

(669)

152-4

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

---

TECNICA PARA LA DETERMINACION DEL DILTIAZEM  
EN PLASMA: APLICACION AL ESTUDIO FARMACOCINETICO

Tesina presentada para adquirir  
el Grado de Licenciatura en Far  
macia por ANNA PUIGDEMONT RODRI  
GUEZ, Licenciada en Farmacia.

Barcelona, Septiembre de 1983

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0701739843

MARGARITA ARBOIX I ARZO, Profesora Adjunta del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

CERTIFICA: que la presente Tesina presentada por ANNA PUIGDEMONT RODRIGUEZ, con el título: Técnica para la determinación del Diltiazem en plasma: aplicación al estudio farmacocinético" ha sido realizada bajo su dirección,



Barcelona, Septiembre de 1.983

A todos los que con su apoyo han colaborado en la realización de este trabajo.

De manera especial a la Dra. Margarita Arboix por su estímulo y sus ideas en la elaboración del mismo; al Dr. Domenech y al Dr. Ubach por su inapreciable ayuda en la interpretación de los resultados; tambien a los compañeros y amigos del Departamento de Farmacología experimental y clínica por su cooperación y apoyo en todo momento; por último a los seis voluntarios que se prestaron voluntariamente a la prueba y sin cuya colaboración nada de esto hubiera sido posible.

A todos ellos, y a cuantos con su cooperación de todo tipo han logrado que diese término a las páginas que siguen, mi más sincero agradecimiento.

INDICE

<u>1. INTRODUCCION TEORICA</u>	1
<u>I. INTRODUCCION HISTORICA</u>	2
<u>II. PAPEL DEL CALCIO EN LA EXCITACION-CONTRACCION</u>	4
IMPORTANCIA DEL CALCIO EN EL ORGANISMO	4
POTENCIAL DE ACCION EN LAS CELULAS CARDIACAS	5
CANALES RAPIDOS Y LENTOS	9
FUNCION DEL ATP Y DEL AMP-CICLICO	13
INTERCAMBIO $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$	14
MECANISMO DE CONTRACCION	15
<u>III. MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTAGONISTAS DEL CALCIO</u>	22
ACCION FARMACOLOGICA	25
<u>IV. DILTIAZEM</u>	28
QUIMICA	28
FARMACOCINETICA	28
ACCION FARMACOLOGICA Y MECANISMOS DE ACCION	32
REACCIONES ADVERSAS	33
<u>V. FARMACOCINETICA</u>	35
INTRODUCCION	35
<u>1. Descripción de los procesos del IAMDE</u>	36
1.1 Absorción	38
1.2 Distribución	40
1.3 Metabolismo	42
1.4 Excreción	44

ANALISIS COMPARTIMENTAL	46
ESTUDIO CINETICO DE LOS FARMACOS	49
MODELO MONOCOMPARTIMENTAL	50
MODELO BICOMPARTIMENTAL	51
ANALISIS Y CALCULO DE LOS PARAMETROS FARMACOCINETICOS	53
- Curvas de nivel plasmático	53
- Volúmen de distribución	54
- Pauta de distribución	58
- Tiempo de vida media	58
- Grado de absorción	60
- Constante de absorción	61
- Depuración o "Clearance"	62
<u>2. PARTE EXPERIMENTAL</u>	65
2.1. MATERIAL	66
2.1.1. Aparatos	66
2.1.2. Productos químicos	67
2.2. METODOS	68
2.2.1. Técnicas analíticas	68
2.2.1.1. Determinación del Diltiazem	68
2.2.1.2. Condiciones cromatográficas	71
2.2.1.3. Construcción de las escalas de calibrado	71
2.3. RESULTADOS	74
2.3.1. Estudio de los niveles plasmáticos del DTZ en los 6 voluntarios sanos	74
2.3.2. Modelo farmacocinético	90
2.4. DISCUSION Y CONCLUSIONES	111

3. BIBLIOGRAFIA

## 1. INTRODUCCION TEORICA

## I. INTRODUCCION HISTORICA

En 1.960 Lindner observó que la fenilamina, un vasodilatador coronario recientemente desarrollado, tenía también un efecto depresor sobre el funcionamiento cardíaco. Poco después, Haas y Hartfelder (1.962) vieron que otra fenilalquilamina con propiedades vasodilatadoras, el verapamil, tenía efectos inotrópicos negativos sobre el miocardio. - Estos potentes efectos cardiodepresores fueron los que diferenciaron a estos agentes de los vasodilatadores clásicos, como la nitroglicerina o la papaverina, los cuales actuaban con fuerza relajando el músculo liso, pero solo tenían acción sobre el músculo cardíaco a altas concentraciones.

Más tarde, se vió que tanto la fenilamina como el verapamil tenían unos efectos inotrópicos y cronotrópicos opuestos a los de las catecolaminas y se creyó que podían ser bloqueantes del sistema adrenérgico (Melville, 1.965). Sin embargo, Fleckenstein y cols. (1.967) notaron que las propiedades de estos nuevos fármacos diferían de las de los betabloqueantes, ya que estos compuestos deprimían la contractilidad cardíaca sin alterar la altura ni la forma del potencial de acción, y se llegó a la conclusión de que estos agentes actuaban realmente desligando el acoplamiento de la excitación-contracción. Específicamente, la acción de estas drogas fué atribuida a una inhibición del flujo de iones calcio dentro de las células del miocardio; en consecuencia, estos agentes fueron llamados "Antagonistas



del calcio".

Después de los primeros estudios de Fleckenstein y cols. (1.967, 1.970), numerosos compuestos fueron incluidos en este grupo de fármacos, agrupándolos y utilizando distintos parámetros, tales como sus propiedades electrofisiológicas, su acción en el miocardio y otros para su clasificación.

La dificultad principal a la hora de caracterizar este grupo se debe a la gran heterogeneidad que tienen sus componentes, tanto en sus estructuras químicas como en sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Henry, 1.979). Su característica común es disminuir la penetración intracelular del calcio, pero este efecto se ejerce de un modo muy desigual en las diferentes partes del organismo y en los diferentes órganos: corazón y vasos.

No se trata pues en absoluto de una verdadera familia medicamentosa. Aún no está muy claro el mecanismo de acción de la mayoría de los agentes y el concepto de Antagonistas del calcio es todavía confuso.

## II. PAPEL DEL CALCIO EN LA EXCITACION-CONTRACCION

### IMPORTANCIA DEL CALCIO EN EL ORGANISMO

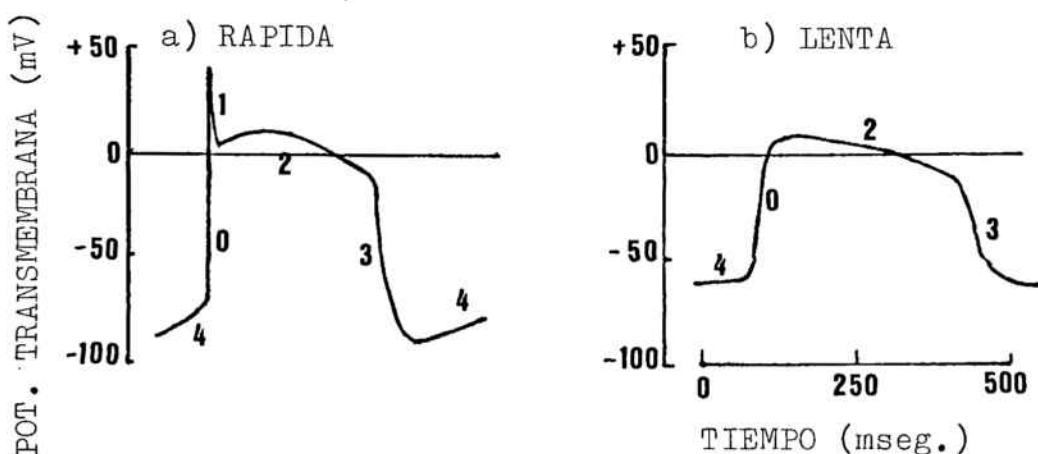
El calcio tiene un papel crítico en gran número de procesos biológicos. Es el mayor componente de los huesos y el quinto elemento más abundante en el cuerpo humano. En forma iónica está presente en muchas reacciones enzimáticas importantes, es esencial para mantener el equilibrio hemostático, interviene en los fenómenos relacionados con la actividad eléctrica del nervio y las células musculares, acoplando ambos y dando lugar a la excitación-contracción (Fleckenstein, 1.977). En el sistema cardiovascular, el calcio es de gran importancia en muchos procesos fisiológicos. En el miocardio el calcio está relacionado con la excitación y contracción de los distintos tipos de células, ya que participa en el potencial de acción y también actúa controlando el almacenamiento y utilización de las fuentes de energía. Por último, el calcio también puede actuar variando la luz de las arterias coronarias y sistémicas por medio de cambios en el tono del músculo liso debidos a movimientos de este ión a través de las membranas.

En los últimos años han aparecido gran número de fármacos que actúan inhibiendo los movimientos del calcio, y se ha visto que tienen acciones concretas en numerosos desórdenes cardiovasculares incluyendo arritmias, estados isquémicos del miocardio y sobre todo hipertensiones y cardiomiopatías hipertróficas.

Para entender la función de los flujos del calcio en la electrofisiología celular, debemos ántes tener una idea de la actividad eléctrica de las células cardíacas.

### POTENCIAL DE ACCION EN LAS CELULAS CARDIACAS

Cuando las células cardíacas se excitan, se produce una compleja secuencia de cambios de voltaje en función del tiempo, debido a cambios en las conductancias iónicas a través de la membrana. El potencial de acción se divide en fases con fines descriptivos y explicativos. Fase I de repolarización temprana; fase 2, de meseta; fase 3, de repolarización rápida y fase 4, de diástole.



**FIGURA 1.**

Como se puede observar en la figura 1, la forma de la curva en el potencial de acción varía según los diferentes tipos de células cardíacas. Las células del nodo senoauricular y el nodo auriculoventricular se despolarizan con una frecuencia más lenta, mientras que las células de las fibras de Purkinje, y las fibras contráctiles en aurícula y ventrículo lo hacen más rápidamente (Cranefield, 1.975; -

Coraboeuf, 1.976).

La respuesta lenta se inicia desde un nivel reducido (menos negativo) de potencial diastólico de transmembrana, muestra una despolarización lenta y tiene larga duración. Este potencial de acción se propaga con gran lentitud y -deja una larga estela refractaria.

En la figura 1a se representan las fases de la respuesta rápida normal que responden a los siguientes mecanismos fisiológicos: durante la fase 4, el potencial de membrana se conserva manteniendo una concentración interior para el  $K^+$  alta. Además sale  $Na^+$  del interior de forma que su concentración externa es mayor que la interna (Cranefield, 1.975) En este período la conductancia para el  $K^+$  es mayor que para el  $Na^+$  (Noble, 1.975).

Cuando llega un impulso nervioso con suficiente intensidad las células cardíacas son despolarizadas y aumenta rápidamente la conductancia para el  $Na^+$  y se produce una corriente hacia el interior a través de unos canales específicos de la membrana. El flujo de iones  $Na^+$  depende de su concentración extracelular y puede ser bloqueado por: tetratoxina, agentes con actividad como anestésicos locales, o por una alta concentración de  $K^+$ . Esta sería la fase 0.

La corriente de  $Na^+$  es inactivada rápidamente pero el flujo inicial es tan rápido, que es suficiente para llevar el potencial desde 0 mV hasta valores de 25 mV; por esto se conoce con el nombre de sobretiro. Durante la fase 1 el po

tencial de membrana vuelve a cero, además de cerrarse los canales para el  $\text{Na}^+$  se produce un flujo de iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$  que contribuyen a la rápida repolarización.

Durante la fase 0, cuando la célula ha sido despolarizada desde  $-90$  mV a  $-40$  mV, una segunda corriente lenta hacia el interior se inicia (Noble 1.975; Beeler y Reuter 1.977). El grado de activación o inactivación de esta corriente contribuye a la fase de meseta. En esta fase hay más variaciones que en la anterior. Puede ser activada a niveles de voltaje de membrana que normalmente no sirven para la corriente rápida del  $\text{Na}^+$  y alcanza un valor máximo cuando el potencial de membrana es del orden de  $-20$  mV a  $0$  mV, (Beeler y Reuter, 1.977).

Normalmente, el  $\text{Ca}^{++}$  es el ión que mayoritariamente da lugar a esta corriente, (Reuter, 1.979) pero cuando la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular desaparece o se reduce, el  $\text{Na}^+$  se transforma en el ión más transportado. En condiciones normales, la contribución del  $\text{Na}^+$  a la corriente lenta es compleja y depende de los diferentes tipos de tejidos cardíacos. Pero puesto que la selectividad de los canales es cien veces mayor para el  $\text{Ca}^{++}$  que para el  $\text{Na}^+$ , se les conoce como canales de calcio.

Esta corriente interna de  $\text{Ca}^{++}$  se inactiva de forma análoga a la del  $\text{Na}^+$ , pero mucho más lentamente. A medida que la meseta va disminuyendo, aumenta la conductancia para el  $\text{K}^+$  y aparece un flujo de estos iones hacia el exterior que desempeñan un papel importante tanto en la finalización de

la meseta como en la repolarización de la fibra cardíaca a valores diastólicos normales de voltaje. Esta corriente se activa a un potencial de  $-40$  mV., y en estado basal está totalmente desactivada, esto significa que desaparece al finalizar la repolarización, concluyendo así la fase 3.

Durante la fase siguiente, en muchas células (músculo ventricular o aurícula común) el potencial de transmembrana en reposo es constante durante la diástole y permanece en este estado indefinidamente hasta que se vuelven a activar con el impulso en propagación o por un estímulo externo. Sin embargo, como se ha dicho anteriormente, otras células muestran despolarización espontánea en esta fase 4 y autoexcitación. Esto se debe sin duda a que estas células poseen una permeabilidad muy elevada para el  $\text{Na}^+$ , lo cual permite el escape rápido de este ión a través de la membrana; por este motivo el potencial de reposo de estas fibras es muy bajo, solo de  $-55$  a  $-60$  mV. en comparación con los  $-80$  o  $-90$  mV. de otras fibras cardíacas. Esto se puede observar claramente en la forma que adopta la curva en la gráfica correspondiente a la respuesta lenta, en la figura 1b.

En el proceso de autoexcitación observamos que cada vez que el potencial de membrana en reposo se restablece, gradualmente va disminuyendo (retorna a 0) hasta que alcanza el umbral de autoexcitación, entonces aparece bruscamente un potencial de acción. Inmediatamente después de que és-

te ha terminado, la permeabilidad de la membrana para el  $K^+$  se hace muy elevada y hay una rápida difusión de este ión hacia el exterior que lleva cargas positivas hacia fuera de la fibra, aumentando la negatividad en el interior de la misma hasta un valor muy superior al normal, estado denominado de hiperpolarización. Mientras persiste esta permeabilidad potásica aumentada, el potencial de membrana se conserva más negativo que el valor de umbral para una autoexcitación; pero gradualmente disminuye la permeabilidad para el  $K^+$  permitiendo el ingreso inverso de  $Na^+$  para excitar nuevamente la fibra.

Así se va repitiendo una y otra vez el proceso, produciéndose la excitación rítmica del corazón.

#### CANALES RAPIDOS Y LENTOS

Las membranas cardíacas poseen canales iónicos o poros acuosos que permiten a los iones moverse a través del sarcolema. Estos movimientos iónicos producen corrientes hacia el interior (despolarizando) y hacia el exterior (repolarizando), que son responsables de la actividad eléctrica del corazón.

Estas corrientes son controladas por cambios conformacionales en los canales, que determinan el "todo o nada" en su abertura.

Las estructuras de estos canales se describen mediante puertas y están formadas por macromoléculas con proteínas espe

cíficas que atraviesan los dos estratos de lípidos de la membrana en distintos puntos, y sufren cambios eléctricos y conformacionales pequeños que originan su cierre o abertura (Diamond y cols., 1.969; Williams, 1.970).

Estos mecanismos que actúan sobre las puertas son también sensibles a los agentes químicos tales como neurotransmisores o drogas.

Se sabe que hay dos tipos de corrientes iónicas responsables de la despolarización de las membranas cardíacas pero no se conocen bien todavía las diferencias anatómicas entre los dos tipos de canales en los que circulan.

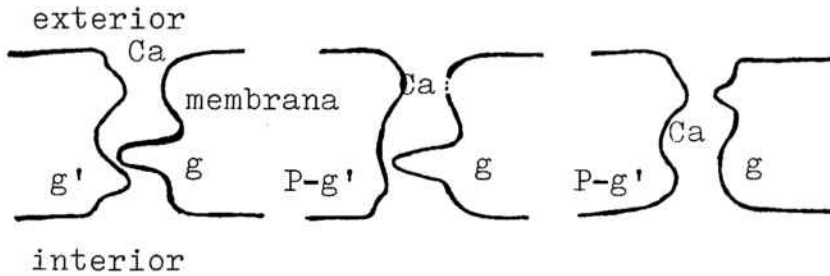
La corriente rápida de  $\text{Na}^+$  es responsable de la espiga inicial del potencial de acción y la corriente lenta de  $\text{Ca}^{++}$  es responsable de la fase de meseta. El  $\text{Na}^+$  además puede contribuir a esta corriente lenta, mientras que en células como las del nódulo SA, AV y en otras células despolarizadas parcialmente, la espiga rápida inicial está ausente y la despolarización ocurre a través de canales iónicos lentos.

Un modelo clásico para la descripción del comportamiento de las corrientes internas, es el que considera que tanto las rápidas como las lentas son controladas por dos tipos de puertas, una exterior y una interior, cuyas misiones son las de activar o inactivar las corrientes (Reuter, - 1.979; Hagiwara y cols., 1.981; Lager, 1.980).

Un modelo propuesto por Reuter (1.979) y más tarde confir



mado por Triggles (1.982), para estos canales lentos es:



En cada canal hay dos puertas, una dependiente del voltaje ( $g$ ) y otra dependiente de la fosforilación ( $g'$ ) y a su vez independiente del voltaje. Además, cada canal contiene un filtro en su parte exterior que determina la selectividad para el  $Ca^{++}$ . La fosforilación de  $g'$  puede ser debida a una proteinquinasa dependiente del AMP cíclico, y a su vez la desfosforilación se debería a la acción de una fosfatasa. También se ha observado que es necesaria una despolarización de la membrana para conseguir que se abra la puerta  $g$  y de esta forma el  $Ca^{++}$  pueda penetrar libremente (Lager, 1.980).

Un argumento que refuerza esta teoría de los canales de las membranas es el descubrimiento de drogas que pueden inhibir selectivamente corrientes específicas. Un ejemplo sería la tetrodotoxina y los anestésicos locales como la lidocaína que ejerce un efecto inhibitorio en la corriente rápida sin efecto apreciable en la lenta (Coraboeuf, 1.978;

Almers, 1.978). También Gliklich (1.978), observa que compuestos catiónicos afines al  $\text{Ca}^{++}$  insertados dentro de la abertura externa de los canales lentos, pueden actuar provocando un bloqueo físico de la corriente, del mismo modo que los anestésicos locales bloquean los canales de  $\text{Na}^+$  en la superficie externa de la membrana.

Todos los cationes divalentes con radio similar al  $\text{Ca}^{++}$ , como  $\text{Ba}^{++}$  o  $\text{Sr}^{++}$  pueden atravesar los canales, pero otros como  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Ni}^{++}$  y  $\text{La}^{++}$  los bloquean, inhibiendo el paso de  $\text{Ca}^{++}$  y son considerados bloqueadores (Diamond y cols., 1.969; Rosenberg y cols., 1.978).

Otros tipos de drogas actúan inmovilizando los movimientos de los iones en los canales y por consiguiente ralentizan los parámetros cinéticos.

Por último, los neurotransmisores pueden darnos efectos contrarios. Mientras los agonistas  $\beta$ -adrenergicos (isoproterenol, epinefrina), el AMP-c y el AMP-c dibutiril incrementan la magnitud de la corriente interna lenta, los bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos reducen el flujo de iones  $\text{Ca}^{++}$  (Fleckenstein, 1.977; Reuter, 1.973; Schneider y col. 1.975).

Algunos autores (Schneider y col., 1.975; Sperelakis y col. 1.976), señalan que el mecanismo por el cual las catecolaminas incrementan la conductancia del  $\text{Ca}^{++}$  a través de los canales lentos sin alterar la cinética del proceso ni la selectividad del canal es debido a un aumento del número

de canales de  $Ca^{++}$  funcionales.

#### FUNCION DEL ATP Y AMP-CICLICO

La importancia del papel jugado por el AMP-c, se ha visto en función de las oscilaciones que sufren sus niveles durante el ciclo cardíaco (Brooker, 1.973).

Sperelakis y col., (1.976) y Greengard (1.976), vieron que el incremento de las cantidades de AMP-c podía ser consecuencia de la estimulación de la adenil ciclasa por las catecolaminas o por la inhibición de la fosfodiesterasa que degrada el AMP-c. A su vez, el AMP-c puede activar la proteinquinasa que cataliza la reacción crítica de fosforilación en el interior de los canales lentos. Luego el AMP-c es capaz de modificar las corrientes de iones durante el potencial de acción cardíaco.

Se ha observado (Ten Eick, 1.976) que algunos neurotransmisores como los agonistas muscarínicos (acetil colina) inducen un incremento en el GMP-c que tiene efectos opuestos al AMP-c, causando una reducción en la corriente lenta.

La magnitud de esta corriente se determina por el número de canales abiertos y por la naturaleza de esta abertura. Cuando la membrana celular despolarizada llega al umbral de voltaje se activa la puerta voltaje-dependiente, pero la total apertura depende de la disponibilidad del AMP-c que promueve la fosforilación de las proteínas de la su-

perficie interna de las membranas (Sperelakis, 1.976; - Schneider, 1.975).

Además del AMP-c se ha podido observar que otras reservas de energía como el ATP intervienen en este proceso. Es posible que una reducción de la concentración de ATP en el miocardio provoque la eliminación de la corriente. Se cree que tal vez el ATP actúe formando quelatos intracelulares de  $\text{Ca}^{++}$ , adyacentes al sarcolema y de esta forma se asegura una fuerza electroquímica que puede conducir la corriente de  $\text{Ca}^{++}$  durante la fase de meseta del potencial de acción. Además, el ATP probablemente juega un papel muy importante en la fosforilación de los componentes internos de la membrana (Cheneval, 1.972).

#### INTERCAMBIO $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{++}$

Además de los mecanismos ya descritos para la entrada del calcio, otro posible mecanismo lo constituye el flujo que se origina por medio de un intercambio con iones  $\text{Na}^+$ .

Se ha visto (Glitsch y cols., 1.970) que existe un proceso de transporte  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{++}$  que produce una afluencia de  $\text{Ca}^{++}$ , la magnitud del flujo depende de la concentración de  $\text{Na}^+$  relativa dentro y fuera de la célula y también, del potencial de membrana.

Este intercambio no requiere energía, pero la cantidad de ATP presente en el proceso influye alterando la afinidad del transportador por el  $\text{Na}^+$ , el  $\text{Ca}^{++}$  o ambos (Blanstein, 1.977).

En el músculo cardíaco se ha sugerido (Braunwald, 1.982) que este incremento  $\text{Na}^+$ -  $\text{Ca}^{++}$  puede jugar un papel importante en la actuación del  $\text{Ca}^{++}$  en el aparato contráctil.

#### MECANISMO DE CONTRACCION

El  $\text{Ca}^{++}$  es esencial en la contracción de todos los tipos de músculos: cardíaco, estriado y liso. Entender bien el mecanismo por el cual el calcio activa a cada uno de ellos es necesario para ver bien los distintos efectos que tienen los antagonistas del calcio en cada tipo de musculatura.

Como se puede observar en la figura 2, la unidad estructural y funcional responsable de la contracción es la sarcómera. Está formada por dos proteínas contráctiles, actina y miosina, y dos proteínas reguladoras, tropomiosina y troponina. Esta última a su vez, está formada por tres sub-unidades: troponina I, troponina T y troponina C. Estas proteínas se disponen formando filamentos, que dan lugar a las estriaciones transversales características del músculo.

Los filamentos gruesos, formados por miosina, tienen un diámetro aproximadamente doble al de los filamentos delgados, que a su vez están constituidos por actina, troponina y tropomiosina.

Como vemos en la figura 3, los filamentos de actina están formados por dos cadenas de unidades globulares que dan lu

gar a una larga doble hélice. Las moléculas de tropomiosina son filamentos largos situados entre las dos cadenas de esta hélice. A su vez, las moléculas de troponina son pequeñas unidades localizadas a intervalos a lo largo de las moléculas de tropomiosina. La troponina T une los otros componentes de la troponina con la tropomiosina; la troponina I inhibe la acción recíproca de la miosina y la actina, y la troponina C contiene los lugares de combinación para el  $Ca^{++}$ , que es el que inicia la contracción.

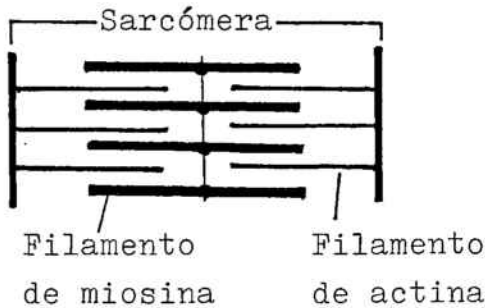


FIGURA 2

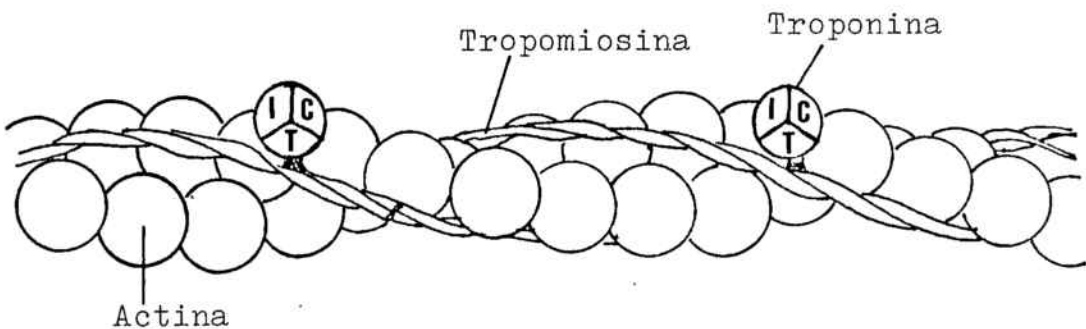


FIGURA 3

Las fibrillas musculares están rodeadas por una estructura compuesta de membranas. Esta estructura forma el sistema sarcotubular constituido por un sistema T y un retículo sarcoplasmático. La función del sistema T es la transmisión

rápida del potencial de acción desde la membrana celular a todas las fibrillas contenidas en el músculo. El retículo sarcoplasmático está encargado del movimiento del calcio y del metabolismo celular.

