

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGÁNICA



* 5 3 0 9 8 2 7 6 5 2 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y
ELIMINACIÓN DE LA ELGODIPINA EN RATA Y EN
PERRO

Memoria presentada por D. Carlos Fernández Torija para optar
al grado de doctor

Director: Dr.D. Alberto Giráldez Dávila
Tutor: Dr.D. Jose Luis Soto Cámara

Noviembre, 1994

A mi mujer y a mi hija

**Este trabajo ha sido realizado en el
Instituto de Investigación y
Desarrollo Químico-Biológico (IQB)
en Madrid y ha formado parte de un
proyecto de investigación EUREKA**

Deseo expresar mi agradecimiento:

Al Dr. D. Alvaro Galiano Ramos, Director del Instituto de Investigación y Desarrollo Químico-Biológico (IQB), por ofrecerme la posibilidad de realizar este trabajo, por su apoyo y por su inestimable amistad.

Al Dr. D. Alberto Giráldez Dávila, Académico Correspondiente de la Real Academia de Farmacia y asesor farmacológico del IQB, por la dirección de este trabajo, por sus consejos, estímulo y dedicación.

A la Dra. Dña. M^a Luz López Rodríguez, profesora Titular del departamento de Química Orgánica I, por las facilidades y el apoyo que me ha prestado, sirviendo de unión entre la Industria Privada y la Universidad.

Al Dr. D. José Vicente Tarazona Lafarga, Coordinador del Area de Toxicología del Medio Ambiente del CISA-INIA, por concederme el tiempo y los medios necesarios para la redacción de este trabajo.

A la Dra. Dña. Pilar Rivera Cid y a D. Juan Ramón Guerrero Pascual, investigadores del IQB, por su colaboración, durante la realización de este trabajo.

A todos mis compañeros del IQB, que colaborando en los estudios realizados, han hecho posible la conclusión de este trabajo.

A mis compañeros del CISA-INIA, por su acogida y por todas las facilidades prestadas para la redacción de este trabajo.

ÍNDICE

INDICE

INDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- OBJETIVOS	7
3.- ANTECEDENTES	9
3.1.- Propiedades Físico-Químicas de la Elgodipina	9
3.2.- Factores determinantes de la actividad	20
3.3.- Relación entre dosificación, concentración y efecto ...	21
3.4.- Farmacocinética	22
3.4.1.- Modelo monocompartmental abierto	24
3.4.1.1.- Administración i.v.	25
3.4.1.2.- Urinaria i.v.	28
3.4.1.3.- Administración oral	30
3.4.1.4.- Urinaria p.o.	32
3.4.2.- Modelo bicompartimental abierto	33
3.4.2.1.- Administración i.v.	35
3.4.2.2.- Urinaria i.v.	39
3.4.2.3.- Administración oral	40
3.4.2.4.- Urinaria p.o.	42
3.4.3.- Modelos multicompartimentales	43
3.4.4.- Modelos no compartimentales	45
3.4.5.- Cálculo de la biodisponibilidad	49
3.4.5.1.- Biodisponibilidad absoluta	50
3.4.5.2.- Biodisponibilidad relativa	52
3.4.5.3.- Alcance y limitaciones	53
4.- MATERIALES Y MÉTODOS	55
4.1.- Reactivos	55
4.1.1.- Elgodipina Clorhidrato	55

INDICE

4.1.2.- Elgodipina marcada con ^{14}C	55
4.1.3.- Otros reactivos	56
4.2.- Muestras biológicas	57
4.3.- Aparatos	57
4.4.- Formas farmacéuticas administradas	58
4.4.1.- Administración i.v., en ratas, de Elgodipina	58
4.4.2.- Administración p.o., en ratas, de Elgodipina	58
4.4.3.- Administración i.v., en ratas, de ^{14}C -Elgodipina .	58
4.4.4.- Administración p.o., en ratas, de ^{14}C -Elgodipina .	59
4.4.5.- Administración i.v., en perros, de Elgodipina	59
4.4.6.- Administración p.o., en perros, de Elgodipina	60
4.4.7.- Unión a las proteínas plasmáticas	60
4.5.- Estudios Galénicos de las formas farmacéuticas	60
4.5.1.- Formulación para la administración p.o. en animales de laboratorio	61
4.5.1.1.- Estudio de la estabilidad física	61
4.5.1.2.- Estudio de la estabilidad química	61
4.5.2.- Formulación para la administración i.v. en animales de laboratorio	62
4.5.2.1.- Estudio de la estabilidad química	62
4.5.2.2.- Estudio de la inocuidad	62
4.5.3.- Estudio de la estabilidad de las formulaciones con ^{14}C -Elgodipina	63
4.6.- Animales y condiciones de estabulación	63
4.6.1.- Ratas	63
4.6.2.- Perros	68
4.7.- Forma de administración y dosis	68

INDICE

4.7.1.- Administración i.v. en ratas de Elgodipina	68
4.7.2.- Administración p.o. en ratas de Elgodipina	68
4.7.3.- Administración intravenosa y oral en ratas de ¹⁴ C-Elgodipina	69
4.7.4.- Administración i.v. en perros de Elgodipina	69
4.7.5.- Administración p.o. en perros de Elgodipina	69
4.8.- Toma de muestras	70
4.8.1.- Estudio de la farmacocinética de Elgodipina Clorhidrato en rata	70
4.8.2.- Estudio de la farmacocinética de ¹⁴ C-Elgodipina en rata	70
4.8.3.- Tasa de excreción de ¹⁴ C-Elgodipina en heces y en orina	71
4.8.4.- Tasa de excreción biliar de ¹⁴ C-Elgodipina en rata	71
4.8.5.- Distribución tisular de ¹⁴ C-Elgodipina en rata ...	71
4.8.6.- Estudio del paso de la barrera placentaria	73
4.8.7.- Estudio de la unión a las proteínas plasmáticas ..	74
4.9.- Preparación de las muestras para su análisis	75
4.9.1.- Preparación de muestras para HPLC	75
4.9.2.- Preparación de muestras de plasma para centelleo líquido	76
4.9.3.- Preparación de muestras de orina para centelleo líquido	76
4.9.4.- Preparación de muestras de heces para centelleo líquido	76

INDICE

4.9.5.- Preparación de muestras de bilis para centelleo	
líquido	77
4.9.6.- Preparación de sangre y órganos para centelleo	
líquido	77
4.9.7.- Preparación de muestras de unión a las proteínas	
plasmáticas	78
4.10.- Preparación de estándares y rectas de calibración	78
4.11.- Determinación de Elgodipina sin metabolizar en plasma.	79
4.12.- Estudio de la unión a las proteínas plasmáticas	80
4.12.1.- Determinación de proteínas	80
4.12.1.1.- Preparación de reactivos	80
4.12.1.2.- Preparación de estándares	80
4.12.1.3.- Preparación de muestras	81
4.12.1.4.- Procedimiento	81
4.12.2.- Diálisis de equilibrio	82
4.12.2.1.- Preparación de estándares	82
4.12.2.2.- Preparación de muestras	82
4.12.2.3.- Preparación de membranas	83
4.12.2.4.- Procedimiento	83
4.12.3.- Ultrafiltración	84
4.12.3.1.- Preparación de estándares	84
4.12.3.2.- Preparación de muestras	85
4.12.3.3.- Preparación de conos	85
4.12.3.4.- Procedimiento	85
4.12.4.- Medida de la radioactividad	86
4.13.- Determinación de ¹⁴ C-Elgodipina	86

INDICE

4.14.- Tratamiento de los datos	87
4.14.1.- Datos de los estudios cinéticos con Elgodipina ..	87
4.14.2.- Datos de los estudios cinéticos con ¹⁴ C-Elgodipina	87
4.14.3.- Datos de los estudios de excreción	88
4.14.4.- Datos de los estudios de distribución tisular ...	88
4.14.5.- Datos del estudio de la unión a proteínas	89
4.15.- Cálculos estadísticos	89
5.- RESULTADOS	90
5.1.- Farmacocinética de Elgodipina en rata i.v.	90
5.2.- Farmacocinética de Elgodipina en rata p.o.	99
5.3.- Farmacocinética de ¹⁴ C-Elgodipina en rata i.v.	106
5.4.- Farmacocinética de ¹⁴ C-Elgodipina en rata p.o.	112
5.5.- Tasa de excreción en heces y orina en rata i.v.	117
5.6.- Tasa de excreción en heces y orina en rata p.o.	122
5.7.- Tasa de excreción biliar en rata i.v.	127
5.8.- Tasa de excreción biliar en rata p.o.	130
5.9.- Distribución tisular en rata i.v.	133
5.10.- Distribución tisular en rata p.o.	151
5.11.- Paso de la barrera placentaria en rata i.v.	168
5.12.- Paso de la barrera placentaria en rata p.o.	173
5.13.- Farmacocinética de Elgodipina en perro i.v. y p.o..	176
5.14.- Estudio de unión a las proteínas plasmáticas	189
6.- DISCUSIÓN	194
7.- CONCLUSIONES	212
8.- ANEXO	217
9.- BIBLIOGRAFÍA	220

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

A continuación se relacionan las abreviaturas utilizadas en el texto o en gráficas y que no se han explicitado previamente.

Ad : Glándulas adrenales
Bz : Bazo
C.V. : Coeficiente de variación
Et : Estómago
ESM : Error estándar de la media
Co : Cólón
cm : Centímetro
Cr : Cerebro
Cz : Corazón
dpm : Desintegración por minuto
g : Gramo
Go : Gónadas (testículo u ovario)
Gr : Tejido adiposo, grasa
h : Hora
Ha : Glándulas de Harder
Hg : Hígado
i.v. : Intravenosa
kg : Kilogramo
mCi : Milicurio
mcCi : Microcurio
mcg : Microgramo
MeOH : Metanol
mg : Miligramo
ml : Mililitro
mm : Milímetro
ng : Nanogramo
ng eq.: Nanogramo equivalente
nm : Nanometro
MO : Médula ósea
Mu : Músculo
Pa : Plasma
Pl : Piel
Pm : Pulmón
ppm : Partes por millón
p.o.: Oral
rpm : Revoluciones por minuto
Rñ : Riñón
Sa : Glándula salivar
Sg : Sangre entera
Tr : Tiroides
Tm : Timo
Ye : Yeyuno
VO : Vegiga de la orina
 μ Ci: Microcurio
 μ g : Microgramo
 μ l : Microlitro
 μ m : Micrometro, micra
% : Tanto por ciento
°C: Grados centígrados

INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son sin duda una de las principales causas de mortalidad en el siglo XX. Esto es debido a la suma de una serie de factores negativos como la alimentación excesiva y desequilibrada, la falta de ejercicio físico, el alcohol, el tabaco, el estrés, etc. Todos estos factores afectan al estado de la pared de los vasos sanguíneos, haciéndoles más rígidos y gruesos, provocando una disminución de la luz del vaso.

Cuando este estrechamiento del vaso ocasiona una insuficiencia aguda, momentánea y reversible en el aporte de sangre, y por consiguiente de oxígeno, al corazón, se produce la denominada angina de pecho. Cuando la obstrucción del vaso es irreversible produce una necrosis en la zona del corazón afectada y da lugar al infarto.

El primer fármaco utilizado en el tratamiento de la angina de pecho fue el Nitrito de Amilo (Figura 1), descubierto por Brunton en 1867. Más tarde se empleó la Nitroglicerina y otras moléculas con grupos nitro como el Tetranitrato de pentaeritritol (Figura 1). Todos estos compuestos producen una vasodilatación de los vasos, favoreciendo la redistribución del flujo sanguíneo en las zonas isquémicas. Estos fármacos también producen un aumento de la capacidad venosa, por lo que reducen el retorno cardíaco.

El descubrimiento de los fármacos llamados β -bloqueantes, encabezados por el Propranolol (Figura 1), supuso un importante avance en el tratamiento de la angina de pecho.

Cuando el corazón se ve sometido a un esfuerzo, se produce

una liberación de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina) que tienen un efecto de vasoconstricción. En la angina de pecho, la liberación de estas catecolaminas, no sólo produce un incremento en la demanda de oxígeno del músculo cardíaco, sino también una menor eficacia en el aprovechamiento del oxígeno.

El bloqueo de los β -receptores sobre los que actúan las catecolaminas reduce la demanda de oxígeno del corazón y le permite un mayor trabajo. Parece ser que ésto es debido en parte a una mejor perfusión de las zonas más isquémicas de la pared ventricular izquierda, y a una reducción de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno a bajas presiones parciales, lo que provocaría una mayor liberación de oxígeno en el tejido isquémico.

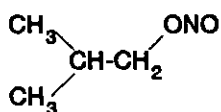
Una nueva aproximación al tratamiento de las enfermedades cardiovasculares fue el descubrimiento de los antagonistas del calcio. El valor de los antagonistas del calcio como agentes terapéuticos fue descubierto en 1963 por Fleckenstein, que observó el efecto que producía sobre el músculo cardíaco una disminución de la entrada, en la célula cardíaca, de iones calcio. A las sustancias que poseen la propiedad de inhibir la entrada de calcio extracelular se les denominó "bloqueantes del canal lento", "bloqueantes de la entrada del calcio" ó más acertadamente "antagonistas del calcio".

Los antagonistas del calcio pueden definirse como inhibidores del acoplamiento electromecánico muscular, causando una reducción del flujo de calcio a través de la membrana celular (efecto ionotrópico negativo), de tal forma que el músculo

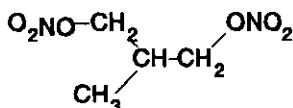
INTRODUCCIÓN

convierte menos energía química en trabajo mecánico.

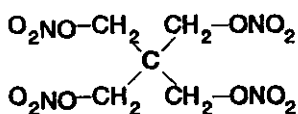
**ESTRUCTURA QUÍMICA DE MOLÉCULAS
CON ACTIVIDAD VASODILATADORA**



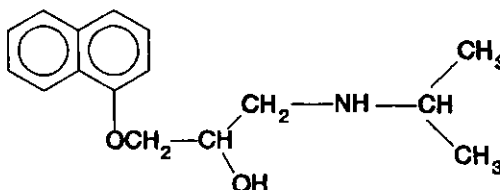
Nitrito de Amilo



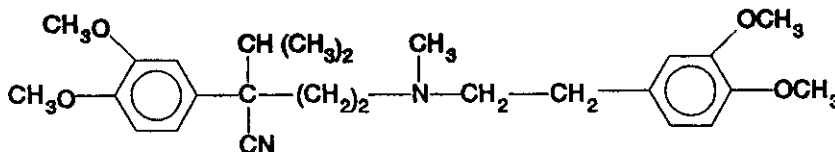
Nitroglicerina



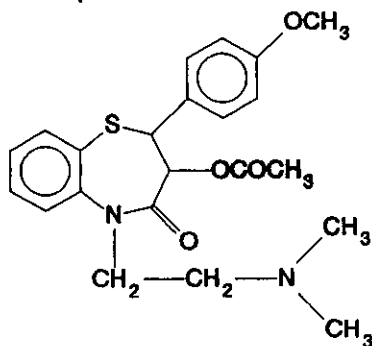
Tetranitrato de
pentaeritritol



Propranolol



Verapamil



Diltiazem

Figura 1

Como consecuencia de su alta sensibilidad a las variaciones de la concentración de Ca^{2+} , los tejidos diana de estos fármacos son el músculo del miocardio y la musculatura vascular lisa.

El efecto vasodilatador de los antagonistas del calcio encuentra aplicación terapéutica en el tratamiento de las afecciones derivadas de un deficiente aporte de oxígeno al miocardio, como la angina de pecho. El efecto de disminución de la resistencia al flujo arterial que provocan tales compuestos, los hace también útiles en el tratamiento de la hipertensión.

La historia de este relativamente nuevo grupo de sustancias ha sido revisada por Fleckenstein (1983). Se han propuesto varias clasificaciones de dicho grupo de sustancias, pero la más extendida es la descrita por Fleckenstein (1983) y por Singh (1986); estos autores las dividen en dos grandes grupos Tipo I y Tipo II.

Al grupo de las denominadas del Tipo I, pertenecen el Verapamil, el Diltiazem y análogos estructurales. Clínicamente estos compuestos son muy efectivos en el tratamiento de las arritmias supraventriculares, debido a que producen un retraso en la conducción nodal atrioventricular y a que inducen una dilatación coronaria y arterial periférica.

Al grupo denominado Tipo II pertenece la Nifedipina, Nitrendipina y moléculas estructuralmente relacionadas por contener todas ellas una agrupación básica de 4-aril-1,4 dihidropiridina. Estos compuestos tienen un efecto electrofisiológico menor que las del Tipo I, pero producen un potente efecto vasodilatador periférico.

INTRODUCCIÓN

Este grupo de sustancias fue descubierto por Friedrich Bossert, de los laboratorios Bayer, en 1964. Desde entonces, se calcula en varios miles las dihidropiridinas, con variados esquemas de sustitución, que se han sintetizado para su estudio como antagonistas del calcio.

Las moléculas del grupo más difundidas farmacológicamente son la Nifedipina y la Nitrendipina (Figura 2), comercializadas por Bayer en 1975 y 1980 respectivamente.

Estos productos, especialmente la Nifedipina, presentan un serio inconveniente, su elevada fotosensibilidad, lo que hace difícil su manipulación y acorta el período de caducidad.

Como alternativa a tal inconveniente el Instituto de Investigación y Desarrollo Químico y Biológico desarrolló una nueva serie de 1,4-dihidropiridinas que poseían un anillo de metiendioxi fusionado con el anillo aromático, lo que les confería una elevada estabilidad térmica y fotoquímica.

La Oxodipina (IQB-837) (Figura 2), sintetizada en 1983 fue elegida como cabeza de serie. La Elgodipina (IQB-875) sintetizada en 1987 (A. Galiano) fue elegida por sus propiedades farmacológicas (Van Voerkens, 1991; Suryapranata, 1992; Acharya 1994; Tamargo 1987, 1989 y 1991; Román, 1990; De Miguel, 1990; Burriel, 1989 y 1991; Giráldez 1988 y 1991; García 1991; Drieu de la Rochelle 1994 y Verdouw 1990) y por su perfil farmacocinético.

El estudio de dicho perfil farmacocinético (absorción, distribución y eliminación) en ratas y perros por vía intravenosa y por vía oral, es el objeto de este trabajo.

INTRODUCCIÓN

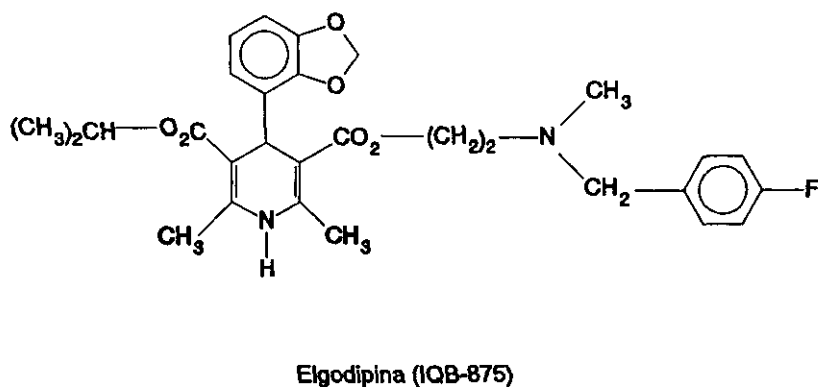
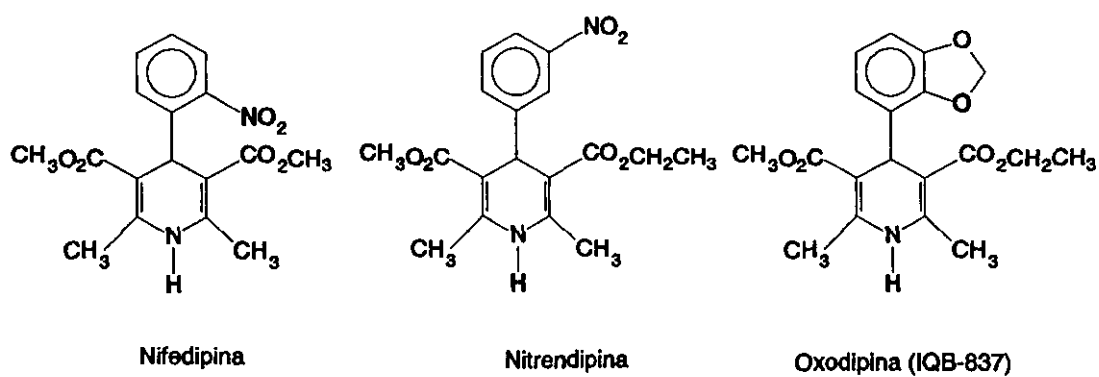
ESTRUCTURAS DE MOLECÚLAS CON
ACTIVIDAD ANTAGONISTA DEL CALCIO

Figura 2

OBJETIVOS

2.- OBJETIVOS

Se dispone de una nueva molécula (Elgodipina), con estructura de 1,4 dihidropiridina, sintetizada en el Instituto de Investigación y Desarrollo Químico-Biológico en el año 1987 y que presenta una actividad biológica como antagonista del calcio.

Los estudios farmacológicos preliminares, demostraron que la Elgodipina presentaba un marcado efecto vasodilatador, con buena afinidad sobre el tejido muscular liso y que no aceleraba la frecuencia cardíaca, efecto secundario indeseable de los antagonistas del calcio.

Estas propiedades farmacológicas, junto con su mayor estabilidad química, en comparación con otras moléculas similares, hicieron que se emprendiera el desarrollo para su utilización en humanos.

El estudio, objeto de este trabajo, se planteó para llegar a un conocimiento completo de cómo se incorporaba el fármaco a los organismos vivos, cómo se distribuía por los diferentes órganos y tejidos, de qué forma se eliminaba y a qué velocidad, qué parámetros regían su absorción y en qué cuantía se producía y en definitiva para el conocimiento completo de su farmacocinética en dos modelos animales, rata y perro.

El siguiente diagrama de flujo muestra las etapas y algunos de los estudios en los cuales es necesario la determinación del fármaco en fluidos biológicos hasta llegar a un desarrollo completo y proceder a su utilización en humanos:

OBJETIVOS

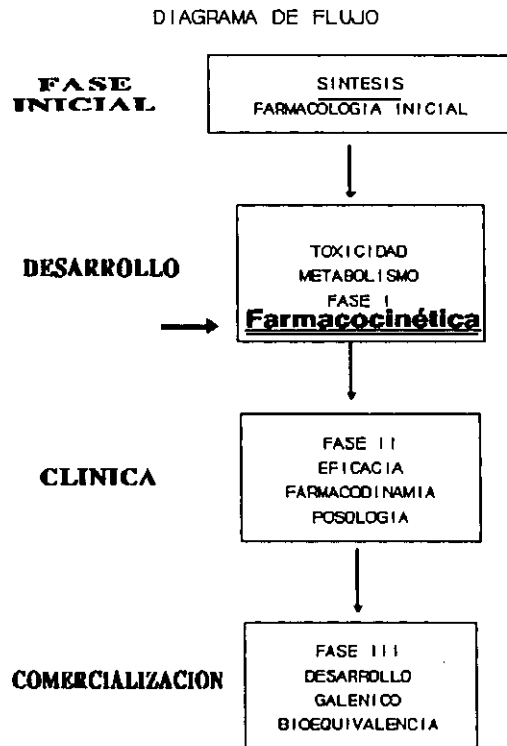


Figura 3

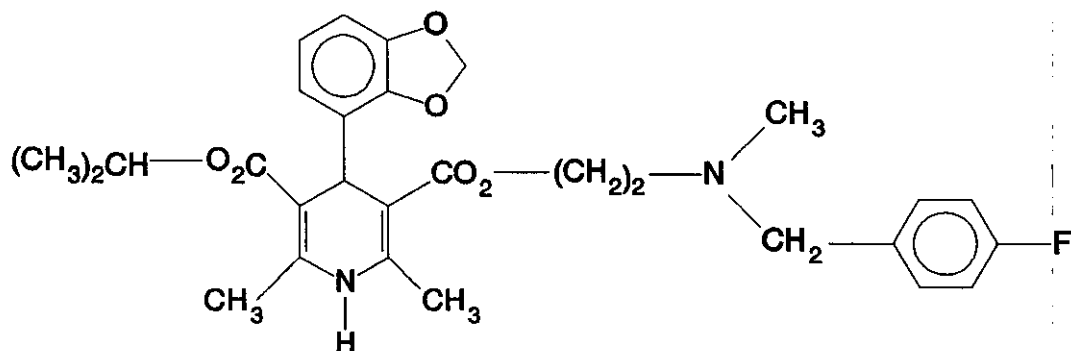
Como se puede observar en el diagrama anterior, en la fase de desarrollo, los estudios farmacocinéticos (absorción, distribución y excreción) en al menos dos especies animales son imprescindibles y previos a los estudios de cualquier tipo en humanos.

El objeto de este trabajo es, por tanto, el estudio de la absorción, distribución y excreción de la Elgodipina en rata y en perro. Estos estudios formarán parte de la documentación adjuntada para la solicitud de registro como especialidad farmacéutica ante los correspondientes organismos sanitarios

ANTECEDENTES

3.- ANTECEDENTES

3.1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA ELGODIPINA



Elgodipina (IQB-875)

- Nombre químico (I.U.P.A.C.): Clorhidrato de Elgodipina, (\pm) 3-isopropoxycarbonil-5-{2-[N-metil-N-(4-fluorbencil)amina]-etoxicarbonil}-2,6-dimetil-4-(2', 3'-metilendioxifenil)-1-4-dihidropiridina clorhidrato
- Nombre clave: IQB-875
- Nombre O.M.S.: Elgodipina
- Fórmula empírica: $C_{29}H_{33}N_2O_6F \cdot HCl$
- Peso molecular: 561.04 g/mol
- Aspecto: Polvo cristalino de color ligeramente amarillento, inodoro e insípido.
- Punto de fusión: 200.1 - 204.1°C

ANTECEDENTES

- Calorimetría diferencial de barrido (DSC): Presenta un pico endotérmico que corresponde a la fusión del producto. El pico se presenta a 206.6°C para la sustancia pura. La curva de DSC se muestra en la Figura 4.
- Rotación específica: $[\alpha]_D^{20} = 0.0^\circ$ (C = 1.0 , metanol)
- Análisis elemental: C 62.09 %, N 4.99 %, H 5.88 %
- Solubilidad (a 25°C): 52.1 mg/ml en metanol, 15.8 mg/ml en cloroformo, 7.4 mg/ml en Etanol, 0.2 mg/ml en Acetato de Etilo, 0.1 mg/ml en tampón NaCl/HCl pH 1.1 y 0.01 mg/ml en tampón fosfatos pH 7.5.
- Constante de ionización: $pK_a' = 4.69 \pm 0.01$ (25°C)
- Coeficiente de reparto: Octanol/agua $P' = 0.09$, n-Heptano/agua $P' = 0.26$. (25 ± 0.5 °C)
- Espectro UV: E (1 cm, 1% metanol)= 331 a 236 nm y 114 a 360 nm (máximos). (Figura 5).
- Espectro de fluorescencia: máximos a 375 nm en excitación y a 425 nm en emisión, disolución de 20 µg/ml en metanol. (Figura 6).
- Espectro IR: El espectro IR de Elgodipina clorhidrato en dispersión de KBr se muestra en la Figura 7. La Tabla I muestra las bandas de absorción más características.

ELGODIPINA CLORHIDRATO 8807.005

5.062 mg

Rate: 10.0 °C/min

File: 00007.001

Ident: 88005.0

DSC METTLER 27-Nov-91

INSTITUTO QUIMICO-BIOLOGICO

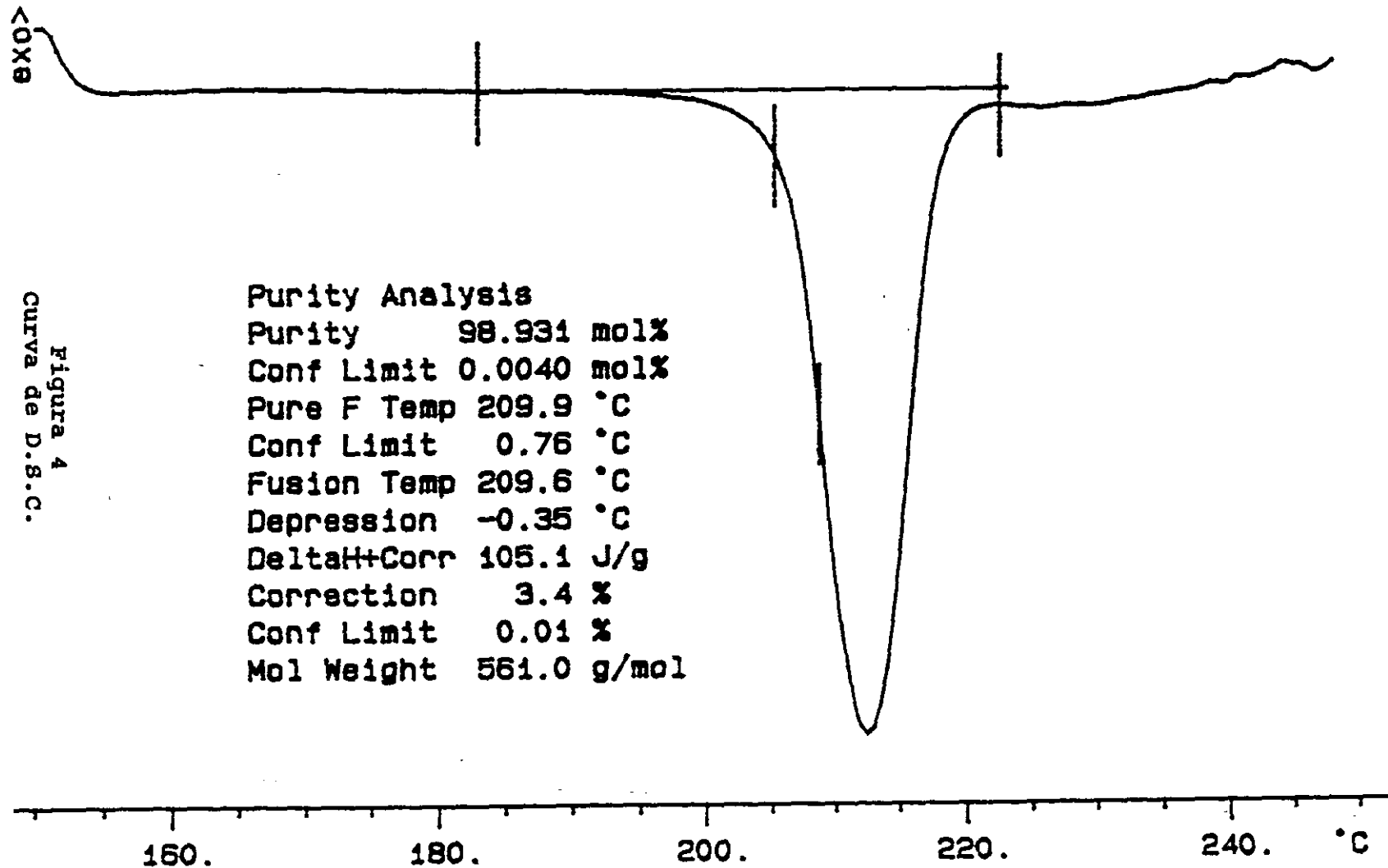


Figura 4
CURVA de D.S.C.

ANTECEDENTES

UAFS

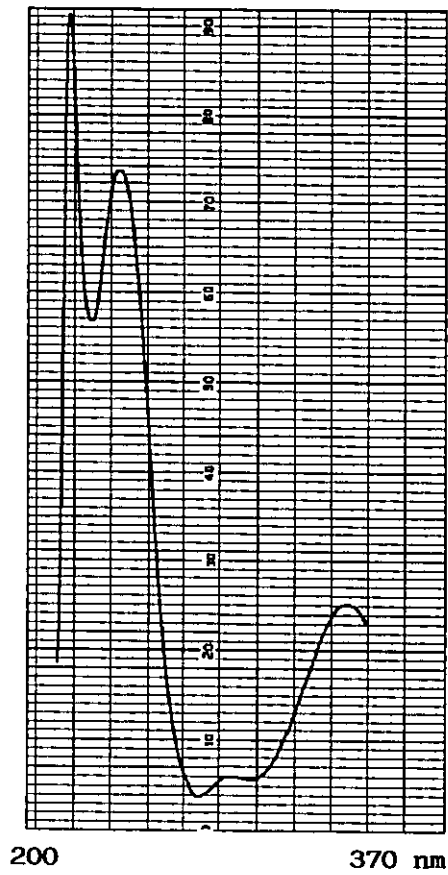


Figura 5
Espectro de UV

ANTECEDENTES

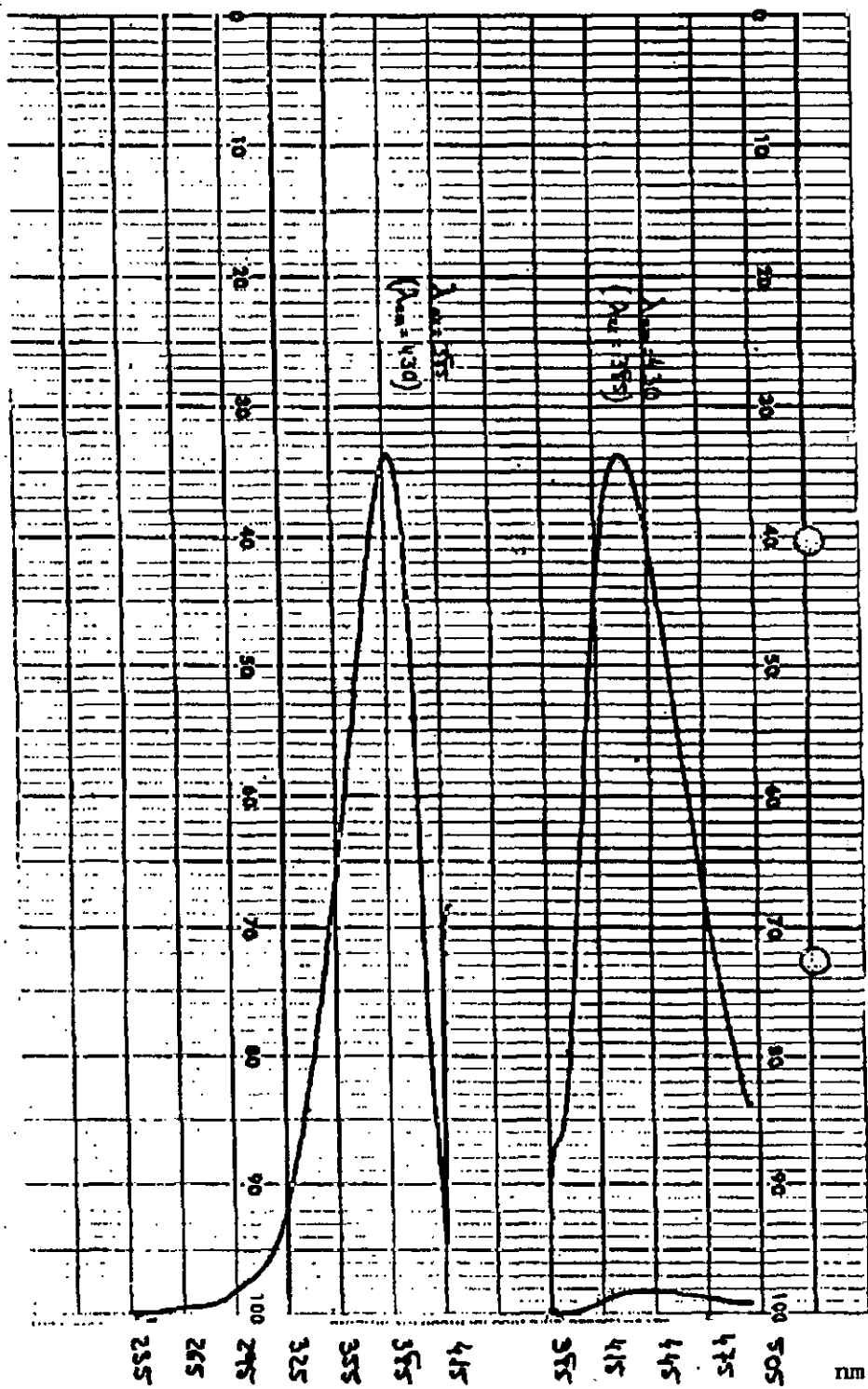


Figura 6

Espectro de Fluorescencia

ANTECEDENTES

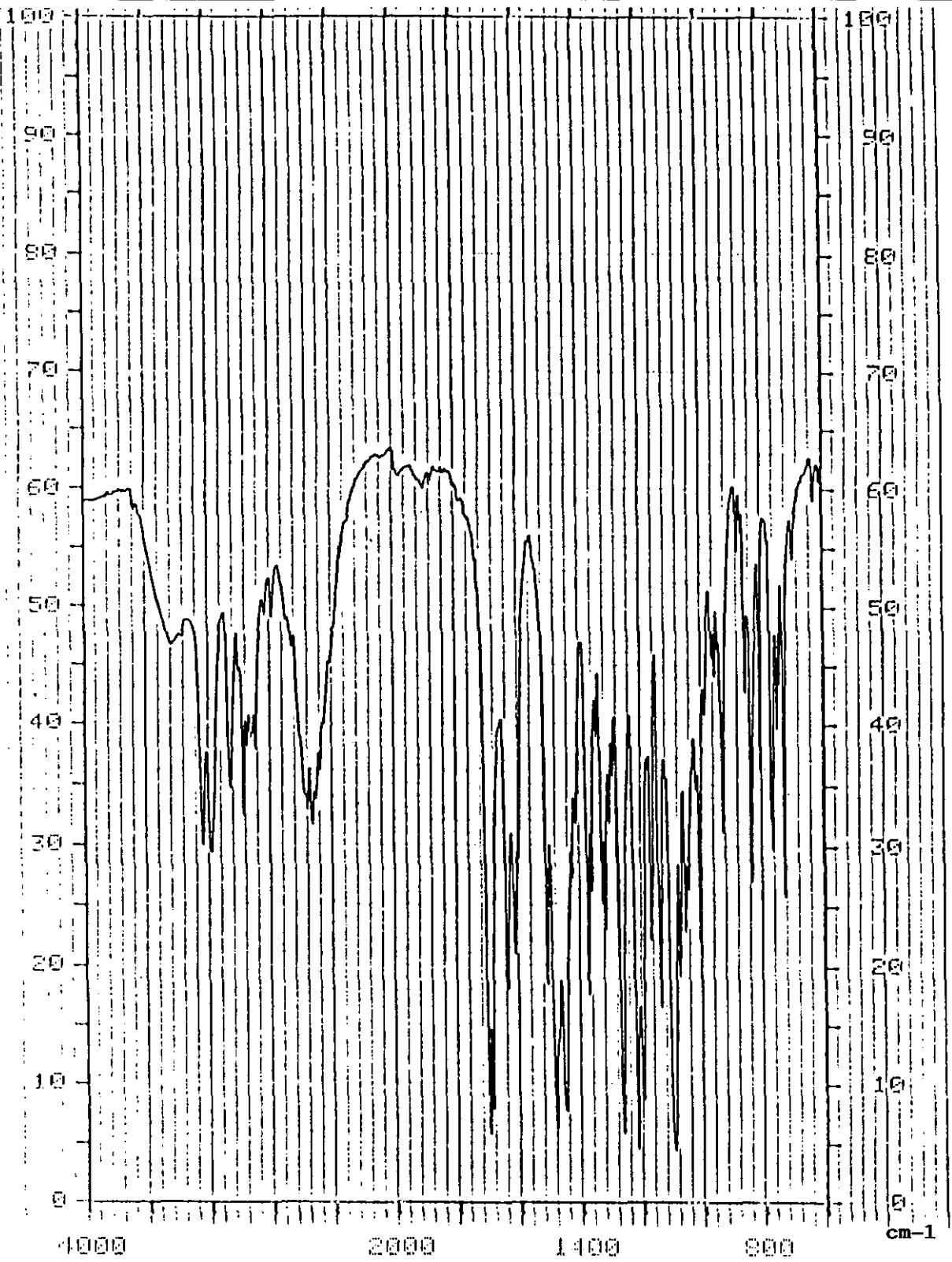


Figura 7
Espectro de IR

Tabla I

Bandas de absorción IR características de la Elgodipina

Frecuencias de absorción (cm^{-1})	Asignación
3255-3198	NH Dihidropiridina
3076-3077	CH Aromático
2985	CH_3 , CH_2 Alifático
2540-2543	NH^+ Amina
1705	C=O Ester

- Espectro de ^1H -NMR: El espectro de protón registrado en un campo de 200 MHz de la Elgodipina clorhidrato en DMSO-d_6 se muestra en la Figura 8. La asignación, la intensidad y la multiplicidad de las bandas, se muestra en la Tabla II. La asignación de algunas bandas se hizo por comparación de los espectros registrados en DMSO-d_6 y en $\text{DMSO-d}_6/\text{D}_2\text{O}$.

ANTECEDENTES

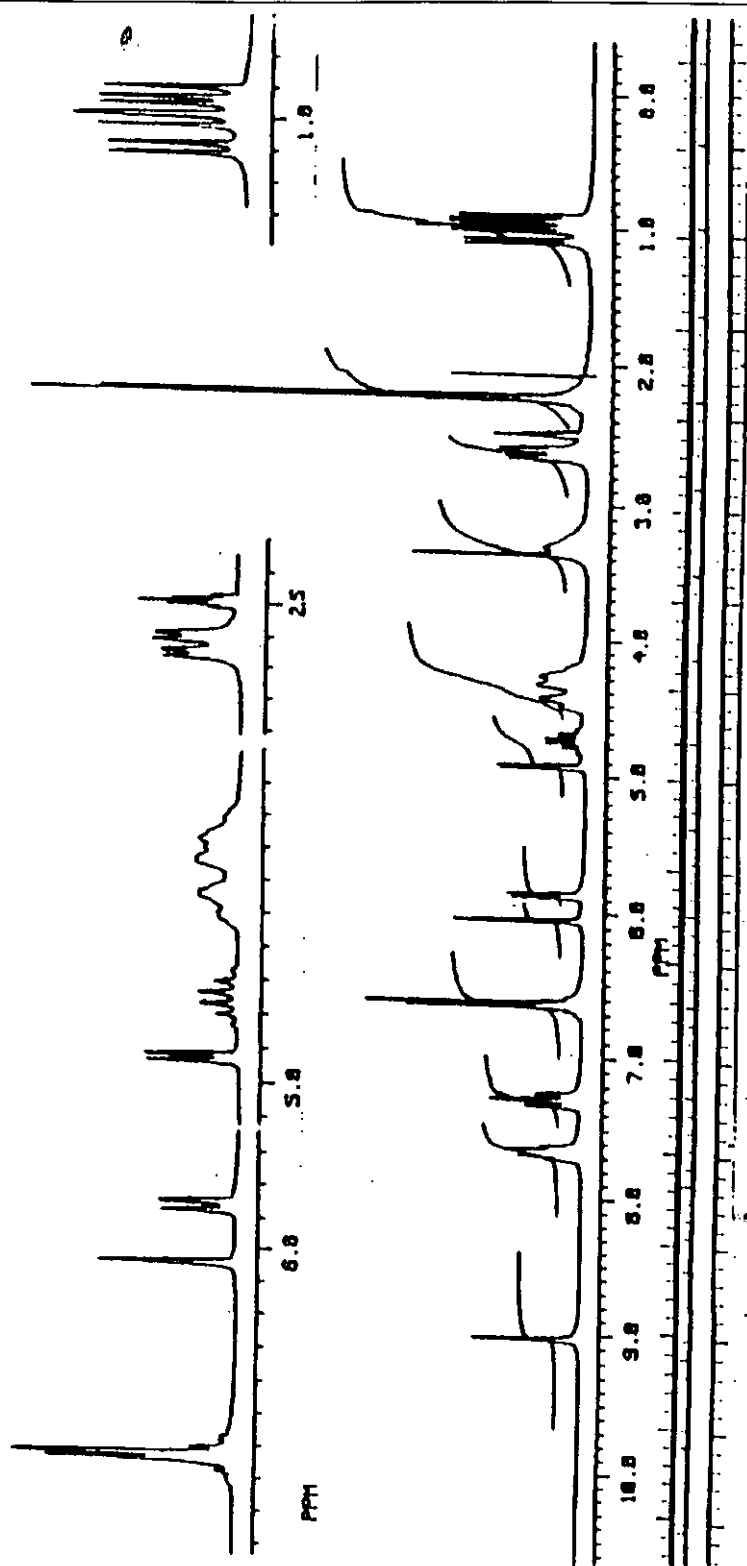


Figura 8
Espectro de RMN

ANTECEDENTES

Tabla II
Asignación de bandas del espectro $^1\text{H-NMR}$
de Elgodipina Clorhidrato

(ppm)	Intensidad	Multiplicidad	Asignación
0.89 - 1.10	6	multiplete	$-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$ a
2.22 - 2.24	6	singlete y singlete	2,6- CH_3
2.58 - 2.66	3	doblete doblete	$-\text{N}-\text{CH}_3$ a
3.20 - 3.50	2	singlete ensanchado	$-\text{N}-\text{CH}_2-$ b
4.15 - 4.55	4	Multiplete ensanchado	c
4.65 - 4.85	1	multiplete	$-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$
4.91 - 4.93	1	doblete	4- CH a
5.85 - 5.88 y 6.04	2	doublete y singlete	$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ a
6.55 - 6.75	3	multiplete	d
7.20 - 7.40 y 7.55 - 7.75	4	multiplete y multiplete	e
9.02	1	singlete	f
11.31	1	singlete ensanchado	g, h

a : Banda que cambia cuando se añade D_2O .

b : Esta banda puede incluir agua como impureza.

c : $-\text{CO}_2-\text{CH}_2-$ y $p\text{-FC}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$

d : Protones aromáticos del anillo de metilendiofenil.

e : Protones aromáticos del anillo p-fluorfenil.

f : $-\text{NH}-$ del anillo de dihidropiridina.

g : $+\text{NH}$ del grupo t-amina.

h : Esta banda desaparece cuando se añade D_2O .

ANTECEDENTES

El desdoblamiento de algunas señales, especialmente el doblete a 4.91 - 4.93 ppm en DMSO-d₆, probablemente sea debido a la existencia de rotámeros.

- Estabilidad: En la introducción se ha comentado que la Elgodipina presenta una elevada estabilidad térmica y fotoquímica. Para ilustrar ésto, las siguientes tablas muestran los resultados obtenidos en diferentes estudios de estabilidad, en los cuales se somete el producto a diferentes condiciones de temperatura, humedad y luz:

Tabla III

**Estabilidad térmica de la Elgodipina Clorhidrato
en estado sólido**

CONDICIONES	ASPECTO	PÉRDIDA POR DESECACIÓN	PRODUCTOS DE DESCOMPOSICIÓN	% RESIDUAL
inicial	polvo blanco o amarillento	0.50 %	N.D.	100.0 %
3 meses - 20 °C	sin cambios	0.57 %	N.D.	100.0 %
3 meses 37 °C	sin cambios	0.08 %	N.D.	99.7 %
3 meses 50 °C	sin cambios	0.00 %	N.D.	99.7 %
1 día 105 °C	sin cambios	0.00 %	N.D.	99.8 %
5 años 25 °C	sin cambios	0.56 %	N.D.	98.9 %

ND : No detectado

ANTECEDENTES

Tabla IV

Estabilidad de la Elgodipina Clorhidrato
bajo diferentes condiciones de humedad

CONDICIONES	K.F.	PÉRDIDA POR DESECACIÓN	ASPECTO	PRODUCTOS DE DESCOMPOSICIÓN	% RESIDUAL
inicial	0.51%	0.50 %	Polvo blanco	N.D.	100.0 %
1 mes ambiente	0.49%	0.48 %	sin cambios	N.D.	100.0 %
1 mes 58.3 % HR	0.59%	0.53 %	sin cambios	N.D.	99.9 %
1 mes 100.0% HR	2.15%	2.25 %	sin cambios	N.D.	97.6 %

ND : No detectado
RH : Humedad relativa

Tabla V

Estabilidad de la Elgodipina Clorhidrato
bajo diferentes condiciones de luz

CONDICIONES	ASPECTO	PRODUCTOS DE DESCOMPOSICIÓN	% RESIDUAL
inicial	Polvo blanco	N.D.	100.0 %
30 días oscuridad	sin cambios	N.D.	99.7 %
30 días luz ambiental	sin cambios	N.D.	99.8 %
2 días luz solar	sin cambios	N.D.	98.9 %
2 días luz UV	sin cambios	N.D.	99.2 %

ND : No detectado

3.2.- FACTORES DETERMINANTES DE LA ACTIVIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

Los factores que afectan la actividad de los medicamentos son fundamentalmente de dos tipos: Factores Mecanísticos y Factores Fisiológicos.

Los factores mecanísticos a su vez se pueden dividir en 4 grupos:

- Factores de incorporación: son los que afectan a la absorción del medicamento. Como ejemplo podemos citar la vía y modo de administración, la dosis y su posología, el tipo de forma farmacéutica, etc.
- Factores de disposición: son los que afectan a la distribución, metabolismo y excreción del medicamento. Ejemplos de este tipo de factores son el volumen de distribución, la unión a las proteínas plasmáticas, el coeficiente de reparto, la filtración glomerular, etc.
- Factores farmacológicos: son los que afectan a la farmacodinamia del medicamento, por ejemplo la concentración en la biofase, la interacción entre el fármaco y el receptor, los efectos de competición, etc.
- Factores clínicos, que afectan a la respuesta clínica del medicamento. Estos factores pueden ser las variables ambientales, los efectos psicológicos, interacciones de medicamentos, etc.

