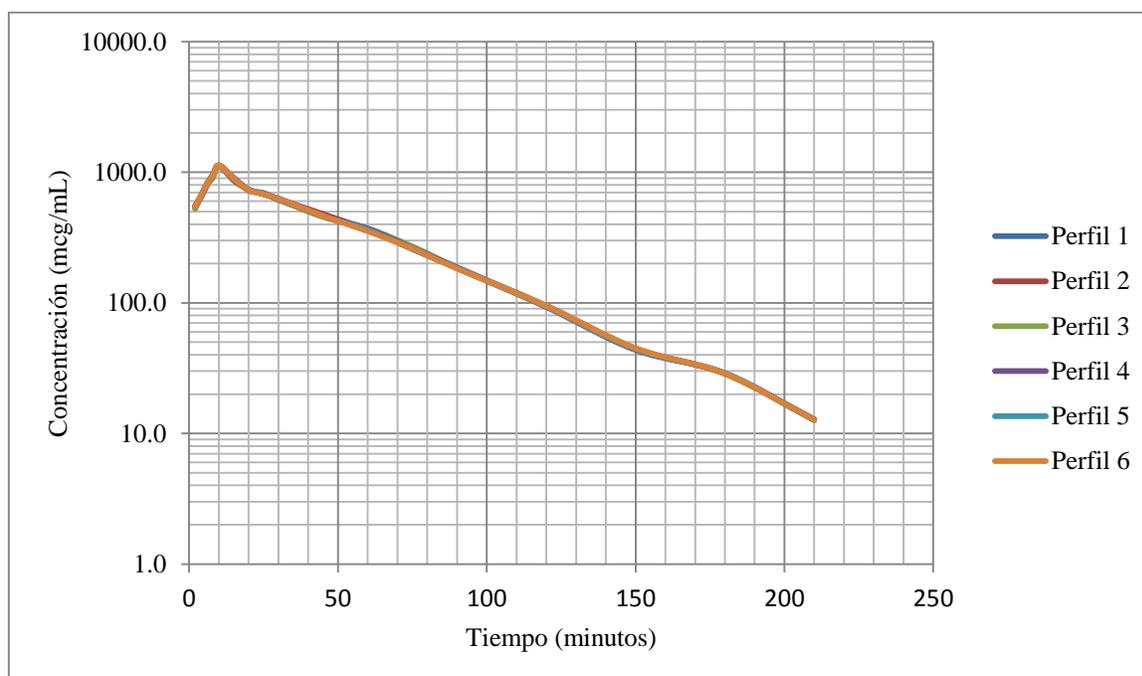


Gráfico 27 Perfil cinético experimental de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.





Tabla 55 Perfiles cinéticos teóricos de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión calculados mediante el programa Kinetica 5.1

Tiempo (minutos)	Perfil 1	Perfil 2	Perfil 3	Perfil 4	Perfil 5	Perfil 6	Concentración teórica
	Concentración	Concentración	Concentración	Concentración	Concentración	Concentración	
2	486.0393	497.5950	472.7430	481.6170	483.9150	491.7200	485.6049
4	745.8412	755.6490	728.6580	740.4870	742.2390	751.7230	744.0995
6	875.6624	880.1020	858.6610	870.8300	871.1670	879.9080	872.7217
8	931.1680	930.4080	915.8830	927.3590	926.2320	933.4780	927.4213
10	944.5310	939.9170	931.3580	941.8320	939.4770	945.1720	940.3812
15	897.0100	888.5370	888.8910	896.6430	892.4290	895.1700	893.1133
20	814.7600	807.0970	809.4450	815.9860	811.0530	812.0790	811.7367
25	731.1580	725.7580	728.0720	733.4800	728.3420	728.3260	729.1893
30	653.9050	650.9010	652.4750	657.0130	651.8800	651.1610	652.8892
45	466.1150	468.3830	467.7630	470.4760	465.7650	463.8750	467.0628
60	332.0840	336.9350	335.1430	336.7180	332.6200	330.3090	333.9682
75	236.5910	242.3760	240.1200	240.9840	237.5340	235.1990	238.8007
90	168.5570	174.3540	172.0390	172.4690	169.6300	167.4750	170.7540
120	85.5553	90.2232	88.3124	88.3399	86.5083	84.9144	87.3089
150	43.4256	46.6878	45.3333	45.2483	44.1176	43.0538	44.6444
180	22.0417	24.1596	23.2709	23.1765	22.4992	21.8294	22.8296
210	11.1878	12.5019	11.9456	11.8712	11.4742	11.6081	11.7648



