

PRÀCTIQUES DE BIOFARMÀCIA I FARMACOCINÈTICA

José Doménech Berrozpe
Jacinto Lauroba Viladrosa
Ana C. Calpena Campmany
Helena Colom Codina
Elvira Escribano Ferrer
Concepció Peraire Guitart
Antoni Boix Montañés
Ignacio Díez Martín

Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica
Unitat de Biofarmàcia i Farmacocinètica
Facultat de Farmàcia



PRÀCTIQUES DE BIOFARMÀCIA I FARMACOCINÈTICA

José Doménech Berrozpe
Jacinto Lauroba Viladrosa
Ana C. Calpena Campmany
Helena Colom Codina
Elvira Escribano Ferrer
Concepció Peraire Guitart
Antoni Boix Montañés
Ignacio Díez Martín

Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica
Unitat de Biofarmàcia i Farmacocinètica
Facultat de Farmàcia

Publicacions i Edicions



UNIVERSITAT DE BARCELONA





**FACULTAT DE
FARMÀCIA**

PRÀCTIQUES DE BIOFARMÀCIA I FARMACOCINÈTICA

Autors

José Doménech Berrozpe

Jacinto Lauroba Viladrosa

Ana C. Calpena Campmany

Helena Colom Codina

Elvira Escribano Ferrer

Concepció Peraire Guitart

Antoni Boix Montañés

Ignacio Díez Martín

Alumne/a

Curs acadèmic:

Grup de pràctiques:

PRÒLEG	7
INTRODUCCIÓ	9
PRÀCTICA 1. Estudi farmacocinètic del roig de fenol mitjançant la utilització d'un model físic representatiu d'una administració intravenosa (bolus)	11
1. Objectiu	11
2. Bases teòriques	11
3. Material i mètode	14
4. Resultats	15
PRÀCTICA 2. Estudi farmacocinètic del roig de fenol mitjançant la utilització d'un model físic representatiu d'una administració per infusió intravenosa	25
1. Objectiu	25
2. Bases teòriques	25
3. Material i mètode	28
4. Resultats	30
PRÀCTICA 3. Estudi farmacocinètic del roig de fenol mitjançant la utilització d'un model físic representatiu d'una administració extravasal	35
1. Objectiu	35
2. Bases teòriques	35
3. Material i mètode	39
4. Resultats	40
PRÀCTICA 4. Estudi de la velocitat de dissolució de l'ibuprofè formulat en comprimits de 400 mg ..	47
1. Introducció i objectiu	47
2. Material i mètode	47
3. Resultats	49
PRÀCTICA 5. Estudi de la velocitat de difusió del roig de fenol a partir d'una solució al 0,2% (p/v) ..	57
1. Introducció i objectiu	57
2. Material i mètode	57
3. Resultats	59
CONTROL D'ASSISTÈNCIA	67

INTRODUCCIÓ

Les pràctiques de l'assignatura de Biofarmàcia i Farmacocinètica pretenen que l'alumnat apliqui, fins on sigui possible, els conceptes teòrics a un treball experimental, de manera que obtingui resultats que li permetin disposar de la informació necessària per emetre un judici crític sobre els fenòmens farmacocinètics i biofarmacèutics estudiats.

Atesa la impossibilitat, per exigències legals, d'utilitzar animals d'experimentació, les pràctiques representatives del vessant farmacocinètic es desenvolupen considerant models simulats. El sistema que s'utilitza és representatiu del model farmacocinètic monocompartimental. S'assagen tres models: el primer, simula un bolus intravenós; el segon, una infusió intravenosa, i el tercer, una administració extravasal.

Els resultats obtinguts amb els models simulats empleats, representatius de les concentracions de fàrmac en l'organisme i emuntoris en funció del temps, permeten estimar les constants i els paràmetres farmacocinètics representatius del comportament del fàrmac en funció del model i la via d'administració assajada. Els càlculs dels paràmetres i les constants, com també la representació gràfica del procés, l'alumnat els durà a terme de forma manual a fi de, d'una banda, familiaritzar-se amb la metodologia de treball i, de l'altra, poder ajustar ulteriorment els resultats experimentals a través de l'ordinador mitjançant programari farmacocinètic apropiat.

