

00563

1
2ej

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FARMACOCINETICA DE TEOFILINA

TESIS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN FARMACIA (BIOFARMACIA)

PRESENTA

Q.F.I. BENJAMIN E. SANDOVAL GUZMAN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

RESUMEN

Se efectuó un estudio en el cual 7 voluntarios sanos ingirieron por vía oral una dosis equivalente a 220 mg de teofilina en forma de sal (aminofilina) de un producto comercial llamado elixofilina, a dos de estos voluntarios además se les administró 200 mg de teofilina pura, dispersada en agua y a uno de de ellos se le administró por vía venosa una dosis de 125 mg.

Los valores de las concentraciones plasmáticas con respecto al tiempo fueron ajustados a modelos de uno y dos compartimentos con el paquete computacional PCNONLIN, encontrándose que en la primera parte del estudio dos voluntarios presentaron 4 máximos, otros dos presentaron 3, otro presentó 2, uno un máximo que se prolonga durante 1.5 hrs y el último un aparente flip-flop, en la segunda parte uno de ellos presenta 3 máximos, el otro presenta un solo máximo, y en la tercera parte, los datos se ajustaron a un modelo de dos compartamentos.

En nuestro caso la explicación tentativamente más adecuada consiste en considerar una combinación de efectos debidos en primer lugar a la formulación administrada, dado que no existe la obligación de que los laboratorios farmacéuticos realicen estudios de biodisponibilidad ni de bioequivalencia a las formas farmacéuticas antes de ser comercializadas y en menor medida a características propias de la población estudiada.

Se hace necesario efectuar un estudio que tome en cuenta los resultados por nosotros encontrados que permita asignar de una forma más completa la presencia de múltiples máximos, bien sea a la formulación, o a las características de la población o a una combinación de ambas.

INDICE

	pag
CAPITULO I	
<i>INTRODUCCION Y OBJETIVOS</i>	1
CAPITULO II	
<i>GENERALIDADES</i>	4
2.1. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS	4
2.2. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS	5
2.3. REACCIONES ALERGICAS	6
2.4. TOXICIDAD	7
2.5. RELACION NIVEL PLASMATICO	8
EFECTO FARMACOLOGICO	
2.6. EVALUACION DE LA EFICACIA DE LA	10
TEOFILINA EN OTRO PADECIMIENTOS	
2.7. FARMACOCINETICA	11
2.7.1. Modelo compartamental	11
2.7.2. Absorción	13
2.7.3. Disposición	14
2.7.3.1. Union a proteínas	15
2.7.3.2 Metabolismo	18
2.8. INTERACCIONES	23
2.8.1. Fenobarbital	23
2.8.2 .Fenitoina	24
2.8.3. Cimetidina	24
2.8.4. Fármacos simpaticomiméticos	26

2.9. ESTABILIDAD DE TEOFILINA EN MUESTRAS BIOLOGICAS.	26
2.10. METODOS DE ANALISIS EN FLUIDOS BIOLOGICOS	27

CAPITULO III

<i>PARTE EXPERIMENTAL</i>	31
3.1. DESARROLLO DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA	31
3.1.1. Preparación de soluciones	31
3.1.2. Determinación de teofilina en muestras biológicas	32
3.2. VALIDACION DEL METODO ANALITICO	33
3.2.1. Linealidad	33
3.2.2. Selectividad	33
3.2.3. Exactitud	33
3.2.4. Concentración mínima cuantificable	34
3.2.5. Repetibilidad entre dias	34
3.2.6. Repetibilidad	34
3.3. ESTUDIO FARMACOCINETICO	34
3.3.1. Estudio I	36
3.3.2. Estudio II	36
3.3.3. Estudio III	37
3.3.4. Análisis de los datos	38

CAPITULO IV

<i>RESULTADOS</i>	39
4.1. VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA	39
4.1.1. Linealidad	39
4.1.2. Exactitud	43
4.1.3. Selectividad	45
4.1.4. Concentración mínima cuantificable	45
4.1.5. Repetibilidad entre días	45
4.1.6. Repetibilidad	47
4.2. ESTUDIO FARMACOCINETICO	48
4.2.1. Estudio I	48
4.2.2. Estudio II	57
4.2.3. Estudio III	60
 CAPITULO V	
 <i>DISCUSION DE RESULTADOS</i>	 62
5.1. VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA	62
5.1.1. Linealidad	62
5.1.2. Selectividad	63
5.1.3. Exactitud	64
5.1.4. Concentración mínima cuantificable	64
5.1.5. Repetibilidad entre días	65

5.1.6. Repetibilidad	65
5.2. ANALISIS FARMACOCINETICO	65
5.2.1. Estudio I	65
5.2.2. Estudio II	110
5.2.3. Estudio III	131
CAPITULO VI	
CONCLUSIONES	138
APENDICE	140
BIBLIOGRAFIA	150

I. INTRODUCCION.

La teofilina ha sido usada desde 1930 en el tratamiento de obstrucciones reversibles del sistema respiratorio, principalmente en apnea del recién nacido, episodios agudos de falla cardíaca congestiva, edema pulmonar agudo, enfisema pulmonar con componente de obstrucción respiratoria reversible y como broncodilatador en el tratamiento del asma bronquial. Intravenosamente se usa en el tratamiento de episodios severos, y la administración oral ha mostrado que disminuye la severidad de los ataques.

Aun cuando es ampliamente usado en la terapia de control del asma en los países industrializados, su uso en nuestro país no es muy amplio, su poco uso por parte de los médicos para el control del asma está basado en la observación médica de lo que ellos llaman ineficacia, esto es, el régimen de dosificación indicado por los laboratorios farmacéuticos no da los resultados esperados.

Los estudios de farmacocinética en amplios sectores de la población nos permite determinar los parámetros farmacocinéticos, tales como la constante de velocidad de absorción, de eliminación y el volumen de distribución, y con estos es posible determinar tanto la vida media, como la depuración, los cuales permiten diseñar un régimen de dosificación para la población. Aun así existe un número considerable de fármacos, tales como fenitoína, salicilatos, warfarina, teofilina, etc, que debido a la gran variabilidad intra e interindividual, se hace necesario reevaluar los regímenes de dosificación, pero el número de fármacos sujetos a dichos estudios es mucho menor que en el pasado. Hay que remarcar que la eficiencia del régimen de dosificación deberá de ser evaluado a través de la

respuesta terapéutica lograda. La farmacocinética simplemente facilita la rapidez para encontrar el régimen de dosificación y sirve además de un medio adecuado para evaluarlo.

Desafortunadamente los regímenes de dosificación actualmente utilizados en la farmacoterapia en el país no han sido diseñados a través de estudios en poblaciones de mexicanos y han sido importados de países industrializados donde se han desarrollado los estudios correspondientes, donde los hábitos alimenticios, las características raciales, las condiciones de salud, y el nivel socioeconómico son totalmente diferentes al nuestro.

Es de esperar que dichas diferencias repercutan en el comportamiento farmacocinético que presentamos los mexicanos a determinados fármacos.

De tal forma que hay que resolver en la medida de lo posible las siguientes preguntas.

Con qué velocidad absorbemos los mexicanos los fármacos.

Cual es la velocidad de eliminación de estos.

Cómo se distribuyen estos en el organismo.

En que proporción metabolizamos a los fármacos.

Estas respuestas solo se podrán obtener en la medida en que se efectuen estudios de farmacocinética en la población mexicana, tanto en individuos sanos, como en los que padezcan la enfermedad en la cual es utilizado el fármaco como parte de la terapia.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

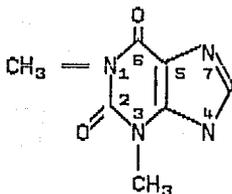
Validar un método analítico sensible y selectivo para la cuantificación de teofilina en plasma.

Caracterizar la farmacocinética de teofilina en voluntarios sanos después de la administración de una dosis de aminofilina (dietilnamino teofilina) equivalente a 220 mg de teofilina en forma de elixir (elixofilina), 200 mg de teofilina pura dispersada en agua y 125 mg de aminofilina en forma de un bolo intravenoso con el objeto de conocer los parámetros farmacocinéticos.

II. GENERALIDADES.

2.1.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

La teofilina, 1,3-dimetil xantina, presenta la siguiente fórmula estructural



Teofilina
(1-3 dimetilxantina)

La teofilina se presenta como un polvo blanco, cristalino, sin olor y con un sabor amargo.

No presenta actividad óptica

Punto de fusión: 271 -274 grados centígrados

Solubilidad:

- | | |
|-----------------|--------------|
| a).- Agua | 8.3 mg/ml |
| b).- Etanol | 12.5 mg/ml |
| c).- Cloroformo | 11.6 mg/ml |
| d).- Eter | Poco soluble |

Constante de disociación: se comporta como un ácido débil, estando el protón del nitrógeno en posición 7 disociable. Su pKa es de 8.6, también es considerada una base débil, teniendo valores de pKb de 13.5 y 11.5.

2.2.- PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

El asma es una enfermedad de las vías respiratorias que se caracteriza por un incremento en la capacidad de respuesta del árbol traqueobronquial ante un gran número de estímulos. Se manifiesta fisiológicamente por un estrechamiento generalizado de las vías respiratorias, que puede curarse en forma espontánea o mediante un tratamiento específico. Su manifestación clínica se caracteriza por episodios paroxísticos de disnea, tos y broncoespasmo con silbilancias. Esta enfermedad se presenta por episodios, alternándose períodos de exacerbación agudos con períodos asintomáticos.

Típicamente la mayoría de los ataques son de corta duración y van desde algunos minutos hasta horas, después de ellos el paciente parece recuperarse completamente desde el punto de vista clínico, sin embargo puede haber una fase en la que el paciente experimente cierto grado de obstrucción de las vías respiratorias todos los días, esta fase puede ser benigna con o sin episodios alternantes, o mucho más grave con obstrucción importante que persiste por días o semanas; este estado es conocido como status asthmaticus.

El asma es visto como la situación resultante de una pérdida del balance del sistema nervioso autónomo, lo cual da por resultado un incremento en el comportamiento ventilatorio. Otros procesos,

tales como infecciones o alergias pueden provocar un desbalance y en consecuencia un ataque asmático.(1).

Hasta hace poco se creía que la acción de la teofilina en el asma era debida a una relajación del músculo liso bronquial atribuida a la acción inhibitoria de la teofilina en la enzima fosfodiesterasa que modula la concentración intracelular del AMPc. La inhibición de la fosfodiesterasa permite la acumulación del AMPc el cual está relacionado con el relajamiento de los músculos lisos bronquiales, y esto da por resultado la desaparición de la obstrucción bronquial (2). Pero dado que se ha demostrado que las cantidades necesarias de teofilina capaces de bloquear a la fosfodiesterasa in vitro pueden ser tóxicas in vivo, dicha hipótesis ha quedado en eso.

Otra hipótesis es que la teofilina reduce la concentración intracelular del calcio el cual inicia la contracción al unirse con la tropina C, sin embargo la concentración de teofilina necesaria para producir una respuesta en el proceso de liberación de calcio está más allá de los niveles plasmáticos alcanzados, por lo cual dicha hipótesis está en entredicho.

Por último parece ser que el relajamiento del músculo liso inducido por teofilina tiene que ver con su antagonismo a los receptores superficiales de adenosina, (un producto del rompimiento del AMP), y que el efecto relajante está relacionado con los receptores de adenosina, por lo que hasta el momento no existe todavía un conocimiento exacto del mecanismo de acción de la teofilina.

2.3 REACCIONES ALERGICAS

En 1982 Kratz (3) hace hincapié en que las reacciones alérgicas que se han presentado en el uso de la teofilina en forma de sal conocida como aminofilina (dietilnamino teofilina) son inducidas por la etilendiamina, una sustancia que se sabe que es un agente sensibilizante y puede provocar reacciones que amenacen la vida, tales como el angioedema (acumulación excesiva de líquido sero albuminoso en los vasos). Más aún, se ha considerado que este componente es responsable del agravamiento experimentado algunas veces en el asma bronquial.

A lo largo de 7 casos mencionados en la literatura de alergia a la aminofilina causada por la etilendiamina se presentó eccema eritematosa (afección inflamatoria con enrojecimiento difuso o en manchas de la piel, producido por la congestión de los capilares), así como el primer caso reportado de sintomatología intestinal de alergia (dolor abdominal, vómito, meteorismo, etc.). Se efectuaron pruebas de alergia en estos pacientes, tanto para teofilina como para la etilendiamina, y se encontró que solo la etilendiamina presentó reacciones positivas.

2.4 TOXICIDAD

Zwillich et al (4) reportaron que 8 pacientes presentaron ataques con convulsiones durante la administración intravenosa de teofilina, de los cuales cuatro murieron, los niveles plasmáticos encontrados fueron de 53 ± 4.8 mcg/ml. Otros pacientes presentaron efectos adversos menos severos con niveles plasmáticos de 35 ± 1.8 mcg/ml., mientras que pacientes que no presentaron efectos adversos

tenían concentraciones de 19 ± 2 mcg/ml.

2.5 RELACION NIVEL PLASMATICO EFECTO FARMACOLOGICO

Mitenko y Olgivie (5) efectuaron un estudio con el objeto de observar si existía una relación entre la concentración plasmática de la teofilina y sus efectos observables en las funciones respiratorias.

El estudio se efectuó en 9 pacientes que habían ingresado al hospital después de haber presentado una crisis asmática, en el momento del estudio no se presentó la crisis y la condición asmática había demostrado ser reversible con el uso de broncodilatadores.

Los nueve pacientes fueron sometidos a un tratamiento intravenoso por medio de una dosis de carga y posterior infusión durante 3 horas utilizando previamente un placebo en las mismas condiciones antes mencionadas. En 6 de ellos se administró teofilina en diferentes ocasiones para alcanzar niveles plasmáticos de 10 y 20 mcg/ml, en 2 de los restantes los niveles fueron de 5 mcg/ml y en el tercero fue de 10 mcg/ml durante un período de 9 horas.

A todos ellos se les determinaron pruebas de función respiratoria tales como Capacidad Vital (C.V) y Volumen Expiratorio Forzado en el primer segundo (VEF1) durante períodos de una hora.

Los resultados de los valores de CV y VEF1 durante la administración del placebo y de las diferentes dosis de teofilina fueron comparados con los valores normales, los datos fueron normalizados y expresados como porcentaje de incremento.

A través de una gráfica del porcentaje de incremento de VEF1 y de CV contra el logaritmo de la concentración plasmática de cada paciente se observó una relación lineal en ambos casos, el

coeficiente de correlación para el caso de la Capacidad Vital fue de 0.82 y de 0.83 para el Volumen Expirado Forzado en un segundo.

La concentración alcanzada en el estado estacionario dio por resultado un mejoramiento constante y progresivo con respecto a los niveles plasmáticos de teofilina en la función pulmonar. Aunque la curva de niveles plasmáticos y respuesta demuestra un continuo mejoramiento conforme incrementa la concentración de teofilina por arriba de 20 mcg/ml, no es adecuado alcanzar valores mayores debido a que los riesgos de toxicidad se incrementan.

Se observó que la administración intravenosa de teofilina en forma de dosis rápida (bolo) no permite una evaluación adecuada de la relación entre los niveles plasmáticos y las funciones respiratorias, dado que aun cuando produce al inicio niveles plasmáticos de teofilina, la disminución de estos es rápida dificultando así la evaluación de dicha relación.

Por lo cual se concluye que los valores encontrados de concentración plasmática de teofilina que están relacionados con la eficacia del tratamiento se encuentran en el rango de 10 a 20 mcg/ml.

Asimismo se propone un régimen de dosificación que permita alcanzar estos niveles rápidamente y con el menor riesgo para el paciente. Este consiste en administrar una dosis de carga de 5.6 mg/kg de peso durante un período de 15 minutos para evitar una concentración potencialmente tóxica, seguido por una dosis de mantenimiento de 0.9 mg/kg durante una hora, ambos por vía intravenosa

2.6 EVALUACION DE LA EFICACIA DE LA TEOFILINA EN OTROS PADECIMIENTOS

A una gran cantidad de pacientes que presentan otras formas de enfermedades con obstrucción de las vías respiratorias tales como enfisema o bronquitis crónica, las cuales son descritas como irreversibles, se les administra teofilina aun cuando ésta ha demostrado sólo ser eficaz en el tratamiento de obstrucción respiratoria reversible .

Con el objeto de relacionar las concentraciones plasmáticas de teofilina en pacientes que padecen obstrucción aerea irreversible, Eaton et al (6) calcularon las respuestas subjetivas (mejoría evaluada por el propio paciente) y objetivas a través del volumen expirado forzado durante 1 segundo (VEF1) y la Capacidad vital expiratoria Forzada (CVEF) .

Se administraron diferentes dosis de aminofilina con el objeto de alcanzar diferentes concentraciones plasmáticas de teofilina en los pacientes, obteniéndose una concentración plasmática de 9 a 12.5 mcg/ml y otra de 17 a 22 mcg/ml, asimismo recibieron un placebo utilizando una administración oral .

Se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos relacionados con la dosis y las funciones pulmonares.

La respuesta en VEF1 con respecto al placebo fue de 21.3% y 6% para la dosis alta y la baja respectivamente .

Aunque a través de las pruebas respiratorias se observa una mejoría, los pacientes no pudieron percibir ningún beneficio como se observó al analizar la prueba subjetiva .

Debido a la administración frecuente de fármacos broncodilatadores a pacientes con obstrucción respiratoria irreversible y considerando la potencial toxicidad de las dosis altas de teofilina con las cuales se obtuvieron los mejores resultados, es necesario efectuar más investigaciones sobre este tóxico con el objeto de asegurar un beneficio en el paciente que pueda ser observado por él mismo así como por las pruebas de función respiratoria.

2.7 FARMACOCINETICA.

2.7.1 MODELO COMPARTAMENTAL.

El comportamiento cinético de la teofilina varía dependiendo de la vía de administración. En 1973 Mitenko y Ogilvie (7) demostraron que después de la administración intravenosa de aminofilina una sal de la teofilina, esta se describe como un modelo de dos compartamentos, los valores de los parámetros encontrados por ellos son los siguientes:

$$\begin{array}{ll} \alpha & = 2.23 \pm 3.465 \text{ hrs}^{-1} . & \beta & = .149 \pm .572 \text{ hrs}^{-1} \\ k_{12} & = 2.55 \pm 2.54 \text{ hrs}^{-1} & k_{21} & = 3.17 \pm 1.95 \text{ hrs}^{-1} \\ k_{10} & = .31 \pm .20 \text{ hrs}^{-1} & V_d & = .30 \pm .14 \text{ lt/kg.} \end{array}$$

Loughman et al (8), en 1976 efectuaron un estudio en niños los cuales habían recibido aminofilina por vía intravenosa en forma de bolo y observaron también un modelo de dos compartamentos al evaluar los niveles plásmaticos con respecto al tiempo. Los valores de los parámetros reportados por ellos fueron los

siguientes:

$$\begin{array}{ll} \alpha = 5.33 \pm 7.7 \text{ hrs}^{-1} & \beta = .205 \pm .624 \text{ hrs}^{-1} \\ k_{12} = 3.78 \pm 3.02 \text{ hrs}^{-1} & k_{21} = 3.76 \pm 2.07 \text{ hrs}^{-1} \\ k_{10} = .49 \pm .30 \text{ hrs}^{-1} & v_d = .25 \pm .13 \text{ lt/kg} \end{array}$$

Como se observa, en ambos casos, los valores de la desviación estandar fueron muy amplios y las diferencias más importantes entre ambas poblaciones se encontraron en los valores de α y de k_{10} .

El-Yazigi et al (9) en 1981 efectuaron un estudio para evaluar la biodisponibilidad de teofilina en conejos, administrando esta por vía intravenosa en forma de bolo y por vía oral. Utilizaron el paquete computacional de ajuste conocido como KINA, al ajustar los datos de los niveles plasmáticos de la administración intravenosa observaron que en ocho de los casos se comportaban como un modelo de dos compartamentos y los otros ocho como un modelo de un compartamento.

Los valores de los parámetros farmacocinéticos para el caso del modelo de dos compartamentos fueron muy parecidos a los reportados en humanos.

Para el caso de los datos ajustados al modelo de un compartamento, se observó que la diferencia más importante se presenta en el tiempo de vida media promedio, que fue de 2.8 hrs, y en el de dos compartamentos es de 4.4 hrs.

Esta diferencia en la velocidad de eliminación es la responsable de la diferencia en el comportamiento compartamental.

Para el caso de la administración oral se observo un comportamiento que corresponde al modelo de un compartamento.

Koysooko et al (10), efectuaron un estudio sobre la absorción de teofilina en humanos, los datos por ellos presentados se ajustaron a un modelo de un compartamento y los parámetros fueron los siguientes:

$$\begin{aligned}V_d &= 14.49 \text{ lt} \\K_a &= 4.46 \text{ hrs}^{-1} \\K_e &= 0.105 \text{ hrs}^{-1}\end{aligned}$$

2.7.2 ABSORCION

Uno de los primeros estudio sobre el seguimiento de los niveles plásmaticos de teofilina después de la administración oral, fue el efectuado por Schluger et al (11) en 1957, ellos determinaron a la teofilina en sangre y evaluaron la absorción de teofilina (elíxir), la sal de colina y la de etilendiamina (aminofilina), efectuaron el estudio en 15 pacientes hospitalizados.

Los resultados por ellos encontrados ponen de manifiesto las siguientes conclusiones:

1.-A los 15 minutos se alcanzan valores sanguíneos importantes de teofilina (8 mcg/ml), para el caso de aminofilina fueron de 1 mcg/ml y de la sal de colina de .5 mcg/ml.

2.- La variación en los niveles plásmaticos fue muy alta en los tres casos.

3.- El área bajo la curva fue mayor para el caso de la teofilina, después para la aminofilina y por ultimo para la sal de colina.

4.- En el caso de la sal de colina, a las 4 hrs todavía se observa el proceso de absorción, la aminofilina presenta valores

más altos que la teofilina a las 4 hrs.

Koysooko et al (10) efectuaron un estudio de la absorción de teofilina en humanos, utilizando una solución acuosa y un elixir. En los resultados por ellos encontrados se hacen las siguientes observaciones:

1.- Los niveles alcanzados después de la administración oral con las dos formulaciones, no son estadísticamente diferentes durante el tiempo de muestreo, pero las concentraciones máximas alcanzadas en cuatro de los siete voluntarios aparecen más rápidamente en el caso de la solución acuosa.

2.-En promedio se alcanzaron valores de 6 mcg/ml a los 10 minutos y se mantienen durante 8 hrs.

3.- El valor promedio de la constante de velocidad de absorción fue de 4.46 hrs⁻¹.

2.7.3 DISPOSICION

El término disposición se refiere a todos los otros eventos o sucesos a que se expone el fármaco después de haber sido absorbido, esto es, una vez que se encuentra en la circulación sistémica, la mayoría de los fármacos son simultáneamente distribuidos a través del cuerpo y eliminados. La distribución usualmente ocurre mucho más rápidamente que la eliminación. La velocidad de distribución a los tejidos de cada órgano es determinada por el flujo sanguíneo a cada órgano y la facilidad con la cual el fármaco atraviesa el lecho capilar y penetra a las células del tejido en particular .

Muchos fármacos se unen a las proteínas plasmáticas, esta situación puede tener un marcado efecto en la distribución de los fármacos, así como en los efectos farmacológicos que se

presentan debido a el, ya que dicha situación determina la concentración del fármaco en los sitios receptores, cualquiera que sean éstos y el lugar donde se encuentren, ya que el efecto provocado por el fármaco en el organismo está relacionado con la fracción libre presente de el en la interfase fluido biológico receptor, y las moléculas de fármaco al estar unidas a proteínas de alto peso molecular como es el caso de las proteínas plasmáticas ven afectado su paso a través de las paredes de los capilares. Los fármacos son eliminados del cuerpo por metabolismo y excreción. El hígado es el sitio más importante del metabolismo, pero muchos otros tejidos contienen enzimas que participan en el metabolismo y pueden contribuir a la biotransformación de ciertos fármacos. Los riñones juegan el papel más importante en la excreción de los fármacos y/o sus metabolitos. Algunos fármacos son excretados en el tracto gastrointestinal por medio de la bilis y pueden ser eliminados a través de las heces.

2.7.3.1 UNION A PROTEINAS

La union de la teofilina a las proteínas plasmáticas ha sido estudiado por varios grupos de investigadores. Sus resultados varían considerablemente, tanto en la extensión del grado de union como en la variación de la union entre los individuos. Simon et al (12) en 1979 sugieren que el porcentaje de teofilina no unida puede llegar a variar más de dos veces en individuos sanos.

Lesko et al (13) en 1981 reporta que en sujetos con obstrucción de las vías pulmonares la variación puede ser mayor de cuatro veces.

Tomando en cuenta esta situación, Buss et al (14)

efectuaron un estudio con el cual determinaron el grado de la unión de la teofilina a las proteínas plasmáticas en voluntarios sanos así como los factores determinantes del unión. Se recolectó sangre de 24 voluntarios sanos con un rango de edad de 16 a 67 años, el plasma se separó y se congeló a -20 C y se utilizó en los estudios de unión a proteínas, para lo cual se añadió una determinada cantidad de teofilina marcada con carbón 14 . Asimismo se utilizaron concentraciones diferentes de teofilina que fueron desde 0.1 a 200 mcg/ml para observar el efecto de la concentración en la unión a proteínas. Se utilizó la técnica conocida como diálisis en equilibrio. Se efectuaron pruebas de unión con diferentes concentraciones de los constituyentes principales del plasma que se sabe que participan en la unión con los fármacos, tales como: Ácidos Grasos No-Esterificados (NEFA), Albúmina de Suero Humano (HSA) y Glicoproteínas Ácidas (AAG). Otra de las sustancias utilizadas para observar su efecto en la unión a proteínas fue la heparina, de la cual se administraron por vía intravenosa 1000 unidades a 8 voluntarios.

También se efectuaron estudios para observar el efecto del pH del plasma en la unión a proteínas, de tal forma que una vez conocido el valor de pH de las muestras, se ajustaron para obtener valores de 7 a 8.

Los resultados y las conclusiones presentados por ellos fueron los siguientes:

El porcentaje de teofilina libre en el plasma de los 24 sujetos varió desde 55.2 a 63.9% ($60\% \pm 2.2\%$), la concentración de albúmina se encontró en el rango de 45 a 63 g/l (51.6 ± 5.8), el del AAG fue de 0.37 a 1.3 g/l (0.71 ± 0.23) y el de NEFA fue de 190 a 1157 $\mu\text{mol/l}$ (498 ± 472). La relación entre la unión a proteínas

de la teofilina y la concentración de albúmina no presentó una relación estadísticamente significativa.

El pH de las muestras plasmáticas inmediatamente antes de la diálisis frente al amortiguador de fosfatos (pH 7.4) fue de 7.8 ± 0.12 y después de la diálisis fue de 7.4 a 7.45. Al graficar los valores de porcentaje de teofilina libre vs pH se observó una relación negativa.

Después de la administración intravenosa de heparina los valores de NEFA en plasma aumentaron de 303 a 995 y el porcentaje de teofilina libre aumentó de 59.2% a 68.5%. Sin embargo no hubo relación estadísticamente significativa entre el cambio de NEFA y el porcentaje unido después de la heparina. Al graficar la relación unido/libre (B/F) de teofilina vs la concentración de albúmina se observó una relación lineal positiva, la concentración media de albúmina en los 24 sujetos fue de 51.6 g/l, el porcentaje libre de teofilina fue de 59.5%. La adición de AAG no altera la unión de teofilina. La adición de ácido oleico (NEFA) incrementa el porcentaje de teofilina libre de 65% a 73%, asimismo el ácido palmítico (NEFA) también produce un incremento aunque este es mucho más pequeño que el del ácido oleico.

En las muestras de plasma de dos pacientes en los que se efectuó el estudio del efecto de la concentración plasmática de teofilina de 0.18 y 200 mcg/ml sobre el grado de unión, este fue de $60.2\% \pm 2.3\%$ y de $59.6\% \pm 1.1\%$, respectivamente y no se observó ninguna relación entre la concentración de teofilina y el unión, aún cuando el porcentaje de fármaco libre en plasma es mucho más grande que el observado por otros investigadores. Los autores proponen que estas diferencias están relacionadas con la metodología, ya que todos los otros trabajos (12,13, 15-18) con excepción de uno

fueron efectuados utilizando la técnica conocida como ultrafiltración la cual tiende a dar valores más altos de unión posiblemente relacionado con la unión no específica de la membrana (19). Ellos al igual que Buss et al (14) también efectuaron sus determinaciones a 37°C, y se sabe que la temperatura afecta la unión de los fármacos (20).