Los factores fisiológicos pueden afectar tanto a la absorción como a la distribución, metabolismo y excreción, afectando por tanto la respuesta farmacológica y clínica. Factores de este tipo son, la raza, el sexo, la edad, el peso,

la posición corporal, el estado de nutrición, etc.

3.3.- RELACIÓN ENTRE DOSIFICACIÓN, CONCENTRACIÓN SÉRICA Y EFECTO

En farmacología una premisa fundamental es que la respuesta a un medicamento viene determinada por la cantidad de medicamento que se ha fijado a los lugares de acción. Ya que a menudo puede medirse fácilmente la concentración de medicamento en plasma, es importante saber si los cambio de ésta refleja un cambio en la respuesta farmacológica.

Marshall en 1940, fue el primero que sugirió el concepto de que la actividad de un medicamento dependía de su concentración plasmática. Más tarde en 1946 demostró que las dosificaciones necesarias para lograr un efecto óptimo, varían mucho de un paciente a otro. Esto no es de extrañar si consideramos la enorme cantidad de factores que influyen en la absorción, distribución, metabolismo y excreción.

En cualquier caso se ha demostrado extensamente la importancia de utilizar las concentraciones séricas de los medicamentos como guía para las dosificaciones eficaces.

En el caso de las 1,4 dihidropiridinas existe una relación directa entre las concentraciones plasmáticas y los efectos cardiovasculares (Graefe K.H., 1988), por lo que el estudio de los niveles séricos de Elgodipina es necesario para correlacionar la dosificación con la acción terapéutica, así como la determinación de la absorción, distribución y eliminación de la Elgodipina es imprescindible para establecer una posología adecuada.

3.4.- FARMACOCINÉTICA

El término farmacocinética fue introducido por el Profesor F.H. Dost, en Alemania, y lo definió como "la ciencia del análisis cuantitativo entre organismo y medicamento" (Wagner J.G., 1983). El objeto de la farmacocinética consiste en estudiar la evolución temporal de las concentraciones y cantidades de medicamento y metabolitos en los fluidos biológicos, tejidos y excretas, así como su respuesta farmacológica y construir modelos adecuados para interpretar los datos obtenidos.

El Grupo de Estudios de la O.M.S. (1970), definió la farmacocinética como "el estudio de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los medicamentos", pero para que se pueda hablar de Farmacocinética, se precisa la aplicación de modelos matemáticos a los datos obtenidos en estos procesos.

En términos generales, los objetivos de la Farmacocinética son reducir los datos a cifras o parámetros significativos y usar estos datos simplificados para formular predicciones acerca de los resultados de futuros ensayos o de series de estudios para cuya realización se requeriría un coste y un tiempo excesivos.

Para cumplir este objetivo en 1937, Teorell, introdujo la idea de concebir la distribución de un medicamento como una serie de procesos o pasos consecutivos, dando lugar a los modelos compartimentales.

Un sistema compartimentalizado resulta tan sólo una mera aproximación al sistema biológico que representa; ésto se debe a las variaciones de las distribuciones físicas, a la heterogeneidad de los medios y de los procesos de difusión, que

están relacionados con transformaciones químicas. Un "compartimento" debería considerarse en realidad como "promedio" y no como un estado absoluto.

La mejor contribución que prestan los modelos es que permiten la aplicación de técnicas matemáticas. Más estrictamente, el modelo sería, la ecuación o serie de ecuaciones susceptibles de describir el sistema propuesto. Todos los diagramas esquemáticos de los modelos lineales se caracterizan por poseer constantes de orden cero o de orden uno para la velocidad de entrada, siendo de orden uno las de distribución y eliminación.

La solución de las ecuaciones diferenciales aplicables a estos sistemas adquiere siempre la forma poliexponencial, de modo que las expresiones integradas se pueden generalizar mediante la ecuación:

$$C = \sum_{i=0}^{i=\infty} C_i \cdot e^{-\lambda_i t} \quad (1)$$

En esta ecuación, C es la concentración plasmática en el instante t, C_i es el coeficiente iésimo (que puede ser positivo o negativo) y λ_i es el exponente del término exponencial iésimo.

Para comprobar si esta ecuación satisface una determinada serie de datos, se recurre a una operación que se denomina "retroproyección", "descomposición de la curva", "métodos residuales", etc., y que hoy se realizan con la ayuda de programas informáticos que mediante el empleo de un método

iterativo de regresión no lineal múltiple por mínimos cuadrados, suministra los coeficientes y exponentes que mejor se ajustan a la serie de datos experimentales. En este trabajo el programa utilizado es el desarrollado por Sheiner, L.B. (1981) y llamado ELSFIT.

Con la ayuda de estos programas, se comprueba si los datos se pueden describir mediante una ecuación poliexponencial (tipo de modelo compartimental) y se obtienen los coeficientes C_i y exponentes λ_i de dicha ecuación.

La aplicación de este método lleva implícita la consideración de que, en ciertos sectores de la curva se anula uno o más términos exponenciales, cuando en realidad ninguno de ellos se reduce a cero hasta transcurrir un tiempo indefinido.

Los parámetros farmacocinéticos que describen al fármaco en estudio, se calculan a partir de los coeficientes C_i y exponentes λ_i estimados en el modelo compartimental.

3.4.1.- MODELO MONOCOMPARTIMENTAL ABIERTO

Es el modelo más sencillo y considera al organismo representado por un sólo compartimento, de volumen V y en el que a tiempo 0, se introduce una dosis única de forma instantánea. Este modelo fue introducido por Widmark en 1924.

El medicamento inalterado se mide en el plasma y se supone que la eliminación es de primer orden con una constante de velocidad K y siendo A la cantidad de fármaco en el organismo en el tiempo t .

Este modelo es útil para el estudio de los fármacos que tras

el ingreso en la circulación sistémica se distribuyen rápida y homogéneamente en el organismo. También se utiliza este modelo para el análisis de excreción con cinética de primer orden.

El esquema que representa este modelo es el siguiente:



Figura 9

3.4.1.1.- Administración intravenosa

En este caso la fase de distribución no existe, ya que al administrarse de forma intravenosa rápida, el fármaco se distribuye en el organismo casi de forma instantánea. La velocidad con la que el fármaco se elimina del compartimento vendrá dada por la ecuación:

$$-\frac{dA}{dt} = K \cdot A \quad (2)$$

ANTECEDENTES

donde A es la cantidad de fármaco en el tiempo t y K es la constante de velocidad aparente, pues es la suma de las constantes de velocidad de varios procesos juntos (metabolismo, eliminación renal, etc.).

Por integración de esta ecuación se obtiene:

$$A = A_0 \cdot e^{-K \cdot t} \quad (3)$$

En donde A_0 es la cantidad de fármaco a tiempo 0, es decir la dosis D, y como $C = A/V$ entonces:

$$C = C_0 \cdot e^{-K \cdot t} \quad (4)$$

Tomando logaritmos en la expresión anterior obtenemos la siguiente expresión:

$$\log C - \log C_0 = -\frac{K \cdot t}{2.303} \quad (5)$$

La representación gráfica del logaritmo de la concentración en función del tiempo, suministra una línea recta de cuya pendiente podemos calcular la constante de velocidad de eliminación (K) (Figura 9).

El valor del volumen de distribución se puede calcular a partir de la ordenada en el origen, ya que $C_0 = D/V$.

Otro parámetro que caracteriza la fase de eliminación es la semivida de eliminación ($t_{1/2}$) que se define como el tiempo necesario para que la concentración plasmática se reduzca a la

ANTECEDENTES

mitad. Por lo tanto haciendo $C = C_0$ en la ecuación general del modelo tenemos que $t_{1/2} = 0.693/K$.

El área bajo la curva de los niveles plasmáticos (AUC) es otro parámetro que se calcula por integración de la siguiente ecuación:

$$AUC = \int_0^{\infty} C \cdot dt = \frac{\text{Dosis}}{V \cdot K} \quad (\text{mg} \cdot \text{h}/\text{l}) \quad (6)$$

MODELO MONOCOMPARTIMENTAL
ADMINISTRACION I. V.

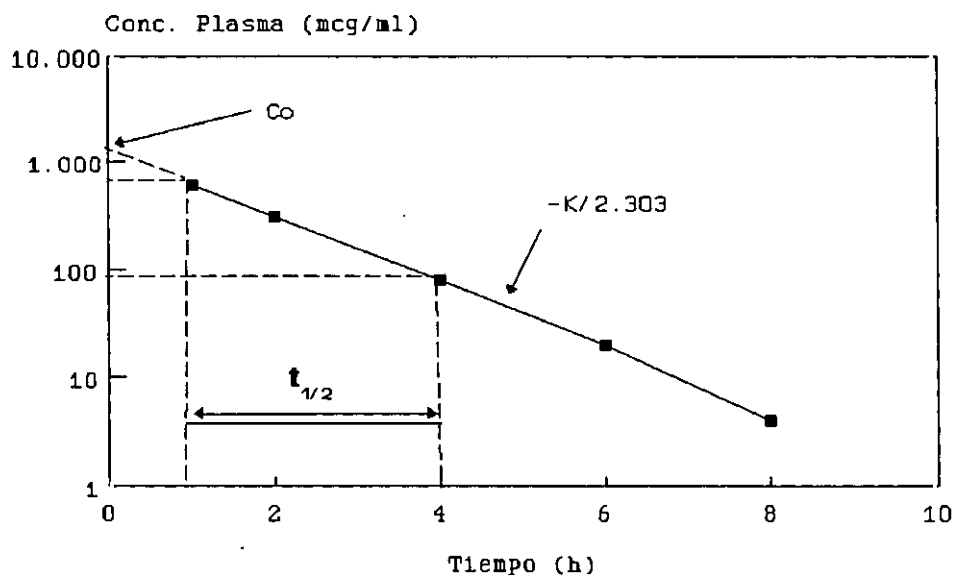


Figura 10

Por último el aclaramiento (CL) es la relación entre la constante de velocidad de eliminación y la concentración, o también la relación entre la cantidad de fármaco eliminado

(Dosis) y el AUC es decir:

$$CL = \frac{K}{C} \cdot V \quad (7)$$

$$CL = \frac{\text{Dosis}}{\text{AUC}} \quad (8)$$

3.4.1.2.- Excreción urinaria tras la administración i.v.

Una forma de determinar la cinética de eliminación, de una forma no invasiva, es mediante los datos de excreción urinaria. La velocidad de excreción urinaria es proporcional a la cantidad de fármaco en el organismo, mediante la ecuación:

$$-\frac{dA_u}{dt} = K_u \cdot A \quad (9)$$

donde A_u es la cantidad de fármaco inalterado que se ha eliminado en la orina en el tiempo t , A es la cantidad de fármaco en el organismo en el tiempo t y K_u es la constante de velocidad de eliminación urinaria.

Sustituyendo A por la ecuación anterior, obtenemos:

$$\frac{dA_u}{dt} = K_u \cdot A_0 \cdot e^{-K \cdot t} \quad (10)$$

ANTECEDENTES

Al igual que antes con los datos plasmáticos, representando en escala semilogarítmica, las velocidades de excreción urinaria en función del tiempo, obtenemos una recta de cuya pendiente ($-K/2.303$) podemos calcular la constante de velocidad de eliminación y de la ordenada en el origen podemos calcular K_u .

Integrando la ecuación anterior obtenemos la expresión del valor de la cantidad de fármaco excretado hasta el tiempo t :

$$A_u = \frac{K_u \cdot A_0}{K} \cdot (1 - e^{-Kt}) \quad (11)$$

A partir de esta ecuación, podemos calcular la cantidad total de fármaco inalterado que se ha eliminado en la orina:

$$A_u^\infty = \frac{K_u \cdot A_0}{K} \quad (12)$$

Sustituyendo este valor en la ecuación de A_u , obtenemos la expresión de la cantidad de fármaco que queda por excretar:

$$A_u^\infty - A_u = A_u^\infty \cdot e^{-K \cdot t} \quad (13)$$

El aclaramiento renal que es el volumen de plasma que contiene la cantidad de fármaco que se elimina en orina por minuto, se puede definir como el cociente entre la velocidad de excreción urinaria y la concentración plasmática:

$$CL_R = \frac{dA_u}{C \cdot dt} = \frac{K_u \cdot A}{C} = K_u \cdot V \quad (14)$$

Otra forma de calcular el aclaramiento renal es representando las velocidades de excreción frente a la concentración en plasma en el punto medio del intervalo. De la ecuación anterior se obtiene que:

$$\frac{dA_u}{dt} = CL_R \cdot C \quad (15)$$

Por lo tanto, la representación gráfica es una recta cuya pendiente es el valor del aclaramiento renal (CL_R).

3.4.1.3.- Administración oral

Después de la administración oral, la curva de concentración plasmática-tiempo, en algunos casos se puede describir como un modelo monocompartmental con velocidades de entrada y salida de primer orden. La velocidad de eliminación del fármaco del organismo se describe de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$-\frac{dA}{dt} = -K_a \cdot A_a + K \cdot A \quad (16)$$

donde K_a es la constante de velocidad de absorción y A_a es la cantidad de fármaco absorbido. Por integración de la ecuación anterior obtenemos:

$$A = \frac{K_a \cdot F \cdot A_0}{(K_a - K)} \cdot (e^{-K \cdot t} - e^{-K_a \cdot t}) \quad (17)$$

ANTECEDENTES

donde F es la fracción de dosis (A_0) absorbida. Pasando la ecuación anterior a términos de concentración obtenemos:

$$C = \frac{K_a \cdot F \cdot A_0}{V(K_a - K)} \cdot (e^{-K \cdot t} - e^{-K_a \cdot t}) \quad (18)$$

La representación semilogarítmica de la ecuación anterior es una curva biexponencial:

MODELO MONOCOMPARTIMENTAL
ADMINISTRACION ORAL

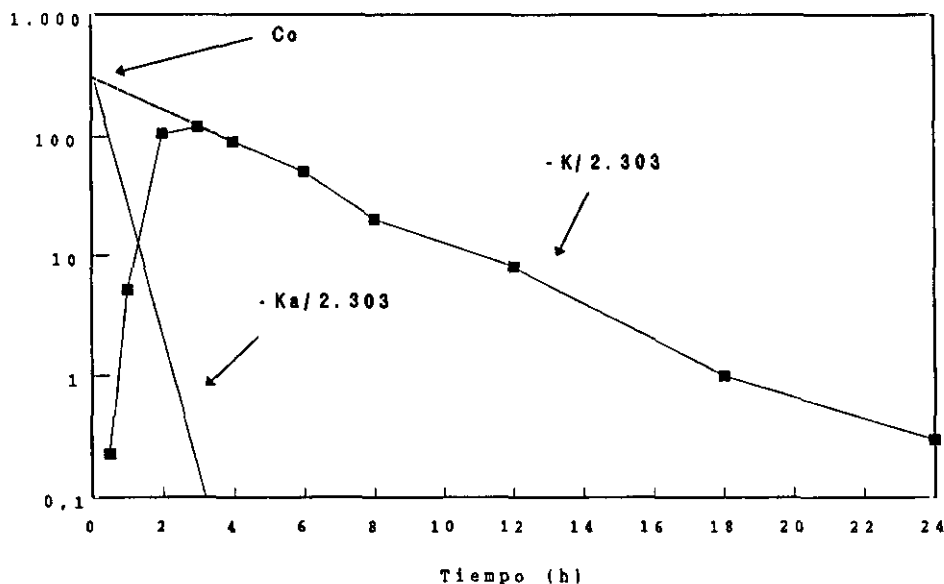


Figura 11

De la pendiente de la fase rectilínea terminal, se puede determinar la constante de velocidad de eliminación ($-K/2.303$). Para calcular la constante de absorción (K_a) se recurre al método de los residuales. Como en el caso anterior de la administración i.v. se define la semivida de absorción (ta_x) como el tiempo

necesario para que la cantidad de fármaco, en el lugar de absorción, se reduzca a la mitad. Se calcula como $0.693/K_a$.

3.4.1.4.- Excreción urinaria tras la administración p.o.

El tratamiento matemático de los datos de excreción urinaria procedentes de una administración oral, es el mismo que los procedentes de una administración intravenosa; sólo se diferencian en que la forma de la curva es biexponencial:

$$\frac{dA_u}{dt} = \frac{K_u \cdot K_a \cdot F \cdot A_0}{K_a - K} \cdot (e^{-K \cdot t} - e^{-K_a \cdot t}) \quad (19)$$

Por integración de esta ecuación se obtiene:

$$A_u = \frac{K_u \cdot K_a \cdot F \cdot A_0}{K} \cdot \left[\frac{1}{K_a} + \frac{e^{-Kt}}{K - K_a} + \frac{K \cdot e^{-K_a \cdot t}}{K_a (K - K_a)} \right] \quad (20)$$

La cantidad total de fármaco inalterado eliminado en la orina es:

$$A_u^\infty = \frac{K_u \cdot F \cdot A_0}{K} \quad (21)$$

que sustituido en la ecuación anterior de A_u obtenemos la cantidad de fármaco que queda por excretar:

$$A_u^\infty - A_u = \frac{A_u^\infty}{K_a - K} \cdot (K_a \cdot e^{-Kt} - K \cdot e^{-K_a \cdot t}) \quad (22)$$

3.4.2.- MODELO BICOMPARTIMENTAL ABIERTO

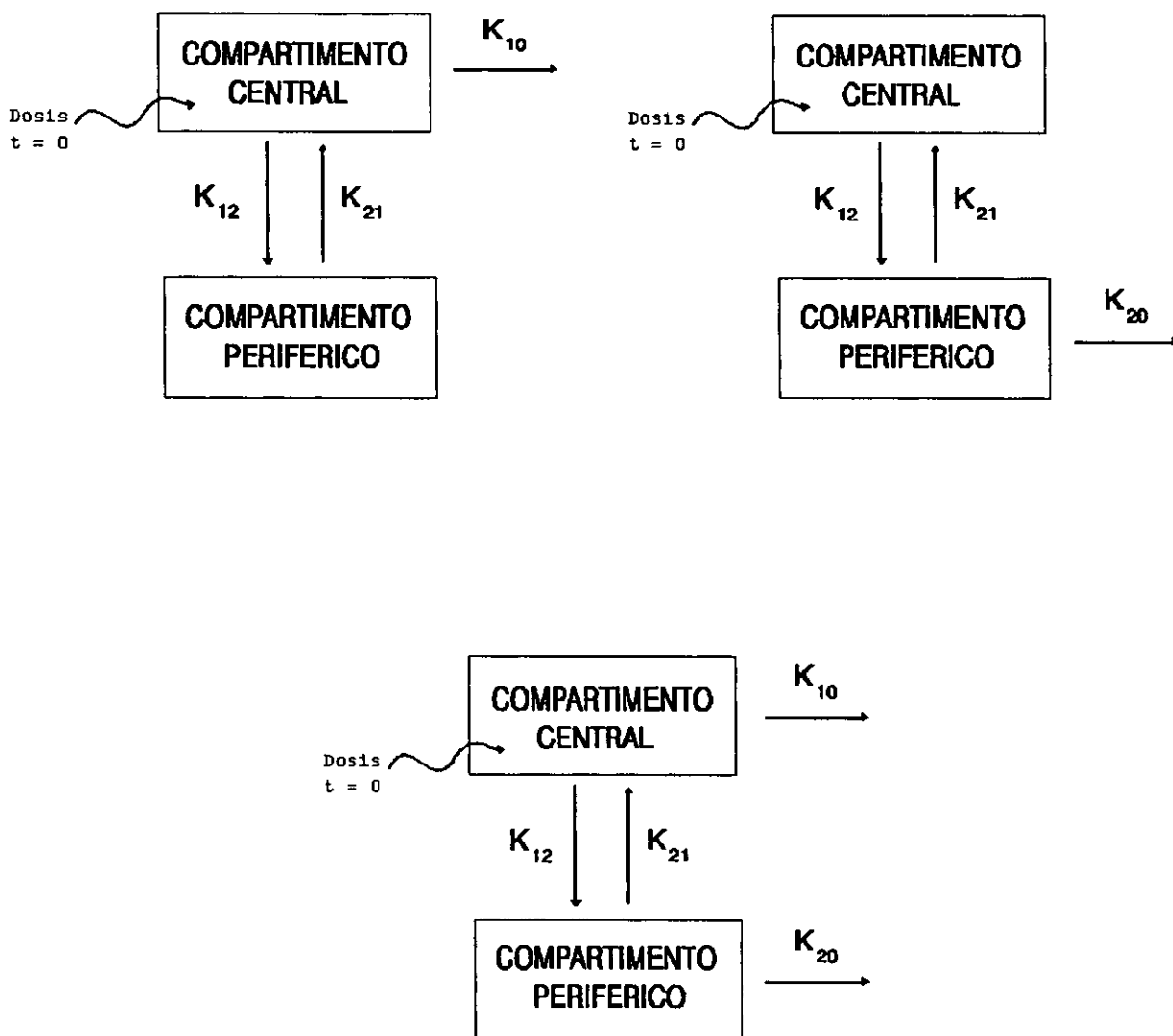
Con frecuencia, los fármacos al entrar en la circulación sistémica precisan de un período para distribuirse por todos los tejidos y órganos. Esta fase de distribución está en relación con el flujo sanguíneo, por lo que los tejidos más perfundidos alcanzarán antes el equilibrio de distribución que los menos perfundidos. Estos tejidos muy perfundidos (hígado, riñón, etc.) pueden tratarse como una unidad homogénea (compartimento central). El llamado compartimento periférico lo formarían los órganos y tejidos menos perfundidos (huesos, cartílagos, tejido adiposo, etc.) y por tanto menos accesibles al fármaco.

Generalmente, las concentraciones de fármaco de los tejidos más perfundidos, durante la fase de distribución, disminuyen más rápidamente que durante la fase posterior. Sin embargo, en los órganos y tejidos menos perfundidos, las concentraciones del fármaco crecen hasta alcanzar un máximo y luego disminuyen durante la fase de distribución.

Esta representación bicompartimental de un organismo no corresponde a una realidad fisiológica, pero permite el estudio y la comparación farmacocinética de los fármacos.

En realidad, pueden presentarse tres tipos de modelos bicompartimentales: los que la eliminación del fármaco sólo se produce desde el compartimento central, los que la eliminación del fármaco sólo se produce desde el compartimento periférico y los que la eliminación se produce desde ambos compartimentos.

La siguiente figura muestra la representación esquemática de los tres tipos de modelos bicompartimentales:



Representación esquemática de los modelos bicompartimentales

Figura 12

3.4.2.1.- Administración intravenosa

Después de que el fármaco ha sido administrado por vía intravenosa, la concentración plasmática de medicamento desciende rápidamente, debido principalmente al efecto de distribución y a algo de eliminación.

El proceso de distribución es generalmente más rápido que los de eliminación. Cuando la distribución alcanza el equilibrio en los tejidos y en el plasma, o se llega a un equilibrio de pseudodistribución (aparente), únicamente tienen importancia los procesos de eliminación.

En el caso de un modelo bicompartimental con eliminación de primer orden desde el compartimento central, el perfil de concentraciones estará representado por una ecuación compuesta por dos términos:

C = Coeficiente de Distribución + Coeficiente de Eliminación

La velocidad de disminución de la cantidad de fármaco en el compartimento central, vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{dA_c}{dt} = K_{21} \cdot A_p - K_{12} \cdot A_c - K_{10} \cdot A_c \quad (23)$$

donde A_c y A_p son las cantidades de fármaco en el compartimento central y periférico, y K_{12} , K_{21} y K_{10} son las constantes reales de velocidad de distribución intercompartimentales y de eliminación, de acuerdo al esquema de la Figura 12.

La variación de la cantidad de fármaco en el compartimento periférico, vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{dA_p}{dt} = K_{12} \cdot A_c - K_{21} \cdot A_p \quad (24)$$

La resolución de este sistema de ecuaciones diferenciales, conduce a las siguientes expresiones:

$$A_c = \frac{A_0 (\alpha - K_{21})}{\alpha - \beta} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{A_0 (K_{21} - \beta)}{-\alpha - \beta} \cdot e^{-\beta t} \quad (25)$$

$$A_p = \frac{A_0 \cdot K_{12}}{\alpha - \beta} \cdot (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \quad (26)$$

donde α y β son las constantes híbridas de distribución y eliminación, respectivamente y que sirven para reemplazar a otras constantes:

$$\alpha + \beta = K_{12} + K_{21} + K_{10} \quad (27)$$

$$\alpha \cdot \beta = K_{21} \cdot K_{10} \quad (28)$$

Transformando la ecuación anterior en términos de concentraciones, donde $A_c = V_c \cdot C$, siendo V_c el volumen aparente de distribución del compartimento central, obtenemos:

$$C = \frac{A_0 (\alpha - K_{21})}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{A_0 (K_{21} - \beta)}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\beta t} \quad (29)$$

que en forma simplificada, se puede expresar como:

$$C = A_1 \cdot e^{-\alpha t} + A_2 \cdot e^{-\beta t} \quad (30)$$

donde A_1 y A_2 son constantes empíricas.

La representación semilogarítmica de la concentración plasmática en función del tiempo, suministra una curva biexponencial de la forma que se muestra en la figura siguiente:

MODELO BICOMPARTIMENTAL DESPUES DE
LA ADMINISTRACION INTRAVENOSA

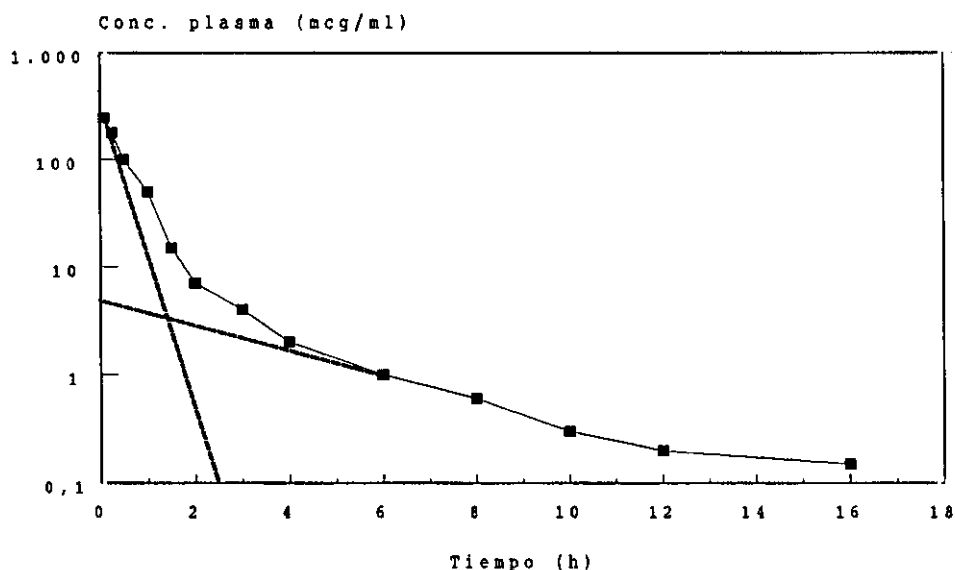


Figura 13

A partir de la pendiente de la fase exponencial terminal ($-\beta/2.303$) se calcula la constante híbrida β y por tanto la semivida de la fase de disposición lenta $t_{\beta/2} = 0.693/\beta$. A partir de la ordenada en el origen, A_2 , obtenida por extrapolación de la fase rectilínea terminal y aplicando el método de los residuales, se obtiene una línea recta de pendiente $-\alpha/2.303$ y ordenada en origen A_1 . A partir de α , podemos calcular la semivida de la fase rápida de distribución $t_{\alpha/2} = 0.693/\alpha$.

ANTECEDENTES

En la práctica estos valores de α , β , A_1 y A_2 se obtienen con la ayuda de programas de regresión no lineal por mínimos cuadrados. A partir de estos valores, se pueden calcular una serie de parámetros farmacocinéticos que definen este modelo:

$$V_c = \frac{A_0}{A_1 + A_2} \quad (31)$$

$$K_{21} = \frac{A_1 \cdot \beta + A_2 \cdot \alpha}{A_1 + A_2} \quad (32)$$

$$K_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{K_{21}} \quad (33)$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10} \quad (34)$$

$$AUC = \frac{A_1}{\alpha} + \frac{A_2}{\beta} \quad (35)$$

La constante de disposición de la fase lenta β , se refiere únicamente a la eliminación del fármaco inalterado, por lo que si hay simultáneamente procesos de metabolismo, se deben tener en cuenta para realizar un cálculo fiable de la eliminación.

En estos casos es más fiable caracterizar este proceso de eliminación mediante el aclaramiento ($CL = V_p \cdot \beta$).

En este modelo además del volumen de distribución aparente del compartimento central (V_c), podemos calcular el volumen de distribución tisular (V_p), a partir del volumen de distribución total (V_T) y del área bajo la curva AUC:

$$V_T = V_C + V_P \quad V_T = \text{Dosis/AUC} \quad (36)$$

3.4.2.2.- Excreción urinaria después de la administración i.v.

Otra forma de calcular los parámetros farmacocinéticos de un fármaco, que se ajusta a un modelo bicompartimental, es a partir de los datos de excreción urinaria.

La constante de velocidad de eliminación del compartimento central (K_{10}), es la suma de las constantes de velocidad individuales que caracterizan a los procesos de eliminación, es decir $K_{10} = K_u' + K_1$, siendo K_u' la constante de velocidad de excreción renal y K_1 la suma de todas las constantes de velocidad de eliminación de los procesos no renales. La velocidad de excreción urinaria del fármaco inalterado se expresa como:

$$\frac{dA_u}{dt} = K_u' \cdot A_c \quad (37)$$

donde A_u es la cantidad de fármaco inalterado eliminado en la orina en el tiempo t y A_c es la cantidad de fármaco en el compartimento central en dicho tiempo t . Sustituyendo A_c por la expresión determinada en el apartado anterior, obtenemos:

$$\frac{dA_u}{dt} = \frac{K_u' A_0 (\alpha - K_{21})}{\alpha - \beta} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{K_u' A_0 (K_{21} - \beta)}{\alpha - \beta} \cdot e^{-\beta t} \quad (38)$$

que en forma simplificada se puede expresar como:

$$\frac{dA_u}{dt} = A_1' \cdot e^{-\alpha t} + A_2' \cdot e^{-\beta t} \quad (39)$$

Si representamos gráficamente la velocidad de excreción del fármaco inalterado en función del tiempo, obtendremos una curva biexponencial, de la cual, podemos obtener los valores de A_1' , A_2' , α y β , y a partir de estos valores los de K_u' y K_{21} a partir de las expresiones:

$$K_{21} = \frac{A_1' \cdot \beta + A_2' \cdot \alpha}{A_1' + A_2'} \quad (40)$$

$$K_u' = \frac{A_1' + A_2'}{A_0} \quad (41)$$

El aclaramiento renal (CL_R), vendrá dado por la expresión:

$$CL_R = \frac{dA_u/dt}{C} = \frac{K_u' \cdot A_c}{C} = K_u' \cdot V_c \quad (42)$$

3.4.2.3.- Administración oral

Cuando el medicamento se administra por vía oral, tendremos que tener en cuenta la fase de absorción (proceso de primer orden) previa a la fase de disposición de acuerdo a un modelo bicompartimental. La función de disposición es idéntica a la determinada para la administración intravenosa y por tanto la cantidad de fármaco en el compartimento central vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$A_c = \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (\alpha - K_{21})}{\alpha - \beta} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (K_{21} - \beta)}{\alpha - \beta} \cdot e^{-\beta t} + \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (K_{21} - K_a)}{(\alpha - K_a) \cdot (\beta - K_a)} \cdot e^{-K_a t} \quad (43)$$

donde K_a es la constante de velocidad de absorción, A_0 es la dosis administrada y F es la fracción de dosis absorbida. Expresando la ecuación anterior en términos de concentración tenemos:

$$C = \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (\alpha - K_{21})}{V_c (K_a - \alpha) (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (K_{21} - \beta)}{V_c (K_a - \beta) (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\beta t} + \frac{K_a \cdot F \cdot A_0 (K_{21} - K_a)}{V_c (\alpha - K_a) \cdot (\beta - K_a)} \cdot e^{-K_a t} \quad (44)$$

Como en los casos anteriores, la representación gráfica del logaritmo de la concentración en función del tiempo, suministra en este caso una curva triexponencial, del tipo del que se muestra en la figura siguiente:

MODELO BICOMPARTIMENTAL ADMINISTRACION ORAL

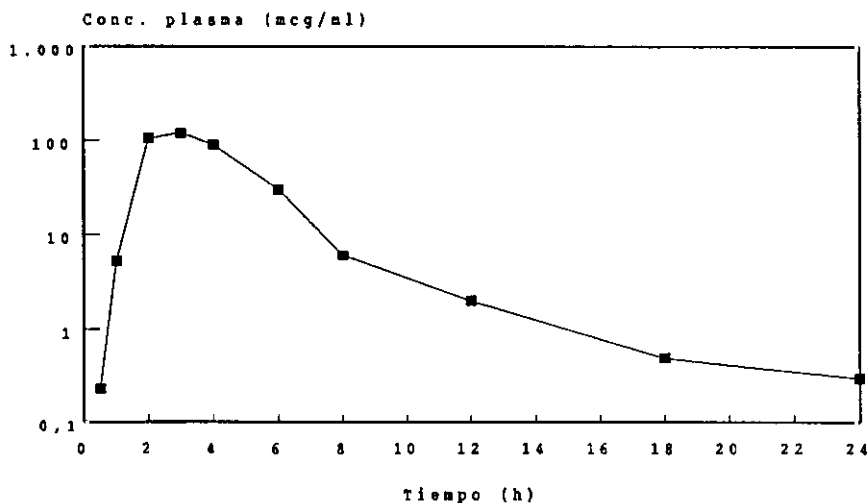


Figura 14

El análisis de dicha curva mediante regresión no lineal por mínimos cuadrados (mediante un programa de ordenador), suministra los valores de K_a , α y β . Otros métodos manuales para el cálculo de la constante de velocidad de absorción son los descritos por Loo y Riegelman (1968) y el basado en la determinación previa del grado de absorción, según una modificación del método de Wagner y Nelson (1963). Generalmente, para el análisis completo de este modelo se estudia previamente la fase de disposición mediante una administración intravenosa y luego conocidos los parámetros de eliminación se estudia la fase de absorción mediante una administración oral.

3.4.2.4.- Excreción urinaria después de una administración oral

El tratamiento matemático que se sigue para el estudio de la excreción urinaria tras una administración oral con absorción de primer orden según un modelo bicompartimental, es el mismo que el descrito en el caso de la administración intravenosa. En este caso la velocidad de excreción urinaria del fármaco inalterado se puede definir según la ecuación general:

$$\frac{dA_u}{dt} = K_u' \cdot A_c \quad (45)$$

sustituyendo A_c por la ecuación descrita en el punto anterior, tendremos que:

$$A_u = A_u^\infty \left[1 - \frac{K_a \cdot K_u' (\alpha - K_{21})}{\alpha (K_a - \alpha) (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\alpha t} + \frac{(K_{21} - \beta)}{\beta (K_a - \beta) (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\beta t} + \frac{(K_{21} - K_a)}{K_a (\alpha - \beta) \cdot (\beta - K_a)} \cdot e^{-K_a t} \right] \quad (46)$$

donde A_u^∞ es la cantidad de fármaco inalterado excretada en un tiempo infinito.

3.4.3.- MODELOS MULTICOMPARTIMENTALES

Los modelos multicompartmentales van siendo de interés a medida que los métodos analíticos mejoran y son útiles para describir las curvas de concentración-tiempo más complejas. De acuerdo a lo anteriormente expuesto un modelo tricompartmental se puede considerar como un compartimento central que esta conectado de forma reversible con otros dos compartimentos periféricos, y donde la eliminación se produce desde el compartimento central, de acuerdo al siguiente esquema:

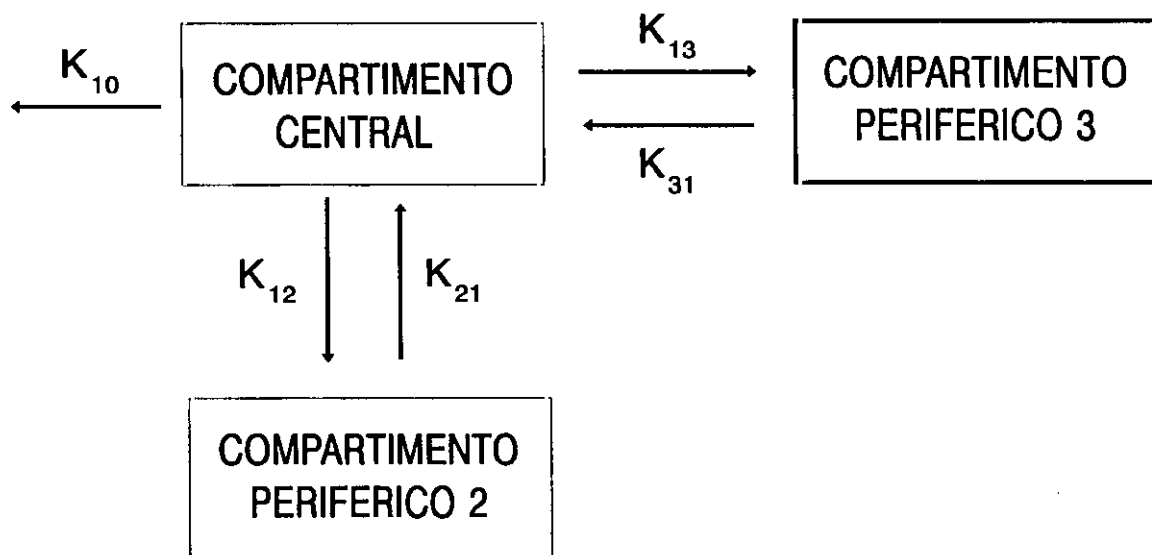


Figura 15

La ecuación que define este modelo tras una administración intravenosa rápida será:

$$C = P \cdot e^{-\pi \cdot t} + A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (47)$$

en donde:

$$P = \frac{A_0 (K_{21} - \pi) \cdot (K_{31} - \pi)}{V_c (\pi - \alpha) \cdot (\pi - \beta)} \quad (48)$$

$$A = \frac{A_0 (K_{21} - \alpha) \cdot (\alpha - K_{31})}{V_c (\pi - \alpha) \cdot (\alpha - \beta)} \quad (49)$$

$$B = \frac{A_0 (K_{21} - \beta) \cdot (K_{31} - \beta)}{V_c (\pi - \beta) \cdot (\alpha - \beta)} \quad (50)$$

$$\alpha + \beta + \pi - K_{10} + K_{12} + K_{13} + K_{21} + K_{31} \quad (52)$$

$$\alpha \cdot \beta + \alpha \cdot \pi + \beta \cdot \pi - K_{10} \cdot K_{21} + K_{13} \cdot K_{21} + K_{10} \cdot K_{31} + K_{21} \cdot K_{31} + K_{31} \cdot K_{12} \quad (53)$$

$$\alpha \cdot \beta \cdot \pi - K_{12} \cdot K_{10} \cdot K_{31} \quad (51)$$

Los coeficientes P, A y B, y los exponentes α , β y π , se pueden estimar de la representación logarítmica de la concentración plasmática frente al tiempo. Resolviendo el sistema de ecuaciones de las fórmulas anteriores, se pueden calcular las diferentes constantes de velocidad.

En la bibliografía existen varios ejemplos de fármacos, cuya farmacocinética se ha explicado a través de un modelo tricompartmental: Digoxina (Doherty, 1967), Tubocurarina (Gibaldi, 1972) y Diazepam (Kaplan, 1973).

3.4.4.- MODELOS NO COMPARTIMENTALES: MOMENTOS ESTADÍSTICOS

La teoría de los momentos estadísticos, aplicada desde 1956 en otras áreas de la ciencia como en ingeniería química (Aris 1956 y Hummelblau 1968) y en cromatografía (Yamaoka 1974), ha sido aplicada en farmacocinética para el cálculo de los parámetros de absorción, distribución y eliminación.

La teoría de los compartimentos presenta algunas deficiencias como son las mostradas por Wagner en 1976, demostrando que modelos compartimentales diferentes se pueden describir mediante el mismo número de términos exponenciales. Además el número de compartimentos es función del tiempo de muestreo, es decir que el modelo depende del diseño experimental.

Para solventar estos defectos se aplicó la teoría de los momentos estadísticos, y mediante integración simple muestra en conjunto, los parámetros que definen la evolución de la curva concentración-tiempo.

Esta teoría se basa en considerar la curva de concentración-tiempo como una distribución estadística cuyos momentos se definen de la siguiente manera:

$$S_0 = \int_0^{\infty} C \cdot dt = AUC \quad (54)$$

$$S_1 = \int_0^{\infty} t \cdot C \cdot dt = AUMC \quad (55)$$

$$S_2 = \int_0^{\infty} t^2 \cdot C \cdot dt - (t - MRT)^2 \cdot C \cdot dt \quad (56)$$

donde C es la concentración plasmática, AUC es el área bajo la curva y AUMC es el área bajo la curva del primer momento.

A partir de estos valores se puede calcular el tiempo medio de residencia (TMR) y la varianza del tiempo de residencia (VTR) de la manera siguiente:

$$AUC = S_0 \quad (57)$$

$$MRT = \frac{S_1}{S_0} \quad (59)$$

$$VRT = \frac{S_2}{S_0} - \left(\frac{S_1}{S_0} \right)^2 \quad (58)$$

El tiempo medio de residencia, es análogo a la semivida que a su vez es función de la distribución y eliminación. En el caso de la administración intravenosa rápida es igual $1/K$, siendo K la constante de velocidad de eliminación de primer orden. Así como la semivida representa el tiempo necesario para eliminar el 50 % de la dosis, el tiempo medio de residencia representa el tiempo para eliminar el 63.2 % de la dosis.

En términos no compartimentales K es sustituida por K' , que representa la relación entre el aclaramiento y el volumen de distribución.

En el caso de la administración oral, la fracción de dosis absorbida, es decir que alcanza la circulación sistémica, se calcula por comparación de las AUC obtenidas después de una administración oral e intravenosa de igual dosis. La velocidad de absorción se puede estimar con el parámetro tiempo medio de absorción (MAT), que se define como la diferencia de tiempos medios de residencia por vía extravasal e intravenosa:

$$MAT = MRT_{e.v.} - MRT_{i.v.} \quad (60)$$

En el caso de que la absorción sea de primer orden el tiempo medio de absorción (MAT) es igual a la inversa de la constante de absorción y la semivida viene dada por $0.693 \times MAT$.

Para la curva de velocidad de excreción urinaria frente al tiempo, se pueden definir los momentos estadísticos de igual forma:

$$S_0 = \int_0^{\infty} \left(\frac{dA_u}{dt} \right) \cdot dt \quad (61)$$

$$S_1 = \int_0^{\infty} t \cdot \left(\frac{dA_u}{dt} \right) \cdot dt \quad (62)$$

$$S_2 = \int_0^{\infty} t^2 \cdot \left(\frac{dA_u}{dt} \right) \cdot dt \quad (63)$$

y a partir de estos valores se calculan:

$$A_u^{\infty} = S_0 \quad (64)$$

$$MRT_u = \frac{S_1}{S_0} \quad (65)$$

$$VRT_u = \frac{S_2}{S_0} - \left(\frac{S_1}{S_0} \right)^2 \quad (66)$$

donde A_u^{∞} es el área bajo la curva que representa la cantidad de fármaco excretada en orina, MRT_u el tiempo medio de residencia y VRT_u la varianza del tiempo de residencia.

El aclaramiento CL_R , se puede definir como la constante de proporcionalidad entre la velocidad de eliminación y la concentración, por lo tanto tenemos que:

$$\frac{dA_u}{dt} = CL_R \cdot C \quad (67)$$

$$A_u^{\infty} = CL_R \cdot AUC \quad (68)$$

$$MRT_u = MRT \quad (69)$$

$$VRT_u = VRT \quad (70)$$

El momento estadístico S_0 se utiliza para la determinación de la cantidad de fármaco absorbido y para calcular el aclaramiento, ya que es igual a la relación entre la dosis intravenosa y el área bajo la curva:

$$CL = \frac{Dosis}{AUC} \quad (71)$$

Este procedimiento de los métodos estadísticos permite el cálculo de un volumen de distribución independiente de la eliminación del fármaco (Benet 1979 y Oppenheimer 1975). El volumen de distribución viene dado por:

$$V = Dosis \cdot \frac{AUMC}{(AUC)^2} \quad (72)$$

3.4.5.- BIODISPONIBILIDAD

La biodisponibilidad ha sido definida como la medida de la cantidad de fármaco, de la dosis administrada, que alcanza la circulación sistémica y de la velocidad con que esto ocurre (Committee on Biologic Performance of Drug Products, 1972). En

el caso de dosis únicas, la velocidad de absorción puede ser el parámetro farmacocinético más crítico. Si la velocidad de absorción es muy rápida puede provocar reacciones adversas. En el caso contrario de que la velocidad de absorción sea muy lenta, puede que no se alcancen los niveles plasmáticos suficientes para producir la respuesta farmacológica deseada. Por lo tanto, el control de la velocidad de absorción y por tanto de la velocidad de biodisponibilidad es de suma importancia.

El concepto de biodisponibilidad fue introducido por Oser en 1945 definiendo el término de biodisponibilidad fisiológica; sin embargo, otros autores definen la biodisponibilidad como la facilidad de acceso del fármaco a los receptores (Chasseaud, 1974).

Los factores que condicionan la biodisponibilidad de un fármaco son: la cantidad y la velocidad de cesión del fármaco desde su forma de dosificación, y el llamado "efecto de primer paso", pues sólo una parte de la dosis administrada alcanza la circulación sistémica. Por ejemplo, después de una administración oral, el fármaco debe liberarse de la forma de dosificación (cápsula, comprimido, disolución, etc.), debe ser estable en los fluidos gastro-intestinales, debe pasar a través de la pared gastro-intestinal a la circulación sistémica y finalmente atravesar el hígado sin ser significativamente metabolizado.

3.4.5.1.- Determinación de la biodisponibilidad absoluta

Se llama biodisponibilidad absoluta a la fracción de dosis que alcanza la circulación sistémica. La mejor forma de

determinarla es comparando los niveles plasmáticos o de excreción urinaria después de una dosis oral, intramuscular, etc., con los niveles plasmáticos o en orina después de una administración intravenosa (100 % biodisponible).

Esta comparación se efectúa a través de las correspondientes áreas bajo las curvas de concentración-tiempo que, como hemos dicho, representan la cantidad de fármaco que ha alcanzado la circulación sistémica:

$$F = \frac{AUC_{oral}}{AUC_{i.v.}} \quad (73)$$

En el caso de que la dosis administrada por vía oral e intravenosa no sea la misma, este cociente de áreas deberá referirse a la relación de dosis administrada:

$$F = \frac{AUC_{oral} \cdot Dosis_{i.v.}}{AUC_{i.v.} \cdot Dosis_{oral}} \quad (74)$$

En el caso de un fármaco que se elimine inalterado en cantidades suficientes en orina, la biodisponibilidad (F) se puede calcular como sigue:

$$F = \frac{A_{u(oral)}^{\infty} \cdot Dosis_{i.v.}}{A_{u(i.v.)}^{\infty} \cdot Dosis_{oral}} \quad (75)$$

3.4.5.2.- Determinación de la biodisponibilidad relativa

Una de las formas de validar una nueva forma farmacéutica es mediante la determinación de la biodisponibilidad relativa. Consiste en la comparación de las cantidades de fármaco absorbido con una forma farmacéutica estándar y de las cantidades de fármaco absorbido utilizando la nueva forma farmacéutica. Para ello se administra el estándar y se determina la cantidad absorbida a través del AUC de la curva de concentración-tiempo; después se repite la operación con la nueva formulación y comparando las áreas bajo la curva se determina la biodisponibilidad relativa:

$$F_{rel.} = \frac{(AUC)_{problema}}{(AUC)_{estand.}} \quad (76)$$

Empleando los datos de excreción urinaria, el procedimiento sería el mismo y el valor de la biodisponibilidad relativa vendrá dado por:

$$F_{rel.} = \frac{(A_u^{\infty})_{problema}}{(A_u^{\infty})_{estand.}} \quad (77)$$

En la mayoría de los estudios clínicos en vez del valor de la biodisponibilidad se utilizan los valores de C_{max} y t_{max} , que son la concentración máxima alcanzada y el tiempo al que se detecta este máximo, respectivamente.

Hay muchos casos en los que el cálculo de F empleando las curvas concentración-tiempo es muy difícil; esto sucede cuando las concentraciones plasmáticas del fármaco son muy pequeñas y

se encuentran en los límites de los métodos de análisis, o cuando la semivida de eliminación es muy grande y requeriría tiempos de muestreo excesivamente largos. En estos casos la determinación de la biodisponibilidad empleando el método de los momentos estadísticos presenta muchas ventajas.

Empleando la teoría de los momentos estadísticos, Riegelman en 1980 propuso que la diferencia de tiempos medios de residencia después de una administración oral problema y de una administración de una disolución (acuosa o no), es equivalente al tiempo medio de disolución (MDT) o velocidad de liberación media del fármaco a partir de la forma farmacéutica problema:

$$MDT - MRT_{problema} - MRT_{disolución} \quad (78)$$

En el caso de fármacos que sean metabolizados rápidamente, el cálculo de F se puede hacer empleando las áreas bajo las curvas de concentración-tiempo de los metabolitos, después de administración oral e intravenosa.

3.4.5.3.- Alcance y limitaciones del concepto de biodisponibilidad.

La medida de la biodisponibilidad constituye un excelente procedimiento para la valoración de los medicamentos en sus distintas formas de dosificación. Pero hay que tener en cuenta las limitaciones que son debidas a dos causas: las desviaciones de la ley de proporcionalidad de las áreas y a la producción de

máximos ineficaces.