Además, el músculo cardíaco contiene gran número de mitocondrias alargadas en íntimo contacto con las fibrillas.

El proceso mediante el cual se realiza el acortamiento de los elementos contráctiles en el músculo, implica el deslizamiento de los filamentos de actina sobre los de miosina. Este deslizamiento es producido por la ruptura y regeneración de los enlaces cruzados entre actina y miosina.

La fuente inmediata de energía para la contracción muscular es el ATP. La hidrólisis de los enlaces fosfato produce gran cantidad de energía, en el músculo esta hidrólisis es catalizada por la miosina, y esta actividad adenosintrifosfatasa se encuentra en las cabezas de las moléculas de miosina por el punto donde estas están en contacto con la actina.

El proceso por el cual la despolarización de la fibra muscular inicia la contracción se llama acoplamiento de la excitación-contracción. El potencial de acción es presumiblemente transmitido a todas las fibrillas que se encuentran en la fibra a través del sistema T, este dispara la liberación de iones  $Ca^{++}$  desde las cisternas terminales (los sacos laterales del retículo sarcoplasmático próximos al sistema T, luego el calcio inicia la contracción.

En la despolarización celular la contracción del calcio en el miocardio aumenta de  $10^{-7}$  a  $10^{-5}$ , este incremento permite la unión del calcio con la troponina C y da lugar a la contracción. En el músculo en reposo la troponina I está fuertemente unida a la actina y la tropomiosina cubre los sitios donde las cabezas de miosina se unen con la actina. Así, el complejo troponina-tropomiosina constituye una "proteína relajante" que inhibe la acción recíproca de la actina y miosina. Cuando el  $Ca^{++}$  liberado por el potencial de acción se une con la troponina C, el enlace de la troponina I con la actina presumiblemente se debilita, y esto permite que la tropomiosina se mueva lateralmente. Este movimiento descubre sitios de combinación para la cabeza de miosina, de manera que el ATP es desdoblado y ocurre la contracción.

Poco después de la liberación del  $Ca^{++}$ , el retículo sarcoplásmico comienza a reaccumular  $Ca^{++}$ , este es bombeado activamente al interior de las porciones longitudinales del retículo y difunde desde allí a las cisternas, donde es almacenado. Una vez que la concentración de  $Ca^{++}$  fuera del retículo ha descendido suficientemente, la acción química recíproca de la miosina y la actina cesa y el músculo se relaja.

Se debe hacer notar que el ATP provee la energía para el transporte activo del  $Ca^{++}$  al interior del retículo endoplásmico. Así pues, tanto la contracción como la rela-



jación requieren del ATP.

Este proceso descrito puede esquematizarse como representan las figuras 4 y 5.

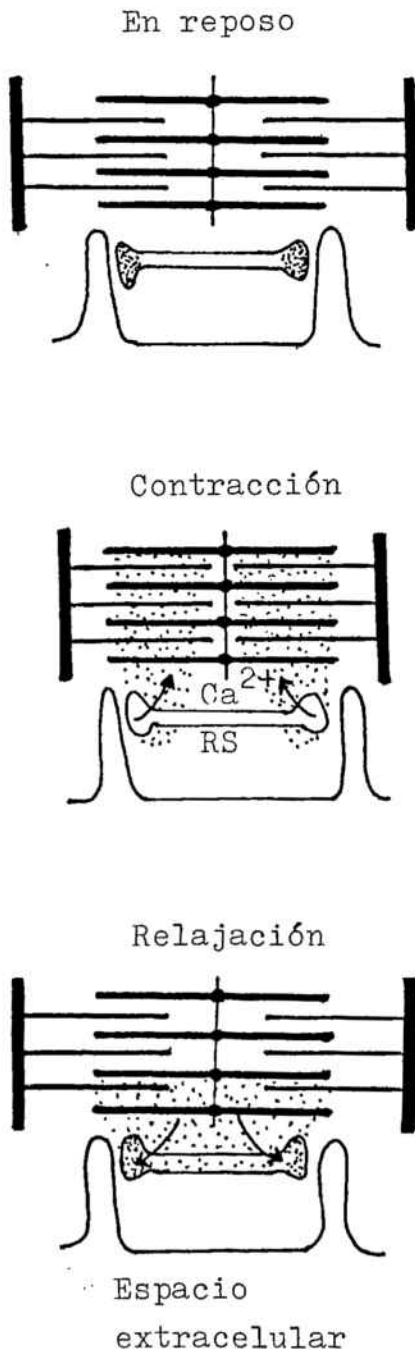


FIGURA 4

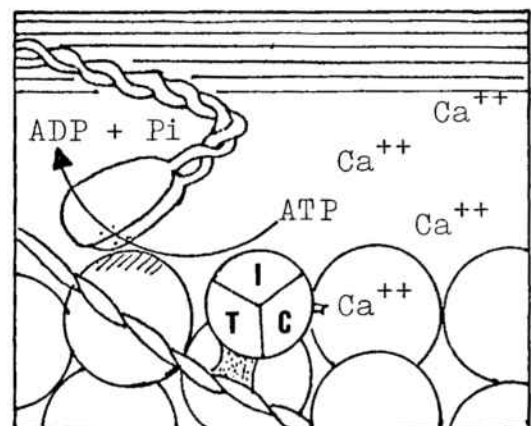
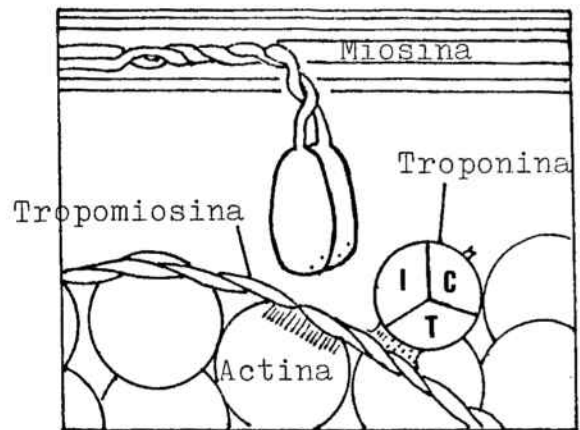


FIGURA 5

Drogas con propiedades inotrópicas positivas tales como los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos actúan no solo aumentando la cantidad del flujo de  $\text{Ca}^{++}$  a través de los canales lentos de la superficie de la membrana en la despolarización, sino también incrementando la liberación del  $\text{Ca}^{++}$  de los depósitos intracelulares ( por ejemplo el retículo sarcoplásmico ) e incrementando la sensibilidad en los sistemas de contracción para el  $\text{Ca}^{++}$  ( Katz y cols., 1.979).

La contracción en el músculo liso vascular como el de las arterias coronarias también requiere una interacción entre actina y miosina, aunque hay importantes diferencias en el proceso bioquímico entre el músculo liso vascular y el miocárdico.

El proceso que regula la contracción en el músculo liso viene dado por toda una serie de reacciones, la primera de las cuales se debe a una proteína que posiblemente sustituye a la troponina y que se une al  $\text{Ca}^{++}$ . Cuando la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  aumenta a  $10^{-6}$  M, el  $\text{Ca}^{++}$  se une a la calmodulina y forman un complejo que activa al enzima miosinaquinasa. Este enzima produce la fosforilación de la miosina de cadena ligera y esto le permite interaccionar con la actina, y así empieza la contracción del músculo liso que da lugar a una vasoconstricción.

Como es sabido, la acción de los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos citada anteriormente es distinta para el corazón que para el músculo liso. En el corazón inducen una elevación de los

niveles de AMP-c, el cual aumenta la disponibilidad del  $\text{Ca}^{++}$  con lo que facilita la contracción ( Solaro, 1.982 ). En el músculo liso en cambio, este aumento de AMP-c produce una vasodilatación por dos posibles mecanismos: al aumentar el AMP-c se activa una proteinkinasa que puede disminuir la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular incrementando el flujo de  $\text{Ca}^{++}$  hacia el exterior y oponiéndose a su entrada. Por otro lado parece que este incremento de AMP-c puede inactivar la miosinkinasa responsable de la fosforilación de la miosina y por tanto se relaja el músculo liso ( Vallet y cols., 1.980 ).

Aunque hay notables diferencias entre los mecanismos contráctiles del miocardio y el músculo liso, está claro que la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  en el mioplasma es importantísima en ambos casos.

### III. MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTAGONISTAS DEL CALCIO

El mecanismo de acción de los antagonistas del calcio varía dependiendo del punto en el que actúen. Dentro del sistema cardiovascular hay dos posibles lugares de acción : las células musculares estriadas miocárdicas y la fibra muscular lisa.

— En las células miocárdicas actúan sobre el acoplamiento de la excitación-contracción, con dos posibles mecanismos:

1. Varían la despolarización, preferentemente en células especializadas sinusales y nodales, produciendo un enlentecimiento del automatismo espontáneo de la conducción nodal y ejerciendo efectos antiaritmicos directos sobre los trastornos supraventriculares del ritmo.

2. Modifican la contracción y relajación de las células musculares estriadas debido a que la penetración del calcio extracelular desplaza al calcio intracelular del retículo sarcoplásmico hacia los filamentos de actina y miosina con lo que desaparece la inhibición de la tropomiosina sobre el ATP-asa miofibrilar. Este enzima es indispensable para la liberación de energía, necesaria para la contracción.

El mecanismo de acción de los distintos antagonistas del calcio sobre la membrana miocárdica depende de su estructura molecular : la Nifedipina reduce el número de canales lentos sin alterar su cinética mientras que el Vera

mil y en menor grado el Diltiazem, actúan produciendo una inversión en la relación fuerza-frecuencia cardíaca normal. Actúan pues, variando la cinética.

- El mecanismo de acción de estos agentes sobre la célula muscular lisa es más incierta. Su efecto consiste en una vasodilatación causada por una acción relajante sobre la actividad mecánica de la fibra. Mayoritariamente esta acción se ejerce sobre algunas arterias, sobre todo proximales y en algunos territorios, especialmente el coronario y el cerebral. Prácticamente no tienen acción en el sector venoso, por eso son considerados predominantemente vasodilatadores arteriales. Los efectos hemodinámicos resultarán de la combinación de las posibles modificaciones de la frecuencia cardíaca, del inotropismo, de las condiciones de carga ventriculares e igualmente de las modificaciones directas e indirectas de la circulación coronaria.

Dado que los inhibidores del calcio constituyen un grupo muy heterogéneo de fármacos tanto por su estructura química como por su acción sobre la célula muscular miocárdica, los vasos periféricos y la circulación coronaria, se deben analizar cada uno de ellos por separado. Así, la Nifedipina, según los estudios realizados por Kaufman (1.977), Bayer y cols. (1.977) y Ehara y Kaufman (1.980), no afecta la corriente rápida de sodio, pero en cambio inhibe la corriente lenta de calcio de forma dosis-dependiente aunque sin alterar los parámetros cinéticos, ni el periodo refractario. La acción de

la Nifedipina en los canales lentos del calcio sería similar a la que ejerce la tetrodotoxina (Reuter, 1.979) en los canales rápidos de sodio, actuando como un autentico tapón, de forma que tan solo una parte de los canales existentes son inhibidos. Además la Nifedipina produce un retraso en la aparición de la corriente de potasio.

El Verapamil y el D-600 (metoxiverapamil), a su vez tienen distintos efectos electrofisiológicos dependiendo del isómero óptico al que hagamos referencia. Se cree (Bayer y cols., 1.975) que los enantiómeros (R) (+) tienen una actividad importante como bloqueadores de la corriente rápida mientras que los enantiómeros (S) (-) actúan predominantemente a nivel de la fase de meseta, mediante un bloqueo de los canales lentos. Se ha observado que la acción del fármaco es el resultado de la suma de las acciones de sus dos isómeros. Sus efectos dependen de la frecuencia cardíaca y se manifiestan tras un período de tiempo. Actúa inhibiendo la corriente lenta y alterando las propiedades cinéticas, pero el Verapamil no es un bloqueador selectivo de los canales lentos ya que a altas concentraciones actúa también sobre los canales rápidos.

La Nifedipina parece ser que es más selectiva sobre los canales lentos que el Verapamil o el D-600. Por su parte el Diltiazem bloquea los canales del calcio a pequeñas concentraciones, pero como el Verapamil, también produce efectos inhibitorios sobre los canales rápidos al aumentar la concentración.

## ACCION FARMACOLOGICA

Las acciones farmacológicas de los antagonistas del calcio derivan de sus efectos electrofisiológicos y hemodinámicos.

-Principalmente estos agentes actúan deprimiendo la frecuencia de descarga del nódulo SA (efecto cronotrópico -) e inhibiendo la velocidad de conducción a través del nódulo AV (efecto dromotrópico -). Zipes y Fischer (1.974) Wit y Cranefield (1.974) y Okada y Konishi (1.975) demostraron estos efectos en el Verapamil. La mayoría de ellos además prolongan el periodo refractario del nódulo AV. La potencia relativa de estos efectos depende de la dosis y de la vía de administración (Ono y cols., 1.979).

Las acciones terapéuticas derivadas de estos efectos sobre la aurícula, son debidas a que tanto el Diltiazem como el Verapamil actúan de forma semejante sobre el nódulo AV permitiendo su empleo en el tratamiento de la taquicardia por reentrada, mientras que la Nifedipina a dosis clínicas no tiene propiedades antiarrítmicas probablemente debido a un efecto reflejo provocado por su acción hipotensiva que activa el sistema simpático secundario. Este efecto es mucho menor en los otros antagonistas del calcio y no desencadena esa respuesta.

Sobre los ventrículos también actúan disminuyendo la excitabilidad de las fibras de Purkinje, lo que permite emplearlos en arritmias ventriculares.

Las aplicaciones clínicas más corrientes de estos fármacos son: en casos de taquicardia paroxística supraventricular, en "flutter" y en fibrilación auricular. El más utilizado en estos casos es el Verapamil, que se administra normalmente por vía intravenosa pero que puede emplearse también en profilaxis en cuyo caso se da por vía oral.

- Por otro lado, los agentes bloqueadores del calcio pueden modificar la hemodinámica cardiovascular, ya que producen una dilatación arterial coronaria y periférica, y un efecto inotrópico negativo.

Además, estos fármacos actúan de forma distinta según el tejido del que se trate, así poseen un efecto inhibitorio sobre la contracción del músculo liso en las arterias coronarias de 3 a 10 veces superior que en las células contráctiles del miocardio. De este modo se puede producir una dilatación en arterias coronarias sin haberse afectado el miocardio (Hashimoto, 1.972).

La utilización clínica derivada de estos efectos terapéuticos es principalmente sobre la hipertensión arterial, en la isquemia miocárdica (evitando el desarrollo del espasmo miocárdico o provocando una dilatación en los vasos coronarios laterales, en caso de oclusión), en la angina típica (angor pectoris) y en la angina de Prinzmetal.

La acción sobre las patologías citadas se podría explicar por varios mecanismos, ya que además de los efectos hemodinámicos descritos, estos fármacos y sobre todo la



Nifedipina, reducen la demanda de oxígeno gracias a su efecto inotrópico negativo y aumentan su suministro mediante una disminución del tono arterial.

Los estudios clínicos existentes hasta el momento, indican que la Nifedipina sería el fármaco de elección en pacientes con angina o con hipertensión que presentaran - contraindicaciones específicas a los  $\beta$ -bloqueantes. Esto es debido a que este fármaco tiene una potente y prolongada acción espasmolítica y vasodilatadora.

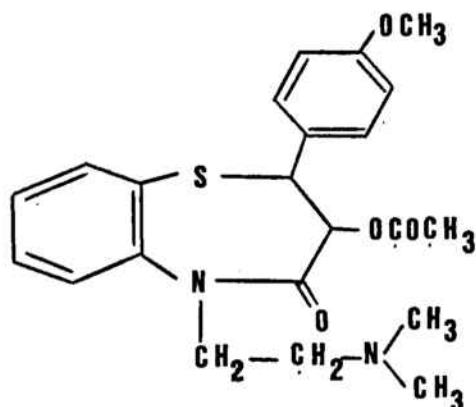
IV. DILTIAZEM

## QUIMICA

El Diltiazem tiene una fórmula empírica constituida por:

$C_{22} H_{26} N_2 O_4 S \cdot HCl$ , con un peso molecular de 450,92

Es un derivado de la benzotiazepina en forma d-cis.



Es una sal que se presenta en forma cristalina; sin olor y con gusto amargo.

Se disuelve bien en agua, metanol, cloroformo y acetona, menos en etanol absoluto y raramente en benceno.

## FARMACOCINETICA

La intensidad y la duración de las acciones de un fármaco, así como su toxicidad, dependen muchas veces de la biodisponibilidad, el metabolismo y la eliminación del mismo. De esto deriva la importancia de conocer la cinética de cada fármaco.

En el caso del Diltiazem todavía no están demasiado claros algunos aspectos de su cinética. Los primeros trabajos sobre el tema se hicieron empleando técnicas de cro-

matografía en capa fina, pero en vista de la poca especificidad y sensibilidad del método, Rovei y cols., (1.977) desarrollaron una técnica en cromatógrafo de gases. Con ella determinaron el Diltiazem y su metabolito más importante.

Este trabajo junto con otros aparecidos más tarde de los mismos autores (1.978, 1.979) indican que el Diltiazem es un fármaco que se absorbe con rapidez, obteniéndose las concentraciones máximas entre las 2 y 4 horas (Hermann, 1.983; Kinney, 1.981). Después de las 24 horas no se detecta fármaco en plasma por lo que se puede pensar que no hay acumulación ( Koiwaya, 1.981).

Según el trabajo de Kinney y cols. (1.981), realizado en humanos, la concentración máxima después de una dosis oral de 90 mg. se encontraría en torno a  $117 \pm 20$  ng/ml y el AVC extrapolada al infinito sería de  $984 \pm 195$  ng/ml.h.

Trabajos realizados en animales (roedores y perros) por Piepho y cols., (1.982) demostraban que la absorción se hacía en el tracto gastrointestinal, sobre todo en intestino, y que era rápida y casi completa. La distribución tras una administración intravenosa u oral, era similar, el Diltiazem se repartía rápidamente en pulmón, músculo miocárdico, hígado, riñón, corteza adrenal, músculo estriado, paredes de los vasos sanguíneos y cerebro, aunque en éste último no era retenido. Además, los niveles hallados en hígado, conductos biliares y vesícula biliar, y

su rápido metabolismo biliar nos da idea de la gran importancia del sistema hepático en la eliminación del Diltiazem.

La unión a proteínas plasmáticas sería otro punto a considerar cuando hablamos de distribución. Se ha visto que en humanos la unión es de  $78 \pm 2,5\%$  y este porcentaje varía según la especie, aunque los valores son similares. Esta unión no varía en presencia de su metabolito, el n-desacetil diltiazem, en cambio podría variar frente a otros fármacos. Bloedow y cols. (1.982) señalan en su estudio que frente a fármacos como digoxina, hidroclorotiazida, fenilbutazona, propanolol, ácido salicílico y warfarina, la unión del Diltiazem a proteínas plasmáticas no se modificaba. Pero Morselli y Rovei (1.979), en un tratamiento concomitante de Diltiazem con aspirina o diazepam, observaron una reducción en los niveles de Diltiazem en el plasma.

Su metabolismo fundamentalmente hepático (Piepho, 1.982) consiste en una n-desacetilación como vía principal de biotransformación, dando lugar al n-desacetil diltiazem; éste supone un 20% del Diltiazem presente en el organismo.

Se excreta en un 60% vía fecal, esto sugería una excreción biliar. Piepho y cols. (1.982) demostraron la existencia de un ciclo enterohepático mediante técnicas radioactivas. Probablemente la eliminación del Diltiazem dependería del flujo sanguíneo hepático. Todo esto ex-

plicaría el gran volúmen de distribución encontrado y la rápida desaparición del fármaco en plasma.

La cinética del Diltiazem No está todavía bien definida, hay autores (Kinney, 1.981) que hablan de modelos monocompartimentales, otros (Etoh y cols., 1.980; Hermann, 1.982) por el contrario sugieren modelos bicompartimentales. Lógicamente, los parámetros farmacocinéticos calculados sobre ambos modelos tienen un valor distinto. Los autores que se inclinan por un modelo monocompartimental dan como tiempo de vida media para una dosis oral de 60 mg. - unas 4 horas, y los que se inclinan por un modelo bicompartimental indican que el tiempo de vida media en la fase  $\beta$  se encuentra entre 2 y 3 horas, para la misma dosis oral.

Por otra parte el estudio de los trabajos de farmacocinética del Diltiazem existentes en la literatura, es bastante confuso pues los tiempos de vida media varían bastante de una a otra dosis, así para una dosis de 10 mg. administrada por vía endovenosa aparece un  $t_{1/2}$  de la fase  $\beta$  de unas 2 horas (Etoh y cols., 1.980) y para una dosis de 15 mg. el  $t_{1/2} \beta$  es de unas 3 horas (Hermann y cols., 1.983). Asimismo en administraciones orales, para una dosis de 60 mg. el  $t_{1/2}$  es de unas 3 horas (Herman y cols., 1.983) y para una dosis de 90 mg. éste sube a unas 4,5 horas. Estos datos no pueden compararse, - no obstante sugieren la posibilidad de la existencia de una saturación de los mecanismos de eliminación. Zélis

y Kinney (1.982) sugieren esta posibilidad pero no la concluyen, ya que la muestra de pacientes utilizada era demasiado pequeña, estos autores no encuentran diferencias significativas en cuanto al tiempo de vida media y la concentración máxima para la dosis oral de 60 y 90 mg. de Diltiazem, pero sí observan diferencias significativas en el tiempo de vida media para las dosis orales de 60 y 120 mg.

#### ACCION FARMACOLOGICA Y MECANISMOS DE ACCION

La existencia de numerosos estudios farmacológicos sobre el Diltiazem permiten conocer con bastante exactitud el mecanismo de acción de este fármaco.

Los primeros estudios realizados confirmaron que no era un  $\beta$ -bloqueante (Flaim y cols., 1.980), y que su efecto vasodilatador no era debido a un mecanismo adrenérgico, colinérgico, ni histamínico (Sato, Nagao y cols., 1.971, 1.972). Parece ser, que el mecanismo de acción del Diltiazem sobre las células cardíacas es un desacoplamiento de la excitación-contracción. Según Nakagima y cols. (1.975) esto es debido a que reducen las concentraciones intracelulares de calcio libre. Otros experimentos confirmaron que el Diltiazem bloqueaba las corrientes lentas de calcio sin afectar a las rápidas de sodio ni a la conducción del potasio (Nabata y cols., 1.977).

Se han observado efectos farmacológicos del Diltiazem en las células del miocardio y en las células de la musculaa

tura lisa. Además, este fármaco puede alterar específicamente la hemodinámica cardiovascular mediante la combinación de tres efectos: dilatación de las arterias coronarias, dilatación de las arterias periféricas y también efectos cronotrópicos e inotrópicos negativos.

Bourassa, Tubau y cols. (1.980), en estudios realizados en humanos, vieron que el Diltiazem producía una vasodilatación coronaria dependiente de la dosis y que además también tendría efecto sobre arterias colaterales.

Yamaguchi y cols. (1.979) observaron que el efecto vasodilatador del Diltiazem aumentaba si las arterias previamente presentaban una vasoconstricción.

El efecto en el sistema venoso es menor que en el arterial (Tubau, 1.980 ; Walsh, 1.979).

El diltiazem tiene un efecto cronotrópico negativo mayor que el Verapamil y Nifedipina, pero un menor inotropismo negativo, lo cual hace que exista una menor demanda de oxígeno del miocardio (Stone, 1.980).

#### REACCIONES ADVERSAS

Se conocen pocas reacciones adversas al Diltiazem. En estudios de doble ciego Diltiazem/placebo, realizados en 222 pacientes en U.S.A. (Tartaglione y cols., 1.982) y otros 246 pacientes pertenecientes a un estudio multicéntrico en Francia (Kilborn y cols., 1.979) se observaron efectos adversos que consistían en dolor de cabeza,

vértigo y fatiga en los pacientes que tomaban Diltiazem del orden de un 60 y 48% respectivamente. También se detectaron pero con una baja frecuencia ( 4,6 y 1,6 % respectivamente) efectos cardiovasculares que incluían bradicardia, edema y bloqueo AV. Así mismo, algún paciente presentó irritación gástrica, náuseas y constipación. - En una frecuencia inferior al 1 % se observaron: elevación de los niveles de transaminasas y reacciones de hipersensibilidad.

La incidencia de reacciones adversas en los otros antagonistas del calcio (Nifedipina y Verapamil) parece estar muy por encima de la frecuencia que se ha observado en el Diltiazem. Para la Nifedipina es del 17 % (Ebner y cols., 1.976) y para el Verapamil del 9 % (Snigh y cols., 1.978).

No existen datos publicados sobre teratogénesis en humanos, asimismo la eficacia y seguridad de la administración de Diltiazem en niños no está establecida.



## V. FARMACOCINETICA

### INTRODUCCION

La farmacocinética es la ciencia que se ocupa del estudio de la evolución temporal de los niveles de los medicamentos y sus metabolitos en los diferentes fluidos, tejidos, y excretorios del organismo, y de las relaciones matemáticas necesarias para desarrollar los modelos adecuados para interpretar tales datos.

El objetivo de la farmacocinética es obtener del medicamento la máxima eficacia terapéutica con el mínimo riesgo para el paciente.