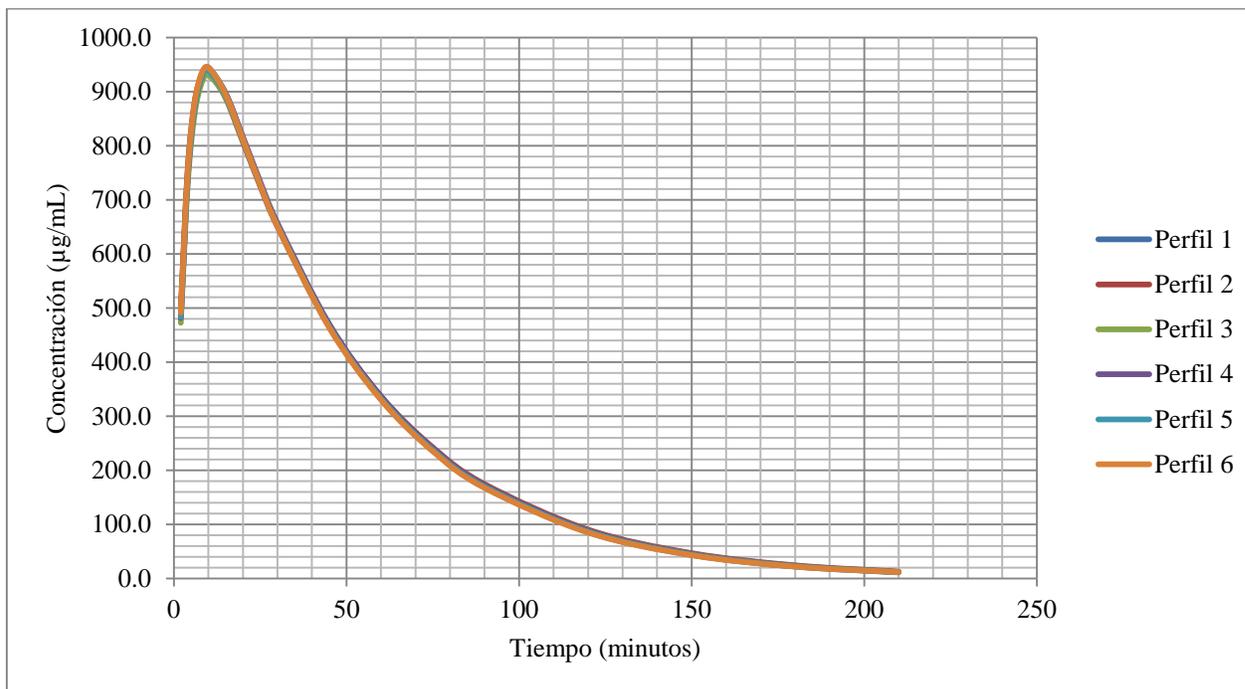


Gráfico 28 Perfil cinético teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