Para fármacos que sufren biotransformación apreciable en el hígado, las áreas bajo las curvas intravenosa y oral pueden no ser iguales aún en el caso de que la absorción por vía oral sea del 100 %. Harris y Riegelman en 1969 demostraron que las curvas de niveles plasmáticos correspondientes a dosis idénticas de ácido acetilsalicílico abarcan un área mayor si se administra oralmente que si se administra intravenosamente. Esto es debido a que sufre una elevada metabolización al pasar por el hígado.

En general, el cálculo de la biodisponibilidad está indicado si se consiguen en las distintas formas de dosificación ensayadas, los efectos farmacológicos deseados y durante el tiempo necesario. Si no es así, el cálculo es improcedente. Es decir, que si dos curvas de niveles plasmáticos tienen el mismo área pero una de ellas no sobrepasa el nivel eficaz, el cálculo de la biodisponibilidad del fármaco en la forma correspondiente a esta última no tiene ningún valor práctico.

Teniendo en cuenta esto el Committee on Biologic Performance of Drug Products (USA) en 1972, en la definición que dio de biodisponibilidad incluye la necesidad de la presencia de un máximo eficaz en la curva de nivel plasmático y la existencia de un grado de liberación o absorción adecuado.

MATERIALES Y MÉTODOS

4.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- REACTIVOS

4.1.1.- Elgodipina Clorhidrato

La Elgodipina Clorhidrato ha sido suministrada por los Laboratorios Lebsa (Crta. de l'Hospitalet, 30 - 08940 Cornellá, Barcelona), con un grado de pureza superior al 98.8% y presenta un tamaño de partícula igual o inferior a 100 μm .

En todos los estudios se ha utilizado el lote 8807.005, número de análisis 090590, excepto en los estudios de farmacocinética en rata por vía intravenosa y oral en los que se emplea el lote 8807.004, número de análisis 050890. (Ver boletines de análisis en el anexo).

4.1.2.- Elgodipina marcada con ^{14}C

La ^{14}C -Elgodipina (Lote 910606/89165) ha sido suministrada por Isotopchim (Ganagobie-Peyruis 04310, Francia), y antes de su uso tuvo que ser purificada por TLC para obtener una pureza química y radiológica superior al 98 % (ver boletín de análisis número 060191 en el anexo).

Para su purificación, se emplean placas de TLC (20 x 20, Gel de Sílice 60, 0.5 mm de espesor) que son sembradas en banda con una disolución de ^{14}C -Elgodipina en Diclorometano (1 mCi en 4 ml) y son eluidas con una mezcla de Diclorometano/ Metanol/Ácido Acético (90/10/1). Una vez desarrollada la cromatoplaça, se revela por autorradiografía (Hyperfilm MP, Amersham). Utilizando la autorradiografía como plantilla, se delimita la zona correspondiente a la ^{14}C -Elgodipina y se raspa la gel de sílice para proceder a su extracción con una mezcla de

Cloroformo/Metanol 80/20 (5x50 ml, 1 hora de agitación mecánica y a temperatura ambiente). El extracto se filtra y se evapora a sequedad bajo corriente de nitrógeno. Por último se procede al análisis químico y radioquímico que se refleja en el boletín de análisis (ver anexo).

4.1.3.- Otros reactivos

El resto de los reactivos y disolventes utilizados en los diferentes estudios han sido de calidad "para análisis" o de calidad HPLC y fueron suministrados por Scharlau, Merck, SDS, Riedel-de-Haën y DuPont. Especial mención merecen los siguientes reactivos: solubilizador de tejidos y líquido de centelleo (Solvable Dupont Cat. N^o NEF-910 y Dupont Cat. N^o NEF-898 respectivamente), reactivo de Bradford para la valoración de proteínas (Bio-Rad, 500-0006), Albúmina de suero bovino (Sigma A-2153), membranas de diálisis (DIACHEMA Ref. 10.17, Molecular weight cut-off: 10000, diámetro: 63 mm) y conos de ultrafiltración (AMICON Ref. CF 25, Molecular weight cut-off: 25000).

Como estándar interno para el análisis de HPLC, se utiliza Oxodipina, suministrada por los Laboratorios Lebsa.

El agua empleada en todos los estudios, se obtuvo de un desionizador con una resistividad igual o inferior a $0.1 \mu\text{S}/\text{cm}^2$.

4.2.- MUESTRAS BIOLÓGICAS

Las muestras de plasma se aíslan por centrifugación (15 minutos a 2500 rpm) de las muestras de sangre obtenidas por punción cardíaca en las ratas y de la vena cefálica o safena en los perros.

4.3.- APARATOS

Para el análisis de Elgodipina sin metabolizar en plasma, se emplea un cromatógrafo de HPLC. El sistema de HPLC está equipado con una bomba de alta presión (LC-9A, Shimadzu), un inyector automático (WISP-710B, Waters, Millipore), un detector de fluorescencia (RF-535, Shimadzu) y una columna de acero inoxidable (25 cm de longitud y 4,0 mm de diámetro interno), empaquetada con Spherisorb SI de 5 μm de tamaño medio de partícula. Los cromatogramas se registran en un integrador (740 Data Module, Waters, Millipore).

Para el análisis de la Elgodipina marcada se emplea un contador de centelleo líquido (1214 RackBeta, LKB) conectado a un ordenador (M-480, Olivetti) para la recogida de datos y un cromatógrafo de líquidos equipado con bomba SP-8810 SpectraPhysic, inyector Rheodine de 10 μl , detector de radioactividad Betacord LKB-1208, detector de UV SPD-6A Shimadzu, y registrador integrador Data Jet SpectraPhysic.

Para el estudio de unión a las proteínas plasmáticas, se emplean unas células de diálisis de metacrilato con dos cámaras de 5 ml de capacidad, cada una y con una superficie de diálisis de 4.9 cm^2 .

Otros aparatos empleados y de uso mas generalizado son: balanza analítica Mettler AJ100, espectrofotómetro de UV-Vis (Shimadzu 160A), estufa Heraeus D-6450, centrífuga Labofuge GL Heraeus Sepatech, baño de ultrasonidos Pacisa, agitador rotativo Stuart STR-4, evaporador-concentrador SpeedVac SVC-100, Savant y baño de agua termostaticado y con agitación (Haake SWB 20).

4.4.- FORMAS FARMACÉUTICAS ADMINISTRADAS

4.4.1.- Administración intravenosa, en ratas, de Elgodipina Clorhidrato.

Para la administración intravenosa a las ratas, la Elgodipina Clorhidrato (40 mg) se disuelve en 5 ml de Etanol con la ayuda de un baño de ultrasonidos a temperatura ambiente; luego se diluye hasta 100 ml con agua para inyectables. La solución se prepara diariamente. La concentración final administrada es de 0.4 mg/ml.

4.4.2.- Administración oral, en ratas, de Elgodipina Clorhidrato.

Para la administración oral a las ratas, la Elgodipina Clorhidrato (200 mg) se suspende en 50 ml de una mezcla de carboximetilcelulosa 0.5% y Tween 80 1% . La concentración final administrada es de 4.0 mg/ml.

4.4.3.- Administración intravenosa, en ratas, de ¹⁴C-Elgodipina

La disolución de ¹⁴C-Elgodipina para la administración intravenosa en ratas se prepara como se describe a continuación:

58 ml de la disolución inicial de ^{14}C -Elgodipina de concentración química 43.48 $\mu\text{g/ml}$ y concentración radioactiva 5.13 $\mu\text{Ci/ml}$ (ver análisis 060191), se evaporan a sequedad bajo una corriente de nitrógeno.

A este residuo seco se le añadieron 5.32 mg de Elgodipina Clorhidrato (equivalentes a 4.98 mg de Elgodipina base) y 2.25 ml de Etanol 96. La disolución resultante se mezcla con 12.75 ml de tampón citratos 0.025 M de pH 5.0 .

La disolución final contiene una concentración radioactiva real de 21.57 $\mu\text{Ci/ml}$ (concentración teórica 19.83 $\mu\text{Ci/ml}$) y una concentración química de 500 $\mu\text{g/ml}$.

La disolución se almacena a 2-3°C y se comprueba semanalmente por TLC para detectar cualquier posible variación durante el estudio.

4.4.4.- Administración oral, en ratas, de ^{14}C -Elgodipina

La disolución de ^{14}C -Elgodipina para la administración oral en ratas se prepara de la forma descrita en el apartado anterior para la administración i.v.

La disolución se almacena a 2-3°C y se comprueba semanalmente por TLC para detectar cualquier posible variación durante el estudio.

4.4.5.- Administración intravenosa a perros, de Elgodipina Clorhidrato.

Para la administración intravenosa a los perros, la Elgodipina Clorhidrato (60 mg) se disuelve en 3.9 ml de Etanol

con la ayuda de un baño de ultrasonidos a temperatura ambiente; luego se diluye con 5 ml de PEG-300 y 11 ml de tampón citratos 0.025 M de pH 5.0. La solución se prepara diariamente y el volumen de solución inyectada es de 1 ml por cada 6 kg de peso. La concentración final administrada es de 3 mg/ml.

4.4.6.- Administración oral a perros, de Elgodipina Clorhidrato.

Para la administración oral a los perros, la Elgodipina Clorhidrato se introduce en cápsulas de gelatina dura del número 3 sin ningún excipiente.

4.4.7.- Estudio de la unión a las proteínas plasmáticas.

Para el estudio de la unión de ^{14}C -Elgodipina a las proteínas plasmáticas se prepara una disolución de la siguiente manera:

Una alícuota de 5 ml de la disolución inicial de ^{14}C -Elgodipina, que contiene 2.16 $\mu\text{Ci/ml}$ y 16.43 $\mu\text{g/ml}$, se evapora a sequedad, bajo corriente de nitrógeno, y se redisuelve con 5 ml de metanol.

Una alícuota de 1 ml de la disolución metanólica anterior se diluye con 10 ml de metanol, obteniéndose una concentración radioquímica de 0.216 $\mu\text{Ci/ml}$ y una concentración química de 1.643 $\mu\text{g/ml}$.

4.5.- ESTUDIOS GALÉNICOS DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS ADMINISTRADAS.

Con el fin de asegurar la inocuidad y la estabilidad física y química de las formas farmacéuticas no extemporáneas

administradas, se realizaron diferentes estudios galénicos que se describen a continuación.

4.5.1.- Estudio galénico de la formulación para la administración p.o. en animales de laboratorio.

4.5.1.1.- Estudio de la estabilidad física.

La formulación administrada por vía oral consta de una suspensión del principio activo en un medio acuoso viscoso compuesto por carboximetilcelulosa y Tween 80. Para poder obtener una suspensión homogénea y estable se debe optimizar la viscosidad del medio. Para ello se prepararon todas las posibles combinaciones de tres carboximetilcelulosas de diferente grado de polimerización (Fluka 21903 1000-1500 mPa.s, Fluka 21902 400-800 mPa.s y Fluka 21900 90-200 mPa.s) a tres concentraciones diferentes (0.2, 0.5 y 0.8 % p/v) y Tween 80 al 1 % v/v.

Sobre estas formulaciones se estudia la velocidad de sedimentación, la facilidad de resuspensión y el grado de floculación.

La formulación elegida es la compuesta por la carboximetilcelulosa de viscosidad media (Fluka 21902) a una concentración del 0.5 % p/v y Tween 80 al 0.5 % y al 1 % v/v.

4.5.1.2.- Estudio de la estabilidad química.

Con el fin de estudiar la estabilidad química de la formulación se somete a diferentes condiciones de temperatura durante 7 días (-20°C, 2-3°C y 20-25°C). Al cabo de este período, se valora el contenido de Elgodipina espectrofotométricamente,

se estudia la evolución del tamaño de partícula, se investiga la posible presencia de productos de degradación por TLC y se estudia el grado de floculación de la suspensión.

Al final de este estudio se comprueba que la formulación puede ser almacenada a temperatura ambiente durante al menos 7 días.

4.5.2.- Estudio galénico de la formulación para la administración i.v. en animales de laboratorio.

4.5.2.1.- Estudio de la estabilidad química.

Para estudiar la estabilidad química de la formulación, se somete a diferentes condiciones (5 minutos a 120°C, 30 minutos a 100°C, 24 horas a 80°C y 7 días a 50°C). Al final de estos tratamientos se procede a cuantificar el principio activo por espectrofluorometría, se estudia la posible variación del pH y se investiga la posible aparición de productos de degradación mediante TLC y HPLC.

Al final de este estudio se comprueba que la formulación puede ser almacenada a temperatura ambiente pues solo se aprecia degradación a temperaturas elevadas.

4.5.2.2.- Estudio de la inocuidad.

Para asegurar la inocuidad de la formulación, se estudia la isotonicidad de la formulación con la sangre, mediante un test de resistencia globular. Como controles rutinarios de la formulación se comprueban la ausencia de pirógenos, la ausencia

de partículas, la esterilidad y se realiza el test de toxicidad anormal en ratones.

4.5.3.- Estudio de la estabilidad de las formulaciones con ^{14}C -Elgodipina.

Como medida de precaución, todas las formulaciones que contienen ^{14}C -Elgodipina se mantienen a $0-3^{\circ}\text{C}$ para prevenir posibles degradaciones por radiolisis. Semanalmente en la formulación se comprueba la ausencia de productos de degradación mediante TLC y revelado por autorradiografía.

4.6.- ANIMALES Y CONDICIONES DE ESTABULACIÓN

4.6.1.- Ratas.

Se utilizan ratas adultas de raza Wistar (Charles River) suministradas por Panlab (Barcelona). Antes de la administración, se mantienen durante 5 días estabuladas (período de aclimatación) observándose diariamente para poder detectar cualquier síntoma de enfermedad.

Las ratas se alimentan con una dieta controlada para roedores de laboratorio (UAR, Charles River, Panlab, Barcelona), y se les permite libre acceso a la comida y al agua. Para la administración oral, se mantienen en ayunas durante 18 horas antes y 6 horas después de la administración.

Las ratas se estabulan en jaulas de policarbonato (Makrolon, 45x24x19 cm) con tapa de rejilla de acero inoxidable. Las condiciones de estabulación durante los estudios son de $20-26^{\circ}\text{C}$, 40-88% de humedad relativa, fotoperíodos de 12 horas y 10 renovaciones de aire por hora.

El número de animales, sexo y peso utilizados en los diferentes estudios se muestran en la siguiente tabla:

Tabla VI
Sexo, número y peso de las ratas empleadas en los estudios

	Sexo	Nº	Peso medio(g) ± Dev.Est.
Estudio de la farmacocinética de Elgodipina HCl. Administración i.v.	♂	63	221 ± 10
	♀	62	195 ± 15
Estudio de la farmacocinética de Elgodipina HCl. Administración p.o.	♂	56	241 ± 11
	♀	58	217 ± 11
Estudio de la farmacocinética de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración i.v.	♂	6	232 ± 14
	♀	6	217 ± 14
Estudio de la farmacocinética de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración p.o.	♂	6	244 ± 8
	♀	6	211 ± 10
Estudio de la tasa de excreción en heces y orina de ¹⁴ C-Elgodipina. Admon. i.v.	♂	4	307 ± 5
	♀	4	223 ± 5
Estudio de la tasa de excreción en heces y orina de ¹⁴ C-Elgodipina. Admon. p.o.	♂	4	274 ± 5
	♀	4	214 ± 2
Estudio de la tasa de excreción biliar de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración i.v.	♂	4	282 ± 10
	♀	6	243 ± 7
Estudio de la tasa de excreción biliar de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración p.o.	♂	6	266 ± 19
	♀	5	224 ± 7
Estudio de la distribución tisular de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración i.v.	♂	21	285 ± 12
	♀	21	247 ± 19
Estudio de la distribución tisular de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración p.o.	♂	21	270 ± 15
	♀	21	229 ± 10
Estudio del paso de la barrera placentaria de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración i.v.	♀	11	348 ± 26
Estudio del paso de la barrera placentaria de ¹⁴ C-Elgodipina. Administración p.o.	♀	9	308 ± 36

Los animales dosificados con ^{14}C -Elgodipina para los estudios de la farmacocinética y para la tasa de excreción en heces y orina, fueron aprovechados para los tiempos de 48 y 120 horas post-dosis en los estudios de distribución tisular.

En los estudios con ^{14}C -Elgodipina y con el fin de facilitar la toma de muestras repetidas de un mismo animal, se les implantó un catéter en la aorta abdominal de la forma que se describe a continuación :

5 días antes de la administración, los animales se anestesian con 65 mg/kg de Pentobarbital Sódico (Nembutal, Lab. Serva) por vía intraperitoneal y 0.05 mg/kg de Atropina (Atropina Palex 1 mg/kg, Lab. Palex) por vía subcutánea, para implantarles un catéter en la arteria aorta abdominal. El catéter está compuesto por dos segmentos de tubo de polietileno PE 10 y PE 20 (Cay Adams, New Jersey. USA), de acuerdo al método descrito por Weeks y Jones.

El catéter se dirige dorsalmente bajo la piel desde la pared abdominal dorso-lateral, a nivel de la arteria renal, hasta una incisión en a la altura de la nuca, que previamente se ha realizado. Con la ayuda de dos aplicadores de algodón, se apartan las vísceras abdominales de la rata para que quede bien visible la aorta abdominal. Se limpia la porción de aorta situada entre la bifurcación renal e ilíaca, de tejido conjuntivo y de grasa. La aorta se perfora con una aguja semicircular de punta redondeada y el extremo PE 10 del catéter se introduce en la aorta

hasta que unos 10 mm de cánula estén dentro. Se elimina el nudo que colapsa la arteria y se fija el catéter firmemente al músculo psoas.

Finalmente se suturan la capa muscular y la piel con Supramid 2/0 y se espolvorean con Sulfanilamida (polvos Azol). Se administra, a través del catéter, una dosis de 5 mg/kg de Gentamicina (Gevramycin 80, diluido con suero salino) y se cierra con un tapón de polietileno PE 100.

Después de la operación, las ratas se estabulan en jaulas estándar de Makrolon (1 animal por jaula) y se continúa el tratamiento con antibiótico durante tres semanas.

Para los estudios de la tasa de excreción en heces y orina, un día antes del estudio, los animales se estabulan en la sala de experimentación, en jaulas estándar de Makrolon. Después de la administración los animales se estabulan en jaulas estándar de metabolismo, de Makrolon (Tecniplast mod. 3M12DO-100), para poder recoger separadamente orina y heces.

Para los estudios de la tasa de excreción biliar, a los animales se les implantó un catéter en el conducto colédoco de la siguiente manera:

El día de la administración los animales fueron anestesiados con éter dietílico, para proceder a la cateterización del conducto colédoco. Para ello se practicó una incisión longitudinal, de 4 ó 5 cm, a lo largo de la línea alba, primero en piel y después en el músculo. Se localiza el conducto colédoco y se aísla de la grasa que lo

rodea. Se liga con un doble nudo de hilo lo más distal posible al hígado y se insinúa un nudo proximal al hígado para fijar, en su momento, el catéter que se introduzca.

Se hace un corte en bisel lo más cerca posible de la ligadura distal, entre ésta y el hígado, y se introduce un catéter de polietileno PE-10^R (diámetro interior 0.28 mm, diámetro exterior 0.61 mm, Clay Adams), de unos 10 cm de longitud y con la punta cortada en bisel. El catéter se introduce aproximadamente 1-1.5 cm.

Una vez que la bilis fluya por el extremo libre del catéter, se cierra el nudo que estaba insinuado para evitar que éste se salga. La bilis se recoge en un vial u otro recipiente preparado al efecto.

Para evitar la excesiva pérdida de calor, al mantener el animal anestesiado, la incisión del abdomen se tapa con un algodón o papel de filtro mojado con suero salino caliente y se coloca sobre una manta eléctrica.

Como la experiencia se prolongará durante varias horas se mantiene al animal bajo anestesia con 20 mg/kg de Ketamina Clorhidrato (50 mg/ml Ketolar 50, Parke-Davis) y 5 mg/kg de Xylazina (23.32 mg/ml Rompun, Bayer) intraperitoneal.

Para el estudio del paso de la barrera placentaria, se emplean ratas preñadas de 15 días de gestación; las ratas se controlan mediante análisis microscópico de un "frotis" vaginal.

4.6.2.- Perros.

En el estudio con perros se utilizan dos machos (12.4 kg y 13.5 kg) y dos hembras (10.1 kg y 11.4 kg) de raza Beagle. Los animales son suministrados por Biocentre (Barcelona). Antes de la administración, se mantienen durante 3 semanas estabulados (período de aclimatación) observándose diariamente para poder detectar cualquier síntoma de enfermedad.

Los animales se alimentan con una dieta controlada para perros (SDB Interfauna, Barcelona), y se les permite libre acceso a la comida y al agua. Para la administración oral, se mantienen en ayunas durante 16-18 horas antes y 6 horas después de la administración.

Las perros se estabulan en "boxes". Las condiciones de estabulación durante el estudio son de 13-18°C, 46-72% de humedad relativa.

4.7.- FORMA DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS

4.7.1.- Administración i.v. en ratas de Elgodipina Clorhidrato.

La Elgodipina Clorhidrato se administra intravenosamente a las ratas mediante una inyección ("bolus") en la vena caudal. La dosis administrada es de 1 mg/kg.

4.7.2.- Administración p.o. en ratas de Elgodipina Clorhidrato.

La administración oral a las ratas se realiza mediante una sonda gástrica a una dosis de 10 mg/kg.

4.7.3.- Administración i.v. y p.o. en ratas de ^{14}C -Elgodipina

La ^{14}C -Elgodipina se administra intravenosamente, mediante una inyección ("bolus") en la vena caudal y oralmente mediante una sonda gástrica. En ambos casos la dosis es de 1 mg/kg (40 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$).

En el caso del estudio de la tasa de excreción biliar, debido a que el animal se encuentra anestesiado, no pudo administrarse la dosis de 1 mg/kg ya que se sumaban los efectos hipotensores de la Elgodipina y del anestésico provocando la muerte del animal; el estudio se realizó con una dosis de 0.5 mg/kg (20 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$). Para simular la administración oral, los animales se mantienen en ayunas 18 horas antes de la administración y la ^{14}C -Elgodipina se inyecta intraduodenalmente en el lumen intestinal de la porción inicial del duodeno.

4.7.4.- Administración i.v. a perros de Elgodipina Clorhidrato.

La Elgodipina Clorhidrato se administra intravenosamente a los perros, mediante una inyección ("bolus") en la vena safena de la pata a una dosis de 0.5 mg/kg.

4.7.5.- Administración p.o. a perros de Elgodipina Clorhidrato.

Para la administración oral, se introduce la cápsula en la boca y se espera hasta que el animal la traga. En este caso la dosis administrada es de 10 mg/kg.

4.8.- TOMA DE MUESTRAS

4.8.1.- Estudio de la farmacocinética de Elgodipina Clorhidrato en rata.

Después de la administración intravenosa u oral a las ratas, y a tiempos predefinidos (0, 2, 5, 10, 20, 30 y 35 minutos, 1, 1.5, 3, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas) los animales se anestesian con éter etílico y por punción cardíaca se toman 2-5 ml de sangre en tubos heparinizados. Después de centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos, el plasma se separa de los componentes celulares de la sangre y se almacena, en tubo de polietileno a -20°C hasta el momento de su análisis.

4.8.2.- Estudio de la farmacocinética de ^{14}C -Elgodipina en rata

Se toman muestras de sangre (0.2 ml), en jeringas heparinizadas, de la cánula implantada en la arteria aorta abdominal, a los siguientes tiempos: 0, 5, 15 y 30 minutos, y 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 48 horas después de haber realizado la dosificación. Después de cada toma de muestra, a cada animal se le inyecta un volumen igual de suero salino, con el fin de mantener la volemia constante. Las muestras de sangre se centrifugan en la misma jeringa a 3000 rpm durante 15 minutos; alícuotas de 50 μl del plasma se procesan para el contaje por centelleo líquido.

4.8.3.- Estudio de la tasa de excreción de ^{14}C -Elgodipina en heces y orina de rata.

Después de la administración, con los animales estabulados en las jaulas de metabolismo (Tecniplast Mod. 3M12D0-100), se colecta la orina a los siguientes intervalos de tiempo: 0-6, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96 y 96-120 horas. Se mide el volumen total de orina colectada y se toma una alícuota de 100-250 μl que se procesa para el conteo por centelleo líquido.

Las heces se colectan a intervalos de 24 horas hasta un máximo de 120 horas. La cantidad total de heces colectada a cada intervalo, se seca con una lámpara de IR y se pesa. Una vez secas, las heces se pulverizan para su homogeneización y se toman alícuotas de 50-100 mg para proceder a su análisis por centelleo líquido.

4.8.4.- Estudio de la tasa de excreción biliar de ^{14}C -Elgodipina en rata.

Después de efectuada la administración, la bilis se colecta en tubos Eppendorf en períodos de 30 minutos. Se mide el volumen total excretado con jeringas de 1 ml y se toma una alícuota (2 x 100 μl) para ser procesada para su análisis por centelleo líquido.

4.8.5.- Estudio de la distribución tisular de ^{14}C -Elgodipina en rata.

Las ratas, una vez dosificadas son devueltas a su jaula y se sacrifican a los tiempos predefinidos (0.25, 0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48 y 120 horas), por inhalación de éter etílico.

Inmediatamente se les extrae toda la sangre posible por punción cardíaca.

Una vez sacrificados los animales, se les extraen los órganos seleccionados, que se lavan en suero fisiológico, se secan cuidadosamente y una pequeña parte de los mismos (20-80 mg), exactamente pesada, y del mismo lugar en todos los casos, se destina para su preparación y posterior contaje en centelleo líquido.

El número de órganos y tejidos que se extraen, así como la zona de toma de muestras se especifican a continuación:

- Bazo: Se pesa el bazo entero y se toma como muestra una porción de su extremo terminal.
- Vejiga urinaria: Se pesa la vejiga urinaria vacía entera y se toma como muestra una porción.
- Testículo: Se pesa el testículo derecho entero y como muestra se toma una porción de la parte media.
- Ovario: El ovario derecho entero se pesa y se toma como muestra.
- Riñón: Se pesa el riñón derecho entero y se toma como muestra una sección transversal.
- Hígado: El hígado entero se pesa y se toma una porción del lóbulo medio.
- Glándula salivar: Se pesa la glándula salivar derecha entera y se toma como muestra una porción.
- Colon: Como muestra se toma una porción de colon próxima al caecum.
- Glándula Harderiana: Una porción de la glándula harderiana derecha se procesa como muestra.

- Tejido adiposo: Como muestra se toma una porción de grasa abdominal.
- Tiroides: Se toman como muestras los dos lóbulos del tiroides.
- Timo: Se pesa el timo entero y una porción de su extremo apical se toma como muestra.
- Yeyuno: Una porción del yeyuno, sin placas de Peyer se procesa como muestra.
- Piel: Se toma como muestra una porción de la piel del metatarso derecho.
- Tejido muscular: Una porción del músculo de la pata derecha, se toma como muestra.
- Pulmón: Se pesan los dos pulmones y una porción del extremo apical del pulmón derecho se toma como muestra.
- Corazón: El corazón entero se pesa y una aurícula se procesa como muestra.
- Cerebro: El cerebro entero se pesa y una porción de su parte media se procesa como muestra.
- Estómago: Se pesa el estómago entero y se toma como muestra una porción que incluya parte pilórica y parte cardíaca.
- Médula ósea: Se parten las tibias y por aspiración, con la ayuda de una jeringa de 1 ml se toma la muestra.

4.8.6.- Estudio del paso de la barrera placentaria

Las ratas preñadas de 15 días, una vez dosificadas son devueltas a su jaula y se sacrifican a los tiempos predefinidos (1, 4 y 24 horas), por inhalación de éter etílico. Inmediatamente se les extrae una muestra de sangre (5 - 10 ml) por punción

cardíaca y una alícuota de 50 μ l se transfiere a un vial de vidrio para centelleo líquido. El resto de la sangre se centrifuga a 3000 rpm durante 15 minutos y una alícuota de 100 μ l de plasma se pasa a un vial de polietileno para centelleo líquido.

Inmediatamente después del sacrificio se les extraen los órganos seleccionados, que se lavan en suero fisiológico y se secan cuidadosamente.

El número de órganos y tejidos que se extraen, así como la zona de toma de muestras se especifican a continuación:

- Útero: Como muestra se toma una porción del cuerno uterino derecho.
- Placenta: Un trozo de placenta se pesa y se procesa como muestra.
- Fetos: Cuatro fetos enteros, dos de cada cuerno uterino se pesan y se procesan como muestras.
- Líquido amniótico: Mediante una jeringa de 1 ml y a través del saco amniótico, se toma por aspiración el líquido amniótico. Una alícuota de 50 μ l se procesa como muestra.

4.8.7.- Estudio de la unión de la ^{14}C -Elgodipina a las proteínas plasmáticas.

Alícuotas de plasma, tampón y ultrafiltrado (500 μ l) y las membranas de diálisis enteras, se procesan directamente como muestras.

4.9.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SU ANÁLISIS

4.9.1.- Preparación de muestras de plasma para su análisis por HPLC.

Las muestras de plasma en los estudios farmacocinéticos realizados con Elgodipina sin marcar, antes de proceder a su análisis por HPLC, deben ser tratadas con el fin de eliminar interferencias y aumentar la concentración del analito.

Para ello una alícuota del plasma (0.5 - 1.5 ml) se transfiere a un tubo de 10 ml de polipropileno y se mezcla, mediante un Vortex, con 100 μ l de una disolución metanólica de Oxodipina de 1 μ g/ml (estándar interno) y 100 μ l de una disolución 0.1 M de Hidróxido Sódico, previamente lavada con éter dietílico. A continuación se añaden 4 ml de una mezcla 50/50 v/v de n-hexano y éter dietílico, se tapa el tubo y se agita durante 10 minutos (agitador rotativo Stuart STR-4, U.K.). Después se centrifuga (5 minutos, 3000 rpm) para separar la fase orgánica de la acuosa y con la ayuda de una pipeta se transfieren 3 ml de la fase orgánica (superior) a un tubo de vidrio (12 x 75 mm).

La fase orgánica se evapora a sequedad con la ayuda del evaporador SpeedVac SVC-100 (Savant, U.S.A.) y el residuo se redisuelve con 120 μ l de la fase móvil utilizada en el HPLC.

La disolución final obtenida, se transfiere a un microvial y una alícuota de 75 μ l se inyecta en el sistema de HPLC.

Las disoluciones finales se pueden mantener hasta 24 horas a 0 - 3°C, sin que se aprecie ninguna variación.

Los volúmenes de plasma usados en el análisis de HPLC son variables, en función de la concentración de Elgodipina que se espera encontrar.

4.9.2.- Preparación de las muestras de plasma y de líquido amniótico para su análisis por centelleo líquido.

Alícuotas de 50 μ l de las muestras de plasma o líquido amniótico, se mezclan con 3.5 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. N^o NEF-898) en vial de polietileno de 6 ml de capacidad y se introducen directamente en el contador de centelleo líquido.

4.9.3.- Preparación de las muestras de orina para su análisis por centelleo líquido.

Alícuotas de 100 - 250 μ l de las muestras de orina se mezclan con 3.5 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. N^o NEF-898) en vial de polietileno y se introducen directamente en el contador de centelleo líquido.

4.9.4.- Preparación de las muestras de heces para su análisis por centelleo líquido.

En un vial de vidrio de 20 ml de capacidad, se pesa exactamente una cantidad (entre 50 y 100 mg) de las muestras de heces y se rehidratan con 200 μ l de agua durante 1 hora a temperatura ambiente. Después se digiere la muestra con 1.0 ml de Solvable (Dupont, Cat. N^o NEF-910) a 50°C durante 24 horas. Al final de la digestión se procede a la decoloración, añadiendo 200 μ l de agua oxigenada (Merck, Art. 7210) y finalmente se

mezcla con 15 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. N° NEF-898).

4.9.5.- Preparación de las muestras de bilis para su análisis por centelleo líquido.

Alícuotas de 100 μ l de las muestras de bilis se mezclan con 3.5 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. N° NEF-898) en viales de polietileno de 6 ml de capacidad y se introducen directamente en el contador de centelleo líquido.

4.9.6.- Preparación de las muestras de sangre entera y de órganos para su análisis por centelleo líquido.

Las muestras de tejidos (20 - 100 mg) y de sangre entera (50 μ l) se digieren, en viales de vidrio de 20 ml de capacidad, con 0.5 ml de Solvable (Dupont Cat. N° NEF-910) en una estufa termorregulada a $50 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas. Después se procede a la decoloración de las muestras digeridas con 0.2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % (Perhydrol 30% Merck Art. N° 7210) a 50°C durante 1 hora.

Una vez decoloradas se añaden 10 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. N° NEF-898). En el caso de muestras de peso superior a 150 mg, por ejemplo los fetos y la placenta, se necesitaron 15 ml de líquido de centelleo para obtener una mezcla homogénea.

4.9.7.- Preparación de las muestras procedentes del estudio de unión a proteínas plasmáticas.

Las muestras procedentes del estudio de unión a las proteínas plasmáticas (alícuotas de 500 μ l de plasma, tampón o ultrafiltrado) y las membranas de diálisis enteras se mezclan, en viales de polietileno de 6 ml de capacidad, con 4.5 ml de líquido de centelleo (Dupont, Cat. Nº NEF-898) y se introducen directamente en el contador de centelleo líquido.

4.10.- PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES Y RECTAS DE CALIBRACIÓN.

Con el fin de obtener rectas de calibración que permitan por interpolación la determinación de las concentraciones de Elgodipina en las muestras, se preparan estándares de concentración conocida en plasmas blancos control de rata o perro de animales que no han sido nunca tratados con Elgodipina. Para poder abarcar todo el intervalo de concentraciones, se preparan en dos intervalos: de 25 a 1000 ng/ml y de 1 a 100 ng/ml.

Para el intervalo de 25 a 1000 ng/ml, se toman alícuotas de 0.5 ml de plasma blanco control y se añaden 100 μ l de las siguientes disoluciones de Elgodipina Clorhidrato en metanol: 125, 250, 500, 1250, 2500 y 5000 ng/ml. De esta forma se obtienen estándares de calibración que contienen 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ng/ml de Elgodipina Clorhidrato en plasma.

Para el intervalo de 1 a 100 ng/ml, se toman alícuotas de 1.5 ml de plasma blanco control y se añaden 100 μ l de las siguientes disoluciones de Elgodipina Clorhidrato en metanol: 15, 30, 75, 150, 375, 750 y 1500 ng/ml. De esta forma se obtienen

estándares de calibración que contienen 1, 2, 5, 10, 25, 50 y 100 ng/ml de Elgodipina Clorhidrato en plasma.

De igual forma se preparan muestras de concentración conocida en el intervalo de 7.5 a 750 ng/ml, que se utilizan como controles de calidad.

4.11.- DETERMINACIÓN DE ELGODIPINA SIN METABOLIZAR EN PLASMA.

La concentración de Elgodipina sin metabolizar en plasma se determina mediante HPLC en condiciones isocráticas utilizando una bomba LC-9A (Shimadzu) un inyector automático WISP 710B (Waters, Millipore) y un detector de fluorescencia RF-535 (Shimadzu), operando a 375 nm y 425 nm como longitudes de onda de excitación y emisión respectivamente. Como registrador se utiliza un integrador 740 Data Module (Waters, Millipore).

Se emplea una columna de acero inoxidable empaquetada con Spherisorb SI (25 cm x 4.0 mm de diámetro interno) de 5 μ m de diámetro medio de partícula (Teknokroma, Barcelona).

La cromatografía se realiza en fase normal usando una fase móvil compuesta por 350 μ l de hidróxido amónico al 33 %, 25 ml de metanol, 25 ml de diclorometano y 370 ml de n-hexano. La fase móvil se desgasifica en un baño de ultrasonidos durante 5 minutos y se bombea a un flujo de 1.2 ml/min.

En estas condiciones la Elgodipina y el estándar interno (Oxodipina), presentan un tiempo de retención aproximado de 7.5 y 9 minutos, respectivamente.

4.12.- ESTUDIO DE LA UNIÓN A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

El estudio de la unión a las proteínas plasmáticas se realiza mediante dos procedimientos: equilibrio de diálisis y ultrafiltración. A continuación se describen los métodos correspondientes a ambos procedimientos.

4.12.1.- Determinación del contenido de proteínas.

La determinación del contenido de proteínas los plasmas se realiza por el método de Bradford y en los dializados de los plasmas por el método de microanálisis de Bradford.

4.12.1.1.- Preparación de los reactivos.

El reactivo concentrado se diluye 1/4 con agua desionizada y se filtra a través de papel Whatman Nº 40. Esta disolución del reactivo debe utilizarse inmediatamente. Para el método de microanálisis, se utiliza el reactivo sin diluir.

4.12.1.2.- Preparación de los estándares de proteínas.

Se pesan exactamente 200 mg de Albúmina de suero bovino (Sigma A-2153) y se disuelven en 100 ml de agua destilada. Alícuotas de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 ml de esta disolución se diluyen a 10 ml con agua destilada, para obtener disoluciones estándar de 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 y 1400 µg/ml respectivamente.

En el caso del microanálisis, se pesan 100 mg de Albúmina y se disuelven en 100 ml de agua destilada. Esta

disolución se diluye 1 a 10 para obtener una concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$ en agua destilada. Alícuotas de 0.5, 2.5, 5, 7.5 y 10 ml de ésta última disolución se diluyen con agua destilada hasta 50 ml, para obtener disoluciones estándar de 1, 5, 10, 15 y 20 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

4.12.1.3.- Preparación de las muestras.

Alícuotas de 100 μl de los plasmas se diluyen a 10 ml con agua destilada. Los dializados de los plasmas se utilizaron sin ninguna dilución.

4.12.1.4.- Procedimiento para la determinación del contenido de proteínas.

Se transfieren 0.1 ml (0.8 ml en el caso del microanálisis) de las disoluciones estándares y de las muestras a tubos de ensayo. Como muestra blanco, se utiliza igual volumen de agua desionizada.

Se añaden 5 ml del reactivo diluido (0.2 ml del reactivo concentrado en el caso del microanálisis) a cada tubo, se agitan y se dejan en reposo durante al menos 5 minutos. Transcurrido este tiempo se determina la absorbancia a 595 nm utilizando la muestra blanco como referencia.

(Todas las muestras se procesan por duplicado).

Representando los valores de absorbancia frente a las concentraciones de las disoluciones estándar, se obtiene una recta de regresión de la que, por interpolación, se

obtienen los valores de concentración de proteína en las muestras problema.

4.12.2.- Diálisis de equilibrio.

El proceso de diálisis se lleva a cabo en células de metacrilato, que constan de dos cámaras de forma cilíndrica, separadas por la membrana de diálisis. Cada cámara tiene una capacidad máxima de 5 ml y la superficie de diálisis es de 4.9 cm².

4.12.2.1.- Preparación de las disoluciones estándar.

Se prepara una disolución de 2.25 mg/ml de Elgodipina Clorhidrato en metanol y se diluye 1 a 100, para obtener una disolución de 22.5 µg/ml. De esta disolución se efectúan las siguientes diluciones:

Tabla VII
Preparación de las disoluciones estándar
(diálisis de equilibrio)

Disolución 22.5 µg/ml	Volumen Final	Elg.HCl Conc.	Elg. base Conc.	Código
1.0 ml	50 ml	0.45 µg/ml	0.42 µg/ml	EST-A
2.8 ml	50 ml	1.26 µg/ml	1.18 µg/ml	EST-B
6.3 ml	50 ml	2.83 µg/ml	2.65 µg/ml	EST-C
17.0 ml	50 ml	7.65 µg/ml	7.16 µg/ml	EST-D
34.8 ml	50 ml	15.66 µg/ml	14.65 µg/ml	EST-E

4.12.2.2.- Preparación de las disoluciones de diálisis.

Las disoluciones de diálisis se preparan mezclando una disolución en metanol de ¹⁴C-Elgodipina (0.216 µCi/ml, 1.643

$\mu\text{g/ml}$) con las disoluciones estándar anteriores, de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla VIII
Preparación de las disoluciones de diálisis

Disolución de ^{14}C -Elgodipina	Disolución estándar	Volumen de plasma	Conc. Elg. en plasma
35 μl	165 μl MeOH	4.8 ml	11.50 ng/ml
35 μl	165 μl EST-A	4.8 ml	25.36 ng/ml
35 μl	165 μl EST-B	4.8 ml	50.44 ng/ml
35 μl	165 μl EST-C	4.8 ml	98.95 ng/ml
35 μl	165 μl EST-D	4.8 ml	247.80 ng/ml
35 μl	165 μl EST-E	4.8 ml	494.90 ng/ml

4.12.2.3.- Preparación de las membranas de diálisis.

Las membranas de diálisis (DIACHEMA Ref. 10.17, Molecular weight cut-off: 10000, diámetro: 63 mm) se empaparon tres veces con agua desionizada durante 10 minutos y dos veces con tampón fosfatos 1/15 M pH 7.5 durante 15 minutos.

4.12.2.4.- Procedimiento.

Se sitúan las membranas de diálisis entre los dos compartimentos de cada una de las células de diálisis. Uno de los compartimentos se llena con 5 ml de tampón fosfatos 1/15 M pH 7.4, y el otro con 4.8 ml de plasma, 35 μl de la disolución de ^{14}C -Elgodipina y 165 μl de las disoluciones estándar (Tablas VII y VIII). Como medida de control inicial ($t=0$ h) se toma una alícuota de 500 μl de ambos compartimentos y se determina la radiactividad.

Las células de diálisis se introducen en un baño termostatzado a 37°C y provisto de una agitación suave (una oscilación completa cada 3 segundos) y se permite que se establezca el equilibrio de diálisis a través de la membrana durante 5 horas.

4.12.3.- Ultrafiltración.

El método de ultrafiltración se lleva a cabo utilizando unos conos de ultrafiltración (AMICON Ref. CF 25, Molecular CUT-OFF: 25000).

4.12.3.1.- Preparación de las disoluciones estándar.

Se prepara una disolución de 2.25 mg/ml de Elgodipina Clorhidrato en metanol y se diluye 1 a 100, para obtener una disolución de 22.5 µg/ml. De esta disolución se efectúan las siguientes diluciones:

Tabla IX
Preparación de las disoluciones estándar
(ultrafiltración)

Disolución 22.5 µg/ml	Volumen final	Elg.HCl Conc.	Elg. base Conc.	Código
1.0 ml	50 ml	0.45 µg/ml	0.42 µg/ml	EST-A
2.8 ml	50 ml	1.26 µg/ml	1.18 µg/ml	EST-B
6.3 ml	50 ml	2.83 µg/ml	2.65 µg/ml	EST-C
17.0 ml	50 ml	7.65 µg/ml	7.16 µg/ml	EST-D
34.8 ml	50 ml	15.66 µg/ml	14.65 µg/ml	EST-E

4.12.3.2.- Preparación de las disoluciones de ultrafiltración.

Las disoluciones de ultrafiltración se preparan mezclando una disolución en metanol de ^{14}C -Elgodipina (0.216 $\mu\text{Ci/ml}$, 1.643 $\mu\text{g/ml}$) con las disoluciones estándar anteriores, de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla X
Preparación de las disoluciones para ultrafiltración

Disolución de ^{14}C -Elgodipina	Disolución estándar	Volumen de plasma	Conc. Elg. en plasma
10 μl	50 μl MeOH	1.5 ml	10.95 ng/ml
10 μl	50 μl EST-A	1.5 ml	24.95 ng/ml
10 μl	50 μl EST-B	1.5 ml	50.29 ng/ml
10 μl	50 μl EST-C	1.5 ml	99.28 ng/ml
10 μl	50 μl EST-D	1.5 ml	249.48 ng/ml
10 μl	50 μl EST-E	1.5 ml	499.28 ng/ml

4.12.3.3.- Preparación de los conos de ultrafiltración.

Los conos de ultrafiltración se preparan sumergiéndolos en agua desionizada durante al menos una hora.

4.12.3.4.- Procedimiento.

En tubos de vidrio (12 x 75 mm) se transfieren 1.5 ml de cada una de las disoluciones de ultrafiltración. Como medida de control inicial (t=0 h) se toma una alícuota de 500 μl de ambos compartimentos y se determina la radiactividad.

Los tubos se introducen en un baño termostatzado a 37°C y provisto de una agitación suave (una oscilación completa cada 3 segundos) y se permite que se establezca el equilibrio durante 5 horas. Al final de este período, se sitúan los conos de ultrafiltración en sus soportes y se transfieren las muestras a su interior. Se centrifugan a 2000 rpm (siempre inferior a 1000 G) durante 15 minutos y se mide la radiactividad en los ultrafiltrados. Como blanco se procesa una muestra con agua desionizada y se utiliza para la medida del fondo.

4.12.4.- Medida de la radioactividad.

Las muestras de tampón, de plasma o de ultrafiltrados (500 μ l) y las membranas enteras de diálisis, se mezclan, en viales de polietileno de 6 ml de capacidad, con 4.5 ml de líquido de centelleo y se introducen directamente en el contador.

4.13.- DETERMINACIÓN DE ^{14}C -ELGODIPINA. MEDIDA DE LA REACTIVIDAD

La radiactividad de las muestras se mide con un contador de centelleo líquido (1214 RackBeta, LKB). Se utiliza el método del estándar externo para determinar la radioactividad absoluta con relación a una curva estándar de extinción, previamente preparada.

El modo de contaje fue seleccionado para que el tiempo de contaje fuera de 5 minutos o que se acumulasen 900000 cuentas y cada muestra se mide tres veces.

Cuando la radiactividad medida es inferior a dos veces el ruido de fondo, se considera que no es detectable.

4.14.- TRATAMIENTO DE LOS DATOS

4.14.1.- Datos procedentes de los estudios cinéticos con producto frío.

Los datos de los niveles plasmáticos obtenidos, se ajustan a un modelo farmacocinético adecuado por medio de un programa iterativo de regresión no-lineal por mínimos cuadrados. El programa utilizado es el desarrollado por Sheiner, L.B. (1981) y llamado ELSFIT.

A partir del área bajo la curva de los niveles plasmáticos y de los coeficientes y exponentes de la ecuación suministrada por el programa de ajuste, se obtienen los valores de los diferentes parámetros farmacocinéticos.

Por comparación de los estudios por vía oral con los estudios por vía intravenosa, se obtienen valores de la biodisponibilidad absoluta del principio activo en la forma farmacéutica administrada.

4.14.2.- Datos procedentes de los estudios cinéticos con producto marcado.

Los valores de concentración química equivalente se calculan a partir de la radioactividad total de las muestras y de la actividad específica del producto administrado:

$$C \text{ (ng eq./ml)} = C \text{ (dpm/ml)} / \text{Act. Esp. (dpm/ng)}$$

Una vez obtenidos estos valores de concentración, se realiza el ajuste y el cálculo de los parámetros farmacocinéticos de la forma indicada en el apartado anterior.

4.14.3.- Datos procedentes de los estudios de excreción.

Se determinan los porcentajes de dosis excretadas por comparación de la radioactividad total de las muestras y de radioactividad total de la dosis administrada.

4.14.4.- Datos procedentes de los estudios de distribución tisular.

La radioactividad medida en las muestras, es referida al peso total del órgano o al volumen en el caso de muestras líquidas (dpm/mg o dpm/ml).

Los valores de concentración química equivalente se calculan a partir de los datos de radioactividad total medida en las muestras y de la actividad específica de la ^{14}C -Elgodipina administrada:

$$C \text{ (ng eq./ml)} = C \text{ (dpm/ml)} / \text{Act. Esp. (dpm/ng)}$$

$$C \text{ (ng eq./g)} = C \text{ (dpm/mg)} \times 1000 / \text{Act. Esp. (dpm/ng)}$$

Los valores de distribución en tejidos, en términos de %dosis/g o ml de tejido, se calculan a partir de los datos expresados como peso equivalente/g o ml y de la dosis administrada:

$$C \text{ (% dosis/ml)} = C \text{ (ng eq./ml)} \times 100 / \text{dosis (ng)}$$

$$C \text{ (% dosis/g)} = C \text{ (ng eq./g)} \times 100 / \text{dosis (ng)}$$

Los valores de distribución en tejidos también se expresan como % dosis/tejido, a partir de los valores de % dosis/g o ml y del peso total del órgano o tejido:

$$C \text{ (% dosis/tejido)} = C \text{ (% dosis/g o ml)} \times \text{Peso tejido}$$

Finalmente se calculan las relaciones tejido/plasma, comparando los valores de radiactividad en ambos.

4.14.5.- Datos procedentes del estudio de unión a proteínas plasmáticas.

Los porcentajes de unión se calculan de la siguiente manera:

$$\% \text{ unión} = (C_T - C_F) \times 100 / C_F$$

Donde C_T = Concentración total de Elgodipina (unida + libre)

C_F = Concentración de Elgodipina libre

4.15.- CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

Los valores individuales se agrupan y son expresados por su valor medio, el error estándar de la media (ESM) y el coeficiente de variación (C.V.).

La comparación estadística entre machos y hembra se efectúa mediante un análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial. El nivel de confianza establecido fue del 95 %. Cuando el análisis de la varianza muestra diferencias significativas, se procede a un análisis de comparación múltiple por parejas mediante el test de Sheffe. Los análisis estadísticos se efectuaron con dos programas, STATGRAF (Statistical Graphics Corporation, U.S.A.) y SAS (S.A.S. Institute INC. Campus Drive, Cary, NC 27513, U.S.A.).