Como afirma Dettli (1.973) desde Paracelso se sabe que cuanto mayor es la dosis de un fármaco administrada a un paciente, mayor será la intensidad del efecto farmacológico obtenido. La relación entre dosis y efecto sin embargo, no siempre es lineal, y es variable de un paciente a otro. La farmacocinética, no hace más que estudiar lo que ocurre entre la administración de la dosis y la aparición del efecto, pues los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, como cualquier proceso biológico, presentan una importante - variabilidad interindividual e incluso intraindividual (Wagner, 1.973).

Para calibrar los beneficios y los riesgos de un fármaco, se hace necesario conocer con profundidad no solo

sus mecanismos de acción, sinó también sus características, que hacen posible el acceso del fármaco a sus receptores y motivan la aparición de efectos secundarios y tóxicos.

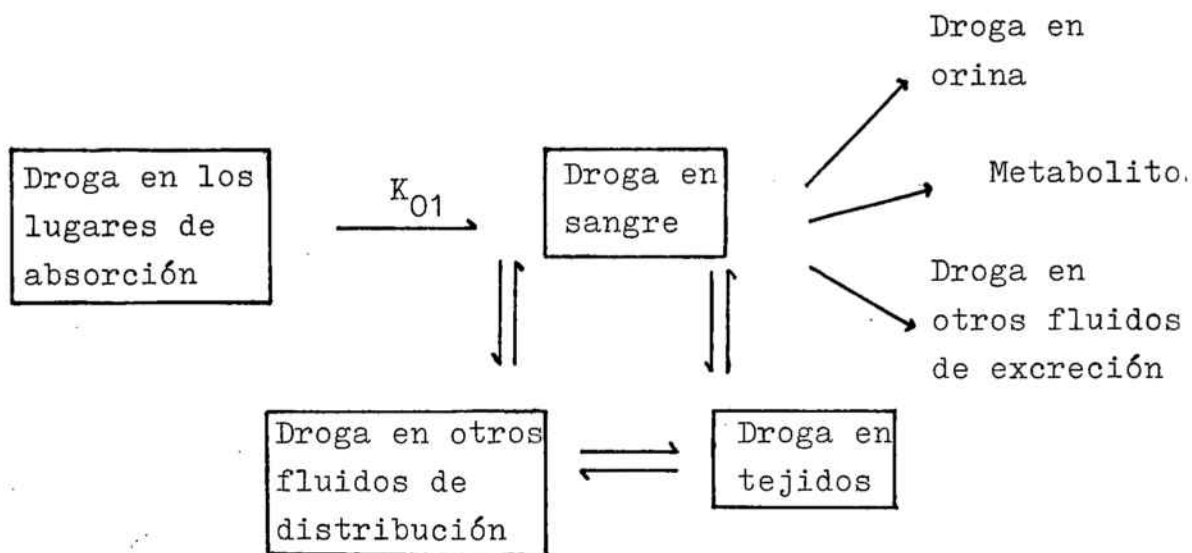
Para conseguir el objetivo que persigue la farmacocinética, lo más adecuado sería seguir la evolución temporal del fármaco en las distintas biofases y relacionar la con la intensidad y duración de las respuestas halladas. Muchas de estas biofases no son accesibles al estudio y muy particularmente cuando el organismo objeto de análisis es el hombre; por lo que la evolución temporal del fármaco en el organismo se deberá realizar a partir de los fluidos orgánicos fácilmente accesibles tales como sangre y orina.

Es así, como la farmacocinética se ocupará principalmente del estudio e interpretación de la evolución con respecto al tiempo del fármaco y metabolitos en la sangre y también en la orina.

Este criterio es lógico si se considera que el plasma sanguíneo cataliza los procesos de liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción, como se puede observar en la figura que representa el esquema de tránsito de los fármacos en el organismo.

#### 1. Descripción de los procesos del LAMDE

Según este esquema, en primer lugar habra que considerar



la liberación del fármaco a partir de la forma farmacéutica en que se ha administrado, es decir, su paso a forma directamente absorbible. Para ello es necesario que se disuelva en el lugar de absorción y así obtengamos la forma "libre" del fármaco. Este proceso puede no existir o ser extraordinariamente rápido.

Una vez disuelto en los lugares de absorción, el fármaco atraviesa las membranas biológicas naturales y accede a la sangre, de manera mayoritaria a la fracción fluida de ésta, que es el plasma. En caso de la administración intravenosa este proceso descrito no se hace necesario.

Desde el plasma se realiza la distribución del fármaco libre (no ligado a proteínas plasmáticas) a los fluidos intersticiales que bañan las células y de allí a la fracción acuosa de los distintos órganos y tejidos hasta alcanzar un equilibrio entre el plasma y los distin-

tos fluidos del organismo, equilibrio que se mantiene hasta el final.

Paralelamente a la aparición del fármaco en el organismo, durante la absorción y la distribución, empieza la eliminación, tanto por excreción directa mediante las vías naturales que posee el organismo como por biotransformación metabólica del medicamento en derivados más polares que se excretan con mayor facilidad por orina.

### 1.1. Absorción

El mecanismo de la absorción es complejo y en él influyen toda una serie de características físico-químicas dependientes de la molécula y del lugar donde se va a realizar la absorción (liposolubilidad, ionización, tamaño de la molécula, pH del medio, etc.).

Encontramos que pueden coexistir mecanismos de carácter pasivo con otros de índole activa, mediados por portadores o catalizados por enzimas.

La mayor parte de los fármacos se absorben por un proceso de difusión pasiva. Esta difusión se realiza a través de las membranas hasta llegar al plasma desde donde accede a la circulación general. Este mecanismo necesita que el fármaco esté disuelto en el lugar de absorción. Es necesario que exista una diferencia de concentraciones a ambos lados de la membrana, estableciéndose por tanto un gradiente de concentración. También es preciso que el fármaco

fármaco tenga una buena capacidad para disolverse en la estructura de la membrana, de naturaleza lipo-protéica, o sea que estará condicionado por la liposolubilidad de éste, la cual viene determinada por la presencia de grupos lipofílicos en la estructura molecular.

Hay sustancias que pueden atravesar las membranas sin necesidad de estar en solución, esto lo consiguen gracias a un mecanismo de transporte conocido como absorción por pinocitosis. Este es comparable a la fagocitosis y consiste en la absorción de pequeñas gotas de grasa o aceite e incluso de partículas sólidas a través del lumen del tracto intestinal a los epitelios de los capilares venosos o linfáticos.

Otras sustancias, como se ha dicho anteriormente, precisan de un transportador, que se encuentra generalmente formando parte de la membrana y que se une al fármaco dando lugar a un complejo que atravesará las membranas sin consumo de energía.

Otra posibilidad es el transporte en contra de gradiente, para ello es preciso un aporte de energía en forma de ATP y la existencia de un transportador, que puede ser un enzima.

Tanto el transporte facilitado como el transporte activo con consumo de energía, son procesos unidireccionales, saturables y específicos para una molécula o grupo de moléculas, pudiendo existir competición entre varias molé-

culas que posean afinidad por el mismo transportador.

## 1.2. Distribución

Una vez tenemos el fármaco en el plasma, se establece como hemos señalado anteriormente, un equilibrio entre el agua tisular, los fluidos intersticiales y el mismo plasma, que se mantiene hasta el final del proceso, pero además y dependiendo de las características propias de cada fármaco dentro del compartimiento plasmático, puede darse una unión reversible a proteínas circulantes.

Las proteínas actúan como un reservorio del fármaco y a medida que la forma libre disuelta va desapareciendo del plasma por biotransformación o excreción, éstas lo van cediendo. Este fenómeno tiene un efecto farmacológico importante, ya que los medicamentos que se unen en gran proporción a proteínas plasmáticas, presentan una concentración menor en la biofase, ya que sólo acceden a órganos o tejidos en la forma libre. Así mismo estos fármacos tienen una distribución menor y una eliminación más lenta.

Debido a la existencia de tejidos bien irrigados y otros con un aporte sanguíneo escaso, el fármaco accede de forma diferente a cada uno de ellos. Se observa que en los tejidos periféricos, el fármaco se distribuye mucho más lentamente y esto motiva una demora en la consecución del equilibrio.

Además, la velocidad de biotransformación y excreción del fármaco pueden condicionar su distribución, así, si ésta es muy rápida, no dará tiempo a la distribución del fármaco a todos los tejidos a los que podría acceder.

Por último nos queda el agua intracelular y debemos considerar la posible interacción del fármaco con los constituyentes celulares de carácter lipídico y proteínico que pueden retener de forma reversible a la sustancia medicamentosa, retrasando su retorno al plasma y afectando las pautas de eliminación. Al estar retenido el fármaco en estos depósitos, la concentración plasmática es menor, por lo que accederá menos fármaco a los lugares de metabolismo y excreción, y como consecuencia se tendrán tiempos de permanencia del fármaco en el organismo superiores. También se han observado sustancias que se unen de forma prácticamente irreversible a macromoléculas celulares, pudiendo presentar efectos muy tóxicos.

Otro factor a destacar, producto de la distribución tisular, es el acceso a sectores especiales acuosos que están prácticamente fuera de la circulación general, como el líquido cefaloraquídeo. Muchos fármacos pueden llegar a él y retornar después al plasma por mecanismos específicos. El estudio de este paso puso de relieve la existencia de barreras que impedían el paso de algunos fármacos a espacios orgánicos como son la barrera hematoencefálica y la placentaria.

Así pues, la distribución de los fármacos es un proceso

complejo que puede condicionar muchos de los parámetros farmacocinéticos.

### 1.3. Metabolismo

El metabolismo o biotransformación es el resultado de una serie de reacciones enzimáticas que tienen como finalidad la degradación del fármaco dando lugar a uno o más productos que pueden o no tener actividad farmacológica, y con unas características de polaridad, tamaño o estructura que hacen más fácil su eliminación.

Los procesos de biotransformación que dan lugar a productos de degradación o metabolitos, son cada vez más complicados a medida que se asciende en la escala filogenética, así los anfibios son capaces de oxidar, pero no de conjugar los compuestos, mientras que en los mamíferos se pueden dar ambas vías metabólicas (Brodie y cols., - 1.958; Conney, 1.969).

Las reacciones básicas de biotransformación se pueden dividir en dos grandes grupos:

1. Reacciones en fase I: oxidación, reducción e hidrólisis.
2. Reacciones en fase II: conjugación.

Los enzimas que catalizan la oxidación de los fármacos se encuentran predominantemente en la fracción microsomal hepática. Esta fracción está compuesta por fragmentos del retículo endoplasmático.



Estas reacciones requieren la intervención del oxígeno mono molecular, de un donador de hidrógeno (NADPH), estando catalizados por un sistema enzimático que funciona con una cadena de transporte electrónico y que termina en el citocromo P<sub>450</sub>.

Las reacciones en fase II o de conjugación tienen lugar entre una molécula exógena o su metabolito y un sustrato endógeno para dar lugar a un compuesto menos tóxico, más soluble, ionizable y susceptible de ser eliminado más fácilmente que la molécula original. Los sustratos endógenos pueden ser: ácido glucurónico, ribósidos, ácido sulfúrico y aminoácidos.

El metabolismo de un fármaco puede ser estimulado y deprimido por otras sustancias e incluso por el propio fármaco o sus metabolitos. Así, el fenobarbital, si se administra conjuntamente con otro fármaco, puede disminuir considerablemente la vida media de éste (Kato y cols., 1.966).

El mecanismo de estimulación lleva consigo la síntesis de nuevas proteínas. Si por el contrario el sistema metabolizante es inhibido, se observará que el tiempo de permanencia del fármaco en el organismo aumenta considerablemente, con el consecuente peligro de toxicidad. Así, la testosterona inhibe el metabolismo del hexobarbital y etilmorfina (Conney y Burns, 1.976).

El metabolismo también puede verse modificado por: situa

ciones patológicas, edad, sexo, dieta, genética, etc.

#### 1.4. Excreción

La excreción es la fase final de la eliminación del fármaco y sus metabolitos. Aunque puede realizarse por diferentes vías, la urinaria es la principal, seguida en importancia por la biliar a través de las heces, la intestinal, salivar, alveolar, sudoral y láctea.

— La excreción renal está controlada por la función fisiológica del riñón, que consiste en eliminar sustancias de la sangre para mantener el medio interno. La unidad funcional en la que tienen lugar la eliminación y la reabsorción de productos y agua, es la nefrona, que consiste en una red capilar (glomérulo) y otra tubular (túbulo proximal, distal).

Los procesos de excreción se realizan por distintos mecanismos: a) la filtración, b) la secreción activa y c) la reabsorción activa y pasiva, cada una con sus características propias.

- a) La filtración glomerular es un proceso pasivo, por el que pasan las sustancias de bajo peso molecular, siendo condición necesaria para este paso, el estar disueltas en el plasma sanguíneo, por lo que la unión a proteínas plasmáticas será un factor limitante.
- b) La secreción tubular es un proceso de transporte activo, utilizado básicamente por ácidos y bases fuertes

que requieren sistemas enzimáticos y gasto energético para dicho transporte. Un ejemplo de ácido orgánico que utiliza este mecanismo, es la penicilina (Neu, 1.979).

- c) La reabsorción tubular. Los túbulos renales constituyen una membrana continua lipídica sobre la que se aplican los principios generales de transporte por membranas. Pasan por simple difusión pasiva, las sustancias liposolubles con mayor o menor facilidad según su coeficiente de partición lípidos/agua; por lo tanto, los compuestos de baja liposolubilidad y los electrólitos fuertes muy ionizados no serán reabsorbidos por este proceso. Los ácidos y bases débiles en su fracción no ionizada, liposoluble y dependiendo del pH de la orina se reabsorberán en mayor o menor cantidad.

Otros fármacos y algunos cationes inorgánicos como el potasio, se reabsorben por un mecanismo activo a nivel de los túbulos renales (Giebisch, 1.964). En este mecanismo intervienen transportadores y hay un consumo de energía, por tanto será un mecanismo saturable.

Dependiendo del mecanismo adoptado por el fármaco para su excreción, y la concentración de éste en el plasma, la velocidad de excreción será más o menos alta.

Existen factores que modifican la excreción renal, como son: la edad, patologías renales, etc.

— La excreción biliar, segunda en importancia, se reali-

za a través de la bilis a partir del hígado. Es un mecanismo ineficiente por el hecho de que muchas sustancias son reabsorbidas nuevamente por el intestino delgado; este ciclo enterohepático continúa hasta que la biotransformación y la excreción renal eliminan el fármaco del organismo (Golstein y cols., 1.974).

Las sustancias que pasan a la bilis desde la circulación atraviesan las columnas de células hepáticas mediante dos tipos de transporte: difusión pasiva y transporte activo existiendo mecanismos distintos, al igual que en los tubulos renales, para los ácidos y para las bases fuertes.

Las otras vías de excreción de los fármacos, son de escasa importancia y solo para algún fármaco tiene interés el controlarlas.

#### ANALISIS COMPARTIMENTAL

El método más corriente utilizado para la caracterización farmacocinética de un medicamento consiste en representar el organismo como un sistema de compartimientos, aún cuando frecuentemente estos compartimientos no tengan realidad anatómica o fisiológica manifiesta.

Se puede considerar que un compartimiento es una fracción de material biológica en el que el fármaco se halla uniformemente repartido y en la que éste presenta las mismas propiedades.

Se podrá considerar que el organismo está dividido en un

número mayor o menor de compartimientos separados por ba  
rreras físico-químicas que el fármaco irá atravesando has  
ta lograr el equilibrio de concentraciones. Evidentemente  
el número de compartimientos para cada fármaco dependerá  
de las propiedades físico-químicas de éste, que condicio  
narán su acceso a los distintos tejidos y órganos, y la  
velocidad a que este paso se realice.

El tránsito del medicamento a través de los distintos -  
compartimientos se expresa por la concentración que al-  
canza y por la velocidad de salida.

La velocidad de salida, a su vez, viene regida por una -  
constante K, y en la mayoría de los casos por la concen-  
tración del fármaco remanente en el compartimiento consi  
derado, se puede pues caracterizar el paso de un fármaco  
por un compartimiento a partir de la K y de la C (concen-  
tración) o la Q (cantidad de medicamento).

Este proceso puede responder a modelos cinéticos distin-  
tos:

1.- Proceso de primer orden o de orden 1.

En éste, la velocidad de salida del fármaco del comparti-  
miento es proporcional en cualquier instante a la canti-  
dad de fármaco presente en el compartimiento en dicho ins  
tante. Así, esta velocidad viene definida por:

$$\frac{dC}{dt} = - KC \quad (1)$$

Los procesos de primer orden son los más frecuentes en -

fármacocinética debido a que en el organismo los mecanismos de transporte y excreción son mayoritariamente de tipo pasivo y por lo tanto no saturables.

2.- Procesos de grado constante o de orden 0.

Estos procesos son muy poco frecuentes. Aquí la velocidad de salida del fármaco no depende de la concentración que tenga en el compartimiento, es constante, o sea que desaparecerá siempre la misma cantidad por unidad de tiempo. Esto implica que son procesos saturables, por lo que la absorción o la eliminación del fármaco presentarán un tiempo de vida media dependiente de la cantidad de fármaco que ha sido administrada. Podemos expresarlo matemáticamente de forma:

$$\frac{dC}{dt} = K_0 \quad (2)$$

Suelen ser fármacos que solo se excretan tras su biotransformación.

Un ejemplo de fármaco que presenta esta cinética es el alcohol.

3.- Procesos de segundo grado o de orden 2.

En estos procesos la velocidad de salida del medicamento desde el compartimiento es directamente proporcional al cuadrado de la concentración o de la cantidad que existe en el mismo.

Cumplen la expresión:

$$\frac{dC}{dt} = KC^2 \quad (3)$$

Puesto que la desaparición del fármaco es proporcional al cuadrado de la concentración, nos encontramos al principio con una velocidad muy grande, y en cambio hacia el final es extremadamente lenta.

Es un tipo de cinética poco frecuente.

Muchas veces la cinética encontrada no se adapta exactamente a uno de estos tipos. Normalmente cada proceso suele ser suma o resultante de varios mecanismos y se habla entonces de "cinética aparente" ya que las constantes de velocidad que se determinan son, en realidad, la suma de varias constantes distintas (del mismo grado).

También nos encontramos a veces con cinéticas mixtas (suma de dos procesos de orden distinto) debido a la conjugación de un mecanismo activo y uno pasivo (orden uno y orden cero simultáneamente).

#### ESTUDIO CINETICO DE LOS FARMACOS

Cuando tenemos que realizar el estudio cinético de un medicamento, el primer problema que encontramos es la incapacidad de obtener muestras biológicas de los distintos compartimientos del organismo. Esto y el hecho de que es imposible matemáticamente considerar todos los compartimientos existentes, hace que se tienda a utilizar modelos simplificados, normalmente mono o bicompartimentales. Con este criterio se pueden obtener parámetros y ecuaciones más sencillas que facilitan el cálculo.

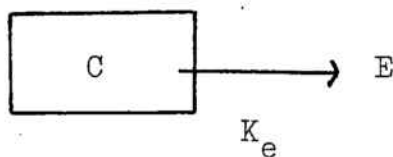
lo y dan el perfil cinético del fármaco con bastante exactitud.

#### MODELO MONOCOMPARTIMENTAL

Este modelo que es el más sencillo, considera al organismo como una sola unidad homogénea. Estaría constituido por todo el agua a la que el fármaco tiene fácil acceso, es decir, al agua plasmática, intersticial y parte de la intracelular.

Este modelo presupone que cualquier cambio que ocurra en el plasma refleja cuantitativamente, cambios ocurridos en los niveles tisulares del fármaco. Esto no implica que, en cualquier instante, exista la misma concentración de fármaco en todos los tejidos del organismo. Además, se deberá considerar que el equilibrio se alcanza de forma instantánea.

La concentración en el compartimiento será  $C$  y la cantidad de medicamento,  $Q$ . Se puede representar el proceso de forma siguiente:



Donde  $E$ , será la cantidad de sustancia eliminada.

Debido a la extrema simplificación de este modelo, rara vez se ajusta a la realidad del fármaco, pero es necesario llegar a su comprensión para pasar a estudiar modelos más



complejos.

Fué introducido por Widmark en 1.924 y más tarde por Dost.

Se debe tener en cuenta que dada la diferente vascularización de los distintos órganos, difícilmente se alcanzará el equilibrio instantaneamente como este modelo presupone; por otro lado, además del agua hay otras zonas a las cuales tiene acceso el fármaco y en las que se puede almacenar.

#### MODELO BICOMPARTIMENTAL

Fué introducido por Teorell en 1.937, basándose en lo dicho anteriormente. Este después de una administración endovenosa consideraba dos compartimentos, uno central que correspondería con el descrito para el modelo monocompartimental y otro compartimento periférico constituido por el el agua intracelular profunda y los depósitos no acuosos (proteínas, ácidos nucleicos y lípidos intracelulares).

El medicamento alcanzaría el equilibrio de forma uniforme e instantanea (por definición) en el compartimento central y podriamos medirla por el plasma, mientras que tardaria un tiempo variable en conseguir este equilibrio en el compartimento periférico.

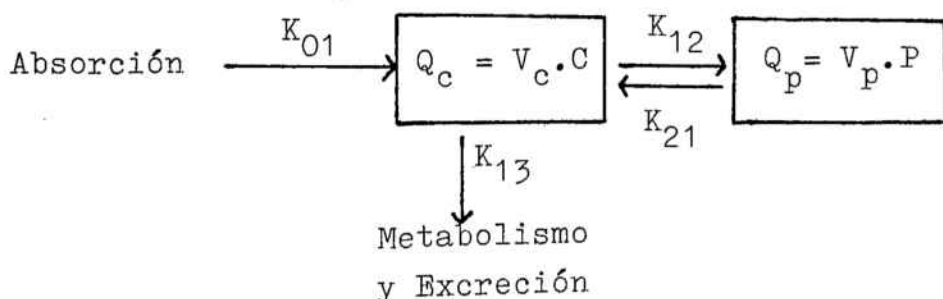
El modelo bicompartimental más frecuente es el que desde el compartimento central controla la eliminación y la distribución al compartimento periferico ( $K_{12}$ ).

En el periférico a su vez el fármaco permanecería depositado pasivamente y retornaría al central ( $K_{21}$ ) con una velocidad dependiente de la eliminación y metabolismo, y -también de su afinidad por los depositos no acuosos.

En el caso de una administración oral de un fármaco que responde a un modelo bicompartimental, podemos apreciar -una curva de niveles plasmáticos triexponencial, cuya parte final es rectilínea. Con frecuencia, puede darse el : caso de que la constante de velocidad de absorción de mu-  
chos fármacos sea tan próxima a la constante rápida de disposición ( $\alpha$ ) que, tras una entrada de primer orden, no se observe la fase de distribución. Las curvas de concen-  
tración plasmática-tiempo de estos fármacos, aparecen como biexponenciales, se comportan como si el fármaco confiriese al organismo las características de un modelo monocom-  
partimental.

Cuando se observa una curva triexponencial, será necesario calcular  $K_a$  ( constante de absorción ),  $\alpha$  y  $\beta$  ( constantes rápida y lenta respectivamente de disposición ) para reali-  
zar un análisis riguroso de tal curva.

Podrá esquematizarse como sigue:



## ANALISIS Y CALCULO DE LOS PARAMETROS FARMACOCINETICOS

Para definir el tránsito de un medicamento por el organismo, debemos en primer lugar administrar una dosis única y medir los distintos parámetros para ver a cual de los modelos posibles se ajusta más. De este modo podremos diseñar la pauta para su dosificación, cuando se administra a dosis múltiples.

El análisis del tránsito del fármaco en el organismo mediante el diseño de la curva de niveles plasmáticos es hoy el método que nos proporciona más datos para configurar el perfil farmacocinético del fármaco.

### Curvas de nivel plasmático

Consiste en administrar el medicamento (tiempo cero) y hacer tomas de sangre a distintos intervalos de tiempo hasta, si es posible, la desaparición del fármaco en el organismo.

De las muestras de sangre y por procedimientos analíticos adecuados, se extrae y determina el fármaco obteniendo así la concentración de éste en el plasma en cada intervalo de tiempo.

Se tabulan los resultados y se disponen en los ejes de coordenadas de modo que los tiempos se colocan en abscisas y las concentraciones en ordenadas. Si las muestras se han recogido a intervalos de tiempo suficientemente  cortos, los puntos al ser unidos adquirirán una curvatura

que se ajustará a la función continua a la que responde realmente en el organismo. Sobre esta curva se pueden calcular los distintos parámetros farmacocinéticos.

#### - Volúmen de distribución

Se define normalmente como el volúmen aparente del organismo, en el cual es capaz de distribuirse una cantidad conocida de fármaco administrado.

Para un mismo fármaco y una misma especie animal, puede considerarse el volúmen de distribución ( $V_d$ ) como una constante independiente de la dosis y de la vía de administración.

Puede determinarse experimentalmente por extrapolación, basada únicamente en el empleo de las curvas de nivel plasmático.

A veces tras la medida del  $V_d$  nos encontramos con valores que no se ajustan a la realidad. Esto puede ser debido a distintos factores:

— Si el fármaco se une a proteínas plasmáticas el  $V_d$  medido resulta menor al real, ya que sólo se distribuye la parte del fármaco libre y en cambio cuando se miden las concentraciones plasmáticas se mide la parte libre y la conjugada con las proteínas.

— Por el contrario si se une a elementos proteínicos o lipídicos de los tejidos, el  $V_d$  medido será mayor al valor real.

— Otra variación del  $V_d$  se daría en el caso de que hubierra un retraso en el equilibrio de distribución entre el compartimiento central y los tejidos profundos, en este caso el  $V_d$  sería menor al real y la desviación dependería del tiempo que se tardara en llegar al equilibrio.

Por todo esto, se puede concluir que el  $V_d$  que así se obtiene, es un volúmen aparente, pués generalmente no refleja la realidad.

Para calcular el  $V_d$  a partir de una curva de niveles plasmáticos, y sobre un modelo de dos compartimientos, se habrá de tener en cuenta la existencia de dos volúmenes de distribución: un volúmen central ( $V_c$ ) y uno periférico ( $V_p$ ). Su suma configura el volúmen de distribución total ( $V_d$ ).

