

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA  
FARMACEÚTICA

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO POBLACIONAL DE  
ANTIRRETROVIRALES EN RATA

ROCIO LLEDÓ GARCÍA

UNIVERSITAT DE VALENCIA  
Servei de Publicacions  
2007

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 26 de Gener de 2007 davant un tribunal format per:

- D<sup>a</sup>. Marina Herráez Domínguez
- D<sup>a</sup>. Rosalía Calvo Duo
- D. Francisco Otero Espinar
- D<sup>a</sup>. Ana Martín Suárez
- D. José Esteban Peris Ribera

Va ser dirigida per:

D. Vicente Germán Casabó Alós

D<sup>a</sup>. Matilde Merino San Juan

D<sup>a</sup>. Amparo Nácher Alonso

©Copyright: Servei de Publicacions  
Rocio Lledó García

---

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-6767-4

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Artes Gráficas, 13 bajo

46010 València

Spain

Telèfon: 963864115



VNIVERSITAT [ò\*]  
E VALÈNCIA Facultat de Farmàcia  
Departamento de Farmacia y Tecnología  
Farmacéutica

**“Estudio Farmacocinético Poblacional de  
Antirretrovirales en rata”**

Tesis Doctoral

presentada por:

Rocío Lledó García

Valencia, 2006

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica**

Los que suscriben Vicente G. Casabó Alós, Matilde Merino Sanjuán y Amparo Nácher Alonso, Doctores en Farmacia y Profesores Titulares del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universitat de València.

CERTIFICAN:

que la presente Memoria para optar al grado de Doctor por la Universitat de València ha sido realizada en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universitat de València, por la licenciada en Farmacia Rocío Lledó García, cuyo título es:

**“Estudio Farmacocinético Poblacional de Antirretrovirales en rata”**

ha sido desarrollada bajo la dirección compartida de los mismos y reúne todos los requisitos necesarios para su presentación, juicio y calificación.

V. G. Casabó Alós

M. Merino Sanjuán

A. Nácher Alonso



Mi más profundo agradecimiento a los Profesores Dr. Vicente G. Casabó Alós, Dra. Matilde Merino Sanjuán y Dra. Amparo Nácher Alonso, por su dirección en el desarrollo del estudio que aquí se presenta y por su paciente y constante apoyo. Ellos constituyen los tres pilares de un sólido equipo, gracias al cual, he podido acercarme al método científico. Así mismo, agradecerles los conocimientos que me han transmitido y que se reflejan en este trabajo.

Agradezco al resto de la comunidad de profesores que integran el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, la atención y consejos prestados, muy especialmente a los Prof<sup>es</sup>. Marina Herráez, Octavio Diez, Virginia Merino y Marival Bermejo.

Agradezco el trabajo y apoyo prestado a lo largo de mi estancia en este departamento al personal administrativo y técnico, Juana, Pilar, Carolina y José Antonio.

Por último, agradecer a los doctorandos de este departamento, que como yo, se esfuerzan y ponen toda su ilusión en la investigación, en especial a mi compañero Luis, por su colaboración y aportaciones en el desarrollo de este proyecto.

Gracias a Isabel, Carlos y Carmen, compañeros de laboratorio y amigos; por vuestro apoyo y camaradería, que me ha hecho más llevadera la última etapa de este trabajo en el que parecía que nunca iba a ver la luz.



# ÍNDICE

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>1</b>    | <b>INTRODUCCIÓN</b> .....  | <b>15</b> |
| <b>2</b>    | <b>OBJETIVOS DEL TRABAJO</b> .....   | <b>19</b> |
| <b>3</b>    | <b>ANTECEDENTES</b> .....  | <b>21</b> |
| 3.1         | AGENTES CAUSALES DEL SÍNDROME DE LA INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA ...                | 21        |
| 3.1.1       | <i>Estructura</i> .....  | 21        |
| 3.1.2       | <i>Genoma viral</i> .....  | 22        |
| 3.2         | TRATAMIENTO DEL SIDA.....  | 23        |
| 3.2.1       | <i>Perspectivas</i> .....  | 23        |
| 3.2.2       | <i>Inhibidores de la proteasa</i> .....  | 25        |
| 3.2.2.1     | Mecanismo de acción .....  | 25        |
| 3.2.2.2     | Estructura y propiedades fisico-químicas .....                                     | 26        |
| 3.2.2.3     | Formulaciones comercializadas.....   | 28        |
| 3.2.2.4     | Propiedades farmacocinéticas.....  | 29        |
| 3.2.2.4.1   | Absorción.....   | 29        |
| 3.2.2.4.2   | Distribución y unión a proteínas plasmáticas.....                                  | 31        |
| 3.2.2.4.3   | Metabolismo .....  | 33        |
| 3.2.2.4.4   | Excreción .....  | 35        |
| 3.2.2.4.5   | Actividad de sistemas secretores: glicoproteína-P y sistemas MRP.....              | 36        |
| 3.2.2.4.6   | Grupos poblacionales especiales.....   | 37        |
| 3.2.2.5     | Aplicaciones terapéuticas y posología.....   | 39        |
| 3.2.2.6     | Interacciones.....   | 40        |
| 3.2.2.6.1   | Interacciones con fármacos no antirretrovirales.....                               | 42        |
| 3.2.2.6.2   | Interacciones con fármacos antirretrovirales.....                                  | 43        |
| 3.2.2.7     | Génesis de resistencias al tratamiento antirretroviral .....                       | 45        |
| 3.2.2.8     | Efectos adversos.....  | 46        |
| 3.3         | ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO .....   | 48        |
| 3.3.1       | <i>Modelos farmacocinéticos compartimentales</i> .....                             | 49        |
| 3.3.1.1     | Modelos farmacocinéticos lineales.....   | 49        |
| 3.3.1.1.1   | Modelo farmacocinético bicompartimental.....                                       | 49        |
| 3.3.1.1.1.1 | Administración intravenosa rápida .....  | 50        |
| 3.3.1.1.1.2 | Administración de una perfusión continua.....                                      | 54        |
| 3.3.1.1.1.3 | Administración oral .....  | 58        |
| 3.3.1.2     | Modelos farmacocinéticos no lineales.....  | 60        |
| 3.3.2       | <i>Análisis farmacocinético no compartimental</i> .....                            | 61        |
| 3.3.3       | <i>Análisis farmacocinético individual</i> .....                                   | 63        |
| 3.3.3.1     | Estimación de parámetros individuales .....  | 63        |
| 3.3.3.1.1   | Regresión lineal.....  | 63        |
| 3.3.3.1.2   | Regresión no lineal.....   | 64        |
| 3.3.4       | <i>Análisis farmacocinético poblacional</i> .....                                  | 72        |
| 3.3.4.1     | Tipos de variabilidad.....   | 74        |
| 3.3.4.2     | Modelos farmacocinéticos.....  | 78        |
| 3.3.4.3     | Métodos de estimación de parámetros poblacionales.....                             | 84        |
| 3.3.4.3.1   | Métodos paramétricos .....   | 85        |
| 3.3.4.3.1.1 | Métodos simples de datos (Naïve averaging of data-NAD/Naïve pooled data-NPD) ..... | 86        |

|               |   |            |
|---------------|---|------------|
| 3.3.4.3.1.2   | Métodos en dos etapas.....  | 89         |
| 3.3.4.3.1.2.1 | Método estandar en dos etapas (Standard two-stage method-STS)<br>89             |            |
| 3.3.4.3.1.2.2 | Método global en dos etapas (global two stage method-GTS)....                   | 91         |
| 3.3.4.3.1.2.3 | Método iterativo en dos etapas (Iterated two-stage method-ITS)93                |            |
| 3.3.4.3.1.2.4 | Método de filtrado no lineal (Nonlinear filtering method-NFL). 94               |            |
| 3.3.4.3.1.3   | Modelo no lineal de efectos mixtos (Nonlinear Mixed Effect Model-<br>NONMEM) 95 |            |
| 3.3.4.3.2     | Métodos no paramétricos.....  | 100        |
| 3.4           | BIODISPONIBILIDAD.....  | 101        |
| 3.4.1         | <i>Determinación de la biodisponibilidad</i> .....                              | 104        |
| 3.4.1.1       | Biodisponibilidad en magnitud.....  | 104        |
| 3.4.1.2       | Biodisponibilidad en velocidad.....   | 108        |
| <b>4</b>      | <b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>  | <b>109</b> |
| 4.1           | FÁRMACOS ENSAYADOS.....   | 109        |
| 4.1.1         | <i>Soluciones administradas</i> .....   | 109        |
| 4.2           | ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....  | 112        |
| 4.3           | TÉCNICA QUIRÚRGICA.....   | 112        |
| 4.3.1         | <i>Anestesia</i> .....  | 112        |
| 4.3.2         | <i>Técnica de canulación permanente de la vena yugular</i> .....                | 113        |
| 4.3.2.1       | Soluciones y material de trabajo.....   | 113        |
| 4.3.2.2       | Técnica de implantación.....  | 114        |
| 4.4           | PROTOCOLO DE ENSAYO.....  | 116        |
| 4.4.1         | <i>Administración parenteral</i> .....  | 117        |
| 4.4.2         | <i>Administración oral</i> .....  | 119        |
| 4.4.3         | <i>Administración intraperitoneal</i> .....                                     | 119        |
| 4.4.4         | <i>Toma de muestras</i> .....   | 120        |
| 4.5           | MÉTODO DE VALORACIÓN.....   | 122        |
| 4.5.1         | <i>Elementos cromatográficos</i> .....  | 122        |
| 4.5.2         | <i>Manipulación de las muestras</i> .....                                       | 124        |
| 4.6           | VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....  | 124        |
| 4.6.1         | <i>Ensayos de linealidad</i> .....  | 125        |
| 4.6.2         | <i>Ensayo de precisión y exactitud</i> .....                                    | 127        |
| 4.6.3         | <i>Límite de cuantificación</i> .....   | 128        |
| 4.7           | ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.....   | 128        |
| 4.7.1         | <i>Análisis farmacocinético no compartimental</i> .....                         | 128        |
| 4.7.1.1       | Administración parenteral.....  | 130        |
| 4.7.1.2       | Administración oral.....  | 131        |
| 4.7.1.3       | Administración intraperitoneal.....   | 131        |
| 4.7.2         | <i>Análisis farmacocinético compartimental</i> .....                            | 131        |
| 4.7.2.1       | Modelo estructural.....   | 133        |
| 4.7.2.1.1     | Modelado farmacocinético lineal clásico. Enfoque empírico.....                  | 133        |
| 4.7.2.1.2     | Modelado farmacocinético lineal y no lineal. Análisis mecanicista.....          | 134        |
| 4.7.2.1.2.1   | SAQUINAVIR.....   | 135        |
| 4.7.2.1.2.2   | RITONAVIR.....  | 151        |
| 4.7.2.1.2.3   | INTERACCIÓN SAQUINAVIR-RITONAVIR.....   | 159        |
| 4.7.2.2       | Modelo de variabilidad inter-individual.....                                    | 171        |
| 4.7.2.3       | Modelo de variabilidad residual.....  | 171        |
| 4.7.3         | <i>Determinación de la biodisponibilidad</i> .....                              | 172        |

|           |  |            |
|-----------|--|------------|
| 4.8       | MÉTODOS ESTADÍSTICOS .....   | 173        |
| 4.8.1     | <i>Correlaciones lineales</i> .....  | 173        |
| 4.8.2     | <i>Comparación de medias</i> .....   | 173        |
| 4.8.2.1   | Pruebas paramétricas y no paramétricas.....  | 175        |
| 4.8.3     | <i>Criterios de calidad de los ajustados</i> .....   | 177        |
| 4.8.3.1   | Análisis gráfico de la bondad de ajuste .....  | 177        |
| 4.8.3.2   | Coefficiente de variación de parámetros.....   | 178        |
| 4.8.3.3   | Función mínima objetivo (FMO) .....  | 178        |
| <b>5</b>  | <b>RESULTADOS</b> .....  | <b>181</b> |
| 5.1       | VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO .....  | 181        |
| 5.1.1     | <i>Ensayo de linealidad</i> .....  | 181        |
| 5.1.2     | <i>Ensayo de precisión y exactitud</i> .....   | 182        |
| 5.1.3     | <i>Límite de cuantificación</i> .....  | 184        |
| 5.2       | CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS EXPERIMENTALES .....   | 186        |
| 5.3       | ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO .....   | 189        |
| 5.3.1     | <i>Análisis no compartimental</i> .....  | 189        |
| 5.3.1.1   | SAQUINAVIR.....  | 189        |
| 5.3.1.1.1 | Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos.....   | 193        |
| 5.3.1.2   | RITONAVIR.....   | 223        |
| 5.3.1.2.1 | Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos.....   | 225        |
| 5.3.1.3   | Determinación de la biodisponibilidad.....   | 235        |
| 5.3.2     | <i>Análisis compartimental. Modelo no lineal de efectos mixtos</i> .....   | 237        |
| 5.3.2.1   | Modelo estructural. SAQUINAVIR.....  | 237        |
| 5.3.2.2   | Modelo estructural. RITONAVIR.....   | 266        |
| 5.3.2.3   | Interacción SAQUINAVIR-RITONAVIR. Modelado.....  | 284        |
| <b>6</b>  | <b>DISCUSIÓN</b> .....   | <b>293</b> |
| 6.1       | FÁRMACOS ENSAYADOS .....   | 293        |
| 6.2       | MODELO ANIMAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....  | 294        |
| 6.2.1     | <i>Fisiología y técnica quirúrgica</i> .....   | 294        |
| 6.2.2     | <i>Toma de muestras</i> .....  | 295        |
| 6.2.3     | <i>Selección de dosis</i> .....  | 296        |
| 6.2.4     | <i>Vías de administración</i> .....  | 297        |
| 6.3       | TÉCNICA ANALÍTICA .....  | 298        |
| 6.3.1     | <i>Linealidad</i> .....  | 298        |
| 6.3.2     | <i>Precisión, exactitud y límite de cuantificación</i> .....   | 298        |
| 6.4       | ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO .....   | 299        |
| 6.4.1     | <i>Análisis no compartimental</i> .....  | 299        |
| 6.4.1.1   | Linealidad cinética .....  | 300        |
| 6.4.1.1.1 | SAQUINAVIR.....  | 300        |
| 6.4.1.2   | Análisis de la biodisponibilidad y caracterización del efecto de 1 <sup>er</sup> paso hepático e intestinal..... | 303        |
| 6.4.1.2.1 | SAQUINAVIR.....  | 303        |
| 6.4.1.2.2 | RITONAVIR.....   | 307        |
| 6.4.1.3   | Estudio de la interacción .....  | 308        |
| 6.4.1.3.1 | SAQUINAVIR.....  | 308        |
| 6.4.1.3.2 | RITONAVIR.....   | 309        |
| 6.4.2     | <i>Análisis compartimental. Modelo no lineal de efectos mixtos</i> .....   | 313        |
| 6.4.2.1   | SAQUINAVIR.....  | 313        |

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| 6.4.2.2  | RITONAVIR .....                                 | 327        |
| 6.4.2.3  | Interacción SAQUINAVIR-RITONAVIR. Modelado..... | 334        |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSIONES .....</b>                       | <b>337</b> |
| <b>8</b> | <b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>                       | <b>341</b> |

## ABREVIATURAS

Las abreviaturas utilizadas en esta Memoria han sido en muchos casos las estándar, pero en otros casos, se han utilizado abreviaturas específicas y restringidas al ámbito de este trabajo.

$\sigma$ : desviación estándar de la distribución del parámetro de efecto aleatorio intraindividual residual asociado a cada concentración plasmática.

$\omega_X$ : desviación estándar de la distribución del parámetro de efecto aleatorio interindividual ( $\eta$ ) asociado al parámetro farmacocinético X.

**BC**: modelo bicompartimental clásico

**Bid**: *bis in die*. (Cada 12 h)

**BIO**: biodisponibilidad tras la administración intraperitoneal.

**BLC**: bajo el límite de cuantificación.

**Cb**: concentración plasmática de fármaco unido a una proteína plasmática (mg/L o mmol/L).

**Cl**: aclaramiento (L/h).

**Cl<sub>0</sub>**: aclaramiento plasmático a un flujo dado y concentración de fármaco cero (L/h).

**Cl<sub>0e</sub>**: aclaramiento plasmático intestinal a un flujo dado y concentración de fármaco cero (L/h).

**Cl<sub>0h</sub>**: aclaramiento plasmático hepático a un flujo dado y concentración de fármaco cero (L/h).

**Cl<sub>0me</sub>**: aclaramiento plasmático intestinal debido a metabolismo, a un flujo dado y concentración de fármaco cero (L/h).

**Cl<sub>0se</sub>**: aclaramiento plasmático intestinal debido a secreción, a un flujo dado y concentración de fármaco cero (L/h).

**Cl<sub>A</sub>**: aclaramiento plasmático aparente, para una concentración de fármaco dada (L/h).

**Cl<sub>Ah</sub>**: aclaramiento plasmático hepático aparente, para una concentración de fármaco dada (L/h).

**Cl<sub>Ame</sub>**: aclaramiento plasmático intestinal aparente debido a un proceso metabólico, a una concentración de fármaco dada (L/h).

**Cl<sub>Ase</sub>**: aclaramiento plasmático intestinal aparente debido a un proceso de secreción, a una concentración de fármaco dada (L/h).

**Cl<sub>i</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco (L/h).

**Cl<sub>ie</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco en enterocito (L/h).

**Cl<sub>ih</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco en hepatocito (L/h).

**Cl<sub>ime</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco en enterocito debido a un proceso metabólico (L/h).

**Cl<sub>ir</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco de ritonavir (L/h).

**Cl<sub>is</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco de saquinavir (L/h).

**Cl<sub>ise</sub>**: aclaramiento plasmático intrínseco en enterocito debido a un proceso de secreción (L/h).

**CMA**: Concentración máxima de fármaco que puede unirse a una proteína plasmática ( $CMA=QMA/Vc$ ), (mg/L o mmoles/L).

**CMR**: concentración de ritonavir capaz de unirse a proteína plasmática (mg/L). Cuando ambos fármacos se unen a la misma proteína plasmática (expresión utilizada en los modelos de interacción).

**CMS**: concentración de saquinavir capaz de unirse a proteína plasmática (mg/L). Cuando ambos fármacos se unen a la misma proteína plasmática (expresión utilizada en los modelos de interacción).

**C<sub>p</sub>**: concentración plasmática de fármaco total (mg/L o mmol/L).

**C<sub>p<sub>exp</sub></sub>**: concentración plasmática experimental (mg/L o mmol/L).

**C<sub>p<sub>pred</sub></sub>**: concentración plasmática individual predicha (mg/L o mmol/L).

**C<sub>p<sub>predpobl</sub></sub>**: concentración plasmática predicha poblacional (mg/L o mmol/L).

**Cre**: concentración de ritonavir a la que entra el fármaco desde el lumen, previa al efecto de primer paso ( $(K_a \cdot A)/Q_e$ ).

**Cu**: concentración plasmática de fármaco libre, no unido a proteínas plasmáticas (mg/L o mmol/L).

**D<sub>i</sub>**: duración (h) de la entrada del fármaco siguiendo una cinética de orden cero, siendo *i* el compartimento al que accede el fármaco.

**E<sub>E</sub>**: tasa de extracción intestinal total.

**E<sub>h</sub>**: tasa de extracción hepática.

**E<sub>me</sub>**: tasa de extracción intestinal debido a un proceso metabólico.

**E<sub>se</sub>**: tasa de extracción intestinal debido a un proceso de secreción.

**F**: biodisponibilidad.

**F<sub>E</sub>**: fracción de fármaco que escapa de la extracción intestinal.

**F<sub>h</sub>**: fracción de fármaco que escapa de la extracción hepática.

**F<sub>i</sub>**: biodisponibilidad oral o IP, siendo *i* el compartimento al que accede el fármaco en primer lugar.

**FIX**: se fija un parámetro a un valor.

**F<sub>me</sub>**: fracción de fármaco que escapa del proceso metabólico intestinal.

**FMO**: función mínima objetivo.

**Fraci** ó **FRi**: fracción de la dosis de fármaco que precipita tras la administración IP, para el grupo *i*.

**F<sub>se</sub>**: fracción de fármaco que escapa del proceso de secreción intestinal.

- F<sub>XG<sub>i</sub></sub>**: factor que multiplica de forma empírica el valor de un parámetro  $X$ , para un grupo determinado,  $G_i$ .
- G1**: grupo 1, administración de 48 mg de saquinavir en perfusión intravenosa.
- G10**: grupo 10, administración de 24 mg de saquinavir y 6 mg de ritonavir, por vía oral.
- G11**: grupo 11, administración de 3 mg de ritonavir por bolus intravenoso.
- G12**: grupo 12, administración de 4,6 mg de ritonavir por vía oral.
- G2**: grupo 2, administración de 24 mg de saquinavir en bolus intravenoso.
- G3**: grupo 3, administración de 12 mg de saquinavir en bolus intravenoso.
- G4**: grupo 4, administración de 48 mg de saquinavir vía oral.
- G5**: grupo 5, administración de 24 mg de saquinavir vía oral.
- G6**: grupo 6, administración de 12 mg de saquinavir vía oral.
- G7**: grupo 7, administración de 24 mg de saquinavir vía intraperitoneal.
- G8**: grupo 8, administración de 12 mg de saquinavir vía intraperitoneal.
- G9**: grupo 9, administración de 24 mg de saquinavir y 6 mg de ritonavir, en perfusión intravenosa.
- IIV**: variabilidad interindividual.
- IP**: inhibidor de proteasa.
- K01, Ka**: constante de absorción oral de orden uno ( $h^{-1}$ ).
- K10, Kel**: constante de eliminación de primer orden ( $h^{-1}$ ).
- K12**: constante de transferencia del compartimento central al periférico ( $h^{-1}$ ).
- K13**: constante de transferencia del compartimento central a un segundo periférico ( $h^{-1}$ ).
- K21**: constante de transferencia del compartimento periférico al central ( $h^{-1}$ ).
- K31**: constante de transferencia de un segundo compartimento periférico al central ( $h^{-1}$ ).
- K<sub>AIP</sub>**: constante de absorción IP de orden uno ( $h^{-1}$ ).
- Kb**: constante cinética de unión a proteína plasmática ( $M^{-1} \cdot h^{-1}$  o bien  $L/mg \cdot h$ ).
- KD**: constante de disolución del fármaco ( $h^{-1}$ ).
- Km**: constante de Michaelis-Menten ( $mg/L$ ).
- K<sub>map</sub>**: constante de Michaelis-Menten aparente ( $mg/L$ ).
- K<sub>me</sub>**: constante de Michaelis-Menten de metabolismo en enterocito ( $mg/L$ ).
- K<sub>mrp</sub>**: constante de Michaelis-Menten aparente para el ritonavir ( $mg/L$ ).
- K<sub>msap</sub>**: constante de Michaelis-Menten aparente para el saquinavir ( $mg/L$ ).
- K<sub>m<sub>se</sub></sub>**: constante de Michaelis-Menten de secreción en enterocito ( $mg/L$ ).

- Ku**: constante cinética de desunión a proteína plasmática ( $h^{-1}$ ).
- MB**: mmoles de saquinavir unidos a una proteína plasmática (expresión utilizada en los modelos de interacción).
- MM**: Michaelis-Menten.
- MOF**: función mínima objetivo.
- MRB**: mmoles de ritonavir unidos a una proteína plasmática (expresión utilizada en los modelos de interacción).
- MVOF**: mínimo valor de la función objetivo.
- NNRTI**: inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos.
- NRTI**: inhibidores de la transcriptasa inversa nucleosídicos.
- PK**: farmacocinético.
- PMs/r**: peso molecular del saquinavir o ritonavir.
- P-PK híbrido**: modelo fisiológico- farmacocinético híbrido.
- Q**: flujo (L/h).
- Qah**: flujo arteriohepático (L/h).
- Qe**: flujo mesentérico (L/h).
- Qh**: flujo hepático (L/h).
- QM**: capacidad disponible de unión a una proteína plasmática para ambos fármacos en mmoles (expresión utilizada en los modelos de interacción).
- QMA**: Cantidad máxima de fármaco que puede unirse a una proteína plasmática (mg o mmoles).
- Rb**: cociente entre la concentración de fármaco en sangre y la concentración plasmática.
- RES**: residuales experimentales.
- Restring.**: parámetro restringido, se fija a un valor.
- R<sub>i</sub>**: velocidad (mg/h) de la entrada del fármaco siguiendo una cinética de orden cero, siendo *i* el compartimento al que accede el fármaco.
- RTV**: ritonavir
- SQV**: saquinavir
- TARGA (HAART)**: tratamiento antirretroviral altamente activo.
- Tid**: *ter in die*. (Cada 8 h)
- USI**: término utilizado para referirse a la canulación del intestino delgado por Sinko et al. (Sinko et al. 2004).
- Vc**: volumen de distribución de un fármaco en el compartimento central (L).
- Vcr**: volumen de distribución de ritonavir en el compartimento central (L).
- Vcs**: volumen de distribución de saquinavir en el compartimento central (L).
- Vdee**: Volumen de distribución en estado estacionario (L).
- Vm**: velocidad máxima a la que trabaja una enzima (mg/h o mmol/h).
- Vmi**: velocidad máxima intrínseca a la que trabaja una enzima (mmol/h).

**V<sub>mir</sub>**: velocidad máxima intrínseca a la que trabaja una enzima para el ritonavir (mg/h)

**V<sub>mis</sub>**: velocidad máxima intrínseca a la que trabaja una enzima para el saquinavir (mg/h).

**WRES**: residuales experimentales ponderados.

## NOMENCLATURA DE MODELOS

La nomenclatura utilizada en esta Memoria para describir los modelos es específica y está restringida al ámbito de este trabajo.

**IV012**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Empírico)

Bicompartmental clásico (BC). Considera un aclaramiento y un volumen de distribución distinto para cada grupo administrado (grupos 1, 2, 3 y 9).

**IV013**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

Bicompartmental (BC) con cinética de eliminación de Michaelis-Menten (MM). Estructura 1 (*figura 4.9*).

**IV017**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

BC con cinética de eliminación combinada de primer orden y de MM. Estructura 2 (*figura 4.9*). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IV027**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

Tricompartmental (TC) con cinética de eliminación de MM. Estructura 5 (*figura 4.9*).

**IV034**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central. Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IV038**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

TC con cinética de eliminación de MM desde un compartimento periférico (P<sub>2</sub>). Emulando un proceso de efflux desde el hepatocito. Estructura 6 (*figura 4.9*).

**IV040**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de primer orden. Estructura 3 (*figura 4.9*).

**IV041**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de MM. Estructura 4 (*figura 4.9*).

**IV048**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (Mecanicista)

TC con unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central. Estructura 7 (*figura 4.9*).

**IV054**: Modelo PK intravenoso de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde un compartimento distinto al periférico, que emula que es el hígado. (**Proceso de**

**retroalimentación).** Estructura 8 (figura 4.9). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IV060:** Modelo PK intravenoso de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde un compartimento que emula el enterocito, siendo la eliminación desde hígado despreciable. Refleja la circulación esplénica. (**Proceso de retroalimentación**). Estructura 9 (figura 4.9). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IP016:** Modelo PK intraperitoneal de saquinavir (Mecanicista)

Absorción con cinética de primer orden. Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central. Estructura 1 (figura 4.10). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IP017:** Modelo PK intraperitoneal de saquinavir (Mecanicista)

Absorción con cinética de orden cero. Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central. Estructura 2 (figura 4.10). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IP018:** Modelo PK intraperitoneal de saquinavir (Mecanicista)

Disolución como factor limitativo de la absorción absorción. Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central. Estructura 3 (figura 4.10). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IP035: :** Modelo PK intraperitoneal de saquinavir (Mecanicista)

Disolución como factor limitativo de la absorción IP, considerando una fracción de la dosis de fármaco que precipita (FR8 para el grupo 8 y FR7 para el grupo 7 ( $FR7=(FR8+1)/2$ ) y se disuelve con una velocidad de disolución regida por una constante cinética distinta para cada grupo. La biodisponibilidad se considera del 100%. Además considera unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central (como en el modelo IV034). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**IP052:** Modelo PK intraperitoneal de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Disolución como factor limitativo de la absorción IP, junto con cinética de eliminación de MM en hígado e intestino (considera el metabolismo de primer paso hepático e intestinal y refleja la circulación esplénica) y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. (**Proceso de retroalimentación**). Estructura 4 (figura 4.10). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**o030:** Modelo PK oral de saquinavir (Mecanicista)

Dos compartimentos de tránsito intestinal con cinética de absorción de primer orden, junto con un proceso de secreción intestinal desde un compartimento que representa un espacio hepato-portal (hepatocito, enterocito y vena porta), a la vez que un proceso de cinética de eliminación de MM desde este mismo compartimento.

Además considera disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 5 (figura 4.10). Lleva un factor empírico multiplicando a la Km del grupo 9.

**o037:** Modelo PK oral de saquinavir (Mecanicista)

Compartimento hepatocito y enterocito, se considera una cinética de eliminación de MM desde el hepatocito y un proceso de secreción intestinal desde el compartimento enterocito

a uno de los dos compartimentos de tránsito intestinal, el fármaco se absorbe desde estos dos compartimentos con cinética de orden uno.

Además considera disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 6 (*figura 4.10*). Lleva un factor empírico multiplicando a la  $K_m$  del grupo 9.

**o049:** Modelo PK oral de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Considera cinéticas de eliminación de MM desde hepatocito y enterocito, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal. Refleja la circulación esplénica.

Además considera disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 7 (*figura 4.10*). Lleva un factor empírico multiplicando a la  $K_m$  del grupo 9.

**o055:** Modelo PK oral de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Las mismas consideraciones que en el modelo o049, pero considera que las constantes de absorción son distintas en cada uno de los compartimentos de tránsito intestinal. Por tanto su estructura es similar a la 7 (*figura 4.10*). Lleva un factor empírico multiplicando a la  $K_m$  del grupo 9.

**o055f:** Modelo PK oral de saquinavir (**P-PK híbrido**)

Las mismas consideraciones que el o055, poniendo de estimas iniciales los parámetros finales de éste último. Añadiendo los datos experimentales correspondientes al grupo 10, por lo que además del factor empírico que se consideraba afectaba a la  $K_m$  para el grupo 9, está el que afecta a la  $K_m$  para el grupo 10. Por tanto su estructura es similar a la 7 (*figura 4.10*). Lleva un factor empírico multiplicando a la  $K_m$  del grupo 9 y 10.