2.7.3.2 METABOLISMO

Cornish y Cristman (21) fueron de los primeros en delinear los metabolitos de teofilina en el hombre y mostrar la presencia en orina de ácido 1,3 dimetil úrico y los productos demetilados 3-metilxantina y el ácido 1-metil úrico. La teofilina inalterada constituyó del 11 al 15% del producto total urinario en los sujetos estudiados. Brodie et al (22) habían previamente identificado al ácido 1,3 dimetilúrico como el metabolito presente en mayor cantidad, encontrando en un sujeto cerca de un 10% del total de teofilina administrada, asimismo ellos hicieron una observación importante que consistió en que la xantina oxidasa, una enzima que se creía que era la que catalizaba esta reacción, no parecía ser la responsable de dicha reacción, su observación fue posteriormente confirmada por Bergman y Dkstein (23) quienes precisaron que el grupo 3 metil de la teofilina causaba un impedimento estérico. Jenne et al (24) determinaron los metabolitos de la teofilina presentes en 15 pacientes de edad media que se encontraban con obstrucción pulmonar y se les estaba administrando de 800 a 1200 mg de aminofilina cada 24 hr en dosis

divididas, los metabolitos encontrados en orina y expresados como porcentajes del total de los metabolitos recuperados fueron los siguientes:

Teofilina inalterada	7.7 ± 6.1%
Acido 1,3 dimetilurico.	39.6 ± 4.5%
Acido 1-metilurico	16.5 ± 3.3%
3- Metilxantina	36.2 ± 7.3%

Lohman et al (25) desarrollaron un estudio muy completo con el cual pretendían elucidar:

A.- Las vías metabólicas responsables del metabolismo de teofilina, ya que existían algunas interrogantes al respecto. Su estudio se desarrolló tanto in vitro como in vivo utilizando ratas. En el primer caso se utilizaron muestras de tejido hepático, de corazón, pulmón, intestino, cerebro, riñón y bazo, se utilizó teofilina marcada con carbón 14 en la posición 8. Se utilizaron compuestos que se conoce que inhiben el metabolismo microsomal, tales como SKF 525-A, 3,metil-4-metil Aminobenceno (3MMAB). Asimismo compuestos que lo inducen como es el caso de Fenobarbital y 3 Metilcolantreno (3MC). Se utilizó al alopurinol que se conoce que es un inhibidor de la xantina oxidasa. Asimismo se utilizó una sustancia que se conoce que es metabolizada por el sistema microsomal del hígado, la zoxazolamida.

B.- Con el objeto de conocer a los sistemas enzimáticos responsables de la formación del ácido 1-metil úrico se utilizaron sus posibles precursores, la 1-metil xantina y el ácido 1-3 dimetil úrico. Las conclusiones que obtuvieron fueron las siguientes:

1.- Las características del metabolismo de teofilina in

vitro e in vivo permiten concluir que la degradación de teofilina ocurre primariamente, si no exclusivamente en el sistema microsomal del hígado.

2.- El fraccionamiento subcelular del hígado, demostró que solo la fracción microsomal metaboliza a la teofilina.

3.- La teofilina parece estimular el metabolismo de la zoxazolamina la cual es metabolizada por el sistema microsomal del hígado. Esta situación se demostró ya que la zoxazolamida induce parálisis y el tiempo de parálisis producido por ella disminuyó cuando las ratas se mantuvieron en tratamiento previo con teofilina. Esto da indicios de que la teofilina puede ser un inductor del metabolismo microsomal.

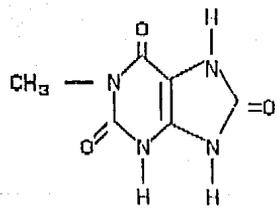
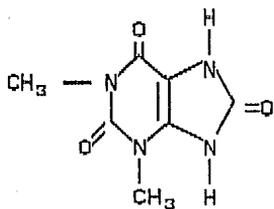
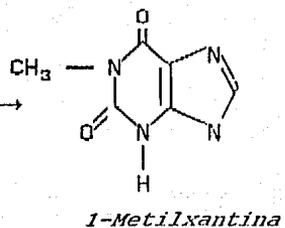
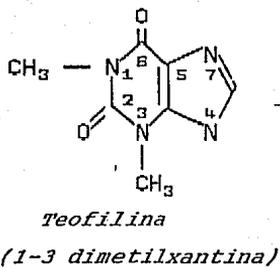
4.- La inducción tan pronunciada del metabolismo de teofilina producido por el 3MC comparado con el Fenobarbital puede indicar que el citocromo modificado P_1-450 , también conocido como P-448, puede jugar un papel muy importante en el metabolismo de la teofilina ya que se conoce que el 3MC promueve la síntesis de dicho citocromo. La teofilina probablemente no se combina exclusivamente con el citocromo P_1-450 , sino también con el P-450, dado que el metabolismo de teofilina también se observó en ratas control en las que se ha observado que contienen una cantidad mínima de P_1-450 comparada con la cantidad presente de P-450. El Fenobarbital, el cual se sabe que aumenta la síntesis de P-450 pero no afecta al P_1-450 , produjo inducción del metabolismo de la teofilina.

5.- El efecto inhibitorio en el metabolismo de teofilina fue más pronunciado en el caso del 3MMAB que con el SKF-A, esto se explicó en base a la diferencia de efectos en los citocromos, ya que el SKF-A solo inhibe al P-450, mientras que el 3MMAB inhibe tanto al P-450 como al P_1-450 .

6.- La oxidación de teofilina en sus principales metabolitos, ácido 1-3 dimetil úrico y ácido 1-metil úrico, se observó en las preparaciones utilizadas. La formación del ácido 1-metil úrico fue bloqueada por el alopurinol, que es un inhibidor de la xantina oxidasa, sin embargo se detectó la producción del ácido 1-3 dimetil úrico, también se incrementó la producción de 1-metilxantina. Cuando se probó el 1-metilxantina como sustrato de la xantina oxidasa, este se convirtió al ácido 1-metilúrico, y cuando se utilizó la 3-metilxantina, esta no demostró ser un sustrato para la xantina oxidasa.

Estas observaciones les permiten concluir que el mecanismo de formación del ácido 1-metil úrico es a través de 1-metilxantina esta conversión es realizada por la xantina oxidasa.

El esquema propuesto del metabolismo de la teofilina es el siguiente:



2.8 INTERACCIONES.

Dado que el 90% de la dosis de teofilina es biotransformada, aquellos fármacos que tengan influencia en el sistema enzimático microsomal del hígado pueden afectar la eliminación de teofilina. Otros mecanismos como aquellos que estén relacionados con la entrada al hígado también causarán efectos en la eliminación de teofilina. A continuación mencionaremos algunos ejemplos de los más importantes o mejor conocidos.

2.8.1 FENOBARBITAL

Se sabe que el fenobarbital induce a las enzimas microsomales hepáticas, especialmente al sistema P-450. La influencia que pueda ejercer sobre el metabolismo de la teofilina es importante ya que en la mayoría de los casos se utilizan de manera conjunta. Landy et al (26) encontraron que después de la administración oral de 90 mg/día de fenobarbital se observó un incremento significativo de $33 \pm 21\%$ de la depuración de teofilina cuando se administró una dosis única por vía intravenosa de 4 mg/kg, 24 hr después de la última dosis de fenobarbital. El largo período de administración en este estudio es probablemente muy representativo de muchas situaciones clínicas, particularmente cuando los pacientes están tomando combinaciones fijas de ambos fármacos. 28 días después de la última dosis de fenobarbital la depuración de teofilina no era significativamente mayor que antes

del tratamiento con fenobarbital.

Los autores concluyen que es necesario el ajuste individual de la dosis de teofilina basado en los niveles plásmaticos durante la coadministración de ambos fármacos

2.8.2 FENITOINA

Se conoce que induce la actividad de la función mezclada de la oxidasa del citocromo P-450. Marquis et al (27) demostraron que una dosis de fenitoina de 300 a 400 mg/día administrada durante 10 o 15 días a voluntarios sanos producen un incremento en la depuración de $0.0437 \pm .0064$ a $0.0755 \pm .0061$ l/hr/kg lo cual equivale al 73 %. Sin embargo, el volumen de distribución de la teofilina se mantiene inalterado en los voluntarios. También se ha reportado por parte de Hendeles et al (28) que la absorción oral de fenitoina se ve disminuida cuando se coadministra teofilina.

2.8.3 CIMETIDINA

Se sabe que la cimetidina disminuye la depuración de muchos fármacos metabolizados por el citocromo P-448 o P-450 en el hígado. Dado que la cimetidina es utilizada profilácticamente en pacientes que tienen úlcera y reciben teofilina, es necesario saber qué tan importante es esta interacción. Cohen et al (29) efectuaron un estudio cruzado de tres vías para evaluar la influencia de dos dosis de cimetidina en la farmacocinética de teofilina en dos grupos de voluntarios, el grupo 1 constituido de 9 personas con una edad de 22 a 35 años, el grupo 2 constituido también por 9 personas cuya edad

fue de 60 a 74 años.

En la fase A se les administró teofilina, en la fase B se repitió la dosis de teofilina y se incluyó la dosis baja de cimetidina la cual se administró cada 6 hrs durante 3 días previos a la administración de teofilina y continuó durante 36 hr después, en la fase C se repitió el tratamiento de la fase B pero se utilizó la dosis alta de cimetidina. En cada caso se obtuvieron muestras plásmaticas suficientes como para obtener los parámetros farmacocinéticos más importantes de teofilina.

Tanto el grupo 1 (jóvenes), como el grupo 2 (ancianos), manifestaron alteraciones significativas en los parámetros farmacocinéticos tales como: depuración, tiempo de vida media y área bajo la curva. Estos cambios fueron mayores con la dosis alta de cimetidina (1.2gr). La magnitud de la interacción entre teofilina y cimetidina parece ser dosis dependiente y no está influenciada significativamente por la edad.

Los cambios en la depuración y en la vida media con respecto al grupo control fueron del 34.7 y 61.4% respectivamente. Es evidente de los resultados por ellos presentados, que la magnitud de la interacción entre la cimetidina y la teofilina no es lineal y es probable que sea saturable, dado que el incremento de dosis de 800 a 1200mg/día produce alteraciones en el área bajo la curva, el tiempo de vida media y la depuración, siendo estos de 12.5, 17.5, y 9.4% respectivamente. También se encontraron pequeños incrementos estadísticamente significativos con respecto al volumen de distribución, esta situación es interesante ya que investigaciones previas no habían demostrado diferencias en este parámetro. Dado que el volumen de distribución está inversamente relacionado con la depuración es posible que los cambios en la depuración puedan ser

atribuidos a alteraciones en el volumen de distribución. Sin embargo deberán efectuarse estudios más específicos que lo demuestren. Aunque es probable que pequeñas modificaciones que en el volumen de distribución no sean importantes desde el punto de vista de la clínica.

2.8.4 FARMACOS SIMPATICOMIMETICOS

La interacción farmacocinética entre los simpaticomiméticos y la teofilina puede ser clínicamente importante, ya que este tipo de fármacos se administran conjuntamente en muchos asmáticos. Desafortunadamente la información al respecto es muy limitada. Hemstreet et al (30) reportan que la administración concomitante de isoprenalina (0.20 a 1.5 mcg/kg/min) y de aminofilina (0.56 a 2.3 mcg/kg/min) dio como resultado un incremento significativo de 21.4 ± 13.5 % de la depuración de teofilina en 6 niños asmáticos estudiados.

2.9 ESTABILIDAD DE TEOFILINA EN MUESTRAS BIOLOGICAS.

La estabilidad de teofilina en muestras de saliva, plasma y suero fue estudiada por Jonkman et al (35). A los fluidos antes mencionados se les añadió teofilina en solución para obtener una concentración de 10 mcg/ml y se almacenaron a temperaturas constantes de 25, 6 y -20 grados centígrados y se analizaron periódicamente. El tiempo requerido para mantener el 90% de la concentración original se presenta en la tabla I.

TABLA I Influencia de la temperatura en la estabilidad de teofilina

Temperatura de almacenamiento grados centígrados	Tiempo en que se mantiene el 90%		
	Saliva	Suero	Plasma
25	15 días	11 días	18 días
6	12 días	40 días	7.5 días
- 20	17 meses	4.5 meses	17.5 meses

Aunque se observó variación día a día, la degradación de teofilina, excedió esta variación significativamente ($p < 0.075$). Los autores proponen que la degradación alta del plasma a - 20 grados centígrados, puede ser debida a la alta variabilidad entre días en esta serie de determinaciones, aun cuando no mencionan específicamente un valor particular en esta temperatura

Ellos concluyen que la estabilidad de teofilina es adecuada para permitir un almacenamiento de 2 semanas a temperatura ambiente o en el refrigerador y de cerca de 1.5 años en el congelador

2.10. METODOS DE ANALISIS EN FLUIDOS BIOLÓGICOS.

El análisis de los fármacos en los fluidos biológicos requiere el uso de métodos analíticos adecuados. Los métodos que se han desarrollado para la cuantificación de teofilina son:

Espectrofotometría, Fluorometría, Cromatografía Gas-líquido, Cromatografía Líquida de alta resolución, Radioinmunoensayo, Inmunoensayo Enzimático.

El método espectrofotométrico de Schak y Wexley fue desarrollado en 1949. Se estima que este método es exacto para determinar concentraciones de teofilina mayores de 1 mg/ml (36). Este método tiene la desventaja de que utiliza muestras sanguíneas de 3 ml o mayores como es el caso del propuesto por Jatlow (37) y el de Vasiliades et al (38). Estos métodos tienen la desventaja común de que el proceso de extracción es largo y laborioso. Además existe el riesgo de que otros fármacos y/o metabolitos sean coextraídos con la teofilina, lo cual puede interferir con la exactitud de los niveles plasmáticos de teofilina (39). Aún con estas dificultades sigue siendo un método muy utilizado. El método desarrollado por Meola et al (40), se basa en la fluorescencia que presenta el cerio (IV) al ser reducido a cerio (III) en presencia de una solución que contiene teofilina, sulfato cúprico y ácido ascórbico. La reacción de oxidación es utilizada para cuantificar a la teofilina, . El método proporciona una exactitud del 79 a 81 % a la concentración de 10 mcg/ml y de 81 a 84 % a la concentración de 20 mcg/ml. La reproducibilidad presentó un coeficiente de variación entre corridas a la concentración de 32 mcg/ml de 2.9 % y entre días del 3.4 % . La exactitud del método fue evaluada con respecto a los métodos de H.P.L.C y de E.M.I.T. Con respecto al primero el análisis de regresión de 40 muestras conteniendo teofilina en el rango de 0 a 50 mcg/ml (x) y fluorescencia (y) dio una pendiente de .9787 , un intercepto de .575 y un coeficiente de correlación de .9772 , para el segundo caso se corrieron 40 muestras que contenían teofilina en un rango de concentraciones de 0 a 26 mcg/ml obteniéndose una

pendiente de .9203 , un intercepto de 1.343 y un coeficiente de correlación de .9577 .

La selectividad fue evaluada de la siguiente forma. Se preparó un pool de plasma que fue sembrado con concentraciones de 50 mcg/ml de : ácido 1-metil úrico , ácido 1,3 dimetilúrico , 3 metilxantina y 1 metilxantina , los cuales son subproductos del metabolismo de la teofilina , asimismo se evaluaron a las otras dos xantinas, cafeína y teobromina. Las concentraciones detectadas como teofilina fueron menores a 1 mcg/ml. El desarrollo del método es rápido, aproximadamente de 10 minutos, el volumen de plasma requerido es de 200 mcl. Así mismo los reactivos utilizados son de fácil acceso.

El método de H.P.L.C. es rápido, específico, y sensible para la determinación de teofilina en fluidos biológicos (41-46) , este método requiere substancialmente menos volumen de plasma (.05 ml), el procedimiento puede ser modificado para utilizar menos de 0.05 ml, lo cual es una gran ventaja cuando se determinan los niveles plásmaticos en niños o recién nacidos. En la actualidad es el método más utilizado y siguen apareciendo en la literatura nuevos métodos basados en esta metodología, que ofrecen mayores ventajas en cuanto a rapidez del análisis, sensibilidad y especificidad.

También se han reportado métodos de radioinmunoensayo (R.I.A.). Los diseñados por Cook (47) y por Neese y Soyka (48) , adolecen de los inconvenientes generales de esta metodología, esto es los anticuerpos preparados exhiben reactividad cruzada para los metabolitos y/o la cafeína, además de la dificultad de manejar materiales marcados , aún cuando su ventaja en sensibilidad es muy grande, así como el uso de volúmenes muy pequeños de fluidos biológicos .

Los otros métodos basados en el inmunoensayo pero que no requieren de materiales marcados, tienen las desventajas de R.I.A., salvo que no presentan el problema de radioactividad.

III PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DESARROLLO DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA

3.1.1 PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.9. Disolver 14.2 grs. de fosfato ácido de sodio anhidro en 800 ml de agua desionizada, ajustar el pH a 7.9 con HCl (1 mol/L). Diluir a un litro con agua desionizada, mantener en refrigeración 1 mes.

Sulfato cúprico. Disolver 2 grs. de sulfato cúprico ($\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \text{HO}_2$) en 500 ml de agua desionizada. Almacenar a temperatura ambiente.

Acido perclorico diluido. Se prepara añadiendo 14 ml de ácido perclorico de una concentración de 600 a 620 ml/l a 90 ml de agua desionizada.

Sulfato cérico de amonio. Disolver 60 mg. de sulfato cérico de amonio en 2 ml de ácido perclórico diluido.

Solvente de extracción. Mezclar cloroformo y 2-propanol (alcohol isopropílico) con una relación de 19/1 vol/vol.

Solución de ácido ascórbico. Disolver 1 gr. de ácido ascórbico en un litro de HCl 1 M.

Soluciones patrón de teofilina. Se prepararon las siguientes concentraciones .1, .4, .8, 1, 3, 5, 7, 10, 20, 30 y 40 mcg/ml, a partir de una solución stock de teofilina conteniendo 100 mg/1L en agua desionizada.

3.1.2.- DETERMINACION DE TEOFILINA EN MUESTRAS PLASMATICAS

El método analítico utilizado fue el reportado por Meola et al (40), y consiste en lo siguiente.

Transferir 400 mcl de plasma y 400 mcl de cada estándar a tubos de ensayo (los cuales han sido lavados previamente con HCl 0.01 mol/L, enjuagados con agua destilada y secados). Añadir 400 mcl de solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.9 y 3 ml del solvente de extracción . Agitar suavemente durante 15 minutos y centrifugar a 2000 rpm durante 4 minutos, separar la porción proteínica, transferir una alícuota de 2 ml del disolvente de extracción y evaporar a sequedad .

El residuo se disuelve en 400 mcl de sulfato cúprico, se mezcla y se agregan 20 mcl de sulfato cérico de amonio, se mezcla y se deja reposar 3 minutos a temperatura ambiente, se agregan 3 ml de la solución de ácido ascórbico, se transfiere a una celda de cuarzo y se mide la fluorescencia a una longitud de onda de 235 nm de excitación y de 400 nm de emisión.

El espectrofluorómetro es calibrado a cero con un blanco de plasma y a 100 unidades de fluorescencia con una solución patrón de 40 mcg de teofilina que fue tratada de la misma manera.

3.2 VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Como parte del proceso de validación del método analítico se evaluaron la linealidad, la selectividad, la exactitud, la repetibilidad, la reproducibilidad y la concentración mínima detectable para lo cual se efectuaron los siguientes pasos:

3.2.1.-Linealidad . Con el objeto de determinar si la relación entre la fluorescencia y la concentración de diferentes soluciones de teofilina de concentraciones conocidas presentan una relación lineal se prepararon 5 curvas patrón en diferentes días a las concentraciones ya mencionadas, la evaluación estadística de la linealidad fue efectuada de acuerdo con lo propuesto por Cavenaghi et al (49).

3.2.2.-Selectividad. Para evaluar la selectividad, un voluntario ingirió en ayunas en el lapso de 3 hrs. 8 tazas de café, se le tomaron muestras sanguíneas de 10 ml al inicio y de 5 ml a .5, 1, 1.5, 2, 3, 4 hrs. La muestra del inicio se dividió en 7 porciones 3 de las cuales fueron usadas como blancos, 2 fueron sembradas con una concentración de 1 mcg/ml de teofilina patrón las restantes lo fueron con 5 mcg/ ml, todas las muestras fueron analizadas con el método analítico antes descrito preparándose al mismo tiempo una curva patrón de teofilina en plasma.

3.2.3.-Exactitud. Para evaluarla se sembraron 20 muestras de plasma con una solución estándar de teofilina de 10 mcg/ml, se preparó una curva de referencia de teofilina en agua desionizada y se

sometieron al método analítico con el objeto de observar la concordancia entre el valor determinado y el valor real expresado en % de recuperación, efectuándose un análisis estadístico con los datos resultantes.

3.2.4.-Concentración mínima cuantificable. Con el objeto de evaluar la concentración mínima detectada por el método analítico con respecto a los reactivos así como a los constituyentes del plasma se prepararon soluciones plasmáticas con teofilina en las concentraciones de 0.1, 0.4, 0.8 y 1 mcg/ml y se les sometió al método analítico ya descrito.

3.3.5.- Repetibilidad en diferentes días. Se determinaron durante 2 días por el mismo analista las concentraciones de 1, 7, y 30 mcg/ml, cada concentración fue por triplicado. Los resultados fueron evaluados en base al coeficiente de variación.

3.3.6.-Repetibilidad. Se evaluó preparando 4 curvas patrón el mismo día, obteniéndose para cada concentración el coeficiente de variación en por ciento.

3.3 ESTUDIO FARMACOCINETICO

Los voluntarios que participaron en el estudio fueron informados del objetivo de este y estuvieron de acuerdo en participar en el mismo, firmando un formato de consentimiento (apéndice II).

El criterio de selección de los voluntarios se basó en la auscultación clínica, así como en los resultados de los estudios clínicos de rutina. En la tabla III.1 aparecen las características físicas de los voluntarios.

Tabla III.1 Características físicas de los voluntarios.

Voluntario	Sexo	Peso (kg.)	Edad (años)
1	F	70	33
2	F	45	30
3	M	72	39
4	F	47	24
5	M	64	22
6	M	80	36
7	M	70	27

3.3.1 ESTUDIO I

En este estudio participaron los 7 voluntarios. Las condiciones del estudio fueron las siguientes: se les prohibió ingerir café y chocolates desde cuatro días antes del estudio, medicamentos una semana antes de este y ninguno de ellos durante el estudio. Los voluntarios permanecieron en ayunas 10 horas antes del estudio, tres horas ingirieron un desayuno controlado (un huevo frito, 2 panes blancos y un vaso de jugo de naranja natural) y ocho horas después una comida estándar (arroz, carne asada, frijoles y agua de limón natural). Las muestras sanguíneas se tomaron a los 0, .25, .50, .75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 7, 9, 12, y 24 hrs. Durante las primeras cuatro horas del estudio estuvieron presentes un médico y una enfermera.

Se les administró una dosis de Aminofilina en forma de elixir equivalente a 200 mg. de teofilina.

3.3.2. ESTUDIO II

En este estudio participaron los voluntarios 2 y 3. Las condiciones fueron las mismas, ambos voluntarios participaron en el estudio I. Las muestras sanguíneas se tomaron a las 0, .25, .5, .75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12 y 24 hrs. Se les administraron 200 mg. de teofilina en forma de polvo y se dispersó en 250 ml. de agua.

3.3.3. ESTUDIO III.

En este estudio sólo participó el voluntario 3. Las condiciones en general fueron las mismas salvo que ingirió alimento 2 hrs. después de iniciado el estudio permaneció en un hospital durante las primeras 2 hrs. Las muestras sanguíneas se tomaron a las 0, .2, .426, .666, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 5, 7.33, 10, 14 y 24 hrs. Se le administró por vía intravenosa en forma de bolo 125 mg. de aminofilina, equivalente a 105 mg de teofilina.

3.3.5. ANALISIS DE LOS DATOS

El análisis de los datos resultantes se efectuó por un método de ajuste no-líneal utilizando los programas del paquete computacional PCNONLIN, se usó el modelo de un compartimento con *tlag* y sin él, así como el modelo de 2 compartimentos para la vía oral e intravenoso. Este paquete requiere que se le suministren datos siembra de los parámetros contemplados por el modelo analizado, estos valores serán suministrados utilizando el método de los residuales así como el Wagner-Nelson.

El paquete PCNONLIN asume un valor de $F=1$ en la evaluación del volumen de distribución.

IV .RESULTADOS

4.1 VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA

4.1.1.LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO

En la tabla IV.1 se presentan los resultados obtenidos al preparar 5 curvas de calibración para evaluar la linealidad del método analítico en el rango de concentraciones de 1 a 30 mcg/ml, los resultados se expresan en unidades de fluorescencia . En la tabla IV.2 se presentan los resultados del análisis estadístico de los datos de la tabla IV.1 .En la tabla IV.3 se presentan los datos de la tabla IV.1 ajustados por mínimos cuadrados y en la figura 4.1 se representan gráficamente los resultados .

Tabla IV.1

Linealidad del método para la cuantificación de teofilina en plasma.

CONCENTRACION (mcg/ml)

CURVA	1	3	5	7	10	20	30
1	2.8	8.7	14.7	21.6	29.7	60.9	90.9
2	2.7	8.3	15.2	20.2	29.1	61.3	91.9
3	3.4	8.5	14.9	21.9	29	59.8	89.9
4	2.3	9.2	15.5	20.5	31.8	59.1	90.7
5	3.1	9.3	15.3	20.1	30.9	59.6	90.3

Tabla IV.2

Resultados del análisis estadístico de las cinco curvas de calibración.

	Pendiente			Ordenada	
Límite sup int conf	3.053			.159	
Límite inf int conf	3.002			-.58	
T calculada	163.12			-1.163	

Fuente de variación	Gl	S.C	M.C	Fcal	p(Fcal)
Regresión	1	30195.54	30195.54	59327	2.16 e-11
Error de regresión	33	16.781	.509		
Curvatura	5	.57	.114	.197	.9595
Error puro	28	16.221	.579		

Tabla IV.3

Análisis de mínimos cuadrados de los datos de la tabla IV.1

conc	u.f
1	2.84
3	8.88
5	14.93
7	20.97
10	30.04
20	60.27
30	90.5

$$r^2 = .999$$

$$I = -.21$$

$$m = 3.028$$

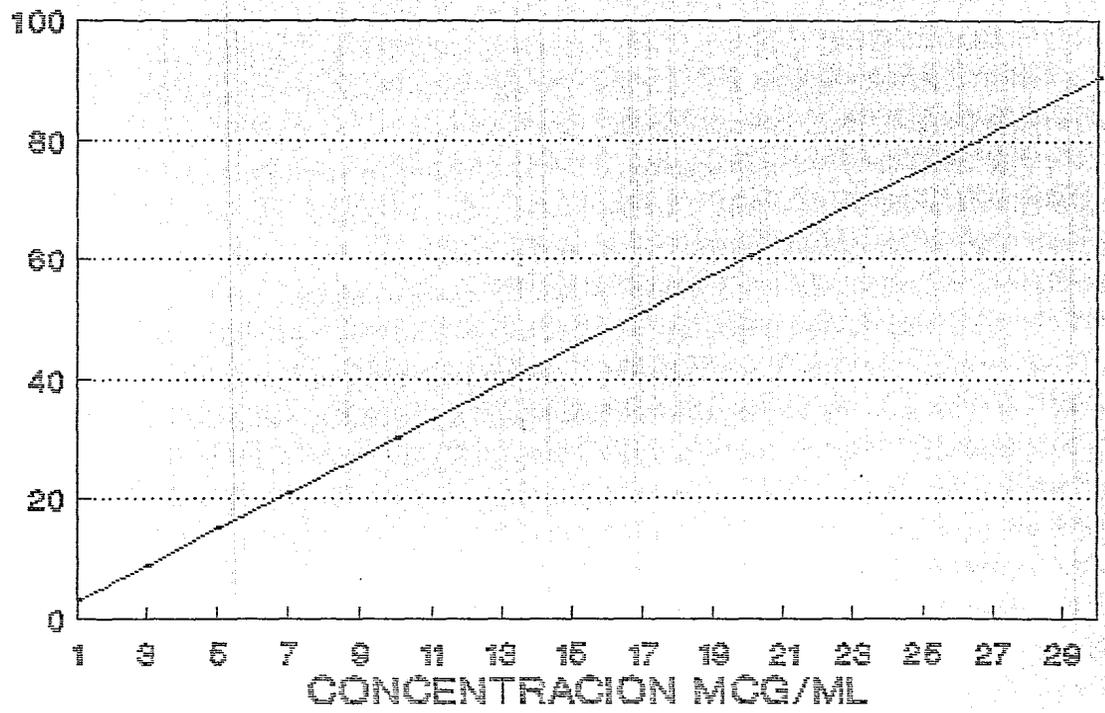


Fig 1: linealidad del metodo para teofilina
datos de la tabla IV.3

4.1.2.- EXACTITUD

Para evaluar la exactitud se siguió el procedimiento descrito en la sección 3.3.3., en la tabla IV.4 se presentan los resultados y en la tabla IV.5, se presentan los resultados del análisis estadístico de la tabla IV.4.

Tabla IV.4

Exactitud del método para cuantificar teofilina en plasma (10 mcg/ml).

Muestra	% de Extracción
1	81.8
2	79.7
3	78.3
4	85.5
5	82.3
6	81.6
7	83.1
8	79.8
9	85.4
10	82.1
11	84.4
12	77.7
13	79.3
14	81.2
15	76.9
16	75.2
17	78.7
18	76.6
19	83.3
20	78.9

Tabla IV.5

Resultados estadísticos de los datos de la tabla IV.4

media aritmética	80.58%
desviación estándar	2.9
coef de variación	3.6
error estándar	.65
valor de t	-29.91
límite sup de conf	81.94
límite inf de conf	79.22

4.1.3.- SELECTIVIDAD

Para evaluar la selectividad se siguió el procedimiento marcado en la sección 3.3.2. Los valores determinados de fluorescencia en las 3 muestras de plasma blanco no presentaron lecturas, las muestras blanco sembradas con 1 y 5 mcg/ml de teofilina presentaron valores de 2.86 y de 14.8 mcg/ml, en las muestras analizadas después de ingerir las 8 tazas de café no se detectaron lecturas en el espectrofluorómetro.

4.1.4.- CONCENTRACION MINIMA CUANTIFICABLE

Sólo los valores de fluorescencia de las soluciones que contenían 1 mcg/ml de teofilina pudieron ser distinguidas del valor del blanco de plasma, por lo cual la cantidad mínima cuantificable del método es de 1 mcg/ml.