Sólo  $V_c$  se puede calcular por métodos directos y con exactitud; el  $V_p$  y como consecuencia el  $V_d$  se calculan de forma aproximada y por métodos indirectos.

a)  $V_c$

Este parámetro permite conocer el volúmen central a base de relacionar la cantidad de medicamento distribuido uniformemente en todos los elementos del compartimiento, del cual forma parte el plasma. Así, la concentración plasmática (C) será un reflejo de la que existe en la totalidad del compartimiento central, pudiéndose para su cálculo, utilizar la expresión:

$$V_c = \frac{D}{C_o} \quad (4)$$

Donde D es la dosis total administrada y  $C_0$  es la concentración plasmática a tiempo 0.  $C_0$  se obtiene por extrapolación de la curva de niveles plasmáticos.

b)  $V_d$

Para el cálculo del  $V_d$  de distribución global se han propuesto varios modelos, todos ellos nos dan un valor aproximado.

$V_{dss}$  — Vol. de distribución en el estado de equilibrio estacionario.

$V_{dex}$  — Vol. de distribución obtenido por extrapolación.

$V_{da}$  — " " en función del área.

$V_{d\beta}$  — " " en la fase  $\beta$

En cada uno de ellos se calcula de forma distinta, así tenemos:

$$(V_d)_{ss} = V_c \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}} \quad (5)$$

$$(V_d)_{ex} = \frac{D}{B_0} \quad (6)$$

$$(V_d)_a = \frac{D}{\beta \int_0^{\infty} C \cdot dt} \quad (7)$$

$$(V_d)_{\beta} = \frac{V_c \cdot K_{13}}{\beta} \quad (8)$$

El método del  $(V_d)_{ee}$  fué introducido por Riggs en 1.963 y se basa en el cálculo de este parametro considerando el instante en que la cantidad de medicamento en el compartimiento periferico alcanza su máximo. Es la forma en la ac-

tualidad más utilizada.

El método de la extrapolación  $(V_d)_{ex}$  descrito por Riegelman en 1.968, considera solo la fase monoexponencial de la curva de nivel plasmático regida por la constante de disposición  $\beta$ .

También Riegelman, describió el tercer método para calcular el  $V_d$  en función del área bajo la curva  $(V_d)_a$ . Si se considera el área total bajo la curva, incluyendo la fase  $\alpha$  y  $\beta$ , el error de este método es menor.

El último de los métodos introducido por Gibaldi en 1.969, y en él, se calcula  $(V_d)_\beta$  a partir del  $V_c$  y la constante de eliminación.

c)  $V_p$

Si se parte del fármaco en estado de equilibrio estacionario, el volumen de distribución de este en el compartimiento periférico se puede calcular a partir de la siguiente ecuación:

$$(V_p)_{ee} = V_c \cdot \frac{K_{12}}{K_{21}} \quad (9)$$

También podrá calcularse lógicamente por diferencia entre el  $V_d$  total y el del compartimiento central  $V_c$ .

$$V_p = V_d - V_c \quad (10)$$

Los valores de  $V_p$  diferirán pero no de forma significativa, dependiendo del método utilizado para el cálculo de  $(V_d)_a$ .

### Pauta de distribución

Permite ver la tendencia del fármaco para distribuirse en el compartimiento periférico y en el central. Se calcula a partir del cociente entre:  $V_c / V_p$ .

Un valor cercano o igual a la unidad, indicaría que el fármaco se distribuye en igual proporción en ambos compartimientos.

### - Tiempo de vida media

Es el parámetro que nos da una idea de la permanencia y la velocidad de eliminación del fármaco por el organismo.

Medir la permanencia del medicamento en el plasma sería imposible, ya que la velocidad va disminuyendo a medida que va desapareciendo y es muy difícil medirlo cuando és te se encuentra en concentraciones muy bajas.

El tiempo de vida media, mide el tiempo necesario para que la concentración del fármaco en el plasma se reduzca a la mitad. Se representa por el símbolo  $t_{1/2}$  y se expresa en unidades de tiempo.

Es un parámetro de eliminación y por tanto depende de la constante de eliminación y se refiere como ésta a la fase de eliminación de la curva del nivel plasmático. Es a su vez constante para cada fármaco y cada especie animal e independiente de la dosis y la forma de administra



ción, siempre que se refiera a un fármaco de cinética de orden 1.

Se calcula:

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K} \quad (11)$$

Existe una estrecha relación entre  $K$  y  $t_{1/2}$  de forma - que se puede calcular un parámetro a partir del otro.

El  $t_{1/2}$  tiene importantes aplicaciones. Es imprescindible para establecer los regímenes de dosificación y también para calcular el nivel plasmático en un momento dado y evitar así posibles intoxicaciones.

En el caso concreto de un bicompartimental tendríamos un  $t_{1/2}$  que sería suma de dos procesos parciales, ambos exponenciales, y cada uno con un  $t_{1/2}$  propio. Al haber dos constantes de disposición (eliminación + distribución), una rápida ( $\alpha$ ) y una lenta ( $\beta$ ), se pueden establecer dos tiempos de vida media, uno para cada fase.

$$t_{\alpha 1/2} = \frac{0,693}{\alpha} \quad (12)$$

$$t_{\beta 1/2} = \frac{0,693}{\beta} \quad (13)$$

En la práctica, suele tomarse  $t_{\beta 1/2}$  como vida media biológica, ya que  $\beta$  es la que controla la distribución y eliminación, pero con predominio de ésta última.

- Grado de absorción

A partir de un modelo bicompartimental, y dando por supuesto que se absorbe todo el fármaco, y que la absorción es un proceso de primer orden, Wagner y Nelson en 1.963 calcularon el grado de absorción. Para ello partieron de estas premisas y utilizaron el concepto de  $V_d$ .

Calculando la velocidad de pérdida del fármaco en el lugar de absorción:

$$\frac{dA}{dt} = K_a \cdot A \quad (14)$$

Donde A es la cantidad de fármaco en los lugares de absorción. Ahora bien, como el fármaco que ingresa en el plasma es distribuido, metabolizado y excretado, la ecuación del proceso vendrá definida por:

$$\frac{dQ}{dt} = K_a \cdot A - K_{el} \cdot Q \quad (15)$$

Sustituyendo por la ecuación anterior:

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{dA}{dt} - K_{el} \cdot Q \quad (16)$$

Por integración:

$$A_t = C + K_{13} \int_0^t C \cdot dt \quad (17)$$

O sea, que  $A_t$  sería igual a la cantidad de medicamento

absorbida para cualquier tiempo  $t$ , y estaría constituida por la que se encuentra en el compartimiento central (C) más la que hay en el periférico (P) y más la que ha desaparecido por metabolismo y excreción (E), medidas todas en el mismo instante  $t$ .

Así, en el modelo bicompartimental se deberá modificar la ecuación de la siguiente forma:

$$A_t = C + K_{13} \int_0^t C \cdot dt + P \quad (18)$$

Igualmente la cantidad total de fármaco absorbida  $A$  será:

$$A = K_{13} \int_0^{\infty} C \cdot dt \quad (19)$$

La relación entre ambos valores ( $A_t$  y  $A_{\infty}$ ) nos dará el grado de absorción.

$$\frac{A_t}{A_{\infty}} = \frac{C + K_{13} \int_0^t C \cdot dt + P}{K_{13} \int_0^{\infty} C \cdot dt} \quad (20)$$

Ecuación que representa la fracción de dosis absorbida en función del tiempo.

#### - Constante de absorción

A partir de la curva de absorción acumulativa (ecuación 14) y la curva correspondiente al grado de absorción (ecuación 20), puede quedar definido el proceso de absorción. Asimismo a partir de la diferencia  $A_{\infty} - A_t$  que refleja la cantidad de fármaco que queda por absorber, se obtendrá la desaparición del fármaco del lugar

Cuando se habla de Cl hay que hacer referencia en primer lugar a la Cl renal, y después a la Cl no renal, que mayoritariamente es atribuida a la función hepática. Se puede definir la Cl total como la suma de todas las Cl parciales del organismo.

Matemáticamente se define:

$$Cl = \frac{\text{Velocidad de excreción}}{\text{Concentración plasmática}} = \frac{\mu\text{g}/\text{min}}{\mu\text{g}/\text{ml}} = \text{ml}/\text{min}$$

$$Cl = \frac{dQ_u / dt}{C_p} \quad (24)$$

Donde  $Q_u$  es la cantidad de fármaco excretada en cada momento y  $C_p$  la concentración de fármaco en plasma.

Como muchos fármacos son depurados por filtración glomerular, la velocidad de excreción será directamente proporcional a la concentración plasmática de éstos. Esta podrá calcularse a partir de la curva obtenida mediante la velocidad de excreción del fármaco en orina ( $dQ_u/dt$ ) y de la  $C_p$ .

Ahora bien, si se conoce el volúmen de distribución y las constantes de eliminación en un modelo bicompartimental, la Cl se podrá calcular según las ecuaciones siguientes:

$$Cl_t = K_{el} \cdot V_c \quad (25)$$

la depuración renal:

$$Cl_r = K_{ex} \cdot V_c \quad (26)$$

de absorción.

Conociendo  $A_{\infty}$  y calculando  $A_t$  en un tiempo dado, tendremos todos los elementos para calcular la constante de absorción  $K_{01}$ :

$$\log (A_{\infty} - A_t) = - \frac{K_{01} \cdot t}{2,303} \cdot \log A_{\infty} \quad (21)$$

despejando:

$$K_{01} = \frac{2,303}{t} \cdot \log \frac{A_{\infty}}{(A_{\infty} - A_t)} \quad (22)$$

luego, a partir de la gráfica semilogarítmica de la representación en ordenada de  $(A_{\infty} - A_t)$  en función del tiempo, se obtendrá la recta del proceso de desaparición del fármaco del lugar de absorción, y podrá determinarse fácilmente la  $t_{1/2}$  de absorción del mismo:

$$K_{01} = \frac{0,693}{t_a \ 1/2} \quad (23)$$

### Depuración o "Clearance"

Puede ser definida como el volúmen de plasma en el compartimiento central que es depurado de fármaco por unidad de tiempo. Este parámetro, es utilizado como un índice de la eliminación del fármaco del compartimiento central sin hacer referencia a los mecanismos de este proceso.

La Cl es constante para cada fármaco, cuando éste es eliminado por una cinética de primer orden. En cada intervalo de tiempo, una fracción constante de fármaco es eliminada.

la depuración hepática:

$$Cl_h = K_m \cdot V_c \quad (27)$$

también, si conocemos el área bajo la curva de niveles plasmáticos  $AVC_0^\infty$  :

$$Cl = \frac{D}{AVC_0^\infty} \quad (28)$$

esta forma es evidentemente independiente del modelo cinético.

#### Objetivos del trabajo:

1. Puesta a punto de una técnica cromatográfica (GLC) suficientemente sensible y rápida para determinar los niveles plasmáticos del Diltiazem.
2. Caracterización de la cinética del Diltiazem en voluntarios sanos, después de la administración oral de una solución en agua de 1,5 mg/Kg. de dicho fármaco.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

## 2.1. MATERIAL

### 2.1.1.

En el estudio se incluyeron 3 hombres y 3 mujeres, de edades comprendidas entre los 22 y 32 años. Sus pesos se encontraban entre 55 y 62 Kg.

Les fué administrada una dosis de Diltiazem (DTZ) de - 1,5 mg/Kg vía oral. El DTZ se encontraba disuelto en - 100 ml de H<sub>2</sub>O.

Todos los voluntarios permanecieron en ayunas las 12 horas anteriores a la ingesta del fármaco y no tomaron alimento alguno hasta después de 3 horas.

Se tomaron muestras de sangre a las: 1/2, 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 h., posteriores a la administración del fármaco.

Las muestras fueron recogidas en tubos heparinizados, centrifugadas durante 20 min. a 2000 r.p.m., para separar - los plasmas, y a continuación se congelaron a -20°C., hasta su determinación.

### 2.1.2. Aparatos

Se empleó un cromatógrafo de gases modelo Sigma 910 de Perkin-Elmer de control automático de flujos, equipado - con detector Nitrógeno/Fósforo.

La columna utilizada era de vidrio de 2 m. de longitud -



por 1/4 pulgadas de diámetro, rellena de una fase SE-30 al 5% sobre un soporte Gas Chrom Q de malla 80/120. La columna fué preparada en nuestro laboratorio.

### 2.1.3. Productos químicos

- Hidrocloruro de Diltiazem (Lab. Esteve).
- Etamfilina (Lab. BOI). Fué utilizado como patrón interno.

Para la cromatografía:

- Nitrógeno purísimo para cromatografía  $N_2-N_{48}$  (SEO)
- Hidrógeno " " "  $H_2-N_{48}$  (SEO)
- Aire purificado " " P-200 (SEO)

Todos los reactivos de grado utilizados, procedían de la casa Scharlau.

## 2.2. METODOS

### 2.2.1. Técnicas analíticas

#### 2.2.1.1. Determinación del Diltiazem

En un tubo de 14 ml. con tapón de rosca se introducen:

- 3 ml. de plasma
- 10 ml. de isooctano

La mezcla se agita durante 20 min., en un agitador automático para que el fármaco pase de la fase acuosa a la orgánica. Después se centrifuga 10 min. a 2000 r.p.m. para separar las fases. La fase orgánica es transferida a un tubo cónico en el que se ha introducido previamente el patrón interno (0,04  $\mu$ l). A continuación los tubos se sumergen en un baño a 30 °C y son secados con corriente de aire.

La extracción se realiza con isooctano y al pH del propio plasma.

Se demostró que con esta técnica se conseguía una recuperación del 96%. Como se puede ver en la tabla 1.

## DILTIAZEM/ETAMFILINA

DTZ añadido (ng)	Externos	Internos	Recuperación (%)
100	0,058	0,057	98
100'	0,058	0,055	95,3
100"	0,051	0,048	95
300	0,161	0,151	93,5
300'	0,161	0,156	97,2
300"	0,169	0,163	96,4
500	0,288	0,276	96
500'	0,286	0,269	94,3
500"	0,275	0,267	97,2
Recuperación total $\pm$ ES		95,88 $\pm$ 0,494	

Tabla : Recuperación de la técnica

Se ha utilizado patrón interno, ya que como demuestran Flanagan y cols. (1.972), se hace imprescindible para obtener una correcta determinación cuantitativa, reduciendo así los posibles errores. Se escogió la Etamfilina ya que en las condiciones cromatográficas utilizadas presenta un tiempo de retención inferior al Diltiazem y además no es interferida por ningún tipo de plasma, apareciendo ambos bien separados como se puede observar en la fig. 6.



Figura 6:

Cromatograma del Diltiazem y la Etamfilina.

El primer pico corresponde a la Etamfilina con un tiempo de retención de 4 min. 36 seg. El segundo pico corresponde al DTZ y tiene un t. de retención de 72 seg.

Condiciones: Cromatógrafo de gases de la Perkin - Elmer mod. - Sigma 910; columna SE-30 al 5% sobre Gas-Chrom Q de malla 80/120; temp. del horno: 295 °C; temp. del bloque inyector y del bloque detector: 310 °C; flujo de helio: 45 ml/min.; atenuación: 1 x 16; velocidad del registro: 5mm/min.

### 2.2.1.2. Condiciones cromatográficas

Las muestras son redisueltas en acetona para ser inyectadas.

Las condiciones de operación del cromatógrafo son:

- Temperatura del horno 295 °C
- Temperatura del inyector 310 °C
- Temperatura del detector 310 °C
- Flujo de Nitrógeno: 45 ml/min.
- Presión del aire en el detector: 2,5 Kg/cm<sup>2</sup>
- Presión del hidrógeno en el detector: 1,5 Kg/cm<sup>2</sup>

En la figura 6 se muestra un cromatograma en el que el primer pico corresponde a la Etamfilina y el segundo al Diltiazem. Teniendo en cuenta que hemos hecho este cromatograma a una velocidad constante de 5 mm/min., el tiempo de retención de la Etamfilina es de 72 seg. y el del Diltiazem es de 4 min. Luego el tiempo de retención relativo del Diltiazem será:

$$\text{Tiempo de retención relativo} = \frac{\text{T. de retención DTZ}}{\text{t. de retención ETF}} = \frac{240}{72} = 3,3$$

Para calcular la superficie de cada pico se debe multiplicar la altura por la mitad de la anchura del mismo.

### 2.2.1.3 Construcción de las escalas de calibrado

A partir de la relación de las áreas del pico correspondiente al DTZ y el correspondiente al patrón (ETF), se

realizan las escalas de calibrado.

Para ello se procede de la siguiente forma:

- Se preparan tubos, en los que se introducirán: 0,1; 0,3 y 0,5  $\mu\text{g}$ . de DTZ de una solución de 0,01  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ .
- Se añaden 3 ml. de plasma blanco
- Se procede a la extracción igual como se ha descrito anteriormente para las muestras procedentes de los voluntarios, en las que lógicamente no se conoce la cantidad de fármaco presente.

Una vez cromatografiadas las muestras y calculadas las relaciones de las áreas entre el pico de DTZ y el patrón, se construirá una gráfica en la que en abcisas se colocarán las concentraciones reales de DTZ y en ordenadas las relaciones de áreas DTZ/ETF. A cada concentración de fármaco añadida en los tubos le corresponderá un cociente DTZ/ETF, como se puede observar en la tabla II y también en la representación gráfica de dichos pares de valores.

Con estos valores se calcula la recta de regresión correspondiente, obteniéndose así su pendiente (m), ordenada en el origen (a) y coeficiente de correlación (r).

Sobre esta recta se podrán interpolar los valores de DTZ/ETF, de cada muestra problema y así se obtendrán las concentraciones de DTZ presentes en la muestra.

Las escalas de calibrado son incorporadas en la batería de tubos a extraer diariamente.

Fármaco añadido (ng)	100	300	500
Relación	0,040	0,101	0,171
DTZ/ETF	0,039	0,100	0,160
	0,037	0,095	0,155
$\bar{X} \pm ES$	$0,039 \pm$ 0,0008	$0,099 \pm$ 0,0018	$0,162 \pm$ 0,0047

TABLA II: Escala de calibrado de DTZ. Como patrón interno se utiliza la Etamfilina (ETF).

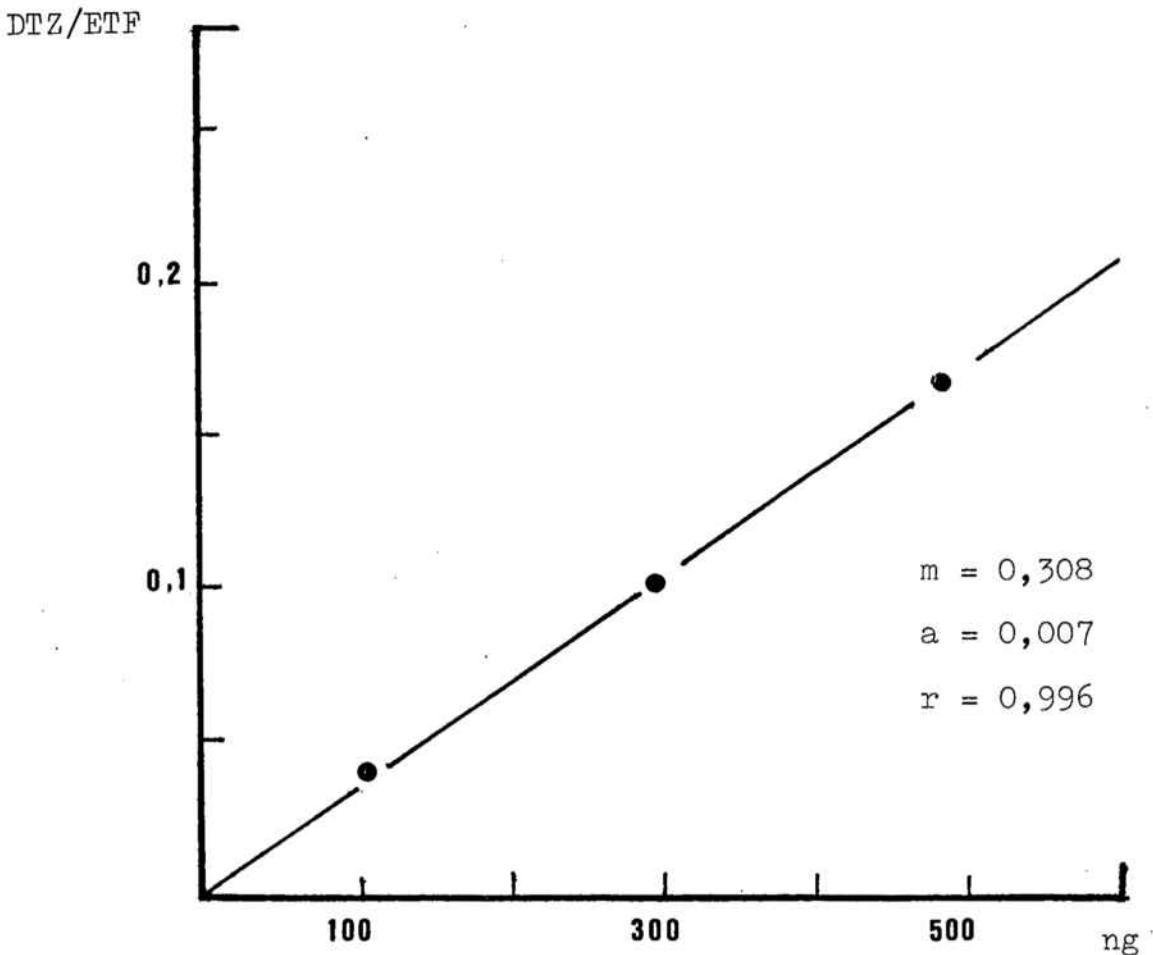


Figura 7: Representación de la recta de regresión obtenida con todos los valores de la tabla II, y ecuación correspondiente a dicha recta con su coeficiente de correlación.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Estudio de los niveles plasmáticos del DTZ en los 6 voluntarios sanos.

En las tablas III, IV, V, VI, VII y VIII, se encuentran expresadas las concentraciones de DTZ presentes en plasma para cada muestra obtenida en los diferentes intervalos de tiempo en cada uno de los voluntarios.

Todas las muestras se realizaron por duplicado; en las tablas queda expresado para cada intervalo de tiempo el valor medio de los dos valores experimentales de DTZ encontrados en dos extracciones sucesivas. Como se puede observar, las concentraciones plasmáticas en los tiempos terminales son muy bajas, alcanzando unos máximos entorno a los 200 ng/ml.

Las figuras: 8, 9, 10, 11, 12 y 13 corresponden a la representación gráfica de la curva de niveles plasmáticos a partir de los valores expresados en las tablas III a VIII, para cada uno de los voluntarios respectivamente. Como se puede observar, las cinéticas son similares, aunque presentan alguna variabilidad interindividual y como consecuencia no todos los individuos alcanzan los mismos niveles de fármaco en plasma, para cada tiempo.

La mera representación gráfica de los resultados experimentales permiten deducir para tres de los voluntarios (figuras 11, 12 y 13) una fase de absorción rápida que provee una concentración máxima alrededor de los 30 minutos después de la administración del preparado. Para los otros tres voluntarios,



aunque por razones que se comentan en el epígrafe correspondiente, no presentan puntos en la fase de absorción, sin embargo, cabe suponer que la absorción del Diltiazem también es muy rápida.

En todas las gráficas, se puede observar a partir del máximo una caída inicial rápida de los niveles plasmáticos que puede atribuirse a la fase de disposición del medicamento y una fase terminal que puede asumirse que corresponde a la fase lenta de disposición.

tiempos (min)      30      60      120      180      240      360      480      720

---

concentración

plasmática de DTZ    218,4    123,7    75,0    58,6    35,9    23,6    10,3    3,8

(ng/ml)

---

Tabla III. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg administrada a una mujer (AP) de 24 años y -  
60 Kg. de peso.

---

tiempos (min)	30	60	120	180	240	360	480	720
concentración plasmática de DTZ (ng/ml)	154,6	87,4	66,3	49,4	40,0	28,2	20,7	16,7

---

Tabla IV. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg. a un hombre (XN), de 28 años y 61 Kg de peso.

---

tiempos (min)	30	60	120	180	240	360	480	720
---------------	----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

---

concentración

plasmática de DTZ	114,0	73,3	47,2	29,1	21,0	16,3	12,9	12,2
-------------------	-------	------	------	------	------	------	------	------

(ng/ml)

---

Tabla V. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg administrada a una mujer (MA), de 32 años y 58 Kg de peso.

tiempo (min) 15 30 45 90 150 210 330 450 630

concentración

plasmática de DTZ 77,1 160,7 122,1 89,0 74,6 58,8 46,0 35,7 23,6  
(ng/ml)

Tabla VI. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg administrada a una mujer (AS), de 25 años y de 55 Kg. de peso.

---

tiempo (min)	15	30	45	90	150	210	330	450	630
--------------	----	----	----	----	-----	-----	-----	-----	-----

---

concentración

plasmática de DTZ	114,1	239,3	218,6	145,2	92,2	79,4	56,9	30,9	15,8
-------------------	-------	-------	-------	-------	------	------	------	------	------

(ng/ml)

---

Tabla VII. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg administrada a un hombre (RM), de 23 años y de 60 Kg. de peso.

---

tiempo (min)	15	30	45	90	150	210	330	450	630
--------------	----	----	----	----	-----	-----	-----	-----	-----

---

concentración

plasmática de DTZ 48,4 330,0 271,7 236,0 167,3 126,1 107,2 62,6 41,1  
(ng/ml.)

---

Tabla VIII. Concentraciones de DTZ correspondientes a la cinética plasmática de una dosis oral de 1,5 mg/ Kg administrada a un hombre (JR), de 29 años y de 63 Kg. de peso.

Fig. 8 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario AP (valores presentes en la tabla III).

Fig. 9 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario XN (valores presentes en la tabla IV).

Fig. 10 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario MA (valores presentes en la tabla V).

Fig. 11 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario AS (valores presentes en la tabla VI).



Fig. 12 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario RM (valores presentes en la tabla VII).

Fig. 13 : Curva de niveles plasmáticos. Concentración plasmática (ng/ml) con respecto al tiempo posterior a la ingesta de 1,5 mg/Kg. Voluntario JR (valores presentes en la tabla VIII).