Los estudios estadísticos han sido asesorados por CIBEST (Centro de Investigación Bioestadística, Chozas de la Sierra, 1ª-2ª A, 28002 Madrid)

RESULTADOS

5.- RESULTADOS

5.1.- ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA DE ELGODIPINA CLORHIDRATO EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Después de una administración única de 1 mg/kg de Elgodipina Clorhidrato por vía intravenosa, se estudia la farmacocinética analizando las concentraciones de Elgodipina sin metabolizar en el plasma de las ratas tratadas.

Debido al pequeño tamaño de los animales y al volumen de muestra necesitada para el análisis (0.5 a 1.5 ml de plasma) se efectúa una extracción de sangre por animal.

Los animales se dosifican de acuerdo a los puntos 4.4.1, 4.5.2, 4.6.1 y 4.7.1 descritos en el apartado de Materiales y Métodos, empleando un total de 63 machos (221 ± 10 g) y 62 hembras (195 ± 15 g).

Una vez dosificados se sacrifican a tiempos predefinidos (0, 2, 5, 10, 20, 30 y 35 minutos, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 horas), obteniendo 2-5 ml de sangre por punción cardíaca. El plasma obtenido se analiza de acuerdo a los procedimientos descritos en los puntos 4.8.1, 4.9.1, 4.10 y 4.11.

Las siguientes tablas muestran las rectas de calibración obtenidas con los diferentes intervalos de concentración analizados y utilizadas para la determinación de la concentración de Elgodipina en plasma.

Tabla XI

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 50 - 2000 ng/ml (0.5 ml de plasma)

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
1	0.2165	0.0041	0.9992
2	0.0297	0.0046	0.9997
Media	0.1231	0.0043	
± E.S.M.	0.1321	0.0003	
C.V. (%)	107	7.8	

Tabla XII

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 25 - 1000 ng/ml (1.0 ml de plasma).

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
3	0.0607	0.0080	0.9999
4	0.0072	0.0084	0.9984
5	0.0587	0.0081	0.9998
Media	0.0422	0.0082	
± E.S.M.	0.0214	0.0001	
C.V. (%)	72	2.5	

Tabla XIII

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 1 - 100 ng/ml (1.5 ml de plasma).

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
6	0.0621	0.0123	0.9990
7	0.0970	0.0132	0.9982
8	0.0559	0.0129	0.9998
9	0.0899	0.0104	0.9922
10	0.0839	0.0107	0.9956
11	0.0696	0.0119	0.9998
12	0.0872	0.0168	0.9728
Media	0.0779	0.0126	
± E.S.M.	0.0063	0.0009	
C.V. (%)	20	17	

La siguiente tabla muestra los controles de calidad analizados de forma aleatoria junto con las muestras.

Tabla XIV

Relación de los controles de calidad analizados en serie con las muestras

Control Calidad n.	Conc. teórica (ng/ml)	Conc. analiz. (ng/ml)	Recuperación (%)
1	7.5	6.6	88.0
2	7.5	7.3	97.3
3	75.0	73.1	97.5
4	75.0	78.2	104.3
5	75.0	82.7	110.3
6	75.0	70.0	93.3
Media			98.5
± E.S.M.			3.2
C.V. (%)			8.0

Las concentraciones de Elgodipina Clorhidrato en plasma de rata encontradas después de una dosis única de 1 mg/kg por vía intravenosa, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XV

Concentraciones de Elgodipina Clorhidrato en plasma de rata. Administración intravenosa de 1 mg/kg. Los resultados se expresan como ng/ml.

TIEMPO (h)	MACHOS		HEMBRAS	
	Conc.	Media ± ESM	Conc.	Media ± ESM
0	1	N.D.	1	N.D.
	2	N.D.	2	N.D.
	3	N.D.	3	N.D.
	4	N.D.	4	N.D.
0.033	1	1496.35	1	794.76
	2	867.24	2	584.37
	3	1079.47	3	605.12
	4	935.80	4	609.03
	5	791.11	5	645.39
0.083	1	443.73	1	364.19
	2	416.72	2	392.19
	3	443.79	3	359.64
	4	376.93	4	273.91
	5	723.43	5	357.25
0.167	1	-----	1	254.82
	2	388.58	2	276.61
	3	322.02	3	208.65
	4	375.87	4	244.34
0.333	1	229.00	1	192.34
	2	241.58	2	227.05
	3	276.62	3	268.33
	4	239.90	4	172.95
0.5	1	108.11	1	-----
	2	103.77	2	108.73
	3	109.95	3	87.09
	4	111.84	4	129.21
	5	102.40		
0.75	1	83.76	1	52.89
	2	87.95	2	114.83
	3	78.31	3	94.84
	4	88.55	4	83.39

TIEMPO (h)	MACHOS Conc. Media \pm ESM		HEMBRAS Conc. Media \pm ESM			
1	1	63.83		1	62.55	
	2	58.44	54.54	2	50.06	48.85
	3	50.33	± 4.08	3	41.45	± 5.00
	4	45.55		4	41.34	
1.5	1	39.15		1	29.40	
	2	24.71	30.90	2	27.27	27.42
	3	40.63	± 5.32	3	23.58	± 1.37
	4	19.13		4	29.42	
2	1	19.76		1	16.26	
	2	17.34	16.52	2	20.89	16.44
	3	13.44	± 1.34	3	13.24	± 1.61
	4	15.54		4	15.38	
3	1	7.25		1	5.28	
	2	4.13	7.39	2	10.30	7.65
	3	6.07	± 1.70	3	9.63	± 1.34
	4	12.11		4	5.41	
4	1	5.04		1	3.95	
	2	3.47	5.86	2	4.61	5.14
	3	12.28	± 2.19	3	3.82	± 1.03
	4	2.67		4	8.17	
6	1	3.17		1	4.11	
	2	4.72	3.14	2	3.58	3.96
	3	2.24	± 0.56	3	2.05	± 0.83
	4	2.42		4	6.09	
8	1	3.62		1	N.D.	
	2	N.D.	N.D.	2	N.D.	N.D.
	3	N.D.		3	N.D.	
	4	N.D.		4	N.D.	
12	1	N.C.		1	N.D.	
	2	N.D.	N.D.	2	N.D.	N.D.
	3	N.D.		3	N.D.	
	4	N.D.		4	----	
24	1	N.D.		1	N.D.	
	2	3.58	N.D.	2	N.D.	N.D.
	3	N.D.		3	N.C.	
	4	N.C.		4	N.D.	

N.C. = <2 ng/ml

N.D. = <1 ng/ml

---- = Muestra no analizada

La representación gráfica de estos valores de concentración frente al tiempo se muestra en la gráfica siguiente:

NIVELES PLASMATICOS DE ELGODIPINA EN RATA
(i.v., 1 mg/kg)

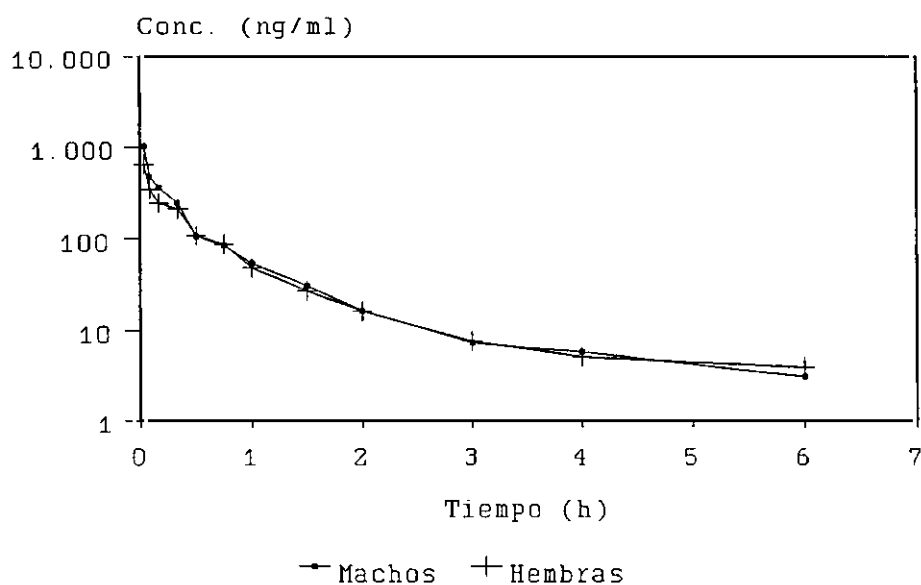


Figura 16

Como puede observarse se presenta un decaimiento bifásico de la concentración en función del tiempo. Para comprobar si la concentración plasmática, como variable dependiente, está influenciada por los factores sexo y tiempo, se efectúa un tratamiento estadístico mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías. Este análisis muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) para ambos factores y también para su interacción. Como consecuencia de esto, se hace un análisis de comparación múltiple de medias (Test de Scheffe) en el cual se compara cada grupo de concentraciones

correspondientes a un tiempo con todos los demás. Este análisis muestra diferencias estadísticamente significativas desde los 5 a los 45 minutos. Es decir que durante los 45 primeros minutos, fase rápida de disposición, las diferencias de concentraciones plasmáticas entre machos y hembras, son estadísticamente significativas. Para tiempos superiores a los 45 minutos, no se observan diferencias entre ambos sexos.

Para el estudio de la curva concentración-tiempo, se realiza un análisis de regresión no lineal, mediante el programa ELSFIT. Los datos experimentales se ajustan a un modelo bicompartimental abierto, con eliminación de primer orden desde el compartimento central. Las ecuaciones obtenidas son las siguientes:

$$\text{Machos: } C = 503.79 e^{-2.2902.t} + 18.27 e^{-0.2944.t}$$

$$\text{Hembras: } C = 358.01 e^{-1.9121.t} + 10.11 e^{-0.1600.t}$$

El área bajo la curva (AUC) se calcula por integración de la curva conc.-tiempo. Con los coeficientes y exponentes de las ecuaciones obtenidas y con el AUC se calculan los siguientes parámetros farmacocinéticos:

V_c , volumen de distribución del compartimento central

V_{ss} , volumen de distribución en el estado estacionario

CL , aclaramiento sistémico total

$t_{\frac{1}{2}\alpha}$, semi-vida de la fase α

$t_{\frac{1}{2}\beta}$, semi-vida de la fase β

MRT , tiempo medio de residencia

K_{12} , constante de velocidad de distribución desde el compartimento central al compartimento periférico.

K_{21} , constante de velocidad de distribución desde el compartimento periférico al compartimento central.

K_{10} , constante de velocidad de eliminación desde el compartimento central.

Estos parámetros farmacocinéticos se calculan a partir de las siguientes ecuaciones:

$$AUC = \frac{A_1}{\alpha} + \frac{A_2}{\beta}$$

$$V_c = \text{Dosis} / (A_1 + A_2)$$

$$V_{ss} = (K_{12} + K_{21}) \times V_c / K_{21}$$

$$CL = \text{Dosis} / AUC$$

$$t_{1/2\alpha} = 0.693 / \alpha$$

$$t_{1/2\beta} = 0.693 / \beta$$

$$MRT = AUMC / AUC$$

$$AUMC = (A_1 / \alpha)^2 + (A_2 / \beta)^2$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

$$K_{21} = \frac{(A_1 \times \beta) + (A_2 \times \alpha)}{A_1 + A_2}$$

$$K_{10} = \alpha \times \beta / K_{21}$$

donde A_1 , A_2 , α y β son, respectivamente, los coeficientes y exponentes de las ecuaciones de regresión obtenidas.

Los valores calculados para estos parámetros farmacocinéticos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XVI

Parámetros farmacocinéticos de Elgodipina
después de una dosis i.v. de 1 mg/kg en rata

Parámetro	Machos	Hembras
A ₁ (ng/ml)	504.62	358.01
A ₂ (ng/ml)	18.29	10.11
α (h ⁻¹)	2.2902	1.9121
β (h ⁻¹)	0.2944	0.1600
Dosis (mg)	0.221	0.195
t _{1/2α} (h)	0.30	0.36
t _{1/2β} (h)	2.35	4.33
V _c (l)	0.423	0.530
V _{ss} (l)	0.851	1.533
AUC (ng.h/ml)	282.47	250.42
CL (l/h)	0.782	0.779
MRT (h)	1.09	1.97
K ₁₂ (h ⁻¹)	0.3692	0.3940
K ₂₁ (h ⁻¹)	0.3642	0.2081
K ₁₀ (h ⁻¹)	1.8511	1.4700

Después de la administración intravenosa, las concentraciones plasmáticas de Elgodipina decrecen rápidamente. A los 5 minutos de la administración, se detectan 480.92 ± 61.85 ng/ml y 349.44 ± 19.89 ng/ml en machos y hembras respectivamente. Dos horas más tarde, las concentraciones han decaído a 16.52 ± 1.34 ng/ml para los machos y a 16.44 ± 1.61 ng/ml para las hembras. 8 horas después de la administración las concentraciones plasmáticas no son detectables (< 1 ng/ml).

La fase de disposición rápida (α) decae con una semi-vida de 0.30 h y 0.36 h para machos y hembras respectivamente; en la

fase de disposición lenta (β) las semi-vidas encontradas son de 2.36 h para los machos y 4.33 h para las hembras.

Debido a los relativamente elevados volúmenes de distribución encontrados, la Elgodipina se encuentra extensamente distribuida en los tejidos.

La eliminación es rápida como puede deducirse de los elevados valores del aclaramiento ($CL = 0.783$ l/h para machos y 0.779 l/h para hembras) y de los valores de las constantes de velocidad de eliminación ($K_{10} = 1.8484$ h⁻¹ para machos y 1.4700 h⁻¹ para hembras). Sin embargo la eliminación es un proceso más rápido que la distribución ($K_{10} > K_{12}$ para ambos sexos).

Las concentraciones plasmáticas de Elgodipina inalterada (sin metabolizar), después de la administración i.v., son estadísticamente diferentes entre los 5 y 45 minutos (post-dosis) para ambos sexos. Una vez superada la fase rápida de distribución, estas diferencias entre sexos no son apreciables.

5.2.- ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA DE ELGODIPINA CLORHIDRATO EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN ORAL.

Debido al pequeño tamaño de los animales y al volumen de muestra necesitada para el análisis (0.5 a 1.5 ml de plasma) se efectúa una extracción de sangre por animal.

Los animales se dosifican por vía oral con 10 mg/kg de Elgodipina, de acuerdo a los puntos 4.4.2, 4.5.1, 4.6.1 y 4.7.2 descritos en el apartado de Materiales y Métodos, empleando un total de 56 machos (241 ± 11 g) y 58 hembras (217 ± 11 g).

Una vez dosificados se sacrifican a tiempos predefinidos (0, 2, 5, 10, 20, 30 y 35 minutos, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 horas), obteniendo 2-5 ml de sangre por punción cardíaca. El plasma obtenido se analiza de acuerdo a los procedimientos descritos en los apartados 4.8.1, 4.9.1, 4.10 y 4.11.

Las siguientes tablas muestran las rectas de calibración obtenidas con los diferentes intervalos de concentración analizados y utilizadas para la determinación de la concentración de Elgodipina en plasma y los controles de calidad analizados de forma aleatoria junto con las muestras

Tabla XVII

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 25 - 1000 ng/ml (1.0 ml de plasma).

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
5	0.1147	0.0082	0.9999
8	0.1297	0.0083	0.9996
10	0.0707	0.0082	0.9967
Media	0.1050	0.0082	
± E.S.M.	0.0177	< 0.0001	
C.V. (%)	29	1	

Tabla XVIII

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 1 - 500 ng/ml (1.5 ml de plasma).

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
1	0.0607	0.0123	1.0000
2	0.0786	0.0124	0.9874
3	0.0510	0.0125	0.9996
4	0.0795	0.0122	0.9998
6	0.0661	0.0117	0.9977
7	0.0463	0.0141	0.9999
9	0.0538	0.0122	0.9983
11	0.0328	0.0112	0.9997
12	0.0232	0.0101	0.9963
Media	0.0547	0.0121	
± E.S.M.	0.0063	0.0003	
C.V. (%)	35	9	

Tabla XIX

Relación de los controles de calidad analizados en serie con las muestras

Control Calidad n.	Conc. teórica (ng/ml)	Conc. analiz. (ng/ml)	Recuperac. (%)
1	75	73.14	97.6
2	75	74.98	100.0
3	40	37.76	94.4
4	75	79.05	105.4
5	125	128.99	103.2
6	400	408.18	102.0
7	75	72.34	96.5
8	125	131.09	104.9
9	75	60.64	80.9
10	400	385.08	96.3
11	375	351.28	93.7
12	750	702.46	93.7
13	125	108.44	86.8
14	150	151.93	101.1
15	125	129.76	103.8
16	125	139.07	111.3
Media			98.2
± E.S.M.			1.9
C.V. (%)			7.6

La siguiente tabla muestra los valores individuales y las medias de las concentraciones de Elgodipina, a diferentes tiempos, encontradas en el plasma de las ratas dosificadas con 10 mg/kg oralmente.

Tabla XX

Concentraciones de Elgodipina Clorhidrato en plasma de rata. 10 mg/kg p.o. Los resultados se expresan como ng/ml.

TIEMPO (h)	MACHOS			HEMBRAS		
	Conc.	Media ± ESM		Conc.	Media ± ESM	
0	1	N.D.		1	N.D.	
	2	N.D.		2	N.D.	
	3	N.D.	N.D.	3	N.D.	N.D.
	4	N.D.		4	N.D.	
0.083	1	11.78		1	22.36	
	2	8.13	10.28	2	5.17	13.36
	3	3.26	±3.58	3	18.36	±4.79
	4	17.96		4	7.54	
0.167	1	73.29		1	63.45	
	2	42.22	47.94	2	56.29	65.24
	3	-----	±13.24	3	22.66	±22.95
	4	28.40		4	118.58	
0.333	1	225.56		1	70.51	
	2	256.34	243.51	2	76.51	102.62
	3	275.34	±15.68	3	-----	±29.16
	4	216.80		4	160.85	
0.5	1	25.32		1	270.36	
	2	114.11	70.07	2	370.78	225.26
	3	64.65	±21.11	3	66.82	±75.13
	4	76.22		4	189.10	
0.75	1	60.41		1	321.64	
	2	107.89	83.75	2	168.78	441.64
	3	80.32	±11.28	3	589.37	±137.75
	4	86.38		4	686.76	
1	1	21.83		1	48.67	
	2	16.17	30.56	2	260.51	110.96
	3	70.48	±15.49	3	101.93	±60.04
	4	13.78		4	32.74	

Tabla XX (Cont.)

TIEMPO (h)	MACHOS		HEMBRAS	
	Conc.	Media ± ESM	Conc.	Media ± ESM
1.5	1	25.61	1	41.22
	2	9.95	2	54.29
	3	15.91	3	84.00
	4	13.91	4	70.59
2	1	30.72	1	62.81
	2	7.45	2	67.02
	3	13.87	3	57.36
	4	13.12	4	55.36
3	1	22.45	1	92.25
	2	13.61	2	18.36
	3	39.20	3	56.69
	4	34.50	4	93.69
4	1	15.35	1	36.57
	2	8.86	2	60.74
	3	9.55	3	48.57
	4	18.44	4	92.66
6	1	4.55	1	47.01
	2	----	2	66.83
	3	14.06	3	110.52
	4	12.33	4	80.45
8	1	N.D.	1	137.55
	2	N.D.	2	139.48
	3	5.65	3	140.43
	4	4.79	4	77.82
12	1	10.41	1	111.44
	2	4.70	2	71.11
	3	5.43	3	99.29
	4	4.54	4	95.60
24	1	2.82	1	2.71
	2	N.D.	2	2.28
	3	3.11	3	N.D.
	4	N.D.	4	2.79

N.C. = <2 ng/ml

N.D. = <1 ng/ml

---- = Muestra no analizada.

La representación gráfica de estos valores de concentración frente al tiempo se muestra en la gráfica siguiente:

NIVELES PLASMATICOS DE ELGODIPINA EN RATA
(p.o., 10 mg/kg)

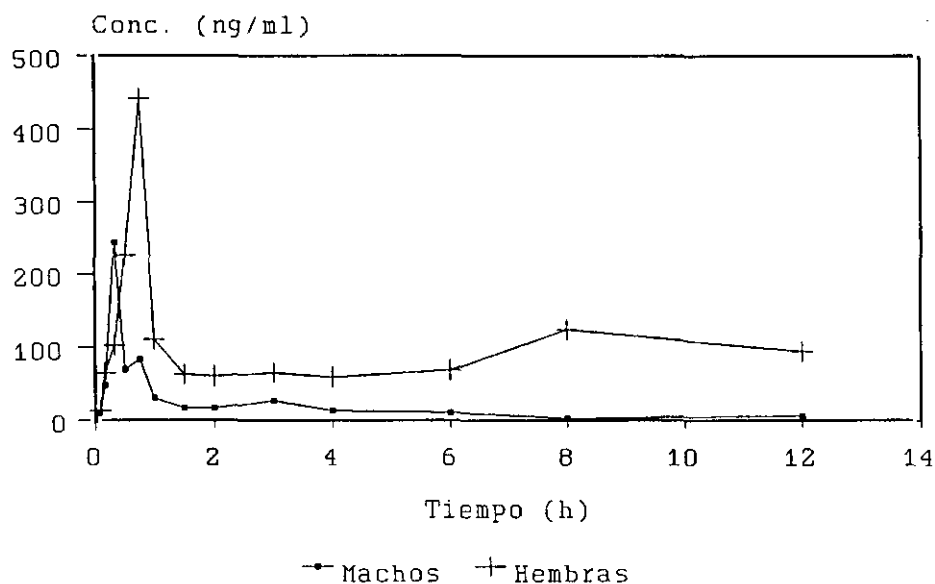


Figura 17

El análisis estadístico de estas curvas mediante un ANONA, considerando el sexo y el tiempo como fuentes de la variabilidad, muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) para ambos factores. Realizando análisis para un sólo factor, el sexo, a cada intervalo de tiempo, aparecen diferencias significativas ($p < 0.05$) para los siguientes tiempos: 0.333, 0.75, 1.5, 2, 4, 6, 8 y 12 horas.

Los valores de concentración de Elgodipina en plasma siempre son mas elevados en las hembras excepto a 0.333 h, cuando los machos presentan el máximo de concentración (243.51 ± 13.58 ng/ml). Estas diferencias pueden ser debidas a las cantidades y tipos de isoenzimas Citocromo P450 dependientes y a otras enzimas responsables de la biotransformación de las 1,4-dihidropiridinas.

La cantidad de Citocromo P450 en la fracción microsomal de ratas hembras es aproximadamente un 30% menor que en los machos (Baarnhielm, 1986). Las diferencias metabólicas, para otras 1,4-dihidropiridinas, entre ambos sexos de ratas ha sido descrita por Krauser (1988) y por Niwa (1988); encontraron que la actividad oxidasa en la Nivaldipina es aproximadamente 10 veces mayor en ratas machos que en hembras, metabolizándose por tanto más lentamente en estas últimas.

La concentración de Elgodipina en el plasma de los machos presenta picos secundarios a 0.75 y 3 h que pudieran ser debidos a la recirculación enterohepática.

En el caso de las hembras el máximo de concentración se encuentra a 0.75 h (441.64 ± 119.29 ng/ml). Un pico secundario de menor importancia se aprecia a las 8 h (123.82 ± 17.72 ng/ml).

Los máximos de concentración se alcanzan relativamente pronto (0.333 y 0.75 h, para machos y hembras respectivamente), lo cual indica que la Elgodipina se absorbe rápidamente del tracto gastro-intestinal.

Los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos anteriores se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XXI

**Parámetros farmacocinéticos de Elgodipina
dosis de 10 mg/kg oral en rata**

Parámetro	Machos	Hembras
Dosis p.o. (mg)	2.41 ± 0.11	2.17 ± 0.11
AUC ₀₋₁₂ (ng.h/ml) (p.o.)	202.37	1154.82
C _{max} (ng/ml)	243.51 ± 13.58	441.64 ± 119.29
T _{max} (h)	0.333	0.75
AUC ₀₋₁₂ (ng.h/ml) (i.v.)	275.32	214.98
Dosis i.v. (mg)	0.221	0.195
F (%)	6.74	48.27

donde F es la biodisponibilidad calculada como:

$$F = \frac{AUC_{p.o.}}{AUC_{i.v.}} \times \frac{Dosis_{i.v.}}{Dosis_{p.o.}}$$

Como puede observarse en la tabla la biodisponibilidad calculada para los machos es muy inferior a la calculada para las hembras, posiblemente debido a la diferencias metabólicas anteriormente comentadas.

5.3.- ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

A 6 ratas Wistar adultas de cada sexo (machos de 232 ± 14 g y hembras de 217 ± 14 g de peso), se les implantó una catéter en la aorta abdominal, de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.6.1 del apartado "Materiales y Métodos". Los animales

se dosifican intravenosamente (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg), en la vena caudal, con una disolución de 14 C-Elgodipina (puntos 4.7.3 y 4.8.2 del apartado de Materiales y Métodos). A tiempos predefinidos (0, 5, 15 y 30 minutos y 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas) se toman muestras de sangre (0.2 ml) a través del catéter implantado.

Después de centrifugar la muestra de sangre se toman 50 μ l de plasma para la determinación de la radioactividad total, de acuerdo al procedimiento descrito en los puntos 4.9.2 y 4.13 del apartado de Materiales y Métodos.

El límite de detección se establece en 200 dpm/ml, que corresponden a 2.1 ng equivalentes por ml (ng eq./ml).

En todos los estudios realizados con Elgodipina marcada isotópicamente, la concentración se expresa como ng equivalentes por ml (ng eq./ml), ya que en la determinación de la radioactividad total no se distingue entre Elgodipina inalterada de Elgodipina metabolizada.

Los valores de concentración química equivalente, se calculan a partir de la radioactividad medida en la muestra y de la actividad específica de la 14 C-Elgodipina administrada (43.14 μ Ci/mg, 95.78 dpm/ng), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Conc. (ng eq./ml)} = \text{Conc. (dpm/ml)} / \text{Act. Específica (dpm/ng)}$$

Los valores de concentración encontrados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla XXII

Concentraciones de radioactividad total en plasma después de una dosis i.v., 1 mg/kg (40 μ Ci/kg), de 14 C-Elgodipina en ratas.

Los resultados se expresan como ng equivalentes/ml.
(Valores medios n = 6).

Tiempo (h)	Concentración de 14 C-Elgodipina en plasma					
	Machos			Hembras		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
0.083	683.02	27.79	9.97	732.35	51.85	17.34
0.25	546.03	27.75	12.45	590.53	41.77	17.32
0.5	455.16	14.06	7.57	504.30	35.56	17.27
1	283.35	9.18	7.94	356.78	28.66	19.67
2	155.62	11.40	17.95	189.35	19.11	24.72
4	96.11	10.13	25.82	121.83	16.80	33.78
6	77.16	7.46	23.69	82.49	15.57	46.24
8	59.41	8.34	34.40	56.71	10.58	45.70
12	28.83	3.71	31.56	29.83	4.96	37.22
24	8.65	0.86	24.46	9.09	1.88	50.72
48	2.73	0.40	35.61	4.63	0.71	37.80

La comparación estadística de los valores de concentración encontrados, entre ambos sexos mediante un ANOVA de dos vías (sexo, tiempo) ($p < 0.05$) no muestra diferencias significativas en cuanto a la variable sexo y sólo a 1 hora en cuanto a la variable tiempo. Como era de esperar, si la determinación de la radioactividad total no distingue entre Elgodipina inalterada y sus metabolitos, las diferencias entre ambos sexos que se mostraban en el estudio con el producto "frío" (ver punto 1, del apartado de Resultados), ahora no se hacen patentes.

La representación de estos valores de concentración frente al tiempo, se muestra en la gráfica siguiente:

NIVELES PLASMATICOS DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA
(i.v., 1 mg/kg, 40 mCi/kg)

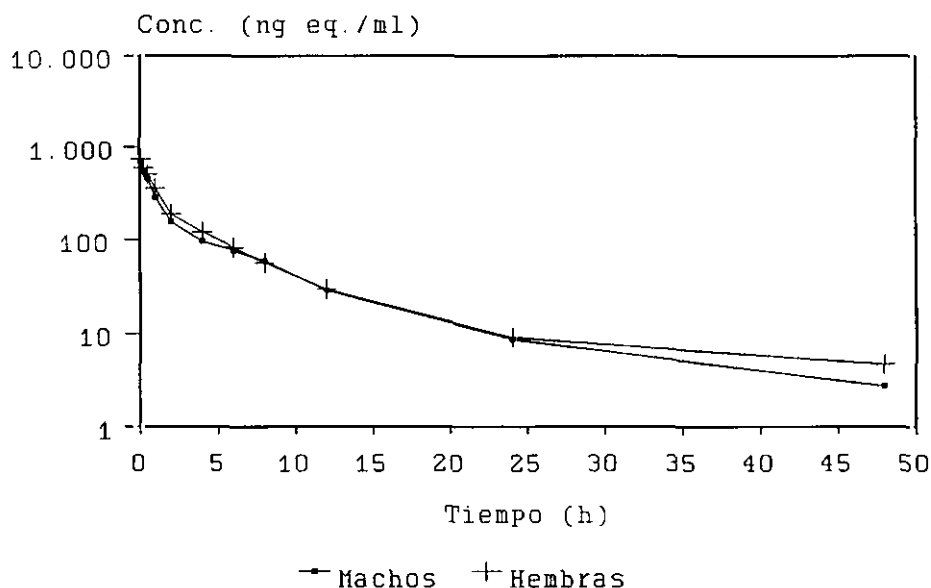


Figura 18

La evolución temporal de los niveles plasmáticos se ajusta a un modelo bicompartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimento central, mediante una regresión no lineal (programa ELSFIT). La ecuación ajustada es del tipo:

$$C = A_1 \cdot e^{-\alpha \cdot t} + A_2 \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

El área bajo la curva (AUC) se calcula por integración de la curva concentración - tiempo. Los parámetros farmacocinéticos se calculan con los coeficientes, exponentes y AUC calculados a partir de las ecuaciones descritas en el punto 1 del apartado de Resultados. Los coeficientes y exponentes ajustados y los parámetros farmacocinéticos calculados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XXIII

Parámetros farmacocinéticos de ^{14}C -Elgodipina
después de una dosis i.v. de 1 mg/kg (40 $\mu\text{Ci/kg}$) en rata

(valores medios n = 6)

Parámetro	Machos			Hembras		
	Media	E.S.M.	C.V.%	Media	E.S.M.	C.V.%
A_1 (ng/ml)	596.5	34.40	14.1	621.2	40.82	16.1
A_2 (ng/ml)	136.1	18.00	32.4	117.4	34.61	72.2
α (h^{-1})	1.305	0.120	22.5	0.950	0.188	48.6
β (h^{-1})	0.107	0.008	18.7	0.090	0.014	38.5
Dosis (mg)	0.230	0.008	8.7	0.215	0.006	6.4
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.540	0.045	20.4	0.930	0.212	55.9
$t_{1/2\beta}$ (h)	6.660	0.534	19.7	8.880	1.596	44.0
V_c (l)	0.314	0.015	12.1	0.304	0.028	23.0
V_{ss} (l)	0.950	0.101	26.1	0.822	0.079	23.6
AUC (ng.h/ml)	1733.9	83.56	11.8	2048.0	258.01	30.8
CL (l/h)	0.133	0.010	17.5	0.112	0.012	26.8
MRT (h)	7.090	0.490	16.9	7.560	0.759	24.6
K_{12} (h^{-1})	0.644	0.080	30.6	0.424	0.120	69.3
K_{21} (h^{-1})	0.341	0.060	43.1	0.241	0.063	63.6
K_{10} (h^{-1})	0.427	0.024	14.0	0.374	0.034	22.7

La comparación estadística entre ambos sexos de los parámetros farmacocinéticos calculados no revela diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $p < 0.05$).

Después de la administración i.v. de ^{14}C -Elgodipina a las ratas, la radioactividad decrece rápidamente. A los 5 minutos de la administración, se detectan 638.02 ± 27.99 ng eq./ml para los machos y 732.35 ± 51.85 ng eq./ml para las hembras. Dos horas más tarde las concentraciones han bajado a 155.62 ± 11.40 ng eq./ml y a 189.35 ± 19.11 ng eq./ml para machos y hembras respectivamente; a las 48 horas, la radioactividad medida está cerca de los valores de fondo.

La fase de disposición rápida (α) decae con una semi-vida de 0.54 ± 0.04 h (machos) y 0.93 ± 0.21 h (hembras); en la fase lenta de disposición (β) las vidas medias calculadas son 6.66 ± 0.53 h para los machos y 8.88 ± 1.59 h para las hembras.

Como consecuencia de los elevados valores de volumen de distribución calculados, la Elgodipina parece extensamente distribuida en los tejidos.

El proceso de eliminación está caracterizado por los valores de aclaramiento (0.133 ± 0.010 l/h para los machos y 0.112 ± 0.012 l/h para las hembras) y por los valores de las constantes de velocidad de eliminación (0.427 ± 0.024 h $^{-1}$ para los machos y 0.374 ± 0.034 h $^{-1}$ para las hembras). Estos valores aunque son más altos para los machos, estadísticamente no son diferentes de los de las hembras.

Las velocidades de eliminación calculadas parecen menores que las obtenidas con la Elgodipina sin marcar (ver punto 1 del apartado de Resultados), como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla XXIV

Comparación de parámetros farmacocinéticos
(administración i.v.)

Parámetro	Elgodipina inalterada		¹⁴ C-Elgodipina	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
CL (l/h)	0.782	0.779	0.133	0.112
$t_{1/2\beta}$ (h)	2.35	4.33	6.66	8.88
K_{10} (h ⁻¹)	1.851	1.470	0.427	0.374

Estas diferencias son debidas a que en la determinación de la radioactividad total, parámetro utilizado para la cuantificación, no se distingue entre la Elgodipina inalterada y a sus metabolitos y por el contrario en el estudio con producto sin marcar isotópicamente, la concentración refleja sólo la cantidad de Elgodipina sin metabolizar.

5.4.- ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN ORAL.

La ¹⁴C-Elgodipina se administra oralmente (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) a 12 ratas Wistar adultas (6 machos de 244 \pm 8 g y 6 hembras de 211 \pm 10 g), que han sido previamente sometidas a una operación quirúrgica para la implantación de un catéter en la arteria aorta abdominal. Los procedimientos empleados para la

implantación del catéter y la administración, se describen en los puntos 4.4.1, 4.6.1 y 4.7.3 del apartado de Materiales y Métodos.

Una vez dosificados los animales, se tomaron muestras de sangre (0.2 ml) de cada uno de ellos a tiempos predefinidos 0, 5, 15 y 30 minutos y 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 y 48 horas. Esta toma de muestra se realiza a través del catéter previamente implantado.

Después de centrifugar la muestra, se toman alícuotas de 50 μ l de plasma para proceder a la determinación de la radioactividad total mediante centelleo líquido (ver procedimiento descrito en los puntos 4.9.2 y 4.13 del apartado de Materiales y Métodos).

El límite de detección como en el punto anterior se establece en 200 dpm/ml que corresponden a 2.1 ng eq./ml y las concentraciones químicas equivalentes se calculan de la forma descrita anteriormente.

Los valores de concentración media determinados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla XXV

Concentraciones de radioactividad total en plasma después de una dosis p.o., 1 mg/kg (40 μ Ci/kg), de 14 C-Elgodipina a ratas. Los resultados se expresan como ng equivalentes/ml.

(Valores medios n = 6).

Tiempo (h)	Concentración plasmática de 14 C-Elgodipina					
	Machos			Hembras		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
0.083	11.99	1.40	28.61	13.88	1.91	33.66
0.25	34.86	2.75	19.31	45.58	7.63	41.03
0.5	48.11	3.48	17.74	59.97	10.98	44.85
1	55.27	6.54	29.00	57.94	6.74	28.48
2	77.05	10.44	30.30	56.68	8.00	34.58
4	87.77	9.09	25.39	68.45	11.85	42.40
6	80.79	5.59	15.46	71.04	9.33	32.18
8	38.81	1.32	8.36	44.98	6.30	34.33
12	17.96	1.60	21.83	24.11	3.40	34.52
24	5.79	1.02	43.23	6.32	1.16	45.09
48	4.31	0.76	43.27	3.23	0.46	32.30

Estos valores medios de concentración química equivalente se representan gráficamente como sigue:

NIVELES PLASMATICOS DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA
(p.o., 1 mg/kg, 40 mCi/kg)

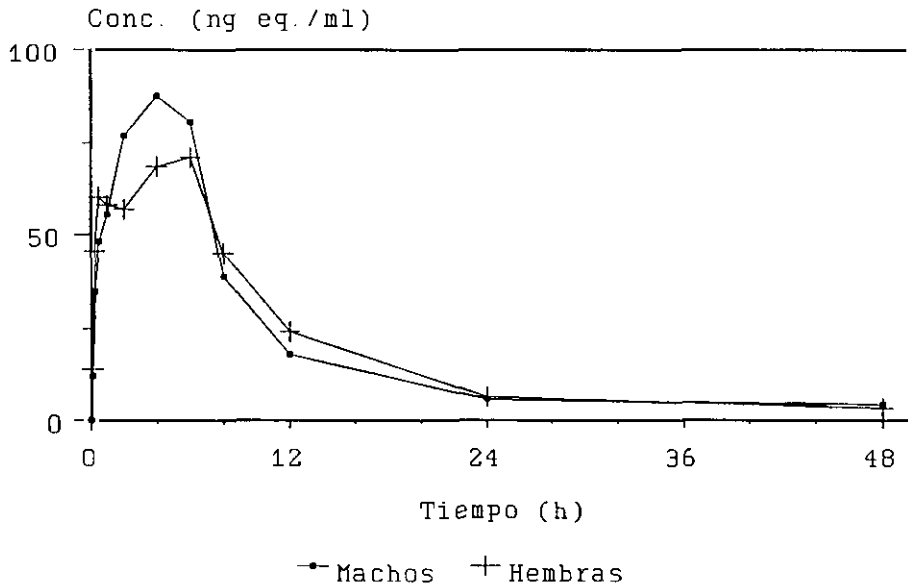


Figura 19

La comparación estadística entre los niveles plasmáticos de machos y hembras (ANOVA, $p < 0.05$), no muestra diferencias estadísticamente significativas.

Los parámetros farmacocinéticos calculados son: el área bajo la curva (AUC_{0-48}) de 0 a 48 horas, utilizando la regla de los trapecios y el área extrapolada a infinito ($AUC_{0-\infty}$) que se calcula como sigue:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-48} + C_{48}/\beta$$

donde AUC_{0-48} es la concentración determinada a las 48 horas y β es la constante de velocidad de eliminación. Esta constante se determina mediante regresión lineal de la porción terminal de la curva log concentración - tiempo. La semi-vida de eliminación ($t_{1/2}$) se calcula como $0.693/\beta$.

C_{max} y T_{max} son la concentración máxima observada y el tiempo a la que se alcanza.

La biodisponibilidad (F) se calcula de la forma anteriormente descrita relacionando las AUC y las dosis por vía intravenosa y oral.

Los parámetros farmacocinéticos determinados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XXVI

Parámetros farmacocinéticos de ^{14}C -Elgodipina (administración oral, 1 mg/kg, 40 $\mu Ci/kg$)

Parámetro	Parámetros Farmacocinéticos (valores medios)					
	Machos			Hembras		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
β (h^{-1})	0.0454	0.0105	56.6	0.0546	0.0105	47.1
Dosis (mg)	0.24	< 0.01	3.4	0.21	< 0.01	4.6
$t_{1/2\beta}$ (h)	20.78	4.90	57.7	17.70	5.74	79.5
AUC ₀₋₄₈ (ng.h/ml)	921.4	48.7	12.9	905.6	38.2	10.3
AUC _{0-∞} (ng.h/ml)	1025.4	52.7	12.6	1003.5	41.1	10.0
T_{max} (h)	4.33	0.33	18.8	3.83	1.10	70.3
C_{max} (ng eq./ml)	88.86	8.66	23.9	91.44	8.68	23.2
AUC _{0-∞-i.v.} (ng.h/ml)	1733.9	83.56	11.8	2048.0	258.0	30.8
F (%)	59.1	----	----	49.0	----	----

Al comparar estadísticamente (ANOVA, $p < 0.05$) los parámetros farmacocinéticos de los machos y de las hembras no se encuentran diferencias significativas.

El valor medio de C_{\max} se alcanza aproximadamente a las 4 horas (4.33 ± 0.33 h para los machos y 3.83 ± 1.10 h para las hembras), con un valor de unos 90 ng equivalentes por ml (88.86 ± 8.66 ng eq./ml para los machos y 91.44 ± 8.68 ng eq./ml para las hembras). En las hembras se presenta otro máximo secundario a 0.5 horas.

Después de alcanzado el máximo, la radioactividad decrece con una semi-vida de 20.78 ± 4.90 horas para los machos y 17.70 horas para las hembras. Se observa una variabilidad individual importante en los resultados obtenidos por vía oral.

La biodisponibilidad calculada para los machos es del 59 % y del 49 % para las hembras. Estos valores son más bajos que los que cabía esperar (la mayoría de las dihidropiridinas son bien absorbidas del tracto gastro intestinal, considerando globalmente metabolitos y producto inalterado, Stopher, 1988 y Krauser, 1988). Este hecho puede explicarse debido a que las repetidas tomas de sangre del mismo animal, implican una disminución sistémica de ^{14}C -Elgodipina y/o sus metabolitos. Este factor parece tener mayor influencia en la administración oral que en la intravenosa.

5.5.- ESTUDIO DE LA TASA DE EXCRECIÓN EN HECES Y ORINA DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

A ratas Wistar adultas (4 machos de 306.7 ± 4.99 g y 4 hembras de 223.0 ± 4.96 g) después de un período de aclimatación de 1 día en el laboratorio de radioisótopos, se les administra una dosis única, intravenosamente, de 1 mg/kg ($40 \mu\text{Ci/kg}$) de ^{14}C -

Elgodipina. La forma de administración, condiciones de estabulación y forma farmacéutica administrada, se describen en los puntos 4.4.3, 4.6.1 Y 4.7.3 del apartado de Materiales y Métodos.

Una vez realizada la administración del fármaco, los animales se estabulan, separadamente, en jaulas de metabolismo (Tecniplast Mod. 3M12D0-100) con el fin de recoger a intervalos predefinidos de 6 horas la orina y de 24 horas las heces; la orina se recoge en los siguientes intervalos de tiempo: 0-6, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96 y 96-120 horas; las heces se recogen en intervalos de 24 horas: 0-24, 24-48, 48-72, 72-96 y 96-120 horas.

Se mide el volumen total de cada una de las muestras de orina y se toman alícuotas de 100 - 250 μ l para la medida de la radioactividad total.

La cantidad total de cada muestra de heces se seca bajo una lámpara IR con corriente de aire y una vez seca se pesa, se homogeneiza por trituración en mortero y se toman alícuotas de 50 - 100 mg para la determinación de la radioactividad.

La preparación de las muestras de orina y heces para la determinación de la radioactividad se describe en los puntos 4.9.3 y 4.9.4 del apartado de Materiales y Métodos. La determinación de la radioactividad total se describe en el punto 4.13 del mismo apartado.

El límite de detección en orina se establece en 400 dpm/ml y en heces en 2 dpm/mg. Esta diferencia en el límite de detección es consecuencia del tipo de vial utilizado y del volumen de la muestra; en el caso de la orina se utiliza vial de polietileno

de 4 ml de capacidad y en el caso de las heces se utiliza vial de vidrio de 20 ml de capacidad. Las tablas siguientes muestran los valores medios de excreción urinaria y fecal, expresados como % de dosis excretada:

Tabla XXVII

Excreción acumulativa en orina después de una dosis i.v. de 1 mg/kg (40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina en ratas
Los resultados se expresan como % de dosis excretada
(Valores medios n = 4)

Tiempo (h)	% dosis excretada de 14 C-Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=4)		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
6	8.70	0.42	9.6	8.36	0.49	11.9
12	11.12	0.63	11.5	10.74	0.41	7.6
24	13.80	0.71	10.3	14.29	0.55	7.8
48	14.64	0.80	10.9	15.27	0.55	7.1
72	14.88	0.81	10.9	15.64	0.53	6.8
96	15.02	0.81	10.8	15.78	0.53	6.7
120	15.11	0.82	10.9	15.90	0.51	6.5

Tabla XXVIII

Excreción acumulativa en heces después de una dosis i.v. de 1 mg/kg (40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina en ratas
Los resultados se expresan como % de dosis excretada
(Valores medios n = 4)

Tiempo (h)	% dosis excretada de 14 C-Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=4)		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
24	60.36	3.05	10.1	60.58	2.41	8.0
48	72.01	3.47	9.6	72.78	0.41	1.1
72	73.65	3.77	10.2	74.69	0.67	1.8
96	74.12	3.78	10.2	75.33	0.66	1.7
120	74.43	3.81	10.2	75.62	0.66	1.7

Tabla XXIX

Excreción acumulativa en orina y heces después de una dosis única de ¹⁴C-Elgodipina en ratas.
 Los resultados se expresan como % de dosis excretada.
 (Valores medios)

Tiempo (h)	% de dosis excretada de ¹⁴ C-Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=4)		
	Orina	Heces	Total	Orina	Heces	Total
6	8.70	-----	-----	8.36	-----	-----
12	11.12	-----	-----	10.74	-----	-----
24	13.80	60.36	74.16	14.29	60.58	74.87
48	14.64	72.01	86.65	15.27	72.78	88.05
72	14.88	73.65	88.53	15.64	74.69	90.33
96	15.02	74.12	89.14	15.78	75.33	91.11
120	15.11	74.43	89.54	15.90	75.62	91.52

La representación gráfica de estos valores es la siguiente:

EXCRECION ACUMULATIVA DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA
 (i.v., 1 mg/kg, 40 mCi/kg)

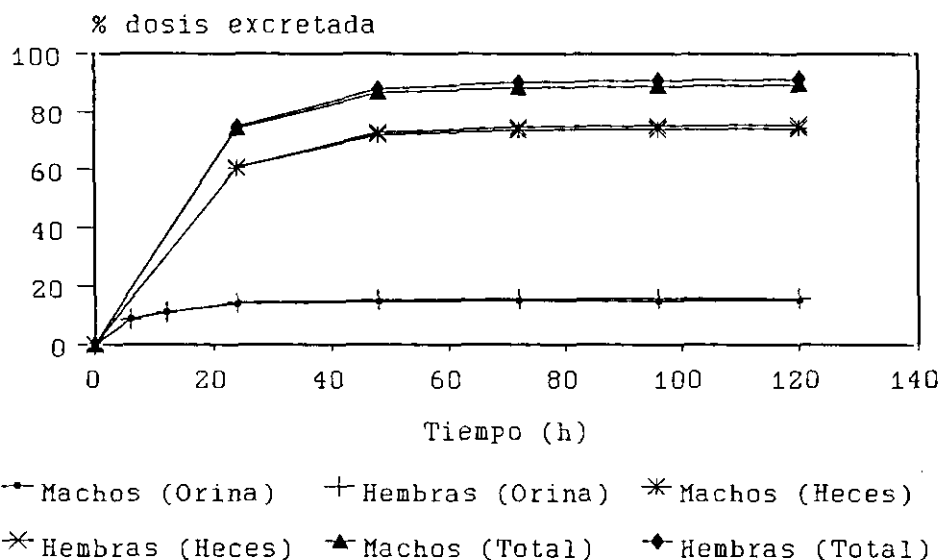


Figura 20

Como se observa de los resultados anteriores, la ^{14}C -Elgodipina se excreta principalmente en heces ($74.43 \pm 3.81 \%$ y $75.62 \pm 0.66 \%$, para machos y hembras respectivamente), mientras que sólo una pequeña fracción se excreta en orina ($15.11 \pm 0.82 \%$ en los machos y $15.90 \pm 0.51 \%$ en las hembras). Esta forma de excreción es similar a la que presentan otras dihidropiridinas como Benidipina (Kobayashi, H., 1988), Nitrendipina (Krauser, H.P., 1988) y Amlodipina (Stopher, D.A., 1988).

La ^{14}C -Benidipina, en ratas macho, se excreta en heces hasta un $73.6 \pm 6.3 \%$ en 72 horas después de administración oral y hasta un $19.1 \pm 4.5 \%$ en orina.

En ratas macho, después de administración intravenosa, la ^{14}C -Nitrendipina se excreta principalmente en heces (54 - 61 %). La excreción urinaria alcanza el 37 - 40 % y se produce, principalmente (>90%) durante las 24 horas post-dosis.

De igual forma la ^{14}C -Amlodipina, después de administración i.v. a ratas, se excreta un 60 % en heces y un 38 % en orina.

La elevada proporción de dosis excretada en heces, en el caso de la ^{14}C -Elgodipina, sugiere que el producto inalterado y/o sus metabolitos se excretarán también por bilis y/o a través de la pared intestinal.

5.6.- ESTUDIO DE LA TASA DE EXCRECIÓN EN HECES Y ORINA DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN ORAL.

Como en el estudio intravenoso anterior, a 8 ratas Wistar adultas, 4 de cada sexo (274 ± 5 g los machos y 214 ± 2 g las hembras) se estabulan en las condiciones descritas, se les implanta un catéter en la aorta abdominal y se les dosifica, por vía oral mediante una sonda gástrica, con una disolución de ¹⁴C-Elgodipina (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg).

Una vez dosificados los animales se estabulan, individualmente, en jaulas de metabolismo para recoger de forma separada y a intervalos de tiempo predefinidos, la orina y las heces.

La recogida de orina se realiza cada 6 horas hasta 24 horas y cada 24 horas hasta 120 horas post-dosis.

La recogida de heces se efectúa cada 24 horas hasta las 120 horas post-dosis.

La preparación de las muestras de orina y heces para la determinación de la radioactividad se describe en los puntos 4.9.3 y 4.9.4 del apartado de Materiales y Métodos. La determinación de la radioactividad total se describe en el punto 12 del mismo apartado.