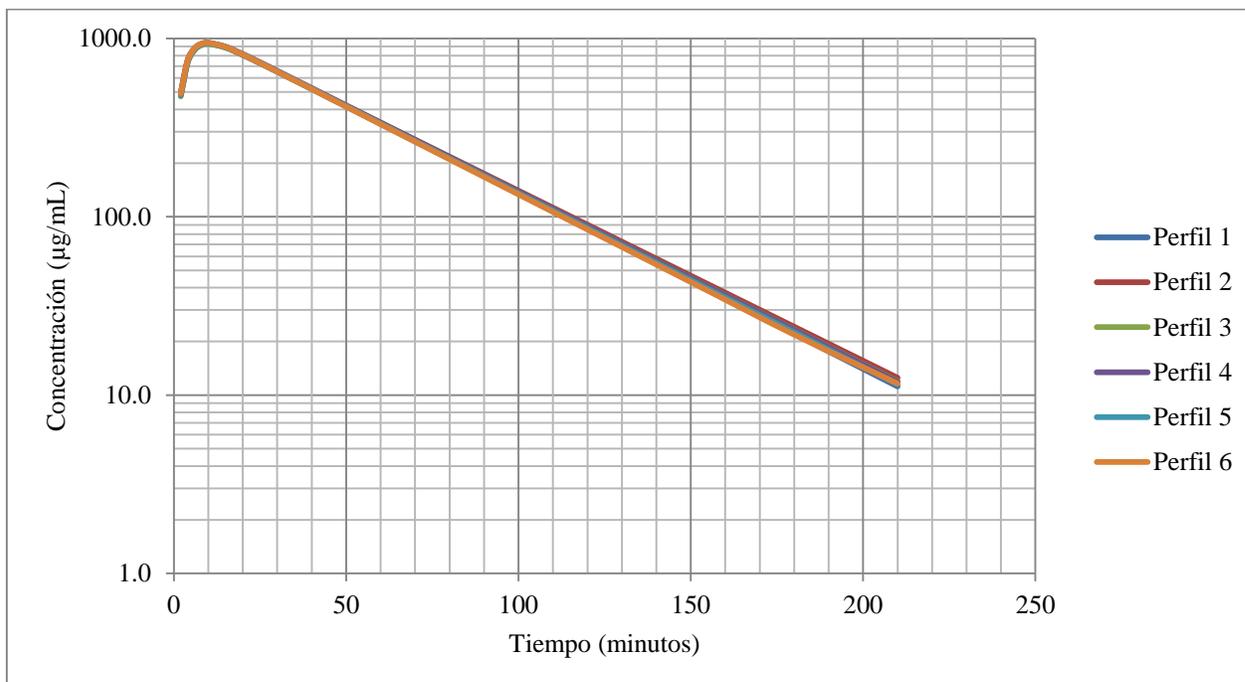


Gráfico 29 Perfil cinético teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.