**RO009:** Modelo PK oral de ritonavir (Empírico)

Bicompartmental clásico (BC) con absorción con cinética de orden uno y biodisponibilidad del 100%. Considera un aclaramiento distinto para el grupo 11 y 12, y el mismo para los grupos 9 y 10.

**RO018:** Modelo PK oral de ritonavir (Empírico)

Bicompartmental clásico (BC) con absorción con cinética de orden uno y biodisponibilidad del 100%. Considera un aclaramiento distinto para el grupo 11 y 12, y el mismo para los grupos 9 y 10. Además considera una  $K_{12}$  diferente para cada grupo administrado (grupos 9, 10, 11 y 12).

**RO021:** Modelo PK de ritonavir (Mecanicista)

Absorción con cinética de primer orden, unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de primer orden. Estructura 1 (*figura 4.11*).

**RO024:** Modelo PK de ritonavir (Mecanicista)

Absorción con cinética de primer orden, unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de MM desde el compartimento central. Estructura 2 (*figura 4.11*).

**RO027:** Modelo PK de ritonavir (Mecanicista)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (se itera la velocidad a la que entra el fármaco). Cinética de eliminación de MM desde central y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 3 (*figura 4.11*). Lleva un factor empírico multiplicando a la  $K_m$  del grupo 9 y 10.

**RO043:** Modelo PK de ritonavir (Mecanicista)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción, se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de MM desde central y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 4 (*figura 4.11*).

**RO068:** Modelo PK de ritonavir (**P-PK híbrido**)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción, se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de MM desde central editado con expresiones fisiológicas y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 5 (*figura 4.11*). Lleva un factor empírico multiplicando a la QMA del grupo 9 y 10.

**RO076:** Modelo PK de ritonavir (**P-PK híbrido**)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción, se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de orden uno desde central editado con expresiones fisiológicas y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Similar a la estructura 5 (*figura 4.11*), pero cambia la cinética de eliminación. Lleva un factor empírico multiplicando a la QMA del grupo 9 y 10.

**RO080:** Modelo PK de ritonavir (**P-PK híbrido**)

Cinética de eliminación de MM en hepatocito y enterocito, y una cinética de absorción de orden uno, desde un compartimento de tránsito intestinal, limitada por una cinética de orden cero (en la que se itera la duración de la entrada de fármaco, siendo distinta para los dos grupos orales). Refleja la circulación esplénica. Además considera una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas. Estructura 6 (*figura 4.11*).

**RO085:** Modelo PK de ritonavir (**P-PK híbrido**)

Situación similar al caso anterior (RO080), pero aquí se consideran dos compartimentos de tránsito intestinal y se añade un proceso de secreción intestinal desde el enterocito a uno de estos. Estructura 7 (*figura 4.11*).

**SR055:** Modelo de interacción. Estructura 2 (*figura 4.12*).

**Ritonavir:** Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (dónde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de MM desde compartimento hepatocito y enterocito, editado con expresiones fisiológicas y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas.

**Saquinavir:**

Cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal.

Disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas.

**Interacción:**

- Desplazamiento por unión a proteínas plasmáticas: misma QMA para ambos fármacos.

- Competencia por la enzima encargada del metabolismo:

En primer lugar, en el hepatocito la Km del saquinavir se ve afectada por la K<sub>mr</sub> del ritonavir, así como por la concentración de ritonavir en este compartimento (C<sub>13</sub>) y lo

mismo ocurre en enterocito, siendo la concentración de ritonavir de este compartimento la que afecta en este caso ( $C_{14}$ ).

Las mismas consideraciones se tienen en cuenta para el ritonavir.

**SR059:** Modelo de interacción. Estructura 1 (*figura 4.12*).

**Ritonavir:**

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (dónde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de Michaelis-Menten (MM) desde central editado con expresiones fisiológicas y unión a proteínas plasmáticas.

**Saquinavir:**

Cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal.

Disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a dos proteínas plasmáticas.

**Interacción:**

- Desplazamiento por unión a proteínas plasmáticas: misma QMA para ambos fármacos en la unión una de las proteínas plasmáticas.

- Competencia por la enzima encargada del metabolismo:

En primer lugar, la  $K_m$  del saquinavir está afectada por la  $K_{mr}$  del ritonavir a nivel intestinal y hepático, así como por la concentración libre de ritonavir Cur y la concentración Cre de ritonavir (definida en el epígrafe anterior).

Mientras que la  $K_{mr}$  del ritonavir puede verse afectada por la  $K_m$  del saquinavir y la concentración de saquinavir en hepatocito (otros modelos han considerado la concentración de enterocito).

**REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA:**

Sinko, P. J., J. R. Kunta, et al. (2004). "Differentiation of gut and hepatic first pass metabolism and secretion of saquinavir in ported rabbits." *J Pharmacol Exp Ther* **310**(1): 359-66.



# *1 Introducción*

---

En 1983 el virus de la inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-1) se identificó como el agente causal del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Barre-Sinoussi et al. 1983; Broder et al. 1984; Gallo et al. 1984), infectando en la actualidad a más de 40 millones de personas (UNAIDS 2004). Desde su descubrimiento han transcurrido casi 25 años, en los que la infección ha pasado de ser una enfermedad mortal a considerarse una enfermedad crónica. El desarrollo de la terapia antirretroviral ha contribuido a este cambio, ya que ha supuesto uno de los mayores avances científicos en la historia de la medicina.

La introducción, en 1995, de fármacos inhibidores de la proteasa (IP) e inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (NNRTI) en la farmacoterapia antirretroviral, dio paso al tratamiento antirretroviral altamente activo (TARGA o HAART) que consiguió disminuir considerablemente la morbimortalidad de la enfermedad, reduciendo la incidencia de infecciones oportunistas, tumores y muertes. No obstante, en estos momentos conseguir la erradicación total del virus es aún una utopía, ya que el VIH permanece latente en las células infectadas, que actúan como reservorios incluso después de largos periodos de supresión (Saksena et al. 2003; Strain et al. 2003).

En la actualidad, para el tratamiento de la infección por VIH, se dispone de cuatro clases de agentes antirretrovirales: los análogos de nucleósidos y nucleótidos (NRTI), los NNRTI, los IP y los inhibidores de

fusión con el enfuvirtide (T-20) como prototipo, que se introdujo en marzo de 2003.

Numerosos estudios sobre la eficacia del HAART han puesto de manifiesto que no existe un esquema terapéutico único eficaz, y que éste se debe adaptar a las necesidades de cada individuo. Por ello, se han establecido numerosos esquemas HAART, entre ellos la asociación de dos análogos de nucleósidos con un IP (a su vez potenciado por otro IP o no), un NNRTI o un tercer análogo de nucleósido.

La introducción del esquema HAART ha supuesto una mejora en la calidad de vida del paciente así como en su supervivencia, pero sus principales inconvenientes se relacionan con la toxicidad, aparición de resistencias, falta de adherencia al tratamiento por parte del paciente (Mannheimer et al. 2002; Turner 2002; Lucas 2005) y el elevado coste de las terapias antirretrovirales.

El trabajo que se presenta en esta Memoria se centra en el estudio de dos fármacos que pertenecen al grupo de los IP, el saquinavir y el ritonavir. Los IP suponen un componente esencial en el HAART, cuya eficacia en la recuperación de pacientes con fracaso terapéutico ha sido de sobra demostrada (Hall et al. 1999; Corbett et al. 2004). Entre los inconvenientes que plantea su uso destaca la biodisponibilidad oral irregular, que conduce a una gran variabilidad en la respuesta terapéutica (Guiard-Schmid et al. 2003; Plosker et al. 2003). Además, presentan numerosas interacciones con sustancias de diversa naturaleza, ya que son sustratos de sistemas metabólicos, como el citocromo P450, y de secreción intestinal, como la

glicoproteína-P (gp-P) y el sistema MRP (Hsu et al. 1998; Mouly et al. 2004; Park et al. 2005).

Entre los IP, el ritonavir se caracteriza por ser un potente inhibidor de la isoenzima 3A4 del citocromo P450, lo que le confiere la cualidad de mejorar la biodisponibilidad oral de otros IP cuando se coadministran con él. El saquinavir posee una baja biodisponibilidad oral que se incrementa cuando se administra junto con ritonavir, en los llamados esquemas potenciados (Plosker et al. 2003). El refuerzo o potenciación entre los IP también permite disminuir las resistencias y mejorar la adherencia a los tratamientos, dado que reduce el número de tomas diarias. En consecuencia, el uso de los IP está sufriendo un renacimiento en la farmacoterapia antirretroviral, e incluso se está investigando la posibilidad de usar regímenes de IP sólo.



## 2 *Objetivos del trabajo*

---

Los regímenes de IP potenciados están recomendados como una opción de primera línea en el tratamiento actual de la infección por VIH. La combinación de saquinavir/ritonavir es una de las más interesantes, debido a la baja y errática biodisponibilidad de saquinavir. A pesar de que la interacción entre estos dos fármacos ya ha sido puesta de manifiesto en estudios previos, hasta la fecha, los papeles que juegan el hígado y el intestino en el metabolismo de primer paso de estos fármacos no están del todo esclarecidos.

En base a los aspectos descritos, la Memoria de Tesis Doctoral planteada trata de profundizar en la Farmacocinética del saquinavir y ritonavir, utilizando un modelo animal en rata. Para ello, los objetivos fijados han sido:

1. Evaluar la linealidad cinética en los procesos del LADME del saquinavir, después de la administración de diferentes dosis del fármaco por vía intravenosa, oral e intraperitoneal.
2. Calcular la biodisponibilidad oral e intraperitoneal del saquinavir y describir la importancia y localización del metabolismo de primer paso de saquinavir, tras su administración por vía intraperitoneal y oral.

3. Describir en términos farmacocinéticos las posibles interacciones entre saquinavir y ritonavir, cuando se administran en combinación.

Como objetivos secundarios:

1. Desarrollar un modelo farmacocinético estructural para el saquinavir y ritonavir, evaluando *in vivo* los procesos involucrados en su comportamiento farmacocinético, mediante una aproximación poblacional, cuando se administran sólo o en combinación por las distintas vías.
2. Estimar los valores típicos y las variabilidades interindividuales de los parámetros farmacocinéticos.

## **3    *Antecedentes***

---

### ***3.1 Agentes causales del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida***

Desde 1983 es conocido que los agentes causales del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) son el VIH-1 y el VIH-2, siendo este primero la principal causa de SIDA en el mundo.

El VIH-1 es un retrovirus de la familia de los lentivirus. Familia que se caracteriza por largos periodos de latencia clínica, cursos crónicos de enfermedad, replicación viral persistente y por involucrar al sistema nervioso central.

#### **3.1.1 Estructura**

Las partículas virales del VIH-1 presentan un diámetro de 100nm y se encuentran rodeadas por una membrana lipoprotéica. La partícula viral se compone de 72 complejos glucoprotéicos, integrados en la membrana lipídica y cada uno de ellos está formado por trímeros de una glucoproteína externa, gp120 y una proteína transmembrana, gp41. La unión entre estas dos proteínas es débil y puede deshacerse en el ambiente de forma espontánea. La glicoproteína gp120 puede detectarse en suero y en tejido linfático de pacientes infectados (Oh et al. 1992; Sunila et al. 1997). Durante el proceso de liberación, el virus es capaz de incorporar diferentes proteínas de la célula huésped, a su membrana lipoprotéica, tales como proteínas de adhesión (ICAM-1) o antígenos leucocitarios humanos (HLA clase I y II); esto facilita su posterior adhesión a nuevas células diana.

También encontramos otras proteínas, como: la p17, proteína de matriz que se encuentra anclada en la membrana lipoproteica viral y el antígeno p24 que contiene dos copias de ARN vírico dentro de la cápside. A su vez, este ARN forma parte de un complejo proteína-ácido nucleico, compuesto por la nucleoproteína p7 y la transcriptasa inversa p66 (TR). La partícula viral está dotada de todo el conjunto enzimático necesario para la replicación: una transcriptasa inversa (TR), una integrasa p32 y una proteasa p11 (Figura 3.1).

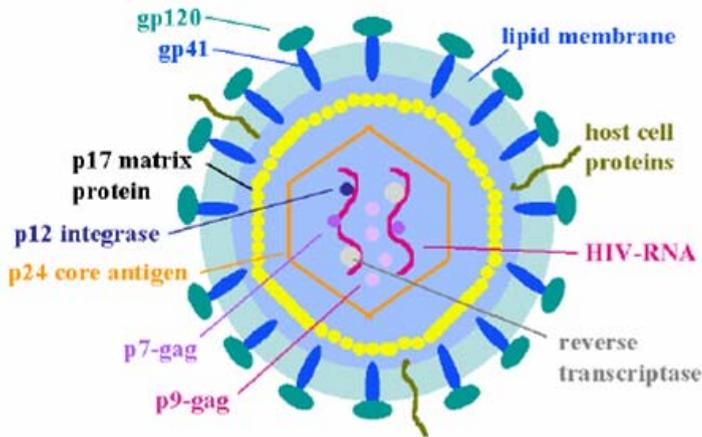


Figura 3.1. Estructura de una partícula viral o virión.

### 3.1.2 Genoma viral

Los genes *gag*, *pol* y *env*, son los responsables de la replicación de los virus competentes. *Gag* significa antígeno de grupo, *pol* se refiere a la polimerasa y *env* proviene de envoltura. El esquema clásico de un genoma retroviral se representa como: 5'LTR-gag-pol-env-LTR 3'. Las regiones LTR son las siglas en inglés de las “terminaciones largas repetidas”, y representan dos porciones terminales del genoma viral que se unen al ADN

de la célula huésped tras la integración, y no codifican ninguna proteína. Mientras que los genes *gag* y *env*, codifican la nucleocápside y las glicoproteínas de membrana; el gen *pol* codifica la transcriptasa inversa y otras enzimas. Además, el VIH-1 contiene, en su RNA seis genes que contribuyen a su complejidad genética ( *vif*, *vpu*, *vpr*, *tat*, *rev* y *nef*). En un principio, *nef*, *vif*, *vpr* y *vpu*, se clasificaron como genes accesorios, ya que no son estrictamente necesarios para la replicación *in vitro*. Sin embargo, en los últimos años, se ha profundizado en la regulación y función de estos genes y se han caracterizado con mayor detalle sus proteínas, viendo que también son relevantes en la replicación viral (Peter 1998; Wei et al. 1998; Mariani et al. 2003).

## **3.2 Tratamiento del SIDA**

### **3.2.1 Perspectivas**

La terapia antirretroviral ha manifestado una rápida evolución desde sus comienzos en los años 80. Los primeros fármacos que se desarrollaron fueron los análogos de nucleósidos, también conocidos como nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa (NRTI), utilizados, inicialmente, en monoterapia (Fischl et al. 1990; Volberding et al. 1990). Ulteriormente, tras los estudios DELTA y ACGT 175 (1996; Hammer et al. 1996), la terapia combinada de dos análogos de nucleósidos tomó mayor relevancia (Carpenter et al. 1996). Coincidiendo en el tiempo, aparecen los primeros resultados de los ensayos clínicos realizados con los inhibidores de proteasa (IP), que ponen de manifiesto su eficacia y dejan una nueva vía de estudio. Más tarde, surge la terapia triple combinada de dos análogos de nucleósidos junto con un IP como la mejor opción para combatir el VIH-1, naciendo así

el tratamiento antirretroviral altamente activo o HAART (Gulick et al. 1997; Hammer et al. 1997; Mocroft et al. 1998; Palella et al. 1998). De la misma manera, en 1996 surgen los primeros NNRTI, vistos escépticamente en un principio, por su limitada actividad y un perfil de resistencias problemático. Estudios realizados posteriormente, han permitido demostrar su actividad inmunológica y virológica cuando se combinan con los análogos de nucleósidos (Staszewski et al. 1999; Mannheimer et al. 2002; Robbins et al. 2003). En la actualidad, han adquirido importancia en los tratamientos HAART, aunque su efecto clínico no ha sido probado todavía, ya que los estudios que llevaron a la aprobación de los NNRTI en el mercado se basaron en el uso de marcadores secundarios.

Actualmente, no existen estudios randomizados y a largo plazo que comparen la eficacia clínica de los tratamientos con IP versus los tratamientos con NNRTI. En pacientes previamente tratados con NRTI, se han realizado comparaciones indirectas que parecen demostrar que las combinaciones triples con IP son mejores, en cuanto a eficacia, que las que utilizan NNRTI (Yazdanpanah et al. 2004).

En el mercado se encuentran disponibles cuatro clases de antirretrovirales: NRTI, NNRTI, PI y los inhibidores de fusión, cuyo prototipo es el T-20. Existen 20 productos licenciados, que incluyen agentes antirretrovirales considerados individualmente o en combinación. La investigación, en los próximos años, se centrará en el desarrollo de nuevos fármacos, así como en las estrategias inmunomoduladoras mediante el desarrollo de vacunas y citoquinas (interferones, interleuquinas).

En el *cuadro 3.1* se exponen los fármacos antirretrovirales disponibles, actualmente, en el mercado.

| <b>Análogos nucleósidos y nucleótidos de la transcriptasa inversa (NRTI)</b> |                    |                         |                      |
|--|--------------------|-------------------------|----------------------|
| <i>Nombre comercial</i>  | <i>Abreviatura</i> | <i>Agente activo</i>    | <i>Laboratorio</i>   |
| Combivir®  | CBV                | AZT+3TC                 | GSK                  |
| Emtriva®   | FTC                | Emtricitabina           | Gilead               |
| Epivir®  | 3TC                | Lamivudina              | GSK                  |
| Hivid®   | ddC                | Zalcitabina             | Roche                |
| Kivexa®  |                    | 3TC+ABC                 |                      |
| Retrovir®  | AZT                | Zidovudina              | GSK                  |
| Trizivir®  | TZV                | AZT+3TC+ABC             | GSK                  |
| Truvada®   |                    | FTC+TDF                 | Gilead               |
| Videx®   | ddl                | Didanosina              | BMS                  |
| Viread®  | TDF                | Tenofovir               | Gilead               |
| Zerit®   | D4T                | ESTavudina              | BMAS                 |
| Ziagen®  | ABC                | Abacavir                | GSK                  |
| <b>Inhibidores no- nucleósidos de la transcriptasa inversa (NNRTI)</b>       |                    |                         |                      |
| Rescriptor®  | DLV                | Delavirdine             | Pfizer               |
| Sustiva®   | EFV                | Efavirenz               | BMS                  |
| Viramune®  | NVP                | Nevirapine              | Boehringer Ingelheim |
| <b>Inhibidores de proteasas (Ip)</b>   |                    |                         |                      |
| Agenerase®   | APV                | Amprenavir              | GSK                  |
| Crixivan®  | IDV                | Indinavir               | MSD                  |
| Fortovase®   | SQV-FTV            | Saquinavir cáps.blandas | Roche                |
| Invitase®  | SQV-INV            | Saquinavir cáps.duras   | Roche                |
| Kaletra®   | LPV/RTV            | Lopinavir/ Ritonavir    | Abbot                |
| Lexiva®  | FPV                | Fosamprenavir           | GSK                  |
| Norvir®  | RTV                | Ritonavir               | Abbot                |
| Reyataz®   | ATV                | Atazanavir              | BMS                  |
| Viracept®  | NFV                | Nelfinavir              | Roche                |
| <b>Inhibidores de fusión</b>   |                    |                         |                      |
| Fuzeon®  | T-20               | Enfuvirtide             | Roche                |

**Cuadro 3.1.** Fármacos disponibles en el mercado en el 2006.

## 3.2.2 Inhibidores de la proteasa

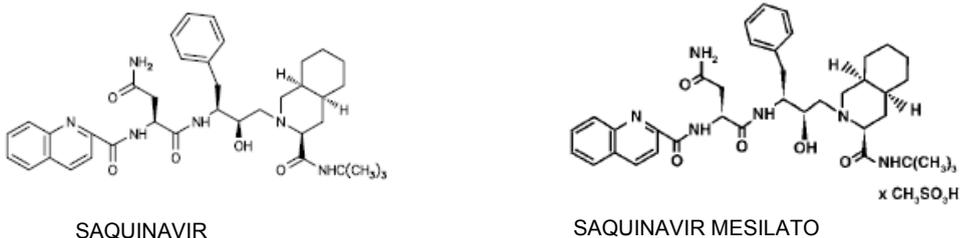
### 3.2.2.1 Mecanismo de acción

La actividad de la proteasa del VIH-1 es esencial en la maduración de las partículas virales infectantes. Cuando el virus entra en la célula, su ARN se transforma en ADN gracias a la acción de la transcriptasa inversa. A continuación, el ADN viral se integra en el genoma de la célula hospedadora y, finalmente, es transcrito y traducido por enzimas celulares,

produciendo poliproteínas. Estas poliproteínas se ensamblan y empaquetan en la superficie de la célula, dando lugar a partículas virales inmaduras que se liberan. Es entonces cuando la proteasa del virus actúa, cortando los enlaces virales de las poliproteínas gag-pol en pequeñas subunidades funcionales, lo que induce a la maduración de la partícula viral. La proteasa del virus es de naturaleza enzimática y puede ser inhibida competitivamente por los inhibidores de proteasa. Estos evitan el corte y, por tanto, la maduración de las partículas virales, provocando la liberación de partículas virales inmaduras incapaces de infectar nuevas células (Deeks et al. 1997; Eron 2000).

### 3.2.2.2 Estructura y propiedades físico-químicas

El **saquinavir** fue el primer inhibidor de la proteasa del VIH que fue autorizado, y actualmente se encuentran distintas formulaciones comercializadas como saquinavir (Fortovase®) y saquinavir mesilato (Invirase®) (La Roche Lab). La fórmula química del saquinavir es N-ter-butil-decahidro-2-[2(R)-hidroxi-4-fenil-3(S)-[[N-(2-quinolilcarbonil)-L-asparaginil]amino]butil]- (4aS,8aS)-isoquinolina-3(S)-carboxamida, cuya fórmula molecular es  $C_{38}H_{50}N_6O_5$  y su peso molecular 670,86. Su estructura química se presenta en la *figura 3.2*.

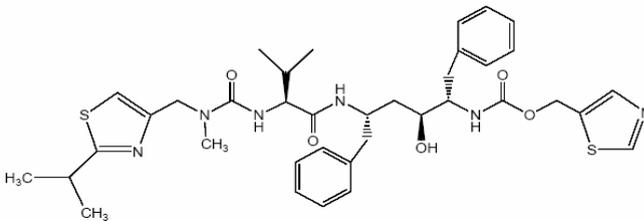


**Figura 3.2.** Estructura molecular del saquinavir y del saquinavir mesilato.

El saquinavir es un polvo blanco grisáceo, insoluble en agua a 25 °C, mientras que el saquinavir mesilato ( $\log P_{oct} = 5,2$ ) presenta una hidrosolubilidad de 2,22 mg/mL a 25 °C, siendo ésta dependiente del pH: agua purificada a pH 7,4 (36  $\mu\text{g/mL}$ ), pH 6,5 (73  $\mu\text{g/mL}$ ) (Williams et al. 1999).

El **ritonavir** es un inhibidor peptidomimético de la proteasa del VIH. Su fórmula química corresponde al 10-Hidroxi-2-metil-5-[1-metiletil]-1-(2-(1-metiletil)-4-tiazolil)-3,6-dioxo-8,11-bis(fenilmetil)-2,4,7,12-tetraazatridecan-13-ácido oico, 5-tiazolilmetil ester, [5S-(5R\*,8R\*,10R\*,11R\*)]. En la *figura 3.3* se muestra su estructura química.

Su fórmula molecular es  $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}_2$  y presenta un peso molecular de 720,95.



**Figura 3.3.** Estructura del ritonavir.

El ritonavir es un polvo blanco ligeramente amarillento. Posee un gusto metálico amargo. Es muy soluble en metanol y etanol, soluble en isopropanol y prácticamente insoluble en agua. Es muy lipofílico ( $\log P_{oct} = 5,2$ ). Presenta una solubilidad dependiente del pH: agua purificada a pH 7,4 (5,3  $\mu\text{g/mL}$ ), pH 4 (6,9  $\mu\text{g/mL}$ ) (Williams et al. 1999). Se conocen cinco formas polimórficas del ritonavir que condicionan su solubilidad (Morissette et al. 2003).

En los fármacos que se absorben por transporte pasivo, se suele observar una mayor permeabilidad aparente a medida que aumenta la lipofilia del fármaco. Sin embargo en el caso de los IP, en general, la permeabilidad aparente ( $P_{app}$ ) es menor de las que cabría esperar de su elevada lipofilia. El saquinavir y ritonavir presentan una  $P_{app}$  de  $1,5 \cdot 10^{-6}$  y  $3,5 \cdot 10^{-6}$  (cm/s), respectivamente, en monocapas de células de carcinoma de colón humano (Caco-2), cuando en el compartimento dador se ensayan concentraciones comprendidas entre 10-200  $\mu$ M (Williams et al. 1999).

### 3.2.2.3 Formulaciones comercializadas

El **saquinavir** se presenta comercializado, desde 1995, en forma de cápsulas duras Invirase® con una dosis de 200 mg de saquinavir mesilato (La Roche Lab.). En 1997, una segunda formulación, las cápsulas blandas Fortovase® con una dosis de 200mg de saquinavir (La Roche Lab.), fue aprobada. Éstas últimas surgieron con objeto de mejorar la baja biodisponibilidad oral que presentaban las cápsulas duras. Recientemente, se ha comercializado una nueva formulación de comprimidos de Invirase®, que contienen una dosis de 500mg de saquinavir mesilato. Ésta se administra simultáneamente con dosis bajas de ritonavir, de forma que la biodisponibilidad oral del saquinavir mejora, permitiendo reducir el número de tomas diarias a 4 comprimidos b.i.d y mejora la tolerabilidad respecto a las otras dos formulaciones, de ahí que se haya convertido en la formulación de preferencia (Kurowski et al. 2003; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005). En consecuencia, Laboratorios La Roche ha dejado de fabricar el Fortovase® en febrero de 2006.

Las cápsulas duras y los comprimidos de Invirase® se deben mantener a una temperatura de 25°C, herméticamente cerrados en el embalaje original hasta su dispensación. Poseen un periodo de validez de dos años (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005)

El **ritonavir** se presenta comercializado con el nombre de Norvir® (Abbott Lab.), en forma de cápsulas blandas de gelatina, con una dosis de 100mg. También se dispensa como solución oral, a una concentración de 80 mg/mL de ritonavir.

Se recomienda almacenar las cápsulas blandas de ritonavir en frigorífico, a una temperatura entre 2 y 8 °C hasta el momento de su dispensación. Durante el tratamiento farmacológico pueden permanecer hasta 30 días a menos de 25 °C. Se deben proteger de la luz y preservar de la congelación y de temperaturas elevadas. Presentan un periodo de validez de dos años.

La solución oral se debe almacenar a temperatura ambiente (20-25 °C) y nunca refrigerada. Se debe evitar su exposición a temperaturas elevadas y agitar antes de administrar. Su periodo de validez es de seis meses.

Ambos productos se deben mantener en su frasco original (Abbott Laboratories 2005; F.D.A. 2005)

### 3.2.2.4 Propiedades farmacocinéticas

#### 3.2.2.4.1 *Absorción*

El **saquinavir** se caracteriza por presentar una biodisponibilidad oral absoluta baja, de aproximadamente un 4% en humanos (Williams et al. 1999; Washington et al. 2000). Aunque la biodisponibilidad oral absoluta del **ritonavir** no se ha determinado en humanos, estudios realizados con animales parecen indicar una biodisponibilidad oral absoluta superior al 70% (Kempf et al. 1995; Flexner 1998; Hsu et al. 1998; Eron 2000).

La cantidad de **saquinavir** y **ritonavir** absorbida no es lineal con la dosis, sino que muestra incrementos más que proporcionales con ésta. Este hecho junto a la baja biodisponibilidad del saquinavir y elevada variabilidad de la biodisponibilidad oral de ambos fármacos, se puede atribuir a la coexistencia de una extracción hepática e intestinal considerables junto a una absorción errática, que al menos en el caso del ritonavir puede verse influida por procesos de absorción no lineales (Williams et al. 1999; Muñoz et al. 2005).

Cuando se administra el **saquinavir** en presencia de alimentos, su AUC aumenta alrededor del 670% respecto al AUC calculado en condiciones de ayuno. Este aumento parece ser debido al aumento de la solubilidad y absorción del fármaco, como consecuencia de la estimulación que ejercen los alimentos sobre la motilidad intestinal y la secreción de sales biliares. Este efecto persiste durante las dos horas posteriores a la ingesta (Williams et al. 1999; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

Por el contrario, cuando la solución oral de **ritonavir** se administra en presencia de alimentos, la concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ) disminuye un 23% y el área bajo la curva (*AUC*) un 7% respecto a los valores obtenidos cuando se administra en ayunas. La dilución de la

solución oral con 240 mL de leche chocolateada, Advera® o Ensure®, no modifica la absorción oral del ritonavir. Cuando se ingiere en forma de cápsulas, el *AUC* aumenta un 15% en presencia de alimento, mientras que la  $C_{\max}$  permanece inalterada. En comparación, la absorción de otros inhibidores de proteasa, como nelfinavir y tipranavir, mejora en presencia de alimentos, mientras que la del indinavir resulta sustancialmente reducida. Así pues, de acuerdo con la información disponible no se puede generalizar en el resultado de la influencia de la ingesta sobre la absorción de los fármacos IP (Cato III et al. 1996; Hsu et al. 1998; Abbott Laboratories 2005).

#### 3.2.2.4.2 *Distribución y unión a proteínas plasmáticas*

El **saquinavir** se une a proteínas plasmáticas en un 97%, principalmente a la  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, tendiendo hacia la saturación, y en menor grado a la albúmina. En la bibliografía se ha hecho constar que en situaciones patológicas en las que las concentraciones de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida se elevan, por ejemplo en individuos con niveles de linfocitos CD4 bajos, aumenta el porcentaje de unión del saquinavir a las proteínas plasmáticas, lo que conduce a una disminución del aclaramiento sistémico y del volumen de distribución. La unión del saquinavir a la  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida podría justificar al menos en parte, la variabilidad de sus parámetros farmacocinéticos (Holladay et al. 2001).