El límite de detección en orina se establece en 400 dpm/ml y en heces en 2 dpm/mg. Esta diferencia en el límite de detección es consecuencia del tipo de vial utilizado y del volumen de la muestra; en el caso de la orina se utiliza vial de polietileno de 4 ml de capacidad y en el caso de las heces se utiliza vial de vidrio de 20 ml de capacidad.

Los valores de tasa de excreción acumulativos determinados se resumen en las tablas siguientes:

Tabla XXX

**Excreción acumulativa en orina después de una dosis oral única de ^{14}C -Elgodipina en ratas (1 mg/kg, 40 $\mu\text{Ci/kg}$)
Los resultados se expresan como % de dosis excretada**

(Valores medios n=4)

Tiempo (h)	% dosis excretada de ^{14}C -Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=4)		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
6	6.78	0.73	21.4	6.97	1.03	29.8
12	10.38	0.42	8.2	11.94	0.80	13.4
24	11.75	0.60	10.2	14.36	0.72	10.0
48	12.21	0.61	10.1	15.11	0.79	10.4
72	12.39	0.62	10.1	15.32	0.80	10.5
96	12.50	0.63	10.1	15.44	0.80	10.3
120	12.58	0.63	10.0	15.54	0.80	10.3

Tabla XXXI

Excreción acumulativa en heces después de una dosis oral única de ¹⁴C-Elgodipina en ratas (1 mg/kg, 40 μCi/kg)
 Los resultados se expresan como % de dosis excretada
 (Valores medios n=4)

Tiempo (h)	% dosis excretada de ¹⁴ C-Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=4)		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
24	83.35	4.45	10.7	74.29	1.81	4.9
48	87.76	4.73	10.8	79.03	1.66	4.2
72	88.37	4.75	10.7	79.55	1.69	4.2
96	88.68	4.77	10.7	79.92	1.69	4.2
120	88.88	4.77	10.7	80.10	1.70	4.2

Tabla XXXII

Excreción total acumulativa en heces y orina después de una dosis oral única (1 mg/kg) de ¹⁴C-Elgodipina en ratas
 Los resultados se expresan como % de dosis excretada
 (Valores medios)

Tiempo (h)	% dosis excretada de ¹⁴ C-Elgodipina					
	Machos			Hembras		
	Orina	Heces	Total	Orina	Heces	Total
6	6.78	-----	-----	6.97	-----	-----
12	10.38	-----	-----	11.94	-----	-----
24	11.75	83.35	95.10	14.36	74.29	88.65
48	12.21	87.76	99.97	15.11	79.03	94.14
72	12.39	88.37	100.76	15.32	79.55	94.87
96	12.50	88.68	101.18	15.44	79.92	95.36
120	12.58	88.88	101.46	15.54	80.10	95.64

La representación de estos valores acumulativos de tasa de excreción, se muestran en la gráfica siguiente:

EXCRECION ACUMULATIVA DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA
(P.O., 1 mg/kg, 40 mCi/kg)

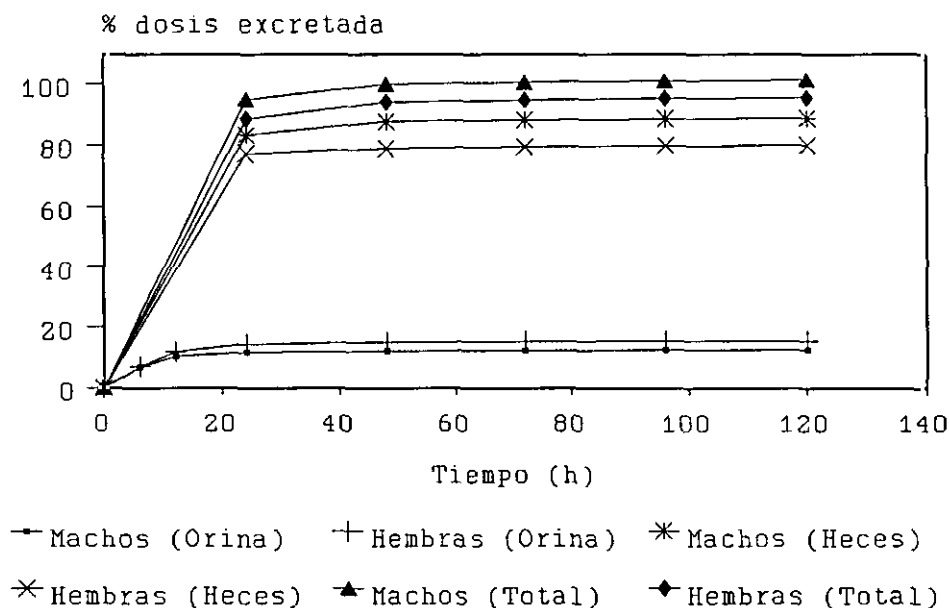


Figura 21

La comparación estadística (ANOVA $p < 0.05$) entre ambos sexos y por ambas vías de excreción, muestra diferencias significativas.

Como se observa, de estos resultados y como ocurría en el punto anterior, la excreción se efectúa principalmente por heces ($88.88 \pm 4.77 \%$ y $80.10 \pm 1.70 \%$ para machos y hembras, respectivamente), y sólo una pequeña fracción es excretada en orina ($12.58 \pm 0.63 \%$ y $15.54 \pm 0.80 \%$ para machos y hembras, respectivamente).

Al igual que en la vía intravenosa, este comportamiento es similar al descrito para otras dihidropiridinas. Por ejemplo

Benidipina (Kobayashi, H., 1988), Nitrendipina (Krauser, H.P., 1988) y Amlodipina (Stopher, D.A., 1988).

La ^{14}C -Benidipina, en ratas macho, se excreta en heces hasta un $73.6 \pm 6.3 \%$ en 72 horas después de administración oral y hasta un $19.1 \pm 4.5 \%$ en orina.

En ratas macho, después de administración oral, la ^{14}C -Nitrendipina se excreta principalmente en heces (64 - 66 %). La excreción urinaria alcanza el 33 - 37 % y se produce, principalmente (>90%) durante las 24 horas post-dosis.

De igual forma la ^{14}C -Amlodipina (Stopher, 1988), después de administración p.o. a ratas (10 mg/kg), se excreta un 58 % en heces y un 33 % en orina.

La elevada proporción de dosis excretada en heces, en el caso de la ^{14}C -Elgodipina, sugiere que el producto inalterado y/o sus metabolitos se excretarán también por bilis y/o a través de la pared intestinal.

La recuperación de radioactividad en heces y orina por vía oral y por vía intravenosa es similar, esto indica una buena absorción en el tracto gastro-intestinal.

La biodisponibilidad calculada a partir de los datos de orina es del 83 % en los machos (12.58 % de excreción después de administración oral, frente al 15.11 % después de la administración intravenosa). En el caso de las hembras la biodisponibilidad calculada es del 98 % (15.54 % p.o., frente a 15.90 % i.v.). Estos valores son similares a los obtenidos para otras dihidropiridinas, así en el caso de la ^{14}C -Amlodipina, la biodisponibilidad en rata es del 100 % (Stopher, 1988).

5.7.- ESTUDIO DE LA TASA DE EXCRECIÓN BILIAR DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Para el estudio de la tasa de excreción biliar, los animales (4 machos de 282 ± 10 g y 6 hembras de 243 ± 7 g) se estabulan en el laboratorio de radioisótopos durante al menos 5 días como período de aclimatación.

Pasado este período, se anestesian con éter dietílico y se canula el conducto biliar de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.6.1 del apartado de Materiales y Métodos.

Una vez canulado el conducto biliar, la anestesia se mantiene durante todo el experimento con 20 mg/kg de Ketamine y 5 mg/kg de Xylazine i.p.

La administración de la disolución de ^{14}C -Elgodipina se realiza en un "bolus" en la vena caudal a una dosis de 0.5 mg/kg, 20 $\mu\text{Ci/kg}$.

La razón de emplear una dosis inferior a la de otros estudios es que dado al efecto hipotensor del fármaco y al estado de anestesia, una dosis superior (1 mg/kg) produce una elevada mortandad debida a la suma de ambos efectos. Aún con la dosis reducida a 0.5 mg/kg, el estudio no se pudo prolongar, en algunos los casos, por encima de las 6 horas (Wulf H., 1994).

Una vez realizada la administración y en intervalos de 30 minutos, hasta 10 horas post-dosis, se recoge la secreción biliar. Se mide el volumen de secreción biliar y se toman dos alícuotas de 100 μl cada una, para la determinación de la radioactividad total.

Los procedimientos de administración, muestreo, preparación de la muestra para análisis y determinación de la radioactividad

total, se describen en los puntos 1.2, 3.3, 6.3, 7.4 y 8.5 del apartado de Materiales y Métodos. Los valores medios acumulativos de la tasa de excreción biliar observados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla XXXIII
Excreción acumulativa en bilis después de una dosis i.v. de ¹⁴C-Elgodipina a ratas (0.5 mg/kg, 20 µCi/kg)
Los resultados se expresan como % de dosis excretada (Valores medios)

Tiempo (h)	% dosis excretada de ¹⁴ C-Elgodipina					
	Machos (n=4)			Hembras (n=5)		
	Media	E.S.M.	C.V.(%)	Media	E.S.M.	C.V.(%)
0.5	14.21	1.39	19.52	7.87	2.14	60.93
1.0	28.58	2.48	17.36	17.90	3.76	46.98
1.5	38.58	2.95	15.29	27.53	4.71	38.28
2.0	46.18	2.64	11.45	34.19	4.74	31.29
2.5	50.94	2.74	10.75	39.83	4.41	24.72
3.0	54.23	2.60	9.59	43.94	4.17	21.21
3.5	56.70	2.47	8.70	47.17	3.93	18.63
4.0	58.78	2.28	7.75	49.77	3.80	17.06
4.5	60.49	2.13	7.06	51.99	3.68	15.83
5.0	61.90	2.04	6.77	53.88	3.61	14.98
5.5	63.10	1.99	6.30	55.22	3.53	14.31
6.0	64.10	1.92	6.00			
6.5	64.99	1.88	5.78			
7.0	65.69	1.89	5.75			
7.5	66.38	1.83	5.51			
8.0	66.96	1.82	5.44			
8.5	67.43	1.83	5.43			
9.0	67.86	1.85	5.44			
9.5	68.21	1.85	5.43			
10.0	68.54	1.87	5.45			

La representación gráfica de estos valores es la siguiente:

EXCRECION BILIAR ACUMULATIVA DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA
(i.v., 0.5 mg/kg, 20 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$)

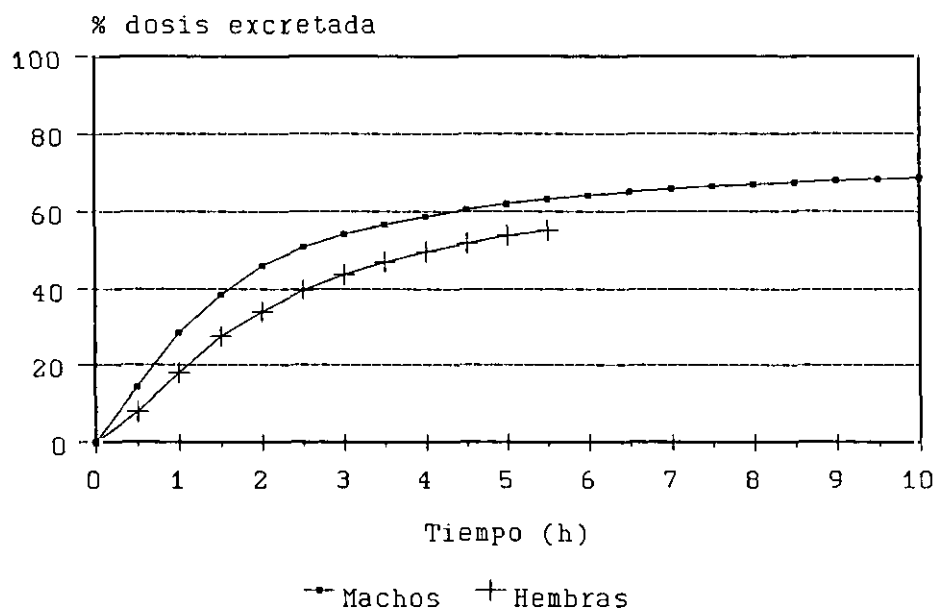


Figura 22

Los porcentajes de dosis excretada se calculan a partir de la radioactividad detectada en cada muestra y la radioactividad total administrada.

La comparación estadística entre los valores obtenidos para los machos y las hembras, muestra diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $p < 0.05$), siendo superior la excreción biliar en los machos.

Como se deduce de este estudio aproximadamente el 70 % de la dosis es excretada, en 10 horas, por la bilis, esto contribuye a la elevada excreción fecal observada en los estudios anteriores.

Para otras dihidropiridinas, los valores descritos para la tasa de excreción en bilis son similares a los encontrados para la Elgodipina; así la Nitrendipina, cuando se administra i.v. a ratas machos (5 mg/kg), el 74 % de la dosis se elimina por la bilis en 24 horas (Krause 1988).

5.8.- ESTUDIO DE LA TASA DE EXCRECIÓN BILIAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRADUODENAL.

En el estudio de la tasa de excreción biliar por vía oral, al tener durante el experimento al animal bajo anestesia, la administración tiene que hacerse intraduodenal, inyectando la disolución de ¹⁴C-Elgodipina en el lumen intestinal de la porción inicial del duodeno.

El procedimiento seguido es similar al descrito en el punto anterior de la administración intravenosa. En este caso 6 ratas Wistar macho (266 ± 19 g) y 6 hembras (224 ± 7 g), se mantienen en ayunas durante 18 horas, se anestesian con éter dietílico y se someten a cirugía para la canulación del conducto biliar.

Posteriormente y durante todo el experimento, se mantiene la anestesia con 20 mg/kg de Ketamine y 5 mg/kg de Xylazine. La disolución de ¹⁴C-Elgodipina se administra intraduodenalmente a una dosis de 0.5 mg/kg (20 µCi/kg).

Una vez realizada la administración y en intervalos de 30 minutos, hasta 10 horas post-dosis, se recoge la secreción biliar. Se mide el volumen de secreción biliar y se toman dos alícuotas de 100 µl cada una, para la determinación de la radioactividad total. La tasa de excreción biliar se calcula por

comparación de la radioactividad medida en cada muestra con la radioactividad total administrada.

La siguiente tabla resume los valores medios de la tasa de excreción biliar encontrados:

Tabla XXXIV

Excreción acumulativa en bilis después de una dosis intraduodenal de ^{14}C -Elgodipina a ratas (0.5 mg/kg, 20 $\mu\text{Ci/kg}$)
Los resultados se expresan como % de dosis excretada
(Valores medios n=5)

Tiempo (h)	% dosis excretada de ^{14}C -Elgodipina					
	Machos (n=5)			Hembras (n=5)		
	Media	E.S.M.	C.V. (%)	Media	E.S.M.	C.V. (%)
0.5	7.52	1.35	40.30	5.04	0.64	28.43
1.0	22.13	2.84	28.75	16.77	2.00	26.68
1.5	31.90	3.32	23.31	26.32	3.29	27.99
2.0	39.09	3.17	18.13	33.09	4.21	28.46
2.5	43.97	3.00	15.26	37.81	4.70	27.79
3.0	47.71	2.82	13.19	41.40	4.99	26.93
3.5	50.42	2.77	12.28	44.30	5.11	25.78
4.0	52.51	2.78	11.84	46.70	5.12	24.53
4.5	54.17	2.73	11.26	48.68	5.08	23.36
5.0	55.41	2.67	10.78	50.35	5.03	22.32
5.5	56.19	2.67	10.64	51.79	4.94	21.31
6.0				52.94	4.87	20.58
6.5				53.98	4.84	20.04
7.0				54.97	4.79	19.49
8.0				56.61	4.66	18.39
8.5				57.28	4.60	17.96
9.0				58.01	4.53	17.45
9.5				58.73	4.45	16.96
10.0				59.48	4.38	16.47

La representación gráfica de estos valores es la siguiente:

EXCRECIÓN BILIAR ACUMULATIVA DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA
(p.o. 0.5 mg/kg, 20 mCi/kg)

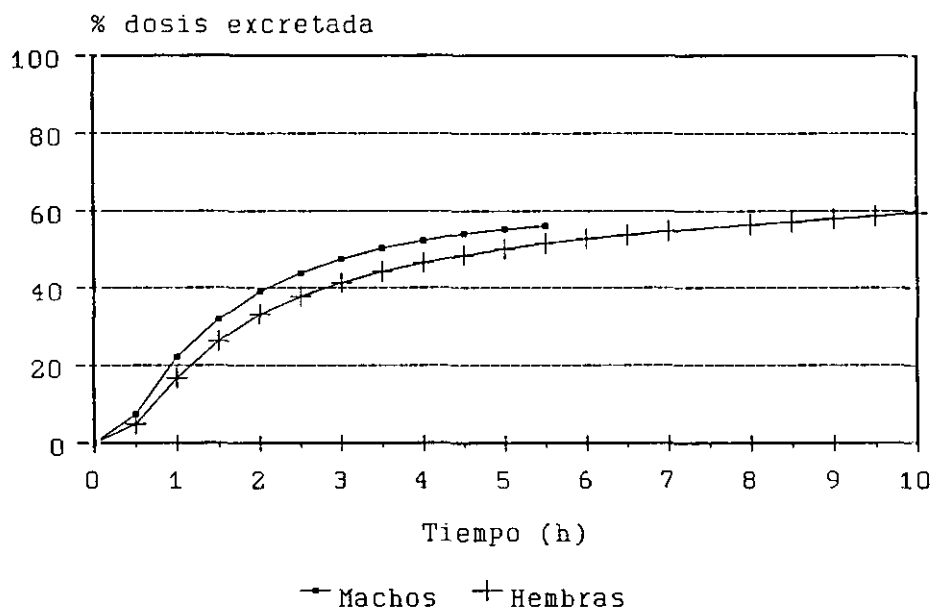


Figura 23

La comparación estadística de estos valores de tasa de excreción biliar entre machos y hembras (ANOVA, $p < 0.05$) muestra diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos, resultando como antes, superior la excreción biliar en los machos. De igual forma que ocurría en la tasa de excreción biliar después de administración intravenosa, también se elimina una proporción elevada, aproximadamente el 60 % de la dosis en 10 horas, por bilis cuando la administración es por vía intraduodenal. Esto también contribuye a la elevada excreción observada en heces cuando la administración era oral (Apartado 5.6).

Para otras dihidropiridinas, la tasa de excreción en bilis también es elevada; por ejemplo la Benidipina, después de una dosis oral de 1 mg/kg, es excretada en un 34 % en 48 horas y después se observa una reabsorción parcial en el tracto gastrointestinal (Kobayashi, 1988). Por lo tanto los valores de tasa de excreción en bilis encontrados para la Elgodipina, son similares a los descritos para otras dihidropiridinas.

5.9.- ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ^{14}C -ELGODIPINA, EN RATA, DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

En este punto se estudia la distribución en tejidos de la ^{14}C -Elgodipina, después de una dosis única por vía intravenosa, determinando a lo largo del tiempo qué órganos soportan mayor concentración de fármaco y en cuáles tarda más tiempo en eliminarse.

Para ello se emplean ratas adultas Wistar (21 machos de 285 ± 21 g y 21 hembras de 247 ± 19 g) en el estudio entre 15 minutos y 24 horas. Para el estudio a 48 horas, se emplean los animales dosificados en el estudio de la farmacocinética con ^{14}C -Elgodipina por vía intravenosa y sacrificados a las 48 horas, 6 machos de 232 ± 14 g y 6 hembras de 217 ± 14 g (punto 5.3, del apartado de Resultados). Para el estudio a 120 horas, se emplean los animales dosificados en el estudio de la tasa de excreción en orina y heces de ^{14}C -Elgodipina por vía intravenosa y sacrificados a las 120 horas, 4 machos de 307 ± 5 g y 4 hembras de 223 ± 5 g (punto 5.5, del apartado de Resultados).

Los animales se aclimatan al menos durante 5 días en el laboratorio de radioisótopos, se separan en grupos de 3 individuos y se dosifican con una disolución de ^{14}C -Elgodipina (puntos 4.4.3 y 4.7.3 del apartado de Materiales y Métodos) mediante un "bolus" en la vena caudal. La dosis administrada es de 1 mg/kg, 40 μCi /kg.

Una vez dosificados los animales se sacrifican a tiempos predefinidos (0.25, 0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48 y 120 horas), tomando una muestra de sangre (5-10 ml) y los órganos/tejidos previamente seleccionados (Bazo, Vejiga urinaria, Testículo, Ovario, Riñón, Hígado, Glándula Salivar, Colon, Glándula Harderiana, Tejido adiposo, Tiroides, Timo, Yeyuno, Piel, Tejido muscular, Pulmón, Corazón, Cerebro, Estómago y Médula ósea) de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.8.5 del apartado de Materiales y Métodos.

Se toma una alícuota de 50 μl de las muestras de sangre y el resto se centrifuga para tomar 50 μl de plasma y determinar la radioactividad total (punto 4.9.2 del apartado de Materiales y Métodos). Los órganos/tejidos se pesan enteros (en los que es posible), se toma una alícuota de 20 - 100 mg (50 μl en el caso de la sangre) y se preparan de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.9.6 del apartado de Materiales y Métodos.

El límite de detección se establece en concentraciones cuya radioactividad sea igual o inferior al doble del ruido de fondo.

La radioactividad medida en cada muestra se refiere al peso del órgano/tejido o al volumen en el caso de muestras líquidas (dpm/mg o dpm/ml).

Los valores de concentración química equivalente se calculan a partir de la radioactividad total medida en las muestras y de la actividad específica de la ^{14}C -Elgodipina administrada:

$$C \text{ (ng eq./ml)} = C \text{ (dpm/ml)} / \text{Act. Especific. (dpm/ng)}$$

$$C \text{ (ng eq./g)} = C \text{ (dpm/mg)} \times 1000 / \text{Act. Especific. (dpm/ng)}$$

Los valores de distribución en órganos/tejidos, en términos de % dosis/g o ml, se calculan a partir de los valores de concentraciones equivalentes por g o ml y de la dosis administrada:

$$C \text{ (% dosis/órgano)} = C \text{ (% dosis/g o ml)} \times \text{Peso órgano}$$

En el caso de órganos y tejidos de soporte que no pueden pesarse, se hizo una estimación en función del peso del animal (Caster, W.O. 1956, y Comisión Internacional para la Protección Radiológica, 1959). Esta estimación se hizo de acuerdo a los siguientes valores:

<u>Órgano/Tejido</u>	<u>% peso de rata</u>
Tejido Muscular	45.5
Tejido Adiposo	7.1
Piel	18.0
Médula Ósea	0.35
Sangre	7.0
Plasma	4.0

Finalmente, los datos de distribución también se expresan como relación de la radioactividad en el órgano y en el plasma.

Las tablas XXXV y XXXVI muestran los valores de concentración química equivalente por g de tejido húmedo, determinados en cada uno de los órganos o tejidos, a distintos tiempos y para ambos sexos.

Las tablas XXXVII y XXXVIII muestran los mismos valores pero expresados como % dosis/g de tejido húmedo. Las tablas XXXIX y XL, muestran los valores de % dosis/órgano o tejido, haciendo uso de la tabla alométrica anteriormente descrita.

Para poder relacionar la perfusión del órgano con los valores de concentración encontrados en cada órgano o tejido, las tablas XLI y XLII, muestran las relaciones tejido/plasma para ambos sexos.

Con el fin de mostrar la evolución temporal de las concentraciones de Elgodipina en los distintos órganos y tejidos, las figuras 24 a 27 representan las concentraciones químicas equivalentes por gramo de tejido húmedo determinadas a 0.25, 1, 6 y 24 horas, respectivamente.

Tabla XXXV

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como ng eq./g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	ng eq./g de tejido húmedo. Valores medios \pm B.S.M. (n = 3). MACHOS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	1222.5 \pm 147.1	796.5 \pm 130.3	437.4 \pm 44.63	221.2 \pm 18.1	47.7 \pm 11.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	560.2 \pm 79.7	324.9 \pm 28.9	283.1 \pm 41.4	316.3 \pm 87.8	255.22 \pm 86.3	97.7 \pm 61.4	N.D.	N.D.	N.D.
TESTICULO	197.5 \pm 22.7	169.1 \pm 20.2	203.2 \pm 9.7	174.0 \pm 18.2	37.6 \pm 7.0	N.D.	37.7 \pm 9.7	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	8290.3 \pm 926.7	4586.3 \pm 689.0	2512.0 \pm 257.0	1341.3 \pm 125.6	344.5 \pm 69.4	89.6 \pm 10.2	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	1943.1 \pm 94.3	1469.6 \pm 88.4	1385.4 \pm 116.7	469.8 \pm 38.6	174.9 \pm 8.9	115.6 \pm 47.7	68.9 \pm 1.9	N.D.	N.D.
HIGADO	2838.1 \pm 198.8	2732.5 \pm 590.9	2739.0 \pm 170.4	1944.4 \pm 262.6	1448.5 \pm 92.3	964.4 \pm 97.6	497.7 \pm 54.3	284.9 \pm 33.4	92.3 \pm 8.9
GLANDULA SALIVAR	1925.7 \pm 213.6	1094.4 \pm 257.7	620.0 \pm 27.4	465.7 \pm 111.4	77.2 \pm 22.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	758.8 \pm 102.7	509.0 \pm 66.2	485.2 \pm 165.3	193.6 \pm 36.2	295.5 \pm 181.6	198.0 \pm 102.5	59.7 \pm 10.4	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	1775.6 \pm 210.8	1648.1 \pm 281.3	2154.4 \pm 77.5	1829.6 \pm 149.0	565.0 \pm 25.2	191.7 \pm 57.4	40.2 \pm 5.8	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	237.8 \pm 44.7	366.7 \pm 94.6	457.9 \pm 58.7	648.9 \pm 82.0	497.5 \pm 18.9	435.5 \pm 203.2	83.9 \pm 25.0	N.D.	N.D.
GLAND. TIROIDES	1628.9 \pm 197.1	870.2 \pm 134.3	586.0 \pm 15.8	352.6 \pm 24.1	58.1 \pm 15.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	855.9 \pm 142.7	727.1 \pm 77.4	646.7 \pm 33.7	436.4 \pm 104.4	45.2 \pm 7.4	N.D.	27.5 \pm 14.8	N.D.	N.D.
YEBUNO	931.9 \pm 71.7	1135.4 \pm 398.7	661.5 \pm 126.3	373.5 \pm 115.5	86.4 \pm 13.1	31.0 \pm 2.5	38.3 \pm 25.7	N.D.	N.D.
PIEL	427.6 \pm 55.5	300.9 \pm 26.1	295.5 \pm 25.3	170.8 \pm 27.9	109.3 \pm 44.5	46.5 \pm 15.6	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	543.0 \pm 85.6	296.4 \pm 45.1	175.6 \pm 4.4	153.5 \pm 19.5	41.1 \pm 29.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	3961.2 \pm 269.5	1672.2 \pm 178.8	877.0 \pm 46.0	504.8 \pm 62.1	141.9 \pm 29.4	31.0 \pm 2.8	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	882.9 \pm 122.8	502.6 \pm 49.3	319.4 \pm 32.2	154.7 \pm 12.2	49.3 \pm 3.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	263.3 \pm 73.9	93.7 \pm 17.4	46.8 \pm 4.1	33.1 \pm 16.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BSTOMAGO	1564.1 \pm 332.6	812.9 \pm 250.7	592.4 \pm 39.2	189.3 \pm 66.0	33.6 \pm 2.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSRA	859.7 \pm 77.0	647.5 \pm 57.1	548.2 \pm 58.1	246.6 \pm 36.8	76.7 \pm 6.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	468.9 \pm 37.6	350.6 \pm 48.0	359.7 \pm 35.6	177.7 \pm 28.7	107.6 \pm 20.9	37.1 \pm 8.1	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	301.4 \pm 11.7	213.4 \pm 28.5	205.4 \pm 18.4	107.8 \pm 14.3	64.4 \pm 12.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XXXVI

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 µCi/kg) de ¹⁴C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como ng eq./g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	ng eq./g de tejido húmedo. Valores medios ± E.S.M. (n = 3). HEMBRAS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	911.5±225.9	965.9±139.5	863.0±92.6	306.4±77.9	95.9±13.0	34.4±4.3	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	443.6±135.6	286.2±56.3	459.8±104.7	151.2±41.2	129.5±12.4	42.6±12.6	N.D.	N.D.	N.D.
OVARIO	1135.9±167.7	745.1±51.4	603.1±79.4	236.1±31.5	112.8±13.9	40.2±10.2	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	5876.3±729.5	3793.1±342.6	2853.8±275.3	1475.1±137.7	565.7±6.3	123.6±23.8	30.1±15.8	N.D.	N.D.
RIÑON	1502.3±191.7	1378.8±143.1	1107.4±126.9	416.5±55.8	173.5±9.2	94.6±3.6	41.2±9.1	N.D.	N.D.
HIGADO	2467.9±420.8	2782.8±372.0	4107.3±573.8	2191.9±309.1	1428.5±51.3	1058.6±48.6	756.9±35.7	286.1±25.4	90.5±3.6
GLANDULA SALIVAR	1675.3±345.9	1181.8±127.7	1161.1±223.9	464.6±130.7	133.8±5.7	45.3±9.6	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	579.7±146.6	422.2±42.0	386.1±31.5	137.0±31.2	95.6±8.5	154.1±30.5	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	1480.8±323.4	1385.0±247.7	2182.1±267.5	1484.6±245.1	566.9±139.3	172.8±7.9	55.1±20.2	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	121.3±33.6	207.6±88.1	489.9±113.4	348.7±13.9	477.3±76.4	464.2±18.8	199.7±62.4	32.4±2.8	N.D.
GLAND. TIROIDES	1172.4±125.9	847.9±101.8	657.8±109.0	338.1±52.3	84.2±8.6	45.7±5.5	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	832.6±87.5	713.6±51.6	700.1±85.8	295.7±55.7	67.8±7.3	27.3±2.2	N.D.	N.D.	N.D.
YEBUNO	878.5±145.3	1330.1±697.6	454.2±58.5	302.3±26.4	50.4±18.6	47.6±13.7	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	269.7±48.7	205.9±84.9	491.1±84.0	216.9±66.1	76.1±19.1	46.8±9.1	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	422.9±59.0	263.8±31.1	235.6±29.3	107.4±28.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	2849.5±607.7	1755.9±313.4	1615.9±265.1	605.3±102.1	207.5±32.4	67.9±10.6	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	795.5±97.9	740.0±57.9	426.0±17.7	196.2±31.5	68.5±14.0	36.9±10.0	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	144.1±30.4	79.7±18.4	68.0±14.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	1346.2±236.6	1032.5±271.5	1601.7±173.3	106.5±15.4	64.5±27.9	27.1±5.9	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSSEA	629.4±64.9	986.6±241.7	691.7±113.8	423.6±115.0	112.5±37.2	60.2±13.8	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	334.6±54.1	265.7±54.1	347.1±51.4	153.0±36.1	74.0±6.0	38.2±4.3	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	210.2±31.4	195.9±50.9	213.6±38.0	97.4±22.0	44.6±3.5	26.6±2.4	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XXXVII

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como % dosis/g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/g de tejido húmedo. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	0.41 \pm 0.04	0.28 \pm 0.05	0.15 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	0.19 \pm 0.02	0.11 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.12 \pm 0.03	0.09 \pm 0.03	0.04 \pm 0.02	N.D.	N.D.	N.D.
TESTICULO	0.07 \pm 0.01	0.60 \pm 0.01	0.07 \pm 0.00	0.06 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	2.80 \pm 0.24	1.60 \pm 0.26	0.85 \pm 0.08	0.48 \pm 0.05	0.13 \pm 0.03	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	0.67 \pm 0.02	0.51 \pm 0.04	0.47 \pm 0.04	0.17 \pm 0.02	0.06 \pm 0.00	0.04 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.
HIGADO	0.96 \pm 0.07	0.95 \pm 0.20	0.93 \pm 0.06	0.70 \pm 0.10	0.52 \pm 0.02	0.34 \pm 0.03	0.18 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00
GLANDULA SALIVAR	0.65 \pm 0.05	0.38 \pm 0.10	0.21 \pm 0.01	0.17 \pm 0.04	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	0.26 \pm 0.03	0.18 \pm 0.03	0.16 \pm 0.06	0.07 \pm 0.01	0.10 \pm 0.06	0.07 \pm 0.04	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	0.60 \pm 0.05	0.58 \pm 0.11	0.73 \pm 0.02	0.65 \pm 0.05	0.21 \pm 0.01	0.07 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	0.08 \pm 0.01	0.13 \pm 0.03	0.16 \pm 0.02	0.23 \pm 0.03	0.18 \pm 0.01	0.16 \pm 0.08	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.
GLAND. TIROIDES	0.55 \pm 0.05	0.31 \pm 0.06	0.20 \pm 0.01	0.13 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	0.29 \pm 0.05	0.25 \pm 0.03	0.22 \pm 0.01	0.15 \pm 0.04	0.02 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
YBYUNO	0.32 \pm 0.02	0.40 \pm 0.15	0.22 \pm 0.04	0.13 \pm 0.04	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
PIEL	0.14 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.04 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	0.19 \pm 0.03	0.10 \pm 0.02	0.06 \pm 0.00	0.06 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	1.35 \pm 0.10	0.59 \pm 0.08	0.30 \pm 0.01	0.18 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	0.30 \pm 0.04	0.18 \pm 0.02	0.11 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	0.03 \pm 0.03	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	0.53 \pm 0.10	0.28 \pm 0.09	0.20 \pm 0.01	0.07 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.29 \pm 0.02	0.23 \pm 0.02	0.19 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	0.16 \pm 0.01	0.12 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	0.10 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XXXVIII

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como % dosis/g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/g de tejido húmedo. Valores medios \pm B.S.M. (n = 3). HEMBRAS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	0.38 \pm 0.10	0.38 \pm 0.03	0.37 \pm 0.05	0.12 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	0.19 \pm 0.06	0.11 \pm 0.02	0.19 \pm 0.04	0.06 \pm 0.02	0.06 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
OVARIO	0.48 \pm 0.07	0.29 \pm 0.01	0.26 \pm 0.03	0.10 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	2.47 \pm 0.31	1.49 \pm 0.07	1.21 \pm 0.12	0.60 \pm 0.06	0.24 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.
RIÑON	0.63 \pm 0.08	0.54 \pm 0.03	0.47 \pm 0.06	0.17 \pm 0.02	0.08 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.
HIGADO	1.04 \pm 0.18	1.09 \pm 0.08	1.74 \pm 0.26	0.89 \pm 0.13	0.61 \pm 0.04	0.42 \pm 0.02	0.28 \pm 0.03	0.13 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00
GLANDULA SALIVAR	0.71 \pm 0.15	0.47 \pm 0.03	0.49 \pm 0.10	0.19 \pm 0.05	0.06 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	0.25 \pm 0.06	0.17 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.06 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	0.62 \pm 0.14	0.54 \pm 0.07	0.93 \pm 0.13	0.60 \pm 0.10	0.25 \pm 0.07	0.07 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	0.05 \pm 0.01	0.08 \pm 0.03	0.21 \pm 0.06	0.14 \pm 0.00	0.20 \pm 0.04	0.18 \pm 0.01	0.07 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00	N.D.
GLAND. TIROIDES	0.49 \pm 0.05	0.34 \pm 0.05	0.28 \pm 0.04	0.14 \pm 0.02	0.04 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	0.35 \pm 0.04	0.28 \pm 0.02	0.30 \pm 0.04	0.12 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
YBYUNO	0.37 \pm 0.06	0.50 \pm 0.24	0.19 \pm 0.03	0.12 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	0.11 \pm 0.02	0.08 \pm 0.03	0.21 \pm 0.04	0.09 \pm 0.03	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	0.18 \pm 0.03	0.10 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	1.20 \pm 0.26	0.69 \pm 0.08	0.68 \pm 0.13	0.25 \pm 0.04	0.09 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	0.33 \pm 0.04	0.29 \pm 0.04	0.18 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	0.06 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	0.57 \pm 0.10	0.41 \pm 0.08	0.67 \pm 0.08	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.27 \pm 0.03	0.39 \pm 0.11	0.29 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05	0.05 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	0.14 \pm 0.03	0.10 \pm 0.01	0.15 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	0.08 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XXXIX

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/órgano o tejido . Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS						
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h
BAZO	0.34 \pm 0.05	0.23 \pm 0.03	0.14 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
TESTICULO	0.20 \pm 0.02	0.16 \pm 0.03	0.20 \pm 0.01	0.16 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	N.D.	0.04 \pm 0.01
GLANDULA ADRENAL	0.10 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
RIÑON	1.58 \pm 0.09	1.27 \pm 0.05	1.22 \pm 0.16	0.39 \pm 0.03	0.13 \pm 0.01	0.09 \pm 0.04	0.05 \pm 0.01
HIGADO	13.11 \pm 1.06	13.23 \pm 2.77	12.70 \pm 0.92	7.85 \pm 0.89	5.43 \pm 0.30	4.32 \pm 0.33	0.25 \pm 0.18
GLANDULA SALIVAR	0.33 \pm 0.02	0.25 \pm 0.07	0.11 \pm 0.01	0.11 \pm 0.04	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	1.69 \pm 0.29	2.65 \pm 0.66	3.27 \pm 0.41	4.62 \pm 0.62	3.56 \pm 0.14	3.16 \pm 1.44	0.60 \pm 0.19
TIMO	0.17 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03	0.15 \pm 0.01	0.10 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.00
PIEL	7.66 \pm 1.09	5.33 \pm 0.54	5.29 \pm 0.51	3.00 \pm 0.54	1.93 \pm 0.79	0.83 \pm 0.32	N.D.
MUSCULO	25.08 \pm 3.85	13.45 \pm 2.06	8.03 \pm 0.05	7.22 \pm 1.13	1.99 \pm 1.40	N.D.	N.D.
PULMON	1.92 \pm 0.18	0.81 \pm 0.10	0.43 \pm 0.01	0.25 \pm 0.03	0.07 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00	N.D.
CORAZON	0.31 \pm 0.04	0.18 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.
CEREBRO	0.18 \pm 0.04	0.06 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	0.83 \pm 0.14	0.49 \pm 0.15	0.32 \pm 0.03	0.10 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.30 \pm 0.03	0.22 \pm 0.01	0.20 \pm 0.02	0.08 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.
PLASMA	1.89 \pm 0.14	1.41 \pm 0.18	1.45 \pm 0.15	0.67 \pm 0.12	0.40 \pm 0.08	0.15 \pm 0.04	N.D.
SANGRE ENTERA	2.06 \pm 0.12	1.47 \pm 0.22	1.37 \pm 0.13	0.78 \pm 0.10	0.45 \pm 0.07	N.D.	N.D.

Tabla XL

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	‡ dosis/órgano o tejido . Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). HEMBRAS						
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h
BAZO	0.21 \pm 0.06	0.23 \pm 0.03	0.18 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
VEJIGA URINARIA	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
OVARIO	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
GLANDULA ADRENAL	0.15 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00
RIÑON	0.98 \pm 0.10	0.90 \pm 0.13	0.76 \pm 0.08	0.30 \pm 0.03	0.12 \pm 0.01	0.06 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01
HIGADO	9.76 \pm 1.70	10.12 \pm 1.57	13.96 \pm 1.32	8.45 \pm 0.86	5.03 \pm 0.12	3.98 \pm 0.09	2.76 \pm 0.08
GLANDULA SALIVAR	0.35 \pm 0.06	0.20 \pm 0.06	0.28 \pm 0.02	0.11 \pm 0.06	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	0.79 \pm 0.24	1.44 \pm 0.60	3.48 \pm 0.83	2.50 \pm 0.08	3.37 \pm 0.55	3.30 \pm 0.16	1.39 \pm 0.43
TIMO	0.13 \pm 0.01	0.12 \pm 0.03	0.12 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
PIEL	4.84 \pm 0.86	3.64 \pm 1.49	8.88 \pm 1.48	3.97 \pm 1.10	1.42 \pm 0.38	0.76 \pm 0.14	N.D.
MUSCULO	19.46 \pm 2.69	11.98 \pm 1.30	10.78 \pm 1.23	4.84 \pm 1.48	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	1.22 \pm 0.23	0.78 \pm 0.17	0.75 \pm 0.10	0.29 \pm 0.04	0.10 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	N.D.
CORAZON	0.25 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.14 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
CEREBRO	0.12 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	0.66 \pm 0.14	0.48 \pm 0.12	0.80 \pm 0.08	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.
MEDULA OSSEA	0.22 \pm 0.02	0.34 \pm 0.08	0.24 \pm 0.04	0.15 \pm 0.04	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.
PLASMA	1.33 \pm 0.24	1.06 \pm 0.20	1.39 \pm 0.21	0.62 \pm 0.13	0.31 \pm 0.03	0.17 \pm 0.03	N.D.
SANGRE ENTERA	1.38 \pm 0.22	1.33 \pm 0.33	1.48 \pm 0.23	0.69 \pm 0.17	0.33 \pm 0.01	0.18 \pm 0.00	N.D.

Tabla XLI

Relación de radioactividad tejido/plasma después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de ¹⁴C-Elgodipina a ratas machos.

TEJIDO/ORGANO	Relación tejido/plasma. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS					
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h
BAZO	2.60 \pm 0.13	2.25 \pm 0.08	1.24 \pm 0.18	1.31 \pm 0.23	0.50 \pm 0.18	N.D.
VEJIGA URINARIA	1.20 \pm 0.17	0.94 \pm 0.07	0.79 \pm 0.12	1.84 \pm 0.49	2.33 \pm 0.76	3.32 \pm 2.03
TESTICULO	0.43 \pm 0.06	0.49 \pm 0.01	0.58 \pm 0.07	1.03 \pm 0.17	0.38 \pm 0.12	N.D.
GLANDULA ADRENAL	17.85 \pm 2.12	13.02 \pm 0.22	7.20 \pm 1.25	7.73 \pm 0.58	3.57 \pm 1.20	2.73 \pm 0.72
RIÑON	4.22 \pm 0.20	4.30 \pm 0.39	3.90 \pm 0.39	2.72 \pm 0.24	1.71 \pm 0.23	3.70 \pm 1.75
HIGADO	6.09 \pm 0.37	7.70 \pm 0.99	7.67 \pm 0.34	11.06 \pm 0.42	14.10 \pm 1.63	27.63 \pm 4.70
GLANDULA SALIVAR	4.14 \pm 0.47	3.03 \pm 0.37	1.76 \pm 0.19	2.65 \pm 0.57	0.81 \pm 0.34	N.D.
COLON	1.61 \pm 0.09	1.46 \pm 0.01	1.41 \pm 0.54	1.08 \pm 0.10	2.33 \pm 1.09	4.74 \pm 1.46
GLANDULA HARDER	3.79 \pm 0.36	4.66 \pm 0.24	6.11 \pm 0.64	10.87 \pm 2.11	5.53 \pm 0.73	5.10 \pm 0.98
GRASA (ABDOMINAL)	0.51 \pm 0.09	1.01 \pm 0.16	1.29 \pm 0.19	3.73 \pm 0.34	4.97 \pm 0.94	3.98 \pm 7.24
GLAND. TIROIDES	3.49 \pm 0.39	2.49 \pm 0.18	1.65 \pm 0.13	2.10 \pm 0.38	0.60 \pm 0.24	N.D.
TIMO	1.80 \pm 0.16	2.12 \pm 0.22	1.84 \pm 0.23	2.53 \pm 0.58	0.47 \pm 0.14	N.D.
YBYUNO	1.99 \pm 0.05	3.03 \pm 0.81	1.93 \pm 0.49	2.29 \pm 0.75	0.82 \pm 0.04	0.92 \pm 0.20
PIEL	0.91 \pm 0.08	0.87 \pm 0.05	0.82 \pm 0.02	0.96 \pm 0.04	1.14 \pm 0.60	1.20 \pm 0.14
MUSCULO	1.15 \pm 0.09	0.84 \pm 0.02	0.50 \pm 0.05	0.93 \pm 0.22	0.45 \pm 0.37	N.D.
PULMON	8.50 \pm 0.47	4.84 \pm 0.36	2.47 \pm 0.18	2.95 \pm 0.43	1.50 \pm 0.51	0.86 \pm 0.11
CORAZON	1.87 \pm 0.15	1.45 \pm 0.07	0.92 \pm 0.16	0.92 \pm 0.17	0.50 \pm 0.11	N.D.
CEREBRO	0.54 \pm 0.11	0.26 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02	0.19 \pm 0.09	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	3.28 \pm 0.55	2.18 \pm 0.48	1.66 \pm 0.05	1.11 \pm 0.38	0.33 \pm 0.04	N.D.
MEDULA OSEA	1.86 \pm 0.25	1.89 \pm 0.18	1.52 \pm 0.07	1.40 \pm 0.10	0.78 \pm 0.19	N.D.
SANGRE ENTERA	0.65 \pm 0.03	0.61 \pm 0.00	0.57 \pm 0.01	0.61 \pm 0.02	0.60 \pm 0.02	N.D.

Tabla XLII

Relación de radioactividad tejido/plasma después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras.

TEJIDO/ORGANO	Relación tejido/plasma. Valores medios \pm R.S.M. (n = 3). HEMBRAS					
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h
BAZO	2.71 \pm 0.52	3.71 \pm 0.20	2.54 \pm 0.20	1.99 \pm 0.03	1.28 \pm 0.08	0.92 \pm 0.03
VEJIGA URINARIA	1.27 \pm 0.18	1.08 \pm 0.06	1.30 \pm 0.18	0.97 \pm 0.08	1.79 \pm 0.27	1.08 \pm 0.22
OVARIO	3.41 \pm 0.05	2.94 \pm 0.35	1.75 \pm 0.03	1.61 \pm 0.14	1.54 \pm 0.23	1.02 \pm 0.15
GLANDULA ADRENAL	17.75 \pm 0.61	14.94 \pm 1.87	8.37 \pm 0.50	10.22 \pm 1.23	7.74 \pm 0.62	3.17 \pm 0.27
RIÑON	4.55 \pm 0.31	5.38 \pm 0.47	3.23 \pm 0.19	2.83 \pm 0.25	2.38 \pm 0.24	2.53 \pm 0.30
HIGADO	7.49 \pm 1.15	10.76 \pm 0.85	11.87 \pm 0.14	14.89 \pm 1.22	19.45 \pm 1.06	8.15 \pm 2.24
GLANDULA SALIVAR	4.94 \pm 0.29	4.62 \pm 0.52	3.33 \pm 0.26	2.99 \pm 0.28	1.83 \pm 0.17	1.16 \pm 0.16
COLON	1.68 \pm 0.14	1.65 \pm 0.17	1.14 \pm 0.09	0.90 \pm 0.02	1.29 \pm 0.05	4.32 \pm 1.32
GLANDULA HARDER	4.35 \pm 0.25	5.28 \pm 0.48	6.38 \pm 0.44	10.00 \pm 0.73	7.99 \pm 2.47	4.61 \pm 0.47
GRASA (ABDOMINAL)	0.36 \pm 0.08	0.72 \pm 0.16	1.41 \pm 0.21	2.52 \pm 0.52	6.69 \pm 1.49	12.34 \pm 0.90
GLAND. TIROIDES	3.60 \pm 0.45	3.45 \pm 0.79	1.88 \pm 0.09	2.29 \pm 0.17	1.14 \pm 0.05	1.19 \pm 0.08
TIMO	2.56 \pm 0.32	2.85 \pm 0.44	2.04 \pm 0.09	2.02 \pm 0.39	0.91 \pm 0.03	0.72 \pm 0.06
YEBUNO	2.71 \pm 0.55	4.43 \pm 1.49	1.32 \pm 0.03	2.10 \pm 0.27	0.65 \pm 0.19	1.20 \pm 0.29
PIEL	0.81 \pm 0.10	0.71 \pm 0.14	1.43 \pm 0.13	1.38 \pm 0.11	1.00 \pm 0.17	1.20 \pm 0.12
MUSCULO	1.27 \pm 0.05	1.03 \pm 0.10	0.68 \pm 0.03	0.70 \pm 0.02	0.25 \pm 0.12	N.D.
PULMON	8.39 \pm 0.55	6.70 \pm 0.58	4.66 \pm 0.24	4.08 \pm 0.39	2.79 \pm 0.29	1.77 \pm 0.13
CORAZON	2.41 \pm 0.17	3.06 \pm 0.69	1.28 \pm 0.17	1.34 \pm 0.20	0.92 \pm 0.16	0.93 \pm 0.16
CEREBRO	0.42 \pm 0.02	0.30 \pm 0.02	0.19 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	4.01 \pm 0.10	3.93 \pm 0.28	4.70 \pm 0.35	0.72 \pm 0.07	0.91 \pm 0.45	0.70 \pm 0.09
MEDULA OSSEA	1.92 \pm 0.11	3.98 \pm 1.32	2.13 \pm 0.52	2.79 \pm 0.56	1.47 \pm 0.36	1.57 \pm 0.06
SANGRE ENTERA	0.63 \pm 0.01	0.72 \pm 0.05	0.61 \pm 0.03	0.64 \pm 0.01	0.60 \pm 0.01	0.70 \pm 0.02

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS (0.25 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, i.v.)

ng eq./g tejido húmedo (x1000)

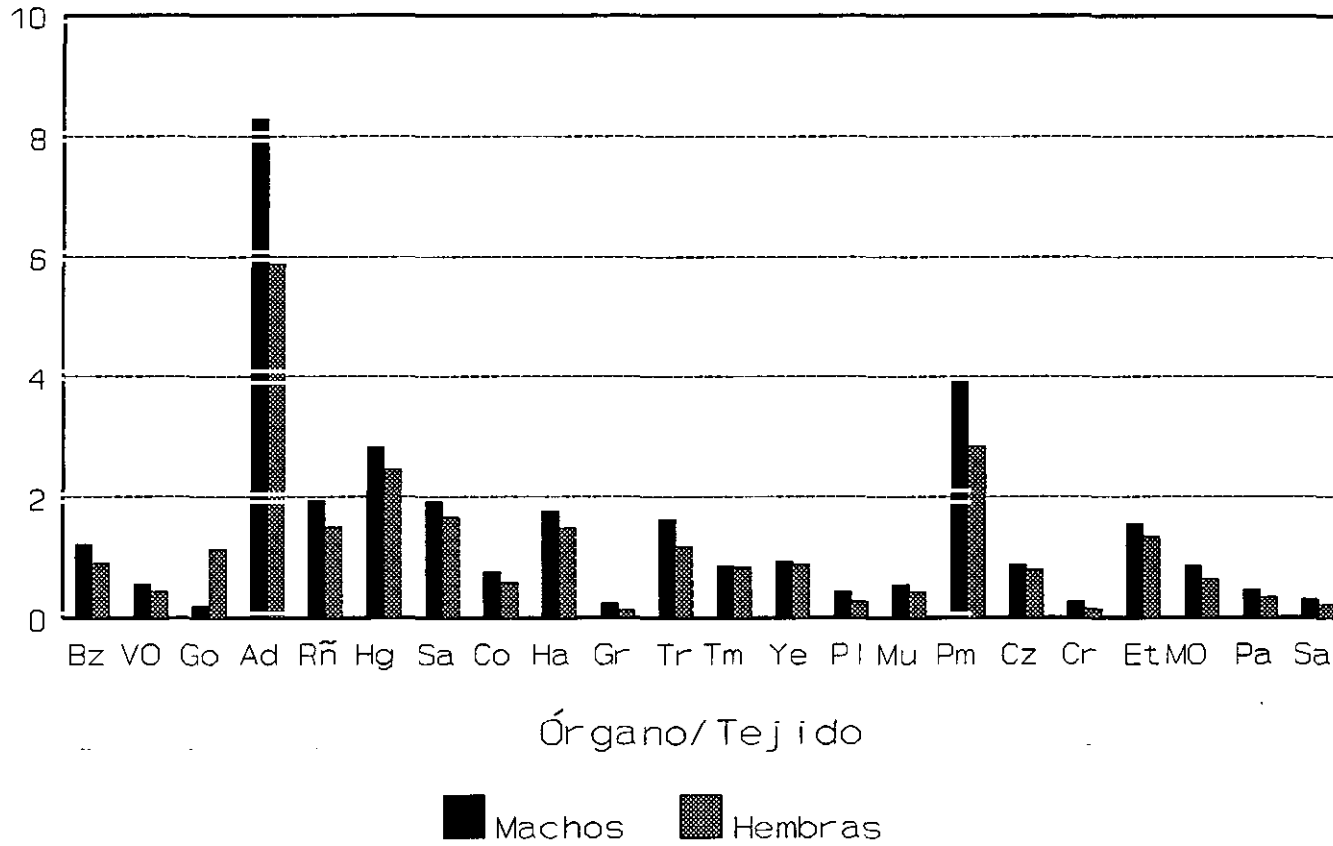


Figura 24

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS (1 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, i.v.)