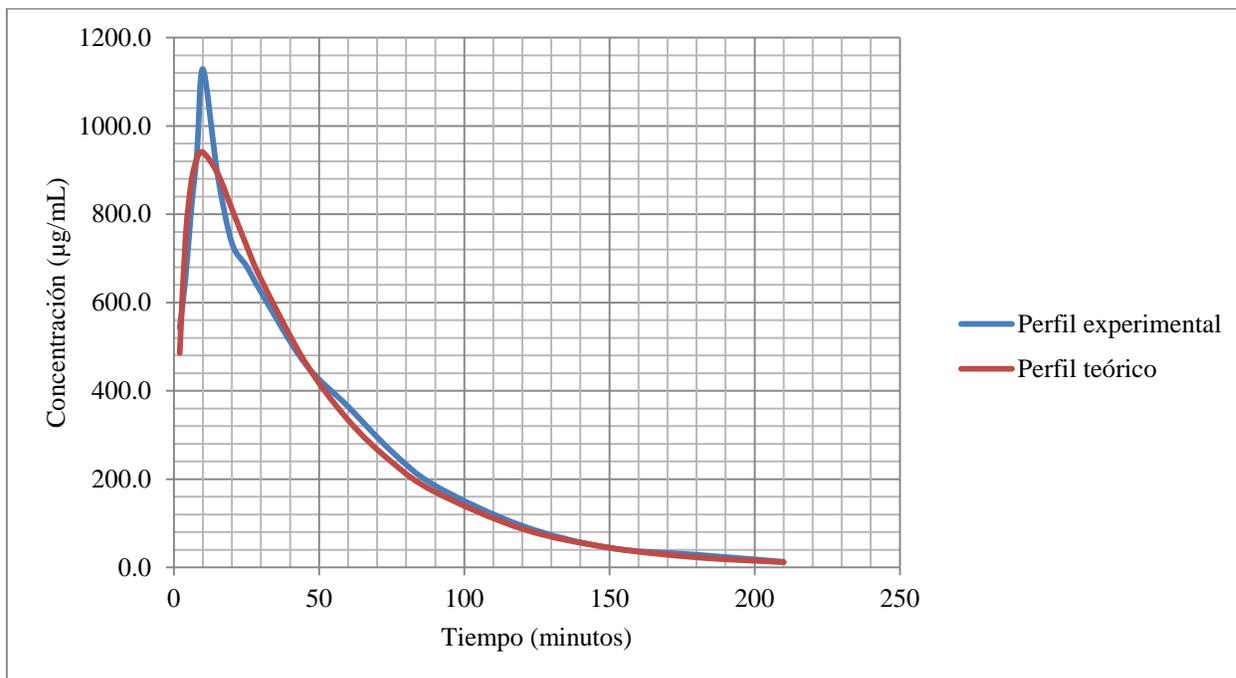


Gráfico 30 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala decimal.

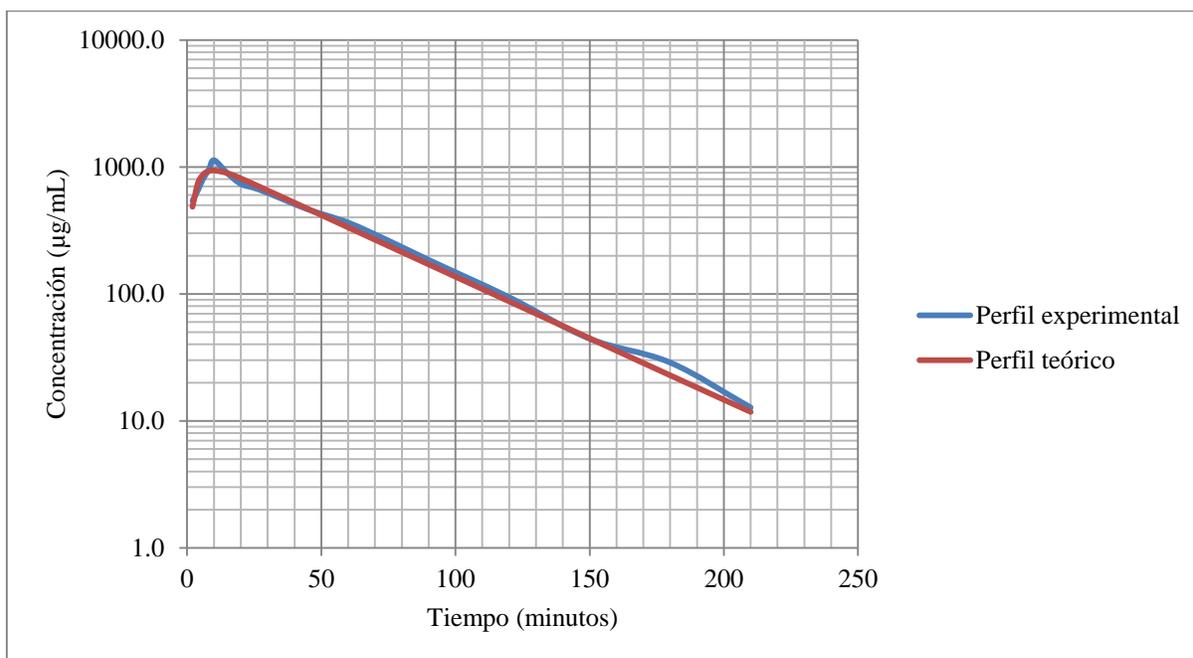


Gráfico 31 Comparación entre perfiles cinéticos experimental y teórico de paracetamol (600 mg) empleando bolsa de difusión. Escala semilogarítmica.