Se distribuye ampliamente en el organismo, siendo su volumen de distribución aparente ( $V_d$ ) en humanos de 700 L. La penetración del saquinavir en el sistema nervioso central (SNC) es mínima, probablemente por ser sustrato de sistemas de secreción y resistencia como la glicoproteína

Por sistemas MRP (Kim et al. 1998; Ronaldson et al. 2004; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

El **ritonavir** se une a las proteínas plasmáticas en un 98-99%. Posee gran afinidad por la albúmina, así como por la  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida (Kempf et al. 1995; Hsu et al. 1997; 2001; Abbott Laboratories 2005). La unión a estas proteínas no llega a saturarse en el ámbito terapéutico de concentraciones. Asimismo, la unión no se modifica en presencia de concentraciones terapéuticas de otros fármacos (ej. saquinavir) caracterizados por una amplia unión a las proteínas plasmáticas.

El ritonavir puede desplazar ligeramente la unión a las proteínas plasmáticas de otros fármacos. Estudios *in vitro* han demostrado que el ritonavir, a una concentración de 5mg/L, no altera la unión del saquinavir (1 y 5 mg/L) a las proteínas plasmáticas, mientras que el ritonavir 15 mg/L la disminuye levemente (de un 98,97 a 98,64%) (Hsu et al. 1998).

El volumen de distribución aparente ( $V_d$ ) en humanos es de 20-40 L.

Estudios en ratas han puesto de manifiesto que el valor del área bajo la curva de niveles plasmáticos ( $AUC$ ) y la semivida de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ ) en tejido linfático, uno de los principales lugares de replicación del VIH, se aproxima o supera al valor de estos parámetros en plasma. En este contexto, en humanos cabe esperar que las concentraciones en ambos tejidos sigan la misma secuencia (Kempf et al. 1995; Hsu et al. 1997).

La penetración del ritonavir en el SNC también es mínima (Martindale 2004). Las concentraciones de fármaco en el líquido cerebrospinal suelen ser inferiores a 0,05 mg/L. En pacientes tratados,

simultáneamente, con ritonavir y saquinavir, se han observado disminuciones de la carga viral en plasma y líquido cerebrospinal que evolucionan paralelamente, lo que sugiere que la concentración que alcanza en éste último es suficiente para ejercer su actividad antiviral (Cameron et al. 1999; Kravcik 2001). Del mismo modo, en pacientes tratados con ritonavir, zidovudina y lamivudina, se han observado disminuciones de carga viral en tejido linfático y plasma (Cavert et al. 1997).

#### 3.2.2.4.3 *Metabolismo*

El **saquinavir** sufre un importante metabolismo de primer paso intestinal y hepático, a cargo principalmente del citocromo P450 3A4, que ejerce su acción sobre un 90% del fármaco. El papel que juega el CYP3A5 en el metabolismo del saquinavir está siendo investigado (Mouly et al. 2004).

Los principales metabolitos del saquinavir son el M-2 y M-7, generados por procesos oxidativos. Otras isoenzimas como la CYP2A6, CYP2C9 y CYP4A1 también parecen estar implicadas en su metabolismo pero de forma menos significativa (Williams et al. 1999).

Estudios *in vitro* han demostrado que el metabolismo hepático del saquinavir se satura a concentraciones superiores a 2 µg/mL (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

El **ritonavir** manifiesta aumentos en su absorción más que proporcionales con la dosis, lo que puede justificarse, en parte, a la saturación del metabolismo de primer paso. En su biotransformación están implicadas, principalmente, las isoenzimas CYP3A y el CYP2D6. En

humanos, se han identificado hasta cinco metabolitos del ritonavir en orina y heces. Estudios realizados *in vivo* han puesto de manifiesto que el ritonavir induce la expresión del CYP3A4 en hígado e intestino (Geletko et al. 2000; Luo et al. 2002). El CYP3A constituye la isoforma predominante en humanos (Shimada et al. 1994; Hsu et al. 1998; Abbott Laboratories 2005).

En un estudio realizado con microsomas humanos, se ha demostrado que el ritonavir se metaboliza principalmente a cargo del citocromo P450 (CYP)3A, generando tres metabolitos oxidativos: el producto des-tiazolil carbamato (M1), el producto de oxidación isopropiltiazolil (M2) y el producto des-isopropiltiazolil (M11) (Hsu et al. 1997; Molla et al. 1998). De éstos, el M2 es el mayoritario, y posee cierta actividad antiviral, similar a la del ritonavir. Sin embargo, las concentraciones del metabolito en plasma son bajas (Martindale 2004).

En los microsomas de células linfoblásticas que expresan el CYP3A4, el proceso de degradación que conlleva la formación de M1, M2 y M11, se caracteriza por valores de la constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) de 0,06, 0,51 y 0,35 mg/L, respectivamente. Por otra parte, el CYP2D6 también está implicado en la formación de M2. En este caso el valor de la  $K_m$  ha sido de 7,2 mg/L (Molla et al. 1998).

Todos los IP son inhibidores del CYP3A, siendo el ritonavir el inhibidor más potente y el saquinavir el más débil (Eagling et al. 1997; Hsu et al. 1998; Luo et al. 2002).

A pesar de la variabilidad que puede implicar el metabolismo de estos fármacos, no parece ser responsable de la variabilidad que experimenta su biodisponibilidad oral (Williams et al. 1999).

#### 3.2.2.4.4 *Excreción*

Tanto el **saquinavir** como el **ritonavir** sufren eliminación hepatobiliar.

Tras la administración oral de 600 mg de 14C-saquinavir (n=8), se recupera un 88% de la dosis en heces frente a un 1% en orina (dentro de los 4 días de dosificación). Cuando se administra 10,5 mg de 14C-saquinavir por vía IV (n=4), se recupera el 81% y el 3% en heces y orina, respectivamente (dentro de los 4 días de dosificación). Tras la administración oral, el 13% de saquinavir circulante en plasma se presenta como compuesto inalterado y el restante como metabolitos. Tras la administración intravenosa, el 66% de saquinavir circulante permanece inalterado y el restante como metabolitos. Ello sugiere que el saquinavir sufre un importante metabolismo de primer paso. Presenta un elevado aclaramiento sistémico, 1,14L/h/Kg, ligeramente superior al flujo plasmático hepático, indicando una extracción hepática del 100%. El aclaramiento sistémico es constante tras ser administrado por vía IV a dosis de 6, 36 y 72 mg (Williams et al. 1999; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005). La semivida estimada en humanos es de aproximadamente 13h (Williams et al. 1999).

En el caso del **ritonavir**, hasta el 86% de la dosis se ha recuperado en heces, de ésta un 34% inalterado, y un 11% en orina, con

aproximadamente un 3,5% inalterado, tras un periodo de 148 horas. Se han identificado cuatro metabolitos oxidativos principales, que representan el 48% de una dosis de 600mg. El metabolito activo, M2, se ha cuantificado en un  $6,4\pm 2\%$  y  $24\pm 5,5\%$  de la dosis recogida en orina y heces, respectivamente. Aunque, las concentraciones plasmáticas de M2, en estado estacionario, han sido unas 20 veces inferiores a las de ritonavir. La semivida ( $t_{1/2}$ ) del ritonavir oscila entre 3 y 5 h (Hsu et al. 1997; Hsu et al. 1998).

#### 3.2.2.4.5 *Actividad de sistemas secretores: glicoproteína-P y sistemas MRP*

En la actualidad se sabe que uno de los factores que contribuyen a reducir la biodisponibilidad oral de los IP es la secreción intestinal de los mismos.

Se conocen dos grandes subfamilias MDR/TAP y MRP/CFTR, pertenecientes a la familia de proteínas transportadoras de membrana ATP-binding cassette (ABC), que actualmente se relacionan con el transporte de xenobióticos.

El sistema MDR, incluye proteínas de transporte energía-dependientes y de capacidad saturable, como la glicoproteína P (gp-P). La gp-P es una proteína de 170 kDa que se encuentra codificada por los genes MDR1, MDR2 (Owen et al. 2005). La glicoproteína-P se encuentra en numerosos tejidos como en riñón, glándulas suprarrenales, células endoteliales de vasos cerebrales, pulmón, hígado, placenta, estómago e intestino. Y también se expresa en macrófagos y linfocitos T CD4, que son a

su vez la principal diana de la infección por VIH-1 (Williams et al. 1999; Owen et al. 2005).

En general, las sustancias hidrofóbicas, básicas y catiónicas son sustrato de la gp-P (Williams et al. 1999).

El transporte mediado por la gp-P limita la absorción oral de los fármacos sustrato mediante la secreción de los mismos desde el enterocito hacia el lumen intestinal. Este proceso de secreción contribuye a la baja biodisponibilidad oral de diversos xenobióticos, como ciclosporina y tacrolimus, posiblemente mediante interacciones con la gp-P y el CYP3A4 intestinal. De hecho, la coadministración de estos fármacos con ketoconazol, inhibidor selectivo de la gp-P y CYP3A4 intestinales, aumenta la biodisponibilidad oral de los mismos (Hebert 1997).

La utilización de modelos *in vitro* e *in vivo*, ha permitido demostrar que saquinavir y ritonavir son sustrato de la gp-P. La gp-P limita el transporte intestinal y la penetración en SNC. El nivel de expresión y la distribución regional de la gp-P varía de unos individuos a otros, lo que explica parte de la variabilidad asociada a la absorción y distribución de IP. En la actualidad, se está examinando el potencial de los fármacos antirretrovirales como posibles inductores de la expresión de gp-P (Owen et al. 2005).

#### 3.2.2.4.6 *Grupos poblacionales especiales*

Las características farmacocinéticas del **saquinavir** y del **ritonavir** no varían significativamente con la edad, el sexo y la raza.

En pacientes con insuficiencia renal no se han determinado los parámetros farmacocinéticos del saquinavir y ritonavir. Cabe esperar que el fallo renal no afecte al aclaramiento total del fármaco, puesto que menos del 1% y del 3,5% de la dosis se elimina de forma inalterada por el riñón, para el saquinavir y ritonavir, respectivamente.

En pacientes con insuficiencia hepática no se han determinado los parámetros farmacocinéticos del saquinavir, pero sí del ritonavir. En este último caso, los pacientes con insuficiencia hepática media o moderada, experimentan una alteración moderada de las características farmacocinéticas del fármaco. De manera que la concentración alcanzada por el ritonavir en el estado estacionario ha sido de magnitud similar tanto en los individuos con disfunción hepática media como en los voluntarios sanos, cuando reciben una dosis de 400 mg/12h y 500 mg/12h de Norvir®, respectivamente. No obstante, se observa que la constante de velocidad de eliminación ( $K_{el}$ ) tiende a disminuir a medida que disminuye la función hepática, aumentando la semivida de 4,6 h, en pacientes con función hepática normal, a 6,3 h, en pacientes con disfunción hepática moderada. La unión a proteínas plasmáticas no se modifica en pacientes con insuficiencia hepática media o moderada.

Los parámetros farmacocinéticos del saquinavir en los pacientes pediátricos no se han investigado en profundidad. En el caso del ritonavir, éstos presentan gran variabilidad interindividual. Probablemente se deba a la heterogeneidad en las edades y pesos corporales considerados en el estudio y, también, en parte, a las diferencias de absorción entre éstos. En todo caso,

la dosis en pacientes pediátricos no debe exceder de 1200 mg/día (Hsu et al. 1998; Abbott Laboratories 2005; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005)

### 3.2.2.5 Aplicaciones terapéuticas y posología

El **saquinavir** es el único IP disponible en distintas formulaciones. Presenta una buena tolerabilidad, excepto algunos problemas gastrointestinales moderados. No presenta problemas serios a corto plazo y en la actualidad, se recomienda su uso potenciado con ritonavir en forma de Invirase®, en dosis 1000mg/100mg (SQV/RTV) b.i.d. (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

El **ritonavir** fue el primer IP eficaz aprobado para su uso en humanos, avalado por ensayos clínicos (Cameron et al. 1998). Debido a su baja tolerancia, genera, entre otros, trastornos gastrointestinales, de ahí que su uso como único IP se encuentra obsoleto. En la actualidad, se suele administrar en combinación con otros IP, con objeto de conseguir un sinergismo. Para ello, la dosis utilizada es la denominada “dosis bebé” (100mg b.i.d) que es significativamente mejor tolerada. Dado que el ritonavir se comporta como un inhibidor muy potente del isoenzima CYP3A4, dosis pequeñas del mismo permiten aumentar los niveles plasmáticos de aquellos IP junto a los que se administra (Kempf et al. 1995; Zeldin et al. 2004). Con ello se consigue simplificar el esquema posológico, reduciendo el número de tomas diarias y mejorar la adherencia al tratamiento (García de Olalla et al. 2002). Los esquemas que se utilizan con mayor frecuencia se caracterizan en la mayoría de los casos, por dos administraciones diarias. No obstante, se están probando pautas de una administración al día (Boffito et al. 2002), que a pesar de suponer una

comodidad para el paciente, se acompañan de una considerable variabilidad de los niveles plasmáticos (Hugen et al. 2002).

Actualmente, se han probado combinaciones de antirretrovirales reforzadas con dosis bajas de ritonavir, este es el caso del saquinavir, indinavir, amprenavir, nelfinavir o lopinavir (Cuadro 3.2). De éstas, una de las combinaciones más utilizadas es la de saquinavir/ritonavir (saquinavir/r). En ella, el ritonavir consigue mejorar significativamente la absorción del saquinavir y asimismo, reducir apreciablemente el metabolismo de primer paso hepático del mismo, con lo que incrementa sus niveles plasmáticos hasta 20 veces y, en consecuencia, la actividad antirretroviral (Hsu et al. 1997).

|                           | Dosis diaria (mg) | Comprimidos × día | Comentarios  |
|---------------------------|-------------------|-------------------|--|
| Saquinavir/r              | 1000/100 bid      | 2 × 6             | Autorizado el tratamiento potenciado                   |
| Saquinavir/r              | 400/400 bid       | 2 × 6             | Buena eficacia<br>Efectos secundarios                  |
| Indinavir/r               | 800/100 bid       | 2 × 3             | Nefrolitiasis  |
| Indinavir/r               | 400/400 bid       | 2 × 5             | Farmacocinética adecuada                               |
| Lopinavir/r               | 400/100 bid       | 2 × 3             | Única combinación comercializada                       |
| Fosamprenavir/r           | 700/100 bid       | 2 × 2             | Autorizado en 2004                                     |
| Atazanavir/r              | 300/100 qd        | 1 × 3             | Menor n° de comprimidos en la terapia con IP           |
| Saquinavir-<br>Nelfinavir | 600/750 tid       | 3 × 6             | Excesivo n° de comprimidos                             |
| Amprenavir/r              | 600/100 bid       | 2 × 5             | Ya no se aconseja desde la aprobación de fosamprenavir |

**Cuadro 3.2.** Esquemas reforzados de IP.

### 3.2.2.6 Interacciones

Los IP son sustratos del CYP3A4 y de la gp-P por lo que la magnitud de sus respectivas biodisponibilidades puede verse afectada por la

presencia de fármacos inductores e inhibidores del metabolismo y por sustancias con afinidad por la gp-P. Cuantitativamente, la mayoría de las interacciones que se producen entre los fármacos se deben a la inducción o inhibición de los isoenzimas del citocromo P450. La inducción de éstos puede provocar que se alcancen concentraciones plasmáticas subterapéuticas, lo que implica una pérdida de eficacia y la aparición de posibles resistencias al tratamiento. Por otra parte, una inhibición significativa del citocromo P450 puede conducir a una toxicidad por sobredosificación (Williams et al. 1999).

El saquinavir se metaboliza principalmente por acción del CYP3A4 y es a su vez un inhibidor débil de éste. Asimismo, estudios *in vitro* e *in situ* han puesto de manifiesto que es sustrato e inhibidor de la gp-P. Por tanto, pueden producirse interacciones con fármacos que utilicen ésta vía metabólica o que modifiquen la actividad de la isoenzima CYP3A4 o la gp-P.

El ritonavir es un potente inhibidor de los isoenzimas CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C10 (Molla et al. 1998). Por este motivo, la coadministración del ritonavir con fármacos de estrecho margen terapéutico y que se metabolizan a través del CYP3A4, y en menor medida del CYP2D6, se debe evitar. Asimismo, es un potente inhibidor de gp-P.

El ritonavir también puede actuar como inductor del CYP3A4, así como de otras enzimas metabólicas, lo que conduce a la reducción de los niveles plasmáticos de otros fármacos cuando se coadministran con él, como la teofilina (Williams et al. 1999), el etinilestradiol (Ouellet et al. 1998), la zidovudina (Cato III et al. 1996) y el sulfametoxazol (Hsu et al. 1998).

### 3.2.2.6.1 Interacciones con fármacos no antirretrovirales

La coadministración del **saquinavir**, **ritonavir** o ambos, con los siguientes fármacos está contraindicada: amiodarona, bepridil, flecainida, propafenona, quinidina, terfenadina, cisaprida, astemizol, alprazolam, triazolam, midazolam, simvastatina, los alcaloides del cornezuelo de centeno y la hierba de San Juan.

Otros fármacos requieren ajuste de dosis cuando se administran junto con saquinavir o ritonavir:

- Claritromicina: el *AUC* del saquinavir y de la claritromicina aumenta en un 177% y 40%, respectivamente, cuando se administran de forma concomitante (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005). El ritonavir aumenta el *AUC* de la claritromicina un 77% (Ouellet et al. 1998).
- Los niveles de ketoconazol no aumentan cuando se administran junto con saquinavir, mientras que lo hacen alrededor de 3,5 veces cuando se administra junto con ritonavir; en este último caso la dosis de ketoconazol no debe exceder los 200mg/día (Hsu et al. 1998).
- El *AUC* de rifabutina aumenta sobre 3,5 veces cuando se administra junto con ritonavir (Cato et al. 1998); se deben administrar 150mg q.o.d. o 150 mg de 2 a 3 días/semana con la dosis estándar de ritonavir. Los niveles plasmáticos de saquinavir se modifican cuando se administran junto con rifabutina, reduciéndose un 40% (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

- Los niveles de etinilestradiol disminuyen un 40% cuando se administra con saquinavir y ritonavir; se debe usar un método alternativo u adicional para el control de la natalidad.
- También se produce interacción del ritonavir con fenobarbital, fenitoína y carbamazepina; se deben monitorizar los niveles de estos fármacos (Volberding et al. 1990). A su vez estos pueden disminuir los niveles plasmáticos del saquinavir si éste no se ingiere junto con ritonavir (Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).
- El *AUC* del sildenafil aumenta de 2 a 11 veces en presencia de ritonavir y 210% en presencia de saquinavir; no usar más de 25mg/48h si se administra con saquinavir/r (Volberding et al. 1990; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).
- El *AUC* de metadona disminuye un 36% cuando se administra ritonavir (Hsu et al. 1998).
- Los niveles de desipramina aumentan un 145% en presencia de ritonavir (Cato III et al. 1996).

Debido a la elevada afinidad del ritonavir por el CYP3A4, su metabolismo apenas se modifica en presencia de inhibidores de esta isoenzima. Durante la coadministración, el *AUC* del ritonavir aumenta mínimamente en presencia de efavirenz (18%), fluconazol(12%), claritromicina (12%), fluoxetina (18%) y ketoconazol (18%) (Hsu et al. 1998). La rifampicina reduce el *AUC* del ritonavir un 35%, por inducción del CYP3A (Holladay et al. 2001).

#### 3.2.2.6.2 *Interacciones con fármacos antirretrovirales*

Las interacciones entre IP son muy complejas, ya que son inhibidores competitivos y, a la vez, inductores de diversas enzimas. Se ha comprobado que la inducción es dosis y tiempo dependiente (Hsu et al. 1997; Hsu et al. 1998).

En los cuadros 3.3 y 3.4 se presentan algunas de las interacciones que sufren el saquinavir y ritonavir con otros fármacos antirretrovirales.

| Fármaco      | Efecto sobre los niveles plasmáticos  | Pauta posológica recomendada   |
|--------------|---|--|
| <b>EFV</b>   | SQV: ↓ 62%  | No administrar SQV sólo como IP junto con EFV: SQV/r 400/400 bid.<br>SQV/r 1200/100 qd.<br>SQV/r 1000/100 bid. |
| <b>NFV</b>   | NFV-M8 ↑ 2,7 veces  | SQV/r 1000/100 + NFV 1250 bid:<br>No es necesario realizar ajuste de dosis                                     |
| <b>DLV</b>   | DLV: no se ha establecido<br>SQV: ↑   | No hay datos   |
| <b>IDV</b>   | SQV ↑ 5-8 veces   | No hay datos   |
| <b>LPV/r</b> | SQV 1000 + LPV/r 400/100 bid:<br>Adecuada concentración plasmática de LPV y SQV | Synergistic effect.  |
| <b>TPV/r</b> | TPV/r 500/200 + SQV 1000 BID:<br>SQV: AUC 70%, Cmax 66%,<br>Cmin 81%            | Evitar combinación   |

**Cuadro 3.3.** Interacción del saquinavir con algunos fármacos antirretrovirales y recomendaciones (Hoffman et al. 2005; Roche Laboratories Inc. Septiembre, 2005).

| Fármaco    | Efecto sobre los niveles plasmáticos    | Pauta posológica recomendada  |
|------------|---|---|
| <b>SQV</b> | SQV: ↑ 20 veces<br>RTV: no se modifica  | SQV 1000 mg + RTV 100 mg bid  |
| <b>NVP</b> | RTV: ↓ 11%<br>NVP: no se modifica       | Dosis estándar de ambos fármacos  |
| <b>NFV</b> | NFV: ↑ 1,5 veces<br>RTV: no se modifica | RTV 400 mg bid + NFV 500-750 mg bid. Datos limitados  |
| <b>DLV</b> | DLV: no se modifica<br>RTV: ↑ 70%       | No hay datos  |
| <b>IDV</b> | IDV: ↑ 2-5 veces<br>RTV: no se modifica | IDV 400 mg bid + RTV 400 mg bid; IDV 800 mg + RTV 100 mg bid  |
| <b>EFV</b> | EFV: ↑ 21%<br>RTV: ↑ 18%                | RTV 600 mg bid (500 mg, si existe intolerancia) + EFV 600 mg qd   |
| <b>APV</b> | APV: ↑ 2,5 veces<br>RTV: no se modifica | APV 600 mg bid + RTV 100 mg bid; APV 1200 mg qd + RTV 200 mg qd. Si se administra EFV/APV/RTV: RTV 200 mg bid + APV 1200 mg bid + EFV 600 mg hs |

**Cuadro 3.4.** Interacción del ritonavir con algunos fármacos antirretrovirales y recomendaciones (Volberding et al. 1990; Abbott Laboratories 2005).

### 3.2.2.7 Génesis de resistencias al tratamiento antirretroviral

El desarrollo de resistencias es una de las principales causas de fallo en la terapia antirretroviral. Si hay resistencias a diversas clases de fármacos se limita el número de tratamientos alternativos y el éxito virológico de las subsiguientes terapias, los denominados tratamientos de rescate.

El rápido desarrollo de variantes resistentes se debe a la elevada producción de VIH, del orden de 10 millones de nuevas partículas virales al día (Perelson et al. 1996), y a la elevada tasa de error de la transcriptasa inversa del VIH. Esto lleva a un gran número de mutaciones, así como nuevas partículas virales, incluso en ausencia de tratamiento. En presencia de tratamiento, las variantes resistentes son seleccionadas como especies dominantes (Drake 1993).

La resistencia a los IP se desarrolla lentamente, cuando varias mutaciones de los virus sensibles a estos fármacos se acumulan. Este fenómeno se conoce como barrera genética. Se debe distinguir entre mutaciones primarias y secundarias. Las primarias se localizan en el centro activo de la proteasa del VIH. Estas mutaciones reducen la actividad de la proteasa, así como la capacidad del IP para unirse a ella.

Las mutaciones secundarias se localizan fuera del centro activo de la proteasa y se producen, con frecuencia, tras la aparición de mutaciones primarias, dando como resultado una resistencia fenotípica. Las mutaciones secundarias buscan compensar la reducción de la replicación viral causada por las mutaciones primarias (Johnson et al. 2004).

El espectro de mutaciones de los IP se encuentra descrito. Aunque las mutaciones primarias son relativamente específicas para fármacos individuales, hay un elevado grado de resistencias cruzadas entre saquinavir, nelfinavir, indinavir y ritonavir.

### 3.2.2.8 Efectos adversos

La intolerancia gastrointestinal es uno de los efectos adversos más frecuentes. Los síntomas típicos son náuseas, diarrea, vómitos, anorexia, dolor abdominal y, en ocasiones, pirosis, meteorismo y constipación. Éstos pueden conducir a deshidratación y malnutrición con pérdida de peso. En la mayoría de los casos, los efectos gastrointestinales ocurren al inicio del tratamiento y pueden ser severos (Bonfanti et al. 2000). Otros efectos frecuentes son las parestesias peritumorales y periféricas, y la astenia.

En las terapias que combinan dos IP, los efectos adversos son menos severos, por administrarse en dosis reducidas.

La hepatotoxicidad, con las transaminasas elevadas, es más frecuente y severa con el ritonavir que con otros IP. Existe un riesgo añadido en aquellos pacientes co-infectados con hepatitis B o C (Bonfanti et al. 2000).

El ritonavir provoca, también, un aumento de los niveles de triglicéridos, colesterol, creatininfosfoquinasa (CPK) y ácido úrico.

En general, los IP producen hiperglicemia, causada por la resistencia a la insulina (Fischl et al. 1990). El ritonavir causa principalmente hiperlipidemias, sin producir grandes cambios en el metabolismo de la glucosa (Purnell et al. 2000). De hecho, la hipercolesterolemia y trigliceridemia es más frecuente y severa con ritonavir que con otros IP.

Otros efectos como osteopenia y osteoporosis, también se asocian al tratamiento con los IP. Aunque en éstos influyen otros factores, como la propia infección por VIH, malnutrición, disminución del tejido adiposo, tratamiento con esteroides o inmovilización.

Uno de los efectos adversos más característicos y de gran prevalencia en el tratamiento antirretroviral HAART es la lipodistrofia. Ésta se caracteriza por la pérdida de grasa subcutánea generalizada o limitada a zonas específicas del cuerpo. La lipodistrofia asociada al VIH incluye alteraciones tanto clínicas como metabólicas. Actualmente, se conocen los principales componentes clínicos: lipoatrofia y adiposidad central. Este efecto se observa, más frecuentemente, en pacientes tratados con

combinaciones de NRTI e IP, pero todas las combinaciones antirretrovirales se asocian con la redistribución de grasa corporal.

En 1999 surgió en Holanda, una de las primeras hipótesis sobre los mecanismos que conducen a la lipodistrofia; ésta postulaba la toxicidad mitocondrial atribuida a los NRTIs (Gisolf et al. 2000) como posible causa de la misma. A pesar de la relación que existe entre toxicidad mitocondrial y tejido adiposo, como órgano diana potencial, el grado en el que el daño mitocondrial contribuye a la distribución anormal de grasa todavía se desconoce. Por el contrario, se relaciona el daño mitocondrial con otros efectos adversos, como son miopatías, hiperlactemia, esteatosis microvesicular y esteatohepatitis con acidosis láctica (Nolan et al. 2004).

La mayoría de las alteraciones metabólicas asociadas al síndrome de lipodistrofia se atribuyen a los IP. Éstos producen un incremento de los niveles totales de triglicéridos, de VLDL, y de LDL (Walli et al. 1998). Sin embargo, también se atribuyen a los NRTI numerosas alteraciones del metabolismo de los lípidos, como la lipoatrofia (Kravcik et al. 1999).

A pesar de lo expuesto, no se aconseja prescindir del uso de los medicamentos antirretrovirales (elevadores de los lípidos), por ser el balance coste-beneficio favorable al paciente (Hoffman et al. 2005).

### ***3.3 Análisis farmacocinético***

Tras la determinación de la concentración plasmática de fármaco que corresponde a los distintos tiempos de muestreo, se procede al cálculo de los parámetros farmacocinéticos que lo caracterizan. El tratamiento de los datos

puede realizarse atendiendo a dos perspectivas, la teoría compartimental clásica o la teoría no compartimental.

### **3.3.1 Modelos farmacocinéticos compartimentales**

Las teorías compartimentales describen al organismo como un conjunto de compartimentos. Cada compartimento representa una fracción de material biológico en la que el fármaco se supone uniformemente distribuido y presenta las mismas propiedades cinéticas. Se trata de un concepto meramente cinético, ya que estos compartimentos no tienen por qué corresponder con estructuras fisiológicas, en un sentido estricto.

#### **3.3.1.1 Modelos farmacocinéticos lineales**

Un modelo farmacocinético lineal es aquel en el que los procesos cinéticos que determinan la evolución temporal del fármaco en el organismo responden a cinéticas de orden uno y por ello, puede aplicarse el principio de superposición. En este caso, los valores de los parámetros farmacocinéticos no varían con la dosis, la concentración del fármaco a un tiempo dado es directamente proporcional a la dosis administrada y el *AUC* es una función lineal de la dosis administrada por vía intravenosa.

Clásicamente los modelos más utilizados en la descripción del comportamiento cinético de los fármacos han sido el monocompartimental y el bicompartimental.

##### **3.3.1.1.1 *Modelo farmacocinético bicompartimental***

El modelo bicompartimental considera el organismo dividido en dos compartimentos teóricos, central y periférico, si la administración es

intravenosa. Si la administración es extravasal se consideran tres compartimentos, uno externo (lugar de absorción) y dos internos (central y periférico). El compartimento central está constituido por el plasma, el fluido intersticial y el agua intracelular de tejidos con flujo sanguíneo superior a 0,5 ml/g/min. El compartimento periférico está constituido por los depósitos no acuosos y el agua intracelular de los tejidos con flujo sanguíneo inferior a 0,05 ml/g/min (tejido muscular, adiposo,...). El fármaco se encuentra distribuido de manera uniforme en cada compartimento, de modo que la concentración plasmática,  $C$ , se considera igual a la del compartimento central. Entre ambos compartimentos existe un equilibrio representado por las constantes de transferencia del central al periférico,  $k_{12}$ , y la de retorno a central,  $k_{21}$ .

### 3.3.1.1.1 Administración intravenosa rápida

Tras la administración de una dosis única, tipo bolus intravenoso, de un fármaco con características de bicompartimentalidad y velocidad de eliminación de orden uno, las ecuaciones diferenciales que describen la evolución de las concentraciones en cada uno de los compartimentos son las siguientes:

$$\frac{dC}{dt} = -k_{12} \cdot C - k_{10} \cdot C + k_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 3.1}$$

$$\frac{dP}{dt} = k_{12} \cdot C - k_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 3.2}$$

siendo  $C$  y  $P$  las concentraciones de fármaco en el compartimento central y periférico, respectivamente.  $k_{12}$  y  $k_{21}$ , la constante de transferencia del

central al periférico y de retorno a central, respectivamente. Y  $k_{10}$ , la constante de eliminación del fármaco.