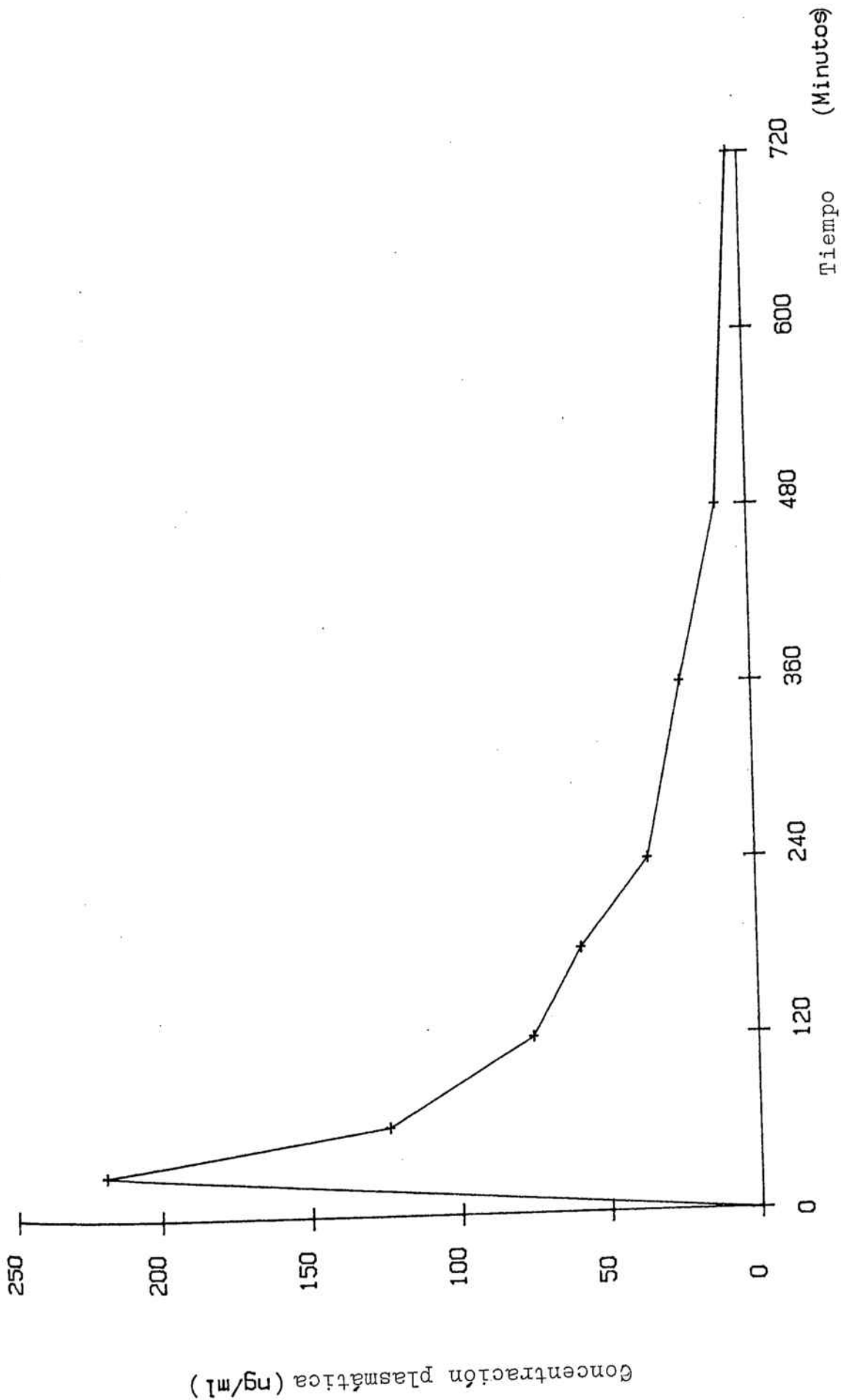


Figura 8.

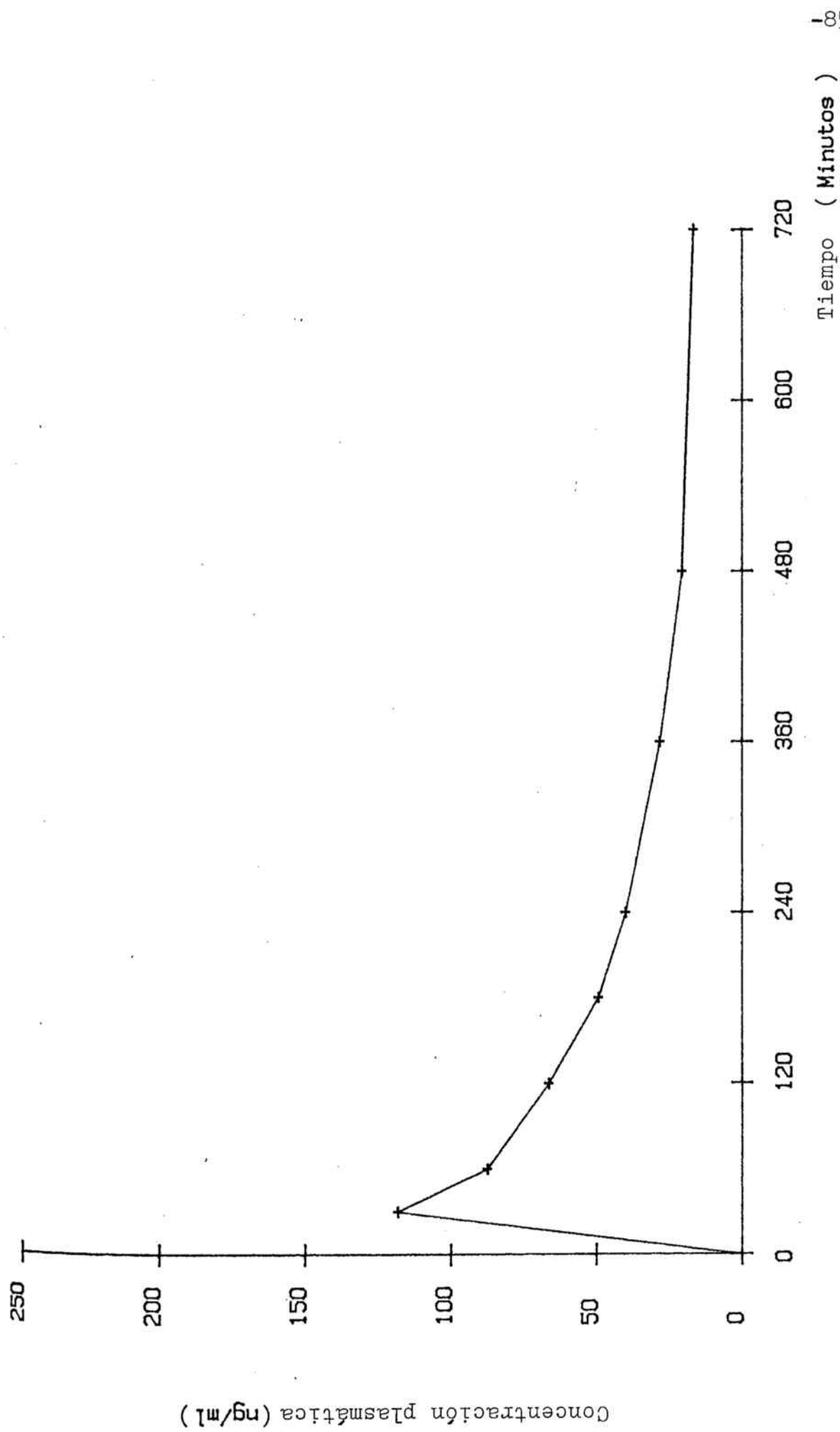


Figura 9.

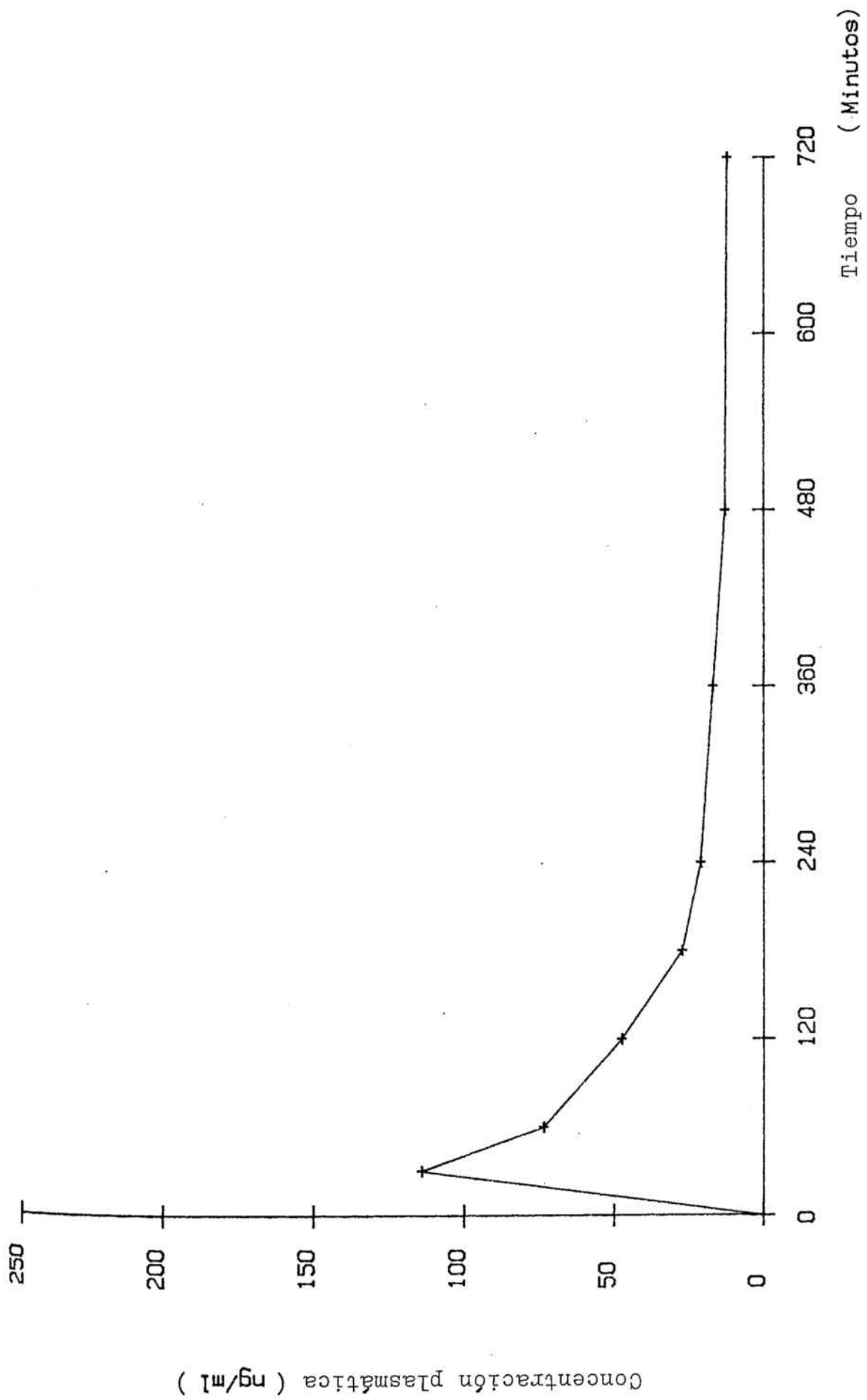


Figura 10.

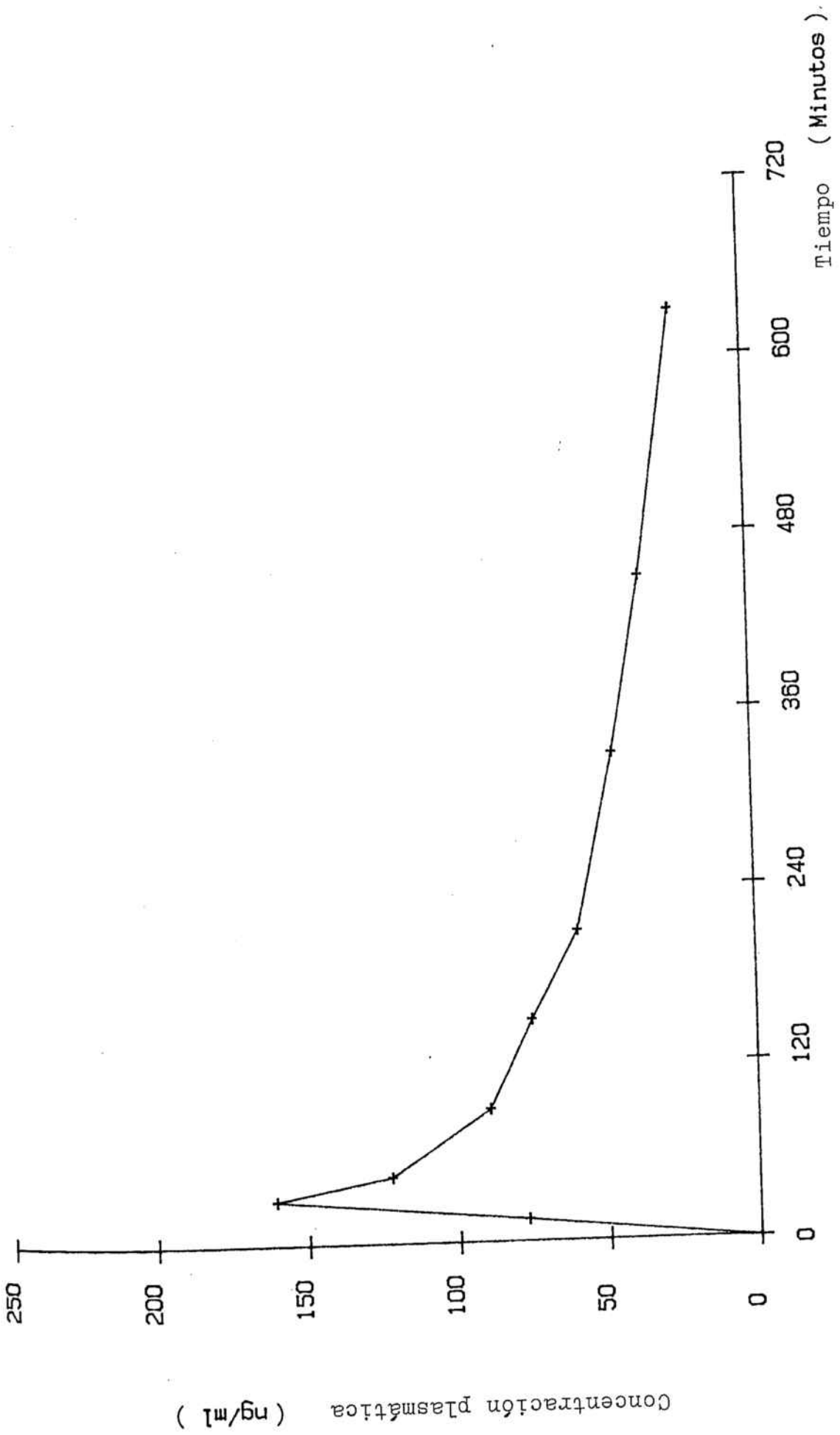


Figura 11.

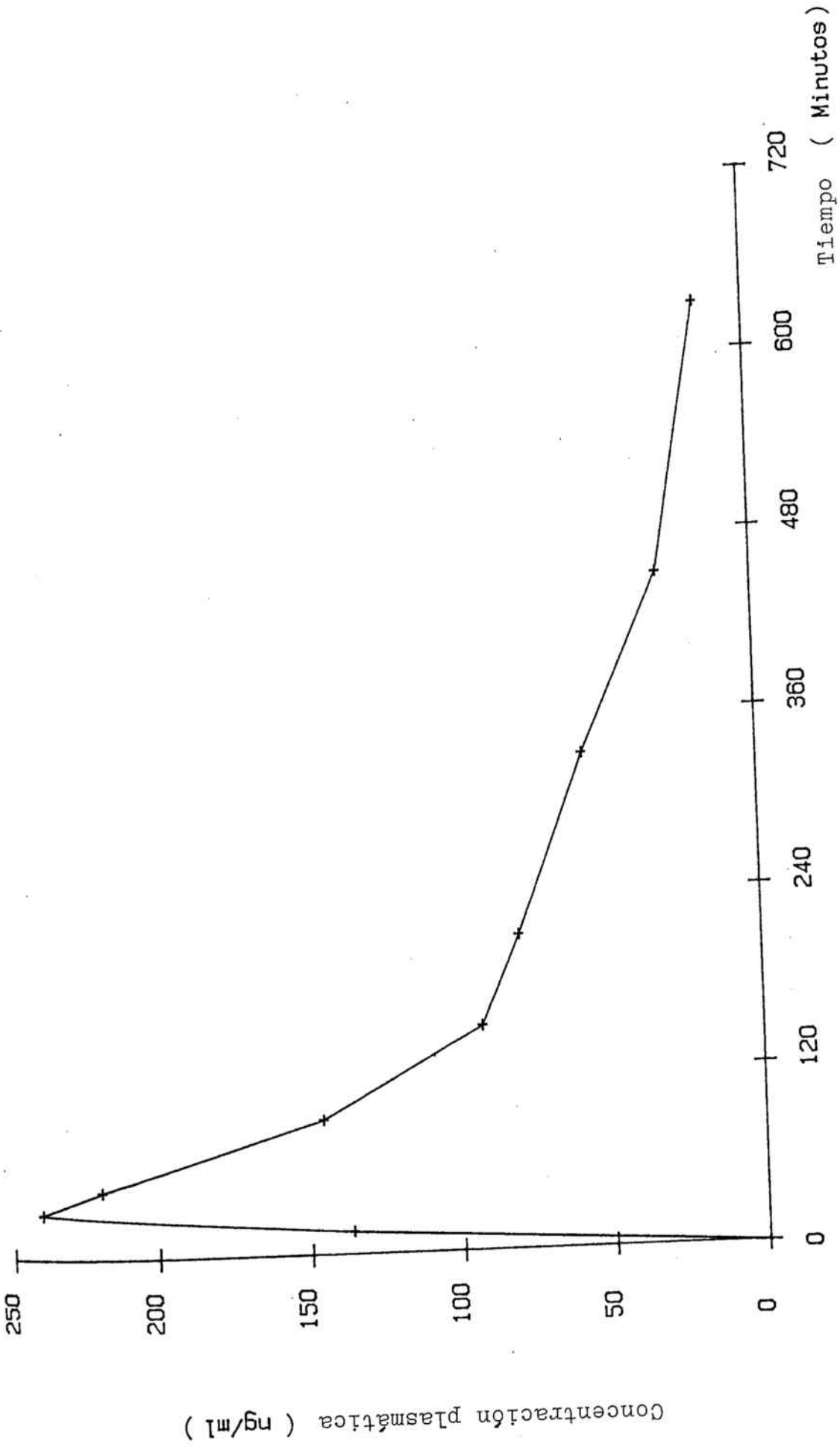


Figura 12.

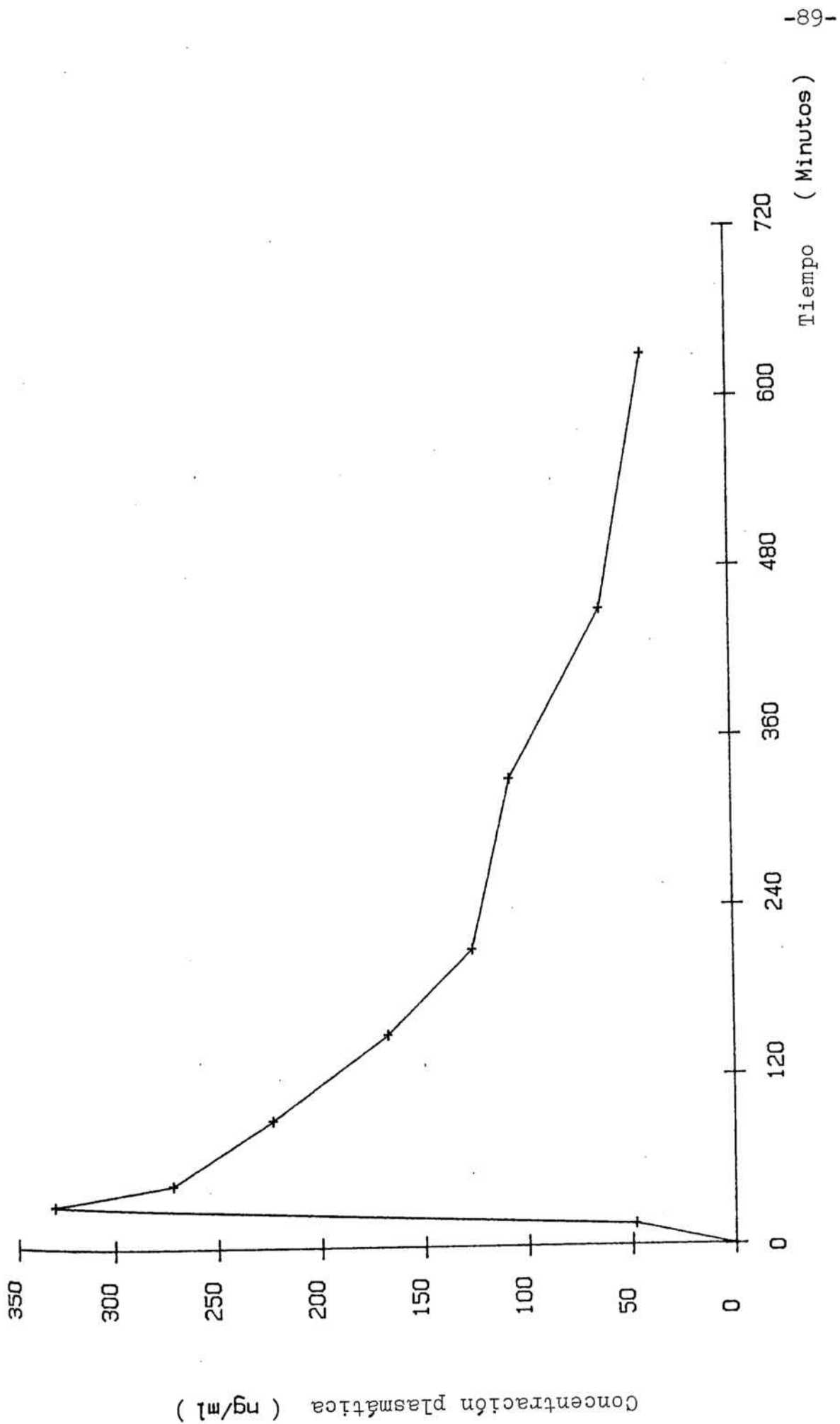


Figura 13.

### 2.3.2. Modelo farmacocinético.

De los seis voluntarios que forman parte de este estudio, solo en tres de ellos (JR, RM y AS) se ha podido determinar un punto en fase de absorción, en consecuencia, el tratamiento farmacocinético de los datos experimentales, en lo que respecta al aspecto global del proceso, se ha realizado con estos sujetos.

Para ello se han tratado los resultados experimentales en un ordenador TEKTRONIX 4051 empleando un programa de regresión no lineal por mínimos cuadrados desarrollado en el Departamento de Biofarmacia de la Facultad de Farmacia de Barcelona.

En los otros 3 voluntarios (AP, XN y MA) que no presentaban puntos experimentales en la fase de absorción, se han tratado exclusivamente los puntos experimentales en fase terminal para calcular los tiempos de vida media del Diltiazem en estos voluntarios.

Los niveles plasmáticos de Diltiazem obtenidos tras la administración oral de 1,5 mg/Kg a los voluntarios AS, RM y JR se han intentado ajustar a ecuaciones biexponenciales y triexponenciales con el fin de comprobar en función del parámetro estadístico AIC cual de ellos ajusta con mayor probabilidad nuestros datos experimentales.

Los parametros farmacocinéticos obtenidos para los tres voluntarios mencionados (AS, RM y JR) al ajustar los datos a la ecuación biexponencial:



$$C = -A_0 \cdot e^{-K_a \cdot t} + B_0 \cdot e^{-K_{el} \cdot t} \quad (29)$$

Y se resumen en las tablas 9, 10 y 11 respectivamente.

Las curvas teóricas de niveles plasmáticos obtenidos con este ajustado se representan en las figuras 14, 16 y 18. Se adjuntan también las representaciones gráficas de la distribución de los valores residuales correspondientes (figuras 15, 17 y 19).

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos al ajustar los datos experimentales a la ecuación triexponencial:

$$C = -P_0 \cdot e^{-K_{01} \cdot t} + A_0 \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B_0 \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (30)$$

se detallan en las tablas 12 y 13. Es de resaltar que la ecuación triexponencial enunciada no puede ajustarse a los datos experimentales procedentes del voluntario JR, también cabe mencionar que dicha ecuación ajusta con mayor probabilidad los datos experimentales de los voluntarios AS y RM ( $p < 0,05$ ) a juzgar por el valor de AIC obtenido.

Las curvas teóricas de niveles plasmáticos obtenidos para estos dos voluntarios se representa en las figuras 20 y 22. La bondad del ajustado es confirmada por la magnitud y distribución de los valores residuales como se observa en las figuras 21 y 23, dicha distribución es mucho más homogénea que la correspondiente al ajustado a la ecuación biexponencial.

Las fases terminales correspondientes a los individuos MA, AP y XN, se representan en las figuras 24, 25 y 26 respectivamente. En cada una de ellas se incluyen la ecuación corres-

pendiente a la fase lenta de disposición , el coeficiente de correlación obtenido y el tiempo de vida media.