4.1.5.- REPETIBILIDAD EN DIFERENTES DIAS

Para evaluar la repetibilidad en diferentes días del método analítico para cuantificar teofilina en plasma se siguieron los lineamientos de la sección 3.3.5. , los resultados se presentan en la tabla IV.6.

Tabla IV.6

Repetibilidad del método para la cuantificación de teofilina en diferentes días.

DIAS	CONCENTRACIONES (mcg/ml)			
	1	7	30	
1	2.7	21.9	90.5	
	2.4	21.2	89.7	
	2.6	21.4	89.3	
	X	2.56	21.6	89.8
	D.E	.1527	.36	.611
	C.V. %	5.95	1.66	.68
2	2.0	20.8	90.8	
	2.3	20.2	89.5	
	2.2	20.4	89.2	
	X	2.16	20.46	89.83
	D.E	.15	.305	.8504
	C.V. %	6.9	1.49	.946

4.1.6.- REPETIBILIDAD

Se evaluó siguiendo los lineamientos de la sección 3.3.6. En la tabla IV.7 se presentan los resultados.

tabla IV.7

Resultados del estudio de repetibilidad en plasma sembrado con diferentes concentraciones de teofilina (n=4).

Concentración mcg/ml	\bar{X}	D.E	C.V %
1	2.625	.1707	6.5
3	8.65	.208	2.4
5	14.5	.316	2.18
7	21.55	.208	.96
10	29.4	.294	1.0
20	60.55	.369	.61
30	90.52	.350	.38

4.2.1 ESTUDIO I

En la tabla IV.8 se presentan los resultados de los niveles plasmáticos de teofilina con respecto al tiempo en los 7 voluntarios que ingirieron una dosis de teofilina en forma de sal (aminofilina) de un producto comercial llamado elixofilina, equivalente a 220 mg.de teofilina en ayunas.

TABLA IV.8

Niveles plasmáticos (mcg/ml) con respecto al tiempo (hrs) en los 7 voluntarios.

TIEMPO	VOLUNTARIOS						
	1	2	3	4	5	6	7
0.0	*	*	*	*	*	*	*
0.25	8.89	*	2.02	10.97	*	*	3.01
0.50	7.65	2.99	4.86	8.27	*	5.14	4.43
0.75	10.4	1.49	6.14	14.53	3.15	5.99	4.57
1.00	8.12	8.1	7.13	12.81	3.58	6.42	4.4
1.50	8.12	4.5	6.85	8.55	5.71	5.14	4.52
2.00	9.4	3.29	3.86	7.98	5.43	4.29	4.01
2.50	5.28	5.55	4.72	9.5	5.71	4.72	3.86
3.00	8.55	5.4	5.57	8.69	5.71	4.57	3.6
4.00	8.12	6.3	3.3	7.98	5.71	3.00	2.4
5.00	6.70	5.55	2.59	6.94	4.70	3.80	2.30
7.00	6.00	3.14	1.59	5.57	3.58	3.30	1.20
9.00	4.00	2.09	1.17	3.80	2.70	2.60	1.30
12.00	3.15	1.30	*	3.10	2.59	2.16	*
24.00	1.45	*	*	1.45	1.31	1.31	*

* no detectable

En las figuras IV.2, IV.3, IV.4, IV.5, IV.6, IV.7 y IV.8, se presentan las gráficas de los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo, así como las gráficas que resultan después del ajuste no-lineal con el paquete computacional PCNONLIN en escala semilogarítmica de los voluntarios que participaron en el estudio.

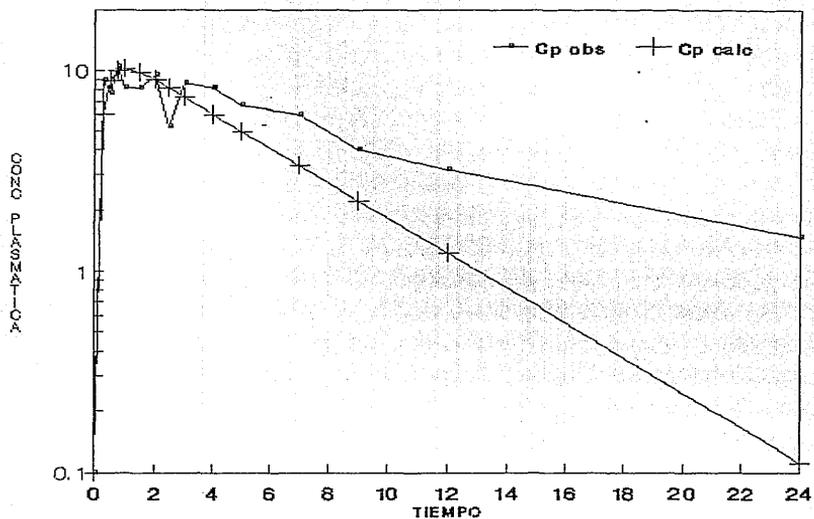


FIG IV.2 DATOS DE CP OBS Y CP CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 1

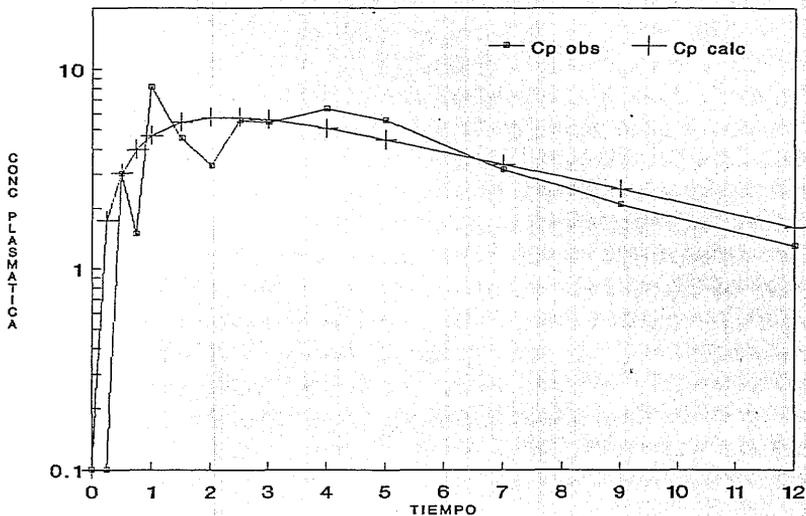


FIG IV.3 DATOS DE CP OBS Y CAL (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 2

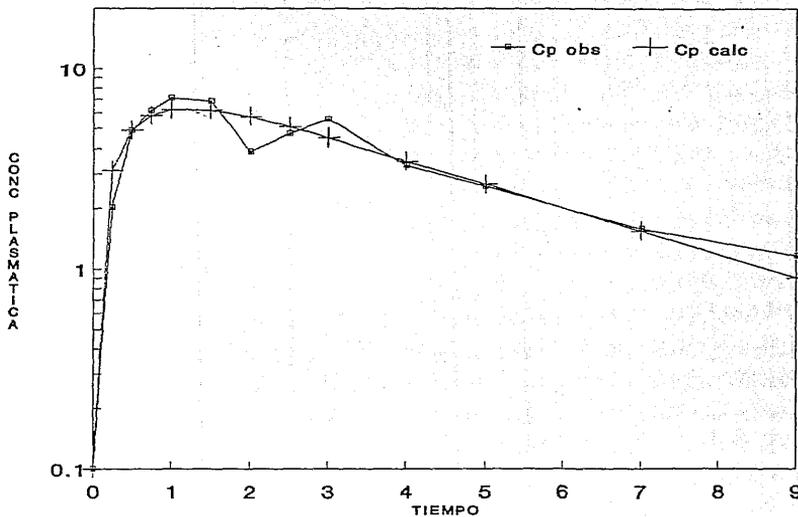


FIG IV.4 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 3

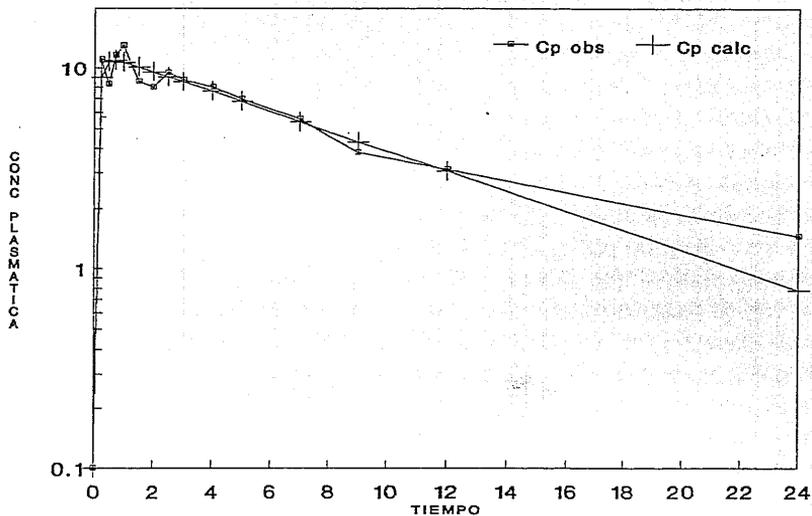


FIG IV.5 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 4

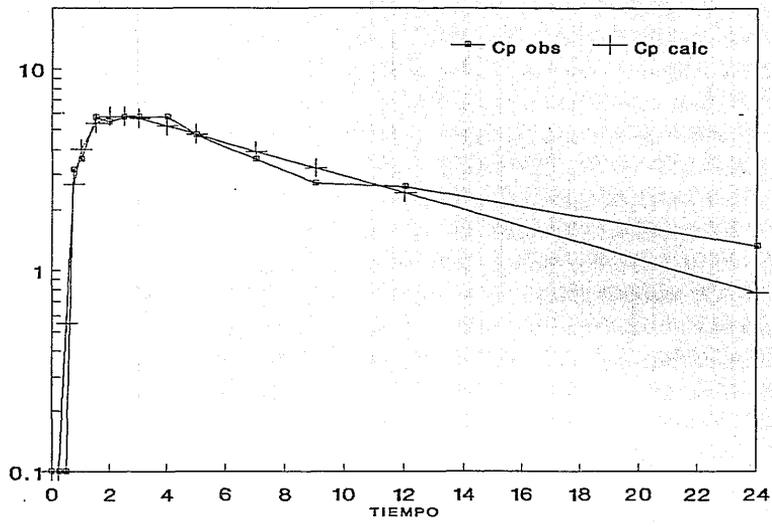


FIG IV.6 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 5

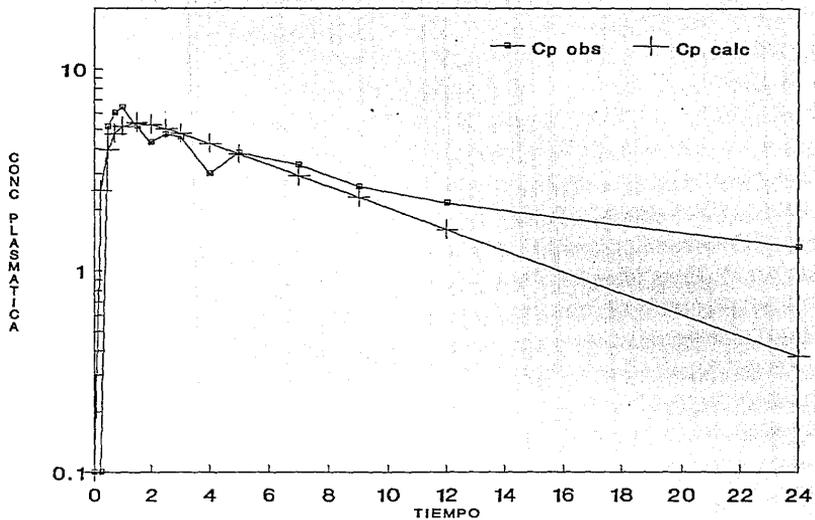


FIG IV.7 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 6

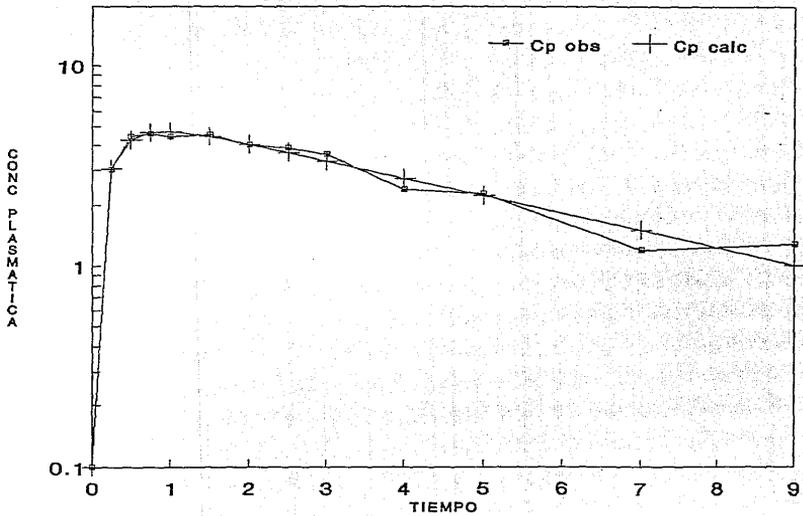


FIG IV.8 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 7

4.2.2. ESTUDIO II

En la tabla IV.9 se presentan los resultados de los niveles plasmáticos determinados en los dos voluntarios que ingirieron una dosis de 200 mg de teofilina pura dispersada en agua y en ayunas.

Tabla IV.9

Niveles plasmáticos (mcg/ml) con respecto al tiempo (hrs) en los 2 voluntarios.

TIEMPO hr	CONCENTRACION mcg/ml	
	V 2	V 3
	0.00	*
0.25	8.00	9.00
0.50	17.5	11.0
0.75	18.5	12.5
1.00	15.0	14.5
1.50	11.5	15.0
2.00	14.5	14.0
3.00	14.0	12.0
4.00	11.0	10.0
5.00	12.5	8.0
7.00	10.0	6.0
9.00	8.4	3.5
12.0	6.0	2.0
24.0	1.5	*

* no detectable

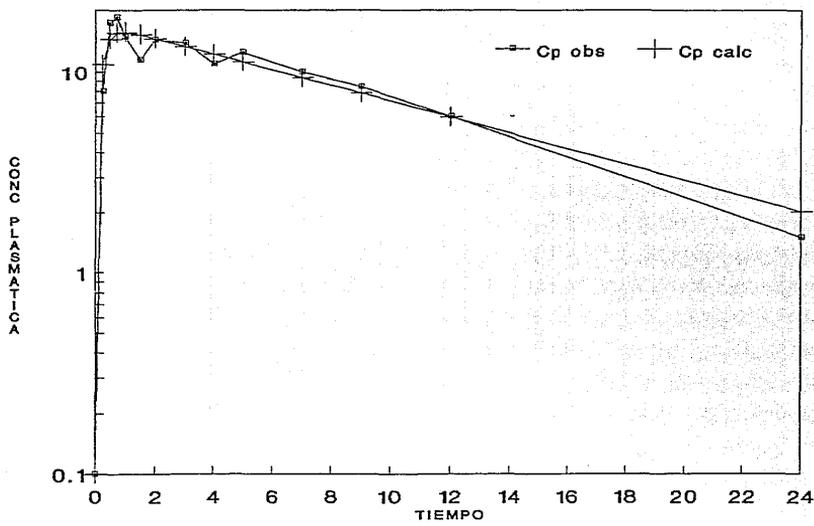


FIG IV.9 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 2

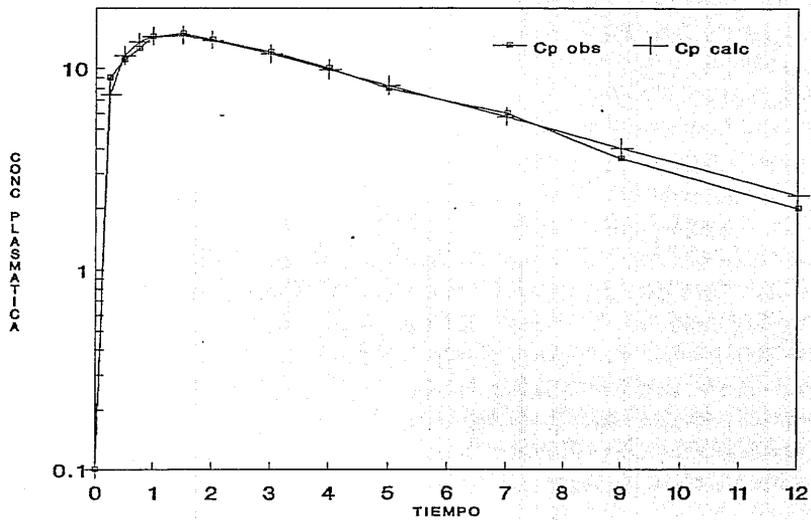


FIG IV.10 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 3

4.2.3. ESTUDIO III

En la tabla IV.10 se presentan los resultados de los niveles plasmáticos determinados en el voluntario 3 al que se le administró una dosis de aminofilina equivalente a 105 mg de teofilina por vía intravenosa.

Tabla IV.10

Niveles plasmáticos (mcg/ml) con respecto al tiempo en el voluntario 3

TIEMPO	CONC
HR	MCG/ML
0.00	*
0.20	26.9
0.41	18.3
0.66	12.5
1.25	5.3
1.50	3.8
2.00	2.63
2.5	2.2
3.00	1.9
5.00	1.4
7.33	1.2
10.00	0.8
14.00	0.47

* no detectable

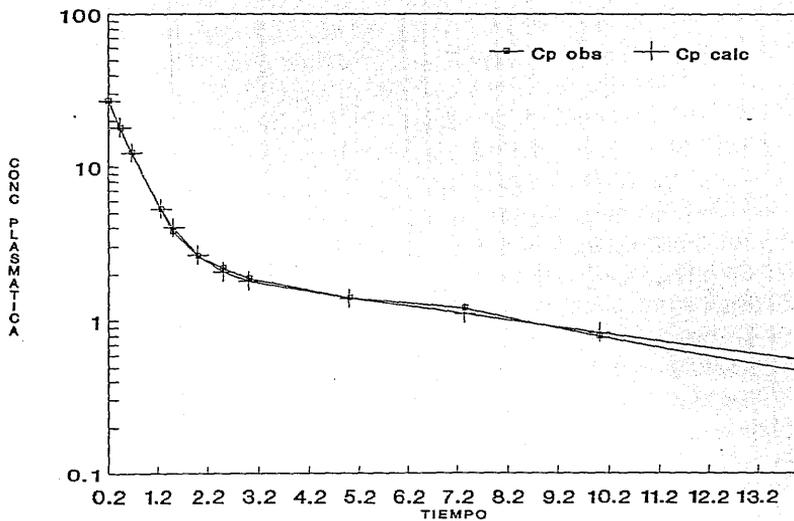


FIG IV.11 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN EL VOLUNTARIO 3

V. DISCUSION DE RESULTADOS

5.1. METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE TEOFILINA EN PLASMA

5.1.1 LINEALIDAD

La regresión de C_p vs fluorescencia es estadísticamente significativa si el valor de la varianza debida a la regresión lineal entre la varianza residual (F_{calc}) excede al valor de F_{tablas} con un grado de libertad en el numerador y $k * (n-1)$ grados de libertad en el denominador, donde k es el número de rectas comparadas y n es el número de datos por recta.

Como se observa en la tabla IV el valor de F_{calc} es de 135493 el cual excede al valor de F_{tablas} 4.17 con 1 grado de libertad en el numerador y 33 en el denominador, por lo cual la regresión entre la concentración plasmática y la fluorescencia es estadísticamente significativa.

Para poder asegurar que la función es lineal, la relación entre la varianza debida a la falta de ajuste entre la varianza del error puro (F_{cal}), no deberá exceder el valor de F_{tablas} con $k-2$ grados de libertad en el numerador y $k*(n-1)$ grados de libertad en el denominador.

Como se observa en la tabla mencionada el valor de F_{calc} es de .324 y el de F_{tablas} es de 4.2, por lo cual la función es lineal.

5.1.2 SELECTIVIDAD

Al someter las muestras de plasma del voluntario que había ingerido 8 tazas de café al método analítico para la determinación de teofilina, los valores obtenidos no se diferenciaron de los de los blancos, esto es, no fueron detectados y los valores del plasma blanco sembrados con las concentraciones de 1 y 5 mcg/ml de teofilina, dieron valores de fluorescencia muy parecidos a los obtenidos en las curvas patrón. Así mismo en los resultados del estudio de Meola et al (40) , donde se determinaron a los metabolitos de la teofilina, así como a los otros miembros del grupo de las xantinas con el método analítico propuesto no se observaron interferencias significativas por parte de estos por lo cual la selectividad del método analítico bajo las condiciones de uso son adecuadas.

También evaluó la interferencia de otros fármacos, tales como primidona, fenobarbital, fenitoina, amobarbital, acetaminofen, salicilatos, carbamazepina, imipramina, lidocaína y procainamida, los cuales no presentaron interferencias con el método.

En el presente trabajo, no fue posible evaluar la interferencia que pudieran presentar los metabolitos de la teofilina por lo que se aceptaron los resultados que Meola et al (40) que indican que los metabolitos no interfieren con el análisis.

5.1.3 EXACTITUD

Aun cuando el método presenta un error sistemático constante, se puede decir que este es un problema común en la gran mayoría de los métodos analíticos en fluidos biológicos. En la tabla IV.5 se presenta el valor medio de la recuperación del fármaco en la muestra plasmática que fue de 80.58 % , el intervalo de confianza va de 79.22 a 81.94 % lo cual se considera adecuado en los estudios que involucran muestras biológicas. Al cuantificar las muestras plasmáticas, se preparo al mismo tiempo y en las mismas condiciones que las muestras una curva patrón.

5.1.4. CONCENTRACION MINIMA CUANTIFICABLE

De las concentraciones probadas para determinar la concentración mínima cuantificable sólo se observó una respuesta adecuada en la concentración de 1 mcg/ ml, dado que el espectrofluorómetro utilizado (turner modelo 430) aun es parte de los equipos en los cuales la señal de respuesta es dada a través de la deflección de una aguja sobre una escala, lo cual dificulta la observación visual de la respuesta, por lo que no fue posible utilizar los conceptos que presentan Karnes et al (50) respecto a la sensibilidad y el límite de detección. Considerando que con el blanco el espectrofluorómetro se ajustaba a cero, no se pudo determinar la desviación estandar del blanco, valor que es necesario conocer para evaluar el límite de cuantificación en la forma en que lo propone este autor.

5.1.5 REPETIBILIDAD EN DIFERENTES DIAS

Los resultados estadísticos del estudio se muestran en la tabla IV.6. Dado que los valores del coeficiente de variación difieren día a día, se efectuó un análisis de varianza y encontrándose que existen diferencias significativas entre los días (tabla V.1), por lo que se optó por preparar una curva patrón en cada ocasión que se analizaran muestras.

5.1.6 REPETIBILIDAD

El criterio comunmente usado para evaluar el requisito de precisión a través de la repetibilidad, es que el coeficiente de variación expresado en porcentaje no exceda al 10%, en nuestro caso el valor obtenido fue de .38 a 6.5 %, como se observa en la tabla IV.7 por lo cual el método es considerado repetible en el rango de concentraciones estudiadas.

5.2 ANALISIS FARMACOCINETICO

5.2.1 ESTUDIO I

Al graficar los datos de concentración plasmática vs tiempo, en el estudio I, fue obvio que el modelo de un compartamento no parecía ser el mejor modelo para explicar los resultados obtenidos, ya que en los voluntarios 1 (fig IV.2), 2 (fig IV.3), 3 (fig IV.4), 4 (fig IV.5), y 6 (fig IV.7) se presentaban de dos a tres máximos, esta situación no estaba contemplada en ningún reporte

donde se analizara la farmacocinética de teofilina, ya que en los estudios en los que se había administrado este fármaco por vía oral los datos se ajustaban a un modelo de un compartamento y no se mencionaba ninguna irregularidad en el comportamiento de estos.

Funaki et al (51) efectuaron un estudio para evaluar las propiedades de absorción discontinua que presenta la cimetidina, con el fin de explicar la presencia de un doble pico que se presentaba al administrarla por vía oral, ya que en estudios anteriores se asumía que el doble pico se debía a una recirculación enterohepática, sin embargo McPherson et al (52) habían reportado que la excreción biliar de cimetidina marcada con C^{14} fue del 5 %.

En un estudio previo efectuado en ratas se observó que la absorción de cimetidina cuando se ligaba el duodeno, el yeyuno y el ileon, presentaban los siguientes valores.

	Duodeno	Yeyuno	ileon
K_a (hrs ⁻¹)	$1.26 \pm .756$	$.396 \pm .04$	$1.968 \pm .684$

Con estos resultados los autores proponían que al administrar una forma sólida pueda ocurrir una disolución incompleta en el duodeno, disolviéndose lentamente durante su paso por el yeyuno y haciéndolo muy rápidamente cuando se encuentra en el ileon. Así mismo proponen un modelo de dos compartamentos con 3 constantes de absorción (K_{a1} , K_{a2} , y K_{a3}), relacionados con tres intervalos, el primero es un T_{lag} , los otros dos son los tiempos de iniciación de los respectivos procesos de absorción.

Los valores promedios de las constantes K_{a1} ($.579 \pm .049$), K_{a2} ($.335 \pm .06$), y K_{a3} ($.781 \pm .303$), obtenidos presentan la

misma tendencia que los resultados obtenidos del estudio de absorción in vitro, lo cual parece indicar que las constantes Ka_1 , Ka_2 , y Ka_3 , representan la absorción en el duodeno, el yeyuno y el ileon.

Veng Pedersen et al (53) analizan la posible reabsorción de Doxiciclina ya que se especula que la lenta desaparición de plasma es debida a la lenta absorción proveniente de la recirculación enterohepática o a la lenta velocidad de eliminación intrínseca del fármaco.

Los datos reportados con anterioridad presentan un máximo secundario de menor magnitud que el primario, lo cual soporta la hipótesis de reabsorción.

Los autores investigaron la farmacocinética de doxiciclina utilizando modelos que consideran la reabsorción del fármaco, asimismo investigaron si ésta ocurre como un proceso continuo o intermitente, lo cual estaría relacionado con la secreción biliar, ya que ésta en los humanos es intermitente (a chorros).

Los modelos evaluados son los siguientes:

Modelo I .Cíclico consta de 3 compartamentos, uno de ellos donde se toman las muestras (circulación sistémica), el 2 es un compartamento intermediario, bien sea donde se deposita la bilis, o uno que representa al compuesto no absorbible secretado o un complejo donde se encuentra la forma absorbible y el tercero es en el cual se efectua la absorción.

Modelo II. Cíclico consta de 3 compartamentos, el primero es el mismo que en el caso anterior, el 2 es el compartamento del cual la bilis que contiene al fármaco es liberada espontáneamente en forma de bolo al compartamento 3 que es el sitio de absorción.

De sus resultados (criterio de AKAIKE), así como de

consideraciones fisiológicas el modelo II describe mejor los resultados.

Plusquellec et al (54) al estudiar a un nuevo fármaco veraliprine, observaron un doble pico al administrarlo por vía oral, ellos desarrollan el concepto de ventana de absorción, para lo cual administraron a 12 voluntarios el fármaco por vía oral, en forma de solución y en forma de cápsulas , así como por vía intravenosa por medio de un bolo presentan los datos individuales de concentración plasmática con respecto al tiempo.

Para ajustar los resultados utilizan un modelo de absorción doble, se basa en el hecho de que el fármaco al avanzar por el lumen intestinal alcanza segmentos específicos de éste donde se efectúa la absorción, las diferentes fases del proceso de absorción son las siguientes:

Fase del llenado del sitio I ($0 \leq t \leq T_1$). La cantidad del fármaco que se va a absorber depende de la cantidad disponible la cual incrementa hasta que la dosis total entra al segmento al tiempo T_1 y de la constante de absorción K_1 .

Fase de penetración en el sitio I ($T_1 \leq t \leq T_2$). Entre los tiempos T_1 y T_2 la absorción puede ocurrir en todo el segmento intestinal toda la dosis lo ha llenado.

Fase de vaciado del sitio I ($T_2 \leq t \leq T_2 + T_1$). Durante esta fase la dosis gradualmente abandona el segmento de absorción con la misma constante de velocidad de tal forma que nada de fármaco se mantiene en el sitio I al tiempo $T_1 + T_2$. Por lo tanto la fracción disponible para la absorción disminuye constantemente.

Al tiempo $T_1 + T_2$. La cantidad de fármaco presente en el sitio I es igual a cero, pero una cierta cantidad A_{a1} escapa del primer segmento y se mantiene en el intestino.

Entre $T_1 + T_2$ y T_3 . No se mueve fármaco a través del intestino. Durante esta fase la cantidad del fármaco en el cuerpo continuamente disminuye debido al proceso de eliminación.

Fase de llenado en el sitio II ($T_3 \leq t \leq T_4$). Como sucedió en la fase I, el fármaco gradualmente alcanza al segundo segmento de absorción, del cual es absorbido con una constante de velocidad k_3 .

Fase de penetración en el sitio II ($T_4 \leq t \leq T_5$). La dosis remanente llega toda al segmento del cual es absorbida.

Fase de vaciado del sitio II ($T_5 \leq t \leq T_5 + T_4 - T_3$). Durante esta fase si la dosis no ha sido absorbida anteriormente, el fármaco abandona el segundo segmento intestinal de tal forma que al tiempo ($T_5 + T_4 - T_3$) nada está disponible para la absorción.

Después del tiempo $t \geq T_5 + T_4 - T_3$. El fármaco que se mantiene en el intestino no es absorbido, de tal forma que lo único que sucede es la eliminación del cuerpo.