La distribución del fármaco en el organismo no es un proceso instantáneo. Tras su administración, el fármaco se distribuye instantáneamente en el compartimento central, desde el cual accede al compartimento periférico, de acuerdo con una cinética de primer orden, regido por la constante de velocidad  $k_{12}$ . Desde este compartimento periférico, retorna al compartimento central, de acuerdo a un proceso de primer orden, regido por la constante de velocidad  $k_{21}$ . El proceso que motiva la desaparición del fármaco del compartimento central, por eliminación y por distribución al compartimento periférico, se denomina disposición. Tras la administración del fármaco, la concentración del mismo en el compartimento central disminuye rápidamente hasta obtener el estado de equilibrio de distribución. Esta fase se denomina fase rápida de disposición y está determinada por la constante híbrida  $\alpha$ . A continuación, se inicia una fase de disposición lenta, en la cual las concentraciones de fármaco del compartimento central se reducen más lentamente. La fase de disposición lenta se encuentra definida por la constante híbrida  $\beta$ . Ambas constantes híbridas tienen unidades de tiempo recíproco ( $t^{-1}$ ).

La ecuación 3.1 integrada adopta la siguiente expresión:

$$C = A_0 \cdot e^{-\alpha t} + B_0 \cdot e^{-\beta t} \qquad \text{Ecuación 3.3}$$

siendo  $A_0$  y  $B_0$  los coeficientes de disposición,  $\alpha$  y  $\beta$  la constante de disposición rápida y lenta, respectivamente.

Los parámetros de disposición se relacionan con las constantes reales del modelo y con el volumen de distribución central,  $V_c$ , mediante las siguientes ecuaciones:

$$A_0 = \frac{D \cdot (\alpha - k_{21})}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \quad \text{Ecuación 3.4}$$

$$B_0 = \frac{D \cdot (k_{21} - \beta)}{V_c \cdot (\alpha - \beta)} \quad \text{Ecuación 3.5}$$

$$\alpha = \frac{k_{12} + k_{21} + k_{10} + \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 \cdot k_{21} \cdot k_{10}}}{2} \quad \text{Ecuación 3.6}$$

$$\beta = \frac{k_{12} + k_{21} + k_{10} - \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 \cdot k_{21} \cdot k_{10}}}{2} \quad \text{Ecuación 3.7}$$

El carácter aparente del volumen de distribución en el modelo bicompartimental se acentúa al considerar la lenta ocupación del compartimento periférico. En este modelo se considera el volumen del compartimento central,  $V_c$ , y el volumen del compartimento periférico,  $V_p$ , cuya suma es el volumen de distribución corporal,  $V_d$ . Sin embargo, sólo presenta una verdadera utilidad cinética el  $V_c$ , ya que es el único que puede calcularse con exactitud y por procedimientos directos. De hecho, para el cálculo de la cantidad de fármaco en el compartimento central y periférico,  $Q_c$  y  $Q_p$  respectivamente, sólo se requiere conocer  $V_c$ . No obstante,  $V_p$  y  $V_d$  son ilustrativos de la mayor o menor capacidad de distribución a tejidos y estructuras extravasculares.

El volumen de distribución en estado estacionario,  $V_{dee}$ , es representativo de las características de distribución del fármaco y,

corresponde al volumen ocupado en el momento en el que se alcanza el equilibrio de distribución entre el compartimento central y periférico; es decir, cuando se alcanza la máxima cantidad de fármaco en compartimento periférico. Es en ese preciso momento cuando se iguala la velocidad de distribución con la velocidad de retorno y el  $V_{dec}$  puede utilizarse para la conversión de concentraciones en cantidades totales de fármaco en organismo.

$$Vd_{ee} = V_c \cdot \left( 1 + \frac{k_{12}}{k_{21}} \right) \quad \text{Ecuación 3.8}$$

Debe tenerse en cuenta que:  $V_c < V_{dec} < V_{d(\text{área})}$ . Las cantidades en organismo a distintos tiempos, se calculan utilizando  $V_{d(\text{área})}$ .

El concepto de semivida biológica de un fármaco que presenta un comportamiento de distribución bicompartimental, cobra sentido cuando la curva entra en su fase monoexponencial terminal ó fase lenta de disposición. Así, el término semivida biológica coincide con el término de semivida en fase beta,  $t_{1/2\beta}$ , y su valor se calcula mediante la ecuación 3.9. En este caso, se comprende fácilmente que la semivida biológica es un parámetro de disposición y no de eliminación, pues depende de la constante híbrida  $\beta$ .

$$t_{1/2\beta} = \frac{\ln 2}{\beta} \quad \text{Ecuación 3.9}$$

A continuación, se muestran las relaciones entre otros parámetros representativos del modelo bicompartimental:

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{10} \quad \text{Ecuación 3.10}$$

$$k_{21} = \frac{A_0 \cdot \beta + B_0 \cdot \alpha}{A_0 + B_0} \quad \text{Ecuación 3.11}$$

$$k_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{k_{21}} \quad \text{Ecuación 3.12}$$

$$C_0 = A_0 + B_0 \quad \text{Ecuación 3.13}$$

$$Cl_p = V_c \cdot k_{10} \quad \text{Ecuación 3.14}$$

$$AUC = \frac{A_0}{\alpha} + \frac{B_0}{\beta} \quad \text{Ecuación 3.15}$$

$$AUC = \frac{D}{V_c \cdot k_{10}} \quad \text{Ecuación 3.16}$$

$$C_0 = \frac{D}{V_c} \quad \text{Ecuación 3.17}$$

### 3.3.1.1.1.2 Administración de una perfusión continua

En ocasiones la incorporación del fármaco al organismo se realiza mediante una cinética de orden cero, a través de la perfusión intravenosa continua a velocidad constante,  $K_0$ . En este caso, las curvas concentración-tiempo generadas se caracterizan por alcanzar y mantener una concentración única, y prácticamente constante, durante el tiempo en que se mantiene el tratamiento, de acuerdo a la siguiente expresión diferencial:

$$\frac{dC}{dt} = K_0 - k_{10} \cdot C - k_{12} \cdot C + k_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 3.18}$$

Las curvas de nivel plasmático tras la administración intravenosa en perfusión continua son inconfundibles, ya que si se considera modelo de

distribución bicompartimental presentan dos tramos muy bien delimitados que resultan de la superposición de los procesos de incorporación y eliminación o disposición de orden uno.

El tramo inicial es ascendente y convexo, que resulta de la incorporación y desaparición del fármaco y se denomina, en general, fase de absorción. Así, la ecuación que representa la concentración de fármaco a cualquier tiempo,  $t$ , desde el inicio de la perfusión intravenosa corresponde a:

$$C = \frac{K_o}{V_c \cdot k_{10}} \left( 1 - \frac{k_{10} - \beta}{\alpha - \beta} e^{-\alpha t} + \frac{k_{10} - \alpha}{\alpha - \beta} e^{-\beta t} \right) \quad \text{Ecuación 3.19}$$

Si la perfusión intravenosa se mantiene un tiempo suficientemente grande, la concentración del fármaco se hace prácticamente constante y se obtiene la denominada meseta, o concentración en estado estacionario,  $C_\infty$ . En efecto, para fármacos bicompartimentales, las exponenciales  $e^{-\alpha t}$  y  $e^{-\beta t}$  se reducen a cero cuando el tiempo tiende a infinito y la concentración asintótica a la siguiente ecuación:

$$C_\infty = \frac{K_o}{k_{10} \cdot V_c} = \frac{K_o}{Cl_p} \quad \text{Ecuación 3.20}$$

De ello se deduce que, conociendo la constante de eliminación y el volumen de distribución, o el aclaramiento del medicamento en un determinado paciente, se puede obtener la concentración asintótica que se desee mediante la adecuada regulación de la velocidad de perfusión.

Cuando se interrumpe la perfusión intravenosa aparece el segundo tramo de la curva que se caracteriza por ser descendente y cóncavo. Este tramo se debe sólo a los procesos de distribución del fármaco, y es independiente de si se ha alcanzado o no el estado estacionario. La concentración de un fármaco bicompartimental a un tiempo  $t$ , posterior al tiempo de perfusión,  $T$ , queda definida por la siguiente expresión:

$$C = R \cdot e^{-\alpha \cdot t'} + S \cdot e^{-\beta \cdot t'} \quad \text{Ecuación 3.21}$$

en la cual,  $R$  y  $S$  son los coeficientes de cada exponencial. Estos coeficientes  $R$  y  $S$  no equivalen a los valores  $A_0$  y  $B_0$  intravenosos, ya que, cuando se usa la inyección intravenosa rápida, se parte de un compartimento periférico vacío, mientras que en la perfusión, éste se encuentra: parcialmente ocupado si se interrumpe la incorporación antes de alcanzarse la meseta, y en estado de equilibrio con el central si ya se había alcanzado.

Las equivalencias cinéticas de  $R$  y  $S$  varían según se haya (perfusión continua) o no (perfusión corta) alcanzado la meseta. Sus valores son los siguientes:

— Si se ha alcanzado la meseta ( $C_\infty$ ):

$$R = C_\infty \frac{k_{10} - \beta}{\alpha - \beta} \quad \text{Ecuación 3.22}$$

$$S = C_\infty \frac{\alpha - k_{10}}{\alpha - \beta} \quad \text{Ecuación 3.23}$$

— Si no se ha alcanzado la meseta ( $C_f$ ):

$$R = C_{\infty} \frac{k_{10} - \beta}{\alpha - \beta} (1 - e^{-\alpha T}) \quad \text{Ecuación 3.24}$$

$$S = C_{\infty} \frac{\alpha - k_{10}}{\alpha - \beta} (1 - e^{-\beta T}) \quad \text{Ecuación 3.25}$$

Conociendo los valores de R, S,  $\alpha$  y  $\beta$  se puede proceder al cálculo de las microconstantes  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  y  $k_{10}$ .

Si un fármaco presenta una  $k_{10}$  baja, el tiempo necesario para alcanzar la meseta terapéutica será prolongado. Esto puede representar un inconveniente en algunos casos.

Existen situaciones clínicas en las que se requiere alcanzar con rapidez una concentración de fármaco equivalente al valor de  $C_{\infty}$  terapéutico. Con este fin se puede recurrir a la administración de un bolus del fármaco (dosis de choque) seguida de una perfusión intravenosa a velocidad constante.

En los fármacos bicompartimentales, el tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario es tanto más prolongado cuanto más lenta es la velocidad de eliminación del fármaco. En fármacos de semivida biológica larga, el retraso en alcanzar las concentraciones plasmáticas terapéuticas puede ser considerable y el método de administración expuesto resulta poco adecuado para situaciones de urgencia. Para soslayar esta situación, se han intentado establecer procedimientos que permitan, desde el inicio del tratamiento, alcanzar concentraciones de fármaco equivalentes a la correspondiente al estado estacionario  $C_{\infty}$ , de forma análoga a los fármacos monocompartimentales, sin embargo, el cálculo de la dosis en este modelo

es un problema complejo y existen varias soluciones aunque ninguna de ellas ideal.

### 3.3.1.1.1.3 Administración oral

El hecho de que exista un mayor número de fenómenos de transferencia del fármaco en el organismo, dificulta la correcta interpretación de las constantes de velocidad de cada proceso si no se dispone de datos farmacocinéticos intravenosos.

El modelo extravasal se caracteriza por el hecho de que el valor de  $V_d$  y  $V_c$ , que se obtienen por vía oral, no coinciden con los obtenidos por vía intravenosa, puesto que llevan implícita la fracción de dosis absorbida,  $f$ .

Las variaciones de concentración por unidad de tiempo, en cada uno de los compartimentos considerados, corresponden a las ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dC}{dt} = k_{01} \cdot A - k_{10} \cdot C - k_{12} \cdot C + k_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 3.26}$$

$$\frac{dA}{dt} = -k_{01} \cdot A \quad \text{Ecuación 3.27}$$

$$\frac{dP}{dt} = k_{12} \cdot C - k_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 3.28}$$

dónde  $A$  es la concentración de fármaco en lugar de absorción y  $k_{01}$ , la constante de absorción del fármaco.

Mediante el método de las transformadas de Laplace y tras aplicar varias técnicas algebraicas se llega a la expresión integrada:

$$C = A_0 \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B_0 \cdot e^{-\beta \cdot t} + P_0 \cdot e^{-k_{01} \cdot t} \quad \text{Ecuación 3.29}$$

Se trata de una ecuación triexponencial, siendo representativa cada exponencial de los procesos que sufre el fármaco: absorción, regida por la  $k_a$ ; la fase de disposición rápida y lenta, regidas por  $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente.

Las siguientes expresiones relacionan los parámetros de disposición con las constantes reales y el volumen central,  $V_c$ , para el cual utilizamos un valor aparente que llamamos  $V_{c \text{ oral}}$  y está falseado por la  $f$ .

$$A_0 = \frac{D \cdot k_{01} \cdot (k_{21} - \alpha)}{V_{c.oral} \cdot (\alpha - \beta) \cdot (\alpha - k_{01})} \quad \text{Ecuación 3.30}$$

$$B_0 = \frac{D \cdot k_{01} \cdot (k_{21} - \beta)}{V_{c.oral} \cdot (\alpha - \beta) \cdot (\beta - k_{01})} \quad \text{Ecuación 3.31}$$

$$P_0 = -(A_0 + B_0) \quad \text{Ecuación 3.32}$$

$$\alpha = \frac{k_{12} + k_{21} + k_{10} + \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 \cdot k_{21} \cdot k_{10}}}{2} \quad \text{Ecuación 3.33}$$

$$\beta = \frac{k_{12} + k_{21} + k_{10} - \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 \cdot k_{21} \cdot k_{10}}}{2} \quad \text{Ecuación 3.34}$$

A continuación, se exponen las relaciones entre otros parámetros representativos del modelo bicompartimental extravasal:

$$k_{12} = \alpha - \beta - k_{21} - k_{10} \quad \text{Ecuación 3.35}$$

$$k_{21} = \frac{A_0 \cdot \beta \cdot k_{01} + B_0 \cdot \alpha \cdot k_{01} + P_0 \cdot \alpha \cdot \beta}{A_0 \cdot (k_{01} - \alpha) + B_0 \cdot (k_{01} - \beta)} \quad \text{Ecuación 3.36}$$

$$k_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{k_{21}} \quad \text{Ecuación 3.37}$$

$$V_c = \frac{k_{01}}{A_0 \cdot (k_{01} - \alpha) + B_0 \cdot (k_{01} - \beta)} \quad \text{Ecuación 3.38}$$

$$Cl_p = V_c \cdot k_{10} \quad \text{Ecuación 3.39}$$

$$AUC = \frac{D}{V_c \cdot k_{10}} \quad \text{Ecuación 3.40}$$

$$t_{1/2\beta} = \frac{\ln 2}{\beta} \quad \text{Ecuación 3.41}$$

$$t_{1/2k_{01}} = \frac{\ln 2}{k_{01}} \quad \text{Ecuación 3.42}$$

### 3.3.1.2 Modelos farmacocinéticos no lineales

Los procesos de absorción, distribución y eliminación de los fármacos no son siempre lineales, en ocasiones puede tratarse de procesos saturables. La absorción puede tener lugar mediante un proceso mediado por portadores, la distribución puede verse afectada por la unión del fármaco a las proteínas plasmáticas o a depósitos tisulares y la eliminación puede llevarse a cabo mediante mecanismos susceptibles de saturarse, como es el caso de la secreción tubular activa y el metabolismo. Se trata de procesos no lineales y en estos casos, se habla de fármacos con farmacocinética no lineal. En los modelos no lineales no se cumple el principio de superposición y no existe una proporcionalidad entre la dosis y concentraciones plasmáticas, ni entre la dosis y AUC.

### 3.3.2 Análisis farmacocinético no compartimental

A diferencia del modelado compartimental, el organismo no está considerado por compartimentos de naturaleza cinética diferente, en este caso constituye una sola entidad cinética.

El cálculo de los parámetros farmacocinéticas se basa en la estimación del área bajo la curva de nivel plasmático frente al tiempo (AUC), definido por la ecuación 3.43.

$$AUC_0^\infty = \int_0^\infty C \cdot dt \quad \text{Ecuación 3.43}$$

El área bajo el primer momento de la curva (AUMC) se define por la ecuación 3.44.

$$AUMC_0^\infty = \int_0^\infty t \cdot C \cdot dt \quad \text{Ecuación 3.44}$$

Para la estimación de AUC y AUMC se puede escoger el método trapezoidal o logarítmico trapezoidal. El cálculo consiste en sumar las áreas de los trapecios definidos por los valores experimentales de concentración plasmática (en el caso del AUMC) y tiempos de toma de muestra. El área correspondiente al tramo final de la curva, desde el último punto experimental hasta el infinito, se determina aplicando la ecuación 3.45, en el caso del AUC o la ecuación 3.46 en el caso del AUMC.

$$\int_{t^*}^\infty C \cdot dt = \frac{C^*}{\lambda} \quad \text{Ecuación 3.45}$$

$$\int_{t^*}^\infty t \cdot C \cdot dt = \frac{t^* \cdot C^*}{\lambda} + \frac{C^*}{\lambda^2} \quad \text{Ecuación 3.46}$$

En estas expresiones,  $\lambda$  es la pendiente de la recta que define la fase terminal de la curva semilogarítmica,  $t^*$  el tiempo de muestra del último punto experimental y  $C^*$  el valor teórico de concentración plasmática a ese tiempo.

A partir de AUC, AUMC y la dosis administrada  $D$ , se pueden calcular el resto de parámetros farmacocinéticos no compartimentales. El tiempo medio de residencia (MRT) se define como el tiempo promedio que una molécula de fármaco permanece en el organismo y se calcula por el cociente entre AUC y AUMC (ecuación 3.47).

$$MRT = \frac{AUMC_0^\infty}{AUC_0^\infty} = \frac{\int_0^\infty t \cdot C \cdot dt}{\int_0^\infty C \cdot dt} \quad \text{Ecuación 3.47}$$

Los parámetros no compartimentales restantes se calculan atendiendo a las ecuaciones que se muestran a continuación. Así, se puede obtener el valor del aclaramiento plasmático ( $Cl$ ), la semivida efectiva ( $t_{1/2k}$ ), y el volumen de distribución ( $Vd_{area}$ ).

$$Cl_p = \frac{D}{AUC_0^\infty} \quad \text{Ecuación 3.48}$$

$$t_{1/2\lambda} = \frac{\ln 2}{\lambda} \quad \text{Ecuación 3.49}$$

$$Vd_{area} = \frac{D}{\lambda \cdot AUC_0^\infty} \quad \text{Ecuación 3.50}$$

### **3.3.3 Análisis farmacocinético individual**

Tras la administración de un fármaco a un individuo, la determinación de sus parámetros cinéticos permite conocer la distribución del fármaco en el organismo. Este hecho exige la obtención y el análisis de las concentraciones del fármaco con la finalidad de caracterizar el comportamiento farmacocinético. En condiciones de máxima eficiencia, exige establecer una estrategia de toma de muestras (o diseño experimental) que garantice la estimación óptima de los parámetros cinéticos (D'Argenio 1981). A continuación, se describen las técnicas matemáticas empleadas en el análisis de los datos experimentales. Todas ellas asumen que los modelos se pueden expresar como funciones explícitas.

#### **3.3.3.1 Estimación de parámetros individuales**

##### *3.3.3.1.1 Regresión lineal*

La regresión lineal describe la relación existente entre la variable dependiente (concentración del fármaco) y las variables independientes (tiempo) mediante una función lineal con el objetivo de predecir los valores que tomará la variable dependiente en función de la variable independiente. Sin embargo, la mayoría de los modelos cinéticos descritos son modelos no lineales y la caracterización de los parámetros de estos modelos mediante regresión lineal exige previamente la transformación de la variable dependiente. Así, los valores de concentración de un fármaco con características de monocompartimentalidad obtenidos tras su administración intravenosa en bolus deben ser expresados linealmente mediante su transformación logarítmica.

$$\ln C = \ln\left(\frac{D}{V_d}\right) - k_{el} \cdot t \quad \text{Ecuación 3.51}$$

Una vez realizada la transformación de los datos, la estimación de los parámetros que definen una función lineal, ordenada en el origen y pendiente, permitirá conocer los parámetros del modelo una vez se invierta la transformación previamente realizada. De este modo, la variable independiente es el tiempo,  $t$ , y la variable dependiente es el logaritmo neperiano de la concentración del fármaco,  $\ln C$ . La ordenada en el origen expresa el valor del logaritmo neperiano del cociente entre la dosis y el volumen de distribución,  $D/V_d$  y la pendiente representa el valor de la constante de eliminación cambiada de signo.

#### 3.3.3.1.2 Regresión no lineal

Este método obvia algunos de los problemas que surgen con el método anterior, aportando una serie de ventajas. Su principal diferencia con respecto a la regresión lineal es que no requiere la transformación previa de la variable respuesta. Sin embargo, continúa teniendo el inconveniente de descartar la información de la población general en vez de enriquecer la del individuo, así como requerir al menos un dato de concentración por cada parámetro a estimar (Jelliffe et al. 1991).

Aunque al conocimiento de la variabilidad se le ha prestado menos atención que al comportamiento farmacocinético, no por ello es menos importante. Por ejemplo, una variación interindividual significativa en el aclaramiento, condiciona amplias variaciones en las concentraciones plasmáticas, por lo que esta variabilidad debería ser conocida, ya que en el

caso de fármacos de estrecho margen terapéutico se traduciría en una mayor toxicidad (Sheiner 1985). No obstante, la varianza no siempre se estima bien, ya que se encuentra afectada por diversos componentes de la variabilidad aleatoria. El más importante es el error analítico o de procesamiento de muestras, aunque no son despreciables los errores debidos a la selección del modelo cinético.

La forma más usual de estimar los parámetros del modelo es mediante el procedimiento de optimización. Dicho procedimiento implica el uso de una función de los parámetros denominada función objetivo. Los valores de los parámetros a estimar se seleccionan de forma que la función objetivo alcance un valor extremo, por ejemplo un máximo o un mínimo. La función objetivo generalmente incluye un sumatorio de los cuadrados de las diferencias entre la variable dependiente y la predicción según el modelo, de forma que el valor extremo es normalmente su mínimo (Sheiner et al. 1980).

Mediante la regresión no lineal por mínimos cuadrados ordinarios (OLS), el vector parámetro  $\theta$  se estima a través de la selección de un vector  $\theta^*$  que minimice la siguiente función objetivo:

$$OBJ_{OLS}(\theta, y) = \sum_{i=1}^N (y_i - f(\theta, x_i))^2 \quad \text{Ecuación 3.52}$$

donde  $\theta$  es la colección de parámetros del modelo,  $y$  representa todos los valores de la variable dependiente, mientras que  $y_i$  es el  $i$ -ésimo valor observado de la variable dependiente,  $N$  es el número de observaciones,  $x_i$  es el vector de las variables independientes que corresponden a la observación  $i$ -ésima. La minimización de esta función permite estimar explícitamente los parámetros del modelo e, implícitamente, la variabilidad residual:

$$\sigma_{\varepsilon} = \frac{\text{Obj}(\theta^*, y)}{(N - p)} \quad \text{Ecuación 3.53}$$

donde  $p$  es el número de parámetros a estimar, con lo que  $N-p$  son los grados de libertad.

Como quiera que la inversa de la matriz de la segunda derivada parcial de  $\text{Obj}$ , con respecto a  $\theta$  evaluada a  $\theta^*$ , es aproximadamente proporcional a la matriz de varianza-covarianza de las estimaciones  $y$ , además, la raíz cuadrada de los elementos diagonales de esta matriz proporciona una aproximación aceptable a los errores estándar de las estimaciones de los parámetros; es posible obtener los intervalos de confianza del 95% de los parámetros.

En realidad, cualquier modelo de varianza de los datos conlleva una asunción sobre el esquema de ponderación. Así, en esta regresión por mínimos cuadrados ordinarios, se asume un modelo de varianza residual aditivo, es decir, los errores provienen de una distribución conocida y tienen la misma varianza.

Sin embargo, frecuentemente, la concentración del fármaco alcanza diferentes órdenes de magnitud, y es difícil que el error debido a la técnica analítica sea independiente de su magnitud. Por ello es frecuente utilizar la regresión no lineal por mínimos cuadrados ponderados (WLS), donde el término  $\omega_i$  es un factor de ponderación y permite a la función objetivo ( $\text{Obj}_{\text{WLS}}$ ) ponderar la calidad de las observaciones obtenidas, dando mayor relevancia a las más precisas y penalizando a aquellas que poseen mayor error (variabilidad).

$$OBJ_{WLS}(\theta, y) = \sum_{i=1}^N \omega_i (y_i - f(\theta, x_i)) \quad \text{Ecuación 3.54}$$

Algunos autores (Sheiner et al. 1980) sugieren que la ponderación  $\omega_i$  debería ser elegida como la inversa de la varianza de las concentraciones plasmáticas. En realidad, debido a que se desconoce la magnitud relativa de la variabilidad del dato analizado, ésta es una buena aproximación.

Para sistemas heterocedásticos, un método de estimación que presenta buenas propiedades cuando los datos son normalmente distribuidos y la función de varianza está correctamente especificada, es la regresión no lineal por mínimos cuadrados expandidos (ELS). Este método estima simultáneamente  $\theta$ ,  $\varepsilon$  y  $\sigma^2$ , mediante la minimización de la siguiente función objetivo ( $Obj_{ELS}$ ):

$$Obj_{ELS}(\theta, \varepsilon, \sigma^2) = \sum_{i=1}^n \left( \frac{(y_i - f(\theta, x_i))^2}{\sigma^2 f(\theta, x_i)^\varepsilon} + \ln(\sigma^2 f(\theta, x_i)^\varepsilon) \right) \quad \text{Ecuación 3.55}$$

Este método permite optimizar simultáneamente los parámetros del modelo y su variabilidad interindividual y residual.

La estimación por mínimos cuadrados extendidos es recomendable para el análisis de los datos farmacocinéticos individuales, siempre que se asuma una distribución normal de los errores (Sheiner et al. 1980; Metzler 1987). Una limitación que impide la aplicación de los ELS, en la rutina de trabajo, es que se requiere un software especializado para minimizar la función objetivo. En este sentido, algunos autores proponen el método de los mínimos cuadrados generalizados (GLS) que realiza la estimación de  $\theta$ ,

$\varepsilon$ , y  $\sigma^2$  en dos etapas y permite su implementación en software estándar de regresión no lineal, como por ejemplo: ADAPT<sup>®</sup> (Giltinan et al. 1989).

Muchos de estos métodos de estimación son sensibles a valores extremos en la distribución de los datos, lo que ha llevado al desarrollo de los denominados métodos “robustos” de ajuste no lineal entre los que destaca el método de mínimos cuadrados iterativamente reponderados (IRLS), en el que se puede definir la ponderación como una función del parámetro en cada iteración (Metzler 1987).

Para el ajuste por mínimos cuadrados se pueden utilizar diferentes algoritmos para minimizar la función objetivo. Cada uno de estos algoritmos presenta sus peculiaridades (Caceci et al. 1984). En general los algoritmos de optimización utilizan una aproximación iterativa (ensayo-error) para lo que requieren unas estimas iniciales que sirvan de punto de partida para la búsqueda en el espacio paramétrico definido por el modelo. A partir de este punto, el algoritmo utiliza un procedimiento de búsqueda con el fin de seleccionar las estimaciones de los parámetros que minimicen la función objetivo. Este proceso de búsqueda cesa cuando se alcanza el valor mínimo, o punto de convergencia. Este punto corresponde con la menor suma de cuadrados de residuales ponderados de la variable dependiente; en nuestro caso, la concentración  $y_i$ .

Generalmente, en función del proceso de búsqueda utilizado se distinguen los algoritmos de gradiente y los algoritmos de búsqueda directa. Estos algoritmos más que alternativos son complementarios, puesto que cada uno de ellos es idóneo para un tipo de problemas o situaciones. Así, de forma general, mientras los algoritmos de gradiente son más precisos para

localizar el mínimo, los algoritmos de búsqueda directa son más potentes para localizar la zona del espacio en la cual se encuentra.

El método de Nelder-Mead, conocido también como Downhill Simplex, es un algoritmo de búsqueda directa. Este método genera un espacio paramétrico de  $n+1$  dimensiones, siendo  $n$  el número de parámetros a estimar. Inicialmente, se evalúa la función objetivo a partir de las estimas iniciales de los parámetros del modelo y, posteriormente, de forma arbitraria (simple) en  $n$  vértices cualesquiera del espacio paramétrico, que habitualmente son cada uno de los vértices de las proyecciones sobre el espacio paramétrico. De esta forma se consigue evaluar la función objetivo en  $n+1$  vértices y se descarta el vértice de mayor valor de función objetivo. Entre el vértice descartado y el resto de vértices se establece un gradiente geométrico para localizar un nuevo vértice. Así, se dispone nuevamente  $n+1$  vértices, se completa la primera iteración y sigue la segunda iteración mediante el mismo proceso. En cada iteración, la búsqueda del nuevo vértice, mediante técnicas geométricas predefinidas, queda restringida a una región del espacio paramétrico menor. Finalmente, el método converge y se encuentra una estimación de los parámetros del modelo.

Este método geométrico ha demostrado importantes ventajas como son la gran potencia para localizar la ubicación del mínimo de la función objetivo en el espacio paramétrico y la imposibilidad de divergencia. Al tratarse de un algoritmo de búsqueda geométrico no es necesaria la utilización del cálculo infinitesimal con lo que se evitan los errores de redondeo en el cálculo de derivadas o diferenciales y posibilita el manejo de funciones discontinuas y/o funciones no derivables en algún punto. En

definitiva, se trata de un algoritmo de minimización que resulta fiable y práctico cuando el número de parámetros a estimar no es superior a diez, pero carece de precisión en casos más complejos (Nelder et al. 1965).

Los algoritmos de búsqueda descendente ajustan los valores de los parámetros según el gradiente de la superficie de respuesta existente entre la estimación inicial del parámetro y el verdadero valor del mismo. Para ello es necesario realizar menos iteraciones que los algoritmos geométricos pero, por el contrario requiere el cálculo de las primeras derivadas de las sumas de los cuadrados. Los algoritmos de búsqueda por gradientes escalonados descendentes ajustan secuencialmente cada uno de los parámetros del modelo. A partir de la estima inicial de un parámetro, buscan en su entorno la dirección y el sentido (el gradiente) que permite alcanzar el mínimo, avanzan hacia él, se detienen y comienzan con otro parámetro. Cuando se ha repetido el proceso con todos los parámetros, entonces se ha completado la primera iteración y comienza la segunda hasta que los valores de todos los parámetros sean estables. Este método es bastante eficaz y fácil de programar pero es muy lento especialmente cuando hay muchos parámetros a estimar. Otro inconveniente es la propensión a "rebotar" en los alrededores de la respuesta verdadera, a veces, sin reconocerla. Además, la efectividad de estos algoritmos está condicionada por la estimación inicial del parámetro, de tal forma que si ésta es incorrecta fácilmente se puede encontrar un mínimo local o relativo (falso mínimo).