DILTIAZEM

VOLUNTARIO AS

VIA ORAL, DOSIS 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

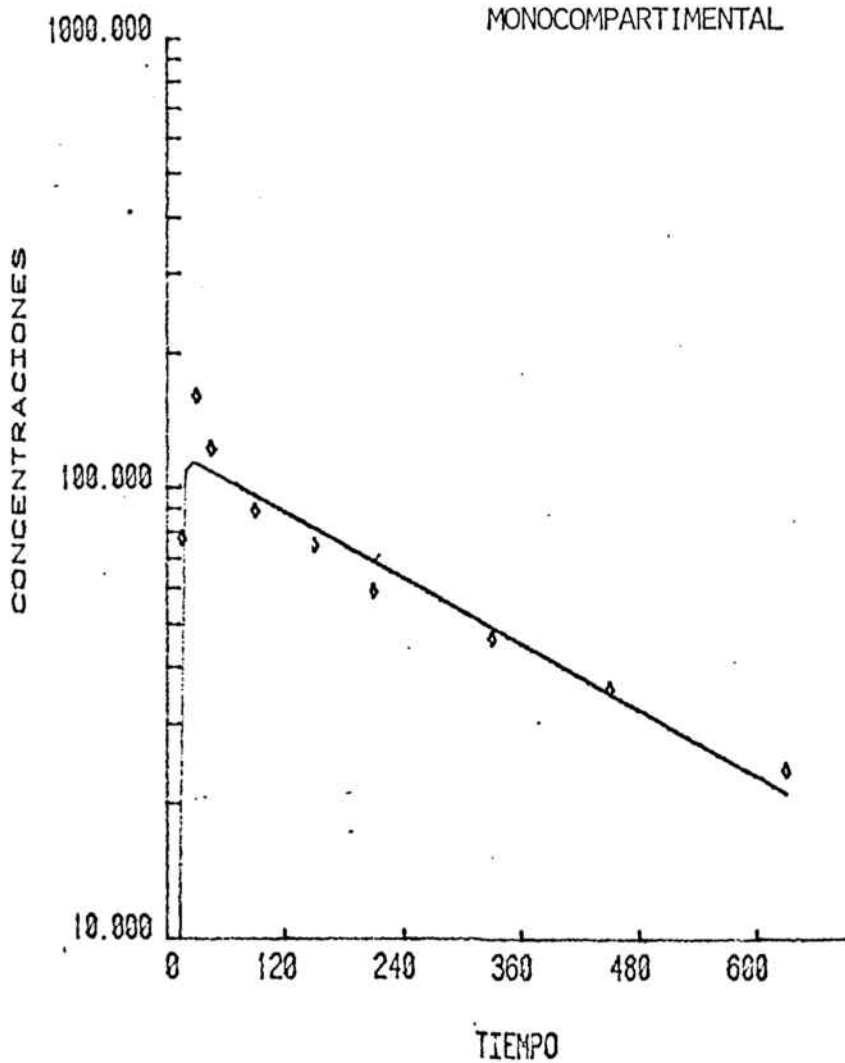


Figura 14.

DILTIAZEM

VOLUNTARIO AS

VIA ORAL, DOSIS 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

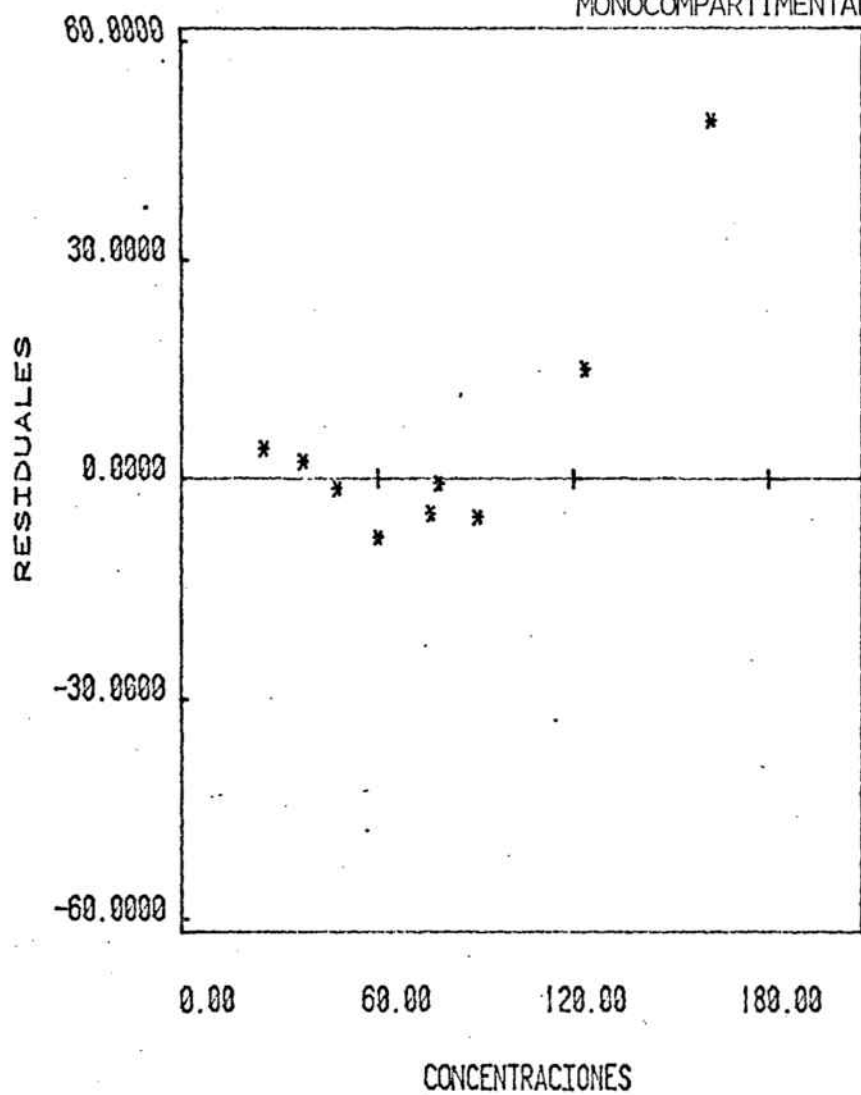


Figura 15.

RESULTADOS AJUSTADOS MARQUARDT ( TEKTRONIX 4051 )

DILTIAZEM

VOLUNTARIO AS

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

No. ITERACIONES :12

SUMA DE CUADRADOS DE LOS RESIDUALES : 0,155670959071

SIGMA :0,176448836251

GRADOS DE LIBERTAD :5

VALOR DE AIC :-8,74009662427

PARAMETRO =====	VALOR =====	ERROR =====
1	22309,5569	6070233,9976
2	0,4234	24,9061
3	123,2425	14,1350
4	0,0028	0,0004

TIEMPO =====	C.(OBS) =====	C.TEORICA =====	RESIDUAL =====	% DEV =====
15.000	77,1000	79,2503	-2,1503	-2,79
30.000	160,7000	113,2212	47,4788	29,55
45.000	122,1000	108,6178	13,4822	11,04
90.000	89,0000	95,7288	-6,7288	-7,56
150.000	74,6000	80,8904	-6,2904	-8,43
210.000	58,8000	68,3521	-9,5521	-16,25
330.000	46,0000	48,8046	-2,8046	-6,10
450.000	35,7000	34,8474	0,8526	2,39
630.000	23,6000	21,0249	2,5751	10,91

PARAMETRO =====	SIMBOLU =====	VALOR =====	UNIDAD =====
Nivel inicial (fase de absorcion)	Ao	22,309,5569	mcg/ml
Nivel inicial (fase de eliminacion)	Co	123,2425	mcg/ml
Constante de absorcion aparente	Ka	0,4234	1/min
Constante de eliminacion aparente	Kel	0,0028	1/min
Semivida aparente de absorcion	ta1/2	1,6370	min
Semivida biologica aparente	t1/2	246,9301	min
Area bajo la curva	AUC	42,126,3153	(mcg/ml)
Periodo de latencia	to	12,3592	min
Tiempo conc. plasmetica maxima	tmax	24,2849	min
Concentracion plasmetica maxima	Cmax	114,3580	mcg/ml

Tabla IX.

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO RM  
VIA CRAL, DOSIS: 1,5 MG/KG  
MONOCOMPARTIMENTAL

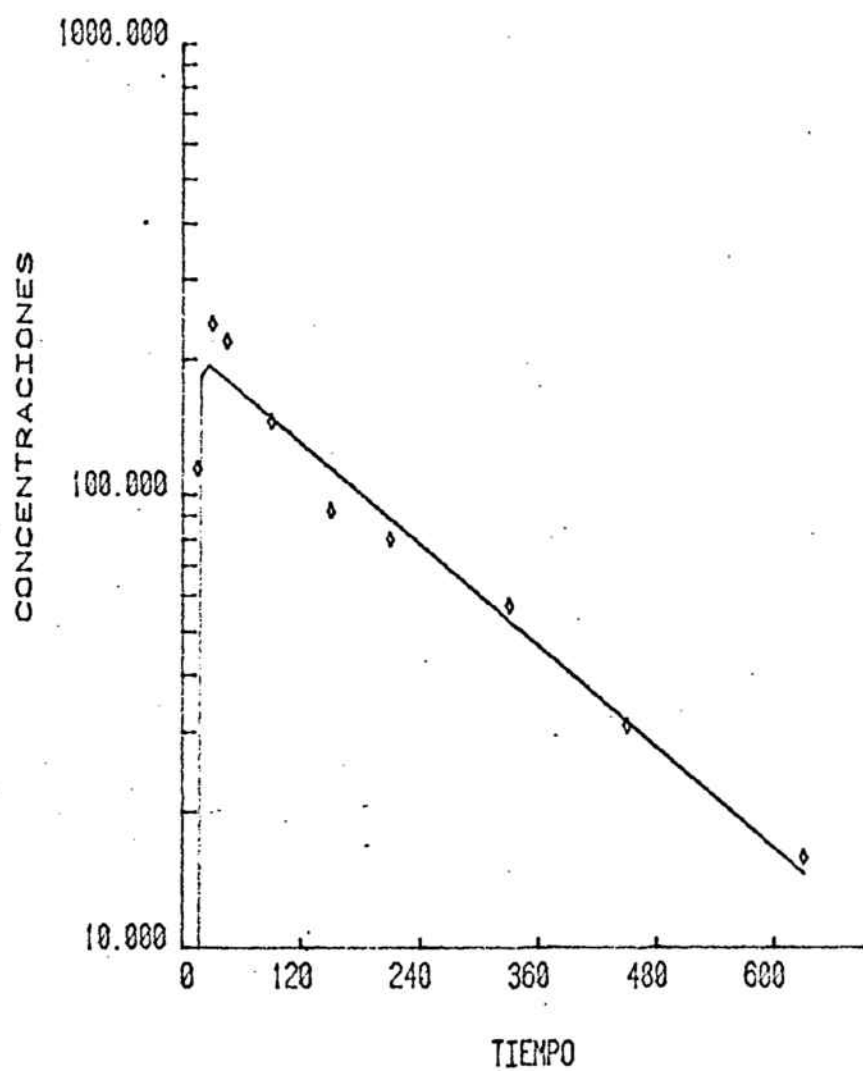


Figura 16.

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO RM  
VIA ORAL , DOSIS: 1,5 MG/KG  
MONOCOMPARTIMENTAL

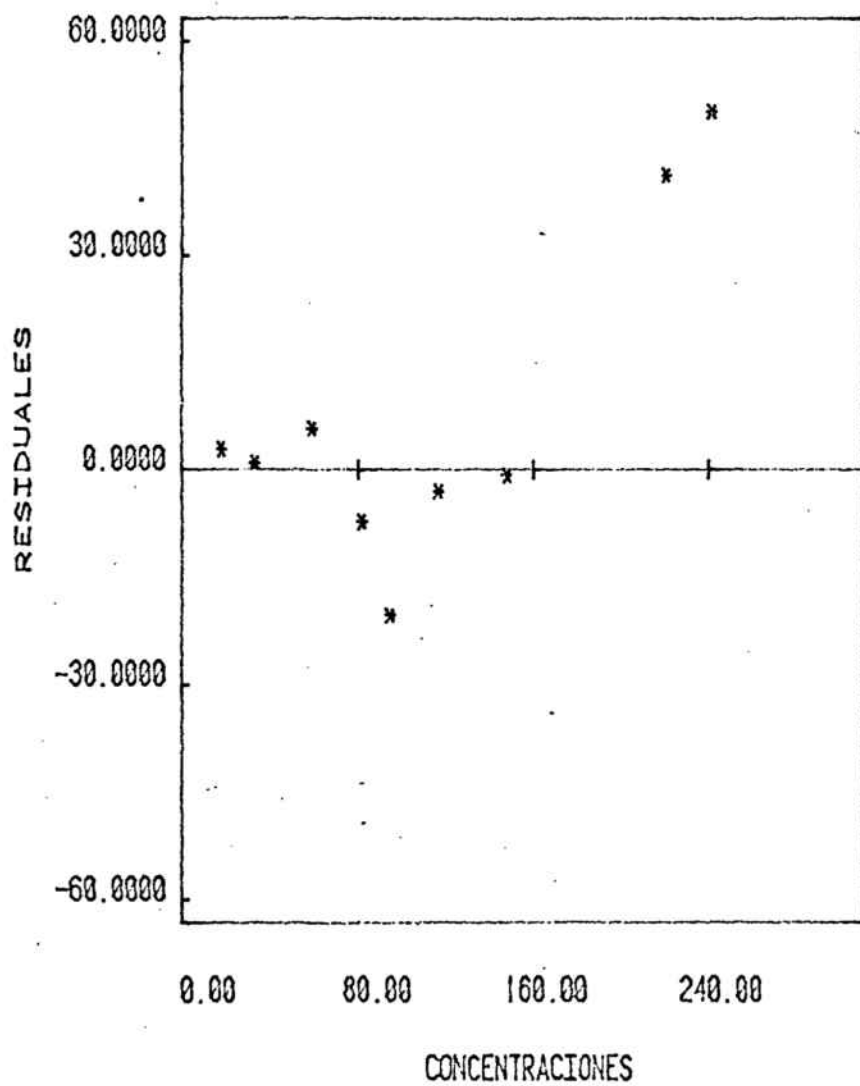


Figura 17.

RESULTADOS AJUSTADOS MARQUARDT (TEKTRONIX 4051)

DILTIAZEM

VOLUNTARIO RM

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

No. ITERACIONES : 14

SUMA DE CUADRADOS DE LOS RESIDUALES : 0.15649194186

SIGMA : 0.176913505341

GRADOS DE LIBERTAD : 5

VALOR DE AIC : -8.69275684038

PARAMETRO =====	VALOR =====	ERROR =====
1	53760.9867	11361166.5756
2	0.4301	19.3151
3	217.0987	25.2165
4	0.0043	0.0004

TIEMPO =====	C. (OBS) =====	C. TEORICA =====	RESIDUAL =====	% DEV =====
15.000	114.1000	118.6933	-4.5933	-4.03
30.000	239.3000	190.7420	48.5580	20.29
45.000	218.6000	178.9773	39.6227	18.13
90.000	145.2000	147.5501	-2.3501	-1.62
150.000	92.2000	114.0585	-21.8585	-23.71
210.000	79.4000	88.1690	-8.7690	-11.04
330.000	56.9000	52.6857	4.2143	7.41
450.000	30.9000	31.4825	-0.5825	-1.89
630.000	15.8000	14.5423	1.2577	7.96

PARAMETRO =====	SIMBULO =====	VALOR =====	UNIDAD =====
Nivel inicial (fase de absorcion)	Ao	53,760.9867	mcg/ml
Nivel inicial (fase de eliminacion)	Co	217.0987	mcg/ml
Constante de absorcion aparente	Ka	0.4301	1/min
Constante de eliminacion aparente	Ke1	0.0043	1/min
Semivida aparente de absorcion	ta1/2	1.6117	min
Semivida biologica aparente	t1/2	161.5376	min
Area bajo la curva	AUC	47,383.4266	(mcg/l
Periodo de latencia	to	12.9454	min
tiempo conc. plasmatice maxima	Tmax	26.7664	min
Concentracion plasmatice maxima	Cmax	194.0944	mcg/ml

Tabla X .



DILTIAZEM

VOLUNTARIO JR

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

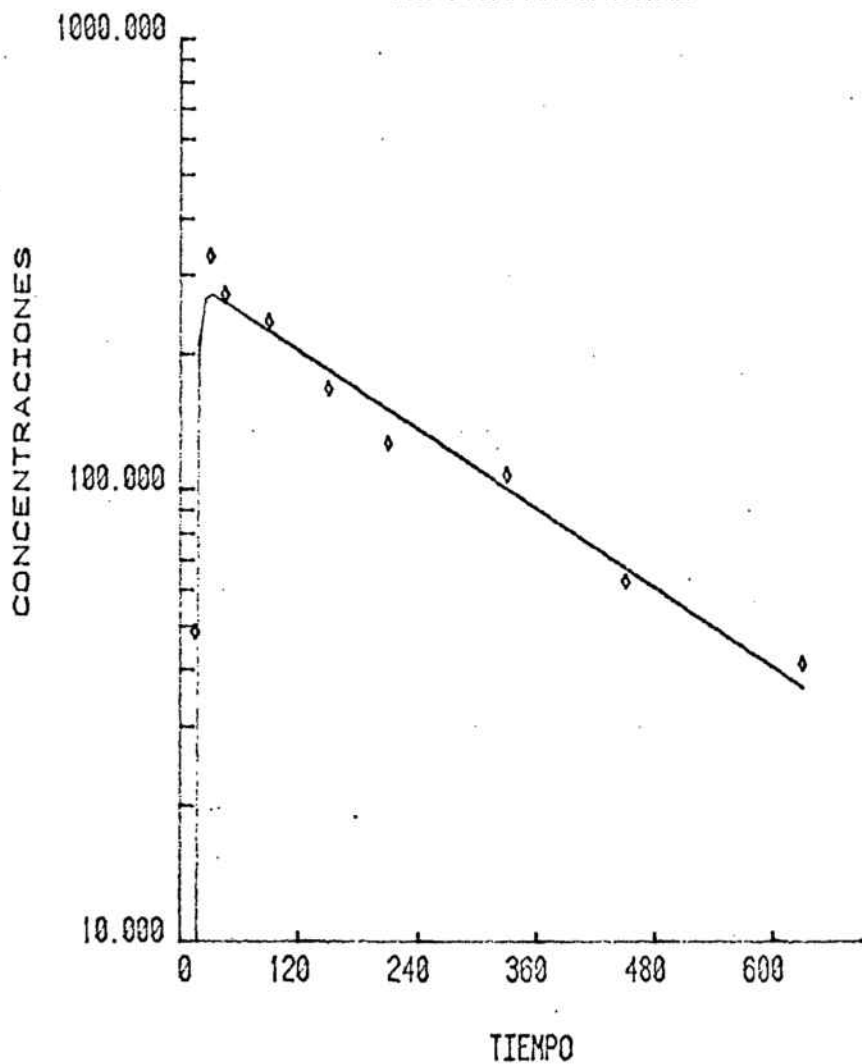


Figura 18.

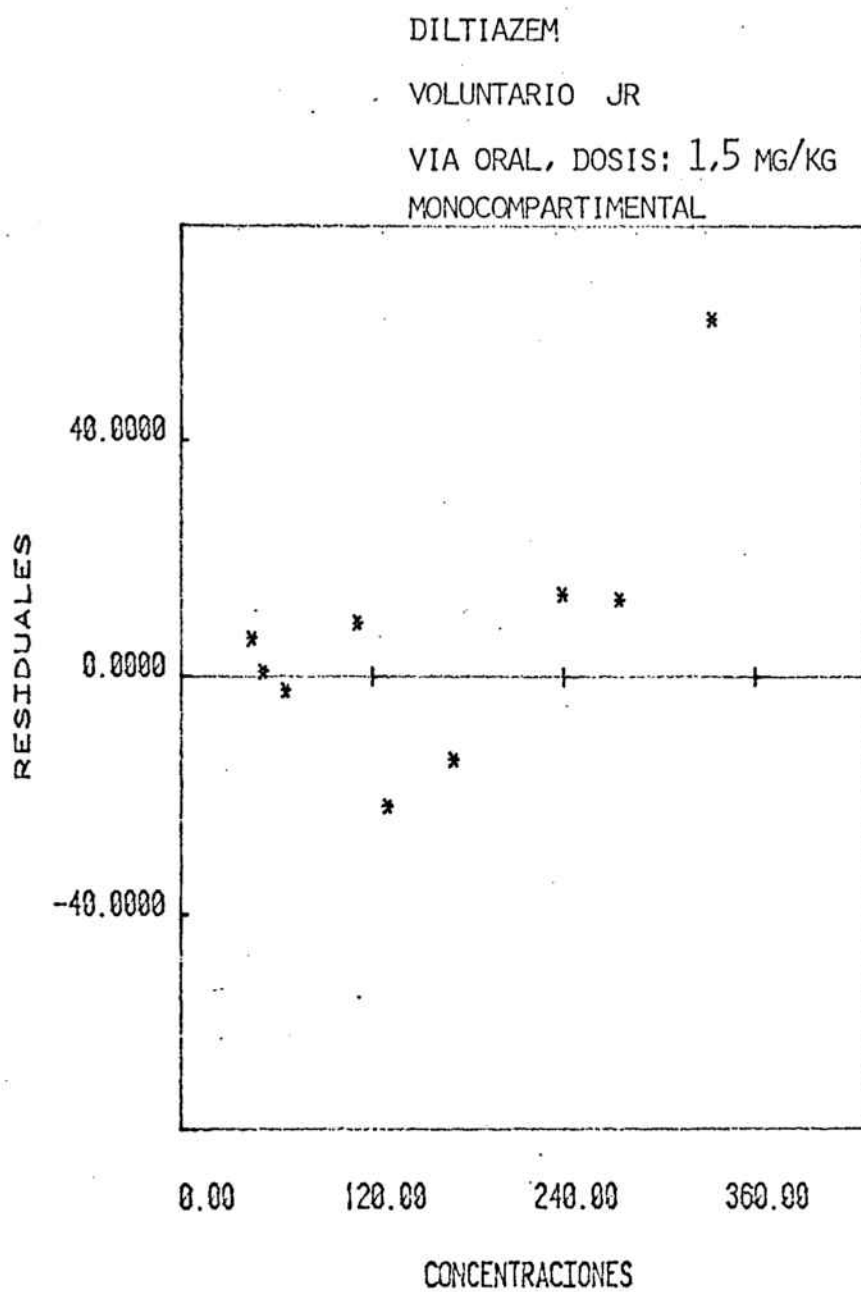


Figura 19.

RESULTADOS AJUSTADOS MARQUARDT (TEKTRONIX 4051)

DILTIAZEM

VOLUNTARIO JR

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

MONOCOMPARTIMENTAL

No. ITERACIONES : 25

SUMA DE CUADRADOS DE LOS RESIDUALES : 0,10169542766

SIGMA : 0,142615165855

GRADOS DE LIBERTAD : 5

VALOR DE AIC : -12,5719584243

PARAMETRO =====	VALOR =====	ERROR =====
1	21589,6472	391244,6046
2	0,3003	1,3276
3	303,0973	28,4985
4	0,0034	0,0003

TIEMPO =====	C. (OBS) =====	C. TEORICA =====	RESIDUAL =====	% DEV =====
15,000	48,4000	49,3939	-0,9939	-2,05
30,000	330,0000	271,3810	58,6190	17,76
45,000	271,7000	260,5188	11,1812	4,12
90,000	236,0000	223,9719	12,0281	5,10
150,000	167,3000	183,0632	-15,7632	-9,42
210,000	126,1000	149,6265	-23,5265	-18,66
330,000	107,2000	99,9594	7,2406	6,75
450,000	62,6000	66,7788	-4,1788	-6,68
630,000	41,1000	36,4638	4,6362	11,28

PARAMETRO =====	SIMBOLO =====	VALOR =====	UNIDAD =====
Nivel inicial (fase de absorcion)	Ao	21,589,6472	mcg/ml
Nivel inicial (fase de eliminacion)	Co	303,0973	mcg/ml
Constante de absorcion aparente	Ka	0,3003	1/min
Constante de eliminacion aparente	Kel	0,0034	1/min
Semivida aparente de absorcion	ta1/2	2,3083	min
Semivida biologica aparente	t1/2	206,2028	min
Area bajo la curva	AUC	84,954,8922	(mcg/ml)
Periodo de latencia	to	14,8668	min
Tiempo conc. plasmatica maxima	Tmax	29,4963	min
Concentracion plasmatica maxima	Cmax	271,4140	mcg/ml

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO AS  
VIA ORAL; DOSIS: 1,5 MG/KG  
BICOMPARTIMENTAL

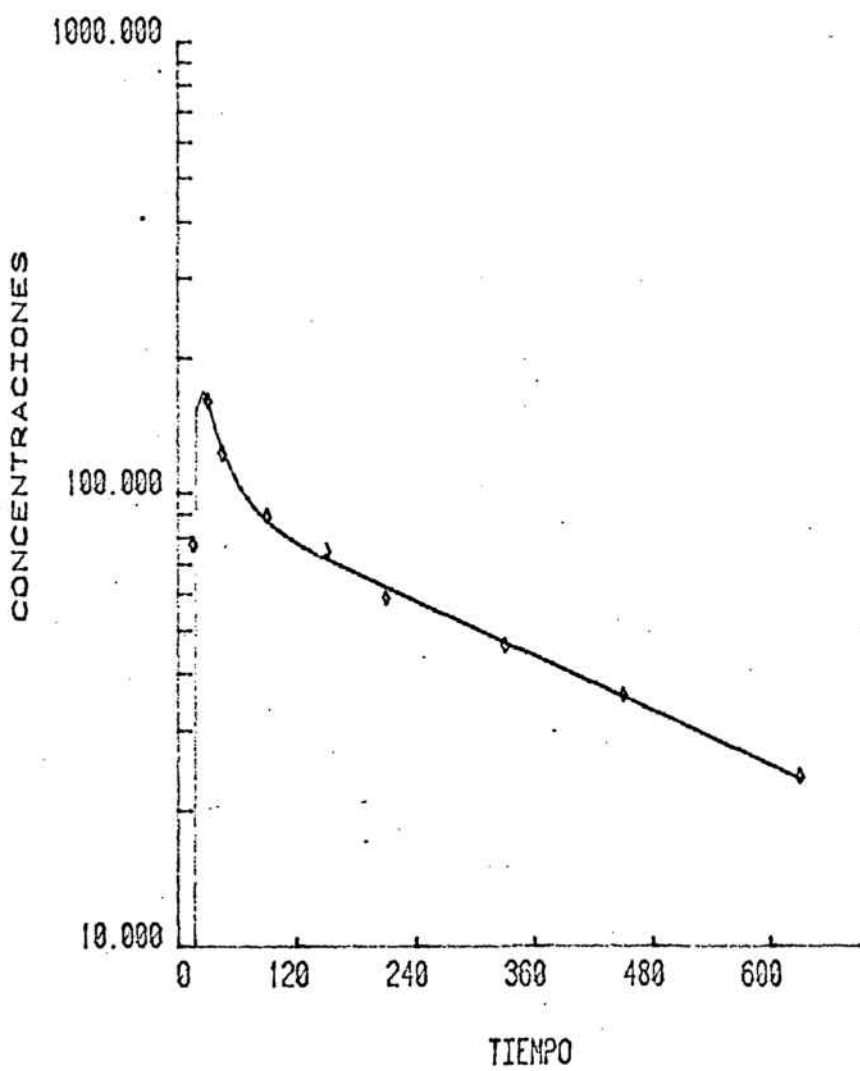


Figura 20.