7. CONCLUSIONES.

Se determina que la velocidad de agitación es un factor fundamental para la distribución del fármaco, siendo ideal una velocidad de agitación alta comparando el promedio de 6 perfiles de disolución sometidos a baja agitación contra el promedio de 6 perfiles de disolución sometidos a las agitación más alta posible empleando los equipos magnéticos IKA LAB.

Se determina que la temperatura no es un factor que afecta los perfiles de disolución ya que trabajando a 25 y 37°C no se muestra diferencia significativa de acuerdo la prueba *t* de Student.

Se concluye que no existe diferencia significativa en los perfiles de cafeína y paracetamol (100 mg) después de realizar un análisis de varianza con un 95% de confianza.

El método analítico propuesto es lineal, preciso y exacto.

Se determinaron los parámetros cinéticos que caracterizaron cada perfil de disolución y empleando como análisis estadístico el *CV* de acuerdo a la NOM-177, correspondiendo el valor más alto a 6.2% para el AUC, por lo tanto y no habiendo un valor establecido como límite para dichos parámetros se considera un valor aceptable. En un estudio publicado en la revista Current Therapeutic Research del año 2003, se realiza un estudio en 24 voluntarios sanos a los cuales se les administra 500 mg de paracetamol y se reportan *CV* para los parámetros farmacocinéticos desde 18.99 hasta 77.05% atribuibles tanto al metabolismo como a la idiosincrasia de cada individuo. En nuestro experimento se llegó a la conclusión que las diferencias entre perfiles son debidos a constantes intrínsecas de los fármacos de prueba, principalmente solubilidad y coeficiente de partición.

Finalmente concluye este trabajo y como consideración de uso para el simulador monocompartimental emplear 12 perfiles de disolución para realizar las comparaciones entre perfiles obtenidos de diferentes fármacos.





8. ANEXOS

MONOGRAFÍA DE LOS FÁRMACOS.

1. PARACETAMOL.

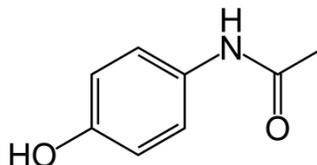


Figura 12 Estructura química del paracetamol.

INDICACIONES TERAPÉUTICAS.

Es un analgésico y antipirético eficaz para el control del dolor leve o moderado causado por afecciones articulares, otalgias, cefaleas, dolor odontogénico, neuralgias, procedimientos quirúrgicos menores, etc. También es eficaz para el tratamiento de la fiebre, como la originada por infecciones virales, la fiebre posvacunación, etc.

FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA.

Se absorbe de forma rápida y casi completa en el intestino delgado con una biodisponibilidad dosis-dependiente entre el 75 y el 90 %. La velocidad de absorción depende fundamentalmente de la velocidad de vaciamiento gástrico: se retrasa con los alimentos (especialmente aquéllos ricos en carbohidratos) y fármacos que demoren el vaciamiento (opioides y anticolinérgicos), y se facilita con aquellos que lo aceleren (metoclopramida). La *C_{máx}* se alcanza en 30-90 min. Se absorbe bien por vía rectal, aunque más lentamente que en el tubo digestivo alto.

Se distribuye de forma casi uniforme por los tejidos y líquidos orgánicos, con un *V_d* de 0,9 L/kg. En la leche puede alcanzar concentraciones de 10-15 µg/mL, 2 horas después de la ingestión materna de una simple dosis de 650 mg. A concentraciones terapéuticas (5-20 µg/mL) no se fija a proteínas plasmáticas, aunque a concentraciones tóxicas (p. ej., 300 µg/ml), la fijación varía entre el 20 y el 50 %.