El algoritmo de Newton-Raphson es un algoritmo de búsqueda descendente complejo pero relativamente rápido. Este algoritmo varía los parámetros hasta que la derivada parcial de la suma de cuadrados se acerque

lo suficiente a cero. En cada iteración calcula el gradiente de cada parámetro mediante el producto de la inversión matricial de las segundas derivadas de la función objetivo respecto cada uno de los parámetros y las primeras derivadas. Algunas veces presenta faltas de convergencia en la solución debido a errores en el cálculo de las derivadas y en la inversión matricial, sobre todo si no se realizan los cálculos con doble precisión.

El algoritmo de Marquardt-Levenberg es un algoritmo de gradiente descendente que evalúa la primera y la segunda derivada de la función objetivo con respecto a una solución propuesta o elegida. Esta información se usa para determinar el gradiente del parámetro para alcanzar una mejor solución. En sentido matemático, es una mezcla entre los dos métodos anteriormente citados.

El método Gauss-Newton es algoritmo de gradiente caracterizado por su rapidez en la resolución de las derivadas de la función objetivo, puesto que se aproxima al modelo mediante función lineal, primer término de las series de Taylor. Ahora bien la efectividad del algoritmo está condicionada a la linealidad de los parámetros, de tal forma que cuanto más alejado esté el modelo de la linealidad peor son las estimaciones obtenidas con este algoritmo y mayor lentitud en alcanzar la convergencia.

La mayoría de algoritmos pueden converger en un mínimo local como una estimación óptima. Esto puede suceder cuando la complejidad del modelo aumenta, como en el caso de modelos bicompartimentales. En estos casos es posible que una combinación inusual de valores de parámetros, condicione un falso buen ajuste. Además, no existe la garantía de que la convergencia sea la mejor estimación global. Quizá un procedimiento

práctico y simple sea realizar varias búsquedas aleatorias en el espacio paramétrico, es decir, partir de diferentes estimas iniciales y comprobar si todas ellas confluyen en un mismo mínimo global o bien en diferentes mínimos locales.

Hay que tener en cuenta que todo ajuste no lineal parte de unos parámetros iniciales (generalmente de la población) hacia otros que expliquen con mayor fidelidad los datos experimentales (concentraciones plasmáticas). En este proceso se desestima la información previa de la población, y se suple con la información individual del paciente. Por tanto, este método requiere una precisa y abundante información, es decir muchas concentraciones plasmáticas, para proveer una buena estimación de los parámetros farmacocinéticos. Así, este procedimiento necesita al menos un valor de concentración plasmática por cada parámetro que deba ser ajustado (por ejemplo, dos concentraciones plasmáticas para determinar volumen de distribución y aclaramiento); pero, además, la variabilidad de las observaciones necesita determinaciones adicionales (para determinar el error de muestreo, o el error analítico, etc.), usualmente tres o cuatro para una buena precisión.

### **3.3.4 Análisis farmacocinético poblacional**

El análisis farmacocinético en grupos de población implica un cambio de referencia del individuo a la población y exige un cambio en la metodología utilizada en su estudio. Tanto en su vertiente experimental como clínica, los análisis farmacocinéticos, clásicamente, han estudiado el comportamiento de los fármacos en el individuo con el objetivo de determinar los parámetros asociados a un modelo determinístico, capaz de

describir la evolución temporal de las concentraciones del fármaco. La experiencia acumulada en este tipo de estudios evidencia la gran variabilidad existente en los procesos farmacocinéticos a la cual se había prestado escasa atención hasta hace poco más de 15 años.

El análisis de la variabilidad farmacocinética se limitaba a una simple descripción mediante métodos estadísticos estándar de los resultados obtenidos en series de estudios individuales. Sin embargo, la incorporación de la metodología bayesiana a la farmacocinética clínica para el control adaptado de la respuesta farmacocinética y, la cada vez mayor necesidad de individualización posológica de los fármacos con estrecho ámbito terapéutico, en distintos grupos de población, justificó la necesidad de conocer no sólo la tendencia central de la respuesta farmacocinética en los individuos de la población, sino también la variabilidad intraindividual e interindividual (Colburn et al. 1988; Rodriguez 1996).

En este contexto, el análisis farmacocinético en grupos de poblaciones tiene como objetivo determinar la tendencia central del comportamiento cinético de los medicamentos en la población de pacientes donde se administran, y cuantificar su variabilidad, inter e intraindividual, en función de una serie de parámetros de efecto fijo y otros de efecto aleatorio, que permitan alcanzar la individualización posológica con un mayor conocimiento de los factores que explican la variabilidad en la respuesta. En un sentido más amplio, la farmacocinética poblacional puede definirse como el estudio de la variabilidad de las concentraciones plasmáticas o el efecto farmacológico entre los distintos individuos que reciben pautas posológicas normalizadas (Mandema 1995). El desarrollo del

análisis farmacocinético en grupos de pacientes tiene una serie de objetivos que a modo de resumen se exponen a continuación:

- Determinar el comportamiento farmacocinético medio del fármaco en el grupo de población considerada.
- Identificar los factores que condicionan su farmacocinética.
- Caracterizar el comportamiento cinético de los individuos de forma individual.

#### 3.3.4.1 Tipos de variabilidad

Los estudios sobre disposición de fármacos, en amplios grupos de población, informan de la variabilidad de los parámetros farmacocinéticos con mayor rigor que los procedentes de las fases II y III de los ensayos clínicos. Si el grupo de estudio es homogéneo, en cuanto a las características que influyen en la disposición del fármaco, para cada parámetro farmacocinético se obtiene un valor que tipifica al grupo. Este valor representativo, independientemente del método seguido para su estimación, se denomina valor típico poblacional del parámetro (media).

De igual manera, es importante conocer la magnitud de la diferencia entre el parámetro farmacocinético poblacional individual y el valor típico poblacional. Esta medida de dispersión interindividual (desviación estándar) cuantifica la variabilidad poblacional de los parámetros farmacocinéticos estudiados.

Es obvio que una fuente de variabilidad importante se debe a la existencia de diferencias interindividuales. Generalmente, se asume que el

comportamiento farmacocinético puede ser caracterizado mediante un modelo estructural común a todos los individuos de una población. Ahora bien, el valor del vector de los parámetros del modelo puede diferir entre los distintos individuos de la población. Este hecho puede expresarse matemáticamente de la siguiente forma:

$$\phi_i = g(\theta, x_i) + \eta_i \quad \text{Ecuación 3.56}$$

donde  $g$  es una función matemática conocida que describe el valor de  $\phi_i$  en función del vector de parámetros de tendencia central de la población  $\theta$  (valor típico poblacional) y las covariables específicas del individuo  $x_i$ , como la edad el peso, o el estado fisiopatológico entre otras; y  $\eta_i$  representa la vibración aleatoria del vector de parámetros individuales alrededor del valor típico poblacional y se asume que es independiente entre los distintos individuos. Esta medida de dispersión interindividual  $\eta_i$ , permite cuantificar la variabilidad interindividual de los parámetros estudiados. Para una mayor simplicidad, durante el desarrollo del modelo farmacoestadístico poblacional se ha asumido que las covariables específicas de cada individuo permanecen constantes tanto entre los individuos como en el tiempo dado que los individuos pertenecen a un grupo de población muy homogéneo.

De la misma importancia que la variabilidad interindividual es el conocimiento de la variación intraindividual de un determinado parámetro farmacocinético. Para cuantificar estas variaciones se utiliza la varianza intraindividual de los parámetros farmacocinéticos poblacionales.

Según lo expuesto, el término de farmacocinética poblacional se podría aplicar a aquellos estudios que investigan la variabilidad en las

concentraciones plasmáticas entre los individuos cuando se administra un régimen de dosificación estándar (Aarons 1991).

Resumiendo, la variabilidad total observada en los datos farmacocinéticos se puede desglosar en dos tipos de variabilidades (Sheiner 1985).

- Variabilidad que se correlaciona con variables independientes o de efecto fijo. Este tipo de variabilidad se cuantifica mediante coeficiente de regresión o “parámetros de efecto fijo”, y para su estudio se elaboran modelos estructurales.
- Variabilidad aleatoria residual, que se cuantifica mediante “parámetros de efecto aleatorio”. Y para su estudio se elaboran modelos de varianza.

De acuerdo con estas consideraciones, la caracterización farmacocinética poblacional exige el concurso de tres tipos de parámetros poblacionales (Grasela et al. 1991).

**Parámetros de efecto fijo.** Cuantifican el comportamiento cinético medio del medicamento en la población así como las relaciones existentes entre los parámetros del modelo estructural y las características individuales de los pacientes (modelos de regresión). Estos parámetros son, por ejemplo, los valores medios de los volúmenes de distribución en una población específica o los valores de los coeficientes de regresión de la relación establecida entre el aclaramiento del fármaco y el aclaramiento de creatinina. Estos parámetros se convierten en una herramienta útil para la toma de decisiones clínicas y de investigación, ya que permiten desarrollar

una recomendación a priori de la dosificación para una población específica de pacientes.

**Parámetros de efecto aleatorio interindividual.** Cuantifican la magnitud típica de la variabilidad cinética entre los individuos de una población, es decir, describen la distribución de los valores de los parámetros individuales con respecto al valor típico poblacional. Estos parámetros quedan definidos por las varianzas o desviaciones estándar de dichas distribuciones. La magnitud de la variabilidad en un parámetro farmacocinético puede ser un indicador útil para la seguridad del fármaco. De hecho, una aproximación para definir el índice terapéutico de un medicamento administrado de forma crónica puede ser la relación entre el ámbito de concentraciones plasmáticas en estado estacionario y el valor de la variabilidad interindividual del aclaramiento. A partir de esta definición, se pueden identificar situaciones en las que sea necesario la monitorización y ajuste de dosis de los pacientes. Así, en dos poblaciones con los mismos valores medios de parámetros farmacocinéticos, pero con diferentes grados de variabilidad interindividual, al administrar una misma dosis estándar se obtendrán efectos farmacológicos con mayor variabilidad en la población con mayor variabilidad cinética en sus parámetros. Por esta razón, los parámetros de efecto aleatorio interindividual permiten evaluar la incertidumbre, cinética o dinámica, asociada a una recomendación posológica realizada, tanto a priori como a posteriori, en un individuo que pertenece a la población para la cual se ha caracterizado su comportamiento cinético. Desde el punto de vista del diseño experimental, estos parámetros son los principales determinantes del tamaño de la muestra de pacientes

pertenecientes a la población de estudio necesarios para la correcta caracterización del comportamiento poblacional.

**Parámetros de efecto aleatorio intraindividual.** Cuantifican la magnitud de la variabilidad residual, incluyendo, entre otras, la variabilidad cinética intraindividual, el error de la técnica analítica, el error en la selección del modelo, el error en los tiempos de muestreo, etc. Estos componentes de la varianza residual no se pueden estimar fácilmente por separado, ya que para ello se necesitaría un número importante de datos clínicos suficientemente detallados y completos. Su principal utilidad reside en poder detectar la fuente de error y su magnitud.

### 3.3.4.2 Modelos farmacoestadísticos

Un modelo farmacoestadístico es un modelo de regresión suma de un modelo estructural y otro de varianza.

Un modelo estructural debe permitir identificar la variabilidad de la respuesta cinética atribuible a cambios en una o más variables independientes (efectos fijos); se puede representar como:

- Modelo estructural intraindividual:

$$y_i = f(\theta, x_i) + \varepsilon_i \quad \text{Ecuación 3.57}$$

- Modelo estructural interindividual:

$$\theta_j = g(\phi, x_i) + \eta_j \quad \text{Ecuación 3.58}$$

donde  $x$  es el vector de efectos fijos,  $\theta$  es el vector de parámetros farmacocinéticos,  $i$  es la  $i$ -ésima respuesta cinética observada en el individuo

$j$ ,  $\varepsilon$  y  $\eta$  son los efectos aleatorios residuales (intra e interindividuales respectivamente), que por definición son independientes, se distribuyen de forma normal con un valor medio de cero y varianzas  $\sigma_\varepsilon^2$  y  $\omega_\varepsilon^2$  respectivamente, y  $\phi$  es el vector de parámetros poblacionales.

Por ejemplo, para el modelo estructural intraindividual, el valor esperado de  $y_i$  (concentraciones plasmáticas) se obtiene en función de un modelo estructural  $f$  (por ejemplo: modelo monocompartimental) que comprende el vector de las variables independiente  $x_i$  (el tiempo, la dosis, etc.) y el vector de los parámetros del modelo  $\theta$  (por ejemplo: constante de eliminación y volumen de distribución).

En la mayoría de los modelos farmacocinéticos, la variabilidad y/o error asociado a un valor de concentración plasmática no es igual, por lo que al ajustar un determinado modelo, se debe tomar en consideración la posible falta de homogeneidad de la variabilidad, a fin de evitar estimaciones sesgadas de los parámetros farmacocinéticos. Este aspecto es fundamental ya que tanto la concentración plasmática del fármaco como el error implicado en su determinación pueden pertenecer a ámbitos muy amplios de valores.

Por lo que es fundamental establecer la evolución del error o la varianza de los datos paralelamente con su modificación cuantitativa. En este sentido, un modelo de varianza, debe cuantificar la variabilidad residual atribuible a variables aleatorias (efectos aleatorios); se puede representar de la siguiente forma:

- Modelo de varianza intraindividual:

$$\text{var}(\varepsilon_i) = \sigma^2 v(x_i, \theta, \xi) \quad \text{Ecuación 3.59}$$

- Modelo de varianza interindividual:

$$\text{var}(\eta_i) = \omega^2 h(x_i) \quad \text{Ecuación 3.60}$$

donde  $\sigma$  y  $\omega$  son parámetros de efecto aleatorio, y  $\xi$  el vector con parámetros específicos del modelo de varianza que no intervienen en el estructural.

Por tanto, los modelos de varianza permiten conocer la relación existente entre las concentraciones plasmáticas y su varianza para los distintos valores de  $x$ . Son generalmente, empíricos y se refieren como una función potencial:

$$C_i = \sigma^2 f(\theta, x_i)^\xi \quad \text{Ecuación 3.61}$$

Si  $\xi = 0$  la varianza es constante, por lo que todas las observaciones son conocidas con igual certeza. Se dice que el modelo es homocedástico.

Si  $\xi = 1$  la varianza de las observaciones varía según la magnitud de las mismas, la varianza es proporcional a la media. Se dice que el modelo es heterocedástico.

Si  $\xi = 2$  las observaciones presentan un coeficiente de variación constante, siendo éste un caso particular del anterior.

Por tanto, coexisten un modelo estructural y uno de varianza intraindividual que servirán para identificar y cuantificar la variabilidad intraindividual y que constituyen el “modelo de regresión individual”. Del mismo modo, coexisten un modelo estructural junto con otro de varianza

interindividuales que constituyen el “modelo de regresión poblacional” que identificará y cuantificará la variabilidad interindividual.

De forma general, para la variabilidad residual (diferencia entre la concentración observada en un individuo y la estimada, suponiendo “verdaderos” los parámetros farmacocinéticos individuales) se considera que la relación entre la  $C_p$  observada y la  $C_p$  estimada cumple con la siguiente ecuación:

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* + \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 3.62}$$

siendo  $Cp_{ij}$  la concentración experimental  $i$  en el individuo  $j$ ;  $Cp_{ij}^*$  la concentración estimada  $i$  en el individuo  $j$  y  $\varepsilon_{ij}$  el error residual (experimental) que afecta a  $Cp_{ij}$ , que como ya se ha dicho se asume que presenta una distribución normal de media cero y varianza  $\sigma_\varepsilon^2$  [ $\varepsilon_{ij} = N(0, \sigma_\varepsilon^2)$ ].

El modelo estadístico para la variabilidad residual describe la naturaleza de la interacción entre el término error  $\varepsilon$ , y la concentración plasmática experimental.

El modelo de error aditivo, asume el error residual  $\varepsilon$ , independiente de  $Cp_{ij}$  y por tanto de igual magnitud para todas las concentraciones plasmáticas de ese individuo y para todos los individuos de la población. En este modelo, la varianza del error residual es igual a una constante.

$$\sigma_\varepsilon^2 = a \quad \text{Ecuación 3.63}$$

Para el modelo de error proporcional, de valor de  $\varepsilon_{ij}$  depende de la concentración plasmática, ya que la varianza del error residual (*ecuación*

3.56) es el producto de la concentración plasmática por el factor de proporcionalidad (a, coeficiente de variación).

$$\sigma_{\varepsilon}^2 = a \cdot Cp_{ij}^* \quad \text{Ecuación 3.64}$$

En muchos casos  $\varepsilon_{ij}$  se modela de forma aditiva al logaritmo de las concentraciones:

$$\ln(Cp_{ij}) = \ln(Cp_{ij}^*) + \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 3.65}$$

o de otra forma

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* \cdot e^{\varepsilon_{ij}} \quad \text{Ecuación 3.66}$$

de este modo, el error entre la concentración observada y predicha aumenta en proporción a la concentración medida y la desviación estándar del error es aproximadamente el coeficiente de variación de la concentración (Grasela et al. 1983).

Así pues, las ecuaciones que representan las concentraciones plasmáticas según el modelo de error residual definido son:

- Modelo aditivo:

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* + a \quad \text{Ecuación 3.67}$$

- Modelo proporcional:

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* (1 + a) \quad \text{Ecuación 3.68}$$

- Modelo potencial:

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^{*a} \quad \text{Ecuación 3.69}$$

- Modelo exponencial:

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* \cdot e^a \quad \text{Ecuación 3.70}$$

Paralelamente, al considerar la variabilidad interindividual de los parámetros observados, el valor típico poblacional del parámetro farmacocinético puede no coincidir con el observado en un individuo determinado. Esta diferencia se puede expresar mediante la ecuación:

$$P_j = P + \eta_j \quad \text{Ecuación 3.71}$$

siendo  $P$  el valor típico del parámetro,  $P_j$  el parámetro en el individuo  $j$  y  $\eta_j$  la desviación del parámetro en el individuo  $j$ , que presenta una distribución normal de media cero y varianza  $\omega_\eta^2$  [ $\eta_{ij} = N(0, \omega_\eta^2)$ ].

La formulación del modelo estadístico para la variabilidad interindividual describe asimismo, la naturaleza de la interacción entre el término  $\eta$  y el valor típico poblacional de los parámetros.

Según el modelo de error aditivo,  $\eta$  se suma al valor típico poblacional y su varianza permanece constante:

$$\omega_\eta^2 = a \quad \text{Ecuación 3.72}$$

Según el modelo de error proporcional, la varianza del parámetro farmacocinético individual aumenta al aumentar el valor del parámetro poblacional:

$$\omega_\eta^2 = a \cdot P \quad \text{Ecuación 3.73}$$

Al igual que antes,  $\eta_j$  se puede modelar de forma aditiva al logaritmo de los parámetros:

$$\ln(\theta_j) = \ln(\theta^*) + \eta_j$$

Ecuación 3.74

de esta forma los parámetros individuales son siempre mayores que cero y si la distribución de los errores es simétrica, la gráfica de la distribución de los parámetros individuales está sesgada hacia la derecha (Sheiner et al. 1980).

Si la población es homogénea, el modelo de error para la variabilidad interindividual, es generalmente aditivo(Grasela et al. 1991).

### 3.3.4.3 Métodos de estimación de parámetros poblacionales.

El análisis de la respuesta farmacocinética en una población requiere unos métodos de estudio especiales que permitan una estimación lo más exacta y precisa de los parámetros poblacionales, tanto de efecto fijo como de efecto aleatorio inter e intraindividual. Desde un punto de vista estadístico, los métodos de estudio poblacional se pueden clasificar en función de las asunciones realizadas acerca de la distribución de probabilidad de los parámetros farmacocinéticos. Así, los *métodos paramétricos* asumen una distribución de probabilidad conocida, generalmente una distribución normal o normal-logarítmica, de la cual se desconocen sus características (primer y segundo momento) que podrán ser estimadas por el investigador basándose en la teoría de máxima verosimilitud. Los *métodos no paramétricos* no realizan asunción alguna acerca de la distribución de los datos y el investigador tendrá que estimar la función de distribución de probabilidad conjunta, para a continuación, derivar los valores de las variables estadísticas de interés, *cuadro3.5*. Otra clasificación es agrupar los métodos en función de la forma en que se realiza

la estimación de los parámetros poblacionales, es decir, métodos en una etapa y métodos en dos etapas.

| <b>MÉTODOS PARAMÉTRICOS</b>  | <b>MÉTODOS NO PARAMÉTRICOS</b>  |
|--|---|
| <p><b>A.1. Métodos simples de datos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Método simple promedio de datos</li> <li>- Método simple de combinación de datos</li> </ul> <p><b>A.2. Métodos en dos etapas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Método estándar</li> <li>- Método global</li> <li>- Método iterativo</li> <li>- Método de filtrado no lineal</li> </ul> <p><b>A.3. Modelo no lineal de efectos mixtos</b></p> | <p><b>B.1. Método no paramétrico de máxima verosimilitud</b></p> <p><b>B.2. Método no paramétrico de máxima expectación</b></p> <p><b>B.3. Método no paramétrico uniforme de máxima verosimilitud</b></p> |

**Cuadro 3.5.** Clasificación de los métodos de estudio poblacional

#### 3.3.4.3.1 *Métodos paramétricos*

Los métodos paramétricos han sido y siguen siendo, los más empleados en los estudios de farmacocinética poblacional. Esto se debe principalmente a la complejidad y escasa disponibilidad de programas que implementen los algoritmos no paramétricos, en contraste con la relativa simplicidad y amplia divulgación de los métodos paramétricos. Dentro de ellos, se han utilizado tradicionalmente el método promedio simple de datos y el método estándar en dos etapas. No obstante, en la actualidad el modelo no lineal de efectos mixtos propuesto por Sheiner y Beal (Sheiner et al. 1977) es el método de referencia en el análisis farmacocinético en amplios grupos de población.

El mayor inconveniente de los métodos paramétricos radica en la asunción de una distribución de probabilidad de los parámetros farmacocinéticos que puede no corresponderse con la verdadera, al no contemplar posibles desviaciones tales como multimodalidades, asimetrías, valores extremos, etc. Esta posibilidad justifica la necesidad de realizar una

exploración gráfica de los datos y verificar la validez de las asunciones estadísticas mediante técnicas estándar, como puedan ser las pruebas de normalidad (Dodge et al. 1991; Rodriguez 1996; Karlsson et al. 1998).

#### **3.3.4.3.1.1 Métodos simples de datos (Naïve averaging of data-NAD/Naïve pooled data-NPD)**

La base de estos métodos radica en la elaboración de un *individuo poblacional* que representa el comportamiento medio poblacional, mediante la combinación de los datos individuales de los pacientes estudiados. El *método simple promedio de datos* (NAD) puede aplicarse cuando los datos individuales se obtienen tras la administración del mismo esquema de dosificación y obtención de muestras, de manera que para cada valor de tiempo se obtenga una observación que será la media (o la mediana) de las realizadas a los individuos de la población. El *método simple de combinación de datos* (NPD) puede aplicarse a datos individuales obtenidos tras la administración de distintos esquemas de dosificación y obtención de muestras, de forma que el sujeto poblacional se elabora al combinar los datos disponibles.

Al aplicar cualquiera de estos métodos simples implícitamente se pierde la información acerca de la variabilidad interindividual. Esta queda englobada en la variabilidad residual, que representa la variabilidad total del sistema. La omisión de la variabilidad interindividual simplifica el problema de la estimación de los parámetros poblacionales. De esta forma, los parámetros poblacionales a estimar son: *explícitamente*, los parámetros de efecto fijo, e *implícitamente*, el parámetro de efecto aleatorio total. La estimación de los parámetros se realiza mediante regresión no lineal (generalmente, por mínimos cuadrados, ponderados o no) y la función

objetivo se minimiza respecto a los parámetros de efecto fijo, al ser estos los únicos parámetros a estimar de forma explícita. La obtención del parámetro de efecto aleatorio total se puede obtener de forma implícita mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma_{\eta+\varepsilon}^2 = \frac{FMO_{NPD}}{\sum_{i=1}^N n_i - p} \quad \text{Ecuación 3.75}$$

donde  $FMO_{NPD}$  es el valor de la función mínima objetiva del método simple de combinación de datos,  $\sigma_{\eta+\varepsilon}^2$  es el parámetro de efecto aleatorio total,  $N$  es el número de individuos de la muestra,  $n_i$  es el número de observaciones realizadas en el individuo  $j$ , y  $p$  es el número de parámetros de efecto fijo del modelo estructural. A partir de este valor y el modelo estructural se puede obtener una aproximación del error estándar de estimación de los parámetros farmacocinéticos de efecto fijo, similar a la empleada en el análisis individual (Sheiner et al. 1981).

Estos métodos presentan importantes limitaciones a tener en cuenta y que pueden conducir a resultados sesgados (Mandema 1995). Así, los datos utilizados en estos métodos, generalmente, no cumplen varios de los postulados estadísticos requeridos para la correcta aplicación de los métodos de regresión no lineal en base a la teoría de máxima verosimilitud. Por otro lado, la existencia de una variabilidad interindividual mediada por alguna covariable no contemplada en el modelo estructural, el enmascaramiento de las características individuales al promediar los datos, y la presencia de datos no balanceados en todos los individuos. Además, la no linealidad entre los parámetros de efecto fijo y los parámetros de efecto aleatorio interindividual con respecto a las observaciones, y la interacción existente

entre la variabilidad interindividual y la variabilidad residual puede llevar a una estimación sesgada de la variabilidad de las predicciones realizadas.

Su mayor aplicación se encuentra en estudios experimentales controlados con individuos homogéneos; sin embargo, estas condiciones tan restrictivas para su aplicación no implican que los resultados obtenidos queden exentos del error inherente al método de estimación (Kataria et al. 1994). Por este motivo, es necesaria la validación de los resultados obtenidos con el fin de confirmar si las estimaciones de los valores de los parámetros son aceptables.

Por otra parte, la imposibilidad de discernir la variabilidad interindividual e intraindividual limita su aplicabilidad desde el punto de vista poblacional porque los parámetros de efecto aleatorio son imprescindibles para conocer el grado de certeza en la predicción del comportamiento individual, fundamentalmente, cuando este se utiliza en el ajuste de regímenes de dosificación mediante la metodología bayesiana (Rodríguez 1996).

La principal ventaja de estos métodos es su simplicidad, tanto desde el punto de vista teórico como práctico, ya que es posible desarrollar este método de estimación de parámetros poblacionales en programas de ajuste de datos por regresión no lineal como son PC-NONLIN o Win-NONLIN (Metzler et al. 1974), ADAPT, y AbbottPKS. No obstante, los inconvenientes anteriormente citados cuestionan actualmente su utilidad, por lo que su empleo es muy limitado. En cualquier caso, estos métodos son considerados como el punto de partida de un estudio poblacional, en busca

de estimaciones iniciales de los parámetros de efecto fijo para otros métodos más complejos.

#### **3.3.4.3.1.2 Métodos en dos etapas**

En el ámbito de los estudios poblacionales, los métodos en dos etapas han sido los métodos más extensamente empleados y divulgados, y cuyos resultados han sido más contrastados entre los investigadores. Este hecho se debe tanto a su simplicidad teórica como a su fácil implementación mediante el empleo de numerosos programas estadísticos ampliamente distribuidos.

En estos métodos, el análisis de los datos se realiza, como su nombre indica, en dos etapas. En la primera, se obtienen los parámetros individuales, generalmente mediante técnicas de regresión no lineal. De esta forma se obtienen  $N$  vectores individuales  $\phi_i$  junto con sus  $N$  matrices de varianza-covarianza individuales  $M_i$  asociadas, las cuales contienen la información acerca de la calidad de las estimaciones individuales obtenidas. En la segunda etapa, se combinan las estimaciones obtenidas en la primera etapa para obtener la función de distribución de estos parámetros. En este método es posible estimar los parámetros de efecto fijo de los modelos de regresión que cuantifican la influencia de posibles covariables como la edad, el peso, el aclaramiento de creatinina, entre otras, en el comportamiento farmacocinético. Para ello es posible utilizar desde técnicas tan simples como la regresión lineal, simple o múltiple, hasta los modelos lineales generalizados, pasando por las técnicas de regresión no paramétrica.

##### **3.3.4.3.1.2.1 Método estandar en dos etapas (Standard two-stage method-STS)**

Entre los métodos en dos etapas, el método estándar (STS) es una técnica utilizada frecuentemente en el análisis de datos experimentales. Así, en primer lugar se estiman los parámetros individuales del modelo estructural seleccionado a partir de los datos experimentales obtenidos de cada individuo. Para ello, generalmente, se utiliza la regresión no lineal por mínimos cuadrados ponderados o no. En la segunda etapa, se caracterizan los dos primeros momentos de la distribución de los parámetros poblacionales mediante un análisis estadístico descriptivo, en el que habitualmente se utiliza la media de los valores obtenidos para cada parámetro, como estimación de la tendencia central del parámetro poblacional  $\Phi_{STS}$ , y la varianza  $\Omega_{STS}$ , como medida del grado de dispersión de los valores individuales alrededor del valor medio poblacional.

$$\Phi_{STS} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \hat{\phi}_i \quad \text{Ecuación 3.76}$$

$$\Omega_{STS} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (\hat{\phi}_i - \Phi) \cdot (\hat{\phi}_i - \Phi)^t \quad \text{Ecuación 3.77}$$

donde  $\phi_{STS}$  es una estimación del vector de los parámetros poblacionales medios. Si existen  $Q$  parámetros,  $\Omega$  es la matriz de varianza-covarianza de dimensiones  $Q \times Q$  que cuantifica la distribución de los parámetros individuales alrededor de la media poblacional.  $N$  es el total de los individuos de la muestra, que frecuentemente se reemplaza por  $N-Q$  en las ecuaciones anteriores, especialmente, si la muestra utilizada para caracterizar el comportamiento poblacional es inferior a 30 individuos.