De los doce sujetos estudiados, el modelo de doble absorción describió adecuadamente los datos en nueve de ellos

Sóloamente en el caso de la solución se observó el doble pico, una posible explicación es que al inicio de la ingestión el fármaco no está disponible de la cápsula para ser absorbido en el tracto gastrointestinal. Siendo así asumen que el primer sitio de absorción del fármaco corresponde al estómago y/o a la parte superior del intestino delgado.

Asumiendo que el comportamiento del doble pico en los voluntarios que ingerieron teofilina puede ser explicado por el modelo antes mencionado, se elaboró un algoritmo para las ecuaciones del modelo anterior, éste se integró como modelo al paquete PCNONLIN y se efectuó una prueba con los datos que se presentan en el artículo.

Cuando se efectuó la corrida de prueba en una PC, utilizando los datos de uno de los voluntarios de su artículo la respuesta obtenida fue overflow, se utilizó otro algoritmo de ajuste y los resultados obtenidos diferían mucho de los obtenidos en el trabajo de Plusquellec et al (54), por lo cual no fue posible ajustar los datos del estudio I de teofilina a este modelo.

Ante esta situación se ajustaron a un modelo de un compartamento y al de dos compartamentos, se presentan sólo los resultados del de un compartamento, ya que el de dos no dio resultados adecuados. Los criterios que se utilizaron para aceptar que los valores de los parámetros eran los más adecuados en estas circunstancias, fueron:

Evaluación de los Intervalos de Confianza. Si el intervalo que cubren es muy amplio, esto significa que cualquiera de los valores contemplados explican con la misma confianza al parámetro en el modelo, esto da indicaciones de que el modelo está mal condicionado, esto es, no es el modelo más adecuado para explicar los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo.

Para el voluntario 1 (tabla V.1) dicha situación se presenta en K_a , siendo el rango de variación del intervalo de confianza del .71 % a 199 % , en el caso del volumen y de K_e la variación no es tan importante. En el voluntario 2 (tabla V.4), el valor de K_a va desde un valor negativo a un positivo y en el caso del intervalo de confianza planar (el cual toma en cuenta a los otros parámetros para determinar el intervalo de confianza , la fórmula para determinarlo se encuentra en el apéndice) los tres parámetros van de valores negativos a positivos.

Con el objeto de mejorar el ajuste en el modelo de un compartimento se utilizó la opción de pesar los datos (ver apéndice), , los valores de los intervalos de confianza no mejoraron (no se presentan estos datos) en la opción peso - 1, , en este caso la opción de pesar los datos para mejorar el ajuste resultó en lo contrario, el peso de -2 (no se presentan los resultados) no fue mejor que el anterior.

En el voluntario 4 (tabla V.10) en K_a , el rango cubierto por los valores del intervalo de confianza van desde el 18.9 % a 181.3 %, los valores del volumen y de K_e varían en menor extensión.

En los voluntarios 3 (tabla V.7) y 6 (tabla V.16) la situación es parecida.

Los intervalos de confianza tan amplios en los voluntarios 1, 3, 4, y 6 (tablas V.1, V.7, V.10 y IV.16) indican que el modelo debe ser modificado, esto es los parámetros del modelo no explican satisfactoriamente el comportamiento de los datos.

En el caso del voluntario 5 (tabla V.13), los valores de k_a , van del 57 al 143 %, k_e del 68.5 al 131 %, los cuales presentan menor variación que en los voluntarios 1,3,4 y 6.

Evaluación de los Residuales.- Los residuales proporcionan una medida para evaluar la desviación o la ausencia de ajuste de los datos al modelo elegido. Cuando el modelo elegido es exacto, los residuales están directamente relacionados con los errores de las observaciones experimentales y se distribuyen al azar al graficarla concentración plasmática observada con respecto al tiempo Al observar las gráficas de C_p observados vs C_p residuales estandarizados se hace obvio que no están distribuidos al azar como

era de esperarse y aunque no presentan un patrón definido, si se encuentran acumulados en alguna zona.

En el caso de las gráficas de Tiempo vs Cp residuales estandarizados se aprecia más claramente un patrón de comportamiento con respecto al tiempo.

Ambas situaciones nos indican que :

Los errores (residuales) no son independientes, en este caso es debido a la dependencia hacia el modelo.

No tienen una media de cero

Su varianza no es constante

No siguen una distribución normal

Esto es no cumplen los requisitos en los cuales se basa el análisis de éstos, aun cuando su evaluación visual está sujeta a los errores propios del observador, en este caso es claro que el modelo al que fueron ajustados los datos de los voluntarios no es el mejor modelo para el ajuste de los datos.

En el caso de los voluntarios 1 (fig V.2 y v.3) ,2 (fig V.5 y V.6) ,3 (fig V.8 y V.9) ,4 (fig V.11 y V.12) y 6 (fig V.17 y V.18), las gráficas de los residuales confirman las observaciones que se habían realizado al analizar los valores de los límites de confianza.

Sin embargo en el caso del voluntario 5 (tabla V.13), los valores del intervalo de confianza van del 56 a 143 % para el caso de K_a , de 68 a 131 % para K_e , en el volumen de 87 a 112 % , y para el Tlag va de 79.3 a 120 % para el caso de los univariados y aunque en el caso de los planares el intervalo aumenta, el modelo elegido para ajustar los datos parece ser el correcto si nos basáramos sólo en los valores del intervalo de confianza, al observar las figuras V.14 y V.15, en las cuales se analizan los residuales, es obvio que

estos no están distribuidos al azar, lo cual indica que se viola alguno o algunos de los supuestos en que se basan estos, por lo cual nuevamente el modelo elegido para analizar los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo no es el modelo adecuado. Se asume que el Tlag es el tiempo que tarda el fármaco en pasar del estómago al intestino.

Este fue uno de los pocos casos en que no se observa un doble pico, aun cuando el máximo de absorción parece alcanzar un pseudo estado estacionario. Esta situación da idea de un proceso de absorción continuo durante un periodo aproximado de una hora y media, al concluir este pseudo estado estacionario, el proceso de eliminación se presenta, a las 12 horas después de haber ingerido la teofilina, se observa un nuevo máximo aun cuando este es muy pequeño, ambas situaciones que se presentan en el voluntario 5 no están claras. El caso del voluntario 7 (tabla V.19) merece ser tratado aparte, el ajuste de los datos al modelo de un compartimento, reportó valores que hacen suponer que el modelo presenta flip-flop, al observar los valores de K_a y K_e , estos son de .196 y 3.23 respectivamente.

Desafortunadamente no fue posible efectuar en este voluntario un estudio donde se administrara la teofilina por via intravenosa en forma de bolo para poder de esta manera asegurar si efectivamente se presenta el fenómeno de flip-flop.

En la literatura no se menciona que teofilina presente el fenómeno de flip-flop, por lo cual no es posible concluir que este es el caso, aun cuando es un indicador que deberá ser tomado en cuenta en estudios posteriores.

Una explicación general para el fenómeno flip-flop es que la velocidad de disolución del fármaco es tan lenta que la velocidad

de absorción es muy pequeña, esta situación se presenta en algunos casos cuando se administran formas de liberación controlada por vía oral. En nuestro caso el fármaco se encuentra disuelto en la forma farmacéutica, lo cual invalida la explicación que se da para el caso de las formas de liberación sostenida, las siguientes son explicaciones tentativas que damos a este caso en particular.

1) El fármaco disuelto en el elixir, al llegar al estomago sufre un cambio de fase formando un microprecipitado, de tal forma que el fármaco deberá de disolverse, siendo este proceso muy lento, lo cual explicaría el fenómeno aparente de flip-flop.

2) El vaciamiento gástrico es muy lento, pero continuo, siendo esta situación la responsable del aparente flip-flop.

3) Una combinación de los dos sucesos anteriores también podrian dar por resultado un fenómeno aparente de flip-flop.

Criterio de AIC y de SC.- Estos criterios se basan en el análisis de los valores de la suma de los cuadrados de las observaciones y una función de restricción proporcional al número de parámetros en el modelo.

Ambos criterios son comparativos, aún cuando se ajustaron los datos a un modelo de 2 compartamentos (no se presentan los resultados), los resultados no son concluyentes si no se analizan en el contexto de los demás parámetros estadísticos.

Tabla V. 1

Parámetros estimados después de ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 1.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	16.0237	2.6209	10.3133	21.7342 UNIVARIADO
			7.3952	24.6522 PLANAR
Ka	2.7998	1.2759	.0199	5.5798 UNIVARIADO
			-1.4006	7.0004 PLANAR
Ke	.2000	.0669	.0540	.3459 UNIVARIADO
			-.0204	.42046 PLANAR

Tabla V. 2

Valores observados y calculados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 1.

Tiempo	Cp obs	Cp calc	Cp resi	Cp residual
hrs	mcg/ml			Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	8.890	6.111	2.779	1.857
.5000	7.650	8.848	-1.198	-.7387
.7500	10.40	9.923	.4769	.2665
1.000	8.120	10.19	-2.068	-1.146
1.500	8.120	9.756	-1.636	-.9321
2.000	9.400	8.960	.4396	.2451
2.500	5.280	8.140	-2.860	-1.548
3.000	8.550	7.374	1.176	.6270
4.000	8.120	6.040	2.080	1.116
5.000	6.700	4.945	1.755	.9653
7.000	6.000	3.315	2.685	1.521
9.000	4.000	2.222	1.778	.9931
12.00	3.150	1.219	1.931	1.027
24.00	1.450	.1106	1.339	.6621

Tabla V. 3

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los datos a un modelo de un compartamento voluntario 1.

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 129.54
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 49.3985
 CRITERIO DE AIC = 64.49880
 CRITERIO DE SC = 62.56088
 ABC POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 100.088

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	62.40705	13.48221
T 1/2 Ka	.24756	.11270
T 1/2 Ke	3.46572	1.15924
Tmax	1.01504	.26897
Cmax	10.18822	.93176

Fig V. 1 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 1)

Cp calculada

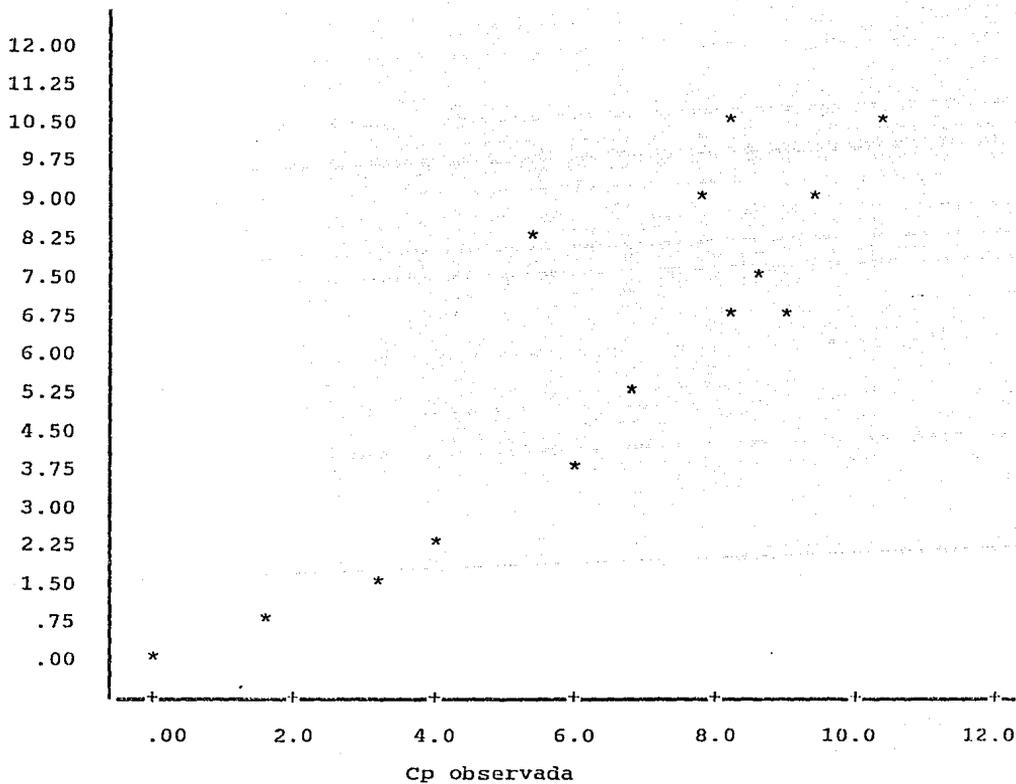


Fig V. 2 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 1)

Cp residual

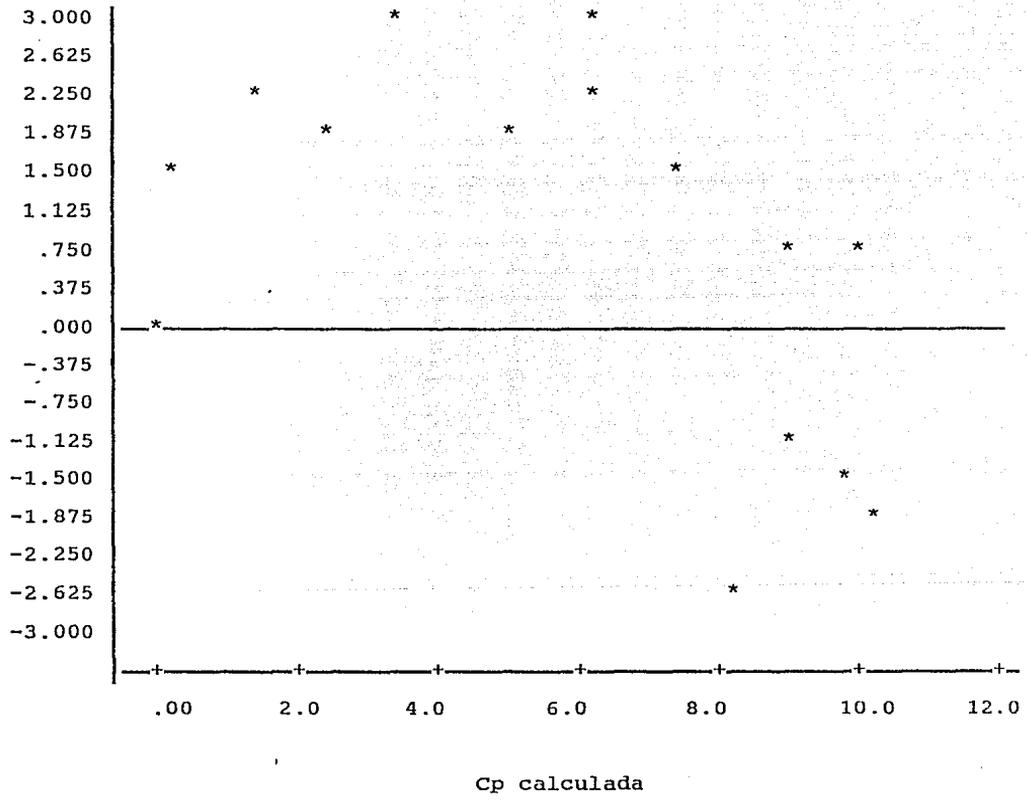


Fig V. 3 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 1)

Cp residual

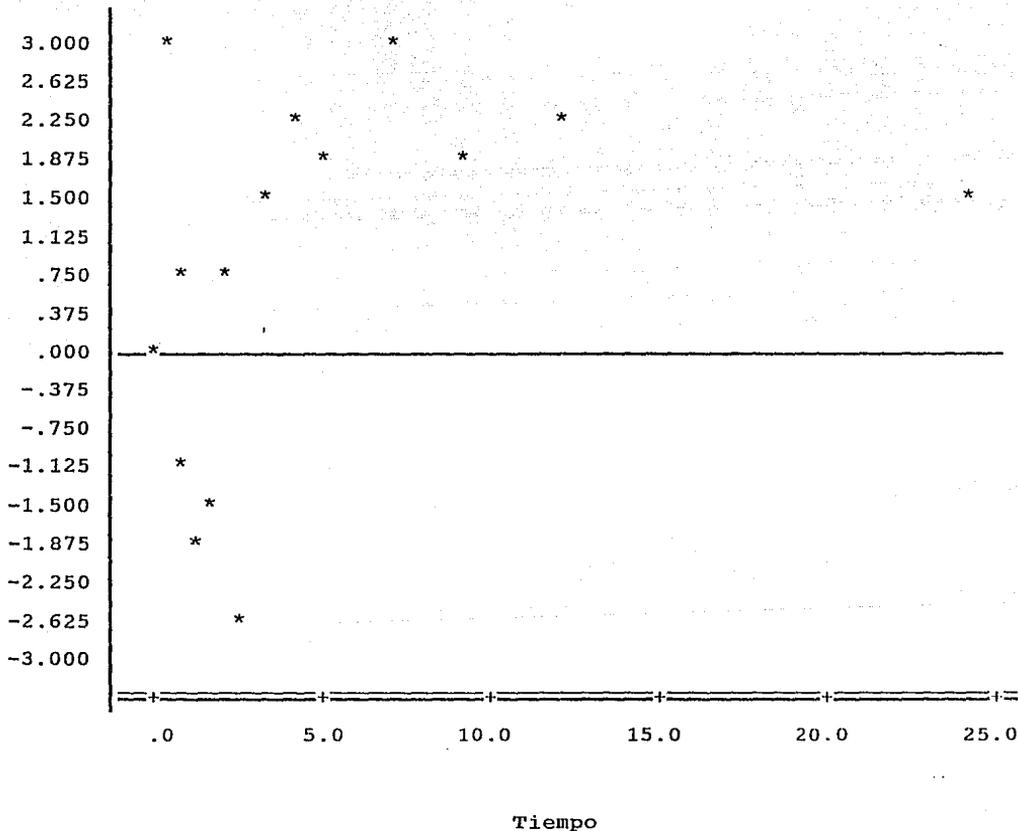


Tabla V. 4

Parámetros estimados después de ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 2.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	29.9995	10.4035	7.1012	52.8977 UNIVARIADO
			-4.7836	64.7826 PLANAR
Ka	1.0000	.6487	-.4279	2.4280 UNIVARIADO
			-1.1691	3.1691 PLANAR
Ke	.1470	.0950	-.0621	.3562 UNIVARIADO
			-.1707	.4647 PLANAR

Tabla V. 5

Valores observados y calculados ajustando los datos al modelo de un compartamento voluntario 2.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	Residual Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	.0000	1.736	-1.736	-1.093
.5000	2.990	3.026	-.0356	-.0240
.7500	1.490	3.970	-2.480	-1.708
1.000	8.100	4.646	3.454	2.351
1.500	4.500	5.430	-.9302	-.6105
2.000	3.290	5.720	-2.430	-1.593
2.500	5.550	5.724	-.1745	-.1166
3.000	5.400	5.567	-.1671	-.1136
4.000	6.300	5.037	1.263	.8557
5.000	5.550	4.434	1.116	.7423
7.000	3.140	3.343	-.2027	-.1381
9.000	2.090	2.496	-.4064	-.2968
12.00	1.300	1.607	-.3067	-.2334

Tabla V. 6

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores a un modelo de un compartamento voluntario 2..

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 77.7820
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 31.0626
 CRITERIO DE AIC = 54.10407
 CRITERIO DE SC = 52.06266
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 42.9575

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	54.4155	19.4907
T 1/2 Ka	.6931	.4492
T 1/2 Ke	4.7146	3.0448
Tmax	2.2476	.6261
Cmax	5.7489	.7323

Fig IV. 4 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 2)

Cp calculada

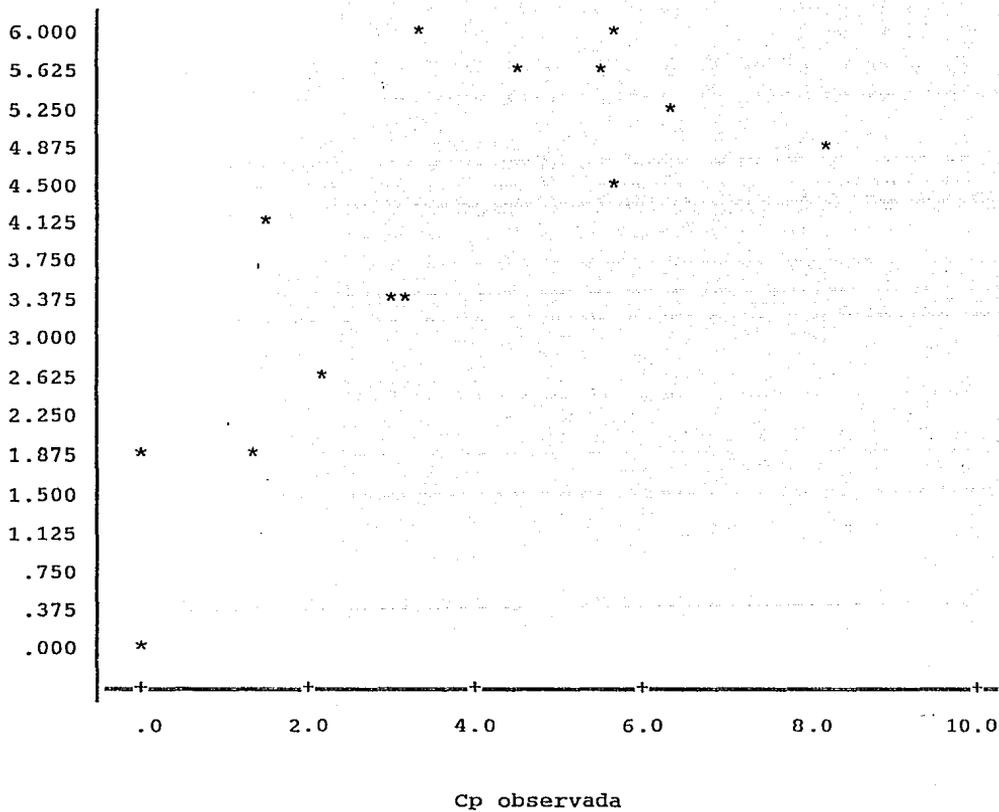
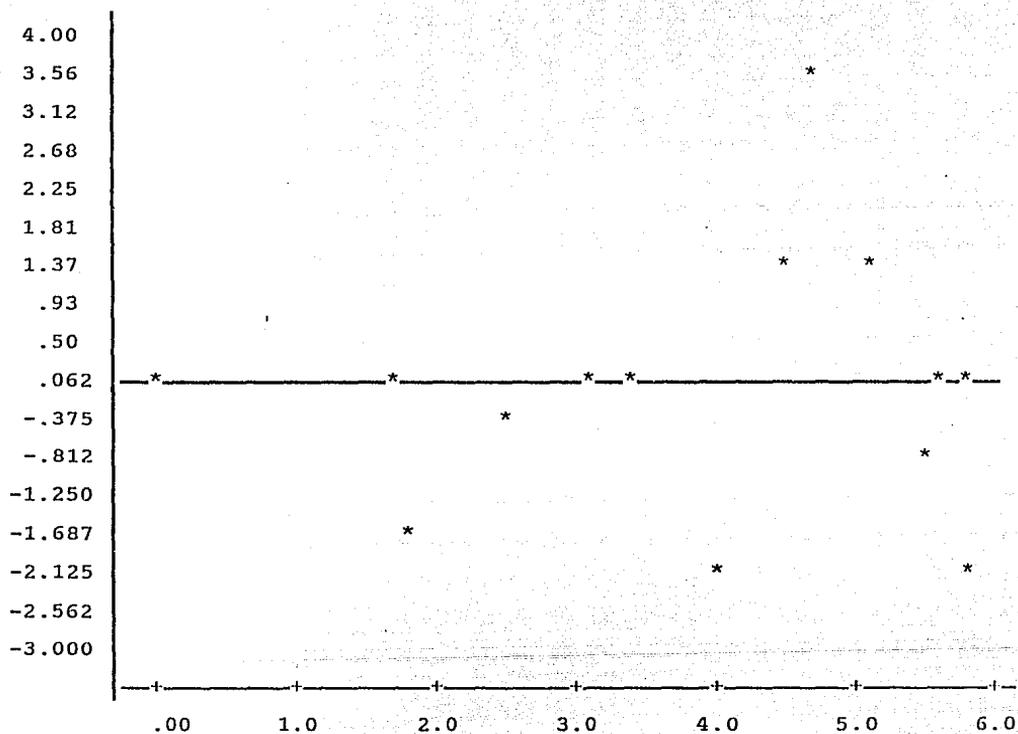


Fig V. 5 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADA (VOLUNTARIO 2)

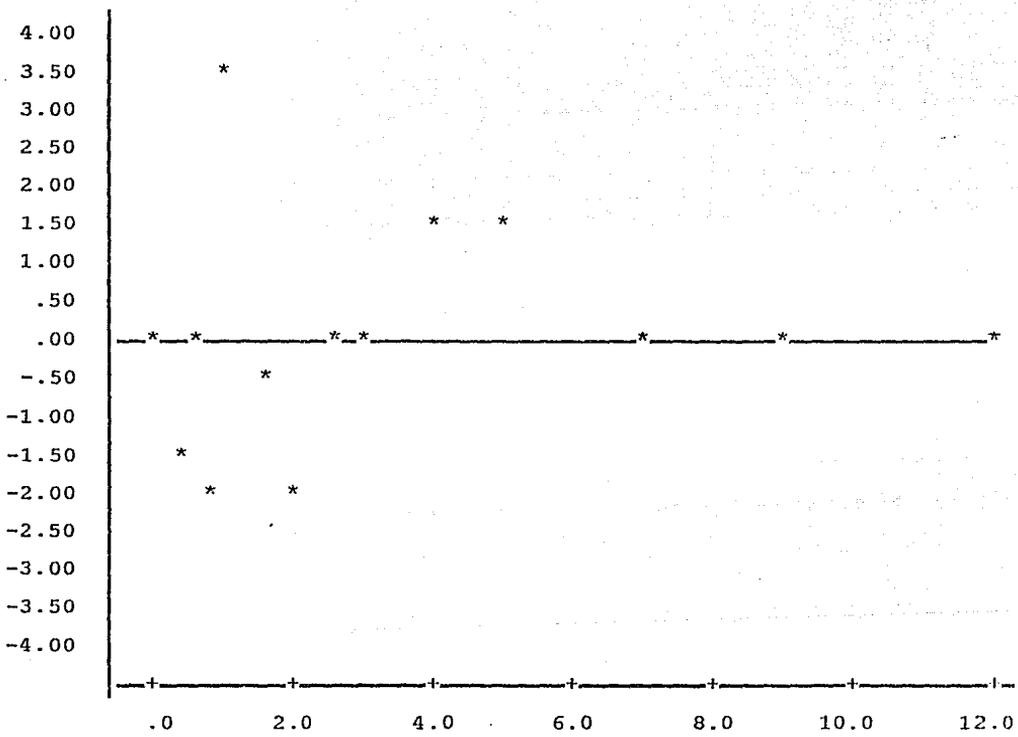
Cp residual



Cp calculada

Fig V. 6 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 2)

Cp residual



Tiempo

Tabla V. 7

Parámetros estimados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 3.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	27.5030	4.3868	17.7286	37.2775 UNIVARIADO
			12.5625	42.4435 PLANAR
Ka	1.8586	.6013	.5187	3.1984 UNIVARIADO
			-.1893	3.9065 PLANAR
Ke	.2691	.0747	.1025	.4356 UNIVARIADO
			.0145	.5237 PLANAR

Tabla V. 8

Valores observados y calculados ajustando los datos al modelo de un compartamento voluntario 3.

Tiempo	Cp obs	Cp obs	Cp resi	Cp residual
hrs	mcg/ml			Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	2.020	3.128	-1.108	-1.523
.5000	4.860	4.890	-.0304	-.0437
.7500	6.140	5.807	.3327	.4489
1.000	7.130	6.206	.9244	1.209
1.500	6.850	6.187	.6633	.8873
2.000	3.860	5.709	-1.849	-2.495
2.500	4.720	5.109	-.3889	-.5114
3.000	5.570	4.513	1.057	1.360
4.000	3.300	3.471	-.1714	-.2223
5.000	2.590	2.656	-.0600	-.0891
7.000	1.590	1.551	.0389	.0538
9.000	1.170	.9055	.2645	.3476

Tabla V. 9

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 3.