L'estudi de la velocitat de dissolució d'un fàrmac contingut en una forma de dosificació sòlida és un dels aspectes més interessants des d'un punt de vista biofarmacèutic, atès que la velocitat pot ser, en molts casos, el factor limitador de l'absorció del fàrmac quan s'administra, per exemple, per via oral, amb la qual cosa pot modificar-se l'inici, la intensitat i la durada de la resposta terapèutica en funció de la formulació. Aquest aspecte es considera en aquestes pràctiques per mitjà de l'estudi de la velocitat de dissolució de l'ibuprofè contingut en un preparat comercial en forma de comprimits. També s'estudia la velocitat de difusió a través de la membrana artificial del roig de fenol, com a representativa de la velocitat d'alliberament dels fàrmacs formulats en formes farmacèutiques semisòlides. Un cop l'alumnat ha obtingut les dades experimentals, consistents a estimar les quantitats acumulades de fàrmac dissolt al llarg de l'experiència, les haurà d'explicar d'acord amb un dels models de dissolució, la base teòrica del qual s'estudia en l'assignatura. També, en aquesta pràctica l'alumne haurà de dur a terme de forma manual els paràmetres biofarmacèutics i la representació gràfica del procés.

A continuació, a partir dels resultats experimentals i dels paràmetres farmacocinètics i biofarmacèutics prèviament calculats de forma manual, s'introdueix els alumnes en la utilització de programes específics de la matèria adaptats a l'ordinador, alligant-los en dos dels aspectes més rellevants d'aquest tipus de tractaments: d'una banda, s'utilitza un programa de regressió no lineal per mínims quadrats que permet ajustar el model farmacocinètic que millor explica les dades experimentals, a més d'obtenir els valors dels paràmetres farmacocinètics d'acord amb el model seleccionat. Aquest programa conté, entre altres, els mateixos models farmacocinètics que s'expliquen a les classes teòriques. De l'altra, es fa èmfasi en el fet que, si les dades experimentals de què es disposa són d'escassa o nul·la fiabilitat, en cap cas seran millors els resultats obtinguts mitjançant el tractament informàtic respecte al tractament manual, ni més correcta la seva interpretació farmacocinètica o biofarmacèutica, ni tan sols utilitzant els programes més sofisticats actualment en ús per a aquesta finalitat.

PRÀCTICA 1. Estudi farmacocinètic del roig de fenol mitjançant la utilització d'un model físic representatiu d'una administració intravenosa (bolus)

1. Objectiu

L'objectiu d'aquesta pràctica consisteix a obtenir un tabulat experimental que relacioni concentracions de roig de fenol amb el temps a partir d'un model físic que pretén representar l'organisme. Mitjançant la utilització d'aquest model, es trobaran concentracions de fàrmac representatives de les corbes de nivells plasmàtics que s'obtidrien en un organisme viu després de l'administració intravenosa del fàrmac.

2. Bases teòriques

A) Model farmacocinètic

El model farmacocinètic que s'estudia en la pràctica següent es representa d'acord amb aquest esquema:

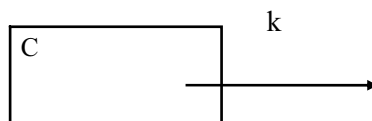


Figura 1

Es tracta del model monocompartimental obert, amb eliminació de primer ordre i administració intravenosa (bolus). Aquest model considera l'organisme com un sol compartiment; la distribució del fàrmac és instantània i l'eliminació es produeix d'acord amb un procés exponencial de primer ordre.

La velocitat d'eliminació, en aquest model, s'expressa d'acord amb l'equació següent:

$$\frac{dQ}{dt} = -k \cdot Q \quad (\text{Eq. 1})$$

en què:

dQ/dt és la velocitat del procés,

k és la constant de velocitat d'aquest procés, expressada en temps recíproc, i

Q és la quantitat de fàrmac remanent a l'organisme en cada temps considerat.

Integrant aquesta equació, s'obté l'expressió exponencial següent:

$$Q = Q_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{Eq. 2})$$

on Q_0 és la quantitat de fàrmac en temps 0, és a dir, la dosi.

L'equació anterior, expressada com a concentració en funció del temps, és:

$$C = \frac{D}{V} \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{Eq. 3}) \quad \text{on} \quad \frac{D}{V} = C_0; \text{ Per tant, } C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{Eq. 4})$$

en què C_0 equival a la concentració de fàrmac a l'organisme en temps zero. D'acord amb les bases que regeixen els processos d'ordre 1, l'equació exponencial anterior es pot linealitzar i ser l'equació representativa de la recta:

$$\ln C = -k \cdot t + \ln C_0 \quad (\text{Eq. 5})$$

A partir dels resultats experimentals concentració / temps, mitjançant l'aplicació de l'equació 5, s'estimen els paràmetres i les constants representatius del trànsit del fàrmac a partir del compartiment considerat. D'altra banda, les constants i els paràmetres calculats s'utilitzen per ajustar per regressió no lineal simple l'equació 2 als resultats experimentals.