La correcta aplicación del método *STS* exige disponer de datos experimentales y por tanto, es necesario obtener un importante número de

muestras por individuo, circunstancia que limita su utilización en diseños experimentales que contemplen datos observacionales procedentes de la práctica asistencial. Un número de muestras insuficientes o a tiempos inadecuados, una ponderación errónea, un inapropiado modelo estructural o la presencia de individuos cuyo comportamiento se aleje del modelo estructural general, serán factores que condicionan la calidad de los resultados. Además, al realizar estos estudios en pequeños grupos de voluntarios sanos o en pacientes seleccionados que con frecuencia no son suficientemente representativos de la población en la cual se va a utilizar el fármaco, se limita la capacidad predictiva de las estimaciones poblacionales en la práctica clínica (Sheiner et al. 1981).

Las ventajas más sobresalientes de este método son su simplicidad teórica y práctica, y la posibilidad de discernir entre variabilidad inter e intraindividual. Es un método bien conocido, del que se dispone de numerosos programas informáticos para el análisis de los datos, y del cual se ha comprobado que el STS proporciona buenas estimaciones de los parámetros poblacionales cuando se estudia un número muy amplio de individuos con exhaustivos muestreos. Por este motivo, este método se utiliza frecuentemente para establecer comparaciones con otros métodos superiores.

#### 3.3.4.3.1.2.2 Método global en dos etapas (global two stage method-GTS)

Este método fue desarrollado por Steimer et al. en 1984 (Steimer et al. 1984), y considera que los valores de los parámetros obtenidos en la primera etapa son estimaciones imprecisas de los verdaderos parámetros del

individuo. Esta es la principal diferencia respecto al método estándar en dos etapas.

En este método, el análisis individual de la primera etapa se realiza de la misma forma que en el método estándar; sin embargo, como quiera que la estimación de un parámetro cualquiera, en un individuo, puede desviarse ampliamente de su valor real, especialmente en condiciones de un pobre diseño experimental o con un componente alto de variabilidad residual, la matriz de varianza-covarianza asintótica de los parámetros del individuo  $j$ -ésimo,  $M_j$ , se considera como una medida cuantitativa de la imprecisión en la estimación de estos parámetros. Esta circunstancia permite asumir que el parámetro estimado se distribuye normalmente alrededor del verdadero parámetro individual con una varianza  $M_j$ . De esta forma, en la obtención de los parámetros poblacionales, la contribución de cada estimación individual se encuentra ajustada por su precisión.

Por tanto, en la segunda etapa se considera que el valor observado con mayor frecuencia será el valor poblacional medio, y la variabilidad observada en los datos será la suma de la variabilidad interindividual y la variabilidad intraindividual. Si la variabilidad interindividual, representada por la matriz de varianza-covarianza poblacional, se expresa como  $\Omega$ , y la variabilidad residual, representada por las matrices de varianza-covarianza de cada sujeto, es  $M_j$ , la variabilidad de los parámetros individuales puede expresarse:

$$E(\hat{\phi}_j) = \Phi \quad \text{Ecuación 3.78}$$

$$\text{Var}(\hat{\phi}_j) = M_j + \Omega \quad \text{Ecuación 3.79}$$

Las  $N$  estimaciones individuales de los parámetros individuales se consideran como pseudobservaciones del modelo estadístico, por lo que la minimización de la función objetivo representada en la *ecuación 3.72*, permite estimar los parámetros de tendencia central y variabilidad interindividual de la población.

$$OBJ_{GTS} = \sum_{j=1}^N \left[ (\hat{\phi}_j - \Phi) \cdot (M_j + \Omega)^{-1} \cdot (\hat{\phi}_j - \Phi)^t + \ln \det(M_j + \Omega) \right]$$

Ecuación 3.80

Esta función objetivo consta de un término, idéntico al empleado en los mínimos cuadrados, que es el sumatorio de las diferencias al cuadrado entre la estimación del parámetro individual y el valor esperado en la población. Sin embargo, este sumatorio se encuentra ponderado por la inversa de la matriz de varianza-covarianza y, de esta forma, se obtienen unas estimaciones más refinadas de los parámetros poblacionales que con el método estándar. No obstante, la inclusión de esta ponderación, obliga a añadir un nuevo término, el logaritmo neperiano del determinante de la matriz varianza-covarianza de los datos observados, con el fin de evitar que ésta tienda a infinito.

#### 3.3.4.3.1.2.3 Método iterativo en dos etapas (Iterated two-stage method-ITS)

Este método fue desarrollado por Racine-Poon en 1985 (Racine-Poon 1985). Se trata de una aproximación bayesiana a la estimación de parámetros farmacocinéticos poblacionales en dos etapas, que trata de refinar las estimaciones poblacionales obtenidas a partir de los parámetros individuales obtenidos en la primera etapa de la misma forma que en los casos anterior.

En la segunda etapa, se obtienen las estimaciones de los parámetros poblacionales mediante el método estándar (iteración 0), que se utiliza como información a priori para minimizar en cada individuo la función objetivo.

El método iterativo constituye una menor aproximación que el GTS por lo que sus estimaciones poblacionales son probablemente más precisas y robustas (Steimer et al. 1984) aunque estas propiedades, al igual que ocurre con el GTS están todavía por demostrar y es necesario la realización de estudios comparativos con otros métodos de estimación poblacional (Rodríguez 1996). En cualquier caso, el ITS comparte la mayoría de las limitaciones vistas para los métodos en dos etapas descritos anteriormente.

#### 3.3.4.3.1.2.4 Método de filtrado no lineal (Nonlinear filtering method-NFL)

El método de filtrado no lineal (NFL), al igual que el método ITS, es un método iterativo. En cada iteración se llevan a cabo las dos etapas básicas comunes a este tipo de métodos: primero los datos individuales se analizan sujeto a sujeto y, a continuación, se obtienen unas estimaciones poblacionales más refinadas que en la iteración anterior de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\Phi_{n+1}^* = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (\phi_j^*)_n \quad \text{Ecuación 3.81}$$

$$\Omega_{n+1}^* = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N [(\phi_j^*)_n - \Phi_{n+1}^*] \cdot [(\phi_j^*)_n - \Phi_{n+1}^*] + \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (M_j^*)_n$$

$$\text{Ecuación 3.82}$$

Al inicio de cada iteración, las estimaciones poblacionales obtenidas en la iteración anterior se emplean, como estimaciones iniciales o *estado*

*inicial del filtro*. Estas, son modificadas secuencialmente para cada individuo a medida que se incorpora una observación a un tiempo determinado, de acuerdo con las ecuaciones que constituyen el filtro y de esta forma se obtienen las N estimaciones individuales de  $\phi_j^*$  y  $M_j^*$  en cada iteración (Rodríguez 1996).

A diferencia del método ITS, el método NFL obtiene las estimaciones individuales en base a la teoría denominada “*Filtering Theory*”. Las estimaciones individuales son el resultado de un filtro óptimo basado en las observaciones  $y_j$ , cuyo *estado* es el vector de parámetros a estimar. Si  $y_j$  es función lineal de los parámetros, el filtro es conocido con el nombre de *filtro de Kalman*, y en este caso, las estimaciones condicionales obtenidas de  $\phi_j^*$  por el filtrado y las estimaciones bayesianas son equivalentes. Otra diferencia con respecto a los métodos GTS e ITS es que los  $\phi_j^*$  y  $M_j^*$  son los estimadores máximo-verosímiles individuales de  $\phi$ , dado  $y_j$  y la matriz de covarianza condicional obtenida para  $y_j$ , respectivamente. Además, el método NFL emplea la media de la distribución a posteriori, mientras que el ITS utiliza la moda y el GTS una aproximación de ésta (Steimer et al. 1984).

La principal desventaja de este método radica en su escasa validación y son necesarios más estudios comparativos que permitan conocer mejor sus propiedades, ventajas y desventajas con respecto a los otros métodos. Además, la implementación de este método es bastante restringida (Rodríguez 1996).

#### **3.3.4.3.1.3 Modelo no lineal de efectos mixtos (Nonlinear Mixed Effect Model-NONMEM)**

Este modelo fue desarrollado para tratar de solventar los inconvenientes inherentes a los métodos en dos etapas. El termino “*modelo de efectos mixtos*” hace referencia a la inclusión de parámetros de efecto fijo y aleatorio, tanto interindividual como intraindividual, en el modelo farmacostatístico con el fin de ser estimados en una única etapa. En realidad, este método es la primera aproximación farmacostatística para el análisis de datos poblacionales capaz de utilizar los datos obtenidos en la práctica clínica, en especial cuando éstos son de escasa calidad. De hecho este método permite estimar la variabilidad interindividual sin obviar la gran cantidad de limitaciones presentes en los datos observacionales (Sheiner et al. 1977; Steimer et al. 1984).

Este método parte de un modelo farmacostatístico establecido y de la asunción de un determinado tipo de distribución estadística para los términos aleatorios (Sheiner et al. 1977). Habitualmente la distribución elegida es la normal, por dos motivos:

- Proporciona un modelo empírico razonable para muchas situaciones reales que implican procesos aleatorios. Por otra parte se admite que muchos procesos biológicos tienden a generar una distribución normal.
- Desde un punto de vista matemático se prefiere esta distribución porque con ella se puede asumir que los componentes aleatorios individuales contribuyen de forma aditiva a los datos observacionales y esto permite desarrollar con relativa facilidad funciones de probabilidad que son resueltas mediante procedimiento iterativo.

La probabilidad de obtener los valores de concentración observados como una función de los parámetros del modelo es lo que se denomina función de probabilidad. Según el principio de máxima probabilidad, los parámetros farmacocinéticos más probables para una determinada población son aquellos que hacen máxima la función de probabilidad.

La función objetivo que emplea el método NONMEM es la siguiente:

$$OBJ_{NONMEM} = -2LL = \sum_{i=1}^N \left[ \log(\det(C_i)) + (y_i - E_i)^T C_i^{-1} (y_i - E_i) \right]$$

Ecuación 3.83

$$C_i = v(\theta, \xi, x_i)$$

donde  $x_i$  es la columna del vector de todas las variables independientes,  $y_i$  es la columna del vector de todas las variables dependientes del individuo  $i$ ,  $E_i$  es el vector medio poblacional de  $y_i$  y  $C_i$  es la matriz de covarianza poblacional de  $y_i$ .

Al sustituir el modelo farmacoestadístico con el fin de estudiar la influencia de los errores  $\eta$  y  $\varepsilon$ , se tienen que aproximar todos los efectos no lineales a través del primer término de la linearización en serie de Taylor.

De acuerdo con el modelo estructural, el valor esperado para  $y_{ij}$  será:

$$y_{ij} = f(\theta, x_{ij}) + G_{ij}(\theta, x_{ij})\eta_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 3.84}$$

donde  $f$  es la columna del vector del modelo linealizado para  $\eta_i=0$  y  $\varepsilon_{ij}=0$  y  $G$  es la matriz jacobiana de la primera derivada parcial a  $\eta_i=0$ , como se observa  $\varepsilon$  entra de forma lineal.

De esta forma, la matriz que incluye la variabilidad inter e intraindividual se puede definir de acuerdo con la expresión:

$$C_i = v(\theta, \xi, x_i) = G(\theta, x_i)\Omega G(\phi, x_i)^t + \sigma^2 I_{n_i} \text{ Ecuación 3.85}$$

donde  $G$  es la matriz jacobiana con respecto a los elementos  $\eta_i$ , de la variabilidad interindividual,  $\Omega$  es la matriz de covarianza (simétrica) de  $\eta_i$  y  $I_{n_i}$  es la matriz de identidad de  $n_i$ -dimensional que incluye la matriz de varianza de la variabilidad intraindividual y su matriz jacobiana.

Cuando los errores son independientes se define un estimador de máxima probabilidad, como función de los parámetros a estimar, que implica que los errores siguen una distribución normal multivariante  $n$ -dimensional con media cero y varianza  $\sigma^2$ . Ello implica que los errores poseen una matriz de varianza-covarianza cuyos elementos no diagonales (covarianza) son cero. Pero esta última expresión indica que las covarianzas de las observaciones son cero, sino una función de la variabilidad interindividual. Las observaciones de cada vector  $y_i$  están interrelacionadas a través de las diferencias entre los parámetros cinéticos del individuo  $i$  y los valores medios poblacionales. De esta forma, las varianzas expresan la magnitud típica de la desviación de cada observación del valor medio poblacional y no los del valor medio del individuo  $i$ .

La matriz de covarianza  $\Omega$  permite estimar las varianzas y covarianzas entre los elementos de error interindividual. Los elementos diagonales de la matriz son las varianzas y los elementos no diagonales, las covarianzas.

Se puede relacionar la función objetivo (Obj.) *ecuación 3.83* con la función de máxima probabilidad (Lmax) de acuerdo con la expresión:

$$Obj = -2 \ln(L \max) \qquad \text{Ecuación 3.86}$$

En consecuencia, la minimización de Obj equivale a la maximización de Lmax. Así, cambios en la función objetivo pueden servir como test estadístico para mostrar qué valores de los parámetros son los más probables.

La implementación de este método con la “aproximación de primer orden” o método FO (First Order) se ha realizado en el programa NONMEM (acrónimo de Non-Linear Mixed Effect Model).

Se trata del método más utilizado y validado en el análisis farmacocinético y farmacodinámico poblacional (Mandema 1995). Los estudios de simulación evidencian la superioridad de este método frente al método estándar en dos etapas y los métodos simples de datos en cuanto a la exactitud y precisión de la estimación de parámetros farmacocinéticos poblacionales de distintos modelos estructurales, bien con datos experimentales donde la superioridad se manifiesta en la estimación de los parámetros de efecto aleatorio (Aarons 1991), bien con datos observacionales donde la superioridad se manifiesta tanto en los parámetros de tendencia central como de variabilidad (Mentre et al. 1995). Es más, a medida que la variabilidad residual se incrementa, los métodos en dos etapas y los métodos simples de datos tienen una mayor pérdida de exactitud y precisión en la estimación de los parámetros poblacionales que la aproximación de primer orden del método NONMEM.

Se han desarrollado otros programas que incorporan el modelo no lineal de efectos mixtos pero el más utilizado continúa siendo NONMEM. Así, la propuesta de Yamaoka et al (Yamaoka et al. 1985) originó el programa denominado MULTI(ELS) que incorpora cuatro algoritmos: algoritmo de búsqueda por gradiente escalonado descendente, método de Quasi-Newton con la fórmula propuesta por Davidon, Fletcher y Powell o más conocido como método de Davidon, algoritmo propuesto por Broyden, Fletcher, Goldfarb y Shanno, y el método Simplex. Además de proporcionar el criterio de información de Akaike (AIC) como herramienta para seleccionar el modelo estadístico óptimo de entre varios candidatos.

#### 3.3.4.3.2 *Métodos no paramétricos*

La aproximación paramétrica asume que los parámetros farmacocinéticos proceden de una distribución de probabilidad normal o log-normal, definida por unos parámetros desconocidos como son la media y su varianza. Mallet describió una aproximación no paramétrica en la que no se realizan asunciones sobre la forma de la distribución de probabilidad de los parámetros poblacionales, sino que la totalidad de la distribución en la muestra de estudios se estima a partir de datos poblacionales mediante el procedimiento de máxima verosimilitud (Mallet 1986).

Estos métodos no paramétricos presentan una serie de inconvenientes comunes, como son la complejidad teórica y de implementación del software, así como excesivo tiempo de procesamiento de datos; no es posible obtener directamente los intervalos de confianza para los parámetros poblacionales estimados y, por tanto no permiten una valoración estadística de los resultados obtenidos. En general, a efectos

estadísticos y de aplicación de los resultados del estudio poblacional, se prefiere una función de distribución de probabilidad continua en lugar de la solución discreta que estos programas generan como consecuencia de su mayor aplicabilidad. Por otra parte, en los métodos no paramétricos es necesario el conocimiento previo del modelo de varianza residual, dato no siempre disponible ni fácil de obtener, por lo que en numerosas ocasiones requiere asumir el modelo de error derivado de la técnica analítica y asumir que está es la mayor fuente de variabilidad residual (Mallet 1986).

Estos problemas, unido a la complejidad y escasa disponibilidad de programas informáticos que implementen los algoritmos no paramétricos, en contraste con la relativa simplicidad y amplia divulgación de los métodos paramétricos, y la mayor eficiencia y poder de los estos últimos justificaría su menor utilización y aplicación en el análisis de los datos.

Básicamente, existen tres métodos no paramétricos: método no paramétrico de máxima verosimilitud (NPML), método no paramétrico de máxima expectación (NPEM) y método no paramétrico uniforme de máxima verosimilitud (SNP).

### **3.4 Biodisponibilidad**

La *biodisponibilidad* es un parámetro biofarmacéutico, desarrollado en el ámbito de la Farmacocinética, cuyo fin es evaluar el aprovechamiento de los fármacos en el organismo.

En 1945 Oser y col. introdujeron una aproximación al concepto actual de *biodisponibilidad*: la *disponibilidad fisiológica*. Ésta define la cantidad de fármaco absorbido en relación a una formulación de referencia,

mediante métodos basados en la excreción acumulada de fármaco en orina (Oser et al. 1945). Posteriormente, en 1958, Dost y col. demostraron la existencia de una relación entre el *AUC* del fármaco y la fracción de dosis absorbida, enunciando así la ley de proporcionalidad de las áreas. Esta ley dio lugar al uso de la vía intravenosa como patrón universal; así como al origen de los conceptos de *biodisponibilidad absoluta*, y *biodisponibilidad relativa*.

Se entiende por *biodisponibilidad absoluta*, la comparación entre los resultados obtenidos tras la administración extravasal de un fármaco, tomando como referencia la administración intravenosa de dicho fármaco. Por definición, cualquier fármaco formulado para la vía intravenosa presenta una biodisponibilidad del 100%. Ésta intenta determinar los factores que puedan afectar al aprovechamiento del fármaco tras su administración extravasal, especialmente aquellos referidos a funciones fisiológicas y procesos de absorción.

Sin embargo, cuando se comparan dos formas de dosificación diferentes administradas por la misma vía extravasal, o bien por distintas vías extravasales, se habla de *biodisponibilidad relativa*. Ésta, da información acerca de los efectos de las diferentes formas de dosificación en la absorción del fármaco, incluyendo factores como el  $pK_a$ , estado físico, grado de cristalización, propiedades fisico-químicas del fármaco y otras dependientes de la forma farmacéutica empleada, como la velocidad de disolución y las variables de fabricación.

El concepto de biodisponibilidad, a su vez, incluye otros dos conceptos: *biodisponibilidad en magnitud*, que representa la fracción de la

dosis administrada que alcanza de forma inalterada la circulación sistémica (Wagner 1993) y la *biodisponibilidad en velocidad*, la velocidad con la que se produce dicho proceso (Wagner et al. 1963).

Para el estudio del aprovechamiento del fármaco, la Farmacocinética no sólo tiene en cuenta la cantidad de fármaco que accede inalterado a la circulación sistémica, sino también la velocidad con la que accede; ya que una baja biodisponibilidad en velocidad puede originar niveles subterapéuticos y por el contrario, si es elevada, puede ocasionar toxicidad. Como parámetro indicador de la biodisponibilidad en velocidad se utiliza la constante de absorción, calculada a partir de las curvas de nivel plasmático/tiempo.

En 1963 Wagner y Nelson desarrollaron las bases para el cálculo de la constante de absorción, determinando las cantidades de fármaco existentes en el organismo y las eliminadas, para cada unidad de tiempo. Las cantidades remanentes en el lugar de absorción, halladas por diferencia, se sometieron a regresión, y así obtuvieron el valor de la constante de absorción de forma independiente a la cinética que presentaba el proceso (Wagner et al. 1963). Posteriormente, en 1968, Loo y Riegelman adaptaron este método a los fármacos bicompartimentales.

La biodisponibilidad está condicionada por diversos factores relacionados con el principio activo, con la formulación, incluso con el individuo. De manera que, una baja biodisponibilidad puede ser debida a fenómenos de primer paso intestinal y/o hepático, y también, a una baja absorbabilidad. Por tanto, las posibles causas de una absorción no completa de la dosis administrada pueden ser una velocidad de disolución lenta, malas

propiedades de absorción o una formulación inadecuada que impida la liberación durante el tiempo de tránsito útil para la absorción.

### 3.4.1 Determinación de la biodisponibilidad

Los estudios de biodisponibilidad se basan en el tratamiento de las curvas de concentración plasmática del fármaco frente al tiempo. En ocasiones, también se usan las curvas de excreción urinaria.

Los ensayos consisten en la administración del fármaco en estudio al individuo y posterior extracción de muestras sanguíneas a los diferentes tiempos, previamente establecidos. De este modo, se obtienen los distintos parámetros que definen el perfil farmacocinético del fármaco y sirven de base para los posteriores cálculos.

#### 3.4.1.1 Biodisponibilidad en magnitud

En la determinación de la biodisponibilidad a partir de dosis únicas, se asume que la cantidad de fármaco que accede al plasma, equivale a la cantidad de fármaco que se elimina de éste; transcurrido el tiempo suficiente para su eliminación completa.

La velocidad de eliminación, cantidad de fármaco eliminado por unidad de tiempo, puede expresarse como:

$$\frac{dQ_{el}}{dt} = Cl \cdot C \qquad \text{Ecuación 3.87}$$

siendo  $C$  la concentración plasmática del fármaco y  $Cl$  el aclaramiento plasmático total.

Esta ecuación se puede transformar en:

$$dQ_{el} = Cl \cdot C \cdot dt \quad \text{Ecuación 3.88}$$

Tras la administración intravenosa del fármaco, puede considerarse que la cantidad total del fármaco eliminado a tiempo infinito, corresponde a la cantidad administrada, es decir, a la dosis intravenosa  $D$ . De este modo, si se integra la expresión anterior entre tiempo cero e infinito se obtiene:

$$\int_0^{D_{iv}} dQ_{el} = Cl \int_0^{\infty} C \cdot dt \quad \text{Ecuación 3.89}$$

La integral equivale al área bajo la curva de nivel plasmático ( $AUC$ ). Sustituyendo en la ecuación anterior se llega a:

$$D_{iv} = Cl \cdot AUC \quad \text{Ecuación 3.90}$$

Si el fármaco es administrado por vía extravasal, la expresión se transforma en:

$$f \cdot D_{ev} = Cl \cdot AUC_{ev} \quad \text{Ecuación 3.91}$$

siendo  $f$  la fracción de dosis que accede inalterada a la circulación sistémica, y  $D_{ev}$  la dosis administrada por vía extravasal. Se puede establecer que la cantidad de fármaco que se elimina del plasma es directamente proporcional al  $Cl$  y al  $AUC$ . De forma que, si se conocen ambos parámetros y la dosis administrada, se puede calcular la biodisponibilidad en magnitud, que puede expresarse en tanto por uno.

$$f = \frac{Cl \cdot AUC_{ev}}{D_{ev}} \quad \text{Ecuación 3.92}$$

La *biodisponibilidad absoluta* en magnitud de un fármaco se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$f = \frac{AUC_{ev} \cdot D_{iv}}{AUC_{iv} \cdot D_{ev}} \quad \text{Ecuación 3.93}$$

Se asume que tras la administración del fármaco por vía intravenosa, el 100% de la dosis administrada alcanza la circulación sistémica y que el *Cl* del fármaco es constante dentro del ámbito de dosis administradas e independiente de la forma farmacéutica, para un mismo individuo.

En el caso de que ambas dosis sean iguales, se puede simplificar la expresión anterior y se obtiene la siguiente:

$$f = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \quad \text{Ecuación 3.94}$$

Otro método utilizado en la determinación de la biodisponibilidad en magnitud, es el basado en las curvas de excreción urinaria, aunque para fármacos que sufren biotransformación y se excretan parcialmente inalterados, tiene una utilidad limitada.

Cuando no es factible la administración del fármaco por vía intravenosa, se suele utilizar un patrón de referencia: otra administración extravasal del fármaco, lo más biodisponible posible. De manera que se realiza un estudio de biodisponibilidad comparativo, respecto a un patrón de referencia, determinándose la *biodisponibilidad relativa*. Sustituyendo en la *ecuación 3.93*, el valor del  $AUC_{iv}$ , por el  $AUC$  del patrón de referencia,  $AUC_r$ , se obtiene:

$$f_{rel} = \frac{f_p}{f_r} = \frac{AUC_p / D_{evp}}{AUC_r / D_{evr}} = \frac{AUC_p \cdot D_{evr}}{AUC_r \cdot D_{evp}} \quad \text{Ecuación 3.95}$$

donde el subíndice  $r$  identifica la formulación de referencia y  $p$  la formulación problema.

El cálculo del  $AUC$  puede realizarse utilizando métodos modelo-independientes o modelo-dependientes. Estos últimos, utilizan expresiones matemáticas en las que intervienen los parámetros obtenidos a partir de un modelo compartimental. En estudios de biodisponibilidad, la utilización del  $AUC$  de niveles plasmáticos, calculada mediante métodos modelo-dependientes, presenta dificultades. En algunos casos, las ecuaciones matemáticas definidas por los modelos farmacocinéticos no pueden ajustarse correctamente a las curvas obtenidas para cada individuo.

Dentro de los métodos modelo-independientes más utilizados se encuentran:

*Método trapezoidal.* Es el más utilizado y sencillo. Subestima el área durante la fase de absorción y la sobrestima en la fase descendente, de forma que ambos efectos se compensan y el resultado suele ser bastante exacto (Gibaldi et al. 1982).

*Método logarítmico trapezoidal.* Utiliza la transformación logarítmica entre cada par de concentraciones. Es el método de elección en la fase monoexponencial terminal de la curva de niveles plasmáticos.

*Método mixto.* Utiliza el método trapezoidal hasta la fase monoexponencial terminal y el método logarítmico trapezoidal durante esta última fase.

### 3.4.1.2 Biodisponibilidad en velocidad

La constante de velocidad de absorción ( $k_a$ ) es un parámetro representativo de la velocidad de absorción, dependiente de la fracción de dosis absorbida, que puede producir un error de estimación. Por ello y debido a la dificultad que representa la caracterización del proceso de absorción, se procede a estimar la biodisponibilidad en velocidad, a partir de los parámetros puntuales  $t_{max}$  y  $C_{max}$ .

En ocasiones, establecer un modelo farmacocinético apropiado, para interpretar las curvas de nivel plasmático y su incidencia en la estimación de la biodisponibilidad, presenta dificultades. La aplicación de la teoría de los momentos estadísticos en Farmacocinética, ha fomentado la utilización del tiempo medio de residencia, *MRT*, como parámetro indicativo de la velocidad de absorción, cuando el fármaco se administra por vía extravasal. Por tanto, se puede considerar como parámetro representativo de la biodisponibilidad en velocidad.

Esta teoría considera una cuestión de azar, el movimiento de las moléculas del fármaco en el organismo. Según la cual, el tiempo que permanece el fármaco en el organismo, se rige por una función de densidad de probabilidad, que se caracteriza por un valor medio y una varianza determinada (Yamaoka et al. 1978; Vila Jato et al. 1989).

## **4 *Materiales y métodos***

---

### **4.1 *Fármacos ensayados***

Los fármacos objeto de estudio, saquinavir y ritonavir, han sido suministrados gratuitamente por Roche Farma Labs. y Abbot laboratorios, S.A. La pureza establecida por HPLC es del 99,8 % y 99,4 % (P/P), respectivamente.

También se ha empleado la formulación comercial del ritonavir (Norvir®), en forma de cápsulas blandas.

#### **4.1.1 Soluciones administradas**

- Saquinavir

En la administración intravenosa se han utilizado tres dosis diferentes, para ello se han preparado disoluciones de saquinavir a las concentraciones de 24mg/mL y 12mg/mL. Las dosis administradas han sido: 48mg (2mL de disolución de saquinavir, 24mg/mL) mediante perfusión intravenosa y 24mg (1mL de la misma disolución) y 12mg (1mL de disolución 12mg/mL) mediante bolus intravenoso.

En la administración oral se han utilizado, al igual que en el caso anterior, tres dosis crecientes. Las disoluciones se han preparado a las concentraciones de 48 mg/mL, 24 mg/mL y 12 mg/mL. Y las dosis administradas han sido 48mg (1mL), 24mg (1mL) y 12mg (1mL).

En la administración intraperitoneal se han utilizado dos dosis distintas, que han sido 24 mg (disolución de 24mg/mL) y 12mg (disolución de 12mg/mL).

Las disoluciones se preparan del siguiente modo:

Se pesan 240 mg de saquinavir y se colocan en un matraz aforado de 10mL. A continuación, se enrasa el matraz con la mezcla de cosolventes preparada previamente (50 % de etanol, 25 % de propilenglicol y 25% de suero salino fisiológico). Por último, el preparado se lleva a ultrasonidos hasta completa disolución. La concentración de 12mg/mL se obtiene pesando 120mg de saquinavir y la de 48mg/mL, pesando 480mg.

- Ritonavir

En la administración intravenosa se ha utilizado una disolución de ritonavir preparada a la concentración de 3mg/mL.

La disolución se ha obtenido siguiendo el protocolo descrito para el saquinavir.

Para la administración oral se prepara una dilución del contenido de las cápsulas blandas de Norvir®, la microemulsión comercial se diluye, convenientemente, hasta alcanzar una concentración aproximada de 3 mg/mL.

En este caso la solución se prepara del siguiente modo:

Se toma una cápsula de Norvir® de 100 mg, se recupera el contenido mediante perforación y posterior prensado de ésta, se coloca en un matraz

aforado de 25 mL y se enrasa, utilizando la misma mezcla de cosolventes que en el caso anterior. Posteriormente, se trasvasa el contenido del matraz a un matraz de 50 mL o un vaso de precipitados al que se añade, mediante una pipeta, 8,3 mL de los cosolventes. De modo que se obtiene una concentración aproximada de 3 mg/mL.

Debido a la dificultad que entraña la elaboración de la preparación oral, y por las posibles pérdidas de producto durante el proceso de extracción, para determinar la dosis real administrada a cada animal, se han preparado varios controles a partir de la disolución administrada cada día de ensayo a los animales. La concentración de los mismos se ha calculado por interpolación en una recta de calibración construida con ritonavir. De este modo, se ha cuantificado la dosis media administrada en  $4,6 \pm 2,5$  mg.

- Administración conjunta de saquinavir y ritonavir

Se ha administrado una solución mixta de saquinavir y ritonavir por vía intravenosa, a partir de una disolución que contiene saquinavir y ritonavir a las concentraciones de 24 y 6mg/mL, respectivamente. La dosis administrada ha sido, por tanto, de 24mg y 6mg (1mL) de saquinavir y ritonavir, respectivamente, por perfusión intravenosa.