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO AS  
VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG  
BICOMPARTIMENTAL

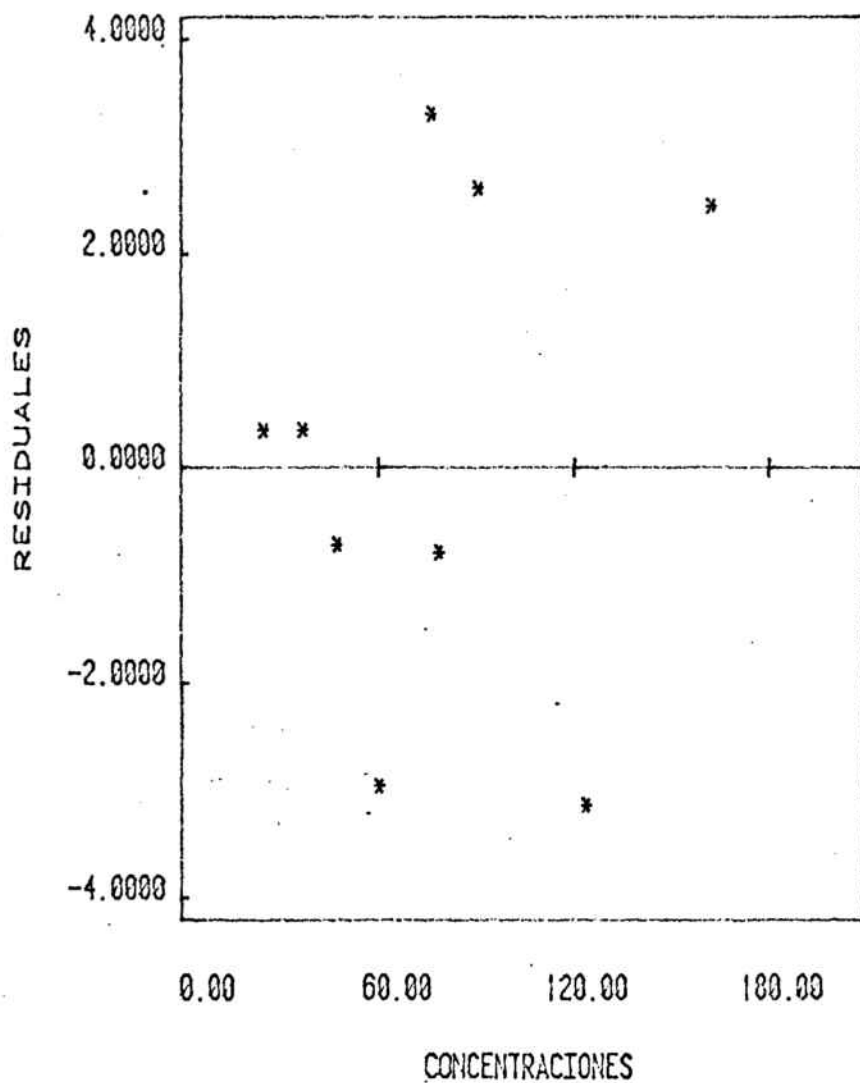


Figura 27.

RESULTADOS AJUSTADOS MARQUARDT (TEKTRONIX 4051)

DILTIAZEM

VOLUNTARIO AS

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

BICOMPARTIMENTAL

No. ITERACIONES :14

SUMA DE CUADRADOS DE LOS RESIDUALES : 0.00684408534275

SIGMA :0.0477636030981

GRADOS DE LIBERTAD :168.355426287

VALOR DE AIC :-32.8593340798

PARAMETRO =====	VALOR =====	ERROR =====
1	8797.4676	85994.8250
2	0.2721	0.7722
3	249.5440	304.8438
4	0.0438	0.0272
5	100.6010	5.5090
6	0.0023	0.0001

TIEMPO =====	C.(OBS) =====	C.TEORICA =====	RESIDUAL =====	% DEV =====
15.000	77.1000	77.9899	-0.8899	-1.15
30.000	160.7000	158.3635	2.3365	1.45
45.000	122.1000	125.3317	-3.2317	-2.65
90.000	89.0000	86.4938	2.5062	2.82
150.000	74.6000	71.4043	3.1957	4.28
210.000	58.8000	61.8546	-3.0546	-5.19
330.000	46.0000	46.8157	-0.8157	-1.77
450.000	35.7000	35.4476	0.2524	0.71
630.000	23.6000	23.3550	0.2450	1.04

PARAMETRO =====	SIMBOLO =====	VALOR =====	UNIDAD =====
Nivel inicial (fase de absorcion)	Po	8,797.4676	mcg/ml
Nivel inicial (fase alfa)	Ao	249.5440	mcg/ml
Nivel inicial fase (de eliminacion)	Bo	100.6010	mcg/ml
Constante de absorcion aparente	K01	0.2721	1/min
Constante alfa aparente	alfa	0.0438	1/min
Constante beta aparente	beta	0.0023	1/min
Semivida aparente de absorcion	ta1/2	2.5473	min
Semivida biologica aparente	t1/2	299.0262	min
Area bajo la curva	AUC	44,370.3654	(mcg/ml)*h
Periodo de latencia	to	12.4000	min
Tiempo conc. plasmatica maxima	Imax	23.0000	min
Concentracion plasmatica maxima	Cmax	169.6261	mcg/ml

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO RM  
VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG  
BICOMPARTIMENTAL

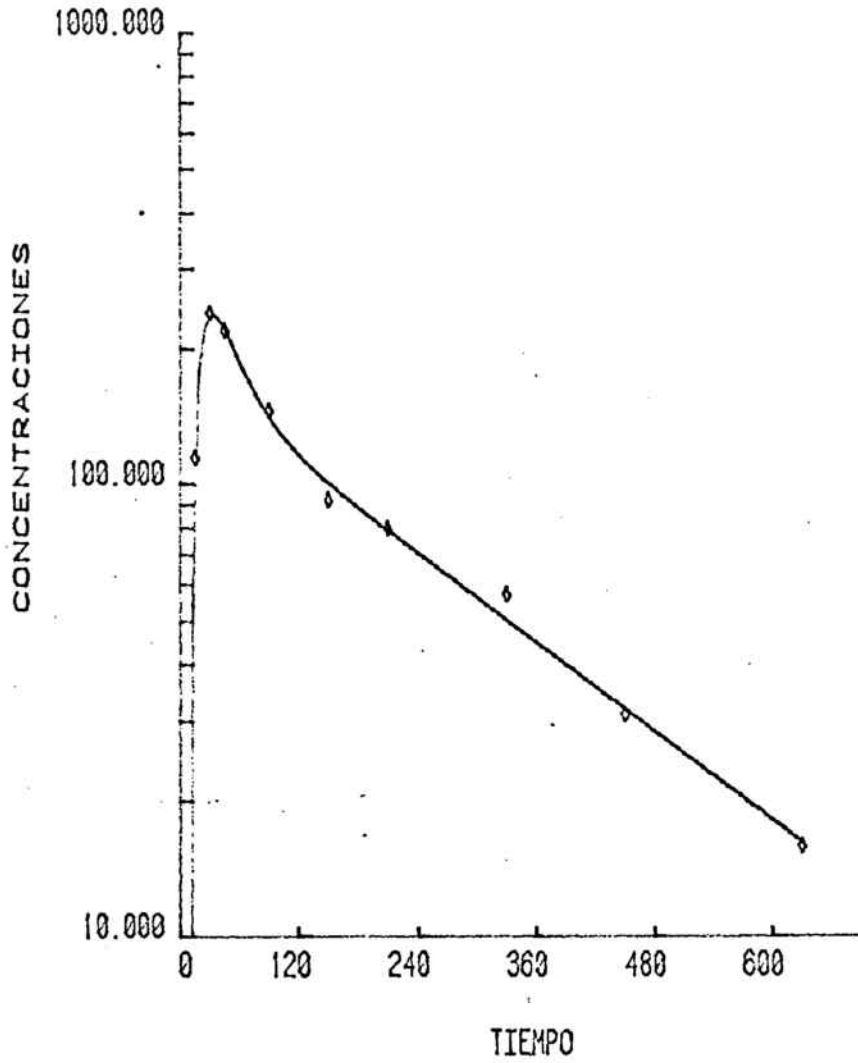


Figura 22.

DILTIAZEM  
VOLUNTARIO RM  
VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG  
BICOMPARTIMENTAL

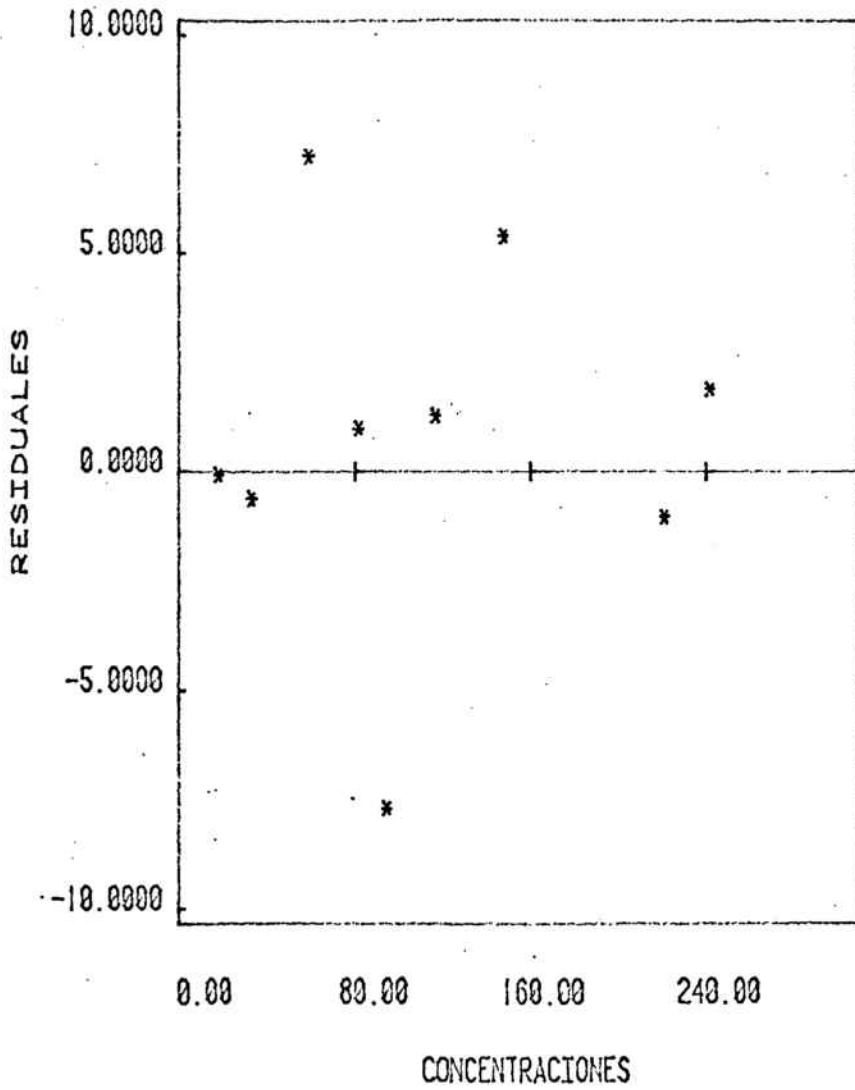


Figura 23.



RESULTADOS AJUSTADOS MARQUARDT (TEKTRONIX 4051)

DILTIAZEM

VOLUNTARIO RM

VIA ORAL, DOSIS: 1,5 MG/KG

BICOMPARTIMENTAL

No. ITERACIONES :9  
 SUMA DE CUADRADOS DE LOS RESIDUALES : 0.0251191993807  
 SIGMA :0.0915044614226  
 GRADOS DE LIBERTAD :3  
 VALOR DE AIC :-21.1571052871

PARAMETRO =====	VALOR =====	ERROR =====
1	1424.8807	713.5918
2	0.0955	0.1347
3	510.6947	1369.7168
4	0.0378	0.0423
5	173.1657	21.3338
6	0.0038	0.0003

TIEMPO =====	C.(OBS) =====	C.TEORICA =====	RESIDUAL =====	% DEV =====
15.000	114.1000	113.0660	1.0340	0.91
30.000	239.3000	237.6558	1.6442	0.69
45.000	218.6000	219.8844	-1.2844	-0.59
90.000	145.2000	140.0725	5.1275	3.53
150.000	92.2000	100.1487	-7.9487	-8.62
210.000	79.4000	78.6638	0.7362	0.93
330.000	56.9000	49.9337	6.9663	12.24
450.000	30.9000	31.7675	-0.8675	-2.81
630.000	15.8000	16.1210	-0.3210	-2.03

PARAMETRO =====	SIMBULO =====	VALOR =====	UNIDAD =====
Nivel inicial (fase de absorcion)	Po	1,424.8807	mcg/ml
Nivel inicial (fase alfa)	Ao	510.6947	mcg/ml
Nivel inicial fase (de eliminacion)	Bo	173.1657	mcg/ml
Constante desabsorcion aparente	K01	0.0955	1/min
Constante alfa aparente	alfa	0.0378	1/min
Constante beta aparente	beta	0.0038	1/min
Semivida aparente de absorcion	ta1/2	7.2587	min
Semivida biologica aparente	t1/2	183.9339	min
Area bajo la curva	AUC	47,760.5115	(mcg/h)
Periodo de latencia	to	10.0000	min
Tiempo conc. plasmatica maxima	Tmax	32.0000	min
Concentracion plasmatica maxima	Cmax	238.6508	mcg/ml

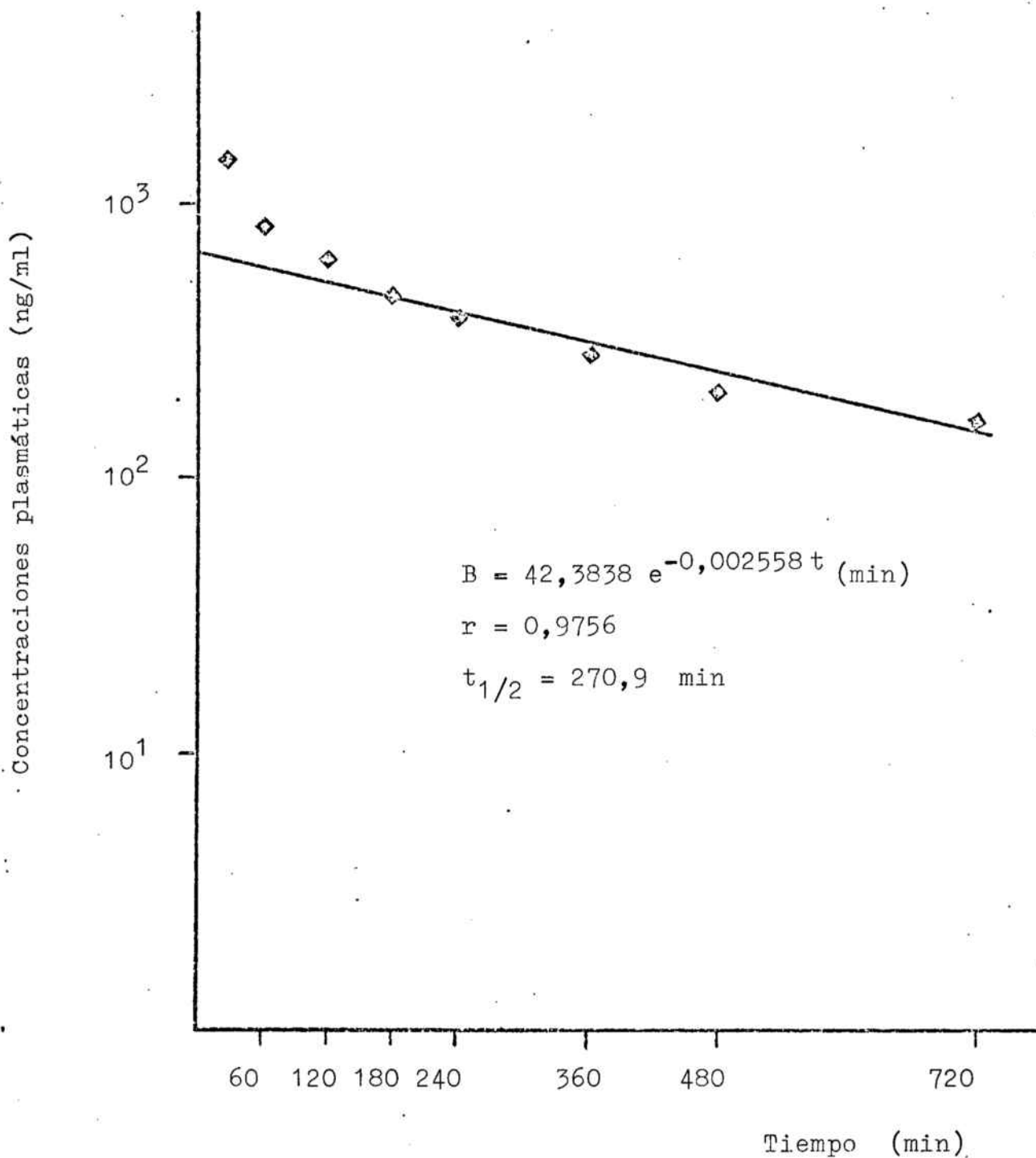


Figura 24. Representación gráfica de la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos del voluntario MA, expresada en forma semilogarítmica. A partir de ella se ha calculado el tiempo de vida media que es de 270,9 min para este individuo.

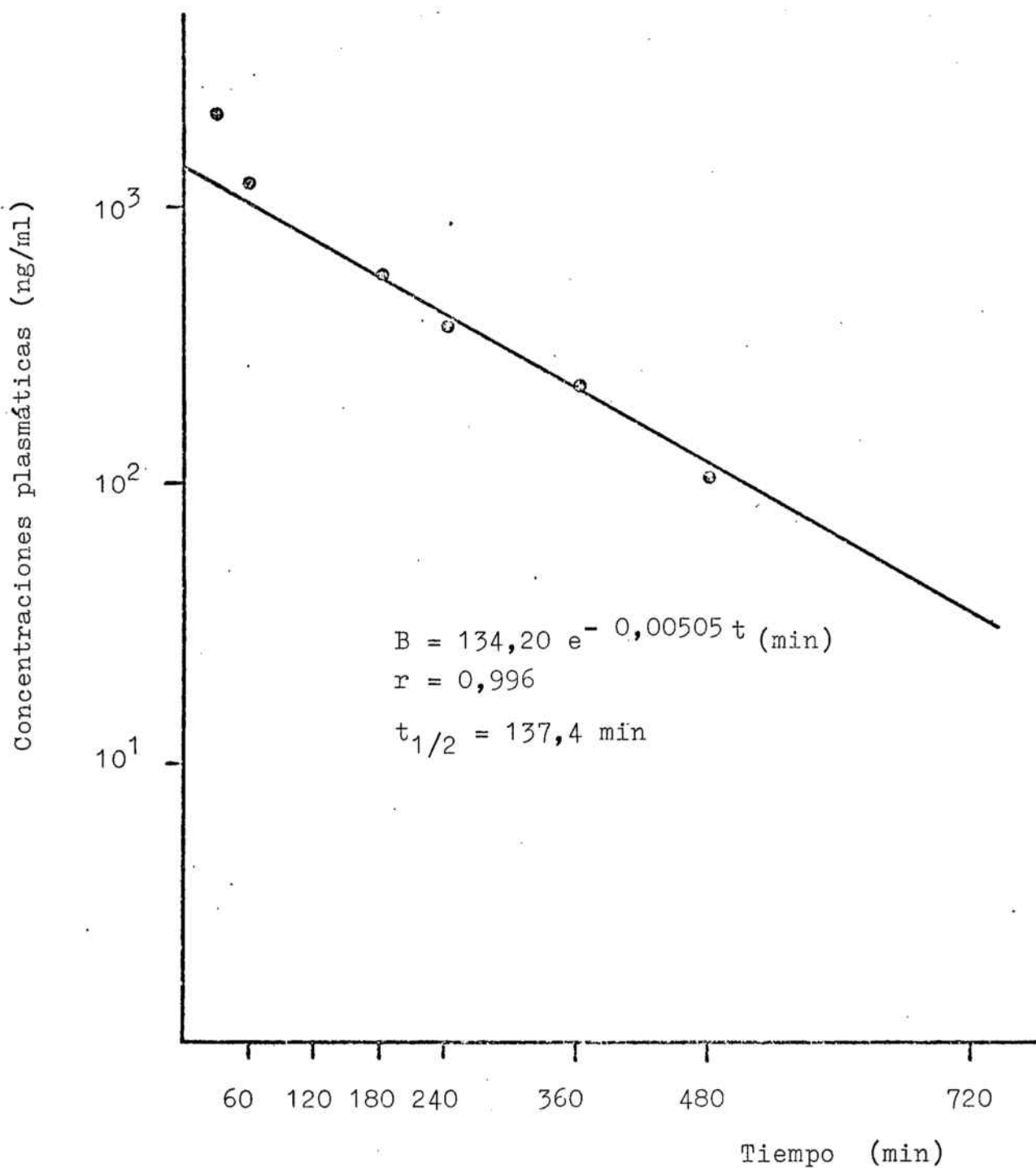


Figura 25. Representación gráfica de la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos del voluntario AP, expresada en forma semilogarítmica. A partir de la cual se ha calculado el tiempo de vida media que es de 137,4 min para este individuo.

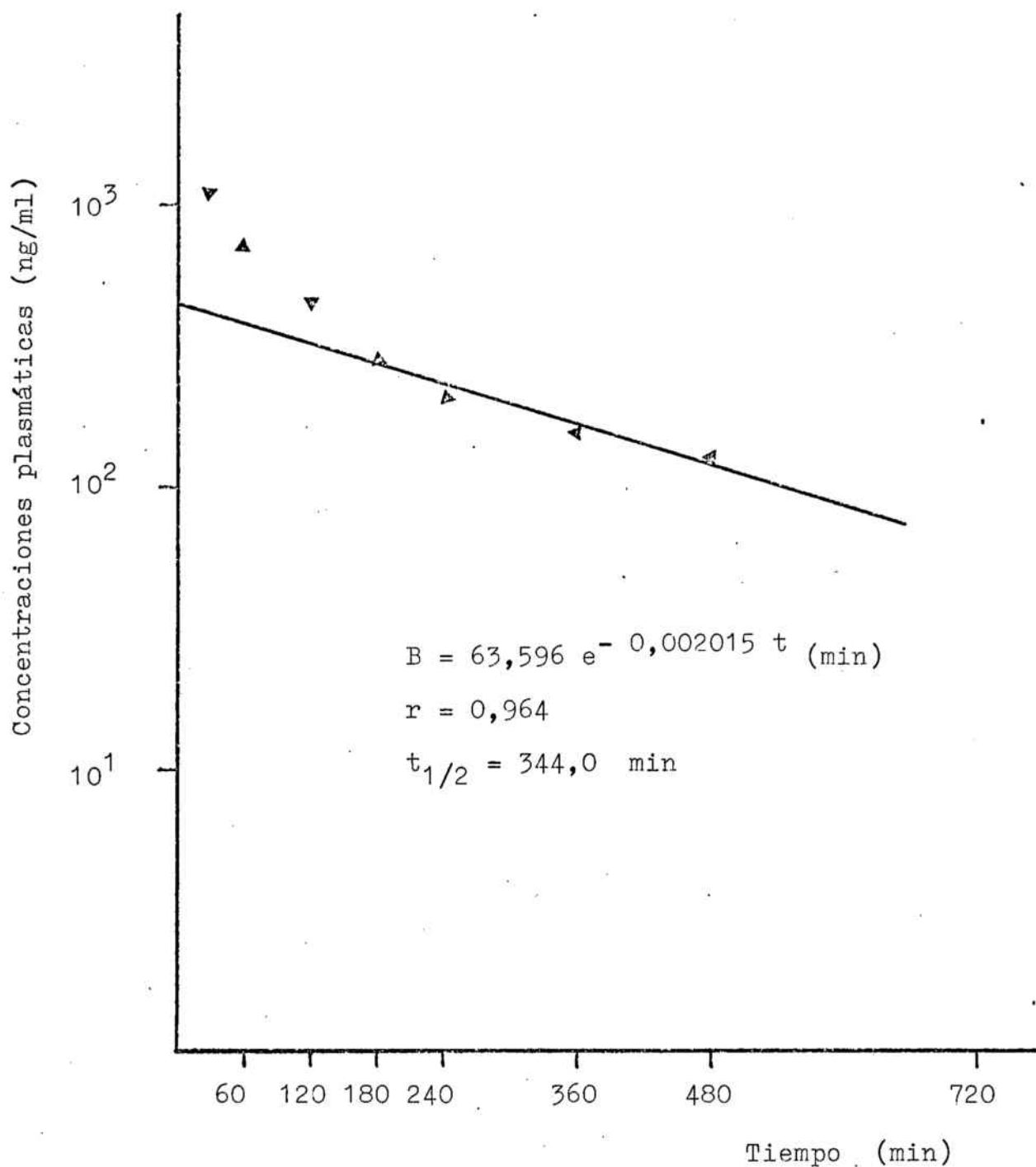


Figura 26. Representación gráfica de la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos del voluntario XN, expresada en forma semilogarítmica. A partir de la cual se ha calculado el tiempo de vida media que es de 344,0 min para este individuo.

#### 2.4. DISCUSION Y CONCLUSIONES

El estudio farmacocinético de un fármaco, es hoy día de gran importancia para la determinación racional de los regímenes de dosificación, particularmente para aquellos fármacos con un potencial elevado de toxicidad, como es el caso de la mayoría de los cardiotónicos.