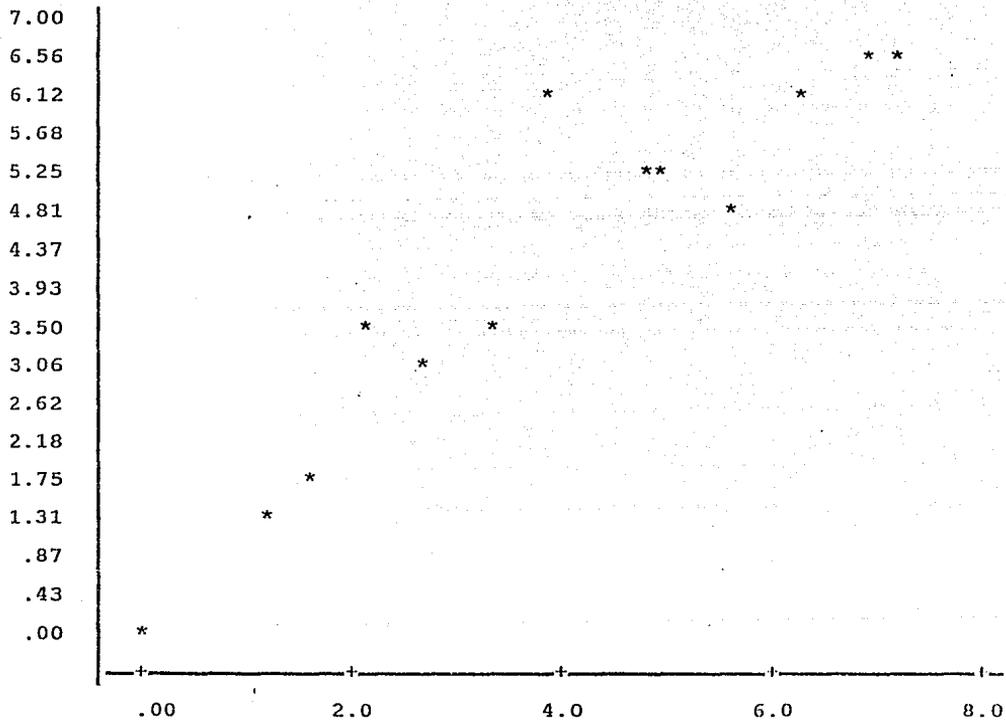
SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 62.0847
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 7.42694
 CRITERIO DE AIC = 32.06648
 CRITERIO DE SC = 29.91391
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS RESIDUALES = 29.3563

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	32.4258	4.8008
T 1/2 Ka	.3729	.1205
T 1/2 Ke	2.5756	.7147
Tmax	1.2157	.1802
Cmax	6.2912	.4024

Fig V. 7 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (voluntario 3)

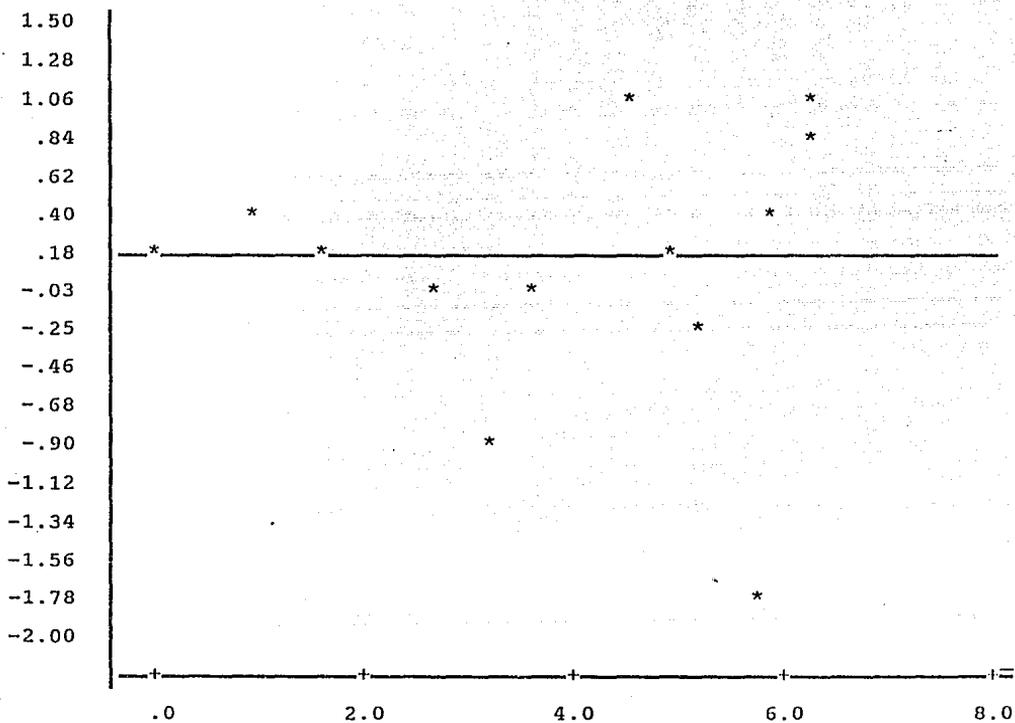
Cp calculada



Cp observada

Fig V. 8 Cp CALCULADO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 3)

Cp residual



Cp calculada

Fig V. 9 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 3)

Cp residual

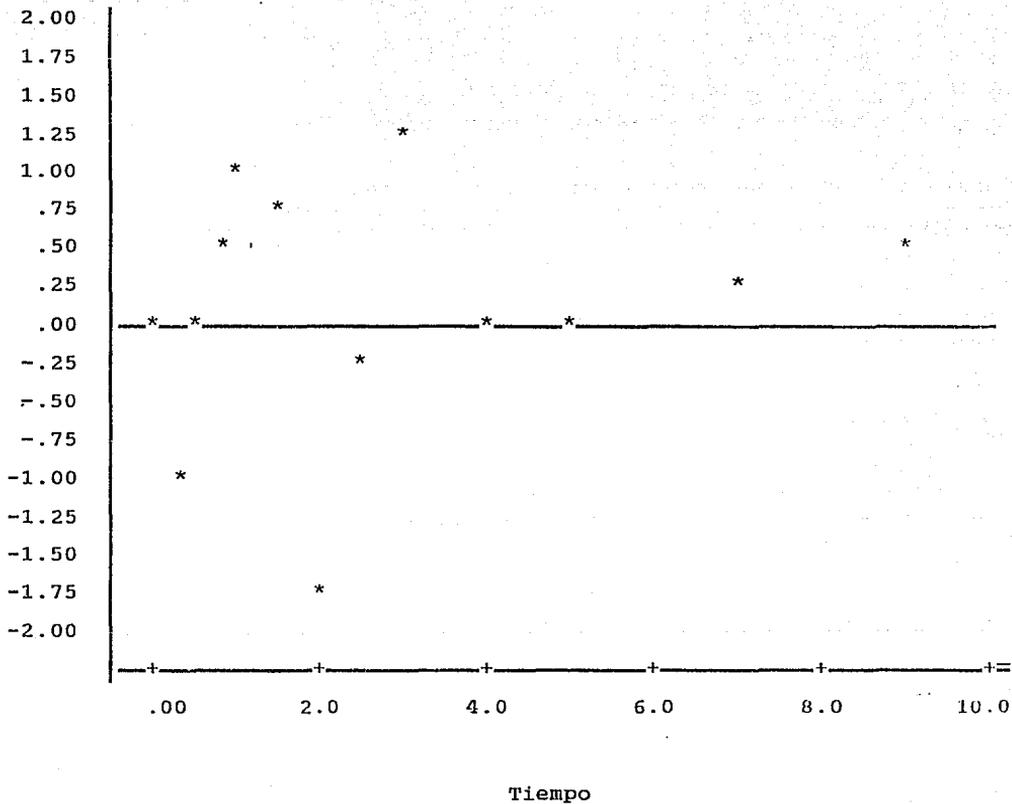


Tabla V. 10

Parámetros estimados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 4.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %		
Volumen	20.4079	1.4067	17.34285	23.47306	UNIVARIADO
			15.77660	25.03932	PLANAR
Ka	5.9999	2.2330	1.13444	10.86546	UNIVARIADO
			-1.35180	13.35171	PLANAR
Ke	.11367	.02199	.06575	.16159	UNIVARIADO
			.04126	.18608	PLANAR

Tabla V. 11

Valores observados y calculados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 4.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	Cp residual Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	10.97	8.977	1.993	3.955
.5000	8.270	10.73	-2.458	-2.104
.7500	11.53	10.87	.6556	.5525
1.000	12.81	10.67	2.141	1.819
1.500	8.550	10.11	-1.557	-1.292
2.000	7.980	9.549	-1.569	-1.273
2.500	9.500	9.022	.4781	.3827
3.000	8.690	8.523	.1666	.1326
4.000	7.980	7.608	.3724	.2978
5.000	6.990	6.790	.1999	.1621
7.000	5.570	5.409	.1607	.1351
9.000	3.800	4.309	-.5093	-.4388
12.00	3.100	3.064	.0359	.0310
24.00	1.450	.7832	.6668	.5239

Tabla V. 12

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 4.

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 192.058

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 21.0795

CRITERIO DE AIC = 51.72453

CRITERIO DE SC = 49.78661

ABC DETERMINADA POR LOS TRAPEZOIDES = 103.084

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	103.4548	15.4862
T 1/2 Ka	.1155	.0429
T 1/2 Ke	6.0976	1.1785
Tmax	.6737	.1817
Cmax	10.8930	.5781

Fig. V 10 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 4)

Cp calculada

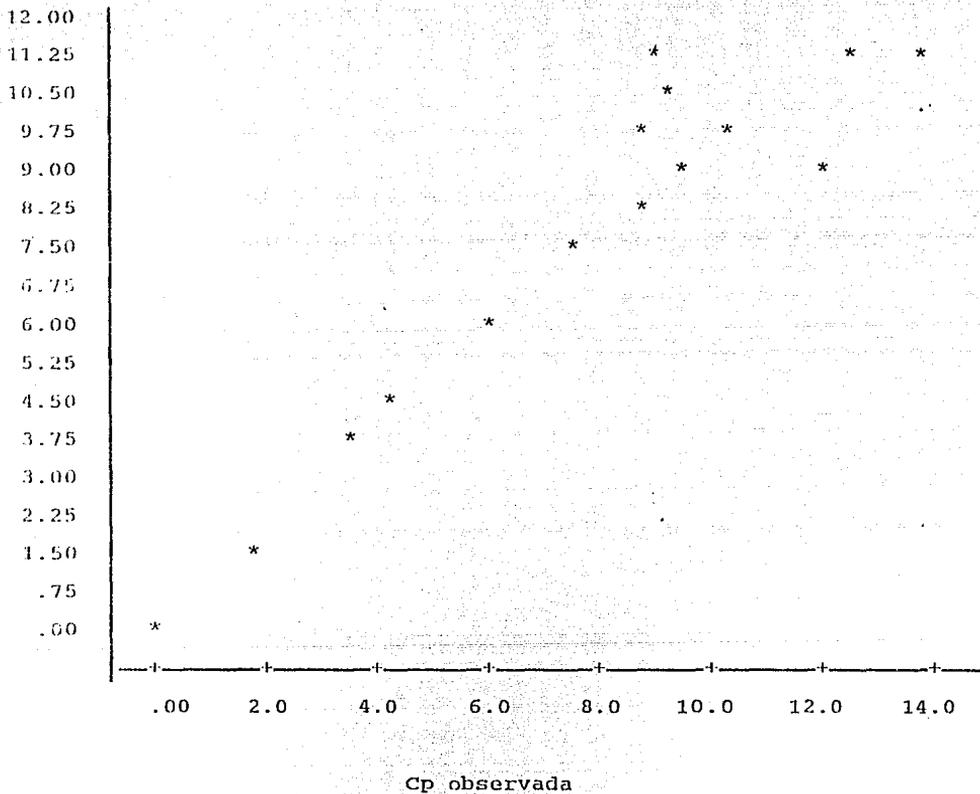
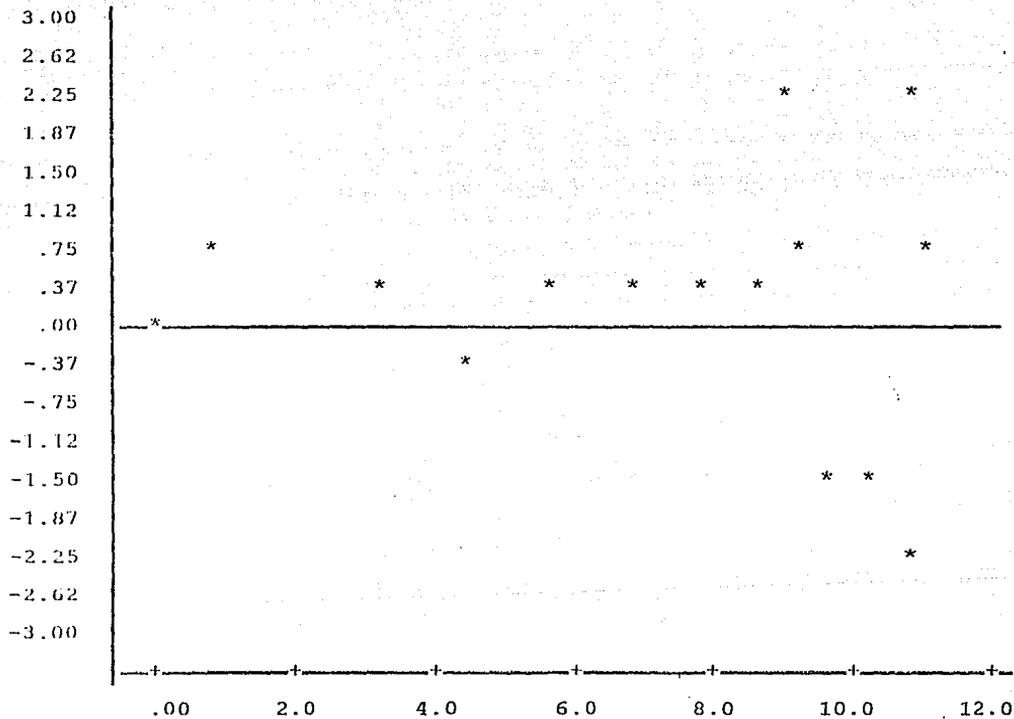


Fig V. 11 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 4)

Cp residual



Cp calculada

Fig V. 12 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 4)

Cp residual

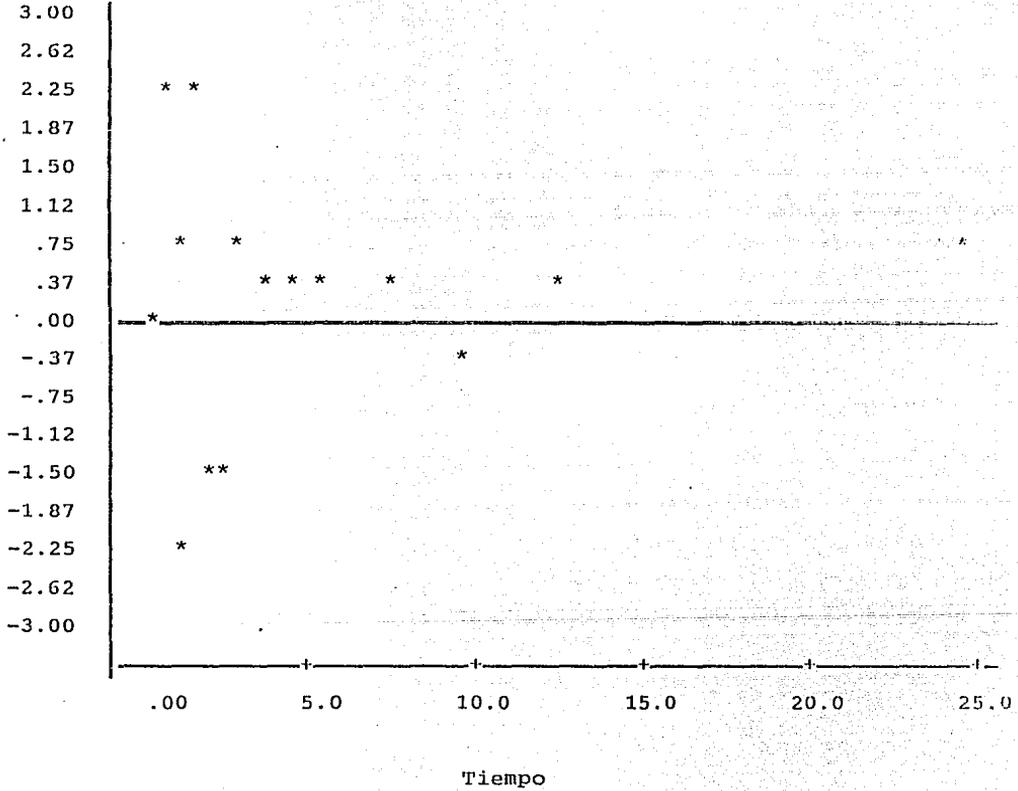


Tabla V. 13

Parámetros estimados después de ajustar los valores al modelo de un compartamento con T_{lag} voluntario 5.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %		
Volumen	34.8635	2.0531	30.3445	39.3825	UNIVARIADO
			27.2525	42.4744	PLANAR
Ka	1.6713	.3281	.9491	2.3934	UNIVARIADO
			.4550	2.8875	PLANAR
Ke	.0954	.0137	.0652	.1257	UNIVARIADO
			.044	.1464	PLANAR
T_{lag}	.4499	.0422	.3570	.5429	UNIVARIADO
			.2934	.6065	PLANAR

Tabla V. 14

Datos observados y calculados ajustando los datos al modelo de un compartamento con T_{lag} voluntario 5.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	RESIDUAL ESTANDARIZADO
.0000	.0000	.000	.0000	.0000
.2500	.0000	.000	.0000	.0000
.5000	.0000	.550	-.5506	-3.776
.7500	3.150	2.673	.4773	1.400
1.000	3.580	4.016	-.4357	-1.356
1.500	5.710	5.342	.3680	1.041
2.000	5.430	5.749	-.3192	-.8492
2.500	5.710	5.766	-.0557	-.1498
3.000	5.710	5.620	.0897	.2445
4.000	5.710	5.183	.5274	1.412
5.000	4.700	4.725	-.0245	-.0641
7.000	3.580	3.906	-.3261	-.8558
9.000	2.700	3.227	-.5271	-1.448
12.00	2.590	2.423	.1667	.4895
24.00	1.310	.770	.5396	1.460

Tabla V. 15

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores a un modelo de un compartamento con T_{lag} voluntario 5.

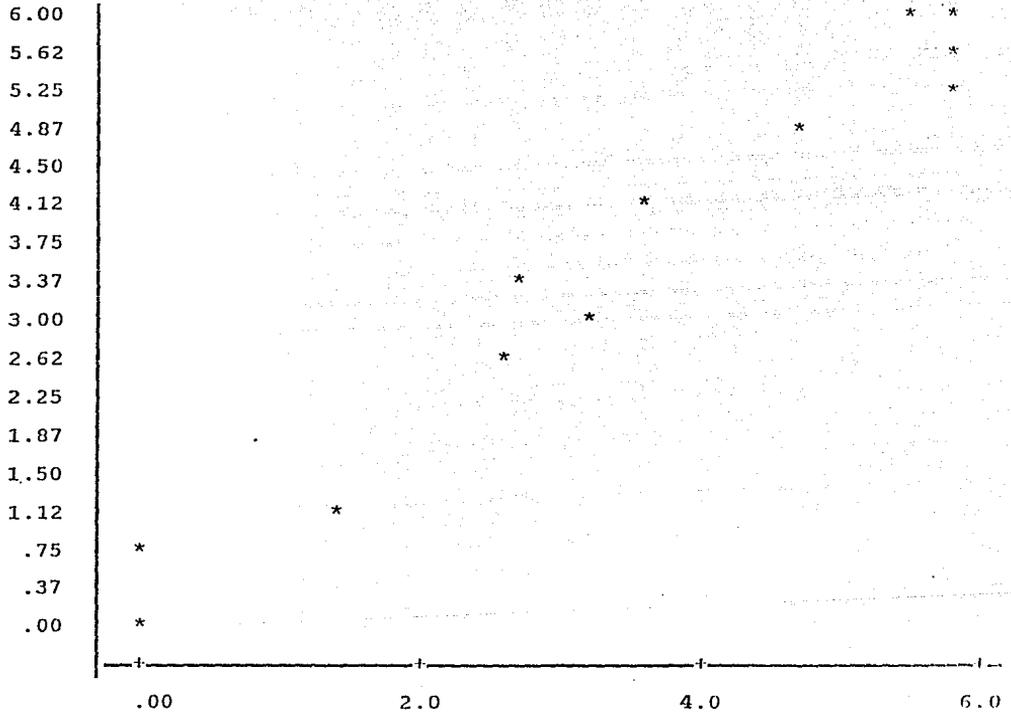
SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBERVACIONES = 67.3932
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 1.95096
 CRITERIO DE AIC = 18.02484
 CRITERIO DE SC = 15.44094
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 68.7925

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	72.0904	7.2461
T 1/2 Ka	.4147	.0813
T 1/2 Ke	7.2587	1.0437
Tmax	2.2664	.1937
Cmax	5.7877	.1913

Fig V. 13 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 5)

Cp calculada



Cp observada

Fig V. 14 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 5)

Cp residual

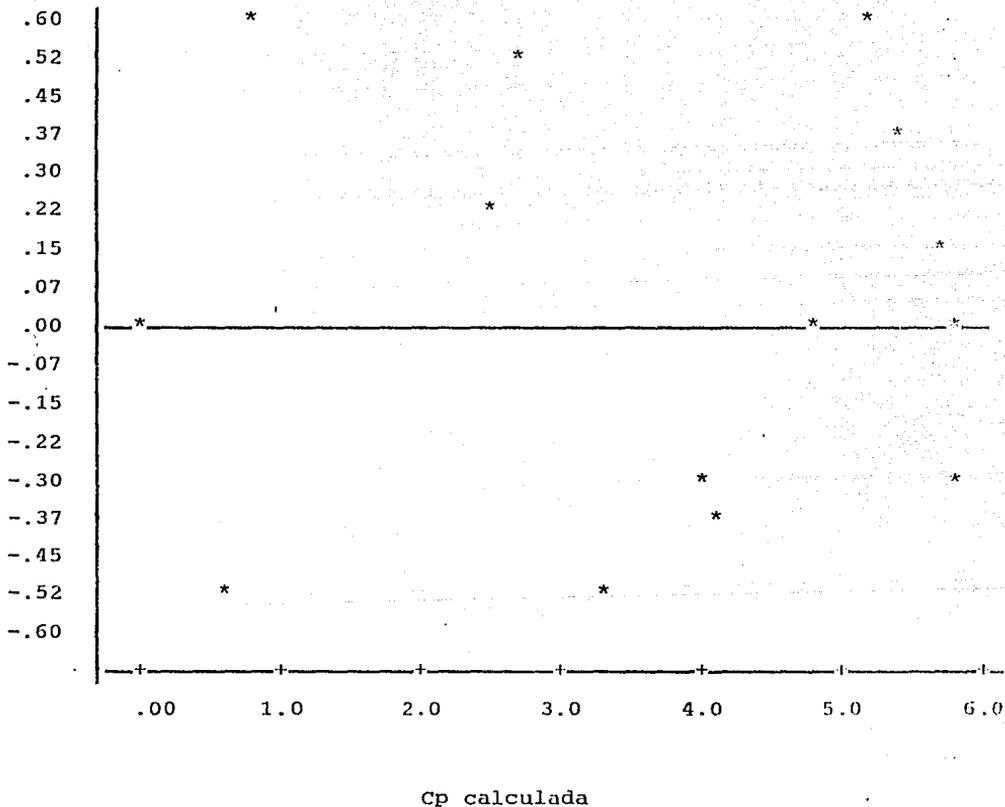


Fig V. 15 TIEMPO VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 5)

Cp residual

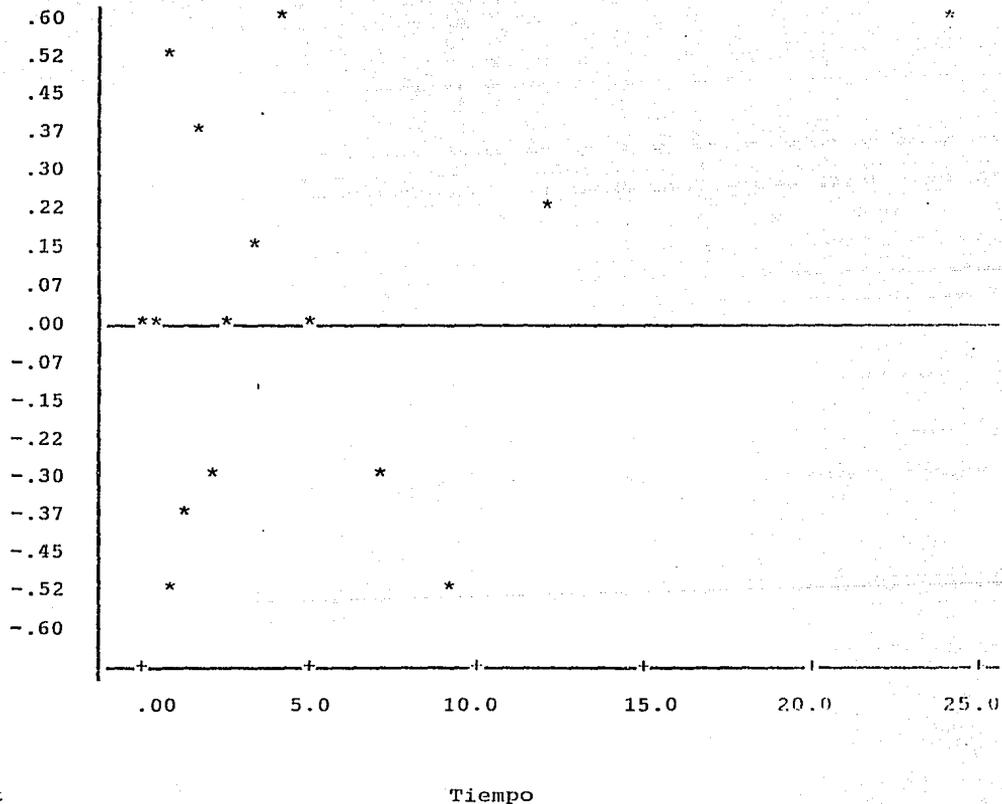


Tabla V. 16

Parámetros estimados después de ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 6.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	37.1310	5.7999	24.4940 18.0366	49.7679 UNIVARIADO 56.2253 PLANAR
Ka	1.9973	.8325	.1833 -.7436	3.8114 UNIVARIADO 4.7384 PLANAR
Ke	.1217	.0446	.0245 -.0251	.2188 UNIVARIADO .2685 PLANAR

Tabla V. 17

Valores observados y calculados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 6.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	RESIDUAL ESTANDARIZADO
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	.0000	2.499	-2.499	-2.625
.5000	5.140	3.941	1.199	1.324
.7500	5.990	4.744	1.246	1.295
1.000	6.420	5.160	1.260	1.254
1.500	5.140	5.390	-.2505	-.2493
2.000	4.290	5.269	-.9792	-.9925
2.500	4.720	5.031	-.3107	-.3135
3.000	4.570	4.760	-.1905	-.1890
4.000	3.000	4.228	-1.228	-1.190
5.000	3.800	3.745	.0548	.0531
7.000	3.300	2.936	.3637	.3671
9.000	2.600	2.302	.2981	.3132
12.00	2.160	1.598	.5622	.6004
24.00	1.310	.3709	.9391	.883

Tabla V. 18

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores a un modelo de un compartamento voluntario 6.