Al igual que en el caso anterior, en la administración oral se ha empleado una dosis única mixta de saquinavir y ritonavir. La disolución preparada, así como las dosis administradas, han sido las mismas que por vía intravenosa.

## ***4.2 Animales de experimentación***

Se han utilizado ratas albinas macho de raza Wistar, procedentes de una colonia seleccionada y criada en el estabulario de la Facultad de Farmacia, en perfectas condiciones de higiene y climatización. En el ensayo se han seguido las normas de correcto uso y manipulación de animales de laboratorio que dicta la normativa europea .

Los animales utilizados tenían una edad comprendida entre dos y tres meses, y un peso corporal entre 280 y 310 g.

## ***4.3 Técnica quirúrgica***

### **4.3.1 Anestesia**

Se ha empleado el tiopental sódico (Tiobarbital braun®), a una dosis de 60 mg/Kg de rata.

Se prepara una solución extemporánea del anestésico. Para ello, se pesa la cantidad necesaria de polvo y se diluye, convenientemente, con suero fisiológico, hasta obtener una concentración de 10mg/mL. Se administra, posteriormente, 6 mL de esta solución por kilogramo de animal.

Para inducir la anestesia, se inmoviliza al animal, con la ayuda de un trapo, de manera que se deja al descubierto su abdomen, y se procede a la administración por vía intraperitoneal de la solución anestésica. Por último, se efectúa un pequeño masaje en la zona de inyección, con objeto de acelerar el paso del anestésico a la circulación sanguínea.

Alcanzada la anestesia profunda, que se comprueba mediante la pérdida del reflejo palpebral, se procede a la canulación de la vena yugular.

### 4.3.2 Técnica de canulación permanente de la vena yugular

La técnica quirúrgica que se utiliza, consiste en la implantación de un catéter de silicona en la vena yugular derecha de la rata de forma permanente (Giner et al. 1989). Esta técnica permite que la administración intravenosa y la toma de muestras plasmáticas, se realicen sin necesidad de anestesiarse al animal, lo que supone un estrés adicional para el animal.

#### 4.3.2.1 Soluciones y material de trabajo

Entre el material utilizado se encuentra:

- *La cánula.* El catéter se prepara a partir de un tubo de silicona (Silclear<sup>TM</sup> Tubing®, de 0,025×0,047 pulgadas), de una longitud aproximada de 15 cm. A 3,4 cm de uno de los extremos del tubo se fija un hilo de seda, 4/0, con ayuda de un sellador de silicona Orbasil®. Este montaje cumple dos funciones: limitar la longitud de la cánula que se introduce en la vena yugular y permitir la fijación de la cánula, una vez implantada, al músculo digástrico de la rata.

El extremo que se introduce en la vena yugular, tramo de 3,4 cm, se debe cortar en forma de pico de flauta para facilitar su implantación.

- *El material quirúrgico.* Se compone de pinzas en diente de ratón, pinzas “pean”, pinzas de punta fina curva, tijeras de punta roma, tijeras de punta fina, aguja de exteriorización y suturas monofilares de doble cero.

- *Jeringuillas de insulina de 1mL con aguja de punta roma.* Se utilizan en la toma de muestras. Se preparan expresamente, en el laboratorio, con punta roma con el propósito de no dañar la cánula.

En cuanto a las soluciones de trabajo:

Para la administración intravenosa, se emplea una solución de suero fisiológico isotónico estéril (S.F.) (Cloruro sódico simple®. Antibióticos Farma S.A.), la cual se hepariniza en el laboratorio bajo condiciones asépticas. Para ello, se ha utilizado la heparina Rovi® al 5%. Al final se obtiene un suero con una concentración de heparina de 20 U.I./mL. Así, para 500 mL de S.F. se extraen 2 mL del mismo y se añaden 2 mL de heparina 5 % a los 498 mL restantes. La solución se conserva en nevera a 4 °C hasta el momento de su utilización.

Esta solución se emplea para lavar la cánula y evitar la coagulación de la sangre en ésta. También para reestablecer la volemia del animal tras cada toma de muestra.

#### 4.3.2.2 Técnica de implantación

Una vez el animal alcanza la anestesia profunda, se procede a su colocación sobre una tabla de madera, en posición decúbito supino, y se fijan sus extremidades mediante celo o gomas elásticas.

Tras la localización de la vena yugular, por palpación en el cuello, se impregna la zona con povidona yodada (Betadine®) y se efectúa, con ayuda de unas pinzas de diente de ratón y unas tijeras de punta roma, una incisión transversal a nivel medio-clavicular. A continuación, se desbridan las capas

superiores de tejido subcutáneo, mediante unas tijeras de punta fina, hasta descubrir la vena yugular. Seguidamente, se localiza la zona de la vena yugular más próxima a la ramificación de la vena subclavia, y se disecciona la vena yugular de los tejidos adyacentes, mediante dos pinzas de punta fina.

Posteriormente, se procede a aislar la vena yugular utilizando, para ello, un hilo de seda por debajo de la misma. Se sujetan los dos cabos del hilo con unas pinzas “pean” para facilitar la implantación del catéter, así como disminuir la hemorragia en el momento de la incisión en la vena.

A continuación se exterioriza el catéter, se pasa a través del tejido subcutáneo hasta la zona cervical, con ayuda de una aguja de exteriorización; donde se exterioriza a través de la piel. El extremo del catéter exteriorizado se conecta a una jeringuilla de insulina cargada de la solución de suero fisiológico heparinizado, de este modo, se impide la entrada de aire al torrente circulatorio cuando se introduzca el catéter en la vena yugular.

Se realiza una pequeña incisión en la pared de la vena yugular, por la que se introduce el extremo del catéter cargado de suero fisiológico heparinizado. La operación se debe realizar en el menor tiempo posible y con precaución, para evitar pérdidas de sangre. Seguidamente, se comprueba el funcionamiento de la cánula, aspirando con la jeringa de insulina conectada. Esta operación se debe repetir a lo largo del ensayo con objeto de comprobar que el catéter no esté obturado.

Después de introducir el catéter en la vena yugular, se fija al músculo digástrico con un punto de sutura. El hilo utilizado es el que previamente se ha fijado a la cánula.

Por último, se cosen la capa de tejido subcutáneo y la piel mediante los puntos de sutura necesarios. Durante toda la operación se hace uso de povidona yodada (Betadine®) en la zona intervenida, para mantener las condiciones de asepsia.

Una vez finalizada la intervención, se corta el catéter exteriorizado dejando que sobresalgan entre 3-4 cm, longitud adecuada para impedir que la cánula sea dañada por el animal y para la comodidad en la toma de muestras. El extremo que sobresale al exterior se cierra con un obturador, preparado con tubo rígido de polietileno, cuyo diámetro coincide con el del catéter. En la base de la cánula exteriorizada se aplica silicona para evitar la entrada de aire y mejorar la fijación de la cánula.

El animal se deposita en una jaula con doble fondo, para evitar la coprofagia. Se deja en recuperación, con acceso libre al agua de bebida durante 24 h. Cumplido este tiempo, se procede a la administración del fármaco y la posterior toma de muestras.

#### **4.4 Protocolo de ensayo**

El ensayo se ha realizado de acuerdo a un diseño paralelo y aleatorio. Los animales se distribuyen en doce grupos. De modo que cada animal recibe una dosis única de fármaco, bien por vía oral, intraperitoneal o por vía intravenosa. En el *cuadro 4.1*. se indica la vía de administración, dosis, número de animales y periodo de tiempo de toma de muestras.

| Grupo            | Vía | Dosis (mg)                                    | N muestras             | n° animales | Periodo de toma de muestras (h) |               |
|------------------|-----|---|------------------------|-------------|---------------------------------|---------------|
| SAQUINAVIR (SQV) | 1   | Intravenosa (perfusión) (0,5 h <sup>a</sup> ) | 48                     | 9 (4-9)     | 10                              | 0,75 a 10 h   |
|                  | 2   | Intravenosa (bolus)                           | 24                     | 9 (2-9)     | 14                              | 0,25 a 9 h    |
|                  | 3   | Intravenosa (bolus)                           | 12                     | 9 (3-9)     | 10                              | 0,25 a 8 h    |
|                  | 4   | Oral  | 48                     | 10 (3-11)   | 10                              | 0,25 a 12 h   |
|                  | 5   | Oral  | 24                     | 10 (5-10)   | 17                              | 0,25 a 24 h   |
|                  | 6   | Oral  | 12                     | 10 (6-10)   | 15                              | 0,25 a 24 h   |
|                  | 7   | Intraperitoneal                               | 24                     | 9 (7-9)     | 6                               | 0,25 a 24 h   |
|                  | 8   | Intraperitoneal                               | 12                     | 9 (3-9)     | 3                               | 0,25 a 24 h   |
| SQV-RTV          | 9   | Intravenosa (perfusión) (0,5 h <sup>a</sup> ) | 24-SQV<br>6-RTV        | 8 (3-8)     | 3                               | 0,75 a 10 h   |
|                  | 10  | Oral  | 24-SQV<br>6-RTV        | 10 (3-10)   | 6                               | 0,25 a 24 h   |
| RITONAVIR (RTV)  | 11  | Intravenosa                                   | 3                      | 10 (7-10)   | 7                               | 0,05 a 3,5 h  |
|                  | 12  | Oral (cápsulas)                               | 4,6±2,5 <sup>(b)</sup> | 10 (2-10)   | 20                              | 0,25 a 23,5 h |

**Cuadro 4.1.** Condiciones experimentales. (a) Tiempo de perfusión. (b) Dosis media, acompañada de su desviación estándar.

#### 4.4.1 Administración parenteral

- Bolus intravenoso

Al extremo de la cánula, que sobresale del animal, se le acopla un puente de metal de 1 cm aproximadamente. En el extremo libre del puente,

se coloca una cánula de unos 10 cm de longitud, que contiene suero fisiológico heparinizado. Como paso previo a la administración, se toma una muestra sanguínea que servirá de blanco en el análisis de las muestras. Se inyecta 1mL de la solución de fármaco a administrar, por acoplamiento de una jeringa que contiene dicha solución. Posteriormente, se inyecta la cantidad suficiente de suero fisiológico para asegurar que toda la dosis accede al torrente sanguíneo. A continuación, se pone en marcha el cronómetro. Por último, se procede al cambio del puente y el tramo de 10 cm de cánula para evitar contaminaciones en la toma de muestras, y se acopla una jeringuilla de insulina, cargada de suero fisiológico heparinizado para cerrar el circuito.

- Perfusión intravenosa

Se utiliza una bomba volumétrica IVAC® modelo 700. Para ello, se dispone la solución de administración en el interior de una jeringa de 50 mL de capacidad, a la que se acopla un sistema de extensión constituido por un tubo de silicona y un disco detector de oclusiones que presenta en sus extremos dos conos tipo Luer. Se acopla la jeringa a la abrazadera de la bomba y el disco detector de oclusiones en el lugar correspondiente. Se deja pasar a lo largo del tubo la solución de administración hasta asegurar que está completamente lleno de la misma y se ajusta la velocidad de perfusión a 4mL/h, en el caso del grupo 1, y 2mL/h para el grupo 9. Se administra 2 mL y 1mL en 30 minutos, para el grupo 1 y 9, respectivamente.

En este caso, se procede del mismo modo que en la administración del bolus intravenoso, pero tras tomar la muestra sanguínea que servirá de blanco, se inyecta suero fisiológico con el fin de dejar el tramo de cánula

interno limpio. A continuación, se desacopla la cánula puente y se acopla en su lugar la bomba de perfusión, que contiene la solución de fármaco a administrar, se comienza a perfundir controlando el tiempo desde el inicio de la perfusión. Una vez finalizada la perfusión se vuelve a acoplar la cánula puente, conteniendo suero fisiológico y se inyectan un volumen suficiente de suero para asegurar que la dosis de fármaco ha accedido al torrente circulatorio.

#### **4.4.2 Administración oral**

Inicialmente, el puente metálico y la cánula acoplada a una jeringuilla heparinizada se acopla a la cánula implantada, y se toma una muestra sanguínea, que servirá de blanco en el análisis de las muestras.

A continuación, el animal se anestesia ligeramente con éter etílico. Se utiliza la mínima cantidad para evitar posibles influencias del anestésico sobre la absorción del fármaco (Torres et al. 1996). Se introduce por la boca una sonda gastroesofágica para perfusión oral acoplada a una jeringa, y se administran 1 ó 2 mL de la solución de fármaco a ensayar, según protocolo. Finalmente, se pone en marcha el cronómetro.

#### **4.4.3 Administración intraperitoneal**

El animal se anestesia ligeramente con éter etílico, se coloca en posición decúbito supino y 1 mL de la disolución que contiene el fármaco se inyecta por vía intraperitoneal, aproximadamente a dos centímetros por encima de la zona genital.

#### **4.4.4 Toma de muestras**

Para facilitar la toma de muestras, se conecta un tubo puente a la cánula exteriorizada implantada. De este modo, el animal permanece consciente y libre de movimiento dentro de la jaula, durante la toma de muestras.

La toma de muestras se realiza mediante jeringuillas de insulina heparinizadas. En primer lugar, se conecta una jeringuilla heparinizada, y en los 15 segundos previos al tiempo de toma de muestra se succiona la sangre, desplazando el suero de la cánula. Esta primera fracción de muestra se rechaza, ya que se encuentra diluida por el suero fisiológico de la cánula. Se renueva la jeringuilla por otra previamente heparinizada, y se toman 0,5 mL de muestra sanguínea. Por último, se vuelve a cambiar la jeringuilla por otra que contiene 1 mL de suero fisiológico, del que se inyectan 0,5 mL para reestablecer la volemia del animal. Esta operación se repite para cada tiempo de toma de muestra.

En los *cuadros 4.2, 4.3 y 4.4* se detallan los tiempos de toma de muestras establecidos en el protocolo para cada grupo.

| Grupo            |                 | Vía                     | Dosis (mg)                       | Tiempos de toma de muestra (h) |
|------------------|-----------------|-------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| SAQUINAVIR (SQV) | 1               | Intravenosa (perfusión) | 48                               | 0,75;1;1,5;2;3;4;6;8;9;10      |
|                  | 2               | Intravenosa (bolus)     | 24                               | 0,25;0,5;1;1,5;2;3;4;6;8;9     |
|                  | 3               | Intravenosa (bolus)     | 12                               | 0,25;0,5;1;1,5;2;3;4;6;8       |
|                  | 4               | Oral                    | 48                               | 0,25;0,5;1;2;3;4;6;8;10;12     |
|                  | 5A              | Oral                    | 24                               | 0,25;0,5;1;2;3;4;6;8;10;12     |
|                  | 5B              | Oral                    | 24                               | 12;13;14;16;18,5;21;23;24      |
|                  | 6               | Oral                    | 12                               | 0,25;0,5;1;2;3;4;6;8;10;12;24  |
|                  | 7A              | Intraperitoneal         | 24                               | 0,25;0,5;1;1,5;2;3;4;6;8       |
|                  | 7B              | Intraperitoneal         | 24                               | 12;12,5;14;16;18,5;21;23,5;24  |
|                  | 8A              | Intraperitoneal         | 12                               | 0,25;0,5;1;1,5;2;3;4;6;8;12    |
| 8B               | Intraperitoneal | 12                      | 12;12,5;13;14;16;18,5;21;23,5;24 |                                |

**Cuadro 4.2.** Periodo de muestreo para los distintos grupos tras la administración de saquinavir.

| Grupo   |     | Vía                     | Dosis (mg)      | Tiempos de toma de muestra (h) |
|---------|-----|-------------------------|-----------------|--------------------------------|
| SQV-RTV | 9   | Intravenosa (perfusión) | 24-SQV<br>6-RTV | 0,75;1;1,5;2;3;4;6;8;10        |
|         | 10A | Oral                    | 24-SQV<br>6-RTV | 0,25;0,5;1;1,5;3;4;6;8;10;12   |
|         | 10B | Oral                    | 24-SQV<br>6-RTV | 12;13;14;16;18,5;21;23;24      |

**Cuadro 4.3 .** Periodo de muestreo para los distintos grupos tras la administración combinada de saquinavir y ritonavir.

| Grupo           |     | Vía             | Dosis (mg) | Tiempos de toma de muestra (h)       |
|-----------------|-----|-----------------|------------|--------------------------------------|
| RITONAVIR (RTV) | 11  | Intravenosa     | 3          | 0,05;0,083;0,17;0,5;0,75;1,5;2,5;3,5 |
|                 | 12A | Oral (cápsulas) | 4,6±2,5    | 0,25;0,5;1;2;3;4;6;8;9;10;23,5       |
|                 | 12B | Oral (cápsulas) | 4,6±2,5    | 12;12,5;13,5;14;16;18,5;21           |

**Cuadro 4.4 .** Periodo de muestreo para los distintos grupos tras la administración de ritonavir.

Una vez extraída la muestra, se deposita en un tubo Eppendorf heparinizado y se centrifuga inmediatamente a 5000 r.p.m. durante 5 min (centrifuga Sigma Laborzentrifugen 2K15). Se toman 300  $\mu$ L del sobrenadante y se trasvasan a un tubo Eppendorf identificado adecuadamente. Las muestras se congelan a -30 °C hasta su valoración.

#### **4.5 Método de valoración**

La valoración del saquinavir y ritonavir se ha realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) con detección espectrofotométrica a la luz ultravioleta a una longitud de onda de 235 nm. Se utiliza un sistema cromatográfico de fase reversa.

La validez del método analítico se comprobó diariamente a través de una curva de calibración y de patrones de concentración conocida, preparados a partir de una solución madre de fármaco. En todas las curvas de calibrado se han mantenido los coeficientes de correlación lineal, coeficientes de variación y errores relativos dentro de las especificaciones del método, es decir,  $r > 0.99$ ,  $CV < 15\%$  y  $Er < 15\%$ .

##### **4.5.1 Elementos cromatográficos**

El equipo utilizado se compone de :

- Bomba isocrática Waters modelo 1515.
- Inyector automático Perkin-Elmer series 200.
- Detector espectrofotométrico UV Waters modelo 2487.
- Sistema de adquisición y procesamiento de datos Breeze® de Waters.

Como fase estacionaria se ha utilizado una columna analítica Nova-Pack® C<sub>18</sub> Waters, 3,9×150 mm, de acero inoxidable, rellena de un sustrato silíceo de fase inversa C-18 cuyo tamaño de partícula es de 10 µm.

El sistema incluye una precolumna Tecknokroma®, con dos filtros de 2 µm de diámetro de poro y un relleno pelicular C-18, cuyo tamaño de partícula es de 40 µm. Su función es la de retener las partículas de mayor tamaño que puedan estar presentes en las muestras y, de este modo, alargar la vida media de la columna.

Como fase móvil se ha empleado una mezcla de acetonitrilo (calidad HPLC) y una solución acuosa de tampón fosfatos, en las proporciones 57:43(V/V), 55:45 (V/V) y 53:47(V/V), para el saquinavir sólo, ritonavir sólo y para la valoración simultánea de los dos fármacos, respectivamente. En estas condiciones el saquinavir y ritonavir presentan un tiempo de retención de 3,5 minutos cuando se valoran solos, y de 5,6 y 3,8 minutos, respectivamente, cuando se valoran de forma conjunta.

La disolución acuosa de tampón fosfatos se prepara por dilución 1/100 del tampón fosfatos en agua bidestilada. Este tampón se prepara a partir de la mezcla de dos soluciones, según las proporciones abajo indicadas, obteniendo un pH de 6,9:

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1/15 M.....3,9 mL

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 1/15 M.....6,1 mL

La fase móvil se filtra a través de filtros “Millipore GVWP” de 0,22 µm de diámetro de poro, con ayuda de un dispositivo de filtración por vacío.

Así, se elimina cualquier posible partícula sólida suspendida en la disolución, y se desgasifica la mezcla.

El flujo de elución utilizado ha sido constante durante todo el ensayo a temperatura ambiente e igual a  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . El volumen de inyección de la muestra ha sido de  $125 \mu\text{L}$ .

#### **4.5.2 Manipulación de las muestras**

Las muestras plasmáticas procedentes de los diferentes tiempos de muestreo y de las diferentes vías de administración se descongelan a temperatura ambiente.

El primer paso es la desproteinización de las muestras, para alargar la vida del sistema cromatográfico. Para ello, se añaden  $300 \mu\text{L}$  de acetonitrilo (mantenido en congelador) a la muestra plasmática, con lo cual quedan en una proporción 50:50 (V/V). Se someten a agitación durante 30 s en el “Vortex Mixer” y, posteriormente, se llevan a centrifugar a  $10500 \text{ g}$ , durante 8 minutos, a una temperatura de  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ . Se recoge el sobrenadante y se vuelve a centrifugar en las mismas condiciones. Finalmente se recogen  $450 \mu\text{L}$  del sobrenadante y se depositan en viales adecuados para proceder a su valoración por cromatografía líquida de alta resolución CLAR.

#### **4.6 Validación del método analítico**

Con el fin de obtener la concentración del compuesto en cada muestra problema, se construyeron curvas de calibración. Las curvas de calibración indicaban que existía una correlación lineal entre las áreas de los cromatogramas y las concentraciones del fármaco en el ámbito de

concentraciones ensayadas. Se ha construido una curva de calibrado usando patrones de los fármacos de concentración conocida, en la determinación de cada batería de muestras. Los patrones preparados mediante diluciones sucesivas en plasma, se han tratado igual que las muestras.

Para asegurar la calidad de los datos experimentales, es necesario comprobar la linealidad, la precisión y exactitud del método analítico, así como el límite de cuantificación, para cada uno de los compuestos ensayados (Shah et al. 1991).

#### **4.6.1 Ensayos de linealidad**

Para comprobar la linealidad del método analítico en las condiciones del ensayo, se han construido curvas de calibrado, una para cada vía de administración y fármaco. Éstas abarcan el ámbito de concentraciones necesario para valorar las muestras por interpolación. Los patrones, preparados mediante diluciones sucesivas en plasma, se han tratado del mismo modo que las muestras experimentales.

Se procede a realizar una regresión lineal por mínimos cuadrados entre las áreas de los picos de los cromatogramas y las concentraciones del fármaco, según la ecuación:

$$A = m \cdot C + b \qquad \text{Ecuación 4.1}$$

en la que  $A$  representa el área del pico del cromatograma y  $C$  la concentración teórica de los patrones ensayados.

Para comprobar la dependencia lineal entre las áreas y las concentraciones de fármaco se ha utilizado el coeficiente de correlación ( $r$ ).

A continuación, los cuadros 4.5, 4.6 y 4.7, muestran el ámbito de concentraciones utilizado en las diferentes curvas de calibración.

| Grupo            |   | Vía                     | Dosis (mg) | Ámbito de concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|------------------|---|-------------------------|------------|--|
| SAQUINAVIR (SQV) | 1 | Intravenosa (perfusión) | 48         | 0,19 a 30                                      |
|                  | 2 | Intravenosa (bolus)     | 24         | 0,047 a 20                                     |
|                  | 3 | Intravenosa (bolus)     | 12         |  |
|                  | 4 | Oral                    | 48         | 0,047 a 1,5                                    |
|                  | 5 | Oral                    | 24         |  |
|                  | 6 | Oral                    | 12         |  |
|                  | 7 | Intraperitoneal         | 24         | 0,047 a 15                                     |
|                  | 8 | Intraperitoneal         | 12         |  |

**Cuadro 4.5.** Ámbito de concentraciones utilizado en la construcción de las curvas de calibración de saquinavir para la valoración de las muestras procedentes de los grupos que se indican en el cuadro.

| Grupo   |    | Vía                     | Dosis (mg)      | Ámbito de concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ )                  |
|---------|----|-------------------------|-----------------|---|
| SQV-RTV | 9  | Intravenosa (perfusión) | 24-SQV<br>6-RTV | SQV: 0,047 a 20<br>RTV: 0,012 a 5                               |
|         | 10 | Oral <sup>(a)</sup>     | 24-SQV<br>6-RTV | SQV: 0,047 a 20 y 0,047 a 1,5<br>RTV: 0,012 a 5 y 0,012 a 0,375 |

**Cuadro 4.6** Ámbito de concentración utilizado en la construcción de las curvas de calibración de saquinavir y ritonavir para la valoración de las muestras procedentes de los grupos que se indican en el cuadro.

<sup>(a)</sup> Las concentraciones plasmáticas por encima de 1,5 y 0,375  $\mu\text{g/mL}$  de saquinavir y ritonavir, respectivamente, se valoraban con las curvas de un ámbito más amplio de concentraciones, mientras que las concentraciones por debajo de este valor se valoraban con las rectas de un ámbito más estrecho.

| Grupo           | Vía | Dosis (mg)  | Ámbito de concentraciones (µg/mL) |           |
|-----------------|-----|-------------|-----------------------------------|-----------|
| RITONAVIR (RTV) | 11  | Intravenosa | 3                                 | 3,75 a 30 |
|                 | 12  | Oral        | 4,6±2,5                           | 0,5 a 5   |

**Cuadro 4.7** Ámbito de concentración utilizado en la construcción de las curvas de calibración de ritonavir para la valoración de las muestras provenientes de los grupos que se indican en el cuadro.

### 4.6.2 Ensayo de precisión y exactitud

La determinación de la precisión y exactitud del método analítico utilizado en la valoración de las muestras de plasma, se ha realizado mediante el uso de patrones de concentración conocida, que se han cuantificado por interpolación en las curvas de calibrado. Cada patrón se ha valorado por triplicado y en algunos casos por quintuplicado. Los patrones se han procesado como si de muestras problemas se tratase, se han preparado en los días de obtención de las muestras experimentales y se han conservado del mismo modo hasta su posterior valoración, dónde eran distribuidos al azar entre las muestras. La concentración de los patrones preparados se elegía de forma aleatoria atendiendo siempre al ámbito de concentraciones de las rectas de calibrado.

La exactitud se expresa como el error absoluto y relativo, calculado para cada concentración de patrón, según las siguientes expresiones:

$$E_{\text{absoluto}} = |C_{\text{teórico}} - C_{\text{experimental}}| \quad \text{Ecuación 4.2}$$

$$E_{\text{relativo}} = \left| \frac{C_{\text{teórico}} - C_{\text{experimental}}}{C_{\text{teórico}}} \right| \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.3}$$

La precisión se estima a partir de la desviación estándar y el coeficiente de variación de la media de los replicados de cada patrón.

### **4.6.3 Límite de cuantificación**

Se calcula a partir de las curvas de calibración utilizadas en la valoración de las muestras, donde las áreas se representan en el eje de ordenadas y las concentraciones en el eje de abcisas. Tomando como referencia el valor del área que corresponde a la intersección de la curva que representa el límite superior del intervalo de confianza del 95% de la recta con el eje de ordenadas, el límite de cuantificación es la concentración de fármaco que proporciona el mismo valor de área en la curva que define el límite inferior del intervalo de confianza del 95% de la recta. (Ver *figura 5.1*).

## **4.7 Análisis farmacocinético**

### **4.7.1 Análisis farmacocinético no compartimental**

Para cada fármaco, se ha llevado a cabo un análisis no compartimental individual o poblacional, como promedio simple de datos, dependiendo del grupo de estudio. Aquellos grupos de los que no se dispone un muestreo completo para cada individuo, es decir, aquellos grupos que se han dividido en dos por el extenso periodo de muestreo, se han tratado como promedio simple de datos. Para ello se ha realizado la media aritmética de los datos de concentración plasmática para un mismo tiempo de muestreo. En el análisis individual, aquellos individuos con un perfil incompleto, por falta de muestras, se han eliminado.

El programa utilizado ha sido WinNonlin versión 2.1. Se requiere la elección de un modelo u otro, dependiendo del tipo de muestras disponibles, plasma u orina y del método de administración seleccionado en el ensayo. En nuestro caso se ha hecho uso de los tres modelos disponibles cuando los datos experimentales son concentraciones plasmáticas del fármaco: 200, 201 y 202, refiriéndose a la administración extravasal, bolus intravenoso y perfusión intravenosa, respectivamente.

Las fórmulas de cálculo en estos modelos asumen que se administra una dosis única y que ésta se administra a tiempo cero.

El método de estimación escogido para el cálculo del área bajo la curva de niveles plasmáticos corresponde al método trapezoidal. Éste consiste en calcular el *AUC* como la suma de las áreas de unos trapezios, definidos por los valores experimentales concentración plasmática - tiempo, hasta el último punto experimental, y a partir de éste se calcula el área residual por extrapolación hasta el infinito.

La extrapolación al infinito requiere el uso de la integral analítica, asumiendo que, en la fase terminal, la concentración se relaciona con el tiempo a través de una expresión monoexponencial, siendo  $\lambda$  la constante terminal de la curva y  $C^*$  la concentración experimental para el último tiempo ensayado.

$$AUC = AUC_0^{t^*} + AUC_{t^*}^{\infty} \quad \text{Ecuación 4.4}$$

$$AUC_{t^*}^{\infty} = \int_{t^*}^{\infty} C \cdot dt = \frac{C^*}{\lambda} \quad \text{Ecuación 4.5}$$

En la administración intravenosa, el cálculo del área del primer trapecio requiere conocer el valor de  $C_0$ , que se obtiene por extrapolación hasta el origen, mediante regresión semilogarítmica, de los puntos experimentales iniciales que definan una recta.

El cálculo del  $AUMC$  se realiza mediante un proceso similar. Se calcula el producto de cada par de valores experimentales  $C - t$ , y el  $AUC$ , definida por  $C-t$  hasta el último punto experimental, de acuerdo al método trapezoidal, y por extrapolación desde el último punto experimental hasta el infinito. En este caso, el valor de  $\lambda$  coincide con el adoptado en el cálculo de  $AUC$ .

$$AUMC = AUMC_0^{t^*} + AUMC_i^{\infty} \quad \text{Ecuación 4.6}$$

$$AUMC_i^{\infty} = \int_{t^*}^{\infty} t \cdot C \cdot dt = \frac{t^* \cdot C^*}{\lambda} + \frac{C^*}{\lambda^2} \quad \text{Ecuación 4.7}$$

#### 4.7.1.1 Administración parenteral

Se ha realizado un análisis individual de los datos experimentales de saquinavir de los grupos 1, 2, 3 y 9. Del mismo modo, se ha realizado un análisis individual de los datos experimentales de ritonavir de los grupos 9 y 11.