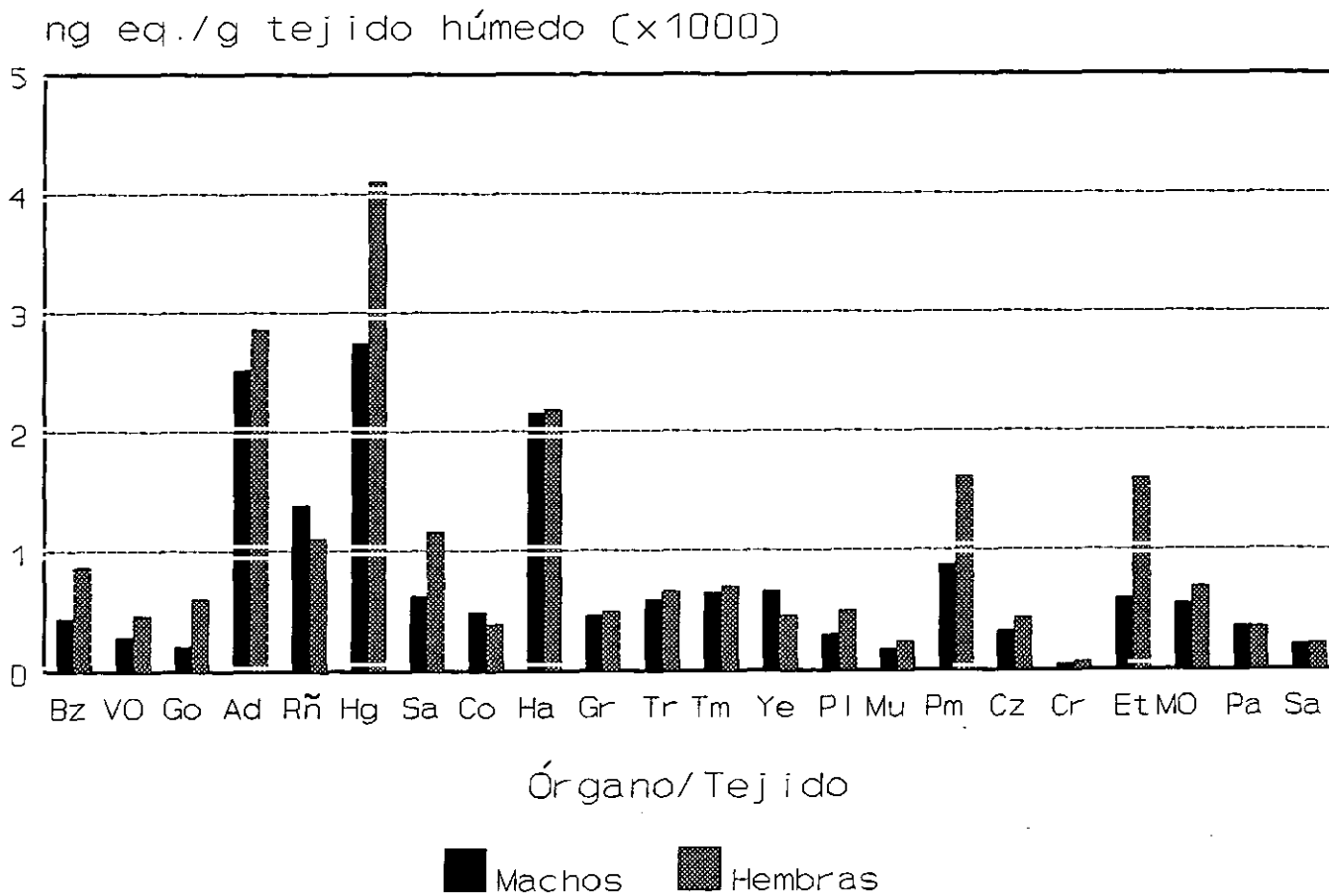


Figura 25

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATAS
(6 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, i.v.)

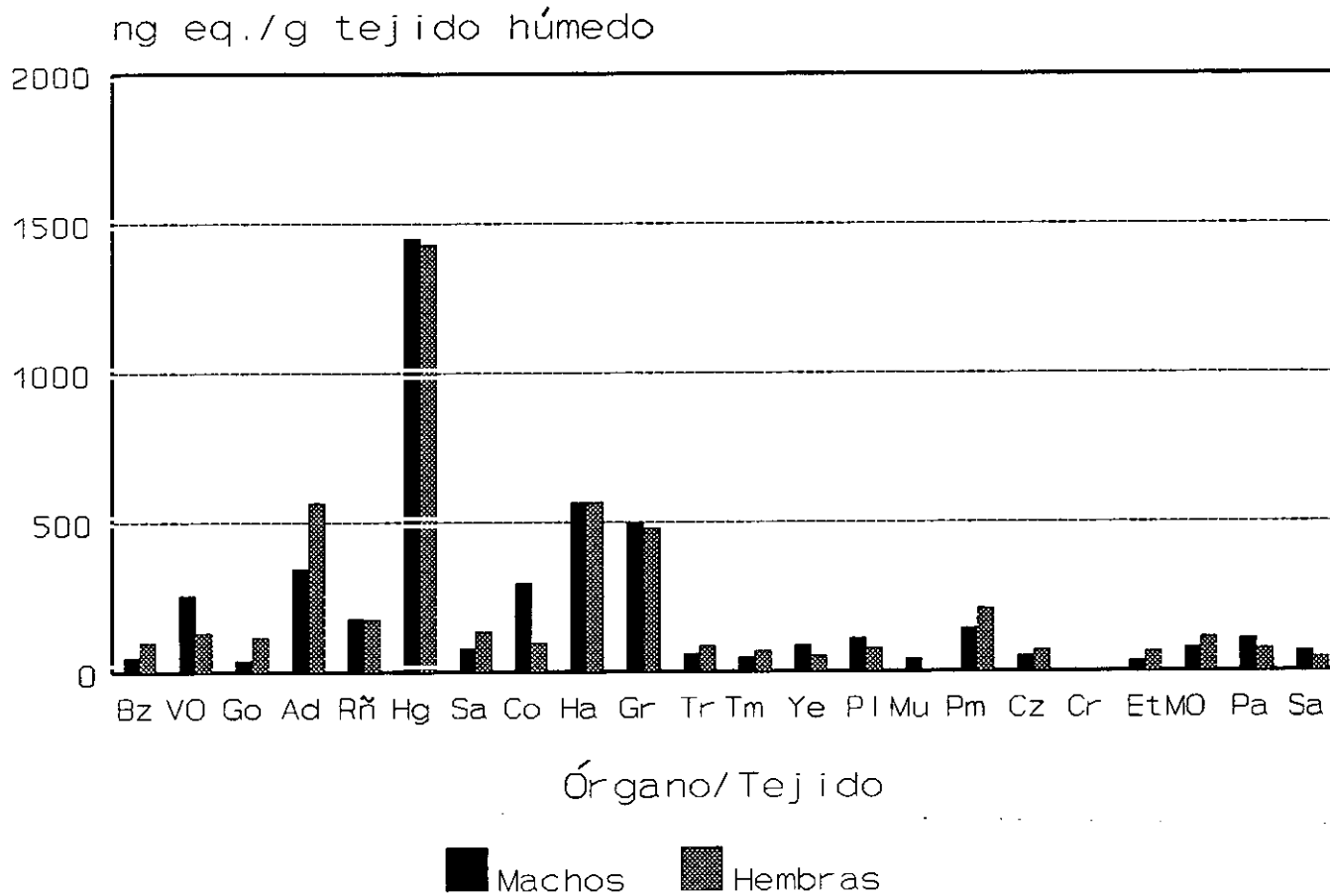


Figura 26

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS (24 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, i.v.)

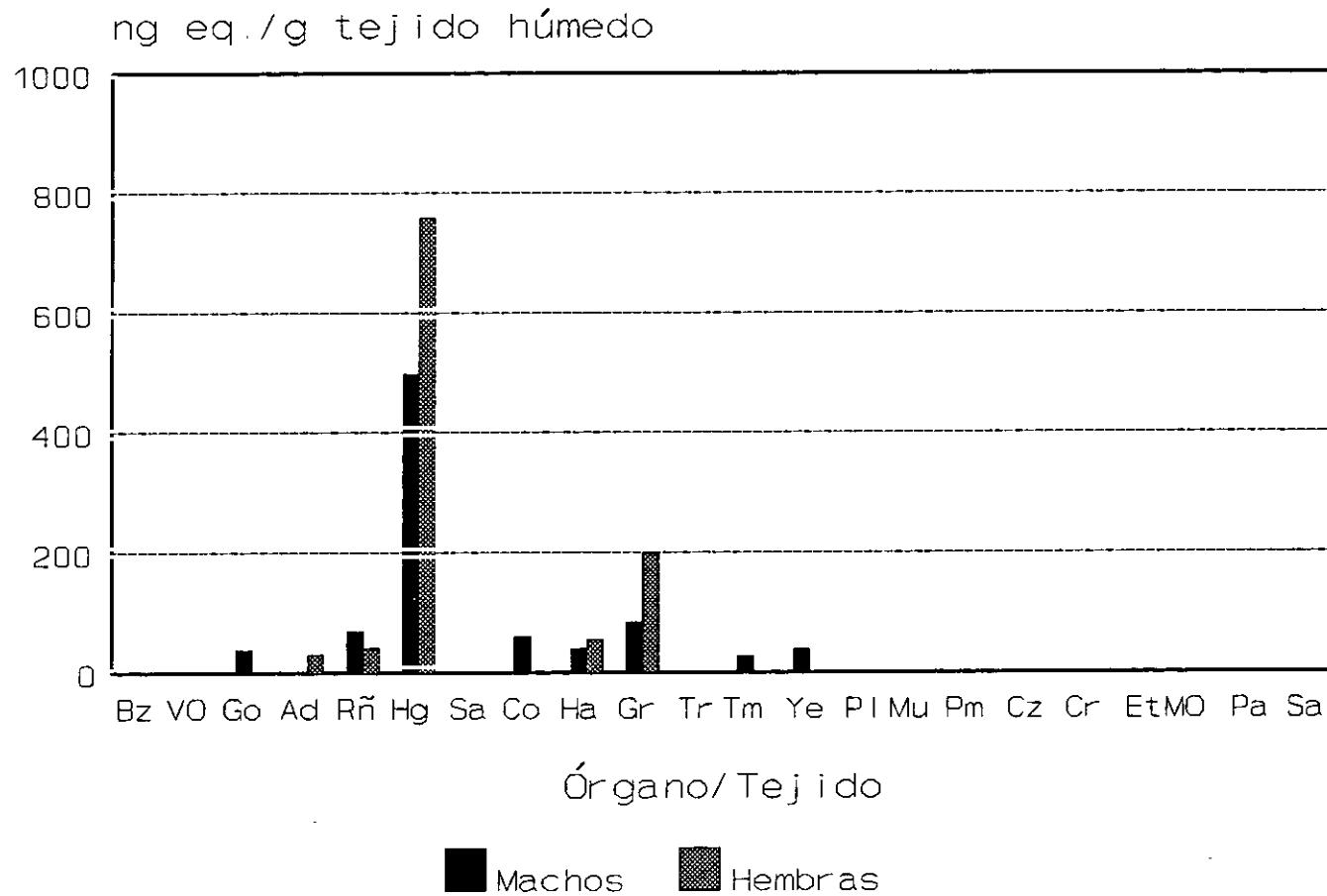


Figura 27

Como se observa en los resultados anteriores, la radioactividad procedente de la ^{14}C -Elgodipina se distribuye rápidamente y de forma heterogénea por los órganos y tejidos de la rata. La distribución inicial (15 minutos post-dosis) puede atribuirse al producto inalterado. Las concentraciones mayores se observan en las glándulas adrenales y en los pulmones; menores concentraciones de radioactividad se encuentran en hígado, riñones, bazo y ovario; las concentraciones más pequeñas se determinaron en los testículos, cerebro y tejido adiposo.

La concentración de radioactividad en la mayor parte de los órganos y tejidos decrece desde los 15 minutos a las 24 horas. Sólo en el tejido adiposo ($t_{\text{max}} = 2-6$ horas), glándula harderiana ($t_{\text{max}} = 1$ hora) y yeyuno ($t_{\text{max}} = 0.5$ horas) se observan máximos de concentración de radioactividad. Cuando ha transcurrido 1 hora desde la administración, la radioactividad permanece constante en algunos órganos como el hígado, riñón y timo, después decrece con el tiempo hasta que no es detectable. En el plasma, se observa un pico de concentración 1 hora después de la administración, tanto en machos como en hembras. Esto puede atribuirse a la recirculación enterohepática.

A las 24 horas de la administración i.v., los niveles más elevados de concentración de radioactividad se encuentran en el tejido adiposo, las glándulas adrenales, riñones, colon y glándula harderiana.

A las 48 horas post-dosis sólo se detecta radioactividad en el hígado, de ambos sexos, y en tejido adiposo de las hembras. A las 120 horas, sólo se detecta radioactividad en el hígado de ambos sexos.

La comparación estadística entre ambos sexos, mediante un análisis de la varianza de dos vías (ANOVA $p < 0.05$), no muestra diferencias estadísticamente significativas excepto en el riñón, colon y plasma, siendo generalmente mayores en los machos.

La estimación de la concentración de radioactividad en las células sanguíneas, a través de la relación de radioactividades determinadas en el plasma y en la sangre entera, indica que la mayor parte de la radioactividad circulante se encuentra en el plasma, siendo mínima la ligada a las células de la sangre. La relación radioact. en sangre/ radioact. en plasma permanece prácticamente constante durante el tiempo que abarca el estudio, variando de 0.57 a 0.72 (valor teórico 0.57), (ver tablas de Relación tejido/plasma).

El perfil de distribución de la ^{14}C -Elgodipina y/o sus metabolitos en ratas después de una administración i.v., indica que es rápida y heterogeneamente distribuida en todos los órganos y tejidos estudiados.

Las relaciones de radioactividad entre los órganos y el plasma son mayores que 1 en su mayor parte. En la piel es próxima a 1 (varía de 0.7 a 1.4) y sólo en sangre entera, cerebro y testículos es claramente menor que 1. Esto indica que en sangre, cerebro y testículos, la radioactividad detectada es debida al plasma circulante y no a acumulación en dichos órganos. Sólo en el caso de valores muy superiores a 1 como en las glándula de Harder, hígado, tejido adiposo, etc., podemos hablar de acumulación. Esta acumulación parece estar asociada a tejidos u órganos con un contenido graso importante, lo cual está de acuerdo al carácter lipófilo que presenta la Elgodipina a pH

fisiológico, es decir en forma de base ($pK_a = 4.69$, punto 3.1 del apartado de Antecedentes).

Se observa también un enriquecimiento de radioactividad temporal en algunos órganos como hígado, vejiga urinaria, colon y tejido adiposo.

Esta extensa distribución observada está de acuerdo con los elevados volúmenes de distribución calculados en el estudio de la farmacocinética de la ^{14}C -Elgodipina en ratas después de una administración i.v. (Tabla XXIII, del punto 4.3 del apartado de Resultados).

Como se observa de los datos de distribución encontrados, la mayor radioactividad se alcanza en los órganos y tejidos asociados con la excreción y/o la biotransformación (hígado, riñones y tracto gastro-intestinal).

5.10.- ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN ORAL.

Este estudio es paralelo al descrito en el punto anterior estudiándose la distribución en tejidos de la ^{14}C -Elgodipina, después de una dosis única por vía oral y determinando a lo largo del tiempo que órganos soportan mayor concentración de fármaco y en cuales tarda más tiempo en eliminarse.

Para ello se emplean ratas adultas Wistar (21 machos de 270 ± 15 g y 21 hembras de 229 ± 10 g) en el estudio entre 15 minutos y 24 horas. Para el estudio a 48 horas, se emplean los animales dosificados en el estudio de la farmacocinética con ^{14}C -

Elgodipina por vía oral y sacrificados a las 48 horas, 6 machos de 244 ± 8 g y 6 hembras de 211 ± 10 g (punto 5.4, del apartado de resultados).

Para el estudio a 120 horas, se emplean los animales dosificados en el estudio de la tasa de excreción en orina y heces de ^{14}C -Elgodipina por vía oral y sacrificados a las 120 horas, 4 machos de 274 ± 5 g y 4 hembras de 214 ± 2 g (punto 5.6, del apartado de resultados).

Los animales se aclimatan al menos durante 5 días en el laboratorio de radioisótopos, se separan en grupos de 3 individuos y se dosifican con una disolución de ^{14}C -Elgodipina mediante una sonda gástrica (puntos 4.4.4 y 4.7.3 del apartado de Materiales y Métodos).

La dosis administrada es de 1 mg/kg, 40 μCi /kg.

Una vez dosificados los animales se sacrifican a tiempos predefinidos (0.25, 0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48 y 120 horas), tomando una muestra de sangre (5-10 ml) y los mismos órganos/tejidos seleccionados en el estudio intravenoso.

Los procedimientos de preparación de las muestras, los límites de detección, los cálculos de la concentración química equivalente y los cálculos de distribución son iguales a los descritos en el punto anterior del estudio intravenoso.

Las tablas XLIII y XLIV muestran los valores de concentración química equivalente por g de tejido húmedo, determinados en cada uno de los órganos o tejidos, a distintos tiempos y para ambos sexos.

Las tablas XLV y XLVI muestran los mismos valores pero expresados como % dosis/g de tejido húmedo.

Las tablas XLVII y XLVIII, muestran los valores de % dosis/órgano o tejido, haciendo uso de la tabla alométrica anteriormente descrita.

Para poder relacionar la perfusión del órgano con los valores de concentración encontrados en cada órgano o tejido, las tablas XLIX y L, muestran las relaciones tejido/plasma para ambos sexos.

Con el fin de mostrar la evolución temporal de las concentraciones de Elgodipina en los distintos órganos y tejidos, las figuras 28 a 31 representan las concentraciones químicas equivalentes por gramo de tejido húmedo determinadas a 0.25, 1, 6 y 12 horas, respectivamente.

Tabla XLIII

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 µCi/kg) de ¹⁴C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como ng eq./g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	ng eq./g de tejido húmedo. Valores medios ± E.S.M. (n = 3). MACHOS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	32.9±1.9	N.D.	29.8±6.9	45.0±18.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	21.7±1.1	36.4±6.3	132.9±23.4	82.8±26.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TESTICULO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	119.2±43.8	111.3±22.9	144.5±24.6	196.3±67.4	91.3±7.7	25.2±2.2	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	242.1±122.6	149.9±15.8	300.0±143.8	211.7±50.5	101.6±17.7	34.1±3.6	28.7±2.5	N.D.	N.D.
HIGADO	1087.3±112.3	975.5±125.2	755.1±232.9	1065.7±392.9	1131.0±51.1	522.7±69.7	500.3±64.1	199.7±8.5	79.5±7.5
GLANDULA SALIVAR	29.1±4.6	30.3±5.0	43.2±9.5	44.4±3.9	28.5±3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	111.6±65.0	50.4±11.4	51.6±13.1	44.6±7.0	316.6±12.4	78.9±16.8	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	N.D.	N.D.	38.4±3.5	89.5±37.1	48.5±6.7	23.6±12.0	N.D.	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	N.D.	32.9±3.4	64.8±29.0	40.7±1.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLAND. TIROIDES	81.1±35.2	21.2±12.0	49.4±29.3	53.3±9.4	20.7±10.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	49.1±12.2	20.0±11.2	56.7±21.4	34.1±5.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
YEBUNO	24.6	556.2±286.6	259.8±126.0	341.8±129.7	89.8±11.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	N.D.	N.D.	39.2	45.3±10.8	39.2±5.5	N.D.	23.5±1.0	N.D.	N.D.
MUSCULO	N.D.	N.D.	31.7±19.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	92.1±18.1	74.4±22.6	98.8±17.2	129.4±54.5	58.7±31.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	47.3±5.0	29.1±4.7	51.4±9.2	50.6±8.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	3350.3±592.7	3749.7±2587.	3457.0±548.6	782.7±325.1	107.0±65.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	32.9±4.8	N.D.	53.7±14.9	75.6±15.6	52.3±8.5	N.D.	25.8±2.8	N.D.	N.D.
PLASMA	58.1±2.8	78.6±12.1	85.0±0.7	112.9±21.9	66.9±15.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	49.1±6.0	47.1±2.9	54.8±9.0	26.9±14.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XLIV

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como ng eq./g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	ng eq./g de tejido húmedo. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). HEMBRAS								
	0.25 h (n=2)	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	26.9	200.8 \pm 81.0	232.4 \pm 79.5	112.6 \pm 37.0	62.0 \pm 28.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	172.5 \pm 95.0	159.7 \pm 64.6	111.3 \pm 10.7	131.6 \pm 4.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
OVARIO	21.7	148.5 \pm 55.8	205.2 \pm 58.5	100.2 \pm 30.0	49.8 \pm 7.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	97.4	567.9 \pm 202.0	814.8 \pm 283.0	334.8 \pm 29.5	125.2 \pm 15.1	23.2 \pm 1.3	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	76.3	550.0 \pm 219.5	508.0 \pm 181.4	293.9 \pm 51.9	100.5 \pm 3.3	36.5 \pm 2.8	25.5 \pm 0.5	N.D.	N.D.
HIGADO	352.0	2743.9 \pm 1180.	1958.5 \pm 642.0	2088.8 \pm 350.9	1346.1 \pm 78.8	608.6 \pm 94.1	499.6 \pm 29.8	227.9 \pm 6.9	72.5 \pm 7.4
GLANDULA SALIVAR	23.5	186.8 \pm 57.6	289.2 \pm 120.9	238.7 \pm 126.0	87.5 \pm 30.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	70.0	297.7 \pm 68.8	226.1 \pm 114.3	86.7 \pm 32.2	341.1 \pm 151.4	52.3 \pm 4.5	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	36.0	158.5 \pm 50.9	305.9 \pm 125.8	219.7 \pm 82.4	209.2 \pm 26.3	68.7 \pm 8.4	48.3 \pm 10.1	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	132.9 \pm 51.5	215.7 \pm 57.1	78.9 \pm 7.4	257.9 \pm 76.2	43.1 \pm 7.9	44.8 \pm 10.4	32.4 \pm 2.8	N.D.
GLAND. TIROIDES	79.8	162.1 \pm 46.4	195.1 \pm 46.7	96.2 \pm 28.1	57.4 \pm 10.1	N.D.	22.5 \pm 11.4	N.D.	N.D.
TIMO	N.D.	115.7 \pm 12.4	150.2 \pm 50.4	79.8 \pm 20.5	29.5 \pm 3.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
YEYUNO	86.6	1714.8 \pm 959.9	998.9 \pm 49.8	175.1	75.3 \pm 8.2	30.5 \pm 17.8	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	N.D.	38.1 \pm 3.0	54.0 \pm 23.2	55.7 \pm 11.4	31.6 \pm 2.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	N.D.	58.7 \pm 24.7	66.8 \pm 22.0	32.4 \pm 6.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	110.8	403.7 \pm 176.8	439.0 \pm 129.2	232.2 \pm 89.6	61.1 \pm 2.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	44.2	181.8 \pm 84.4	163.0 \pm 41.4	77.3 \pm 6.5	31.6 \pm 1.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BSTOMAGO	2499.6	4622.6 \pm 1679.	3206.1 \pm 1713.	1187.7 \pm 183.7	45.3 \pm 3.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	67.9	152.7 \pm 42.8	209.3 \pm 46.1	143.5 \pm 18.7	75.7 \pm 24.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	37.3	188.5 \pm 65.8	189.5 \pm 38.3	153.2 \pm 13.7	63.2 \pm 3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	115.5 \pm 40.2	115.2 \pm 22.9	85.7 \pm 6.3	36.5 \pm 1.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XLV

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como % dosis/g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/g de tejido húmedo. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS								
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TESTICULO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	0.04 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.07 \pm 0.03	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	0.09 \pm 0.04	0.06 \pm 0.01	0.11 \pm 0.05	0.08 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
HIGADO	0.38 \pm 0.04	0.38 \pm 0.04	0.28 \pm 0.09	0.38 \pm 0.14	0.42 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03	0.19 \pm 0.03	0.08 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00
GLANDULA SALIVAR	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	0.04 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.11 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	N.D.	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.03 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLAND. TIROIDES	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TIMO	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
YEBUNO	0.01	0.22 \pm 0.11	0.10 \pm 0.05	0.12 \pm 0.05	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	N.D.	N.D.	0.02	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
MUSCULO	N.D.	N.D.	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	0.03 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	1.17 \pm 0.21	1.51 \pm 1.07	1.29 \pm 0.21	0.27 \pm 0.11	0.04 \pm 0.03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.02 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
PLASMA	0.02 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XLVI

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como % dosis/g de tejido húmedo).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/g de tejido húmedo. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). HEMBRAS								
	0.25 h (n=2)	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	120 h
BAZO	0.01	0.08 \pm 0.04	0.10 \pm 0.03	0.05 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.08 \pm 0.04	0.07 \pm 0.03	0.05 \pm 0.00	0.06 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
OVARIO	0.01	0.06 \pm 0.03	0.09 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	0.04	0.25 \pm 0.09	0.35 \pm 0.13	0.14 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
RIÑON	0.03	0.24 \pm 0.10	0.22 \pm 0.08	0.12 \pm 0.02	0.05 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
HIGADO	0.15	1.19 \pm 0.52	0.85 \pm 0.29	0.87 \pm 0.15	0.61 \pm 0.04	0.27 \pm 0.05	0.22 \pm 0.01	0.11 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00
GLANDULA SALIVAR	0.01	0.08 \pm 0.03	0.13 \pm 0.06	0.10 \pm 0.05	0.04 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
COLON	0.03	0.13 \pm 0.03	0.10 \pm 0.05	0.03 \pm 0.01	0.15 \pm 0.07	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA HARDER	0.01	0.07 \pm 0.02	0.13 \pm 0.06	0.09 \pm 0.04	0.10 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	0.06 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	0.11 \pm 0.03	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	N.D.	N.D.
GLAND. TIROIDES	0.03	0.07 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	N.D.	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.
TIMO	N.D.	0.05 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
YEBUNO	0.04	0.74 \pm 0.41	0.43 \pm 0.02	0.07	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
PIEL	N.D.	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MUSCULO	N.D.	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	0.05	0.18 \pm 0.08	0.19 \pm 0.06	0.10 \pm 0.04	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CORAZON	0.02	0.08 \pm 0.04	0.07 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CREBBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	1.08	2.00 \pm 0.74	1.35 \pm 0.69	0.50 \pm 0.08	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.03	0.06 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	0.02	0.08 \pm 0.03	0.08 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	0.05 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Tabla XLVII

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/órgano o tejido . Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS						
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h
BAZO	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
TESTICULO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
RIÑON	0.19 \pm 0.08	0.12 \pm 0.01	0.25 \pm 0.13	0.17 \pm 0.04	0.09 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
HIGADO	3.73 \pm 0.27	3.24 \pm 0.33	2.57 \pm 0.77	3.41 \pm 1.18	4.43 \pm 0.11	3.01 \pm 0.38	2.78 \pm 0.51
GLANDULA SALIVAR	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	N.D.	0.19 \pm 0.00	0.40 \pm 0.20	0.32 \pm 0.07	N.D.	N.D.
TIMO	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
PIBL	N.D.	N.D.	0.74	0.86 \pm 0.16	0.03 \pm 0.01	N.D.	0.46 \pm 0.00
MUSCULO	N.D.	N.D.	1.25 \pm 0.73	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	0.05 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.
CORAZON	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	1.83 \pm 0.29	2.01 \pm 1.34	2.03 \pm 0.26	0.45 \pm 0.23	0.07 \pm 0.05	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.01 \pm 0.00	N.D.	0.02 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	N.D.	0.01 \pm 0.00
PLASMA	0.23 \pm 0.01	0.31 \pm 0.07	0.36 \pm 0.03	0.50 \pm 0.09	0.29 \pm 0.07	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	0.36 \pm 0.01	0.38 \pm 0.01	0.47 \pm 0.06	0.25 \pm 0.06	N.D.	N.D.

Tabla XLVIII

Concentración de radioactividad en tejidos después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	% dosis/órgano o tejido . Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). HEMBRAS						
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h
BAZO	0.01	0.05 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	N.D.	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
OVARIO	0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.
RIÑON	0.06	0.44 \pm 0.16	0.39 \pm 0.14	0.18 \pm 0.03	0.08 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00
HIGADO	1.03	8.65 \pm 3.74	5.90 \pm 2.03	5.66 \pm 0.79	4.46 \pm 0.40	2.69 \pm 0.40	2.16 \pm 0.13
GLANDULA SALIVAR	0.01	0.04 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02	N.D.	N.D.
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	1.00 \pm 0.37	1.53 \pm 0.38	0.57 \pm 0.06	1.78 \pm 0.54	0.27 \pm 0.05	0.33 \pm 0.11
TIMO	N.D.	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
PIEL	N.D.	0.70 \pm 0.14	0.97 \pm 0.36	1.01 \pm 1.14	0.53 \pm 0.14	N.D.	N.D.
MUSCULO	N.D.	2.80 \pm 1.24	3.16 \pm 1.19	1.45 \pm 0.36	N.D.	N.D.	N.D.
PULMON	0.07	0.20 \pm 0.08	0.27 \pm 0.08	0.11 \pm 0.04	0.03 \pm 0.00	N.D.	N.D.
CORAZON	0.01	0.07 \pm 0.03	0.07 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	1.24	2.64 \pm 0.97	1.67 \pm 0.90	0.58 \pm 0.08	0.02 \pm 0.00	N.D.	N.D.
MEDULA OSEA	0.02	0.05 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	N.D.	N.D.
PLASMA	0.18	0.74 \pm 0.26	0.74 \pm 0.16	0.61 \pm 0.08	0.27 \pm 0.00	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	N.D.	0.81 \pm 0.27	0.81 \pm 0.18	0.56 \pm 0.06	0.31 \pm 0.00	N.D.	N.D.

Tabla XLIX

Relación de radioactividad tejido/plasma después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas machos. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	Relación tejido/plasma. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). MACHOS				
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h
BAZO	0.57 \pm 0.03	N.D.	0.34 \pm 0.08	0.37 \pm 0.08	N.D.
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.30 \pm 0.06	0.43 \pm 0.08	1.33 \pm 0.41	1.21 \pm 0.21
TESTICULO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GLANDULA ADRENAL	2.01 \pm 0.67	1.41 \pm 0.11	1.71 \pm 0.31	1.67 \pm 0.28	1.47 \pm 0.25
RIÑON	4.06 \pm 1.92	1.95 \pm 0.18	3.55 \pm 1.73	1.84 \pm 0.09	1.56 \pm 0.10
HIGADO	18.65 \pm 1.20	12.61 \pm 1.03	8.85 \pm 2.70	8.82 \pm 1.66	18.31 \pm 2.95
GLANDULA SALIVAR	0.50 \pm 0.06	0.39 \pm 0.04	0.51 \pm 0.11	0.42 \pm 0.09	0.45 \pm 0.08
COLON	2.04 \pm 1.28	0.72 \pm 0.26	0.61 \pm 0.15	0.40 \pm 0.01	5.26 \pm 1.14
GLANDULA HARDER	N.D.	N.D.	0.45 \pm 0.04	0.75 \pm 0.20	0.76 \pm 0.07
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	N.D.	0.39 \pm 0.04	0.53 \pm 0.15	0.67 \pm 0.12
GLAND. TIROIDES	1.38 \pm 0.58	0.23 \pm 0.12	0.59 \pm 0.35	0.48 \pm 0.06	0.30 \pm 0.16
TIMO	0.73 \pm 0.19	0.30 \pm 0.20	0.67 \pm 0.26	0.31 \pm 0.02	N.D.
YEYUNO	0.74	8.16 \pm 4.08	3.08 \pm 1.50	3.00 \pm 0.97	1.41 \pm 0.17
PIEL	N.D.	N.D.	0.46	0.41 \pm 0.09	0.66 \pm 0.19
MUSCULO	N.D.	N.D.	0.37 \pm 0.23	N.D.	N.D.
PULMON	1.58 \pm 0.28	0.91 \pm 0.15	1.16 \pm 0.21	1.07 \pm 0.25	0.77 \pm 0.24
CORAZON	0.81 \pm 0.05	0.37 \pm 0.01	0.61 \pm 0.11	0.46 \pm 0.08	N.D.
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	57.13 \pm 7.88	60.93 \pm 47.23	40.61 \pm 6.30	8.43 \pm 4.49	1.35 \pm 0.53
MEDULA OSEA	0.56 \pm 0.06	N.D.	0.63 \pm 0.18	0.67 \pm 0.04	0.87 \pm 0.25
SANGRE ENTERA	N.D.	0.63 \pm 0.02	0.56 \pm 0.04	0.50 \pm 0.05	0.34 \pm 0.18

Tabla I

Relación de radioactividad tejido/plasma después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina a ratas hembras. (Los valores se expresan como % dosis/órgano o tejido).

TEJIDO/ORGANO	Relación tejido/plasma. Valores medios \pm E.S.M. (n = 3). HEMBRAS				
	0.25 h	0.5 h	1 h	2 h	6 h
BAZO	0.72	1.04 \pm 0.07	1.15 \pm 0.21	0.71 \pm 0.17	1.00 \pm 0.47
VEJIGA URINARIA	N.D.	0.83 \pm 0.20	0.78 \pm 0.17	0.75 \pm 0.13	2.09 \pm 0.13
OVARIO	0.58	0.77 \pm 0.02	1.06 \pm 0.23	0.63 \pm 0.13	0.80 \pm 0.15
GLANDULA ADRENAL	2.61	3.11 \pm 0.33	4.03 \pm 0.66	2.19 \pm 0.13	2.01 \pm 0.30
RIÑON	2.05	2.81 \pm 0.17	2.52 \pm 0.42	1.90 \pm 0.22	1.60 \pm 0.14
HIGADO	9.43	13.10 \pm 2.49	10.16 \pm 1.83	13.46 \pm 1.11	21.53 \pm 2.31
GLANDULA SALIVAR	0.63	1.04 \pm 0.07	1.38 \pm 0.35	1.45 \pm 0.64	1.43 \pm 0.56
COLON	1.88	2.54 \pm 1.57	1.06 \pm 0.36	0.54 \pm 0.15	5.40 \pm 2.49
GLANDULA HARDER	0.96	0.87 \pm 0.05	1.47 \pm 0.36	1.37 \pm 0.39	3.37 \pm 0.57
GRASA (ABDOMINAL)	N.D.	0.75 \pm 0.24	1.11 \pm 0.08	0.52 \pm 0.05	4.23 \pm 1.40
GLAND. TIROIDES	2.14	0.93 \pm 0.13	1.01 \pm 0.04	0.68 \pm 0.07	0.92 \pm 0.17
TIMO	N.D.	0.78 \pm 0.27	0.75 \pm 0.11	0.51 \pm 0.09	0.47 \pm 0.07
YBYUNO	1.16	10.34 \pm 4.89	5.81 \pm 1.33	1.24	1.18 \pm 0.06
PIEL	N.D.	0.26 \pm 0.09	0.26 \pm 0.06	0.36 \pm 0.04	0.50 \pm 0.01
MUSCULO	N.D.	0.30 \pm 0.03	0.34 \pm 0.05	0.21 \pm 0.03	N.D.
PULMON	2.97	2.07 \pm 0.24	2.22 \pm 0.24	1.45 \pm 0.43	0.97 \pm 0.03
CORAZON	1.19	0.90 \pm 0.12	0.84 \pm 0.05	0.50 \pm 0.01	0.50 \pm 0.04
CEREBRO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ESTOMAGO	66.96	23.72 \pm 2.30	16.58 \pm 8.96	7.69 \pm 0.62	0.73 \pm 0.09
MEDULA OSEA	1.82	0.87 \pm 0.09	1.09 \pm 0.07	0.95 \pm 0.16	1.22 \pm 0.42
SANGRE ENTERA	N.D.	0.61 \pm 0.01	0.61 \pm 0.01	0.56 \pm 0.01	0.58 \pm 0.02

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS
 (0.25 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, p.o.)

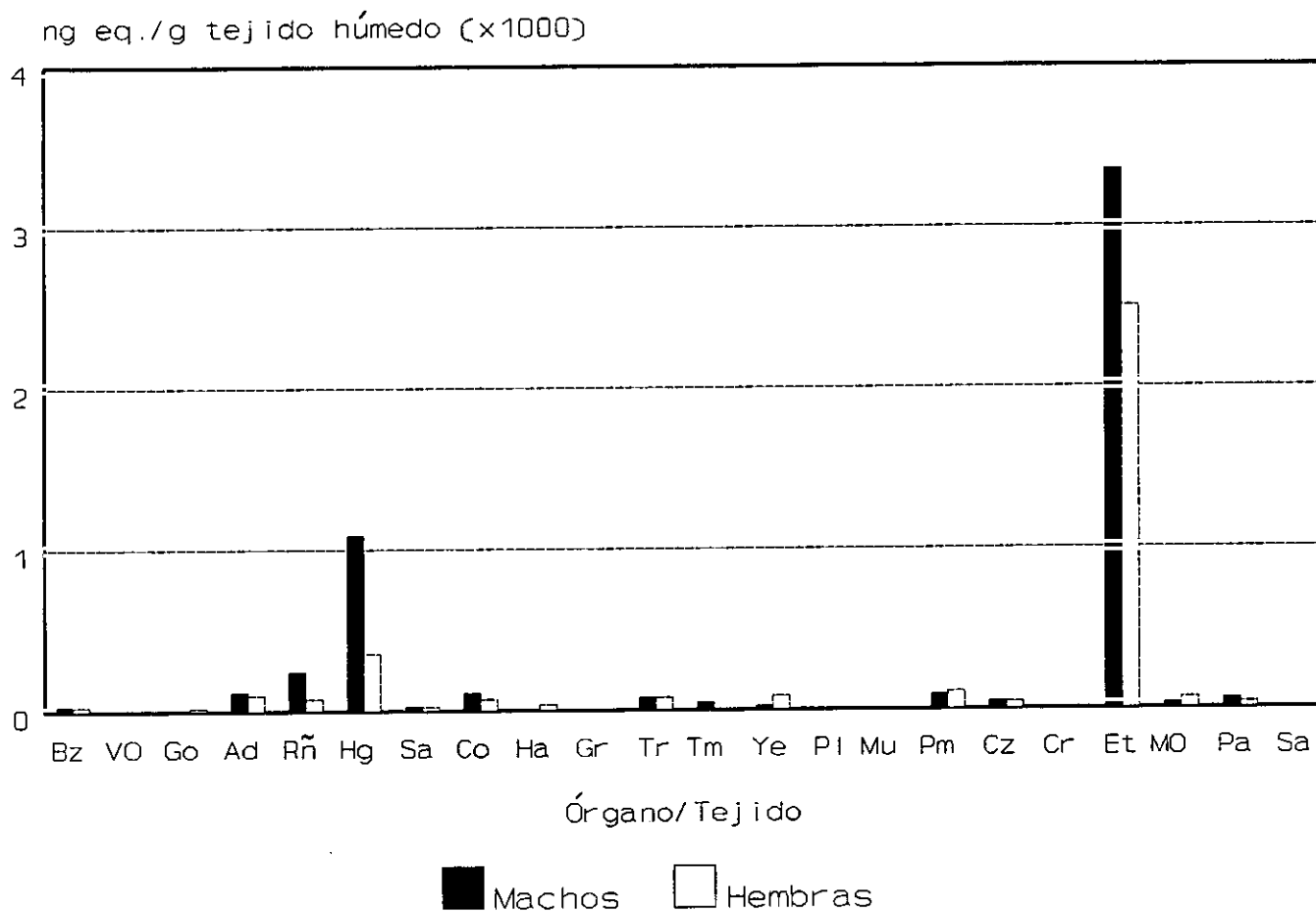
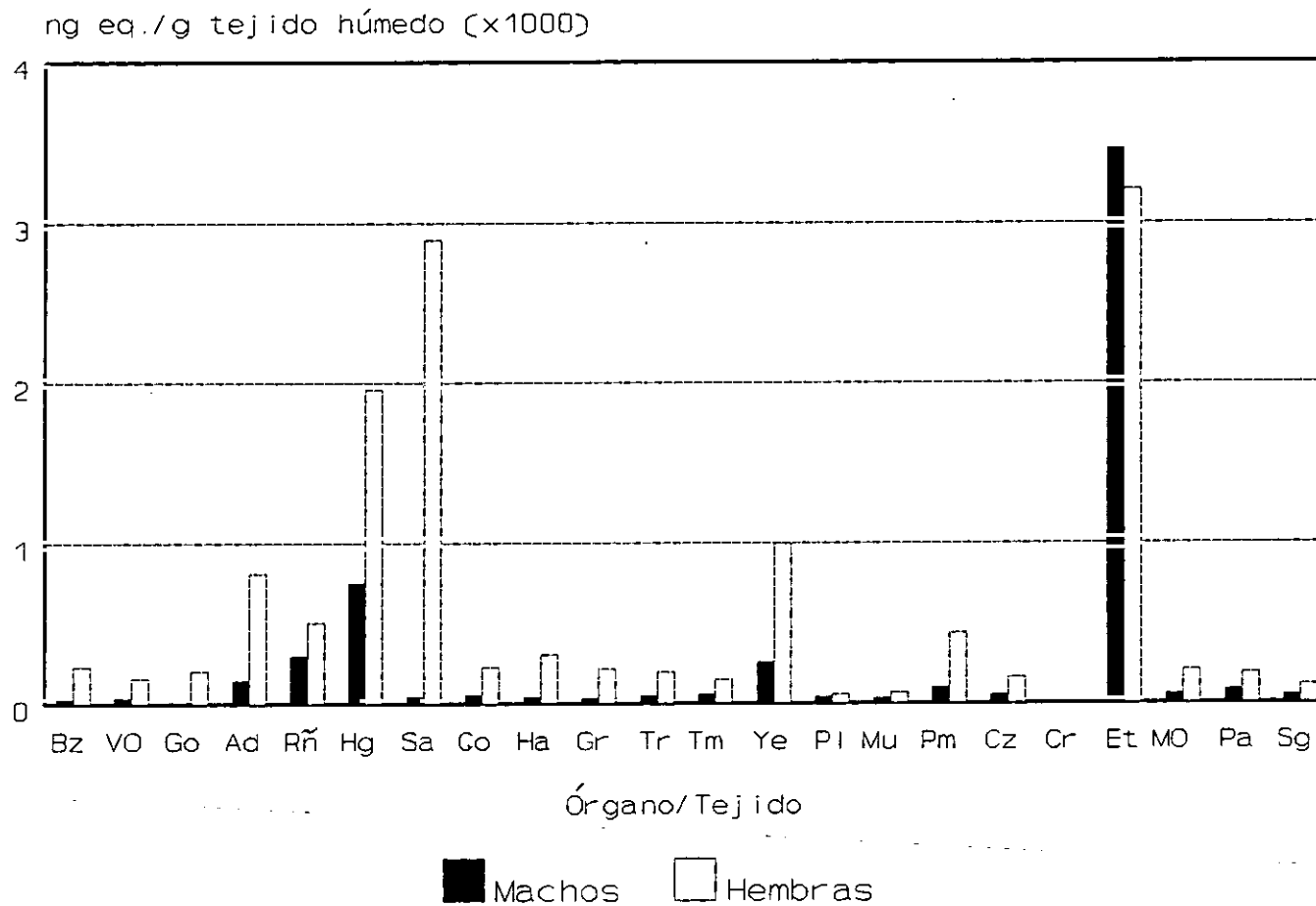


Figura 28

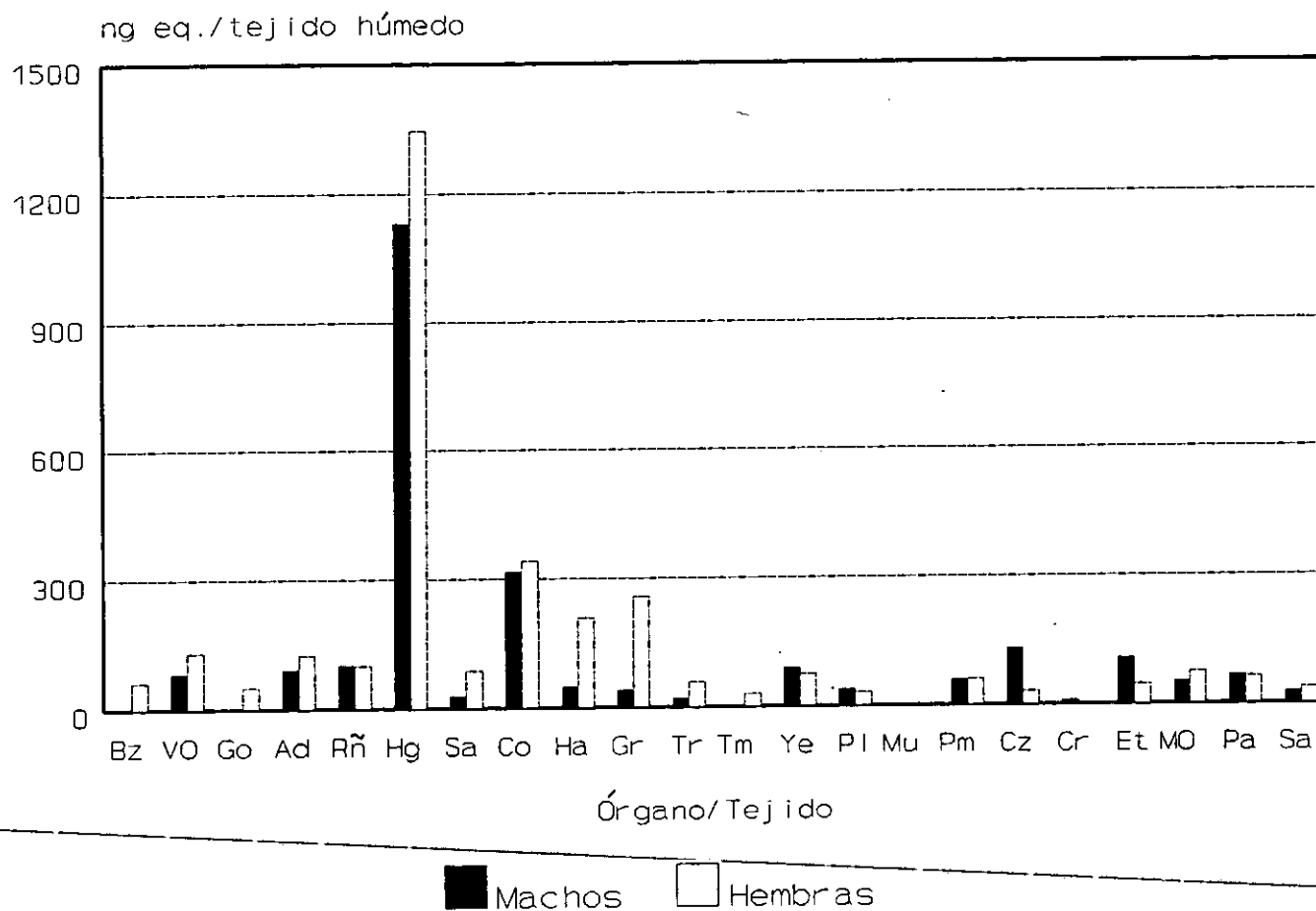
DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS
 (1 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, p.o.)