Es metabolizado hasta el 95 % en el hígado. Los principales metabolitos son conjugados con ácido glucurónico (60 %) o sulfato (35 %). Una pequeña fracción (4-5 %) se convierte en la fracción microsómica, utilizando el sistema de oxidasas mixtas y citocromo P-450, en un metabolito extremadamente reactivo, la N-acetilbenzoquinoneimida, que en condiciones normales es inactivado por reacción con los grupos sulfhidrilo del glutatión hepático reducido y, posteriormente, eliminado por la orina como conjugado con cisteína y ácido mercaptúrico.

Con dosis de paracetamol muy elevadas, las vías metabólicas primarias se saturan y la velocidad de formación de este metabolito excede a la de síntesis de glutatión hepático, reaccionando covalentemente con aminoácidos de enzimas y proteínas hepáticas a las que inactiva, y provoca una necrosis hepática aguda. La semivida de eliminación es de unas 2-2,5 horas, que aumenta en recién nacidos y con insuficiencia hepática intensa.

El propacetamol se hidroliza con rapidez en el organismo, convirtiéndose en paracetamol en unos 7 min. Un gramo de propacetamol corresponde a 500 mg de paracetamol, iniciándose la analgesia en unos 15 min.

Su mecanismo de acción aún es objeto de debate. Las ciclooxigenasas de diversas localizaciones al parecer son diferentemente sensibles a la acción del paracetamol. Así, a diferencia de los AINE, puede estimular la síntesis de PG (p. ej., en la mucosa gástrica), no modificarla (pulmón y plaquetas) o inhibirla moderadamente (SNC). Quizás esto explique su casi nula actividad antiinflamatoria, su acción antitérmica y analgésica, su incapacidad para alterar la agregación plaquetaria y su inocuidad para la mucosa gástrica. Además de inhibir la síntesis de PG en el SNC, y en conexión con dicha acción o no, el paracetamol produce analgesia por otros mecanismos centrales, como: inhibición de la hiperalgesia espinal provocada por la activación de los receptores NMDA, interacción con sistemas neuronales que liberan óxido nítrico o facilitan la transmisión inhibitoria serotoninérgica bulbospinal que actuaría sobre receptores 5-HT₃.





2. CAFEÍNA

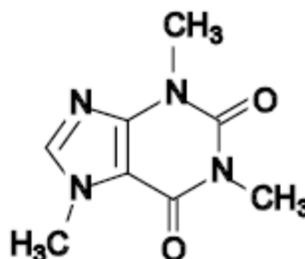


Figura 13 Estructura química de la cafeína.

INDICACIONES TERAPÉUTICAS.

La cafeína es un psicoestimulante poco adictivo; su consumo está muy extendido por todo el mundo. Es el principal ingrediente psicoactivo del café, del té y de las bebidas de cola; también se encuentra en el cacao y en el chocolate. No tiene indicaciones terapéuticas relevantes.

FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA.

La cafeína se absorbe bien por vía oral; la concentración máxima se alcanza a los 30-45 min de la ingesta. Su semivida es de 3 horas y es metabolizada en el 90 %.

Químicamente, la cafeína es 1, 3, 7-trimetilxantina. Su mecanismo de acción es el de las xantinas, presentando sus mismas acciones diuréticas, inotrópicas y cronotrópicas, broncodilatadoras y de aumento de la secreción ácida gástrica. Sus acciones reforzadoras y psicoestimulantes al parecer son debidas a la liberación central, sobre todo a nivel mesolímbico, de catecolaminas.