En els emuntoris, en funció del temps es recull la dosi administrada, en forma de fàrmac inalterat i/o metabòlits. Òbviament, en funció del temps, la quantitat de fàrmac i/o metabòlits augmenta fins que s'elimina la totalitat de la dosi. L'equació representativa d'aquest procés equival a una equació acumulativa l'expressió matemàtica de la qual és:

$$Q = Q_{\infty} \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (\text{Eq. 6})$$

en què:

Q_{∞} és la quantitat màxima de fàrmac i/o metabòlits eliminada,

Q és la quantitat de fàrmac i/o metabòlits eliminada en un temps t , i

k és la constant de primer ordre que regeix el procés

B) Model físic

El model físic que s'utilitza en aquesta pràctica es pot representar d'acord amb l'esquema següent:

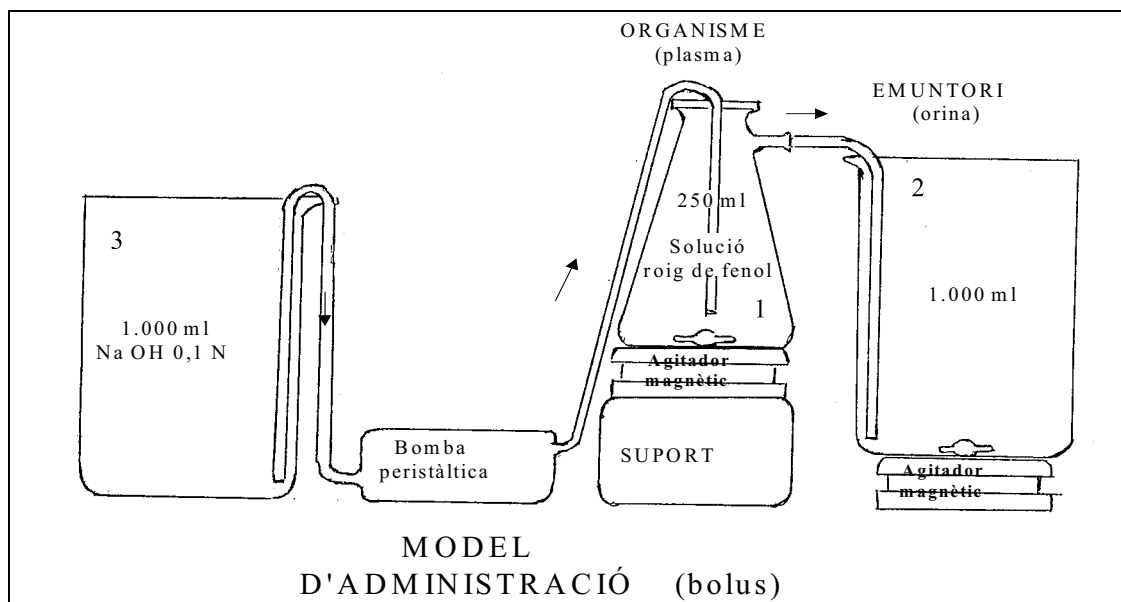


Figura 2

El recipient 1 representa l'organisme i, mitjançant l'agitació contínua, es pretén simular la circulació sistèmica, és a dir, el procés de distribució instantani del fàrmac en l'organisme (model monocompartimental), després de la seva administració intravenosa (bolus).

El recipient 3 conté solució aquosa, que, mitjançant una bomba peristàltica situada entre ambdós recipients, accedeix a velocitat constant al recipient 1.

El recipient 2, que inicialment és buit, s'utilitza per recollir el volum de líquid que flueix del recipient 1, i representa els emuntoris.