Figura 29



DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS
(6 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, p.o.)

Figura 30



DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS
 (12 h, dosis 1 mg/kg, 40 mCi/kg, p.o.)

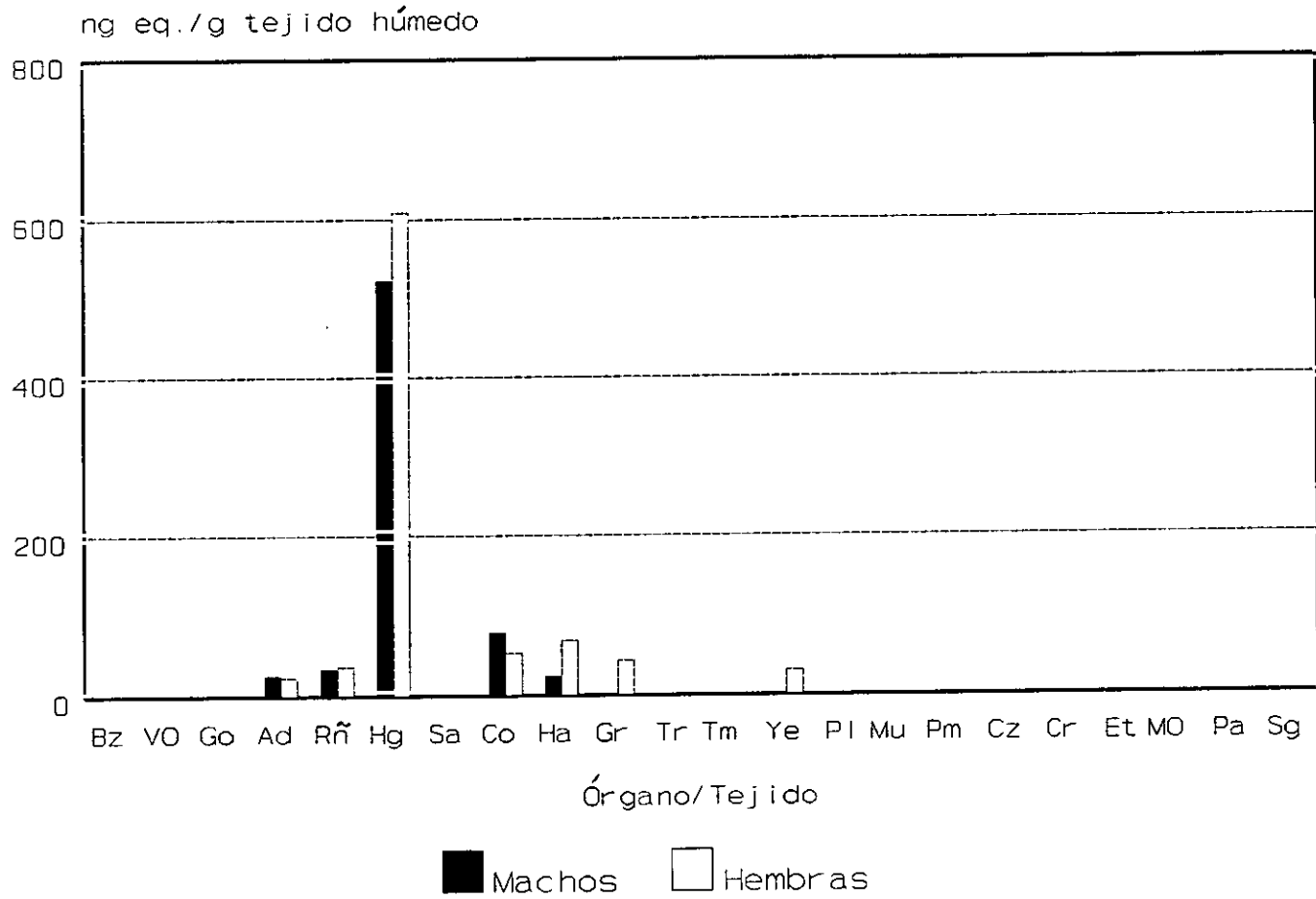


Figura 31

Como es lógico, después de la administración oral las concentraciones de radioactividad más elevadas se detectan en el estómago (mayor de 3000 ng eq./g tejido húmedo, 1 hora post-dosis). Concentraciones inferiores se encuentran en el tracto gastro-intestinal (yeyuno y colon). Concentraciones medias o bajas se detectan en glándulas adrenales, pulmones y riñones en los machos y en glándulas salivares y tejido adiposo en las hembras. Las concentraciones más pequeñas se detectan en el tejido muscular y piel de ambos sexos y en algunos órganos de los machos (bazo y glándulas salivares).

En el cerebro de ambos sexos y en los testículos, no se aprecia radioactividad a ningún tiempo. Sin embargo, en las hembras se detectan concentraciones medias de radioactividad en los ovarios.

A las 48 horas y 120 horas después de la administración, sólo se encuentra radioactividad en el hígado.

La comparación estadística, mediante un ANOVA de dos vías ($p < 0.05$), no muestra diferencias entre ambos sexos, a excepción del colon y el yeyuno ($p < 0.01$). En los riñones, piel y estómago, no se observan diferencias significativas.

Aunque no estadísticamente significativas, las concentraciones de radioactividad determinadas en los órganos y tejidos de las hembras siempre son mayores y a tiempos superiores que en los de los machos. Estas diferencias pueden ser debidas a la descrita diferente biotransformación de las 1,4 dihidropiridinas entre los machos y las hembras de rata (Krauser, H.P., 1988 y Baarnhielm, C., 1986).

La estimación de la concentración de radioactividad en las células sanguíneas, a través de la relación de radioactividades determinadas en el plasma y en la sangre entera, indica que la mayor parte de la radioactividad circulante se encuentra en el plasma, siendo mínima la ligada a las células de la sangre. La relación radioact. en sangre/ radioact. en plasma permanece prácticamente constante durante el tiempo que abarca el estudio, variando de 0.50 a 0.63 (valor teórico 0.57).

El perfil de distribución que muestra la ^{14}C -Elgodipina y/o sus metabolitos, indica que el producto es heterogéneamente distribuido en los órganos y tejidos. La relación tejido/plasma es mayor de 5 en los órganos/tejidos relacionados con el tracto gastro-intestinal (estómago, yeyuno y colon) y en el hígado. Las concentraciones de radioactividad en bazo, ovarios, glándulas salivares y harderianas, tejido adiposo, timo, piel, tejido muscular, corazón y médula ósea, son similares a las del plasma (relación tejido/plasma entre 0.34 y 1.82).

La distribución tisular observada indica que las concentraciones mayores de radioactividad están relacionadas con los órganos/tejidos asociados a procesos de absorción, excreción y biotransformación (hígado, riñones y tracto gastro-intestinal).

La radioactividad permanece prácticamente constante durante 1 hora en el estómago y luego disminuye hasta que no es detectada ($t = 12$ horas). En las hembras, las concentraciones máximas se alcanzan, en la mayor parte de los órganos, 1 hora después de la administración; sin embargo, en los machos este máximo se alcanza a las 2 horas de la administración.

Esta forma de distribución tisular es similar a la descrita para otras dihidropiridinas. Por ejemplo en el caso de la ^{14}C -Benidipina (Kobayashi, 1988) después de una dosis oral a ratas machos de 1 mg/kg, se detectaron las mayores concentraciones de radioactividad a 0.25 h en el estómago, a 1 hora en la vejiga de la orina e intestino delgado, a las 4 horas en el hígado, a las 6 horas en tejido adiposo del peritoneo y a las 8 horas en el intestino grueso. A las 72 horas post dosis, en el hígado, riñón, grasa, páncreas, bazo y pulmón, las concentraciones de radioactividad eran mayores que en el plasma, indicando acumulación en estos órganos.

Como se puede ver, este perfil de distribución tisular es muy similar al que presenta la ^{14}C -Elgodipina.

5.11.- ESTUDIO DEL PASO DE LA BARRERA PLACENTARIA DE ^{14}C -ELGODIPINA, EN RATA, DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Para este estudio se emplearon 11 ratas Wistar preñadas de 15 días de gestación (el control se realiza mediante frotis vaginal) de 346 ± 26 g de peso. Los animales se estabulan en grupos de 3-4 animales por jaula, al menos 1 día antes del estudio en el laboratorio de radioisótopos como período de aclimatación.

La disolución de ^{14}C -Elgodipina se administra en un "bolus" en la vena caudal a una dosis de 1 mg/kg ($40 \mu\text{Ci/kg}$).

A tiempos predefinidos (1, 4 y 24 horas), los animales se sacrifican procediendo a la extracción de sangre por punción cardíaca y de los siguientes órganos: Útero, Placenta, Fetos y

Líquido Amniótico, de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.8.6 del apartado de Materiales y Métodos.

Se toma una alícuota de 50 μ l de las muestras de sangre y el resto se centrifuga para tomar 50 μ l de plasma y determinar la radioactividad total (punto 4.13 del apartado de Materiales y Métodos). Los órganos/tejidos se pesan enteros (en los que es posible), se toma una alícuota de 20 - 100 mg (50 μ l de sangre) y se preparan de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.9.6 del apartado de Materiales y Métodos.

El límite de detección se establece en concentraciones cuya radioactividad sea igual o inferior al doble del ruido de fondo.

La radioactividad medida en cada muestra se refiere al peso del órgano/tejido o al volumen en el caso de muestras líquidas (dpm/mg o dpm/ml).

Los valores de concentración radioactiva determinados, expresados en diferentes unidades (cantidad absoluta ng eq./g, % dosis/g y relación de radioactividades tejido/plasma), se muestran en las tablas LI, LII, y LIII y la representación gráfica de la evolución temporal de la radioactividad en los órganos considerados, se muestra en la Figura 32.

Tabla LI

Concentraciones absolutas de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	ng equivalentes/g de tejido húmedo		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	244.2 \pm 15.1	82.2 \pm 10.9	25.8 \pm 14.7
PLACENTA	292.8 \pm 6.6	101.5 \pm 4.3	N.D.
FETOS	34.1 \pm 1.5	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	362.7 \pm 17.2	153.2 \pm 14.5	N.D.
SANGRE ENTERA	223.0 \pm 12.5	89.4 \pm 6.6	N.D.

Tabla LII

Concentraciones relativas de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	% de dosis/g de tejido húmedo		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	0.07 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00
PLACENTA	0.09 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	N.D.
FETOS	0.01 \pm 0.00	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	0.11 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	N.D.
SANGRE ENTERA	0.06 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	N.D.

Tabla LIII

Relación de concentraciones de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis i.v. (1 mg/kg, 40 µCi/kg) de ¹⁴C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	Relación tejido/plasma		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	0.67±0.03	0.56±0.09	N.D.
PLACENTA	0.81±0.03	0.68±0.04	N.D.
FETOS	0.10±0.00	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	0.61±0.01	0.60±0.03	N.D.

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS PREÑADAS DESPUES DE UNA DOSIS I.V.

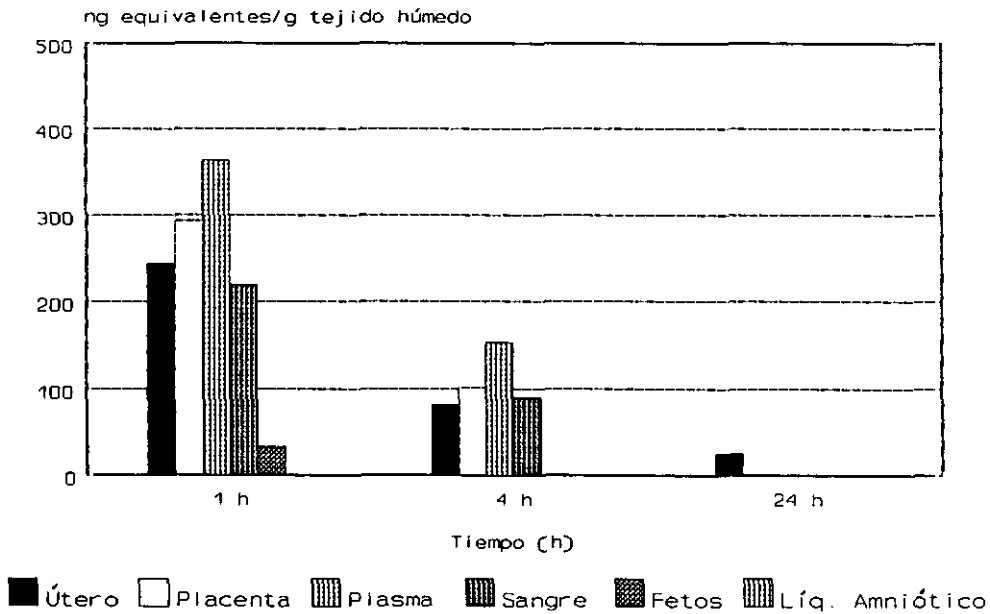


Figura 32

Durante el período de estudio (0 - 24 horas), las concentraciones de radioactividad en los fetos, útero y placenta siempre fueron inferiores a las concentraciones correspondientes en el plasma materno.

En el líquido amniótico, no se detecta radioactividad a ningún tiempo. En los fetos, se detectan cantidades pequeñas de radioactividad (0.01 % dosis/g), sólo 1 hora después de la administración.

En las ratas preñadas, en ninguno de los órganos/tejidos analizados, la relación de radioactividad tejido/plasma supera la unidad a cualquier tiempo. Además, en los fetos las concentraciones de radioactividad, a cualquier tiempo, no exceden a las concentraciones de radioactividad en la placenta; esto indica que el paso del fármaco a través de la barrera placentaria es moderado.

Al igual que en las ratas no preñadas, la radioactividad de la sangre está asociada con el plasma y sólo una muy pequeña fracción está asociada a la fracción celular de la sangre.

Este comportamiento de la ^{14}C -Elgodipina es concordante con el que presentan otras dihidropiridinas. Krauser y col. (1988), estudió el paso de la barrera placentaria de la ^{14}C -Nitrendipina, determinando la radioactividad en los fetos a los 3 minutos de la administración i.v. de 5 mg/kg. La autorradiografía demostró que sólo una pequeña cantidad de radioactividad era detectada en el feto, placenta y líquido amniótico, mientras que en otros órganos la distribución era muy heterogénea.

5.12.- ESTUDIO DEL PASO DE LA BARRERA PLACENTARIA DE ^{14}C -ELGODIPINA EN RATA DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN ORAL.

Como en el estudio anterior, se emplean 9 ratas Wistar preñadas de 15 días de gestación (el control se realiza mediante frotis vaginal) de 308 ± 36 g de peso. Los animales se estabulan en grupos de 3-4 animales por jaula, al menos 1 día antes del estudio en el laboratorio de radioisótopos como período de aclimatación.

La disolución de ^{14}C -Elgodipina se administra mediante una sonda gástrica a una dosis de 1 mg/kg (40 $\mu\text{Ci/kg}$).

A tiempos predefinidos (1, 4 y 24 horas), los animales se sacrifican procediendo a la extracción de sangre por punción cardíaca y de los siguientes órganos: Útero, Placenta, Fetos y Líquido Amniótico, de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.8.6 del apartado de Materiales y Métodos.

Los procedimientos de toma y preparación de las muestras, cálculos, etc., son los mismos que en estudio intravenoso anterior.

El límite de detección se establece en concentraciones cuya radioactividad sea igual o inferior al doble del ruido de fondo.

La radioactividad medida en cada muestra se refiere al peso del órgano/tejido o al volumen en el caso de muestras líquidas (dpm/mg o dpm/ml).

Los valores de concentración radioactiva determinados, expresados en diferentes unidades (cantidad absoluta ng eq./g, % dosis/g y relación de radioactividades tejido/plasma), se muestran en las tablas LIV, LV, y LVI y la representación gráfica

de la evolución temporal de la radioactividad en los órganos considerados, se muestra en la Figura 33.

Tabla LIV

Concentraciones absolutas de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	ng equivalentes/g de tejido húmedo		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	52.6 \pm 3.0	56.3 \pm 37.1	N.D.
PLACENTA	43.1 \pm 7.6	50.5 \pm 16.3	N.D.
FETOS	N.D.	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	137.6 \pm 7.7	142.5 \pm 50.9	N.D.
SANGRE ENTERA	76.7 \pm 8.3	84.0 \pm 25.7	N.D.

Tabla LV

Concentraciones relativas de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 μ Ci/kg) de 14 C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	% de dosis/g de tejido húmedo		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	N.D.
PLACENTA	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	N.D.
FETOS	N.D.	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
PLASMA	0.05 \pm 0.00	0.05 \pm 0.02	N.D.
SANGRE ENTERA	0.03 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	N.D.

Tabla LVI

Relación de concentraciones de radioactividad en tejidos de ratas preñadas después de una dosis p.o. (1 mg/kg, 40 µCi/kg) de ¹⁴C-Elgodipina

ÓRGANO/ TEJIDO	Relación tejido/plasma		
	1 hora	4 horas	24 horas
ÚTERO	0.38±0.01	0.31±0.16	N.D.
PLACENTA	0.32±0.06	0.36±0.01	N.D.
FETOS	N.D.	N.D.	N.D.
LÍQUIDO AMNIÓTICO	N.D.	N.D.	N.D.
SANGRE ENTERA	0.55±0.03	0.61±0.03	N.D.

DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ¹⁴C-ELGODIPINA EN RATAS PRENADAS DESPUES DE UNA DOSIS P.O.

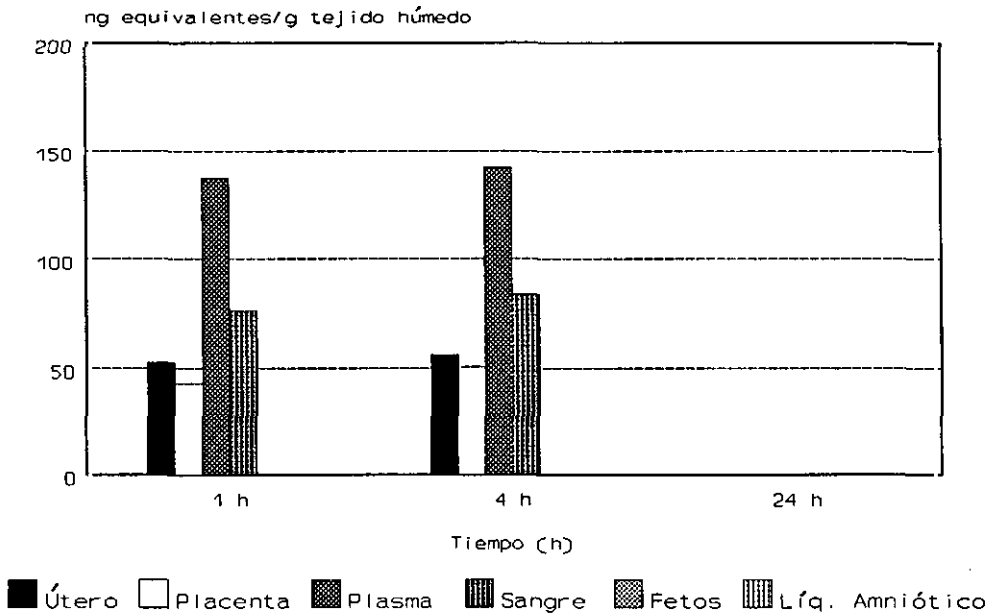


Figura 33

Al igual que en estudio anterior, las concentraciones de radioactividad en útero y placenta siempre son inferiores a los correspondientes valores de concentración en el plasma materno. A diferencia de lo que sucedió por vía i.v., tras la administración p.o. ni los fetos ni en líquido amniótico, se detecta radioactividad a ningún tiempo. A las 24 horas de la administración, no se detecta radioactividad en ningún órgano de los estudiados ni la relación de concentraciones de radioactividad tejido/plasma es superior a la unidad, a cualquier tiempo.

Como en el caso de las ratas no preñadas, la radioactividad en sangre está ligada al plasma y no a la fracción celular.

Al igual que en el estudio intravenoso, Krause y col. (1988) estudiaron el paso de la barrera placentaria de la ^{14}C -Nitrendipina. Después de 24 horas de la administración oral de 5 mg/kg, las concentraciones en placenta, líquido amniótico y fetos (entre 0.7 y 1 $\mu\text{g/g}$), son mucho menores que en el plasma materno (1.3 $\mu\text{g/ml}$), indicando que el paso de dicha barrera no es excesivo. Este comportamiento es muy similar al que presenta la ^{14}C -Elgodipina.

5.13.- ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA DE ELGODIPINA CLORHIDRATO, EN PERRO, DESPUÉS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA Y ORAL.

Para el estudio de la farmacocinética de la Elgodipina Clorhidrato en perro, se emplean 4 animales adultos de raza Beagle con pesos de 12.4 kg y 13.5 kg, los machos y 10.1 kg y 11.4 kg las hembras. Se mantienen durante 3 semanas en período

de aclimatación alimentándose con una dieta canina para laboratorio estándar (SDB Interfauna, Barcelona).

Durante el período de experimentación, los animales se estabulan en "boxes" metálicos. La Elgodipina Clorhidrato se administra intravenosamente (puntos 4.5.1, 4.6.2 y 4.7.4 del apartado de materiales y métodos) mediante una inyección ("bolus") en la vena safena de la pata, a una dosis de 0.5 mg/kg.

A tiempos predefinidos (0, 3, 5, 15 y 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 10 y 24 horas) después de la administración, se toman muestras de sangre, de cada perro, de la vena cefálica o safena de la pata opuesta a la pata en la que se realizó la administración.

Después de un período de descanso de 4 semanas, se procede al estudio por vía oral con los mismos animales. Tras un tiempo previo de ayuno de 18 horas, la Elgodipina se administra oralmente (10 mg/kg), introduciendo una cápsula de gelatina dura (N° 3) en la parte posterior de la garganta.

Una vez realizada la administración, se toman muestras de sangre de la vena safena o cefálica a los siguientes tiempos: 0, 5, 15, 30 y 45 minutos, 1, 2, 4, 6, 10 y 24 horas.

Las muestras de sangre se centrifugan durante 10 minutos a 3000 rpm y a temperatura ambiente, para colectar el plasma. Las muestras de plasma se conservan a -20°C, hasta el momento de su análisis.

Se determina la concentración de Elgodipina en las muestras de plasma de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 10 del apartado de Materiales y Métodos.

Las siguientes tablas muestran las rectas de calibración obtenidas con los diferentes intervalos de concentración

analizados y utilizadas para la determinación de la concentración de Elgodipina en plasma.

Tabla LVII

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 1 - 100 ng/ml (1.5 ml de plasma)

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
1	0.0097	0.0136	0.9990
2	0.0244	0.0122	0.9996
3	0.0155	0.0133	0.9987
4	0.0124	0.0132	0.9995
Media	0.0155	0.0131	
± E.S.M.	0.0032	0.0003	
C.V. (%)	41	5	

Rectas de calibración diarias de la relación de alturas de pico de Elgodipina/Estándar interno frente a la concentración. Intervalo de 25 - 1000 ng/ml (0.5 ml de plasma)

Calibración n.	Ordenada en el origen	Pendiente	r
5	0.1080	0.0041	0.9977

Con el objeto de asegurar la exactitud y validar el método de análisis, con las muestras y de forma aleatoria se analizan una serie de muestras de control de calidad. La siguiente tabla muestra los resultados del análisis de estas muestras que además sirven como estudio analítico del factor de recuperación.

Tabla LVIII

Estándares de control de calidad de Elgodipina Clorhidrato extraídos de plasma de perro control.

Control Calidad n.	Conc. teórica (ng/ml)	Conc. analiz. (ng/ml)	Recuperación (%)
1	20	20.34	101.70
2	80	69.85	87.31
3	20	19.77	98.85
4	80	79.81	99.76
5	200	185.49	92.74
6	400	394.79	98.69
7	20	21.71	108.55
8	80	74.88	93.60
9	20	20.33	101.65
10	80	78.44	98.05
Media			98.09
± E.S.M.			1.84
C.V. (%)			5.92

Las concentraciones de Elgodipina Clorhidrato en plasma de perro encontradas después de una dosis única de 0.5 mg/kg por vía intravenosa y de 10 mg/kg por vía oral, se muestran en las siguientes tablas LIX y LX, respectivamente:

Tabla LIX

Concentraciones en ng/ml de Elgodipina clorhidrato en plasma de perro, después de una dosis de 0.5 mg/kg i.v.

Tiempo (h)	Concentración en ng/ml			
	σ 1	σ 2	φ 1	φ 2
0	-----	N.D.	N.D.	-----
0.033	-----	680.13	-----	-----
0.050	259.43	-----	-----	302.98
0.083	-----	718.31	108.50	288.18
0.25	197.88	413.63	48.65	159.26
0.5	160.82	242.31	60.05	79.44
1	138.81	258.94	86.85	63.52
2	37.78	57.48	15.87	12.16
4	9.18	25.29	4.18	11.76
6	5.37	7.71	3.62	5.72
10	2.31	-----	N.D.	N.D.
24	N.D.	N.D.	-----	N.D.

Donde : N.D. indica concentración no detectada (< 1 ng/ml)

----- indica muestra no analizada

Tabla LX

Concentraciones en ng/ml de Elgodipina clorhidrato en plasma de perro, después de una dosis de 10 mg/kg p.o.

Tiempo (h)	Concentración en ng/ml			
	σ 1	σ 2	♀ 1	♀ 2
0	N.D.	-----	N.D.	-----
0.083	-----	-----	-----	N.D.
0.133	-----	N.C.	-----	-----
0.25	N.D.	7.05	N.C.	9.89
0.5	9.96	23.61	7.68	27.09
0.75	17.11	21.36	23.96	29.43
1	26.25	15.54	-----	39.09
2	27.68	27.71	49.31	31.64
4	37.09	44.77	44.69	11.46
6	25.35	12.01	34.56	12.48
10	8.17	7.58	13.75	6.97
24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Donde : N.D. indica concentración no detectada (< 1 ng/ml)

----- indica muestra no analizada

N.C. indica concentración no cuantificable (< 2 ng/ml)

Las representaciones de estos niveles plasmáticos en función del tiempo se muestran en las gráficas siguientes:

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ELGODIPINA EN PERROS
 DESPUÉS DE UNA DOSIS I.V. DE 0.5 mg/kg

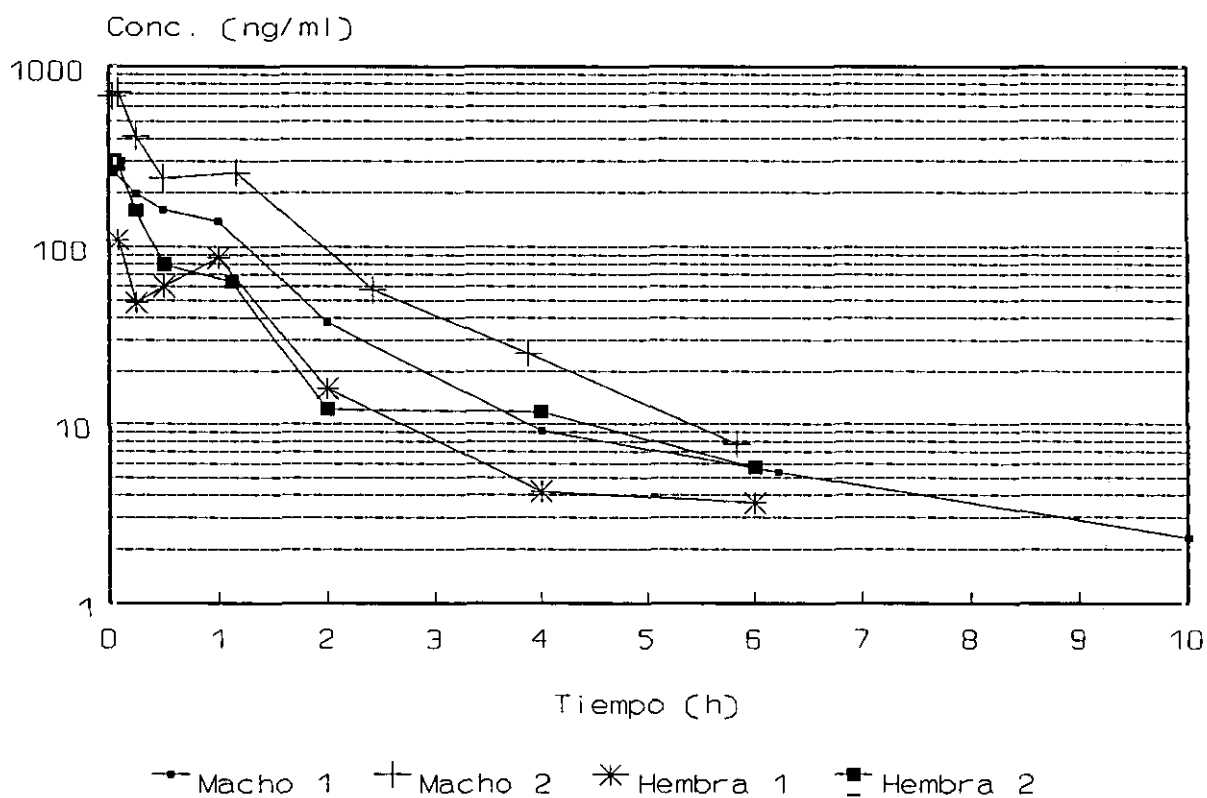


Figura 34

CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELGODIPINA EN PERROS
DESPUES DE UNA DOSIS P.O. DE 10 mg/kg

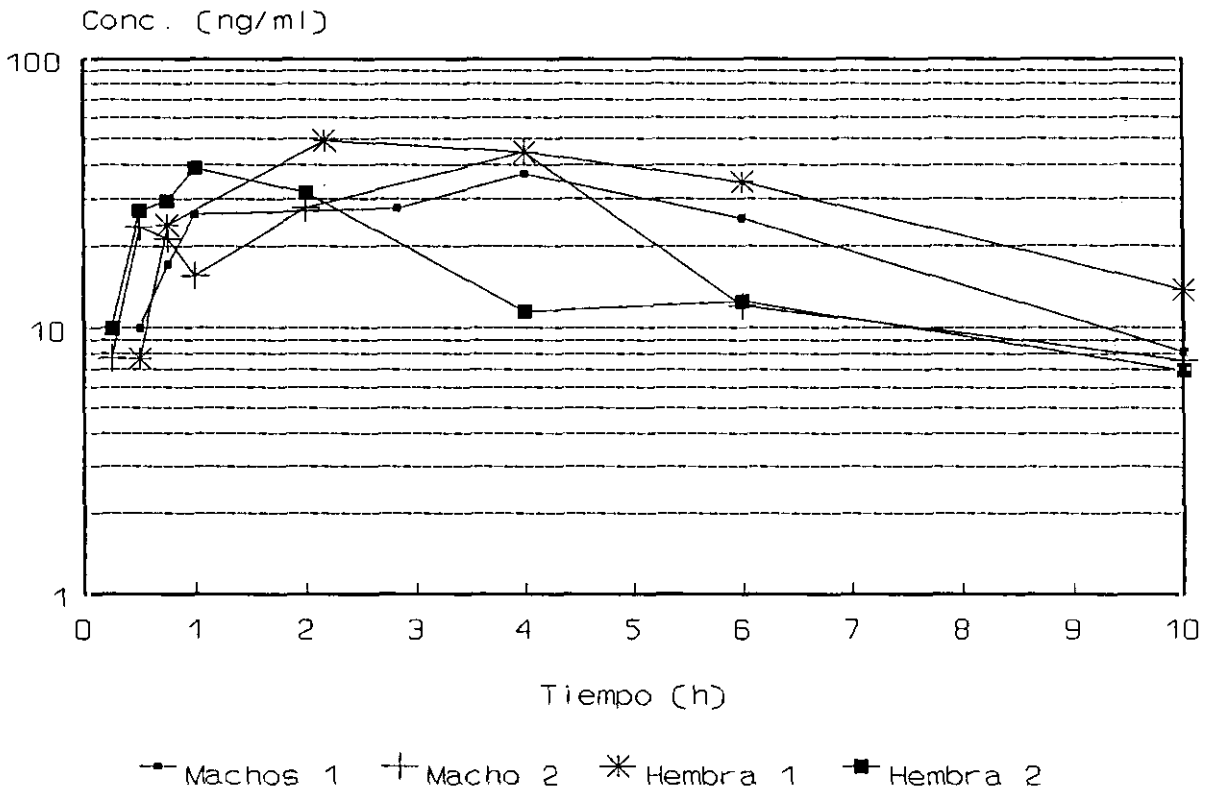


Figura 35

Los valores de concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración i.v., se ajustan a un modelo bicompartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimento central; para ello se utiliza el programa de regresión no lineal ELSFIT. La ecuación ajustada es la siguiente:

$$C = A_1 \cdot e^{-\alpha \cdot t} + A_2 \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

El área bajo la curva (AUC) se calcula por integración de la curva concentración - tiempo. Con los coeficientes, exponentes y AUC, se calculan los siguientes parámetros farmacocinéticos: el volumen de distribución del compartimento central (Vc), el volumen de distribución en el estado estacionario (Vss), el aclaramiento sistémico total (CL), la semi-vida de la fase α ($t_{1/2\alpha}$), la semi-vida de la fase β ($t_{1/2\beta}$), el tiempo medio de residencia (MRT), la constante de velocidad de distribución desde el compartimento central al periférico (K_{12}), la constante de velocidad de distribución desde el compartimento periférico al compartimento central (K_{21}) y la constante de velocidad de eliminación desde el compartimento central (K_{10}). Estos parámetros se calculan mediante las siguientes ecuaciones:

$$AUC = A_1/\alpha + A_2/\beta$$

$$Vc = Dosis/(A_1 + A_2)$$

$$Vss = (K_{12} + K_{21}) \times Vc/K_{21}$$

$$CL = Dosis/AUC$$

$$t_{1/2\alpha} = 0.693/\alpha$$

$$t_{1/2\beta} = 0.693/\beta$$

$$MRT = AUMC/AUC$$

$$AUMC = (A_1/\alpha)^2 + (A_2/\beta)^2$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

$$K_{21} = \frac{(A_1 \times \beta) + (A_2 \times \alpha)}{A_1 + A_2}$$

$$K_{10} = \alpha \times \beta/K_{21}$$

Los valores de concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración p.o., se ajustan a un modelo mono-

compartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimento central; para ello se utiliza el programa de regresión no lineal ELSFIT. La ecuación ajustada es la siguiente:

$$C = A.e^{-Ke.t} - B.e^{-Ka.t}$$

El área bajo la curva (AUC) se calcula por integración de la curva concentración - tiempo. Con los coeficientes, exponentes y AUC, se calculan los siguientes parámetros farmacocinéticos: al semi-vida de la fase de eliminación ($t_{1/2e}$), la semi vida de la fase de absorción ($t_{1/2a}$), el tiempo de retardo (T_{lag}), el tiempo que se tarda en alcanzar la concentración máxima (T_{max}), el valor de dicho máximo de concentración (C_{max}), el tiempo medio de residencia (MRT) y la biodisponibilidad (F). Estos parámetros se calculan mediante las siguientes ecuaciones:

$$AUC = A'/Ke - B'/Ka$$

$$t_{1/2e} = 0.693/Ke$$

$$t_{1/2a} = 0.693/Ka$$

$$T_{lag} = (\ln B - \ln A) / (Ka - Ke)$$

$$T_{max} = \ln (Ka/ke) / (Ka - Ke)$$

$$C_{max} = A.e^{-Ke.Tmax} - B.e^{-Ka.Tmax}$$

$$MRT = 1/Ka + 1/Ke$$

$$F = AUC_{p.o.}/AUC_{i.v.} * Dosis_{i.v.}/Dosis_{p.o.}$$

Donde $A' = A.e^{-(-Ke.Tlag)}$ y $B' = B.e^{-(-Ka.Tlag)}$

De acuerdo a las ecuaciones anteriores, los parámetros farmacocinéticos calculados para ambas vías de administración, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla LXI

Parámetros farmacocinéticos de Elgodipina después de administración i.v. (0.5 mg/kg) a perros

Parámetro	σ_1	σ_2	φ_1	φ_2
A_1 (ng/ml)	328.78	507.13	119.81	300.14
A_2 (ng/ml)	17.78	207.55	5.00	41.26
α (h^{-1})	1.2904	1.5000	1.0643	2.5551
β (h^{-1})	0.2032	0.5661	0.0817	0.3431
Dosis (mg)	6.20	6.40	5.40	5.40
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.54	0.46	0.65	0.27
$t_{1/2\beta}$ (h)	3.41	1.22	8.48	2.02
V_c (l)	17.89	8.95	43.26	15.82
V_{ss} (l)	33.24	11.25	152.89	37.89
AUC (ng.h/ml)	342.30	704.71	173.80	237.74
CL (l/h)	18.11	9.08	31.07	22.71
MRT (h)	1.83	1.24	4.92	1.67
K_{12} (h^{-1})	0.2222	0.2146	0.3068	0.8517
K_{21} (h^{-1})	0.2589	0.8373	0.1211	0.6104
K_{10} (h^{-1})	1.0125	1.0141	0.7181	1.4360

Tabla LXII

Parámetros farmacocinéticos de Elgodipina después de administración p.o. (10 mg/kg) a perros

Parámetro	σ1	σ2	ϑ1	ϑ2
A (ng/ml)	110.26	94.48	108.69	60.00
B (ng/ml)	122.95	98.36	145.73	80.74
Ke (h ⁻¹)	0.2540	0.2576	0.2024	0.3084
Ka (h ⁻¹)	0.6873	0.7885	0.9548	2.2892
Dosis (mg)	125	130	106	105
A' (ng/ml)	103.44	92.65	100.44	57.29
B' (ng/ml)	103.44	92.65	100.44	57.29
Tlag (h)	0.25	0.08	0.39	0.15
T _{1/2e} (h)	2.73	2.69	3.42	2.25
T _{1/2a} (h)	1.01	0.88	0.73	0.30
T _{max} (h)	2.30	2.11	2.06	1.01
C _{max} (ng/ml)	36.38	36.25	52.15	36.28
AUC (ng.h/ml)	256.73	242.15	391.04	160.71
MRT (h)	5.39	5.15	5.99	3.68
F (%)	3.72	1.69	11.46	3.48

Después de la administración i.v., como se observa en la Tabla LIX, el máximo de concentración plasmática (108.50 ng/ml - 718.31 ng/ml) se detecta en el primer punto de muestreo (0.05 h - 0.083 h), a excepción del macho 2 (718.31 ng/ml a 0.083 h y 680.13 ng/ml a 0.033 h). Luego, las concentraciones plasmáticas decrecen rápidamente de forma bifásica, con unas vidas medias aparentes de 1.22 h y 8.48 h, en la fase lenta de eliminación;

a las 10 horas post-dosis, sólo se detectan 2.31 ng/ml en el macho 1.

La curva de concentración - tiempo obtenida, después de la administración oral, se puede describir como un modelo mono-compartimental con absorción y eliminación de primer orden. El máximo de concentración plasmática se alcanza a las 4 horas post-dosis en los machos (37.09 ng/ml - 44.77 ng/ml) y a 1-2 horas en las hembras (39.09 ng/ml - 36.38 ng/ml). La concentración máxima calculada a partir de las curvas ajustadas se obtiene a 2.11 h - 2.30 h para los machos (36.25 ng/ml - 36.38 ng/ml) y a 1.01 h - 2.06 h para las hembras (36.28 ng/ml - 52.15 ng/ml).

Las biodisponibilidades, calculadas a partir de la relación de AUC obtenidas de las curvas de administración oral e intravenosa, son 1.69 % - 3.72 % para los machos y 3.48 % - 11.46 % para las hembras.

Estos valores difieren de los estimados en el caso de la Amlodipina; para esta molécula Stopher y col. (1988) calculan en el perro una biodisponibilidad del 88 % y el tiempo en el que se alcanza el máximo de concentración plasmática es de 6 horas; la absorción del tracto gastro-intestinal es muy lenta y la afinidad por diferentes tejidos es muy fuerte, observándose niveles 350 horas post-dosis.

Valores más concordantes con los de la Elgodipina, son los descritos por Kobayashi y col. (1988) para la Benidipina; el tiempo de máxima concentración plasmática varía de 0.25 a 2 horas y la biodisponibilidad del 1.8 al 16.8 %, en función de la dosis.

5.14.- ESTUDIO DE UNIÓN A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

La unión de la Elgodipina a las proteínas plasmáticas, se estudia mediante dos técnicas: diálisis de equilibrio y ultracentrifugación. En ambos casos se emplean plasmas humanos, plasmas de perro Beagle y plasmas de rata Wistar. Las concentraciones de proteínas de dichos plasmas se determinan según el método de Bradfor descrito en el punto 4.12.1 del apartado de Materiales y Métodos.

En el caso del procedimiento de diálisis de equilibrio se emplean células de metacrilato con dos cámaras separadas por la membrana de diálisis (DIACHEMA, 10.17, cut-off 10000, 63 mm). Las cámaras tienen un volumen de 5 ml cada una y una superficie de diálisis de 4.9 cm².

Se preparan las membranas de diálisis según el punto 4.12.2.3 del apartado de Materiales y Métodos, y los plasmas, de cada especie, con diferentes concentraciones (11.50, 25.36, 50.44, 98.95, 247.80 y 494.90 ng/ml) de ¹⁴C-Elgodipina, de acuerdo al procedimiento descrito en los puntos 4.12.2.1 y 4.12.2.2 del apartado de Materiales y Métodos.

Los plasmas se dializan contra un volumen igual de tampón fosfatos 1/15 M pH 7.4 durante 5 horas a 37°C y bajo agitación suave.

Se determina la concentración de radioactividad en ambas cámaras, antes y después del proceso de diálisis. Como medida de comprobación, también se detecta la radioactividad en las membranas de diálisis. Los procedimientos empleados para la diálisis y para las determinaciones de radioactividad se

describen en los puntos 4.12.3.4 y 4.12.4 del apartado de Materiales y Métodos.

Como medida de seguridad del "cut-off" y de la integridad de la membrana, se procede a la determinación de proteínas en los dializados.

Para el procedimiento de ultrafiltración, se emplean conos ultrafiltrantes (AMICON CF 25, cut-off 25000) y plasmas, de cada especie, con diferentes concentraciones (10.95, 24.95, 50.29, 99.28, 249.48 y 499.28 ng/ml) de ^{14}C -Elgodipina, de acuerdo al procedimiento descrito en los puntos 4.12.3.1 y 4.12.3.2 del apartado de Materiales y Métodos.

Los conos se preparan sumergiéndolos en agua desionizada durante 1 hora. Los plasmas se sumergen en un baño termostaticado a 37°C durante 5 horas para establecer el equilibrio de unión a las proteínas. Pasado este tiempo, se procede a la ultracentrifugación (2000 rpm, 15 minutos, inferior a 1000 G) determinando la concentración de radioactividad en los ultrafiltrados.

Las concentraciones de proteínas determinadas en los plasmas y en los dializados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla LXIII

**Concentración de proteínas ($\mu\text{g/ml}$)
en plasmas y dializados de diferentes especies**

ESPECIE	Concentración de proteínas ($\mu\text{g/ml}$)	
	Plasma	Dializado
Rata	645.10	3.9
Perro	631.24	3.6
Hombre	640.42	7.1

Como se observa en la tabla anterior, la concentración de proteínas en los dializados es muy pequeña, por lo que queda garantizada la integridad y el "cut-off" de la membrana de diálisis.

Los valores de unión a las proteínas plasmáticas se calculan de la siguiente manera:

$$\% \text{ unión} = (C_T - C_L) \times 100 / C_L$$

En donde C_T es la concentración total de Elgodipina (unida + libre) y C_L es la concentración de Elgodipina libre.

Los valores del % de unión a las proteínas plasmáticas en las tres especies estudiadas a diferentes concentraciones y por las dos técnicas empleadas (ultrafiltración y diálisis), se muestran en las siguientes tablas:

Tabla LXIV

% de unión a las proteínas plasmáticas de la rata.
Los valores se expresan como % ± ESM (n=3)

Conc (ng/ml)	Diálisis	Conc (ng/ml)	Ultrafiltración
11.50	98.1 ± 0.4	10.95	99.8 ± 0.2
25.95	97.5 ± 0.9	24.95	99.5 ± 0.0
50.44	96.1 ± 1.2	50.28	99.8 ± 0.1
98.95	96.4 ± 1.0	99.28	99.8 ± 0.1
247.80	97.0 ± 0.5	249.48	99.7 ± 0.2
494.90	97.7 ± 0.7	499.28	99.8 ± 0.2
Media ± ESM	97.1 ± 0.3	Media ± ESM	99.7 ± 0.0

Tabla LXV

% de unión a las proteínas plasmáticas de la perro.
Los valores se expresan como % \pm ESM (n=3)

Conc (ng/ml)	Diálisis	Conc (ng/ml)	Ultrafiltración
11.50	97.3 \pm 0.9	10.95	100 \pm 0.0
25.95	97.2 \pm 0.8	24.95	99.9 \pm 0.1
50.44	97.4 \pm 1.0	50.28	100 \pm 0.0
98.95	97.9 \pm 0.9	99.28	100 \pm 0.0
247.80	97.8 \pm 0.9	249.48	100 \pm 0.0
494.90	97.6 \pm 0.8	499.28	100 \pm 0.0
Media \pm ESM	97.5 \pm 0.1	Media \pm ESM	100 \pm 0.0

Tabla LXVI

% de unión a las proteínas plasmáticas de la hombre.
Los valores se expresan como % \pm ESM (n=3)

Conc (ng/ml)	Diálisis	Conc (ng/ml)	Ultrafiltración
11.50	99.0 \pm 0.8	10.95	100 \pm 0.0
25.95	97.2 \pm 0.9	24.95	100 \pm 0.0
50.44	97.6 \pm 0.9	50.28	99.9 \pm 0.1
98.95	98.8 \pm 0.9	99.28	99.9 \pm 0.1
247.80	99.5 \pm 0.3	249.48	100 \pm 0.0
494.90	98.6 \pm 0.8	499.28	99.9 \pm 0.1
Media \pm ESM	98.5 \pm 0.4	Media \pm ESM	100 \pm 0.0

Como se observa en las tablas anteriores, el % de unión a las proteínas plasmáticas es superior al 97 % en las tres especies estudiadas. Además, el % de unión no depende de la concentración de fármaco en el intervalo estudiado (10 - 500 ng/ml).

Estos valores encontrados, coinciden con los descritos en la bibliografía para otras dihidropiridinas (Niwa, T. 1987; Midgley, I. 1982, 1985; Egros, F. 1988; Greiner, P.O., 1990).

Los valores de % de unión a las proteínas plasmáticas encontrados son próximos al 100 %, lo cual asegura que el fármaco se transporta unido a las proteínas hasta su lugar de acción y, además, una buena distribución.

DISCUSIÓN

6.- DISCUSIÓN

El IQB-875 ha sido seleccionada de entre una serie de 24 nuevas 1,4 dihidropiridinas, sintetizadas en 1987 en el Instituto de Investigación Químico-Biológico, como potenciales agentes antagonistas del calcio, por ser el producto que resultó con mayor actividad biológica; en efecto, ha demostrado poseer propiedades relajantes de la musculatura lisa por su acción antagonista de canales lentos de calcio, lo que le confiere posible aplicación como antihipertensivo y antianginoso (Giráldez A., 1988; Burriel A., 1989; Román C., 1990; Sassen L.M.A., 1990).

Dado el interés de este producto, ha sido objeto de una patente internacional (Galiano, 1987, 1988) y habiendo solicitado a la OMS un nombre genérico, se le asignó el de Elgodipina.

Del perfil farmacológico que presenta la Elgodipina (Giráldez A., 1991; Román C., 1992) se puede destacar lo siguiente :

- Produce hipotensión en ratas normotensas ($DE_{50} = 26.9$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) e hipertensas (SHR, renal DOCA, Grollman), con escasa taquicardia refleja ($< 10\%$), sin alterar el ECG e incrementando la frecuencia y amplitud de los movimientos respiratorios.
- La toxicidad es moderada, la DL_{50} en rata es de 100 mg/kg, p.o.
- Disminuye ligeramente la actividad locomotora y prolonga el tiempo de hipnosis; anticonvulsivante (25 mg/kg p.o., ratón) frente al efecto pentilentetrazol, pero no de la

DISCUSIÓN

estricnina, ni del electro "shock".

- No tiene ninguna acción específica sobre receptores α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , adrenérgicos, de acetilcolina (m), de histamina (H_1), 5-HT, ni opioides. Sin embargo, reduce la contracción de la pared arterial (aorta de rata) inducida por Ca^{2+} ($IC_{50} = 4.1 \pm 1.52 \times 10^{-11}$ M), lo que demuestra que el mecanismo de acción antihipertensiva es precisamente el bloqueo de los canales de calcio.

- Modifica el metabolismo de los glúcidos cuando hay sobrecarga de glucosa y reduce los niveles de colesterol en sangre.