El Diltiazem ha sido estudiado en un limitado grupo de sujetos, observándose una considerable variabilidad interindividual en los niveles plasmáticos después de la administración de dosis orales de Diltiazem. Así, en un estudio realizado por Kinney y cols. (1981) en voluntarios sanos, se puede observar una variabilidad en los niveles plasmáticos entre pacientes, superior al 30%.

También en los trabajos publicados hay discrepancias sobre el modelo cinético seguido por el fármaco. Como ya se ha señalado anteriormente hay autores que se inclinan por un modelo monocompartimental (Etoh y cols., 1980), otros por el contrario diseñan un modelo bicompartimental (Hermann y cols., 1983).

A todas estas imprecisiones, hay que añadir la dificultad por la sensibilidad de las técnicas analíticas utilizadas. El Diltiazem es un fármaco que se encuentra, como se ha podido ver, en concentraciones muy bajas en plasma; este hecho ha dificultado la lectura de las concentraciones plasmáticas, después de pasadas algunas horas de la administración del fármaco. Rovei y cols. (1977) emplearon una técnica de GLC

usando detector Nitrógeno- Fósforo, que les permitió alcanzar niveles de detección de 10 ng/ml. Mas tarde, Morselli y cols. (1979) utilizando la espectrometría de masas, determinaron el DTZ y sus metabolitos, siguiendo por espacio de 12 horas al desacetil-diltiazem y durante 24 horas al Diltiazem.

Como ya se ha señalado anteriormente el DTZ forma parte del grupo de los antagonistas del calcio y actua inhibiendo la entrada del calcio a traves de los canales lentos de las células del músculo esquelético vascular y en el miocardio.

A nivel clínico, el Diltiazem es un potente vasodilatador coronario y un agente efectivo para el tratamiento de la angina de pecho (Zelis y cols.,1982).

A partir de los datos existentes en la literatura y del interés clínico de este fármaco, se ha intentado, con este estudio caracterizar la cinética plasmática del DTZ después de la administración oral de una dosis de 1,5 mg/Kg., ya que es la vía y dosis habitualmente utilizada en clínica.

Estudios en animales revelan que el Diltiazem es absorbido rápidamente vía gastrointestinal (Piepho, 1.982), así mismo, Morselli y cols. (1979) observan que entorno a los 30 min. posteriores a la ingesta del DTZ, éste alcanza las concentraciones máximas en el plasma de los voluntarios sanos estudiados.

En el presente trabajo, y como se puede observar en las tablas III, IV, V, VI, VII y VIII correspondientes a los niveles plasmáticos de DTZ encontrados en los 6 voluntarios sanos estudiados, la absorción es muy rápida, alcanzándose las concentracio

nes plasmáticas máximas entorno a los 30 min; no obstante se observa una gran variabilidad en los distintos valores obtenidos que podría ser debida al mecanismo de primer paso que ha sido descrito para este fármaco (Kinney y cols. 1981; Piepho y cols., 1982). Por otro lado la O-desacetilación que da lugar al metabolito del DTZ, es un mecanismo que puede presentar diferencias sustanciales en humanos (Weber y cols., 1971), y que por tanto también justificaría la variabilidad interindividual respecto a las - concentraciones plasmáticas de DTZ.

Teniendo en cuenta todo esto y a fin de que el medicamento se encuentre en las máximas condiciones de absorbabilidad, se ha administrado en forma de solución libre con lo cual se soslaya, en comparación con una forma farmacéutica sólida de administración oral, el proceso de disolución. Este proceso que engloba la fase de disgregación y de liberación retardada, en general, la absorción del principio activo - que contiene la forma farmacéutica diseñada. Por este motivo es presumible asumir que, independientemente de la velocidad intrínseca del Diltiazem, la velocidad de absorción del fármaco en la forma de administración utilizada prevea una absorción muy rápida. Este hecho, en nuestras condiciones experimentales, sumado a limitaciones de metodología en el proceso de toma de muestras, ha limitado la obtención de puntos experimentales en la fase de absorción.

Como consecuencia de esta problemática, de los 6 voluntarios empleados sólo en 3 de ellos se ha obtenido un punto

en fase de absorción. En los otros 3 voluntarios se han podido obtener únicamente puntos experimentales en fase terminal de disposición.

Para los 3 voluntarios que han permitido obtener puntos en fase de absorción, se ha procedido a dilucidar a que modelo farmacocinético se ajustan los datos experimentales. Tal como se expone en las tablas X y XIII, el modelo farmacocinético que mejor se ajusta al voluntario RM es el bicompartimental abierto, ya que el ajustado a este modelo nos da un valor de AIC (-21.157) menor que el correspondiente al modelo monocompartimental abierto (-8.692). Los parámetros farmacocinéticos deducidos del ajustado realizado, ponen de manifiesto que el Diltiazem posee en las condiciones del ensayo una constante de absorción ( $K_{01}$ ) rápida:  $0,0955 \text{ min.}^{-1}$ , (semivida de absorción 7,25 min.) asumiendo, al no disponer de datos intravenosos, que el valor de la constante de absorción corresponde al más alto respecto a los valores de  $\alpha$  y de  $\beta$  hallados. El tiempo de vida media de eliminación presenta para este voluntario un valor de 183,93 min. La concentración plasmática máxima ( $C_{\text{max.}}$ ) tiene un valor de 238,65 ng/ml y se obtiene transcurridos 32 min. ( $t_{\text{max.}}$ ) después de administrar la solución medicamentosa.

Del mismo modo para el voluntario AS se ha procedido a determinar qué modelo farmacocinético se ajusta mejor a los resultados experimentales. Tal como se pone de mani



fiesto en las tablas IX y XII, el modelo farmacocinético que mejor se ajusta a los resultados experimentales es el bicompartimental abierto (AIC: -32,85). En este voluntario la constante de absorción del medicamento es más rápida (asumiendo la misma consideración comentada anteriormente),  $K_{01} = 0,2721 \text{ min.}^{-1}$  (semivida de absorción: 2,54 min.). El Diltiazem, en este voluntario presenta un tiempo de vida media de eliminación de 246,126 min. La concentración plasmática máxima ( $C_{\text{max.}}$ ) tiene, en este caso, un valor de 114,35 ng/ml, siendo el tiempo en que aparece esta concentración ( $t_{\text{max.}}$ ) de 24,28 minutos.

El perfil farmacocinético del voluntario J.R., sólo permite ajustar el modelo monocompartimental a los datos experimentales obtenidos. En este caso, como se ve en la tabla XI, la constante de absorción del medicamento es más rápida que en los dos voluntarios anteriores, obteniéndose un valor de  $0,3003 \text{ min.}^{-1}$  (semivida de absorción 2,31 minutos). El tiempo de vida media de eliminación presentada por el Diltiazem en este voluntario es de 206,203 minutos. La concentración plasmática máxima ( $C_{\text{max.}}$ ) tiene, para este voluntario un valor de 271,41 ng/ml apareciendo este valor en un tiempo ( $t_{\text{max.}}$ ) de 29,49 minutos, posteriores a la ingesta de la solución medicamentosa.

Los valores obtenidos para el tiempo de vida media de los voluntarios MA, AP y XN, que debido a las causas

anteriormente citadas no han suministrado puntos experimentales en fase de absorción, son los que se detallan a continuación:

Voluntario	$t_{1/2}$ (min.)
AM	270,9
AP	137,4
XN	344,0

Sin embargo, cabe resaltar que los valores de este parámetro farmacocinético es en todos los casos del mismo orden, como se expone en el cuadro siguiente:

Voluntario	$t_{1/2}$ (min.)
AS	246,1
RM	183,9
JR	206,2
MA	270,9
AP	137,4
XN	344,0
$\bar{X} \pm ES$	240,2 $\pm$ 31,66

Este trabajo forma parte de un estudio más amplio que tiene como objetivo la racionalización de la terapéutica crónica con Diltiazem en pacientes con angina de pecho.

La primera premisa en este estudio, como se ha indicado en los objetivos, era conocer los niveles plasmáticos de los pacientes, para así poder establecer la relación de la dosis administrada con los efectos terapéuticos; para ello, era necesario poner a punto una técnica de determinación de los niveles plasmáticos, sensible y rápida, pues las existentes en la literatura no reunían estas condiciones. En esta línea, el presente trabajo propone una mecánica de determinación cuantitativa que acorta considerablemente el tiempo para la obtención de las concentraciones de Diltiazem en el plasma. Al mismo tiempo, es una técnica muy sensible (10 - ng/ml) que permite seguir al fármaco en el organismo durante bastantes horas.

El estudio cinético realizado, sugiere la posibilidad de la utilización de soluciones de Diltiazem cuando sea necesario adquirir rápidamente en los pacientes niveles plasmáticos eficaces, ya que se ha podido observar una rápida absorción del Diltiazem desde esta forma farmacéutica.

También el conocimiento del tiempo de vida media de la fase terminal, permite calcular los regímenes de dosificación más adecuados para una correcta administración

del fármaco.

Del estudio realizado en la presente memoria pueden deducirse las siguientes conclusiones:

- 1-. En los voluntarios AS y RM la cinética plasmática del Diltiazem responde a un modelo bicompartimental.
- 2-. La fase de absorción, después de una administración oral, es muy rápida, con una constante de absorción aparente de  $0,223 \text{ min.}^{-1}$ .
- 3-. Debido a la rápida absorción observada se adquiere la concentración plasmática máxima en un tiempo de 30 minutos aproximadamente.
- 4-. Los niveles plasmáticos del Diltiazem presentan gran variabilidad entre los distintos voluntarios.
- 5-. El fármaco es eliminado en su fase terminal de forma exponencial, con un tiempo de vida media en torno a las 4 horas.

### 3. BIBLIOGRAFIA

ALMERS, W., Gating currents and charge movements in excitable membranes. En Rev. *Physiol. Biochem. Pharmacol.* 82: 96-190, 1978.

BAYER, R.; KALUSCHE, D. y KAUFMANN, R., Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D-600 in mammalian myocardium. III. Effects of the optical isomers on transmembrane action potentials. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 290: 81-97, 1975.

BAYER, R.; RODENKIRCHEN, R.; KAUFMANN, R. y LEE, J.H., The effects of nifedipine on contraction and monophasic action potential of isolated cat myocardium. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 301: 29-37, 1977.

BEELE, G.W. y REUTER, H., Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. J. Physiol. (Lond). 268: 177-210, 1977.

BLAUSTEIN, M.P. Effects of internal and external cations and of ATP on sodium-calcium and calcium-calcium exchange in squid axons. Biophys. J. 20: 79-111, 1977.

BLOEDOW, D.C.; PIEPHO, R.W.; NIES, A.S. y GAL, J., Serum Binding of DTZ in humans. J. Clin. Pharmacol. 22: 201-205, 1982.

BRAUNWALD, E., Mechanism of action of calcium channel blocking agents. The New England J. of Medicine. 307 (26): 1618-1627, 1982.

BRODIE, B.B.; GILLETTE, J.R. y LA DU, B.M., Enzymatic metabolism of drugs and other foreign compounds. Annu. Rev.

Biochem. 27: 427-454, 1.958.

BROOKER,G., Oscillation of cyclic adenosine monophosphate concentration during the myocardial contraction cycle. - Science. 182: 933-934. 1973.

CHENEVAL,J.P.; HYDE,A.; BLONDEL,B. y cols., Heart cels in culture: metabolism, action potential and transmembrane ionic movements. J.Physiol. (París). 64: 413-430, 1972.

CONNEY,A.H. y BURNS,Y.J., Metabolic interactions among - enviromental chemical and drugs. Science 198: 576, 1.976.

CONNEY,A.H., Drug metabolism and therapeutics. New Eng. J. Med. 280: 653-660, 1.969.

CORABOEUF,E., Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. Am. J. Physiol. 234: H101-16, 1.976.

CRANEFIELD,P.F., Conduction of the cardiac impulse. En: New York, Futura. 1.975.

DETTLI,L. y SPRING,P., The modifying effects of physiological variables and disease upon pharmacokinetics. An introduction. En Proceedings of the Fifth International Congress on Pharmacology. Editado por G.T. Okita y G.H. Acheson, Vol. 3 (pp. 165-173). S.Karger, Basel, 1.973.

DIAMOND,J.M. y WRIGHT,E.M., Biological membranes; the physical basis of ion and ionelectrolyte selectivity. Annu. Rev. Physiol. 31: 581-646, 1969.

EBNER,F. y DUNSCHEDDE,H.B., Hemodynamics, therapeutic mecha

nism of action and clinical findings of Adalat use based on worldwide clinical trials. En Third International Adalat Symposium. Editado por A.D. Jatene y R.P. Lichtlem. Amsterdam: Excerpta Medica: 283-305, 1976.

EHARA, T. y KAUFMANN, R., Effects of nifedipine on the slow inward current in isolated cat ventricular myocardium. Pfluegers Arch., 1.980 (en prensa).

ETOH, A.; KOHNO, K. y TAKENCHI, Y., Studies on DTZ hydrochloride preparation -Its pharmacokinetics in man-. The Clin. Report 14 (10): 1-15, 1.980.

FLAIM, S.F. y ZELIS, R. DTZ pretreatment reduces experimental myocardial infarct size in rat. Pharmacology 23: 281-286, 1981.

FLECKENSTEIN, A. y KAMMERMEIER, H., Zum wirkung-mechanismus nenartiger koronardilatatoren mit gleichzeitig sauerstoff-einsparenden myokard-effekten, prenylamin und iproveratril. Z. Kreislanfforsch 56: 716-744, 839-853, 1967.

FLECKENSTEIN, A., Die zügelung des myocardstoffwechsels - durch verapamil: angriffs punkte und anwendungs möglichkeiten. Arzneim Forsch 20: 1317-1322, 1970.

FLECKENSTEIN, A., Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17: 149-166, 1977.

FLANAGAN, R.J. y WITHERS, G.A., A rapid micromethod for the screening and measurement of barbiturates and related com



pounds in plasma by gas-liquid chromatography. J. Clin. Path. 25: 899-904, 1972.

GIEBISCH, G., Contribución de las mediciones de los fenómenos eléctricos a nuestro conocimiento del transporte - electrolítico renal. En Progreso en las enfermedades cardiovasculares. Editado por C.K. Friedberg. E. Científico médica, 2<sup>a</sup> edic. (pp.505) Barcelona, 1964.

GLITSCH, H.G.; REUTER, H. y SCHOLZ, H., The effect of the interal sodium concentration on calcium fluxes in isolated guinea pig auricles. J. Physiol. (London) 209: 25-43, - 1970.

GLIKLICH, J.L. y HOFFMAN, B.F., Sites of action and active forms of lidocaine and some derivatives on cardiac Purkinje fibers. Cir. Res. 43: 638-651, 1978.

GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L. y KALMAN, S.M., En Principles of drug action: the basis of pharmacology. 2<sup>a</sup> edición. Editado por J. Wiley and sons. New York, 1974.

GREENGARD, P., Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters. Nature 260: 101-108, 1976.

HAAS, H. y HARTFELDER, G.,  $\alpha$ -Isopropyl - $\alpha$ - (N-methylhomoveratryl)-  $\gamma$  - aminopropyl) -3,4-dimethoxy-phenylacetone nitrol, eine substanz mit coronargefa  $\beta$ erweiterenden eigenschaften. Arzneim Forsch 12: 549-558, 1.962.

HAGIWARA, S. y BYERLY, L., Calcium channel. Annu. Rev. Neu-

rosci 4: 69-125, 1981.

HASHIMOTO, K.; TAIRAN; CHIBA, S. y cols., Cardiohemodynamic effects of Bay a 1040 in the dog. Arzneim Forsch 22: 15-21, 1972.

HENRY, P.D., Calcium ion ( $Ca^{++}$ ) antagonists: mechanisms of action and clinical applications. Practical Cardiol. 5: 145-156, 1.979.

HERMANN; S.D. RODGER; G. REMONES; J.R. THENOT; D.R. LONDON y MORSELLI, P.L., Pharmacokinetics of DTZ after intravenous and oral administration. Eur. J. Clin. Pharmacol. 24: 349-352, 1983.

KATO, R.; JONDORF, W.R.; LOEB, L.A.; BEN, T. y GELBOIN, H.V., Studies on the mechanism of drug induced microsomal enzyme activities. V. Phenobarbital stimulation of endogenous messenger RNA and polyridylic acid-directed L-( $^{14}C$ )-phenylalamine incorporation. Mol. Pharmacol. 2: 171-186, 1966.

KATZ, A.M.; BAILIN, G.; KRICHBERGER, M.A. y TODAY M., Regulation of myocardial cell function by agents that increase cyclic AMP production in the heart. En Heart Failure. Editado por A.P. Fishman. Washington, D.C.: Hemisphere Publishing Corp. : 11-28, 1979.

KAUFMANN, R., Differenzierung verschiedener kalzium-antagonisten. Münch. Med. Nochenschr. 199 (suppl. 1) : 6-11, 1977.

KAWAI,C.; KONISHI,T.; MATSUYAMA,E. y OKAZAKI,H., Comparative effects of three calcium antagonists Diltiazem, Verapamil and Nifedipine, on the sinoatrial and atrioventricular nodes. Circulation 63 (5): 1035-1042, 1981.

KILBORN,J.R.; BATTELLOCCHI,S.; LARRIBAUD,J. y MORSELLI,P.L., Preliminary clinical report on diltiazem in french patients suffering from angina. Editado por R.J. Bing. En New drug therapy with calcium antagonist. DTZ Hakone Symposium '78. Amsterdam: Elsevier North Holland : 129- 38 , 1979.

KINNEY, E.; MOSKOWITZ, R. y ZELIS, R., The pharmacokinetics and pharmacology of oral Diltiazem in normal volunteers. J.Clin. Pharmacol. 21: 337- 342 , 1981.

KOIWAYA, Y.; ASHIHARA,T.; NAKAMURA, M. y ETOH, A., Plasma concentration of DTZ after oral administration in normal volunteers. Clinical Therapeutics 3 (6) , 1981.

LARGER,G.A., The role of calcium in the control of myocardial contractility : an update. J. Moll. Cell. Cardiol. 12: 231-239, 1980.

LINDNER, E., Phenyl-propyl-diphenyl- propyl-amin eine neue substanz mit coronargefä  $\beta$  erweiteruder wirkung. Arzneim Forsch 10: 569-573 , 1960

MELVILLE,K.L. y BENFEY,B.L., Coronary vasodilatatory and cardiac adrenergic blocking effects of iproveratril. Can. J. Physiol. Pharmacol. 43:339-342 , 1965.

MESHI, T.; SUGIHARA, J. y SATO, Y., Metabolic fate of d-cis-3-acetoxy-5-(2-(dimethylamina) ethil) -2,3-dihidro-2-(p-methoxyphenyl) -1,5-benzothiazepin-4 (5H)- one hydrochloride (CRD-401). Chem. Pharm. Bull. 19 (8): 1546-1556, 1971.

MORSELLI, P.L.; ROVEI, V. MITCHARD, M.; DURAND, A.; GOMENI, R. y LARRIBAUD, J., Pharmacokinetics and metabolism of DTZ in man (observations on healthy volunteers and angina pectoris patients). New Drug Therapy with a calcium antagonist. Excerpta Medica, 1979.

NABATA, H., Effects of calcium antagonistic coronary vasodilators on myocardial contractility and membrane potentials. Jpn. J. Pharmacol. 27: 239-249, 1977.

NAGAO, T.; NARITA, H. y SATO, M., Development of diltiazem, a calcium antagonist: coronary vasodilating and antihypertensive actions. Clin. and Expert. Hyper. Theory and practice A4 (1-2): 285-296, 1982.

NAKAJIMA, H.; HOSHIYAMA, M.; YAMASHITA, K. y KIYOMOTO, A., Effect of diltiazem on electrical and mechanical activity of isolated cardiac ventricular muscle of guinea pig. Jpn. J. Pharmacol. 25: 383-392, 1975.

NEU, H.C., Penicillius. En Principles and practice of infectious diseases. Editado por G.L. Mandell; R.G. Douglas y J.E. Bennett. John Wiley y sons, Inc. (pp 218-238) N.Y., 1979.

NOBLE, D., The initiation of the heartbeat. Oxford: Clarendon Press; 1975.

OKADA, T. y KONISHI, T., Effects of verapamil on SA and AV nodal action potentials in the isolated rabbit heart. Jpn. Circ. J. 39: 913-932, 1975.

ONO, H. y HASHIMOTO, K.,  $Ca^{++}$  antagonism in various parameters of cardiac function including coronary dilatation - with the use of nifedipine, perhexiline and verapamil. En Ischemic myocardium and antianginal drugs. Editado por N. M. Winbury y Y. Abiko. N.Y. Raven Press: 77-78, 1979.

PIEPHO, R.W.; BLOEDOW, D.C. y LACZ, J.P., Pharmacokinetics of DTZ in selected animal species and human beings. The American J. of Cardiol. 49: 525-528, 1982.

REUTER, H., Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. Drog. Biophys. Mol. Biol. 26: 1-43, 1973.

REUTER, H. y SCHOLZH., A study of the ion selectivity and the kinetic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle. J. Physiol. (Lond.) 264: 17-47, 1977.

REUTER, H., Properties of two inward membrane currents in the heart. Annals Rev. Physiol. 41: 413-424, 1979.

ROSENBERGER, L. y TRIGGLE, D.J., Calcium, calcium translocation and specific calcium antagonist. En Calcium in Drug Action. Editado por G.B. Weiss. N.Y.: Plenum Press: 3-31, 1978.

ROVEI, V.; MITCHARD, M. y MORSELLI, P.L., Simple, sensitive and specific gas chromatographic method for the quantification of Diltiazem in human body fluids. Journal of chromatography 138: 391-398, 1977.

SAKUMA, M.; YOSHIKAWA, H. y SATO, T., The whole body autoradiographic studies on the distribution of  $^{14}\text{C}$ -labeled new 1,5-benzothiazepine derivative ( $^{14}\text{C}$ -CRD-401) in mice. Chem. Pharm. Bull. 19 (5): 995-1005, 1971.

SATO, T. y ONO, H., Facilitation of neuromuscular transmission by calcium antagonist, DTZ, Nifedipine and Verapamil, in the dog. Arch. int. Pharmacodyn. 249: 235-246, 1981.

SCHNEIDER, J.A. y SPERELAKIS, N., Slow  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Na}^+$  responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea pig hearts exposed to elevated  $\text{K}^+$ . J. Moll. Cell. Cardiol. 7: 249-273, 1975.

SINGH, B.N.; ELLRODT, G. y PETER, C.T., Verapamil: a review of its pharmacological properties and therapeutic uses. Drugs 15: 169-197, 1978.

SOLARO, R.J., The role of calcium in the contraction in the heart. En Calcium blockers. Editado por S.F. Flaim y R. Zelis. Baltimore: Urban and Schwarzenberg, 21-36, 1982.

SPERELAKIS, N. y SCHNEIDER, J.A., A metabolic control mechanism for calcium ion influx that may protect the ven-

tricular myocardial cell. Am. J. Cardiol. 37: 1079-1085, 1976.

STONE, P.H.; ANTMAN, E.M. y MULLER, J.E., Calcium channel blocking agents in the treatment of cardiovascular disorders. Part. II: Hemodynamic effects and clinical applications. Annals of Internal Medicine 93: 886-904, 1980.

TARTAGLIONE, T.A.; PEPINE, C.J. y PIEPER, J.A., Diltiazem: A review of its clinical efficacy and use. Drug Intelligence and Clinical Pharmacy 16: 371-379, 1982.

TEN EICK, R.; NAWRHATH, H. y Mc DONALD, T.F., On the mechanism of the negative inotropic effect of acetylcholine. Pfluegers Arch. 361: 207-213, 1976.

TEORELL, T., Cinética de la distribución de sustancias administradas al organismo: administración extravasal. Arch. Int. Pharmacodyn. Therap. 57: 205-225, 1937.

TUBAU, J.F.; COTE, P. y BOURASSA, M.G., Systemic and coronary hemodynamic effects of intravenous DTZ in patients with coronary artery disease. Am. J. Cardiol. 45: 439, 1980.

VALLET, B.; MOLLA, A. y DEMAILLE, J.G., Cyclic adenosine 3'5'-monophosphate dependent regulation of purified bovine aortic calcium /calmodulin-dependent myosin light chain kinase. Biochim. Biophys. Acte 674: 256-264, 1980.

WAGNER, J.G., Intrasubject variation in elimination half lives of drugs which are appreciably metabolized. J. Pharmacok. Biopharm. 1: 165-173, 1973.

WALSH,R; BADKE,F. y O'ROURKE,R., Differential effects of DTZ and Verapamil on left ventricular performance in consciens dogs. Circulation 60 (suppl. II): 15, 1979.

WEBER,W.W., Acetylating, deacetylating and aminofacid conjugating enzymes. En: Handbuch der Exp. Pharmakologie (28), 1971.

WIDMARK,E.P. y TANDBERG,J., Consideraciones teóricas sobre la acumulación en el organismo de narcóticos inespecíficos. Biochem. Zeitschr. 147: 358-369, 1924.

WILLIAMS,R.J.P., The biochemistry of sodium, potasium, magnesium and calcium. Q. Rev. Chem. Soc. 24: 331, 1970.

WIT,A.L. y CRANEFIELD,P.F., Effect of Verapamil on the sinoatrial and atrioventricular nodes of the rabbit and the mechanism by which it arrests reentrant atrioventricular nodal tachycardia. Circ. Rev. 35: 413, 1974.

YAMAGUCHI,H.; NAGASAKI,F.; NAKANISHI,S.; TAKATSU,F.; ISCHIMURA,T. y NISHIYAMA,S., Effects of DTZ on coronary artery and hemodynamics. En New drug therapy with a calcium antagonist. Editado por R.J. Bing. Diltiazem Hakone Symposium '78. Amsterdam: Elsevier North Holland: 204-213, 1979.

ZELIS,F. y KINNEY,E.L., The pharmacokinetics of DTZ in healthy american men. The American J. of Cardiol. 49: 529-532, 1982.



ZIPES, D.P. y FISCHER, J.C., Effects of agents which inhibit the slow channel on sinus mode automaticity and atrioventricular conduction in the dog. Cir. Rev. 34: 184, 1974.