Aunque es un tema poco estudiado, es posible que el cacao y el chocolate tengan ciertas acciones reforzadoras. Esto, que habitualmente se ha atribuido a sus cualidades sensoriales (sabor, textura, etc.) o a la influencia de recompensas orales infantiles, también podría estar justificado por su contenido en cafeína, en precursores de catecolaminérgicos y serotoninérgicos y, según se ha descrito recientemente, por su contenido en anandamida, el ligando endógeno del receptor cannabinoide.





En general, la cafeína disminuye el cansancio y la fatiga, pudiendo aumentar la capacidad de realización de determinadas tareas. Dosis altas pueden producir inquietud, nerviosismo, excitación, insomnio, rubefacción facial, taquicardia, diuresis y problemas digestivos. En la intoxicación se observan contracciones musculares, logorrea y pensamiento acelerado, arritmias cardíacas y agitación psicomotora. Existen notables diferencias en la sensibilidad a la cafeína: mientras que algunas personas manifiestan gran tolerancia otras, en cambio, son muy sensibles a sus efectos. Se ha descrito la aparición de un síndrome de abstinencia, más frecuente en grandes consumidores de café, caracterizado por sensación de fatiga y letargia con bostezos, cefaleas, irritabilidad y náuseas. La mayor parte de los consumidores de cafeína pueden reducir o interrumpir su consumo sin especiales dificultades (Flórez, J. 1997. Farmacología Humana).

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. **ALCÁNTARA PINEDA**, Alejandro (2002). Guía de validación de métodos analíticos. 2ª edición. Colegio Nacional de QFB AC. México, D.F.
2. **AMIDON**, Gordon L., et. Al. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification. *Pharmaceutical Research*, Vol. 12, No. 3
3. **AÏCHE**, J. M. (1982). Biofarmacia. El Manual Moderno. México, D.F.
4. **BACK**, David J. Intestinal absorption of oestrone, oestrone glucuronide and oestrone sulphate in the rat in situ II. Studies with the Doluisio technique. *Journal Steroid Biochemical*. 5 (1986) 1085-1089.
5. **BAI**, Ge. Et. Al. Computational fluid dynamics (CFD) insights into agitation stress methods in biopharmaceutical development. *International Journal of Pharmaceutics*. 423 (2012) 264-280.
6. **BANKER**, G. S. y C. P. Rhodes (1990). Modern Pharmaceutics. New York: Marcel Dekker Inc. USA.
7. **CHANG**, Raymond. (1992). Química General. 2ª edición. Mc Grawhill. México, D.F.
8. **CLARK**, B., & **SMITH**, D. A. (1989). Introducción a la Farmacocinética. Acribia. Barcelona, España.





9. **DANSIRIKUL**, Chantaratsamon. Estimation of pharmacokinetic parameters from non-compartmental variables using Microsoft Excel. Computers in Biology and Medicine. 35 (2005) 389-403.
10. **DOLUISIO**, J. T. Et. Al. Physiological factors affecting intestinal drug absorption. European Journal of Pharmacology. 11 (1970) 109-114.
11. **DOMENECH** B. J., **MARTÍNEZ** L. J. & **PLÁ** D. J. M. (2001). Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen I. Síntesis. España.
12. **FLÓREZ**, Jesús. (1997). Farmacología Humana. Masson. España.
13. **GENNARO**, A. Remington (2000). The Science and Practice of Pharmacy. 20.^a edición. Mack Publishing Company. Washington, USA.
14. **GIBALDI**, M., & **PERRIER**, D. (1982). Pharmacokinetics. Marcel Dekker. USA.
15. **GUERRERO GONZÁLEZ**, Alejandra Joselyn (2010). Influencia de la formulación sobre la liberación de fármacos en forma farmacéutica sólida, evaluada mediante un modelo compartimental seriado. Tesis de licenciatura QFB. UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
16. **HAHONG** C. Moffat, et. Al. (2004). Clarke's analysis of drug and poison. 3^a edición. Pharmaceutical print. USA.
17. **HAO** Li, Et. Al. Simultaneous quantitation of paracetamol, caffeine, pseudoephedrine, chlorpheniramine and cloperastine in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 51 (2010) 716-722.
18. **HELMAN**, José (1990). Farmacotecnia teórica y práctica. Tomo II. 4^a edición. Continental. México, D.F.
19. **HIEMENZ**, Paul C., Raj Rajagopalan. (1997). Principles of Colloid and Surface Chemistry. 3^a edición. Taylor&Francis. Florida. USA.
20. **HOLZ**, Martin. Compartment modeling. Advanced Drug Delivery Reviews. 48 (2001) 249-264.
21. **HORWITZ**, William, Latimer W. George (2005). Official methods of analysis of AOAC International. 18^a edición. AOAC International. USA.
22. **KIM CHI**, T. Hoang. Physiologically based pharmacokinetic models: mathematical fundamentals and simulation implementations. Toxicology Letters. 79 (1995) 99-106.