Por lo tanto, la Elgodipina es una sustancia de escasa toxicidad, de importante efecto hipotensor induciendo muy ligera taquicardia refleja y que por otra parte, presenta escasos efectos secundarios.

Estas propiedades farmacológicas, sobre modelos animales, junto con la estabilidad química que posee el producto, ya que a diferencia de otras 1,4-dihidropiridinas no es degradada por la luz, hacen interesante su desarrollo y estudio, para el empleo en humanos. Para ello ha sido necesario el estudio farmacocinético, que constituye el objeto del presente trabajo.

Del estudio de la curvas de concentración-tiempo de Elgodipina sin metabolizar, en rata, después de una dosis única por vía intravenosa y oral, se deduce que las concentraciones plasmáticas de Elgodipina presentan un decaimiento bifásico de

la concentración en función del tiempo, de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto, con eliminación de primer orden desde el compartimento central.

La comparación de los niveles en sangre, después de la administración intravenosa, entre machos y hembras muestra diferencias estadísticamente significativas desde los 5 a los 45 minutos. Es decir que durante los 45 primeros minutos, fase rápida de disposición, las concentraciones plasmáticas de los machos son superiores a las de las hembras.

Estas diferencias también se muestran después de la administración oral y de forma mucho más marcada; las concentraciones de las hembras son estadísticamente superiores a las de los machos desde los 20 minutos a las 12 horas.

Este hecho ha sido descrito también para otras dihidropiridinas por Niwa T. y col. (1988) y por Krauser H.P. y col. (1988). Dichos autores consideran que estas diferencias entre sexos son debidas a las distintas cantidades y tipos de isoenzimas Citocromo P450 dependientes, responsables de la biotransformación de las 1,4-dihidropiridinas, existentes entre machos y hembras, en la rata.

Los principales parámetros farmacocinéticos que presenta la Elgodipina en rata son:

- La fase de disposición rápida (α) decae con una semi-vida de 0.30 h y 0.36 h para machos y hembras respectivamente.
- En la fase de disposición lenta (β) las semi-vidas encontradas son de 2.36 h para los machos y 4.33 h para las hembras.

DISCUSIÓN

- Elevados volúmenes de distribución ($V_c = 0.423$ l para los machos y 0.530 l para las hembras).
- Eliminación rápida, como puede deducirse de los elevados valores del aclaramiento ($CL = 0.783$ l/h para machos y 0.779 l/h para hembras) y de los valores de las constantes de velocidad de eliminación ($K_{10} = 1.8484$ h⁻¹ y 1.4700 h⁻¹ respectivamente).
- La constante de velocidad de eliminación desde el compartimento central es mayor que la constante de velocidad de distribución entre el compartimento central y el periférico ($K_{10} > K_{12}$ para ambos sexos).
- La concentración máxima se alcanza a los 20 minutos para los machos y a los 45 minutos para las hembras.
- La biodisponibilidad calculada es del 6.7 % para los machos y del 48.3 % para las hembras.

De estos parámetros farmacocinéticos se deduce que la Elgodipina se encuentra extensamente distribuida en los tejidos (amplio volumen de distribución); se elimina rápidamente (aclaramiento elevado), pero este parámetro está limitado por la distribución que es más bien lenta ($K_{10} > K_{12}$); se absorbe relativamente pronto (T_{max} 20 - 45 minutos) y presenta una biodisponibilidad pequeña.

Stopher y col. (1988) calculan, en rata, para la Amlodipina una semi-vida de la fase de disposición lenta (β) de 3 horas, una velocidad de aclaramiento de 0.66 l/h/kg, un T_{max} de 3 horas y una biodisponibilidad del 100 % . Para la Benidipina Krauser y

DISCUSIÓN

col. (1988) calculan una semi-vida de la fase de disposición lenta (β) de 1.7 a 4.2 horas, una velocidad de aclaramiento de 0.07 a 0.10 l/h/kg, un T_{max} de 1.7 a 4.2 horas y una biodisponibilidad del 3.1 al 25.6 % . En el caso de la Nitrendipina Krauser H.P. y col. (1988) aportan los siguientes valores: semi-vida de la fase de disposición lenta (β) de 1.4 - 1.8 horas, velocidad de aclaramiento de 0.99 l/h/kg, un T_{max} de 0.5 horas y una biodisponibilidad del 12 % . Como término de comparación, dentro del grupo químico de las 1,4-dihidropiridinas, se han escogido esos tres antagonistas del calcio, por representar tres tipos distintos con ciertas diferencias en su estructura y en sus propiedades terapéuticas.

La Elgodipina, por tanto, presenta un comportamiento farmacocinético en rata muy similar al que se conoce para otras moléculas estructuralmente relacionadas, pero con la ventaja de que debido a la semi-vida y a la constante de velocidad de distribución entre el compartimento central y el periférico K_{12} , puede ejercer una acción farmacológica más prolongada.

En el estudio farmacocinético en rata con ^{14}C -Elgodipina las diferencias de concentraciones plasmáticas observadas, en el estudio con producto "frío", entre machos y hembras no se muestran. Esto es consecuencia del parámetro analítico empleado para estimar la concentración plasmática, la radioactividad total, que no especifica entre Elgodipina sin metabolizar y los correspondientes metabolitos, lo que demuestra ser un parámetro más riguroso, pues incluye todos los productos potencialmente

DISCUSIÓN

activos. Esta es la razón por la que la concentración en este tipo de estudios, con producto marcado isotópicamente, se expresa como ng equivalentes/ml (ng eq./ml).

La evolución temporal de los niveles plasmáticos, al igual que en el estudio con producto "frío", se ajusta a un modelo bicompartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimento central.

Después de la administración i.v. de ^{14}C -Elgodipina a las ratas, la fase de disposición rápida (α) decae con una semi-vida de 0.54 ± 0.04 h (machos) y 0.93 ± 0.21 h (hembras); en la fase lenta de disposición (β) las semi-vidas calculadas son 6.66 ± 0.53 h y 8.88 ± 1.59 h respectivamente.

Como consecuencia de los elevados valores de volumen de distribución encontrados, la Elgodipina parece extensamente distribuida en los tejidos, como demuestra el estudio de distribución tisular, que se describe más adelante.

El proceso de eliminación está caracterizado por los valores de aclaramiento (0.133 ± 0.010 l/h para los machos y 0.112 ± 0.012 l/h para las hembras) y por los valores de las constantes de velocidad de eliminación (0.427 ± 0.024 h $^{-1}$ y 0.374 ± 0.034 h $^{-1}$ respectivamente). Estos valores aunque son más altos para los machos, estadísticamente no son diferentes de los de las hembras.

Las velocidades de eliminación calculadas parecen menores que las obtenidas con la Elgodipina sin marcar, si bien estas diferencias son debidas a que en la determinación de la radioactividad total, parámetro utilizado para la cuantificación, no se distingue entre la Elgodipina inalterada y sus metabolitos,

como ya se ha comentado anteriormente.

Después de la administración oral, el valor medio de C_{max} se alcanza aproximadamente a las 4 horas para ambos sexos. En las hembras se presenta otro máximo secundario a 0.5 horas, posiblemente debido a una fase de saturación hepática. Después de alcanzado el máximo, la radioactividad decrece con una semi-vida de 20.78 horas para los machos y 17.70 horas para las hembras.

La biodisponibilidad calculada para los machos es del 59 % y del 49 % para las hembras. Estos valores son más bajos que los que cabía esperar (la mayoría de las dihidropiridinas son bien absorbidas del tracto gastro intestinal, considerando globalmente metabolitos y producto inalterado, Stopher, 1988 y Krauser, 1988). Este hecho puede explicarse debido a que las repetidas tomas de sangre del mismo animal, implican una disminución sistémica de ^{14}C -Elgodipina y/o sus metabolitos. Este factor parece tener mayor influencia en la administración oral que en la intravenosa.

Para la Nitrendipina, Krauser H.P. y col. (1988) calculan una semi-vida de 3.4 horas y un aclaramiento de 0.08 l/h/kg, valores inferiores a los calculados para la Elgodipina. Después de la administración oral de Nitrendipina, el máximo de concentración se alcanza a 1 hora, aproximadamente; este valor es netamente inferior al mostrado por la Elgodipina.

Por lo tanto, se puede asegurar que la Elgodipina se absorbe y se elimina más lentamente que la Nitrendipina, lo cual en principio podría asegurar un efecto farmacológico más prolongado.

En relación a los estudios de excreción, la ^{14}C -Elgodipina se excreta principalmente en heces (74.43 % y 75.62 %, para machos y hembras, respectivamente, cuando es administrada i.v. y 88.88 % y 80.10 %, respectivamente, cuando lo es p.o.), mientras que sólo una pequeña fracción se excreta en orina (15.11% en los machos y 15.90 % en las hembras i.v. y 12.58 % y 15.54 %, respectivamente p.o.).

Esta forma de excreción es similar a la que presentan otras dihidropiridinas como Benidipina (Kobayashi, H., 1988), Nitrendipina (Krauser, H.P., 1988) y Amlodipina (Stopher, D.A., 1988).

La ^{14}C -Benidipina, en ratas macho, se excreta en heces hasta un 73.6 % en 72 horas después de administración oral y hasta un 19.1 % en orina.

En ratas macho, la ^{14}C -Nitrendipina se excreta principalmente en heces (54 - 61 % i.v y 64 - 66 % p.o.). La excreción urinaria alcanza el 37 - 40 % (i.v.) ó 33 - 37 % (p.o.) y se produce, principalmente (>90%) durante las 24 horas post-dosis.

De forma semejante, la ^{14}C -Amlodipina, se excreta un 60 % (i.v.) y un 58 % (p.o.) en heces y un 38 % (i.v.) y un 33 % (p.o.) en orina.

La recuperación de radioactividad en heces y orina por vía oral y por vía intravenosa es similar, esto indica una buena absorción en el tracto gastro-intestinal.

La biodisponibilidad de la ^{14}C -Elgodipina, calculada a partir de los datos de orina es del 83 % en los machos y del 98

% para las hembras. Estos valores también son similares a los obtenidos para otras dihidropiridinas, por ejemplo 100 % para la ^{14}C -Amlodipina.

La elevada proporción de dosis excretada en heces, en el caso de la ^{14}C -Elgodipina, sugiere que el producto inalterado y/o sus metabolitos se excretarán también por bilis y/o a través de la pared intestinal.

En efecto, en el estudio de excreción biliar, la ^{14}C -Elgodipina es excretada aproximadamente un 70% (i.v.) y un 60% (p.o.) de la dosis, en 10 horas, por la bilis, esto contribuye a la elevada excreción fecal observada en los estudios anteriores; seguramente la excreción biliar da lugar un ciclo de recirculación enterohepática, que debe ser causa de la más prolongada presencia del producto en sangre.

Para otras dihidropiridinas, los valores descritos para la tasa de excreción en bilis son similares a los encontrados para la Elgodipina; así la Nitrendipina, cuando se administra i.v. a ratas machos (5 mg/kg), se elimina el 74 % de la dosis por la bilis en 24 horas (Krause 1988). En el caso de la ^{14}C -Benidipina, después de una dosis oral de 1 mg/kg, es excretada en un 34 % en 48 horas y después se observa una reabsorción parcial en el tracto gastro-intestinal (Kobayashi, 1988).

Como ya se ha comentado anteriormente, los elevados volúmenes de distribución indican que el producto se encuentra extensamente distribuido por todos los órganos y tejidos. En efecto, los estudios de distribución tisular de la ^{14}C -Elgodipina

tanto por vía oral como intravenosa demuestran que la radioactividad procedente de la ^{14}C -Elgodipina se distribuye rápidamente y de forma heterogénea por los órganos y tejidos de la rata.

Después de la administración i.v., en la distribución inicial (15 minutos post-dosis), las concentraciones mayores se observan en las glándulas adrenales y en los pulmones, y las más pequeñas se determinaron en los testículos y tejido adiposo. Esto es consecuencia de la diferencia de perfusión de los distintos órganos; en cambio, la ausencia de concentraciones apreciables en el cerebro indica que la Elgodipina no atraviesa la barrera hematoencefálica. Después, la concentración de radioactividad en la mayor parte de los órganos y tejidos decrece desde los 15 minutos a las 24 horas. Sólo en el tejido adiposo ($t_{\text{max}} = 2-6$ horas), glándula harderiana ($t_{\text{max}} = 1$ hora) y yeyuno ($t_{\text{max}} = 0.5$ horas) se observan máximos de concentración de radioactividad.

A las 24 horas de la administración i.v., los niveles más elevados de concentración de radioactividad se encuentran en el tejido adiposo, las glándulas adrenales, riñones, colon y glándula harderiana. A las 48 horas post-dosis sólo se detecta radioactividad en el hígado, de ambos sexos, y en tejido adiposo de las hembras. Como se observa, el producto permanece en los tejidos grasos lo cual está de acuerdo con el carácter lipófilo que presenta la Elgodipina a pH fisiológico.

La estimación de la concentración de radioactividad en las células sanguíneas, a través de la relación de radioactividades determinadas en el plasma y en la sangre entera, indica que la

mayor parte de la radioactividad circulante se encuentra en el plasma, siendo mínima la ligada a las células de la sangre. Este resultado parece indicar que la afinidad de la Elgodipina por las proteínas del plasma debe ser importante, como demuestran los valores superiores al 97 % encontrados en el estudio que se comentará más adelante.

Después de la administración oral, como es lógico, las concentraciones de radioactividad más elevadas se detectan en el estómago. Las concentraciones más pequeñas se presentan en el tejido muscular y piel, de ambos sexos, y en algunos órganos de los machos (bazo y glándulas salivares).

En el cerebro (ambos sexos) y en los testículos, no se detecta radioactividad a ningún tiempo. Sin embargo, en las hembras existen concentraciones medias de radioactividad en los ovarios. A las 48 horas y 120 horas después de la administración, sólo se encuentra radioactividad en el hígado.

Aunque no estadísticamente significativas, las concentraciones de radioactividad determinadas en los órganos y tejidos de las hembras siempre son mayores y a tiempos superiores que en los de los machos. Estas diferencias pueden ser debidas a la descrita diferente biotransformación de las 1,4 dihidropiridinas entre los machos y las hembras de rata (Krauser, H.P., 1988 y Baarnhielm, C., 1986).

El perfil de distribución que muestra la ^{14}C -Elgodipina y/o sus metabolitos, indica que el producto es heterogéneamente distribuido en los órganos y tejidos. La relación tejido/plasma es mayor de 5 en los órganos/tejidos relacionados con el tracto

gastro-intestinal (estómago, yeyuno y colon) y en el hígado.

La distribución tisular observada indica que las concentraciones mayores de radioactividad están relacionadas con los órganos/tejidos asociados a procesos de absorción, excreción y biotransformación (hígado, riñones y tracto gastro-intestinal).

Esta forma de distribución tisular es similar a la descrita para otras dihidropiridinas. Por ejemplo en el caso de la ^{14}C -Benidipina (Kobayashi, 1988) después de una dosis oral a ratas machos de 1 mg/kg, se detectaron las mayores concentraciones de radioactividad a 0.25 h en el estómago, a 1 hora en la vejiga de la orina e intestino delgado, a las 4 horas en el hígado, a las 6 horas en tejido adiposo del peritoneo y a las 8 horas en el intestino grueso. A las 72 horas post-dosis, en el hígado, riñón, grasa, páncreas, bazo y pulmón, las concentraciones de radioactividad eran mayores que en el plasma, indicando acumulación en estos órganos.

Un comportamiento similar presenta la ^{14}C -Nitrendipina (Krauser, 1988): las concentraciones mayores, después de la administración i.v., se encuentran en hígado, adrenales y tejido adiposo, de forma similar a la descrita para la Elgodipina.

Con relación al estudio de la barrera placentaria, tanto con la administración i.v. como p.o., durante el período de estudio (0 - 24 horas), las concentraciones de radioactividad en los fetos, útero y placenta siempre fueron inferiores a las concentraciones correspondientes en el plasma materno.

En el líquido amniótico, no se detecta radioactividad a ningún tiempo. En los fetos, se encuentran cantidades pequeñas

de radioactividad (0.01 % dosis/g), sólo 1 hora después de la administración i.v., pero las concentraciones, a cualquier tiempo, no exceden a los niveles de radioactividad en la placenta; esto indica que el paso del fármaco a través de la barrera placentaria es moderado.

Este comportamiento de la ^{14}C -Elgodipina es concordante con el que presentan otras dihidropiridinas. Krauser y col. (1988), estudió el paso de la barrera placentaria de la ^{14}C -Nitrendipina, determinando la radioactividad en los fetos a los 3 minutos de la administración i.v. de 5 mg/kg. La autorradiografía demostró que solo una pequeña cantidad de radioactividad era detectada en el feto, placenta y líquido amniótico, mientras que en otros órganos la distribución era muy heterogénea. Después de 24 horas de la administración oral de 5 mg/kg, las concentraciones en placenta, líquido amniótico y fetos (entre 0.7 y 1.0 $\mu\text{g/g}$), son menores que en el plasma materno (1.3 $\mu\text{g/ml}$), indicando que el paso de dicha barrera no es excesivo.

Este comportamiento en la distribución tisular es concordante con los valores de % de unión a las proteínas encontrados. En efecto, el porcentaje de unión, tanto en el plasma de rata, como en el de perro y en el de humano, es superior al 97 % en las tres especies estudiadas y es independiente de la concentración de fármaco en el intervalo estudiado (10 - 500 ng/ml).

Estos valores encontrados, coinciden con los descritos en la bibliografía para otras dihidropiridinas (Niwa, T. 1987; Midgley, I. 1982, 1985; Egros, F. 1988; Greiner, P.O., 1990).

Del estudio de las curvas de concentración-tiempo de Elgodipina sin metabolizar en perro, después de una dosis única tanto por vía intravenosa y como oral, se deduce que las concentraciones plasmáticas de Elgodipina presentan un decaimiento bifásico de la concentración en función del tiempo, con unas semi-vidas aparentes de 1.22 h y 8.48 h, en la fase lenta de eliminación, de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto, con eliminación de primer orden desde el compartimento central.

La curva de concentración - tiempo obtenida, después de la administración oral, se puede describir como un modelo mono-compartimental con absorción y eliminación de primer orden; esta diferencia de modelo farmacocinético por vía oral, puede ser consecuencia de los bajos niveles plasmáticos alcanzados y del límite de sensibilidad del método analítico utilizado (1 ng/ml) que hagan que no pueda detectarse una segunda fase más lenta de eliminación.

El máximo de concentración plasmática se alcanza a las 4 horas post-dosis en los machos (37.09 - 44.77 ng/ml) y a 1-2 horas en las hembras (39.09 - 36.38 ng/ml). La concentración máxima calculada a partir de las curvas ajustadas se obtiene a 2.11 - 2.30 h (36.25 - 36.38 ng/ml) y a 1.01 - 2.06 h (36.28 - 52.15 ng/ml), en uno y otro caso.

Las biodisponibilidades, calculadas a partir de la relación de AUC obtenidas de las curvas de administración oral e intravenosa, son 1.69 % - 3.72 % (machos) y 3.48 % - 11.46 % (hembras). Estos valores son pequeños, pero hay que tener en

cuenta que están calculados sobre Elgodipina inalterada; en el caso de utilizar el producto marcado, los valores obtenidos serían mayores, como ocurre en la rata.

Los valores de biodisponibilidad calculados difieren de los estimados en el caso de la Amlodipina; para esta molécula Stopher y col. (1988) calculan en el perro una biodisponibilidad del 88 % y el tiempo en el que se alcanza el máximo de concentración plasmática es de 6 horas; en este caso, la absorción del tracto gastro-intestinal es muy lenta y la afinidad por diferentes tejidos es muy fuerte, apreciándose niveles aún 350 horas post-dosis.

Valores más concordantes con los de la Elgodipina, son los descritos por Kobayashi y col. (1988) para la Benidipina; el tiempo de máxima concentración plasmática varía de 0.25 a 2 horas y la biodisponibilidad del 1.8 al 16.8 %, en función de la dosis.

Todos estos estudios farmacocinéticos describen a un producto que se absorbe relativamente bien, que se distribuye rápida y heterogéneamente en los órganos y tejidos, que tiene afinidad por los tejidos con elevado contenido lipófilo, que no traspasa, apreciablemente, la barrera placentaria y no atraviesa la barrera hematoencefálica, que se transporta ligado a las proteínas del plasma, que se elimina bien con una semi-vida que hace posible pensar en una posología de dosis única por día, que se metaboliza bien en el hígado y que se elimina fundamentalmente por heces debido a la excreción realizada por la bilis, la cual, a su vez, podría dar lugar a un ciclo enterohepático que

prolongaría la permanencia del producto en el organismo y, por tanto, sus efectos farmacológicos.

Estas características, junto con las propiedades farmacológicas anteriormente mencionadas, hacen de la Elgodipina un fármaco utilizable para el tratamiento de las enfermedades cardio-vasculares en humanos, para lo cual se han iniciado los correspondientes estudios clínicos.

De hecho, la Elgodipina ha sido ya utilizada en humanos en Fase Clínica I y II; así, en un estudio en 6 voluntarios sanos (Informe interno IQB RJ-317a/875, 1990), a los que se administraron 7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en perfusión intravenosa durante 10 minutos a 6 voluntarios sanos se encontraron niveles plasmáticos de 20.3 ± 6.7 ng/ml, 24.3 ± 4.9 ng/ml y 10.3 ± 1.4 ng/ml a los 5, 10 y 30 minutos, respectivamente con la dosis de 7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Con la dosis de 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, los valores encontrados son 48.1 ± 11.4 ng/ml, 47.2 ± 15.6 ng/ml y 21.3 ± 4.5 ng/ml, respectivamente.

Cuando se estudió la biodisponibilidad absoluta, en 12 voluntarios sanos (Informe interno IQB RJ-317b/875, 1991) con una dosis única de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. en 15 minutos, se establecieron los siguientes parámetros farmacocinéticos: $C_{\text{max}} = 47.96 \pm 13.18$ ng/ml, $T_{\text{max}} = 0.25 \pm 0$ h, $t_{1/2} = 1.58 \pm 1.04$ h, $\text{AUCI} = 37.26 \pm 7.08$ ng/ml/h.

En una experiencia, también en 12 voluntarios sanos (Huntington Clinical Research, informe interno IQB J-311b/875, 1991), en la que se calculó la máxima dosis tolerada, por vía

DISCUSIÓN

oral, se administraron dosis de 20, 30, 40, 60, 80, 100 y 120 mg, obteniéndose los siguientes resultados:

Dosis de 20 mg: $C_{\max} = 29.1 \pm 13.9$ ng/ml, $T_{\max} = 1.9 \pm 0.9$ h
 $t_{1/2} = 2.55 \pm 1.52$ h.

Dosis de 40 mg: $C_{\max} = 61.5 \pm 25.5$ ng/ml, $T_{\max} = 2.2 \pm 0.9$ h
 $t_{1/2} = 5.29 \pm 1.86$ h. Excreción urinaria 2.08 ± 1.2 ng/ml,
aclaramiento 0.23 ± 0.18 ml/min.

Dosis de 80 mg: $C_{\max} = 178.5 \pm 50.8$ ng/ml, $T_{\max} = 2.2 \pm 0.7$ h
 $t_{1/2} = 6.55 \pm 1.36$ h. Excreción urinaria $3.25 \mu\text{g}$ en 24 horas,
aclaramiento 0.42 ± 0.23 ml/min.

Se escogió la dosis de 20 mg, que fue administrada oralmente a 8 mujeres voluntarias sanas, determinándose varios parámetros farmacocinéticos: $C_{\max} = 52.1 \pm 22.5$ ng/ml, $T_{\max} = 1.6 \pm 0.6$ h, $t_{1/2} = 10.3 \pm 12.1$ h. (Simbec, informe interno IQB J-311C/875, 1991).

Para estudiar la tolerancia después de dosis crecientes, 12 voluntarios sanos fueron tratados por vía oral con dosis de 2.5, 5, 10 y 15 mg. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos con la dosis de 10 mg son los siguientes: $C_{\max} = 10.4 \pm 1.0$ ng/ml, $T_{\max} = 1.2 \pm 0.2$ h, $t_{1/2} = 9.72$ h, $\text{AUCI} = 47.35 \pm 7.08$ ng/ml/h. (Huntington Clinical Research, informe interno IQBJ-311a/875, 1990).

Así mismo, ha sido estudiada la biodisponibilidad absoluta, igualmente en 12 voluntarios sanos, administrando $30 \mu\text{g/kg}$ en 15 minutos i.v. y 20 mg p.o. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos son los siguientes: $C_{\max} = 52.4 \pm 18.1$ ng/ml, $T_{\max} = 1.5 \pm 0.9$ h, $t_{1/2} = 4.7 \pm 7.1$ h, $\text{AUCI} = 140.28 \pm 54.74$ ng/ml/h. La biodisponibilidad calculada es del 36.5 % (Informe interno IQB

RJ-317b/875, 1991).

Como se puede observar de los datos anteriores, la Elgodipina cuando es administrada por vía oral, en humanos, alcanza el máximo de concentración plasmática entre 1.2 y 2.2 horas, con una semi-vida de la fase rápida de 1.5 a 2.5 h y de 4.7 a 9.7 h para la fase lenta. Estos valores son netamente superiores a los encontrados en la rata y algo más parecidos a los obtenidos en los perros. En cuanto al único dato de biodisponibilidad obtenido en humanos (36.5%), también es superior a los datos obtenidos en rata y perro.

De todo lo anteriormente expuesto puede deducirse que el nuevo antagonista del calcio: Elgodipina, sintetizado y desarrollado en el Instituto de Investigación y Desarrollo Químico-Biológico (IQB), con la colaboración de otros centros hospitalarios y de investigación, resulta ser un fármaco de aplicación tanto intravenosa como oral, de indicaciones terapéuticas para el tratamiento de la hipertensión y de los procesos anginosos, dos de las principales causas de la mortalidad, en la especie humana.

CONCLUSIONES

7.- CONCLUSIONES

Los estudios sobre la absorción, distribución y excreción de la Elgodipina, en rata y perro, conducen a las siguientes conclusiones:

- 1.- Del estudio de la curvas de concentración-tiempo de Elgodipina sin metabolizar en rata, después de una dosis única por vía intravenosa u oral, las concentraciones plasmáticas de Elgodipina presentan un decaimiento bifásico de la concentración en función del tiempo, de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto, con eliminación de primer orden desde el compartimento central. La comparación entre machos y hembras muestra diferencias estadísticamente significativas, siendo las concentraciones de las hembras superiores a las de los machos desde los 20 minutos a las 12 horas, después de la administración oral.
- 2.- Los principales parámetros que definen este comportamiento en rata son: semi-vidas de la fase de disposición rápida (α) de aproximadamente 30 minutos, semi vidas de la fase de disposición lenta (β) de 2 a 4 h, volúmenes de distribución elevados, de 0.4 a 0.5 l, velocidad de aclaramiento elevada, aproximadamente de 0.7 l/h y constantes de velocidad de eliminación de 1.4 a 1.8 h⁻¹. La eliminación es más rápida que la distribución ($K_{10} > K_{12}$ para ambos sexos). La concentración máxima se alcanza a los 20 minutos para los machos y a los 45 minutos para las hembras. La

CONCLUSIONES

biodisponibilidad calculada, a partir de los niveles plasmáticos de Elgodipina inalterada, es del 6.7 % y del 48.3 %, respectivamente. Esta biodisponibilidad tan baja es frecuente en especies con una relación superficie/peso muy elevada, pues conlleva un metabolismo muy acelerado.

- 3.- En el estudio farmacocinético con producto marcado isotópicamente, ^{14}C -Elgodipina, la evolución temporal de los niveles plasmáticos también se ajusta a un modelo bicompartimental abierto con eliminación de primer orden desde el compartimento central.
- 4.- Los parámetros farmacocinéticos que caracterizan el comportamiento de la ^{14}C -Elgodipina en rata son: semi-vida de la fase de disposición rápida (α) de 0.5 a 0.9 h, semi-vidas de la fase lenta de disposición (β) elevadas, de 6 a 8 h, velocidad de aclaramiento de aproximadamente 0.1 l/h, y constantes de velocidad de eliminación de 0.3 a 0.4 h^{-1} . La C_{max} se alcanza aproximadamente a las 4 horas para ambos sexos. Después de alcanzado el máximo, la radioactividad decrece con una semi-vida de 17 a 20 h. La biodisponibilidad calculada es del 59 % y del 49 %, respectivamente.
- 5.- La ^{14}C -Elgodipina se excreta principalmente en heces (74 -75 %, i.v., y 80 - 88 %, p.o., respectivamente), mientras que sólo una pequeña fracción se excreta en orina (15 - 16 %,

CONCLUSIONES

i.v., y 12 - 15 %, p.o., respectivamente). La biodisponibilidad calculada a partir de los datos de orina es del 83 % en los machos y del 98 % para las hembras.

6.- La excreción biliar de la ^{14}C -Elgodipina es aproximadamente del 70 % (i.v.) y del 60 % (p.o.) de la dosis excretada, en 10 horas, esto contribuye a la elevada excreción fecal. Esta elevada excreción biliar podría ser causa de un ciclo enterohepático.

7.- La distribución tisular de la ^{14}C -Elgodipina, tanto por vía oral como intravenosa, es rápida y de forma heterogénea por los órganos y tejidos de la rata.

7.1. Después de la administración i.v. a los 15 minutos post-dosis, las concentraciones mayores se observan en las glándulas adrenales y en los pulmones, y las más pequeñas en los testículos, cerebro y tejido adiposo. La mayor parte de la radioactividad circulante se encuentra en el plasma, siendo mínima la ligada a las células de la sangre.

7.2. Después de la administración oral, como es lógico, las concentraciones de radioactividad más elevadas se detectan en el estómago y las más pequeñas se encuentran en el tejido muscular y piel de ambos sexos.

En el cerebro de ambos sexos, no se detecta radioactividad a ningún tiempo, lo que indica que el

producto no atraviesa la barrera hematoencefálica. Tampoco se ha encontrado radioactividad en los testículos, lo que hace suponer que no hay peligro de efectos espermatóxicos.

7.3. La relación tejido/plasma es mayor de 5 en los órganos/tejidos relacionados con el tracto gastrointestinal (estómago, yeyuno y colon) y en el hígado. La distribución tisular observada indica que las concentraciones mayores de radioactividad están relacionadas con los órganos/tejidos asociados a procesos de absorción, excreción y biotransformación (hígado, riñones y tracto gastro-intestinal).

8.- En el estudio de la barrera placentaria, tanto con la administración i.v. como p.o., durante el período de estudio (0 - 24 horas), las concentraciones de radioactividad en los fetos, útero y placenta siempre fueron inferiores a las concentraciones correspondientes en el plasma materno. En el líquido amniótico, no se encuentra radioactividad a ningún tiempo. En los fetos, se detectan cantidades pequeñas de radioactividad (0.01 % dosis/g), sólo 1 hora después de la administración i.v.. En los fetos las concentraciones de radioactividad, a cualquier tiempo, no exceden a las concentraciones de radioactividad en la placenta; esto indica que el paso del fármaco a través de la barrera placentaria es moderado.

- 9.- El porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas es superior al 97 % en las tres especies estudiadas (rata, perro y hombre) y es independiente de la concentración de fármaco en el intervalo estudiado (10 - 500 ng/ml).
- 10.- Del estudio de la curvas de concentración-tiempo de Elgodipina sin metabolizar en perro, después de una dosis única por vía intravenosa u oral, las concentraciones plasmáticas de Elgodipina presentan un decaimiento bifásico de la concentración en función del tiempo, con unas semi-vidas aparentes de 1.22 y 8.48 h, en la fase rápida y lenta respectivamente de eliminación, de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto, con eliminación de primer orden desde el compartimento central.
- La curva de concentración - tiempo obtenida, después de la administración oral, se puede describir como un modelo mono-compartimental con absorción y eliminación de primer orden. El máximo de concentración plasmática se alcanza a las 4 horas post-dosis en los machos y a 1-2 horas en las hembras. La concentración máxima se alcanza aproximadamente a las 2 h para los machos y de 1 a 2 h para las hembras. Las biodisponibilidades calculadas son 1.69 % - 3.72 % y 3.48 % - 11.46 % para uno y otro sexo.
- 11.- Con los datos aportados en el presente trabajo, ha podido pasarse al estudio de la farmacocinética de Elgodipina en la especie humana, en ensayos clínicos de Fase I y II.

ANEXO

ANEXO

CERTIFICATE OF ANALYSISNUMBER: 050890
CODE: 87-013PRODUCT : ELGODIPINE.HCl (IQB-875)
BATCH N° : 8807.004
SUPPLIER : LEBSA
QUANTITY : 5 kg-----
BIOLOGICAL TESTSAFETY : Conform
MICROBIAL PURITY : Conform-----
CHEMICAL TESTAPPEARANCE : Fine, uniform powder free from visibles
impurities
VISUAL COLOR : White or light yellow
ODOR : Odorless
IDENTITY : IR Spectrum : Conform
UV Spectrum : Conform
Fluorescence : Conform
M.P. : 200.3 - 201.8°C , at 0.5 °C/min.

LOSS ON DRYING (24 h, 105 °C, <1.5 %) : 0.22 %

HUMIDITY (K.F. <0.7 %) : 0.28 %

HEAVY METALS (< 10 ppm) : Conform

CHLORIDE (Between 6.1 and 6.5 %) : 6.50 %

SULFATE (<0.05 %) : Conform

METHANOL, ACETONE, ETHANOL, ISOPROPANOL (<0.02 %) : Conform

INTERMEDIATE VII (<0.1 %) : Conform

INTERMEDIATE VIII (<0.1 %) : Conform

HPLC: Hypersil ODS, 5 µm, 15 x 0.4 cm, 234 nm
Methanol/Ammonium acetate 0.1 N pH=5, 70/30, 1 ml/min
97.61 %TLC : Kieselgel 60F 254, 7.5 x 5 cm
Dichloromethane/Methanol/Glacial Acetic ac. (9/1/0.1)ASSAY (Between 98.0 and 102.0 %) Spectrophotometric : 100.50 %
Spectrofluorimetric : 100.70 %
Potentiometric : 98.88 %

ANEXO

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT: ^{14}C -Elgodipine (Product purified by TLC from ^{14}C -Elgodipine supplied by Isotpchim)

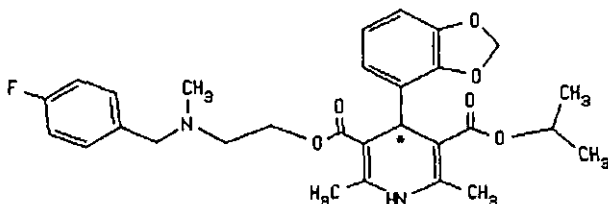
BATCH : 910606 (89165)

SUPPLIER: I.Q.B.

NUMBER: 060191

CODE: 91-058

DATE: 06/06/91



MW: 526 g/mol

TOTAL ACTIVITY: 513 μCi (19 MBq)

SPECIFIC ACTIVITY: 62 mCi/mmol (2296 MBq/mmol)

118 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ (4365 KBq/mg)

CHEMICAL FORM: Elgodipine in Chloroform/Ethanol solution

IDENTIFICATION: UV spectrum conform

TLC conform

HPLC conform

RADIOACTIVE CONCENTRATION: 5.13 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ (190 KBq/ml)

CHEMICAL CONCENTRATION: 43.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (UV at 361 nm)

RADIOCHEMICAL PURITY: By HPLC >98%

By TLC >98%

CHEMICAL PURITY: By HPLC >98%

By UV >98%

T.L.C.: Kieselgel 60F 254 5 x 20 cm (Merck 5808)

Methylene Chloride/Methanol/Acetic acid (90/10/1)

Methylene Chloride/Methanol/Triethylamine (95/5/1)

Autoradiography

H.P.L.C.: Hypersil ODS 5 μm , 15 x 0.4 cm

Methanol/pH 5.5 Buffer 70/30, 1 ml/min.

234 nm and Radioactivity detector

UV: In methanolic solution maxima at 234 nm, 297 nm and 361 nm

Ratio of absorbances: 234/361 = 3.16

234/361 = 3.04 (reference standard)

BIBLIOGRAFÍA

8.- BIBLIOGRAFIA

- Aris R.
"On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube."
Proc. Roy. Soc., A235, 66-67, (1956).
- Acharya D.U., Senior R., Basu S., Harrison F., Galiano A., Lahiri A.
"Anti-ischaemic and haemodynamic effects of Elgodipine, a potent new generation calcium antagonist, in chronic stable angina."
European Heart Journal, 15, 667-671, (1994).
- Baarnhielm, C., Backman, A., Hoffmann, K.J., Weidolf, L.
"Biotransformation of Felodipine in liver microsomes from rat, dog, and man."
Drug Metab. Dispos. 14(5), 613-618, 1986.
- Benet L.Z., Galeazzi R.L.
"Noncompartmental determination of the steady-state volume of distribution."
J. Pharm. Sci., 68 (8), 1071-1074, (1979).
- Bossert F., Meyer H., Wehinger, E.
"4-Aryldihydropyridines, a new class of highly active calcium antagonists."
Angew. Chem. Int. Ed., 20, 762, (1981).
- Burriel A., Giráldez A., Galiano A., Giudicelli J.F., Verdow P.D.
"Estudio hemodinámico de la Elgodipina, en diversas

BIBLIOGRAFIA

- especies animales, administrada por vía endovenosa.*"
Rev. Farmacol. Clin. Exper., 6, 234, (1989).
- Burriel A., Giráldez A., Galiano A.
"Efectos de Nisoldipina y Elgodipina sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca, medida en aorta abdominal de ratas conscientes."
IV Reunión Port-Esp., 1, 106, (1991).
- Caster, W.O., Poncelet, J., Simon, A.B., Armstrong, W.D.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 91, 122, (1956)
- Committee on Biologic Performance of Drug Products.
"Guidelines for biopharmaceutical studies in man."
Washington, D.C.: Am. Pharm. Assoc., Acad. Pharm. Sci., (1972).
- Chasseaud C.F., Taylor T.
"Bioavailability of drugs from formulations after oral administration."
Ann. Rev., Pharmacol., 14, 35-46, (1974).
- Drieu de la Rochelle C., Grosset A., O'Connor S.E.
"Comparison of the haemodynamic profiles of Elgodipine and nicardipine in the anaesthetized dog."
Br.J.Pharmacol. 111, 49-56, (1994).
- De Miguel B., Galiano A., Landín L., Renes L., Aguinaga E., Lorente M.A.G., Jorge P.
"Elgodipine v.s. Nicardipine: Haemodynamic changes in anaesthetized dogs."
Eurp. J. Pharmacol., 183 (4), 1341, (1990).
- Doherty J.E., Perkins W.H., Flanigan W.J.

BIBLIOGRAFIA

- "The distribution and concentration of tritiated Digixin in human tissues."*
Ann. Int. Med., 66, 116, (1967).
- Egros F., Dufour A.
"Etude de la liaison de l'Oxodipine marquée au ¹⁴C sur les proteines plasmatiques."
Delagrangre Laboratoires. Informe interno (1988).
- Fleckenstein A.
"History of calcium antagonists"
Circulation Research 52 (Suppl. 1), 3-16, (1983).
- Galiano A, Fernández C.
"New 1,4-dihydropyridines with very potent channel blocker properties."
Europ. Patent 874017999.9, Chem. Abstr. 119413-55-7 (May, 1987).
U.S.A. Patent 227,373 (Agt 1988).
- García A., de Miguel B., Jiménez E., Giráldez A., Galiano A.
"Efectos cardiovasculares de las nuevas 1,4 dihidropiridinas: Oxodipina y Elgodipina HCl, en ratas hipertensas modelo Gollman."
Rev. Exp. Anim., 2, A46, (1991).
- Gibaldi M., Levy G., Hayton W.
"Kinetics of the elimination and neuromuscular bloking effect of d-tubocurarine in man."
Anesthesiol., 36, 213, (1972).
- Giráldez A., Román C., Burriel A., García A., González Y.,

- Galiano A.
"Nuevas 1,4 dihidropiridinas: Actividad relajante muscular."
Rev. Farmacol. Clin. Exper., 5, 227, (1988).
- Giráldez A., de Miguel B., González Y., Burriel A., Román C., García A., Galiano A.
"Perfil farmacológico general de la Elgodipina, un nuevo antagonista del calcio."
IV Cong. Cienc. Farm., 1, 42, (1991).
- Graefe K.H., Ziegler R., Wingender W., Ramsch K.D., Schmitz H.
"Plasma concentration response relationships for some cardiovascular effects of dihydropyridines in healthy subjects."
Clin. Pharmacol. & Therapeutics, 43 (No.1), 16-22, (1988).
- Greiner P.O., Weber S., Angignard J., Berbey B.
"Evaluation of first pass effect and biliary excretion of Dipepdipine in the dog."
Europ. J. of Drug Metabol. and Pharmacokin., 15 (3), 185-190, (1990).
- Harris P.A., Riegelman S.
"Influencia de la vía de administración en el area bajo al curva de nivel plasmático."
J. Pharm. Sci., 58, 71-75, (1969).
- Himmelblau D.M., Bischoff K.B.
"Process analysis and simulation in deterministic systems."
John Wiley & Sons., New York, (1968).

BIBLIOGRAFIA

-
- Hunttingdon Clinical Research, Informe interno IQB J-311a/875.
"Study of the pharmacokinetic parameters and tolerance of IQB-875 after the administration of four ascending single oral doses at 72 hour intervals in twelve healthy volunteers."
HCR Clinical Report IQ/157, Marzo 1990.
 - Hunttingdon Clinical Research, Informe interno IQB J-311b/875.
"Study to evaluate the tolerance and pharmacokinetic profile of Elgodipine in ascending doses up to 80 mg."
HCR Clinical Report IQ/178, Diciembre 1991.
 - Informe interno IQB RJ-317a/875.
"Study of the tolerance to single intravenous administration of IQB-875 (Elgodipine) compared with placebo in adult healthy male subjects."
Octubre, 1990.
 - Informe interno IQB RJ-317b/875.
"Study of the absolute bioavailability of IQB-875 (Elgodipine) in adult healthy male volunteers."
Enero, 1991.
 - International Commission on Radiological Protection, Report of Committee 2 (1959).
 - Kaplan S.A., Jack M.L., Alexander K., Weindfel R.E.
"Pharmacokinetic profile of Diazepam in man following single intravenous and oral and chronic administrations."
J. Pharm. Sci., 62, 1789, (1973).

BIBLIOGRAFIA

-
- Kobayashi, H., Ohishi, T., Nishiie, H., Inoue, A., Oka, T., Nakamizo, N.
"Absorption, distribution, and excretion after oral administration of ¹⁴C-Benidipine hydrochloride in rats and dogs."
Arzneim. Forsch./Drug Res. 38(II), 11a, 1742-1746 (1988).
 - Koch-Weser J.
"The study of antimalarian and antimalarial activity in the human Malarías."
Harvey Lect. Ser., 41, 43-89, (1946).
 - Krauser, H.P., Beermann, H.J.A.D., Siefert, H.M., Suwelack, D., Weber, H.
"The pharmacokinetics of Nitrendipine. I. Absorption, plasma concentrations, and excretion after a single administration of ¹⁴C-Nitrendipine to rats and dogs."
Arzneim. Forsch./Drug Res. 38(II), 11, 1593-1599 (1988).
 - Loo J.C.K., Riegelman S.
"Errores en el análisis farmacocinético debidos a la concepción del organismo como un sistema monocompartimental."
J. Pharm. Sci., 57, 117-133, (1968).
 - Marshall E.K.
"Experimental basis of Chemotherapy in the treatment of bacterial infections."
Bull. N.Y. Acad. Med., 16, 722-731, (1940).
 - Midgley I., Chasseaud L.F., Taylor I.W., Darragh A.
"The absorption and excretion of ¹⁴C-Lofexidine

- hydrochloride in man."
- Arzneim.-Forsch/Drug Res., 32 (II), No. 8a, 972-975, (1982).
- Midgley I., Chasseaud L.F., Taylor I.W., Walmsley L.M., Fowkes A.G., Darragh A., Lambe R.F., Bonn R.
- "Metabolism and pharmacokinetics of the dihydropyridine calcium antagonist, Ryosidine, in man."
- Xenobiotica 15 (11), 965-977, (1985).
- Niwa T., Tokuma Y., Noguchi H.
- "Plasma protein binding of Nivaldipine, a new dihydropyridine calcium antagonist, in man and dogs."
- Res. Comm. Chem. Path. & Pharmacol. 55 (1), 75-88 (1987).
- Niwa, T., Tokuma, Y., Noguchi, H.
- "Oxidation of Nivaldipine, a new dihydropyridine calcium antagonist, to the corresponding pyridine by rat liver microsomes."
- Xenobiotica, 18(2), 217-224, (1988).
- Oppenheimer J., Schwartz H., Surks, M.I.
- "Determination of common parameters of iodotyronine metabolism and distribution in man: noncompartmental analysis."
- J. Clin. Endocrinol. Metabol., 41, 319-326, (1975).
- Oser B.L., Melnick D., Hochberg M.
- "Physiological availability of the vitamins. Study of methods for determining availability in pharmaceutical products."
- Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 17, 401-411, (1945).

BIBLIOGRAFIA

-
- Report of a WHO Study Group: Clinical Pharmacology. Scope, Organization, Training World Health. Organization Report Series No. 446, 7-8, (1970).
 - Riegelman S., Collier P.
"The application of statistical moment theory to the evaluation of in vivo dissolution time and absorption time."
J. Pharmacokin. Biopharm., 8 (5), 509-534, (1980).
 - Román C., de Miguel B., Giráldez A., Galiano A.
"Study of agonism and antagonism of Elgodipine on different types of receptors."
Eurp. J. Pharmacol., 183 (6), 2411-2412, (1990).
 - Román C.
"Nuevas 1,4-Dihidropiridinas con potencial actividad antagonista de calcio. Estudio in vitro."
Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, (1992).
 - Sassen L.M.A., Soei L.K., Koning M.M.G., Verdouw P.D.
"The central and regional cardiovascular response to intravenous and intracoronary administration of the phenyldihydropyridine Elgodipine in anesthetized pgs."
Br. J. Pharmacol., 99, 355-363, (1990).
 - Sheiner, L.B.
"ELSFIT: A program for the extended least squares fit to individual pharmacokinetic data".
A technical report of the Division of Clinical Pharmacology. University of California, SF, CA 94143 (1981).

BIBLIOGRAFIA

-
- Simbec, Informe interno IQB J-311C/875.
"Pharmacokinetics of Elgodipine in adult healthy female volunteers not at risk of pregnancy."
Simbec Clinical Report 431/20059, Octubre 1991.
 - Singh B.N.
"The mechanism of action of calcium antagonists relative to their clinical applications."
British Journal of Clinical Pharmacology. 21, 109S-121S.
(1986).
 - Stopher, D.A.; Beresford, A.P.; Macrae, P.V.; Humphrey, M.J. J.
"The metabolism and pharmacokinetics of Amlodipine in humans and animals."
Cardiovasc. Pharmacol. 12, Suppl. 7, S55-S59 (1988).
 - Suryapranata H., Maas A., McLeod D.C., de Feyter P.J., Verdow P.D., Serryus P.W.
"Coronary vasodilatory action of Elgodipine in coronary artery disease."
Am. J. Cardiol., 69, 1171-1177, (1992).
 - Tamargo, J.
"Efecto hemodinámico de dos nuevas dihidropiridinas IQB-872 e IQB-875 en el perro anestesiado."
XXI Congreso de Cardiología. Bilbao, (1987).
 - Tamargo J., González P., López J., Tejerina T
"An in vitro evaluation of Oxodipine (IQB-837) with its derivatives IQB-852, IQB-872 and IQB-875".
4th International Symposium on calcium antagonists.

BIBLIOGRAFIA

- Florence, May 25-25, (1989).
- Tamargo J., López-Sendón J., Delpón E., González-Morales M., de Miguel E.
"Cardiovascular effects of the new dihydropyridine derivative Elgodipine."
Arzneim-Forsch./Drug Res., 41 (II), 9, 895-900, (1991).
 - Teorell, T.
"Kinetics of distribution of substances administered to the body. I the extravascular modes of administration. II the Intravascular modes of administration."
Arch. Int. Pharmacodyn., 57, 205-240, (1937).
 - Van Voerkens L.J., Schotman S.N., Van der Giessen W.J., Verdow, P.D.
J. Cardiol. Pharmacol., 17, 976-982, (1991).
 - Verdouw P.D., Saneu L.M.A., Soci L.K.
"The cardiovascular pharmacology of phenyl-dihydropyridine Elgodipine."
Europ. J. Pharmacol., 183, 1342, (1990).
 - Wagner J.G., Nelson E.
"Gráficas porcentaje de absorción/tiempo a partir de los datos de nivel plasmático y excrección urinaria."
J. Pharm. Sci., 52, 610-611, (1963).
 - Wagner J.G.
"Pharmacokinetics."
Ann. Rev. Pharmacol., 8, 67-94, (1968).
 - Wagner J.G.
"Linear pharmacokinetic models and vanishing exponential

terms: implication in pharmacokinetics."

J. Pharmacokin. Biopharm., 4 (5), 395-425, (1976).

- Weeks, J.R., es, J.A.

"Routine direct measurement of arterial pressure in unanaesthetized rat".

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 194, 646-648, 1960.

- Widmark E., Tandberg J.

"The limitations for the accumulation of different narcotics. Theoretical calculation."

Biochem. Z., 147, 358-369, (1924).

- Wulf H., Herzig S., Ruhnke L.

"Funtional interaction between local anaesthetics and calcium antagonists in guinea pig myocardium."

Br. J. of Anaesthesia, 73 (3), 357-370, (1994).