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 55.6446

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 14.9074

CRITERIO DE AIC = 46.52788

CRITERIO DE SC = 44.58995

ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 61.5525

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	53.1111	13.4013
T 1/2 Ka	.3470	.1445
T 1/2 Ke	5.6955	2.0855
Tmax	1.4917	.3629
Cmax	5.3905	.4812

Fig V. 16 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 6)

Cp calculada

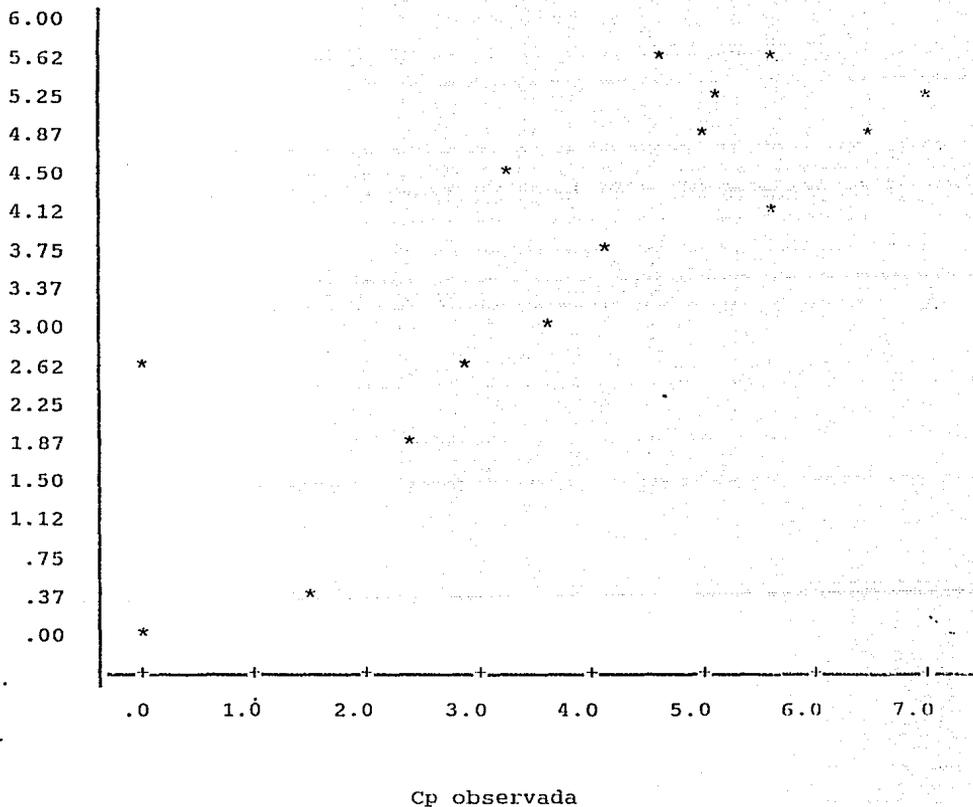
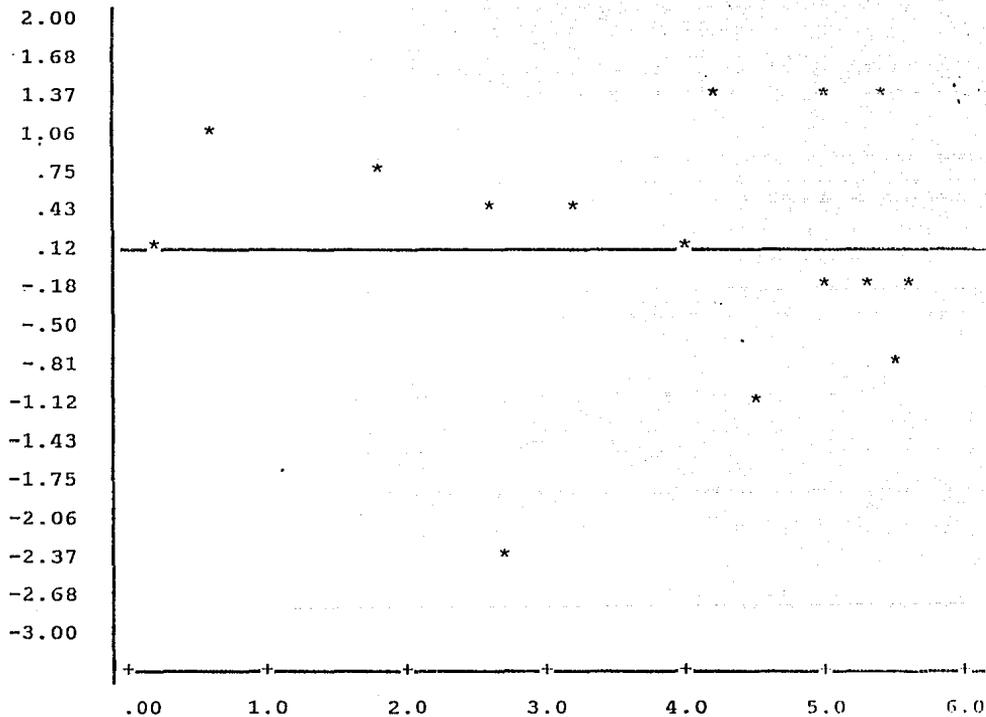


Fig V. 17 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 6)

Cp residual



Cp calculada

Fig V. 18 TIEMPO VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 6)

Cp residual

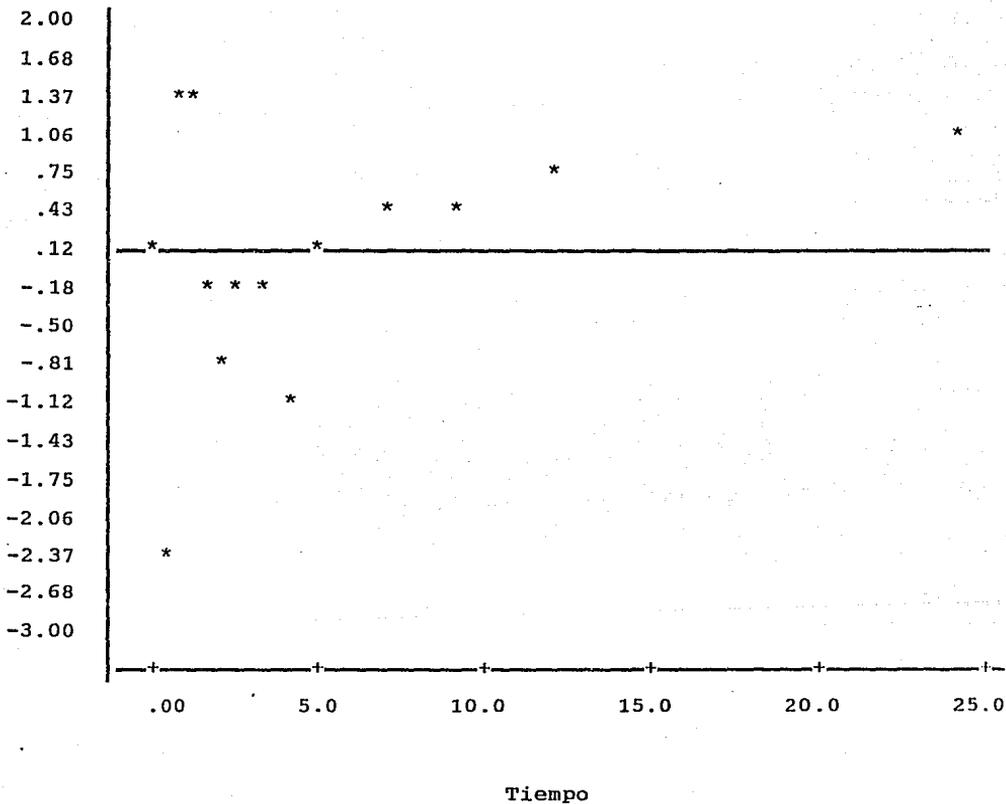


Tabla V. 19

Parámetros estimados después de ajustar los valores al modelo de un compartamento (aparente flip-flop) voluntario 7.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95, %	
Volumen	2.3338	.3607	1.5300	3.1376 UNIVARIADO
			1.1052	3.5624 PLANAR
Ka	.1967	.0171	.1585	.2350 UNIVARIADO
			.1382	.2553 PLANAR
Ke	3.2322	.3875	2.3688	4.0957 UNIVARIADO
			1.9124	4.5520 PLANAR

Tabla V. 20

Valores observados y calculados después de ajustar los datos a un modelo de un compartamento (aparente flip-flop) voluntario 7.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	Residual Estandarizado
.000	.000	.000	.000	.000
.250	3.010	3.038	-.0278	-.1774
.5000	4.430	4.246	.1840	.9831
.7500	4.570	4.646	-.0756	-.3684
1.000	4.400	4.692	-.2916	-1.432
1.500	4.520	4.420	.1005	.5017
2.000	4.010	4.039	-.0286	-.1381
2.500	3.860	3.667	.1932	.9056
3.000	3.600	3.324	.2755	1.280
4.000	2.400	2.731	-.3309	-1.566
5.000	2.300	2.243	.0569	.2782
7.000	1.200	1.513	-.3132	-1.583
9.000	1.300	1.021	.2792	1.387

Tabla V. 21

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores a un modelo de un compartamento (aparente flip-flop) voluntario 7. .

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 26.85
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = .538296
 CRITERIO DE AIC = -2.05150
 CRITERIO DE SC = -4.20407
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 23.0975

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	28.6334	1.6540
T 1/2 Ka	3.5221	.3071
T 1/2 Ke	.2144	.0256
Tmax	.9220	.0659
Cmax	4.6999	.1087

Fig V. 19 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 7)

Cp calculada

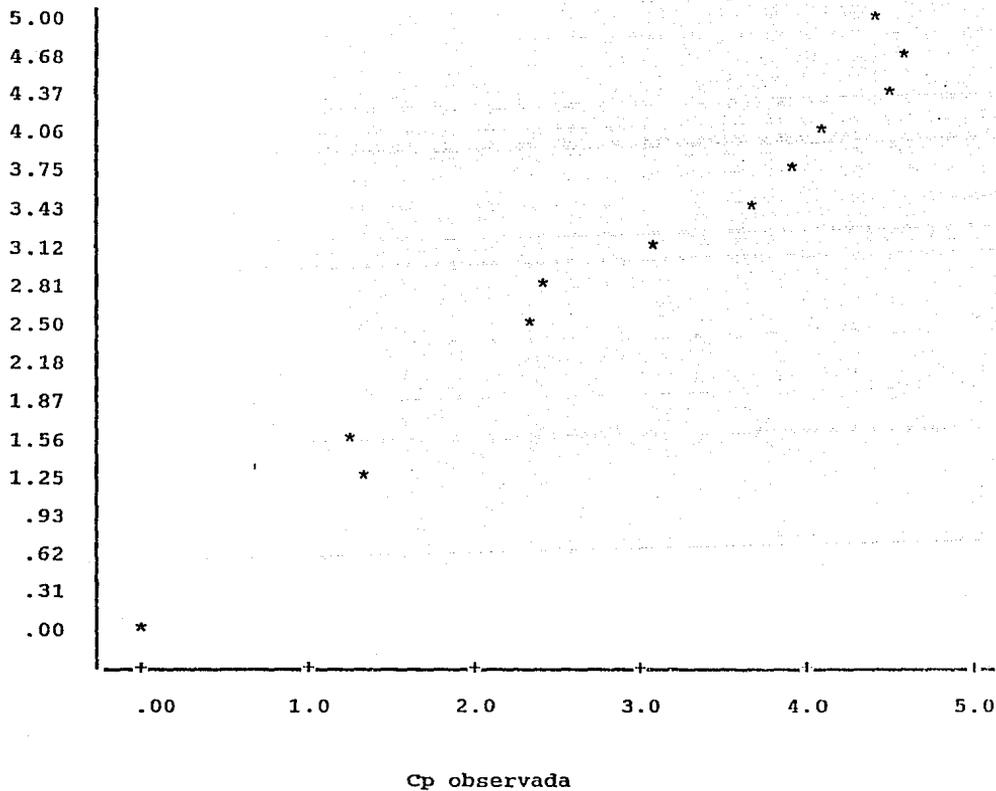


Fig V. 20 Cp OBSERVADOS VS Cp RESIDUALES ESTANDARIZADOS (VOLUNTARIO 7)

Cp residuales

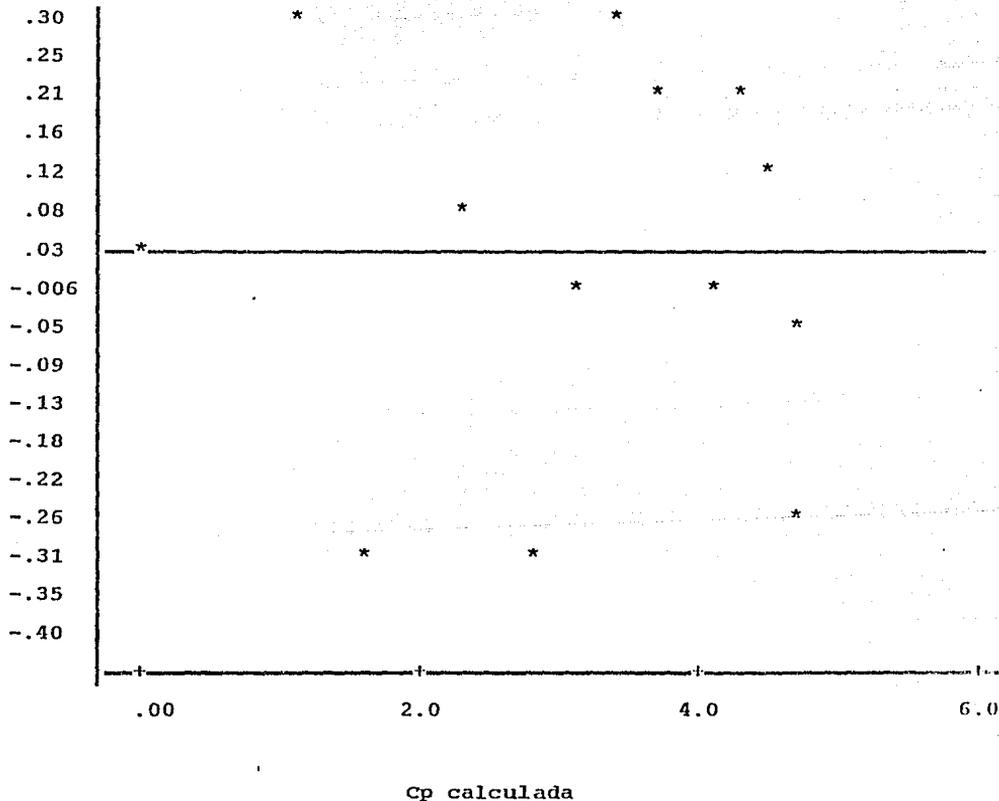
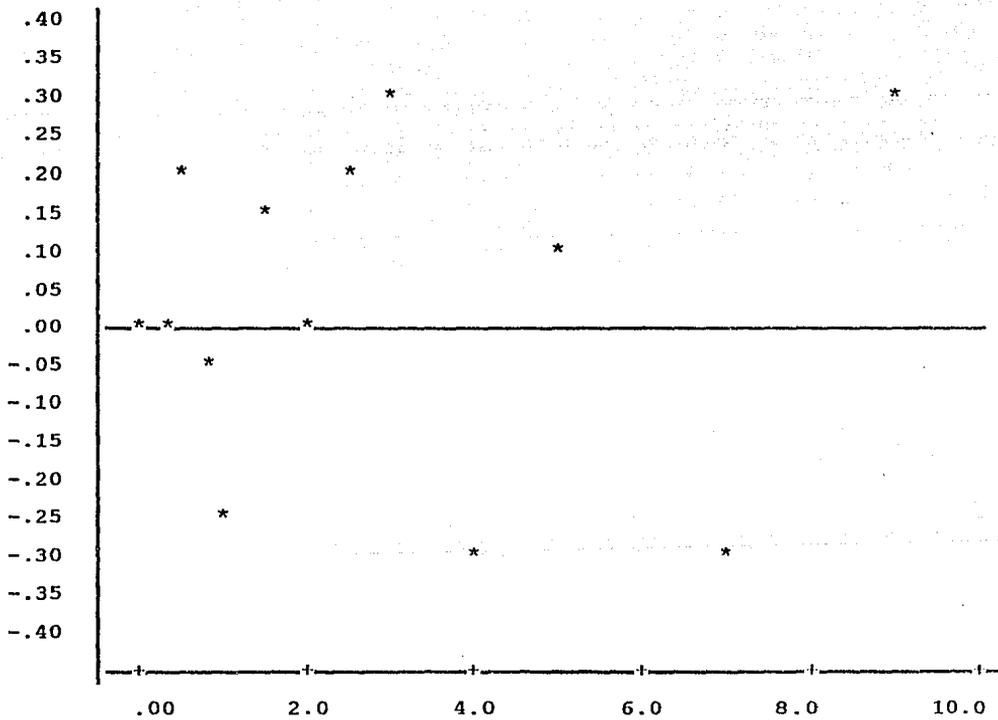


Fig V. 21 TIEMPO VS Cp RESIDUALES ESTANDARIZADOS (VOLUNTARIO 7)

Cp residuales



Tiempo

5.2.2 ESTUDIO II

En el caso del estudio II, donde participaron los voluntarios 2 y 3 a los cuales se les administró teofilina pura dispersada en agua, se observa que el comportamiento del voluntario 2 es muy parecido al que presentó en el estudio I, la única diferencia importante se encuentra en la magnitud de los niveles plasmáticos, por ejemplo C_{max} calculada usando el paquete PCNONLIN, en el caso del estudio I es de 5.7 (tabla V.6) y en el II es de 15.7 (tabla V.23), el ABC es de 54.41 (tabla V.6) y de 190.8 (tabla V.23), esto es, el modelo con el cual se ajustaron los datos tiene las mismas limitaciones que el del estudio I, y las conclusiones de este se aplican también.

Sin embargo en el caso del voluntario 3 en la figura IV.10, los valores de C_p observada y C_p calculada son indistinguibles, esto es el modelo de un compartamento representa adecuadamente los datos, esto lo podemos también observar en la tabla V.25 donde los valores de los intervalos de confianza de los parámetros expresados en porcentajes para el caso de K_a va del 77 a 122 %, K_e de 82 a 118 % y el volumen de 91.4 a 109.3 % para el caso de los univariados, aunque para los planares la situación en general se mantiene.

Al ajustar los datos usando la función de peso de -1 , los valores de los parámetros se mantienen muy parecidos, esto es el modelo sigue siendo válido para expresar la relación entre los valores de concentración plasmática y el tiempo.

Las gráficas de residuales figuras V.26 y V.27 no presentan ningún patrón de comportamiento, no violando los supuestos en que se

basan los análisis de los residuales.

En la tabla V.9 se observa que el valor de C_{max} para el estudio I fue de 6.29 y en la tabla V.27 que corresponde al estudio II, es de 14.74, los valores de T_{max} fueron muy semejantes, el ABC para el estudio I fue de 29.35 y en el II de 89.43.

Aun cuando los resultados obtenidos en el estudio II son insuficientes para poder hacer inferencias respecto al estudio I, intentaremos hacerlo, con las limitaciones que esto implica.

El comportamiento errático en el proceso de absorción es en general un problema de biodisponibilidad de la forma farmacéutica.

De acuerdo al análisis presentado en la discusión que se dio para el caso del estudio I, el comportamiento errático en el proceso de absorción, es característico para algunos fármacos como por ejemplo cimetidina (52), doxiciclina (53), veraliprida (54), alopuridol (55), sulfisoxazol (55), griseofulvina (56), buformin (56), ácido nalidixico (56) y carbamazepina (57), los cuales son administrados en formas de liberación llamadas inmediatas, así mismo algunos fármacos cuando son administrados en formas de liberación controlada presentan perfiles de absorción irregulares, como es el caso de pindolol (56) y el clorhidrato de diltiazem (56).

Aun cuando en el caso de la teofilina no existen reportes específicos con respecto a un comportamiento errático en el proceso de absorción, fue posible analizando algunos artículos, encontrar al menos dos casos en los cuales 2 voluntarios en dichos reportes presentan un comportamiento errático en el proceso de absorción, en el primero de ellos. Simons et al (59), efectuaron un estudio de biodisponibilidad de tabletas de teofilina de liberación sostenida y donde se presentan los datos de concentración plasmática con

respecto al tiempo, se observa que el voluntario A, presenta un primer máximo a las 1.75 hrs y un segundo máximo a las 6 hrs, el voluntario D presenta también un primer máximo a las .5 hrs y otro segundo máximo a las 8 hrs.

En el segundo Koysooko et al (10) evaluaron el efecto de etanol en la absorción de teofilina, encontrando que aun concentraciones del 20 % de este en el elixir, no alteraba el proceso de absorción cuando se comparaban en los mismos voluntarios contra una solución de de teofilina, la cual no incluía al etanol. Al efectuar un análisis más minucioso del artículo, se observó que en los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo para uno de los voluntarios, la existencia de un doble pico (fig V.28), los datos de este voluntario fueron ajustados al modelo de un compartamento utilizando el paquete PCNONLIN, en las tablas V.28, V.29 y V.30 se observan los resultados del ajuste no-lineal.

El valor del límite de confianza expresado en porcentaje, para el caso del volumen fue de 28.9 a 171 % , el de K_a de - 85.9 a 278 %, y el de K_e de -120 a 316 % , para el univariado y en el caso del plámar los valores van de negativos a positivos.

En la figura V.30, la cual es una gráfica de C_p calculada vs C_p residual estandarizado y en la fig V.31, la cual es la grafica de Tiempo vs C_p residual estandarizado se observa que la distribución de los residuales no es al azar, presentando una distribución más o menos localizada de los residuales, lo cual es un indicio de que se están violando las consideraciones en que se basan estos. Por lo cual el modelo no representa adecuadamente a los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo

En ambos estudios ninguno de los investigadores toma en

cuenta el comportamiento inusual de sus voluntarios y por lo tanto no dan ninguna explicación de ese comportamiento en particular.

Tomando en cuenta el comportamiento de la mayoría de los voluntarios que participaron en el estudio I, el comportamiento del voluntario 2 y el voluntario 3 que participaron en ambos estudios, así como los ejemplos antes mencionados, parece posible asumir, que los dobles y triples picos se presentan debido a una combinación de las características de los voluntarios y de la forma farmacéutica.

Aun cuando en este caso en particular es muy posible que el factor determinante en la aparición de estos picos sea debido a la forma farmacéutica, desafortunadamente no fue posible contar con el resto de los voluntarios para el estudio II, por lo cual carecemos de suficientes datos para poder dar una explicación más completa del proceso de absorción.

Es necesario aclarar que el paquete PCNONLIN en el caso de administraciones extravasculares asume un valor de $F = 1$, por lo cual el valor del volumen en realidad es V/F , en los casos analizados en el estudio I y II, desconocemos el valor de F , aun cuando los valores del volumen de los voluntarios 2 y 3 en ambos estudios son diferentes, esto es:

VOLUMEN DE DISTRIBUCION

	Voluntario	
	2	3
ESTUDIO I	29	27
ESTUDIO II	11	10

Dentro de cada estudio son muy parecidos, aun con lo cual los valores son sólo indicativos y carecen de interpretación real.

Tabla V. 22

Parámetros estimados después de ajustar los datos a un modelo de un compartamento voluntario 2.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %		
Volumen	11.6407	.8994	9.661	13.6204	UNIVARIADO
			8.6335	14.6480	PLANAR
Ka	4.1296	1.3397	1.1808	7.0784	UNIVARIADO
			-.3496	8.6089	PLANAR
Ke	.0900	.0197	.0466	.1334	UNIVARIADO
			.0241	.1559	PLANAR

Tabla V. 23

Valores observados y calculados al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 2.

Tiempo	Cp obs	Cp calc	Cp resi	Residual
hrs	mcg/ml			Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	8.000	10.92	-2.918	-2.472
.5000	17.50	14.56	2.937	1.738
.7500	18.50	15.62	2.876	1.569
1.000	15.00	15.77	-.7690	-.4255
1.500	11.50	15.31	-3.809	-2.133
2.000	14.50	14.66	-.1649	-.0904
3.000	14.00	13.41	.5937	.3147
4.000	11.00	12.25	-1.252	-.6573
5.000	12.50	11.20	1.303	.6875
7.000	10.00	9.352	.6482	.3524
9.000	8.400	7.811	.5893	.3315
12.00	6.000	5.962	.0382	.0222
24.00	1.500	2.024	-.5236	-.2833

Tabla V. 24

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 2.

SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 389.020
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALS = 45.2018
 CRITERIO DE AIC = 59.35591
 CRITERIO DE SC = 57.31450
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 172.000

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	190.8156	32.3844
T 1/2 Ka	.1678	.0543
T 1/2 Ke	7.6982	1.6844
Tmax	.9470	.2151
Cmax	15.776656	.9022

Fig V. 22 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 2)

Cp calculado

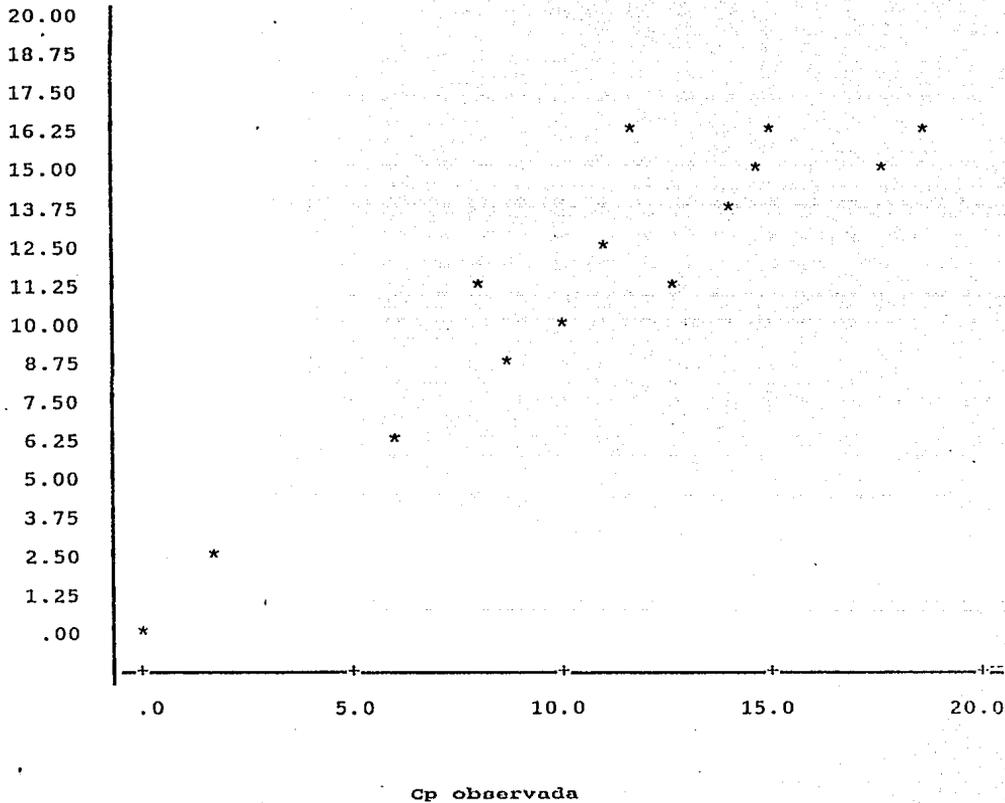


Fig V. 23 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADA (VOLUNTARIO 2)

Cp residual

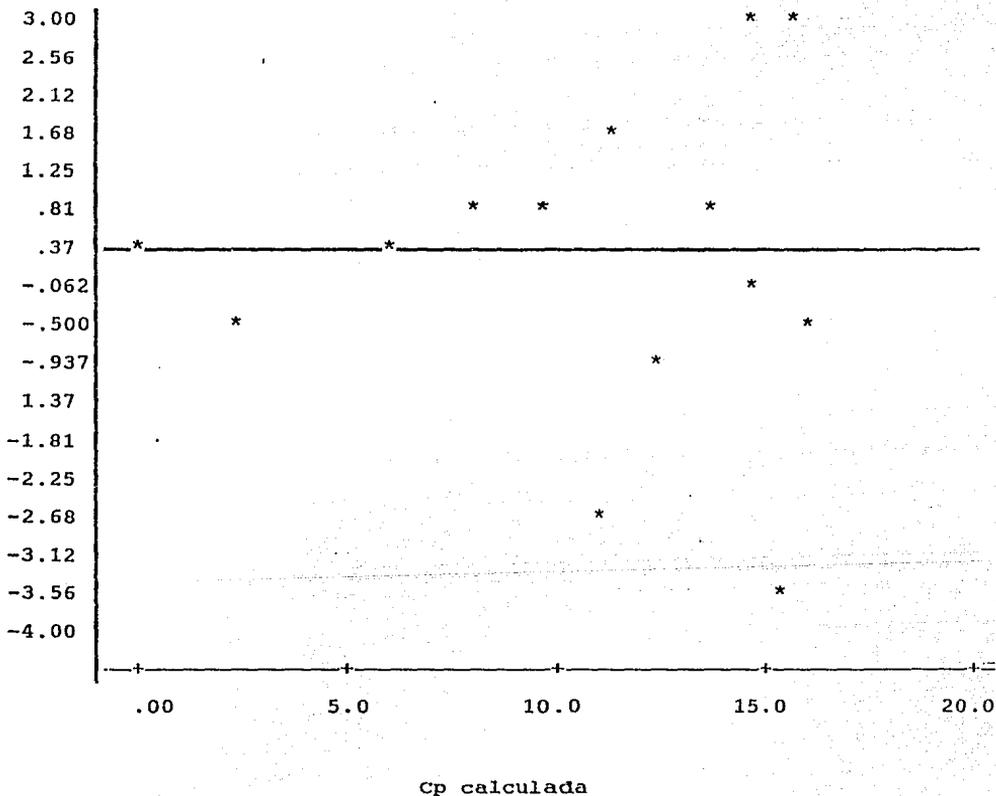


Fig V. 24 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO (VOLUNTARIO 2)

Cp residual

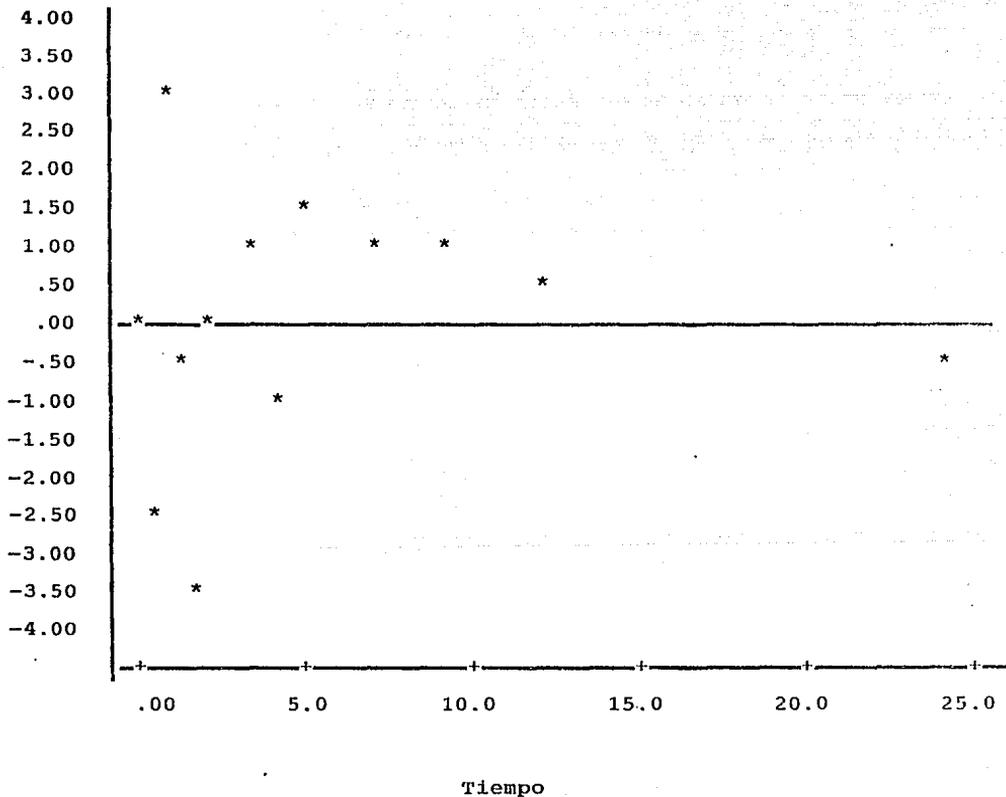


Tabla V. 25

Parámetros estimados después de ajustar los datos al modelo de un compartamento en el voluntario 3.

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	10.7958	.4555	9.7806 9.2441	11.8109 UNIVARIADO 12.3474 PLANAR
Ka	2.1308	.2191	1.6426 1.3845	2.6190 UNIVARIADO 2.8771 PLANAR
Ke	.1799	.0146	.1474 .1302	.2125 UNIVARIADO .2297 PLANAR

Tabla V. 26

Valores observados y calculados después de ajustar los datos modelo de un compartamento voluntario 3.