Fonament matemàtic

Consideri's el recipient 1 totalment ple d'una solució de fàrmac a una concentració coneguda (C_0). La concentració inicial, C_0 , al compartiment 1, correspon a la quantitat de fàrmac Q_0 , dividida pel volum del recipient, V . Es fa penetrar al recipient un dissolvent, procedent d'una bomba d'infusió, d'acord amb un flux constant, θ , amb el qual es dilueix contínuament la solució de fàrmac, alhora que aquesta es veu obligada a sortir del recipient a una velocitat constant i equivalent al flux θ , pel fet que el recipient conté un volum fix. La variació de la quantitat de medicament al recipient en un instant equival a la quantitat de medicament que hi entra menys la quantitat que en surt. La quantitat de medicament que hi entra és nul·la, ja que en el recipient hi penetra únicament dissolvent; la quantitat de medicament que en surt ve donada pel producte del volum de líquid que surt per unitat de temps (flux) per la concentració de fàrmac en el dit líquid en cada instant considerat. Pot escriure's, per tant:

$$\frac{dQ}{dt} = -C \cdot \theta \quad (\text{Eq. 7})$$

en què:

$\frac{dQ}{dt}$ és la variació de la quantitat de fàrmac en cada unitat de temps,

C és la concentració de fàrmac al recipient en el mateix temps considerat, i

θ és el flux de líquid que entra i que, així mateix, surt del recipient.

La concentració de fàrmac al recipient 1, en un instant determinat, ve donada pel quocient entre la quantitat de fàrmac continguda al recipient en aquest instant i el volum del recipient, és a dir:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dQ/dt}{V} \quad (\text{Eq. 8})$$

Substituint en l'equació 8 el valor de dQ/dt , obtingut en l'equació 7, es pot escriure:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{C \cdot \theta}{V} \quad (\text{Eq. 9})$$

Tenint en compte que la constant de sortida de fàrmac del recipient 1 representativa d'un procés de primer ordre, k , es igual a θ/V , l'equació 9 pren l'expressió següent:

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C \quad (\text{Eq. 10})$$

L'equació 10 és idèntica a l'equació 1, per la qual cosa el model exposat és representatiu de l'eliminació d'un fàrmac d'acord amb un procés de primer ordre, i, per tant, el model físic utilitzat equival al model farmacocinètic monocompartimental després de l'administració del fàrmac per via intravenosa (bolus).

La quantitat de fàrmac recollit al recipient 2, que representa els emuntoris, en funció del temps, es determina mitjançant l'aplicació de l'equació 6 prèviament al pas de les concentracions estimades de fàrmac en cada temps de mostreig a quantitats.

3. Material i mètode

Material

- Xeringa de 2 ml
- 2 vasos de precipitats de 1000 ml
- Kitasato de 250 ml
- Bomba peristàltica de flux continu Dinko
- 2 agitadors magnètics
- 2 barres agitadores
- Tubs de silicona apropiats per a connexions
- 2 suports de porexpan per anivellar el sistema hidrodinàmic
- Espectrofotòmetre/colorímetre
- Cubetes per a lectura òptica
- Motlles amb tubs de plàstic
- Cronòmetre
- Flascó rentador d'aigua destil·lada
- Pipetes de 2 i 5 ml
- Vas de precipitats de 50 ml
- Retolador de vidre
- Flascó detergent
- Escovilló
- Pipetes Pasteur
- Vòrtex
- Ordinador per a tractament de dades

Solucions

A: solució alcalina de roig de fenol per a l'administració de fàrmac (2 mg/ml)

B: solució alcalina de roig de fenol (patró de 20 µg/ml) per preparar la corba de calibratge

C: solució d'hidròxid sòdic 0.1 N

Metodologia

- Comproveu que l'espectrofotòmetre/colorímetre es troba en funcionament.
- Ompliu el recipient 3 amb 1.000 ml de solució C (solució d'hidròxid sòdic 0.1N).
- Introduïu el nucli magnètic al recipient 1 i ompliu-lo amb 250 ml aproximadament de solució C, fins al senyal d'enrasament.
- Introduïu el nucli magnètic al recipient 2.
- Encebeu el sistema a partir del recipient 3.
- Retireu amb xeringa de 2 ml un volum d'1,5 ml del recipient 1 i introduïu-lo a la cubeta per ajustar a zero la lectura òptica (blanc a $\lambda=558$ nm).
- Dipositeu lentament al recipient 1, amb la xeringa apropiada, un volum d'1,5 ml de la solució A, que equival a 3 mg de roig de fenol (dosi).
- Engegeu els agitadors magnètics a la velocitat mínima.
- Engegeu la bomba peristàltica i el cronòmetre (temps 0).