23. **KULO, A. Et. Al.** Pharmacokinetics of a loading dose of intravenous paracetamol post caesarean delivery. International Journal of Obstetric Anesthesia. 21 (2012) 125-128.
24. **LIEBERMAN, A. Hebert. et. al.** (1986). Pharmaceutical Dosage Forms Tablets. Marcel Dekker Inc. New York, USA.
25. **MILLS, Terry, el. Al.** (2006). Instrumental data for drug analysis. 3a edición. Taylor & Kravis edition. USA.
26. **NAZARIO LÓPEZ, Nora Nelly** (2010). Evaluación de la liberación de fármacos mediante un modelo compartimental seriado. Tesis de licenciatura QFB. UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
27. **PORTILLO, Patricia M.** Characterizing powder mixing processes utilizing compartment models. International Journal Pharmaceutics. 320 (2006) 14-22.
28. **PORTÓLES, Antonio. Et. Al.** A new high-absorption-rate paracetamol 500 mg formulation: A comparative bioavailability study in healthy volunteers. 64 (2003) No. 7
29. **RAYMOND, C. Rowe. ET. Al.** (2006). Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5ª edición. Pharmaceutical Press. New York, USA.
30. **ROLDÁN VELÁZQUEZ, Diana Ivette** (2011). Desarrollo y validación de procesos farmacéuticos: Desarrollo y validación de métodos analíticos para la evaluación de perfiles de disolución y de contenido químico de naproxeno sódico en suspensión por espectrofotometría UV. Tesina de licenciatura QFB. UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
31. **SIMON, Laurent.** Optimal intravenous bolus-infusion drug-dosage regimen based on two-compartment pharmacokinetics model. Computers and Chemical Engineering. 33 (2009) 1212-1219.
32. The United States Pharmacopeia 29. National Formulary 24. Revisions Official from January 1, 2006.
33. **TORAL, María Teresa.** (1973). Fisicoquímica de Superficies y Sistemas Dispersos. URMO. Barcelona, España.
34. **UPTON, Richard N.** Calculating the hybrid (macro) rate constant of a three-compartment mamillary pharmacokinetic model from known micro-rate constants. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 49 (2004) 65-68.





35. **WADA, D. Rusell.** A PC-based graphical simulator for physiological pharmacokinetics models. Computer Methods and Programs in Biomedicine. 46 (1995) 245-255.
36. **WEISS, Michael.** Pharmacokinetics in organs and the intact body: model validation and reduction. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 7 (1998) 119-127.
37. **MURRAY, Robert. (2010).** **Bioquímica de Harper. 28a edición. McGraw-Hill. México.**
38. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5075307&fecha=22/12/2008
39. <http://www.adeptsience.co.uk/download/dliddsp/10369/0/All/Kinetica+5+Trial+Version+.html>
40. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/164ssa18.html>
41. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/ris.html>
42. <http://www.thermoscientific.com/ecomm/servlet/productsdetail?storeId=11152&categoryId=81849&productId=11962424&ca=kinetica>