Tiempo hrs	Cp obs mcg/ml	Cp calc	Cp resi	Cp residual Estandarizado
.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
.2500	9.000	7.466	1.534	2.787
.5000	11.00	11.52	-.5208	-.9686
.7500	12.50	13.59	-1.087	-1.870
1.000	14.50	14.50	.0009	.0015
1.500	15.00	14.62	.3809	.6642
2.000	14.00	13.83	.1678	.2983
3.000	12.00	11.76	.2419	.4067
4.000	10.00	9.845	.1546	.2533
5.000	8.000	8.226	-.2265	-.3756
7.000	6.000	5.740	.2602	.4498
9.000	3.550	4.005	-.4545	-.7901
12.00	2.000	2.334	-.3336	-.5561

Tabla V. 27

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los valores al modelo de un compartamento voluntario 3.

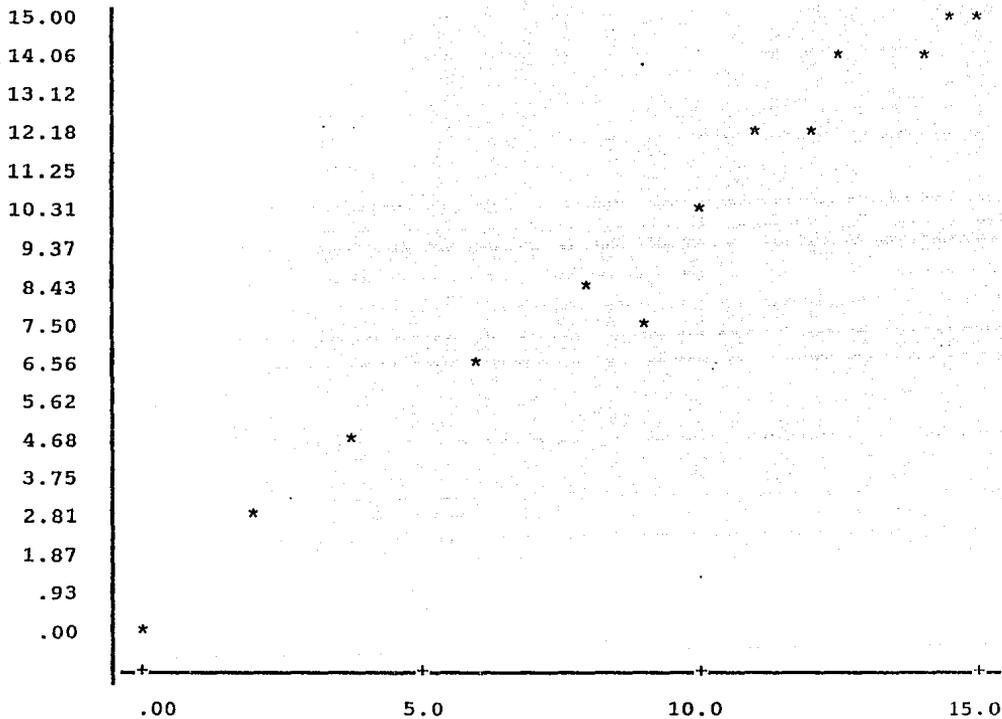
SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 287.179
 SUM DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 4.49639
 CRITERIO DE AIC = 25.54256
 CRITERIO DE SC = 23.38998
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS TRAPEZOIDES = 89.4375

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	102.9210	5.2037
T 1/2 Ka	.3252	.0334
T 1/2 Ke	3.8508	.3122
Tmax	1.2667	.0715
Cmax	14.7484	.3232

Fig V. 25 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 3)

Cp calculada



Cp observada

Fig V. 26 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADA (VOLUNTARIO 3)

Cp residual

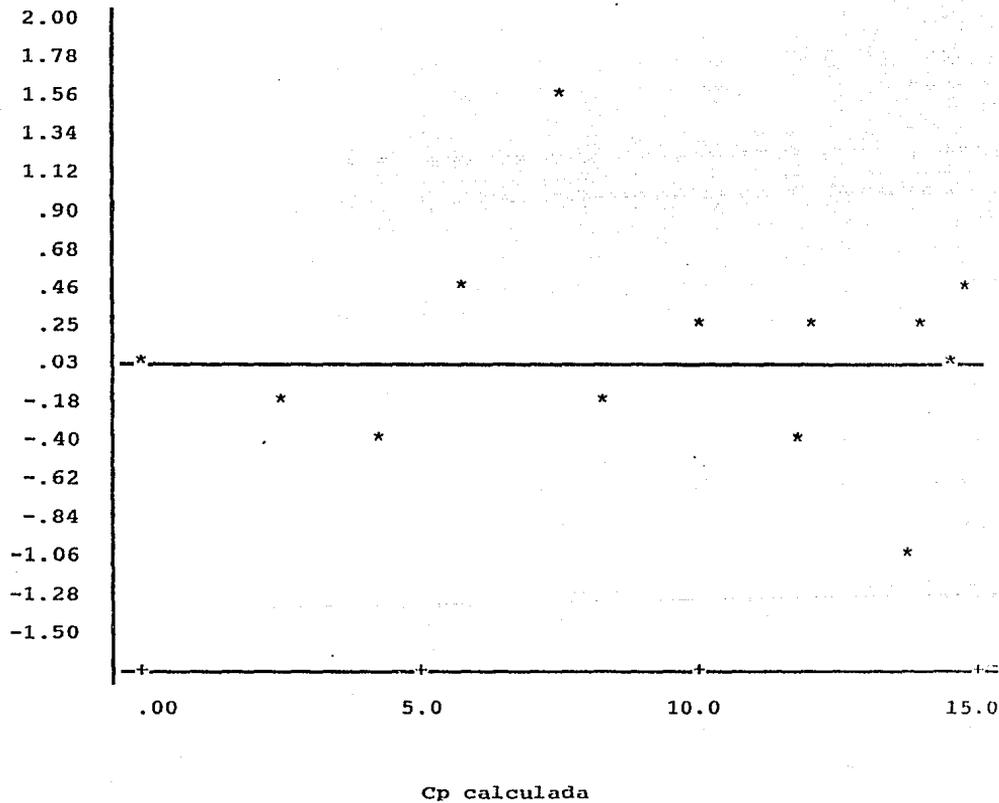
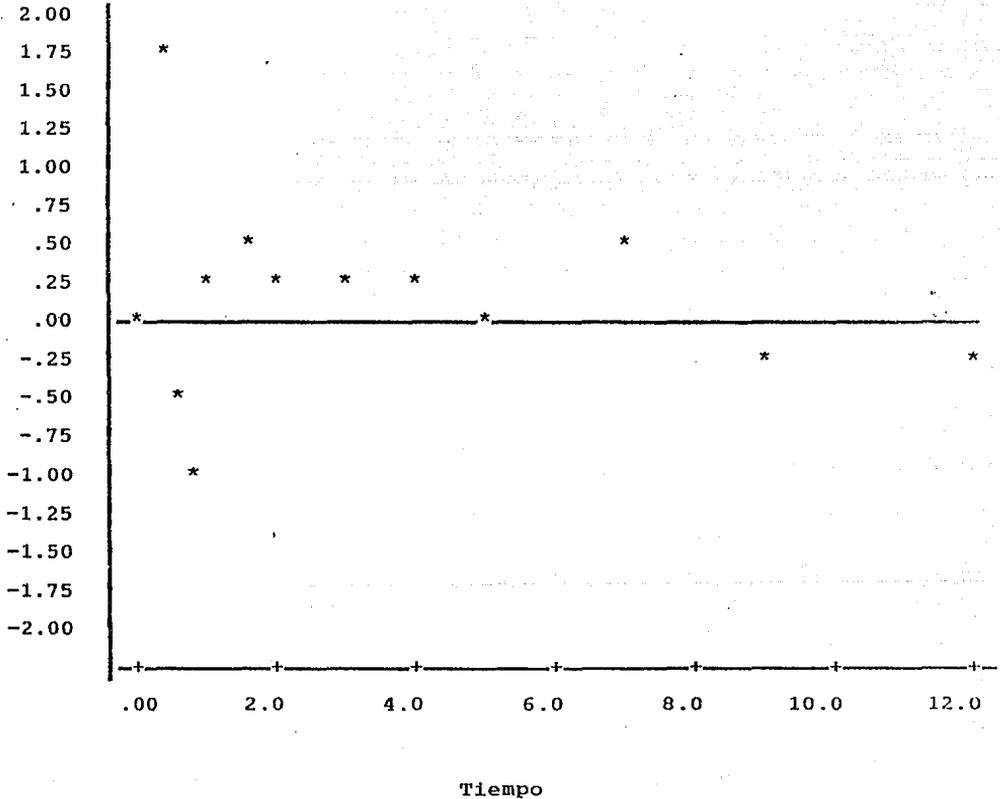


Fig V. 27 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADA (VOLUNTARIO 3)

Cp residual



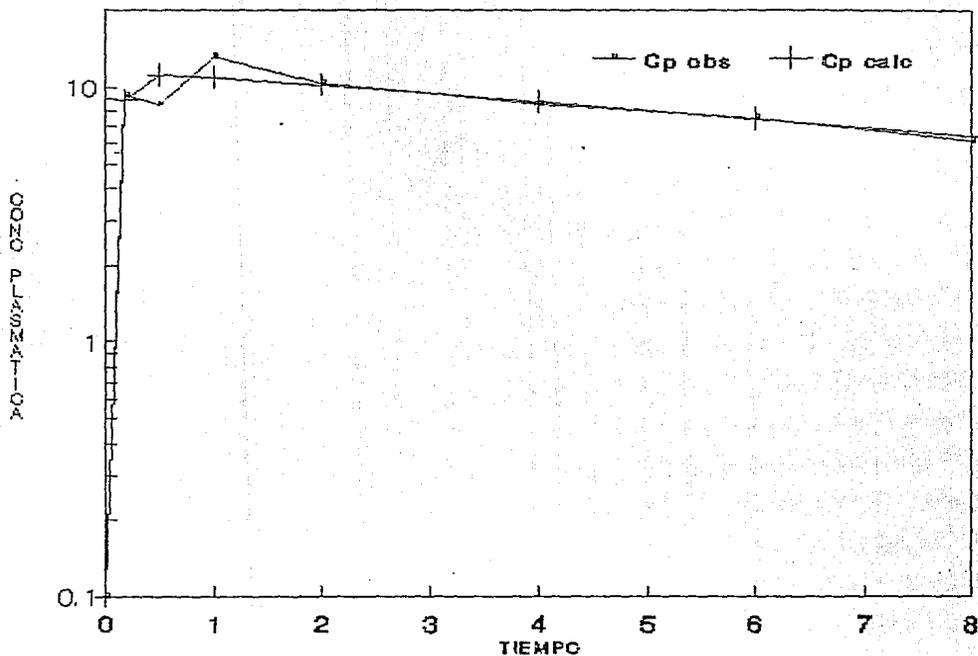


FIG V.28 DATOS DE CP OBS Y CALC (PCNONLIN) VS TIEMPO EN KOYSOKO (V 8)

Tabla V. 28

Parámetros estimados después de ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 6 Koyosooko et al (10)

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95%	
Volumen	17.1985	1.8423	12.4626	21.9344 UNIVARIADO
			9.5171	24.8799 PLANAR
Ka	8.7295	4.2207	-2.1199	19.5791 UNIVARIADO
			-8.8678	26.3270 PLANAR
Ke	.0742	.0306	-.0045	.1530 UNIVARIADO
			-.0536	.2020 PLANAR

Tabla V. 29

Valores observados y calculados al ajustar los datos al modelo de un compartamento en voluntario 6 Koyosooko et al (10).

Tiempo	Cp obs mcg/ml	Cp calc mcg/ml	Cp resi	RESIDUAL ESTANDARIZADO
.0000	.000	.000	.000	.000
.1660	9.260	8.831	.428	2.103
.5000	8.510	11.150	-2.642	-2.082
1.000	13.230	10.890	2.342	1.853
2.000	10.410	10.110	.299	.2135
4.000	8.540	8.715	-.175	-.1222
6.000	7.550	7.513	.037	.0282
8.000	6.220	6.476	-.256	-.2274

Tabla V. 30

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los datos al modelo de un compartamento voluntario 6 Koyosooko. et el (10).

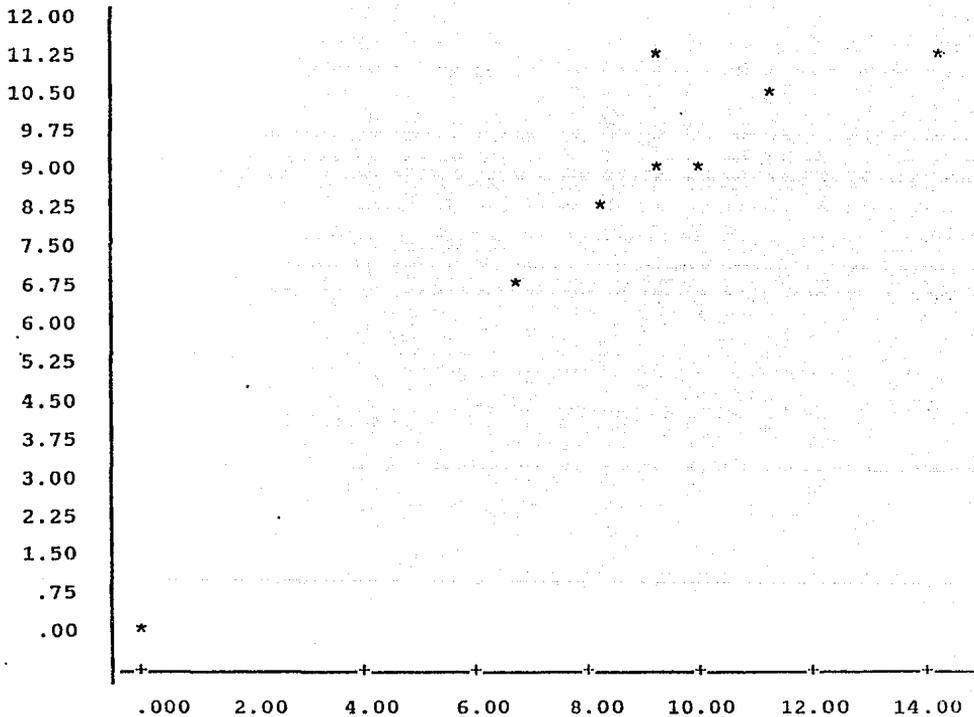
SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 102.661
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = 12.839
 CRITERIO DE AIC = 26.419
 CRITERIO DE SC = 23.539
 ABC DETERMINADA POR EL METODO DE LOS RESIDUALES = 69.8012

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	156.653	53.303
T 1/2 Ka	.079	.038
T 1/2 Ke	9.337	3.853
Tmax	.550	.197
Cmax	11.163	1.002

Fig V.29 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA VOLUNTARIO 6 KOYOSOOKO ET AL (10)

Cp calculada



Cp observada

fig V.30 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO VOLUNTARIO 6
KOYOSOOKO ET AL (10)

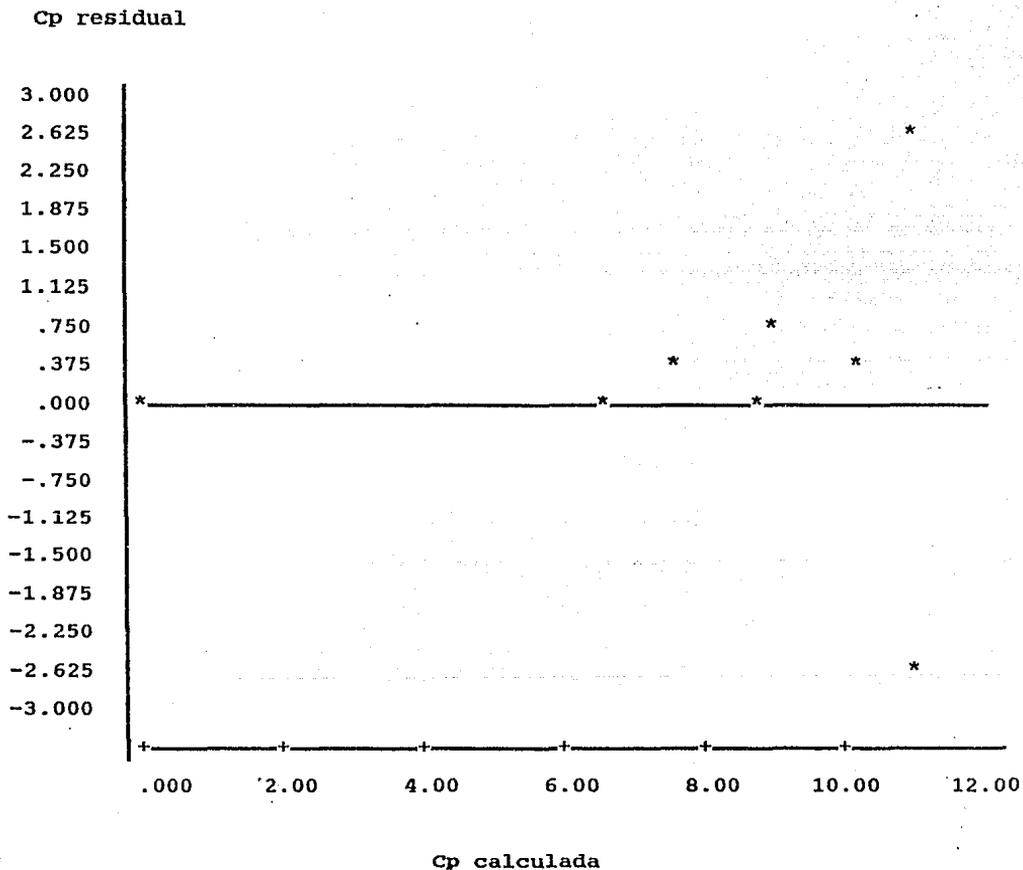
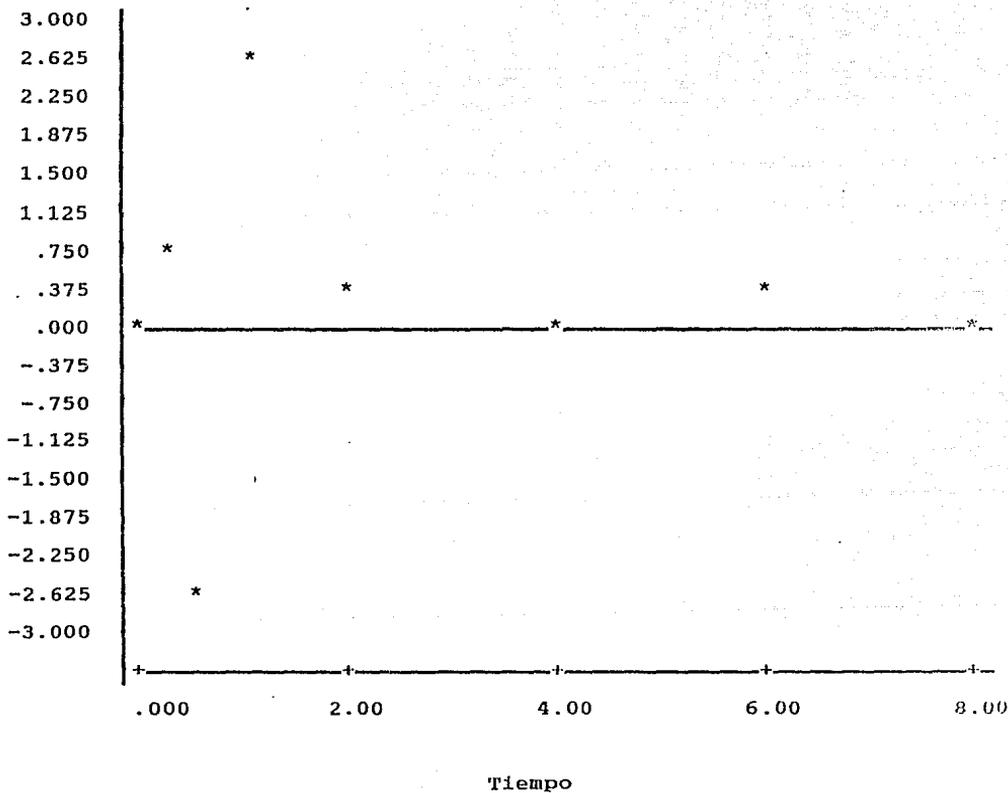


Fig V. 31 TIEMPO VS Cp RESIDUAL ESTANDARIZADO VOLUNTARIO 6
KOYOSOOKO ET AL (10)

Cp residual



5.2.3 ESTUDIO III

En este estudio sólo participó el voluntario 3. Los resultados de los valores de concentración plasmática con respecto al tiempo fueron ajustados a un modelo de dos compartamentos, en la tabla V.31 se observan los datos de los límites de confianza, siendo para el caso del volumen del 98 a 101 % , para K10 de 88.7 a 108.8 % , para K12 de 89 a 110 % y para K21 de 78.6 a 121 % , para el caso de univariados, en el caso de los planares aumentó ligeramente, pero dicho aumento no invalida al modelo.

En la fig IV.11, se presenta la gráfica de los valores de concentración vs tiempo tanto para los datos observados, como los calculados con el paquete PCNONLIN, en el que se puede observar que ambas curvas son indistinguibles.

En las figuras V.33 y V.34 que representan las gráficas de C_p calculada vs C_p residual y tiempo vs C_p residual, respectivamente en las que se puede observar que los residuales se encuentran distribuidos al azar, lo cual permite asumir que el modelo escogido para ajustar los datos de concentraciones plasmáticas con respecto al tiempo es el adecuado para explicar su comportamiento.

Los valores reportados de volumen de distribución del compartamento central van desde 8 a 32 litros, para K10 de .199 a .75, para α de 2.17 a 13.52 y para β de .114 a .24, (60), los valores obtenidos para el voluntario 3 fueron: el volumen de 3.25 litros, para K10 0.92, para α 1.91 y para β 0.1.

Mitenko et al (7), asumen que el volumen de distribución va

de 11 a 31 litros y dado que es menor que el volumen total de agua en el cuerpo (40-46 l), y mayor que el líquido extracelular (13-16 l) sugieren que la teofilina es rápidamente transferida del plasma a los tejidos, se apoyan en valores promedio de α de 5.81 hr^{-1} , lo cual explica el rápido paso de teofilina de plasma a los tejidos.

En el caso del voluntario 3, el valor de α es de 1.91, lo cual, indica que el paso de teofilina de plasma a los tejidos no es muy completo, esta situación implicaría que el fármaco se distribuye principalmente en el volumen sanguíneo, el cual incluye al agua intracelular de los eritrocitos, ambos volúmenes, representan aproximadamente 6 litros.

Para este caso en particular, la depuración de teofilina sería aproximadamente de 3.048 l/hr, el cual es un valor muy parecido al que reporta Sang-Goo et al (60) en un estudio donde evaluó la farmacocinética de teofilina en pacientes jóvenes, reportando un valor promedio de 3.12 l/hr.

En la tabla V.33 se puede observar que el valor de la suma de los cuadrados de los residuales tiene un valor muy pequeño y por lo tanto los valores de los criterios de AIC y de SC adquieren valores negativos, aun cuando con estos criterios por sí solos no es posible evaluar si el modelo escogido para interpretar los datos es el adecuado, es interesante remarcar que en ninguno de los dos estudios anteriores se presentaron valores tan pequeños de la suma de los cuadrados de los residuales.

En el caso de los parámetros secundarios que se presentan en la misma tabla podemos observar que los errores estandar son muy pequeños al compararlos con los que presentan los voluntarios en los otros estudios, con excepción del voluntario 3 en el estudio II.

Tabla V. 31

Parámetros estimados al ajustar los datos al modelo de dos compartamentos voluntario 3

PARAMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA 95 %	
Volumen	3.2458	.0248	3.1884	3.3032 UNIVARIADO
			3.1468	3.3449 PLANAR
K10	.9195	.0451	.8153	1.0237 UNIVARIADO
			.7398	1.0992 PLANAR
K12	.8843	.0418	.7878	.9809 UNIVARIADO
			.7178	1.0509 PLANAR
K21	.2074	.0192	.1630	.2519 UNIVARIADO
			.1308	.2841 PLANAR

Tabla V. 32

Valores observados y calculados después de ajustar los datos al modelo de dos compartamentos voluntario 3.

Tiempo	Cp obs	Cp cal	Cp resi	Cp residual
hrs	mcg/ml			estandarizado
.2000	26.90	26.96	-.0567	-1.448
.4260	18.30	18.24	.0628	.6640
.6600	12.50	12.40	.0998	1.138
1.250	5.300	5.341	-.0408	-.3944
1.500	3.800	4.029	-.2295	-2.154
2.000	2.630	2.666	-.0362	-.3441
2.500	2.200	2.088	.1123	1.088
3.000	1.900	1.813	.0865	.8346
5.000	1.400	1.392	.0079	.0735
7.330	1.200	1.101	.0987	.9454
10.00	.800	.843	-.0436	-.4461
14.00	.470	.566	-.0959	-1.018

Tabla V. 33

Parámetros estadísticos y farmacocinéticos secundarios al ajustar los datos al modelo de dos compartamentos voluntario 3.

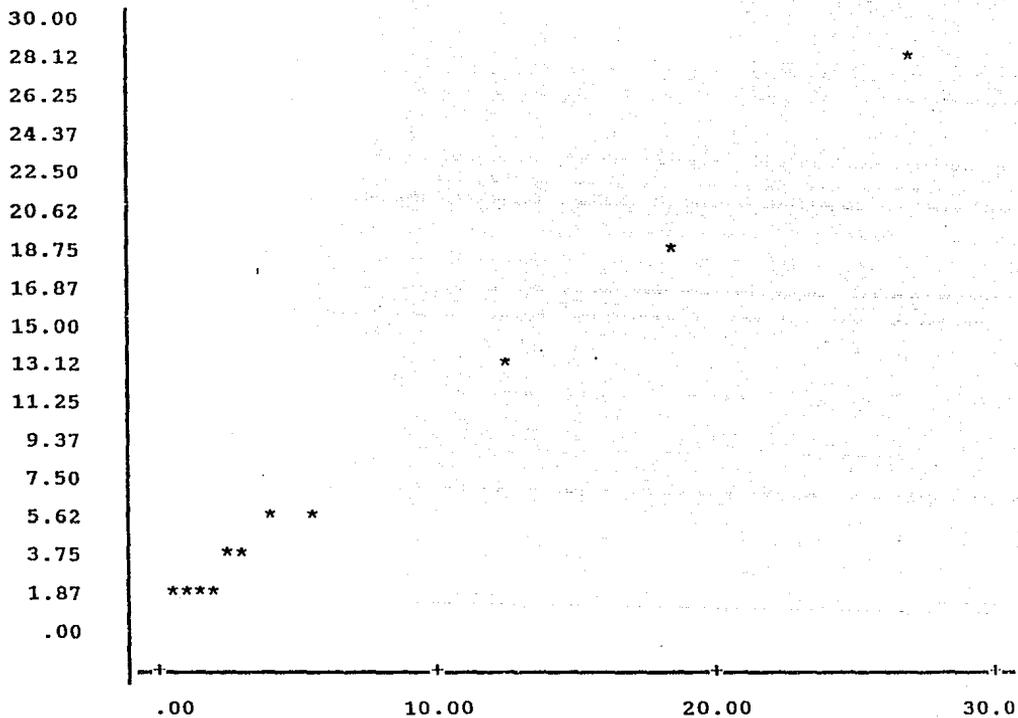
SUMA DE LOS CUADRADOS DE LAS OBSERVACIONES = 777.678
 SUMA DE LOS CUADRADOS DE LOS RESIDUALES = .113802
 CRITERIO AIC = -18.07951
 CRITERIO SC = -21.10969

PARAMETROS SECUNDARIOS ESTIMADOS

PARAMETRO	VALOR ESTIMADO	ERROR ESTANDAR
ABC	41.880478	1.973619
T 1/2 K10	.753802	.036999
Alfa	1.911599	.029411
Beta	.099798	.012833
T 1/2 Alfa	.362601	.005577
T 1/2 Beta	6.945509	.892536
A	36.222003	.262174
B	2.288560	.150178
Cmax	38.510562	.295115

Fig V. 32 Cp OBSERVADA VS Cp CALCULADA (VOLUNTARIO 3)

Cp calculada



Cp observada

Fig V. 33 Cp CALCULADA VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 3)

Cp residual

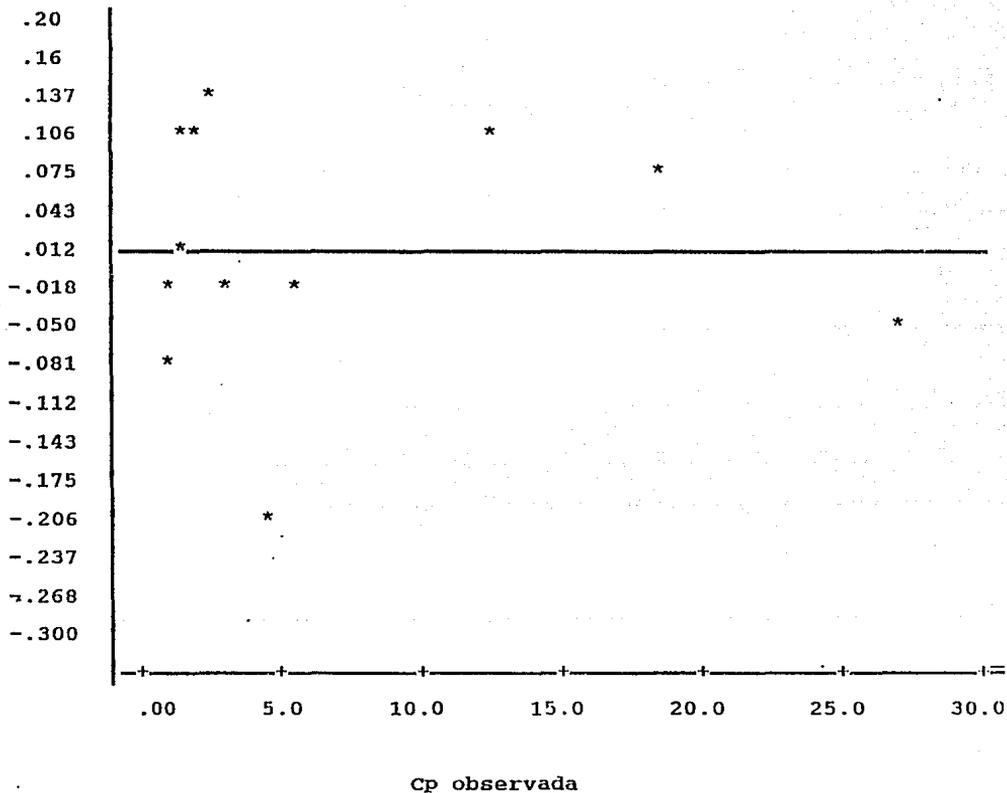
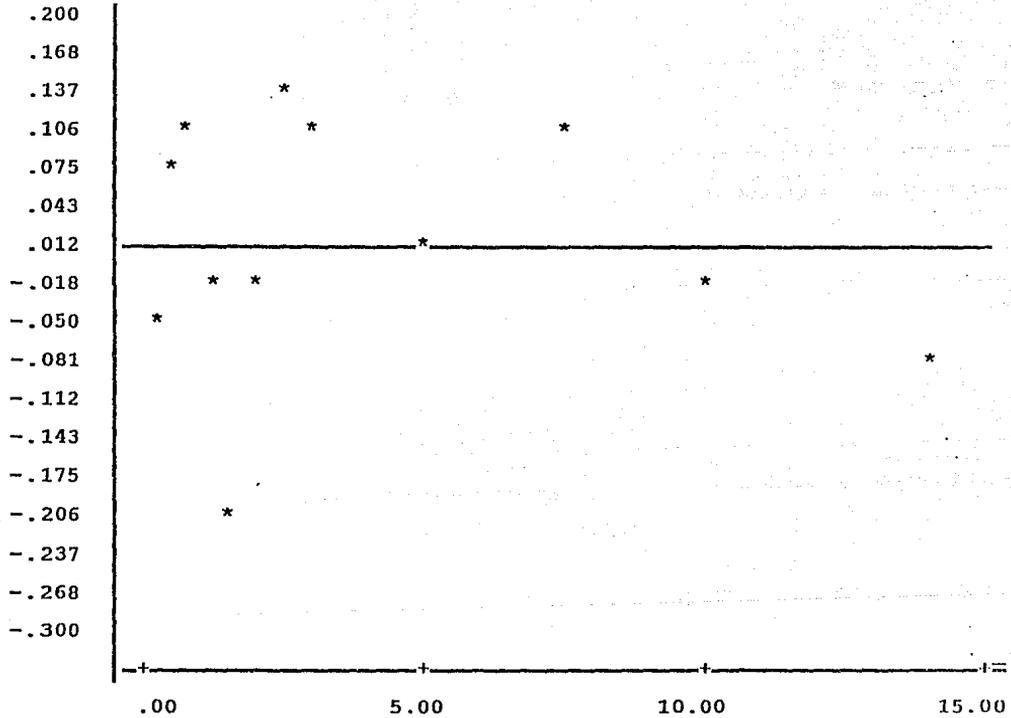


Fig V. 34 TIEMPO VS Cp RESIDUAL (VOLUNTARIO 3)

Cp residual



Tiempo

VI CONCLUSIONES

Los resultados del proceso de validación nos permitieron contar con un método analítico adecuado para la determinación de los niveles plasmáticos de teofilina en función del tiempo.

Al ajustar los valores de las concentraciones plasmáticas de teofilina con respecto al tiempo con el paquete de ajuste no-lineal PCNONLIN, se observó que en los voluntarios 1, 2, 3, 4, y 6 el modelo de un compartamento no representa el comportamiento de los valores de concentración plasmática con respecto al tiempo, dado que en estos voluntarios se observan varios máximos de absorción, situación no contemplada por el modelo de un compartamento para la administración oral.

El voluntario 7 presenta un aparente modelo de flip-flop, dicha situación no se encuentra reportada en la literatura, no fué posible administrar posteriormente al fármaco por vía intravenosa para poder asegurar si el comportamiento efectivamente corresponde a un caso de flip-flop.

En general los múltiples máximos de absorción se han explicado en base a modelos de recirculación enterohepática, y de las llamadas ventanas de absorción.

La explicación por la cual nos inclinamos es que la formulación estudiada, presenta problemas de biodisponibilidad y que estos se reflejan en el proceso de absorción, aun cuando también puede ser debido a variables propias del individuo en cuanto al proceso de vaciamiento gástrico.

Los datos aportados por este estudio no son concluyentes, y se hace necesario efectuar un estudio parecido al estudio II con el objeto de asignar el comportamiento errático en el proceso de

absorción bien sea a la formulación o las características propias de la población estudiada.

El comportamiento del voluntario al cual se le administro teofilina por via intravenosa en forma de bolo, (estudio III) presenta valores de los parámetros farmacocinéticos semejantes a los reportados en la literatura.

VI. APENDICE

6.1 ESTIMACION ESTADISTICA EN FARMACOCINETICA

6.1.1 PRECISION DE LOS PARAMETROS ESTIMADOS.

La precisión de los parámetros farmacocinéticos se evalúa a través de sus valores de desviación estándar (d.e.), estos son valores temporales y difíciles de evaluar correctamente. Principalmente dependen de la selección del o los modelos farmacocinéticos, de la consideración de independencia entre los datos y de que la selección de estos con respecto al tiempo fue la adecuada para describir al modelo farmacocinético seleccionado. Aun cuando estos criterios sean cumplidos, el valor asintótico de la d.e., sólo se acercara al valor verdadero si el número de datos se aproxima al infinito (61).

Para el cálculo de la d.e. se asume y se requiere independencia en los errores para cada punto y es obvia la dependencia de los grados de libertad, no importando qué tan buenos o malos sean estos.

Cuando el valor de d.e. es mayor que el valor del parámetro estimado, esto indica que cualquier valor del parámetro estimado en dicha region dará un ajuste igual de bueno de los datos.

Una de las formas de evaluar a los parámetros es através del coeficiente de varición (% C.V):

$$\% CV = \frac{d.e.}{P} * 100$$

donde \hat{P} es el valor del parámetro determinado y d.e. representa la desviación estandar del parámetro

Otra de las formas es a través del Intervalo del Límite de Confianza (IC).

Estas determinaciones son solo aproximadas debido a la naturaleza del valor de la d.e., ambos son medidas de precisión del parámetro estimado en ese estudio y no pueden ser usados para predecir futuras estimaciones del parámetro aun para el mismo sujeto.

Dos son los intervalos de confianza frecuentemente determinados, el univariado y el planar, la forma de determinarlos es la siguiente:

$$\text{UNIVARIADO} \quad \hat{P} \pm (t_{(\alpha, gr)})(d.e)$$

$$\text{PLANAR} \quad \hat{P} \pm F_{(\alpha, NP, gr)} * NP * (d.e)^2 \pm 1/2$$

Donde \hat{P} es el parámetro estimado, t es el valor de t de las tablas de student, α es el nivel de probabilidad, N es el número de datos, NP es el número de parámetros estimados en la ecuación, gr son los grados de libertad y es igual a $N-NP$, $d.e$ es la desviación estándar del parámetro estimado y F es el valor de F de la tabla de distribución.

6.1.2 COMPARACION DE PARAMETROS

Frecuentemente es necesario comparar valores de un parámetro dado calculado en dos experimentos diferentes, esto es, se puede comparar el parámetro en un mismo sujeto en dos experimentos diferentes, o en dos sujetos diferentes. Una prueba de t es comunmente usada de la siguiente forma.

$$T = \left| \frac{\hat{P}_{ij} - \hat{P}_{ik}}{\sqrt{(d.e._{ij})^2 + (d.e._{ik})^2}} \right|^{1/2}$$

Donde \hat{P}_{ij} es el valor del parámetro i -ésimo estimado en el estudio j , \hat{P}_{ik} es el valor del parámetro i -ésimo estimado en el estudio k , $d.e._{ij}$ es la desviación estándar del parámetro i -ésimo estimado en el estudio j y $d.e._{ik}$ es la desviación estándar del parámetro i -ésimo estimado en el estudio k .

La hipótesis nula se establece de la siguiente forma $\hat{P}_{ij} = \hat{P}_{ik}$ (asumiendo que ambos respresentan a los valores verdaderos de los parámetros en ambos estudios). La prueba de t compara el valor de t de las tablas prueba de las dos colas, $P=.05$, $gl = (\text{número de datos en el } j\text{-ésimo estudio}) + (\text{número de datos en el } k\text{-ésimo estudio}) - NP_j - NP_k$, donde NP_j y NP_k representan el número de parámetros estimados en cada caso.

Cuando el valor calculado de t sea menor que el determinado en las tablas, la hipótesis nula es aceptada. En la aplicación de la prueba de t se asume que los parámetros estimados se distribuyen normalmente.

Es necesario remarcar que esta prueba no representa una confianza absoluta, debido a la incertidumbre en la determinación de la d.e.

6.1.3 CRITERIOS PARA LA SELECCION DE LAS ECUACIONES MULTIEXPONENCIALES DE LOS MODELOS FARMACOCINETICOS.

6.1.3.1. FUNCIONES DE PESADO DE LOS DATOS

El principio en que se sustentan las funciones de peso es muy simple, si algunos de los datos u observaciones son más precisas que otras, deberán de efectuar una contribucion más importante en el análisis de los datos, esta situación se presenta en la mayoría de los modelos no-lineales donde la no uniformidad de la varianza, es un factor muy importante en el proceso de ajuste . Aunque la función de peso exacta nunca es realmente conocida.

Daniel y Wood (61) han indicado que este método es estadísticamente valido, sólo cuando todas las observaciones en C_p tienen la misma aunque desconocida varianza.

Se ha observado que el análisis de los datos resultantes de el ajuste no-lineal sin utilizar funciones de peso, parece ignorar algunos de los datos, al usar funciones de peso en dicho análisis, se observa que los datos predichos parecen ajustar mejor al modelo.

Varias son las funciones o algoritmos utilizados en farmacocinética para el análisis de regresión no-lineal. En la mayoría de estos se utilizan potencias del recíproco de los valores observados y se conocen como pesos estándar:

$$WT_i = 1/Cp_i^\alpha$$

Donde WT_i = Peso de la observación , Cp_i = i-ésima concentración plasmática y $\alpha = 0$ (sin peso), 1 o 2.

La elección del valor de α , es problemática . El uso de $\alpha = 0$ puede ser justificado si se asume que todos los diferentes valores de Cp se conocen con la misma exactitud. Tomando $\alpha = 1$ puede ser adecuado cuando la varianza de las observaciones varia directamente con la magnitud de estas. Usar $\alpha = 2$ es adecuado cuando las observaciones presentan un coeficiente constante de variación con respecto a los valores medidos, lo cual es comun cuando las observaciones resultan de un proceso analítico el cual presenta diluciones seriadas, las cuales se efectuaron con el objeto de que todas las muestras presentaran la misma concentración del fármaco.

Sin embargo la varianza de las observaciones, frecuentemente no se comportan con las consideraciones antes mencionadas, es muy común que la varianza de las observaciones se encuentre contaminada por eventos múltiples , debidos a los diferentes pasos efectuados en el proceso analítico , así como en el proceso de muestreo. Más aun se ha observado que la varianza no sólo es debida a los errores analíticos, sino tambien al modelo farmacocinético escogido en el análisis de regresión no-lineal.

Desafortunadamente no existe a priori una forma de elegir el valor del peso que se asignará a los datos. Muy frecuentemente el procedimiento empleado es el de analizar los datos en forma separada con los valores de $\alpha = 0, 1, 2$. El peso apropiado se elige en base a la construcción de gráficas de Cp_{obs} vs Cp_{cal} , así como de residuales pesados de Cp_{obs} vs tiempo y Cp_{cal} .Sin embargo el

análisis de dichas gráficas esta sujeta a la interpretación del investigador. Por lo tanto debido a la carencia de un método objetivo la elección de los pesos es frecuentemente subjetiva y arbitraria.

En algunas ocasiones es adecuado escalar los pesos, esta situación no afecta al modelo ajustado y en cambio permite un aumento en la estabilidad numérica, la forma de efectuarlo es la siguiente.

$$\text{Peso escalado} = \frac{1/Cp^\alpha}{\sum_{i=1}^N 1/Cp^\alpha} * N$$

Donde N es el número de datos, α es el valor del peso.

Cuando el objetivo del análisis farmacocinético es el de estimar los parámetros farmacocinéticos de un modelo para ser usados en pronosticar el comportamiento de la población respecto a los parámetros, así como en pruebas de hipótesis, es muy importante encontrar el algoritmo adecuado de peso para dichos datos. Por otro lado cuando la meta es estimar una propiedad cinética del fármaco, la cual es insensible a un ajuste exacto de todos los datos, tal como la depuración, entonces la evaluación del algoritmo de pesos no es importante.

6.1.4. SELECCIÓN DEL MODELO FARMACOCINETICO.

6.1.4.1 CRITERIO DE AKAIKE CRITERIO DE SCHWARZ Y PRUEBA DE F

En la selección de los modelos farmacocinéticos se utilizan ecuaciones multiexponenciales, las cuales describen el comportamiento de los valores de la concentración plasmática con respecto al tiempo, las tres pruebas anteriores nos permiten evaluar si el modelo escogido para interpretar los datos es el adecuado al compararlo con otro u otros modelos que tentativamente esperamos que describan de igual o mejor manera los datos (62).

El criterio de información de AKAIKE (AIC) y de SCHWARTZ (SC) aunque son derivados de forma diferente, a grandes rasgos pueden ser vistos como la suma del criterio de ajuste y una función de restricción proporcional al número de parámetros (p) en el modelo, los criterios se determinan con las siguientes ecuaciones.

$$AIC = N * \ln WSS_p + 2 * P$$

$$SC = N * \ln WSS_p + P * \ln N$$

Donde WSS_p es la suma de las desviaciones al cuadrado pesadas del modelo con P parámetros, definida como.

$$WSS_p = \sum_{t=t_1}^t w_t * (c_p - \hat{c}_p)^2$$

Donde W_t es el factor de peso del t-ésimo dato , C_p es la concentración plasmática del t-ésimo dato y \hat{C}_p es la concentración plasmática ajustada del t-ésimo dato por el algoritmo de ajuste no-lineal , N es el número de datos utilizados en el ajuste.

El modelo ajustado que presente el menor valor de ambos criterios será el que mejor describa a los datos.

La prueba de F permite comparar dos modelos cuando estos presentan valores muy parecidos de los dos criterios anteriormente mencionados , esta es definida de la siguiente forma.

$$F = \frac{WSSq - WSSp}{WSSp} * \left[\frac{Glp}{Glp - Glq} \right]$$

Donde $WSSq$, $WSSp$ son la suma de los cuadrados de los residuales pesados para el q-ésimo y el p-ésimo grupo de parámetros , donde $p > q$, Glq y Glp representan los grados de libertad.

El valor calculado de F , se compara con el valor crítico de las tablas de distribución F (el numerador tiene los grados de libertad $(Glp - Glq)$ y el denominador tiene Glp grados de libertad , los grados de libertad Glq o Glp se definen como el número de datos menos el número de parámetros involucrados en cada modelo). Si el valor calculado de F es menor que el de tablas se puede concluir que $WSSp$ y $WSSq$ no son significativamente diferentes dependiendo del valor de α elegido y el modelo con menor número de parámetros (modelo q), describe adecuadamente a los datos ajustados con el algoritmo utilizado.

6.1.4.2 EVALUACION DE LOS RESIDUALES

Los residuales proporcionan una medida para evaluar la desviación o la ausencia de ajuste de los datos al modelo elegido. Cuando el modelo es exacto, los residuales están directamente relacionados con los errores en las observaciones experimentales, en otras palabras toda la información respecto al ajuste a un modelo farmacocinético puede ser estadística o gráficamente extraída de los residuales, independientemente que el modelo sea lineal o no-lineal en sus parámetros, la forma de determinarlos es la siguiente.

$$\begin{bmatrix} \text{residuales} \\ \text{no pesados} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{valor} \\ \text{observado} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \text{valor} \\ \text{calculado} \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} \text{residuales} \\ \text{pesados} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{residual} \\ \text{no pesado} \end{bmatrix} * \begin{bmatrix} \text{peso} \end{bmatrix}^{1/2}$$

Asumiendo que $\text{Peso} = W = 1 / (C_p)^2$

Un método apropiado es examinar las gráficas de los residuales pesado o no pesados vs los valores calculados, o los residuales pesados o no pesados vs tiempo. Las gráficas resultantes no deberán presentar un patrón de comportamiento, sino más bien encontrarse distribuidos al azar. Cualquier patrón en la curva es

representativo de una violación en las consideraciones en que se basan los residuales , estas son :

Los errores son independientes.

Tienen una media igual a cero.

Una varianza constante.

Siguen una distribución normal.

6.2 Carta de Consentimiento.

"Carta de consentimiento para participar como voluntario en el estudio de Farmacocinética de Teofilina"

Nombre:

Dirección:

Teléfono:

Edad:

Estatura:

Sexo:

Peso:

En forma voluntaria y en pleno uso de mis facultades mentales, hago constar que he sido informado sobre los peligros en que puedo incurrir al participar en esta investigación sobre farmacocinética de Teofilina.

Igualmente hago constar que seguiré fielmente todas las instrucciones recibidas con respecto a la toma del medicamento y estoy de acuerdo en la toma de las muestras biológicas.

Firma

Fecha

BIBLIOGRAFIA

1.- Wilson, A. F ., Galant, S. P. Recent advances in the pathophysiology of asthma. West. J. Med: 120, 463, (1974).

2.-Schultz, G., Hardman, J., Sutherland, E. W. In Asthma, Physiology, Immunopharmacology and Treatment , ed K. F. Austen, L. H. Lichtenstein, pag 123-138. 1973. New York :Academic.

3.-Side effects of drugs. Annual 6., pag. 5. Editor M.N.G. Dukes & J.Elis; Excerpta Medica 1982..

4.-Zwillch. C.W., Sutton F.D Jr., y Neft. T.A; Theophylline induced seizures in adults: correlation with serum concentrations: Ann Intern Med ; 82,784 (1975).

5.-Paul A.Mitenko and Richard I.Ogilvie: Rational intravenous doses of Theophylline; N.Engl.J.Med 289:600 (1973)

6.-Margaret L. Eaton., Barbara A. Green, Timothy R.Church., Thomas McGowan., & Dennis E. Niewoehner: Efficacy of theophylline in Irreversible Airflow Obstruction; Ann Intern Med; 92,758 (1980). 2.3

7.- Mitenko P.A and Ogilvie, R.I: Pharmacokinetics of intravenous theophylline, Clin Pharmacol Ther : 14, 509, (1973).

8.- Loughman P.M., M.R.A.C.P., Sitar D.S., Ogilvie R.I.,F.R.C.P., Neims A.H : Pharmacokinetic analysis of the disposition of intravenous theophylline in young children. The journal of Pediatrics : 83, 874, (1976).

9.-Adnan El-Yazigi and Ronald J. Sawchuk: Theophylline absorption and disposition in rabbits: oral, intravenous, and concentration-dependent kinetic studies: Journal of pharmaceutical sciences : 70, 452, (1981).

10.- R. Koysooko., E.F. Ellis and G. Levy: Effect of

ethanol on theophylline absorption in humans: Journal of pharmaceutical sciences: 64, 299 (1975).

11.- J. Schluger., J. T. McGinn and D. J. Hennessy: Comparative theophylline blood levels following the oral administration of three different theophylline preparations. The American Journal of the Medical Sciences: 296, March (1957).

12.- Simons K. J, Simons F.E.R, Briggs C. J, & Lo L.: Theophylline protein binding in humans : J. Pharm. Sci: 68,225,(1979).

13.- Lesko L. J, Tabor K. J, & Johnson B.F.: Theophylline serum protein binding in obstructive air-ways disease: Clin Pharmac Ther: 29, 776 (1981).

14.- D. Buss, D. Leopold, A. P. Routledge : Determinants of the plasma protein binding of theophylline in health: J. Clin. Pharmac: 15, 399, (1983).

15.- Koysooko R, Ellis E. F, & Levy G : Relationships between theophylline concentration in plasma and saliva of man: Clin. Pharmac. Ther: 15, 454, (1974).

16.- Aranda J. V, Sitar D. S, Parsons W. D, Loughman P. M & Neims A. H: Pharmacokinetic aspects of theophylline in premature newborns: New. Engl. J. Med: 295, 413, (1976).

17.- Mangione A, Imhoff T. E, Lee R. V, Shum S. V & Jusko W. J: Pharmacokinetics of theophylline hepatic disease: Chest: 73, 616, (1978).

18.- Piafsky K. M, Sitar D. S, Rango R.E & Ogilvie R. I: theophylline disposition in patients with hepatic cirrhosis: New. Engl. J. Med: 296, 1495, (1977).

19.-Chignell G. F: Protein binding. In Drug Form and metabolism: methods and techniques. eds Garret E. R & Hitz L. New

York: Marcel Dewkker Inc.

20.-Ballard B. E: pharmacokinetics and temperature: J. pharm. Sci: 63, 1345 (1974).metabolism of Theobromine,Theophylline and Caffeine in man: J. Biol. Chem: 228, 315 (1957).

21.-Cornish. H. H., & Christaman. A. A.: A study of the metabolism of Theobromine,Theophylline and Caffeine in man: J. Biol. Chem: 228, 315 (1957).

22.-Brodie. B. B, Axelrod. J., & Reichenthal. J.,: Metabolism of Theophylline (1,3-dimethylxanthine) in man: J. Biol. Chem: 194, 215 (1952).

23.-Bergmann. F., & Dikstein. S.,: Studies on uric acid and related compounds III.Observations on the specificity of mammalian xanthine oxidases: J. Biol. Chem: 223, 765 (1956).

24.-John. W. Jenne., Herbert. T. Nagasawa., & Richard. O. Thompson.,: Relationship of urinary metabolites of Theophylline to serum Theophylline levels: Clinical Pharmacology and Therapeutics: 19, 375 (1976).

25.-Suzanne. M. Lohmann., & Ralph. P. Miech.,:Theophylline metabolism by the rat liver microsomal system: J. Pharmacol. Exp. Ther: 196, 213 (1976).

26.-Landay .R .A., Gonzalez. M. A., & Taylor. J. C.,: Effects of phenobarbital on theophylline disposition: J. Allerg. Clin. Immo: 62, 27 (1978).

27.-Marquis. J .F., Carruthers. S. G., Spence. J. D., Brownstone. Y. S., & Toogood. J. H.,: Phenytoin-theophylline interaccion: New. Engl. J. Med: 307, 1189 (1982).

28.-Hendeles. L., Wyatt. R., Weinberger. M., Schottelius. D., & Fincham. R.,: Decreased oral Phenytoin absorption following concurrent administration: J, Allerg, Clin, Immo: 63, 156

(1979).

29.-Ira A Cohen, Cary E Johnson, Rosemary R Berardi, Martha L Hyneck & Sama R Achem: Cimetidine-theophylline interactions: Effects of age and cimetidine dose: Ther, Drug, Monitoring: 7, 426 (1985).

30.-Hemstreet M P, Miles M V & Rutland R O: Effect of intravenous isoproterenol on theophylline kinetics: J, Allerg Clin, Immo: 69, 360 (1982).

31.-Arnold, I, A. Spurbeck, G, H. Shelver, W, H. & Henderson, W, H: Effect of a antacid on gastrointestinal absorption of theophylline: Am J Hosp Pharm: 36, 1059 (1979).

32.-Reed, R, C. Schwartz, H, J: Antacid influence on theophylline bioavailability: Drug, Intell, Clin, Pharm: 16, 479 (1982)

33.-Jan, H, G, Jonkman. & Robert, A, Upton: Pharmacokinetic drug interactions with theophylline: Clin, Pharmacokinet: 9, 309 (1984).

34.-Roberts, R, K. Grice, J. McGuffie, C. & Heilbrunn, I: J, Lab, Clin, Med: 101, 821 (1983).

35.- Jan H.G. Jonkman., Jan Piet Franke., Roelof Schoenmaker and Rokus .A de Zeeuw: Stability of theophylline in human serum and whole blood : Clinical Chemistry :27, 2071 (1981).

36.- Kern, J.A., and Lipman, A.G.: Rational theophylline therapy: Drug. Intell. Clin. Pharm: 11,144, (1977).

37.- Jatlow. P.: Ultraviolet spectrophotometry of theophylline in plasma in the presence of barbiturates.: Clinical Chemistry: 21, 1518, (1975).

38.- John: Vasiliades and Tamela Turner: A modified ultraviolet spectrophotometric method for the determination of the

theophylline in serum in the presence of barbiturates.: *Clinical Chimica Acta*: 69,491, (1976).

39.- A. J. Feellenberg and A. C. Pollard.: A rapid ultraviolet spectrophotometric procedure for the microdetermination of theophylline in plasma or serum.: *Clinica Chimica Acta*.: 92, 267, (1979).

40.- John M. Meola , Harold H Brown , and Thomas Swift: Fluorometric measurement of theophylline; *Clin Chem* 25, 1935, (1976).

41.- D. S. Sitar., K. M. Pfafsky., R. E. Rangno and R. I. Ogilvie.: Plasma theophylline concentrations measure by high pressure liquid chromatography.: *Clinical Chemistry*.: 21, 1774, (1975).

42.- Joshep Balkn.: Rapid determination of serum theophylline levels using the, H.P.L.C. short colum concept.: *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*.: 23, 533, (1979).

43.- P. M. Kabra and L. J. Marton.: Liquid chromatographic analysis for serum theophylline in less than 70 seconds.: *Clinical Chemistry*.: 28, 687,(1982).

44.- L. A. Brousdard.: Theophylline determination by H.P.L.C.: *Clinical Chemistry*.: 27,1931, (1981).

45.- G. P. Butrimouitz and V. A. Raisys.: An improved micromethod for theophylline determination by reversed phase liquid chromatography.: *Clinical Chemistry*.: 25, 1461, (1979).

46.- J. H. G. Honkman., R. A. de Zeeuw and R. Schoemaker.: Interference in the proposed select method for determination of theophylline by liquid chromatography.: *Clinical Chemistry*.: 28, 1907, (1982).

47.- C. E. Cook.: Theophylline radioimmunoassay : Synthesis of antigen and characteritaiton of antiserum.: Res. Commun. Pathol. Pharmacol.: 13, 497, (1976).

48.- A. l. Neese and L. F. Soyka.: Development of a radioimmunoassay for theophylline.: Applications to studies in premature infants.: Clin. Pharmacol. Ther.: 21, 633, (1977).

49.- Cavenaghi L, Gallo G. G, and Leal G. M: Statistical evaluation of the result obtained with the analytical methods used for the quality control medicines; Drug development and industrial pharmacy 13, 2571, (1987).

50.- H. Thomas Karnes, Gerald Shiu, and Vinod P. Shah : Validation of bioanalytical methods; Pharmaceutical Research 8, 421, (1991).

51.- Tomoo Funaki, Sigeru Furata & Nobuyoshi Kancniwa; Discontinuos absorption of cimetidine: Intertational Journal of Pharmaceutics; 31, 119, (1986).

52.-McPherson,F.J. and Lee, R.N; Biliar excretion and metabolis of ¹⁴C-Cimetidine following oral administration to male and female rats: Experientia, 33, 1139, (1977).

53.-Peter Veng Pedersen, & Raymond Miller; Pharmacokinetics of doxycycline reabsorption: J. Pharm. Sci, 69, 204, (1980).

54.- Yves Plusquellec, G. Campistron, S. Staveris, J. Barre, L. Jung, J.P. Tillement, & G. Houin: A double peak phenomenon in the pharmacokinetics of veralipride after oral administration: A double site model for drug absorption: J. Pharmacokin. Biopharm: 15, 225, (1987).

55.- Kazuo Murata, Kazuo Noda, Keiichi Kohno and Masayorhi Samejima: Pharmacokinetic analysis of concentration data of drugs with irregular absorption profiles using multi-fraction absorption

models: J. Pharm. Sci , 76, 109, (1987).

56.- Nahoko Kaniwa, Nobuo Aoyagi and Hiroyasu Ogata: Use of PKM-MULTI for fitting discontinuous absorption profiles using a microcomputer; J. Pharm. Dyn, 7, 900, (1984).

57.- Lilian E. Riads, Keith K. H. Chan, William E. Wagner, jr, and Ronald J. Sawchuk: Simultaneous first and zero order absorption of carbamazepine tablets in humans; J. Pharm. Sci, 75,897, (1986).

58- Thomas J. Haley; Metabolism and Pharmacokinetics of theophylline in human neonates, children and adults: Drug Metabolism Reviews: 14, 295 (1983).

59.-Keith J. Simons, Evelyn M. Frith and F. Estelle R. Simons : Dissolution and bioavailability studies of whole and halved sustained- release theophylline tablets; Journal of Pharmaceutical Sciences 71,505 1982.

60.- Sang-Goo Shim, David Juan and Meenaskshi Rammohan; Theophylline pharmacokinetics in normal elderly subjects; Clin Pharmacol Ther, 44, 522, (1988).

61.- Harold G. Bozenbaum, Sidney Riegelman and Robert H. Elashoff: Statistical estimations in pharmacokinetics; J. Pharmacokinetic. Biopharm, 2, 123, (1974).