Entre los parámetros obtenidos se encuentran:

$AUC^{\infty}/D$ ,  $Cl$ ,  $\lambda$ ,  $t_{1/2\lambda}$ ,  $Vd\lambda$ ,  $V_{dee}$ ,  $MRTiv^{\infty}$ ,  $AUC^{\infty}$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max}/D$ ,  $\%AUC_{extr}$  ( $\% AUC_{extrapolado}$ ),  $\%AUC_{backextr}$  ( $\% AUC_{extrapolado}$  a tiempo cero).

#### 4.7.1.2 Administración oral

Se ha realizado un análisis individual de los datos experimentales de saquinavir de los grupos 4 y 6. Para los grupos 5 y 10, se ha recurrido a un análisis poblacional de los datos experimentales, mediante la aproximación promedio simple de datos.

En el caso de los datos experimentales de ritonavir de los grupos 10 y 12, también se ha recurrido a realizar un tratamiento como promedio simple de datos.

En el caso del grupo 12 las concentraciones plasmáticas ( $C_p$ ) obtenidas, se han normalizado para la dosis real administrada a cada rata, como paso previo al tratamiento por promedio simple de datos.

Entre los parámetros obtenidos se encuentran:  $AUC^\infty/D$ ,  $CL/F$ ,  $\lambda$ ,  $t_{1/2\lambda}$ ,  $Vd\lambda/F$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max}/D$ ,  $t_{max}$ ,  $MRT^\infty$ ,  $AUC^\infty$ ,  $\%AUC_{ext}$ .

#### 4.7.1.3 Administración intraperitoneal

Se ha realizado un análisis poblacional de los datos experimentales de saquinavir de los grupos 7 y 8, mediante la aproximación promedio simple de datos.

Entre los parámetros obtenidos se encuentran:  $AUC^\infty/D$ ,  $CL/F$ ,  $\lambda$ ,  $t_{1/2\lambda}$ ,  $Vd\lambda/F$ ,  $C_{max}$ ,  $C_{max}/D$ ,  $t_{max}$ ,  $MRT^\infty$ ,  $AUC^\infty$ ,  $\%AUC_{ext}$ .

### 4.7.2 Análisis farmacocinético compartimental

Los pares de valores concentración plasmática-tiempo de la población de estudio se han utilizado para caracterizar el modelo

farmacoestadístico que describe el comportamiento farmacocinético del saquinavir y del ritonavir, mediante el modelo no lineal de efectos mixtos a través de la regresión no lineal por mínimos cuadrados extendidos, con doble precisión y estimación de primer orden (FO), implementada en el software **NONMEM**. Este modelo asume que los parámetros farmacocinéticos individuales proceden aleatoriamente de una función de distribución de probabilidad, cuyos primeros dos momentos estadísticos son directamente estimados del conjunto de concentraciones plasmáticas existentes en la muestra de estudio. Adicionalmente, cuando el número de concentraciones plasmáticas por individuo es superior a 1, la regresión por mínimos cuadrados extendidos, implementada en NONMEM, puede estimar la variabilidad interindividual y la variabilidad residual en las concentraciones plasmáticas del fármaco. Esta variabilidad es debida al error existente en las dosis administradas, la velocidad de la administración, el tiempo de extracción de las concentraciones plasmáticas, la preparación de la muestra, la técnica analítica, e incluso el propio modelo farmacocinético seleccionado.

Con el objetivo de identificar el modelo que mejor describiera el comportamiento cinético de los fármacos se ha realizado una búsqueda secuencial y a lo largo de este desarrollo, cuando ha sido necesario realizar modificaciones a la estructura base del modelo, se ha llevado a cabo un proceso de retroalimentación, es decir se ha vuelto a los estadios iniciales del desarrollo para realizar dichas modificaciones.

En primer lugar, se ha abordado el estudio mediante los modelos lineales de la farmacocinética clásica, modelados bicompartimental y

tricompartimental, en los que se consideraban valores iguales o diferentes de los distintos parámetros farmacocinéticos para cada grupo, tratándose por tanto de un enfoque más bien empírico. Más tarde se ha dotado de complejidad y se ha modelado atribuyendo procesos no lineales, de manera que se ha llevado a cabo un análisis mecanístico.

Del mismo modo, la incorporación de los datos al modelado se ha realizado de forma secuencial tal y como se describe a continuación:

- ❖ Etapa 1: datos de SQV IV de los grupos (1,2,3,9)
- ❖ Etapa 2: datos de SQV IV de los grupos (1,2,3,9) y datos IP de los grupos (7,8)
- ❖ Etapa 3: datos de SQV IV y datos IP de los grupos (1,2,3,9,7,8) y datos orales de los grupos (4,5,6)
- ❖ Etapa 4: datos de SQV IV e IP , grupos (1,2,3,9,7,8) y datos orales de los grupos (4,5,6,10 )
- ❖ Etapa 5: datos de RTV IV de los grupos (9,11 ) y datos orales de los grupos (10, 12)
- ❖ Etapa 6: datos de SQV y RTV. Combinación de modelos.

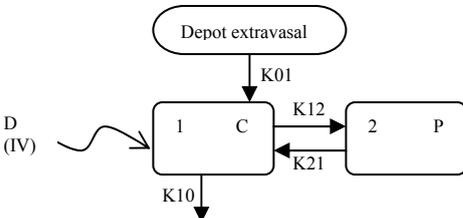
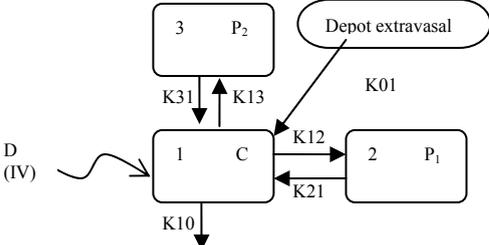
#### 4.7.2.1 Modelo estructural

##### 4.7.2.1.1 *Modelado farmacocinético lineal clásico. Enfoque empírico.*

Se ajustan diferentes modelos farmacocinéticos basados en las ecuaciones clásicas de los modelos bicompartimental y tricompartimental a los datos experimentales. Se realiza la búsqueda del modelo estructural partiendo de modelos lineales sencillos a los que se va incorporando libertad en algunos de sus parámetros para algunos grupos, de modo que la diferencia

en el valor de algún parámetro para algún grupo, da idea de no linealidad. En esta etapa se han utilizado las subrutinas ADVAN 3, 11 y 9 (TOL=5).

En el cuadro 4.8, se muestra la estructura base de los modelos probados. Esta estructura se conforma de acuerdo a la etapa de incorporación de datos para cada fármaco.

| Modelo                                  | Descripción   | Estructura  |
|---|---|---|
| 1.<br>Bicompartimental<br>(ADVAN 3 o 9) | Igual o distinto valor en los parámetros para los distintos grupos:<br>CL, K12, K21, Vc<br>K01, F           |   |
| 2.<br>Tricompartimental<br>(ADVAN 11)   | Igual o distinto valor en los parámetros para los distintos grupos<br>CL, K12, K21, Vc,<br>K13, K31, K01, F |  |

**Cuadro 4.8** Estructura base de los modelos probados en la etapa empírica de construcción del modelo estructural.

#### 4.7.2.1.2 Modelado farmacocinético lineal y no lineal. Análisis mecanicista.

Se ajustan las ecuaciones diferenciales de distintos modelos bicompartimentales y tricompartimentales que incluyen procesos lineales y no lineales a los datos experimentales. Estos modelos se construyen en base a la información obtenida en el análisis empírico, la etapa anterior y en base a los grupos incluidos en el análisis. La subrutinas utilizadas en esta etapa han sido 6, 8 y 9 (TOL=5).

En primer lugar se ajustan diversos modelos, que combinan distintos procesos de disposición, a los datos experimentales obtenidos tras la administración intravenosa de saquinavir, este estadio se corresponde con la **etapa 1** de incorporación de datos. Posteriormente, una vez descritos los procesos de disposición, se procede a incluir nuevos datos experimentales para describir los procesos de incorporación al organismo tras la administración extravasal del fármaco, correspondería a las **etapas 2, 3 y 4**. A continuación, se desarrolla un modelo que satisfaga los datos experimentales de ritonavir, en la **etapa 5**. Y finalmente, el último paso, correspondiente a la **etapa 6**, consiste en la combinación de ambos modelos para modelar la interacción entre los dos fármacos.

A lo largo del desarrollo de los modelos estructurales, cuando se incorporan los datos de los grupos 9 y 10, se tiene en cuenta la posible interacción de los fármacos en el modelo correspondiente, a través de unos factores empíricos que pueden afectar tanto a las constantes de Michaelis-Menten de los procesos activos ( $K_m$ ) como a las cantidades máximas de fármaco que puede unirse a proteínas plasmáticas (QMA), de modo que se podría dar un desplazamiento de unión a proteínas plasmáticas.

#### **4.7.2.1.2.1 SAQUINAVIR**

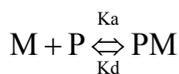
En los cuadros 4.9 y 4.10, se muestra la estructura base de algunos de los modelos probados en el análisis mecanicista de los procesos del LADME para el saquinavir. Estos modelos combinan los diferentes procesos considerados. Así, en el proceso de eliminación se ha considerado: cinética de Michaelis-Menten, cinética de primer orden o ambos, ocurriendo estos procesos en el compartimento central o en otros compartimentos.

En la caracterización del proceso de distribución se ha considerado: unión instantánea o unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas, así como unión a depósitos titulares o a elementos formes de la sangre, en este último caso a través del cociente  $R_b$ . Siendo el  $R_b$  la relación entre la concentración de fármaco en sangre y la concentración plasmática. En los casos en los que se ha considerado que era distinto de 1, se ha introducido este parámetro en las ecuaciones diferenciales que describían el modelo, para expresar las concentraciones sanguíneas en función de las plasmáticas.

$$R_b = \frac{C_s}{C_p} \qquad \text{Ecuación 4.8}$$

Por otra parte, cuando se ha tenido en cuenta una **unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas**, se han aplicado las consideraciones que se detallan a continuación.

Se considera que la unión del fármaco a las proteínas plasmáticas es un proceso reversible y se establece el siguiente equilibrio termodinámico:



siendo  $M$ , la concentración molar del medicamento,  $P$ , la concentración molar de proteína disponible para unirse y  $PM$  la concentración molar del complejo proteína-medicamento.  $K_a$  es la constante termodinámica de afinidad que rige la formación del complejo (unidades: concentración molar<sup>-1</sup>,  $M^{-1}$ ) y  $K_d$ , la constante termodinámica de disociación del complejo (unidades: concentración molar,  $M$ ).

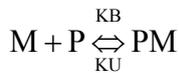
Por tanto,  $K_a$  y  $K_d$  pueden definirse:

$$K_a = \frac{[PM]}{[P] \cdot [M]} \quad \text{Ecuación 4.9}$$

$$\frac{1}{K_a} = K_d = \frac{[P] \cdot [M]}{[PM]} \quad \text{Ecuación 4.10}$$

Si la unión es instantánea, ese equilibrio se alcanza de forma infinitesimal, pero si se considera que es dinámica, dependerá del tiempo, tardará un tiempo en alcanzarse el equilibrio, además *in vivo* el equilibrio estará rompiéndose constantemente, y tratando de reestablecerse, de modo que el equilibrio se alcanzaría a un tiempo infinito.

Desde un punto de vista cinético, se definen las siguientes constantes:



En la que  $K_B$  es la constante cinética de unión cuyas unidades son  $\text{mM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  o bien  $\text{L}/\text{mg} \cdot \text{h}$  tras pasar las concentraciones molares a  $\text{mg}/\text{L}$ . Y  $K_U$  la constante de desunión cuyas unidades son  $\text{h}^{-1}$ .

Por tanto, se puede definir la velocidad de unión y desunión como:

$$\text{Vel. unión} = [M] \cdot [P] \cdot K_B = C_u \cdot (CMA - C_b) \cdot K_B \quad \text{Ecuación 4.11}$$

$$\text{Vel. desunión} = [PM] \cdot K_U = C_b \cdot K_U \quad \text{Ecuación 4.12}$$

ambas velocidades están expresadas en unidades de concentración-tiempo ( $\text{mg}/\text{L} \cdot \text{h}$ ). En las que CMA es la capacidad máxima de unión a proteínas expresada como concentración, que equivale a todos los lugares de unión disponibles para unirse el fármaco, es decir, los que aún están libres más los unidos,  $N \cdot ([P] + [PM]) = (N \cdot [P_{\text{total}}])$ .  $C_u$  es la concentración de fármaco libre  $[M]$  y  $C_b$ , la concentración de fármaco unido a proteína  $[PM]$ , ya que se

considera una estequiometría de unión 1:1. Para incorporar estas expresiones en las ecuaciones diferenciales del modelo, previamente las concentraciones molares se transforman en mg/L multiplicando por el peso molecular (PM) correspondiente del fármaco, ya que estrictamente hablando el equilibrio termodinámico se refiere a concentraciones molares.

En el equilibrio:

$$[M] \cdot [P] \cdot K_B = [PM] \cdot K_U \quad \text{Ecuación 4.13}$$

$$\frac{K_B}{K_U} = \frac{[PM]}{[M] \cdot [P]} = K_a \quad \text{Ecuación 4.14}$$

De este modo, las ecuaciones diferenciales que definirían como evoluciona la concentración de fármaco libre y unido a proteínas plasmáticas en función del tiempo para un fármaco bicompartimental, considerando que sólo se elimina y distribuye lo libre se muestran a continuación (ecuaciones que se corresponden a la estructura 3, modelo **IV040**, en el *cuadro 4.9*):

$$C_p = C_u + C_b \quad \text{Ecuación 4.15}$$

$$\frac{dC_u}{dt} = -K_{10} \cdot C_u - K_{12} \cdot C_u + K_{21} \cdot P - K_B \cdot (CMA - C_b) \cdot C_u + K_u \cdot C_b$$

Ecuación 4.16

$$\frac{dC_b}{dt} = K_B \cdot (CMA - C_b) \cdot C_u - K_u \cdot C_b \quad \text{Ecuación 4.17}$$

$$\frac{dP}{dt} = K_{12} \cdot C_u - K_{21} \cdot P \quad \text{Ecuación 4.18}$$

siendo  $K_{12}$  y  $K_{21}$  son las constantes de transferencia de fármaco del compartimento central al compartimento periférico y de retorno, respectivamente.  $C_p$  la concentración plasmática de fármaco total y  $P$ , la

concentración de fármaco libre en el compartimento periférico.  $C_u$ ,  $C_b$  y CMA, la concentración de fármaco libre, la concentración de fármaco unido y la concentración máxima de fármaco que puede unirse a proteínas, respectivamente.

Por otra parte, tras incorporar los datos IP y orales, se ha seguido un procedimiento similar. Así por ejemplo, en el primer caso se ha considerado que el proceso de absorción puede definirse con cinética de orden uno, de orden cero o que el proceso de disolución actúa como factor limitativo de la absorción. Y en el segundo caso, se ha evaluado la cinética del proceso de absorción de orden uno, como proceso único de incorporación del fármaco al organismo o en combinación con procesos de secreción intestinal y procesos metabólicos intestinales y/o hepáticos saturables. Además, en este último caso, se ha considerado uno o más compartimentos de tránsito intestinal, con procesos de absorción y secreción en uno o varios compartimentos a la vez, así como una absorción completa o incompleta del fármaco.

En este punto, debido a la complejidad de los modelos y con el fin de obtener una mejor descripción de los procesos implicados, se transformaron los modelos mecanicistas en modelos fisiológicos. De este modo se desarrollan modelos híbridos fisiológicos- farmacocinéticos (P-PK híbridos), algunos ejemplos se detallan a continuación en los cuadros 4.9 y 4.10. Con el fin de observar el efecto de los cambios efectuados a la estructura base del modelo sobre los procesos ya consensuados, se desarrolló un proceso de retroalimentación, que consistió en retroceder a estadios anteriores en los que se ajustó estos modelos P-PK híbridos a datos

intravenosos e intraperitoneales. Algunos ejemplos se muestran en los cuadros 4.9 y 4.10.

Para el **desarrollo de los modelos P-PK híbridos** se ha recurrido a las expresiones y relaciones fisiológicas que se detallan a continuación.

En primer lugar, se definen los flujos sanguíneos:

$$Q_h = Q_{ah} + Q_e \quad \text{Ecuación 4.19}$$

$$Q_{ah} = Q_h \cdot 0,13 \quad \text{Ecuación 4.20}$$

siendo  $Q_h$  el flujo hepático,  $Q_{ah}$  el flujo arterio-hepático y  $Q_e$  el flujo de la vena porta. Donde se considera que  $Q_{ah}$  representa el 13% del flujo hepático total y  $Q_e$  el 87%, considerando un flujo hepático de 1,15 L/h en una rata de 300g (Birnbaum et al. 1994).

Para definir el proceso de eliminación que ocurre en hepatocito se ha considerado que en condiciones de un flujo determinado y a concentración de fármaco cero, el aclaramiento hepático  $Cl_{0h}$  se calcula a partir de la siguiente expresión:

$$Cl_{0h} = \frac{Cl_{ih} \cdot Q_h}{(Cl_{ih} + Q_h)} \quad \text{Ecuación 4.21}$$

siendo  $Cl_{ih}$  el aclaramiento intrínseco plasmático del fármaco en hígado a flujo infinito.

En condiciones de un flujo determinado y una concentración dada de fármaco la expresión 4.23 define el aclaramiento hepático aparente  $Cl_{Ah}$ :

$$V_m = Cl_{0h} \cdot K_m \quad \text{Ecuación 4.22}$$

$$Cl_{Ah} = \frac{Cl_{0h} \cdot Km}{(Km + C)} \quad \text{Ecuación 4.23}$$

Finalmente las siguientes expresiones definen la tasa de extracción hepática,  $E_h$ , y la fracción de fármaco que escapa del hígado,  $F_h$ :

$$E_h = \frac{Cl_{Ah}}{Q_h} \quad \text{Ecuación 4.24}$$

$$F_h = 1 - E_h \quad \text{Ecuación 4.25}$$

En los casos en los que se han considerado procesos de eliminación en el compartimento enterocito, las expresiones que se han definido sufren alguna modificación con respecto a las anteriormente expuestas para el hepatocito. Estas modificaciones se deben a que en algunos modelos se han considerado dos procesos de extracción en enterocito, un primer proceso debido al metabolismo intestinal y un segundo proceso debido a la secreción intestinal.

Por tanto, en condiciones de un flujo determinado y a concentración de fármaco cero, se han utilizado las siguientes expresiones para los procesos de metabolismo y secreción intestinal, respectivamente:

$$Cl_{0me} = \frac{Cl_{ime} \cdot Q_e}{(Cl_{ime} + Q_e + Cl_{ise})} \quad \text{Ecuación 4.26}$$

$$Cl_{0se} = \frac{Cl_{ise} \cdot Q_e}{(Cl_{ime} + Q_e + Cl_{ise})} \quad \text{Ecuación 4.27}$$

en las que  $Cl_{ime}$  y  $Cl_{ise}$  son el aclaramiento plasmático intrínseco de metabolismo y secreción intestinal del fármaco a flujo infinito, respectivamente.

En condiciones de un flujo determinado y una concentración dada de fármaco se dispone de las siguientes expresiones que definen el aclaramiento aparente de los procesos de metabolismo  $Cl_{Ame}$  y secreción intestinal  $Cl_{Ase}$ , respectivamente:

$$Cl_{Ame} = \frac{Cl_{0me} \cdot Km_e}{(Km_e + C)} \quad \text{Ecuación 4.28}$$

$$Cl_{Ase} = \frac{Cl_{0se} \cdot Km_{se}}{(Km_{se} + C)} \quad \text{Ecuación 4.29}$$

siendo  $Km_e$  y  $Km_{se}$ , las constantes de Michaelis-Menten de metabolismo y secreción en enterocito, respectivamente.

Finalmente las siguientes expresiones definen la tasa de extracción en enterocito debido al proceso metabólico ( $E_{me}$ ), debido al proceso de secreción ( $E_{se}$ ) y la fracción de fármaco que escapa de un proceso y otro,  $F_{me}$  y  $F_{se}$ , respectivamente:

$$E_{me} = \frac{Cl_{Ame}}{Q_e}; F_{me} = 1 - E_{me} \quad \text{Ecuación 4.30}$$

$$E_{se} = \frac{Cl_{Ase}}{Q_e}; F_{se} = 1 - E_{se} \quad \text{Ecuación 4.31}$$

Por tanto, el proceso de extracción global en enterocito ( $E_E$ ) está definido por las siguientes expresiones:

$$E_E = \frac{Cl_{Ase} + Cl_{Ame}}{Q_e} \quad \text{Ecuación 4.32}$$

$$F_E = 1 - E_E \quad \text{Ecuación 4.33}$$

A continuación se muestran a modo de ejemplo las ecuaciones diferenciales que definen la evolución temporal de las cantidades de fármaco en cada compartimento, correspondientes a la estructura 7, modelo P-PK híbrido **o049**, que se muestra en el *cuadro 4.10*:

$$\frac{dA_1}{dt} = -K_B \cdot Cu(CMA - Cb) \cdot Vc + K_u \cdot Cb \cdot Vc + K_{21} \cdot A_2 - K_{12} \cdot A_1 + Q_h \cdot C_7 \cdot F_h - Q_h \cdot Cu$$

Ecuación 4.34

$$\frac{dA_2}{dt} = K_{12} \cdot A_1 - K_{21} \cdot A_2$$

Ecuación 4.35

$$\frac{dA_3}{dt} = K_B \cdot (CMA - Cb) \cdot Cu \cdot Vc - K_u \cdot Cb \cdot Vc$$

Ecuación 4.36

$$\frac{dA_4}{dt} = -K_{01} \cdot A_4 - K_T \cdot A_4$$

Ecuación 4.37

$$\frac{dA_5}{dt} = -K_{AIP} \cdot A_5 + K_D \cdot A_6$$

Ecuación 4.38

$$\frac{dA_6}{dt} = -K_D \cdot A_6$$

Ecuación 4.39

$$\frac{dA_7}{dt} = Q_{ah} \cdot Cu + Q_e \cdot C_9 \cdot F_E - Q_h \cdot C_7 \cdot F_h - Q_h \cdot C_7 \cdot E_h + K_{AIP} \cdot A_5$$

Ecuación 4.40

$$\frac{dA_8}{dt} = -K_{01} \cdot A_8 + K_T \cdot A_4 + Q_e \cdot C_9 \cdot E_{se}$$

Ecuación 4.41

$$\frac{dA_9}{dt} = -Q_e \cdot C_9 \cdot F_E - Q_e \cdot C_9 \cdot E_E + Q_e \cdot Cu + K_{01} \cdot A_4 + K_{01} \cdot A_8$$

Ecuación 4.42

en las que  $A_1, A_2, A_3, A_4, A_5, A_6, A_7, A_8$  y  $A_9$ , son las cantidades de fármaco en cada compartimento de los considerados en el modelo. Tal y como se observa en la figura, el compartimento 1 correspondería al compartimento central dónde el fármaco se encuentra libre ( $C_u$ ) y a su vez, se encuentra unido a proteínas plasmáticas ( $C_b$ ) mediante un equilibrio dinámico (correspondería al compartimento 3). El fármaco se distribuye por una parte a un compartimento periférico (2) que engloba diversos órganos y tejidos y por otra parte, se distribuye a través de la circulación esplácnica. De modo que el fármaco llega al hígado (compartimento 7, con una concentración  $C_7$ ) desde el compartimento central por el flujo arterio-hepático,  $Q_{ah}$  (13% del flujo hepático total) y a través de la vena porta con un flujo  $Q_e$  (87% del flujo hepático total) desde el compartimento enterocito. El fármaco se distribuye desde el compartimento central al compartimento intestinal (compartimento 9, con una concentración  $C_9$ ) a través de las arterias mesentéricas con un flujo que se ha considerado igual a  $Q_e$ . En éste último caso, además el flujo de las arterias mesentéricas recogería el fármaco administrado por vía oral, en el caso de los grupos 4, 5, 6 y 10, representando así el efecto de primer paso. Por último, el fármaco llega al compartimento central desde el hígado a través de las venas hepáticas, con un flujo  $Q_h$ .

En el hepatocito sufre un proceso de extracción debido al metabolismo hepático, y en enterocito, un proceso de secreción intestinal y de metabolismo intestinal, todos ellos representados por su correspondiente tasa de extracción. Se han considerado dos compartimentos de tránsito intestinal, en este caso ambos con la misma constante de absorción de primer orden, y una absorción completa del fármaco. Por otra parte, los

compartimentos 6 y 5 se refieren a la descripción de la absorción intraperitoneal, que considera que parte del fármaco tras la administración IP precipita (6) y parte se encuentra disuelto (5), el fármaco en forma disuelta es el que se absorbe y alcanza en primer lugar el hígado.

| Modelos saquinavir<br>DISPOSICIÓN   | Descripción  | Estructura |
|-------------------------------------|--|------------|
| <p><b>1</b><br/>IV013 (ADVAN 9)</p> | <p>Bicompartimental (BC) con cinética de eliminación de Michaelis-Menten (MM)</p>                    |            |
| <p><b>2</b><br/>IV017(ADVAN 9)</p>  | <p>BC con cinética de eliminación combinada de primer orden y de MM.</p>                             |            |
| <p><b>3</b><br/>IV040 (ADVAN 9)</p> | <p>Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de primer orden</p> |            |
| <p><b>4</b><br/>IV041 (ADVAN 9)</p> | <p>Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de MM</p>           |            |

5  
IV027 (ADVAN 9)

Tricompartimental (TC) con cinética de eliminación de MM

6  
IV038 (ADVAN 9)

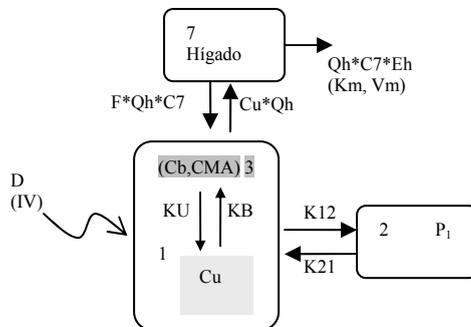
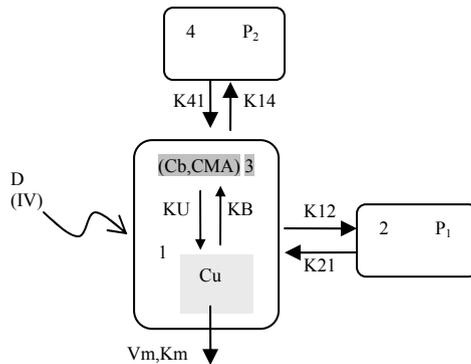
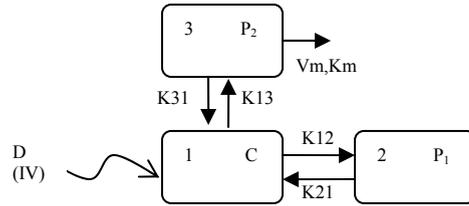
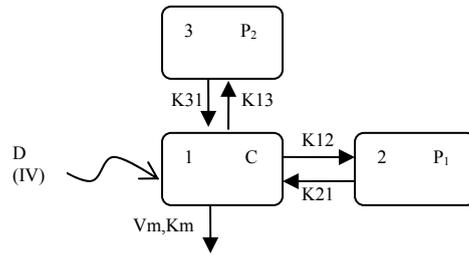
TC con cinética de eliminación de MM desde un compartimento periférico (P<sub>2</sub>). Emulando un proceso de efflux desde el hepatocito

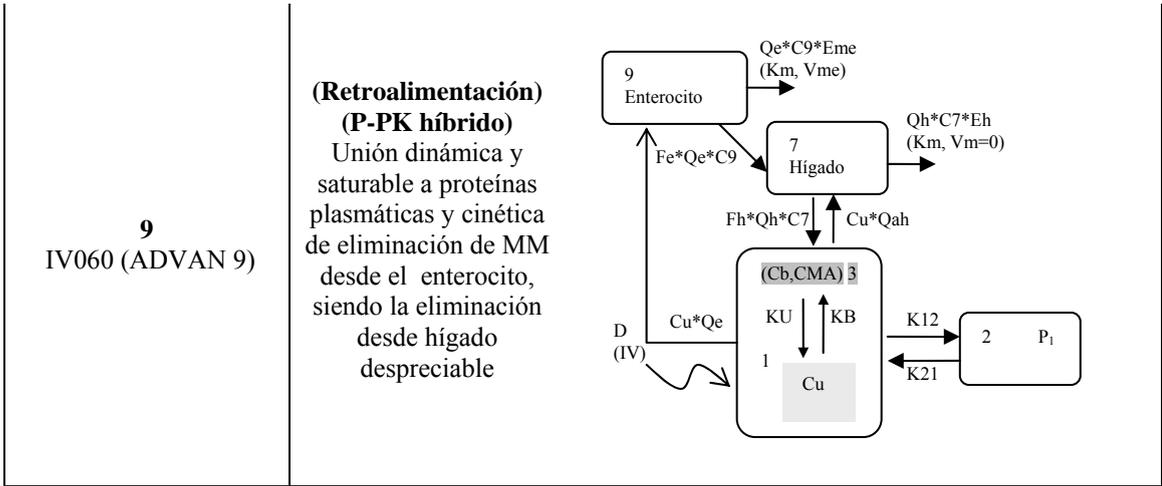
7  
IV048 (ADVAN 9)

TC con unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde el compartimento central

8  
IV054 (ADVAN 9)

**(Retroalimentación) (P-PK híbrido)**  
Unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y cinética de eliminación de MM desde un compartimento que emula que es el hígado



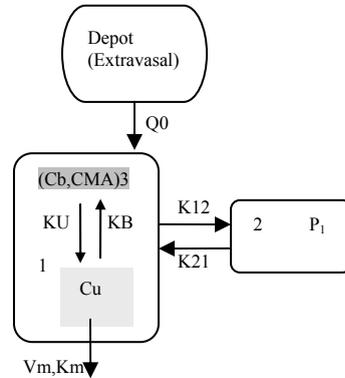


**Cuadro 4.9** Algunas de las estructuras base ensayadas en el análisis mecanicista de los procesos de disposición, con los datos correspondientes a la etapa 1.

| Modelos saquinavir<br>ABSORCIÓN      | Descripción                                   | Estructura   |
|--------------------------------------|---|--|
| <p><b>1</b><br/>IP016 (ADV AN 9)</p> | <p>Absorción con cinética de primer orden</p> | <p>Diagrama de flujo de un modelo de absorción de primer orden que muestra un depósito extravasalar que alimenta un compartimento central (1) con fármaco (Cu) y proteína (Cb, CMA). Se muestran los flujos de entrada y salida.</p> |

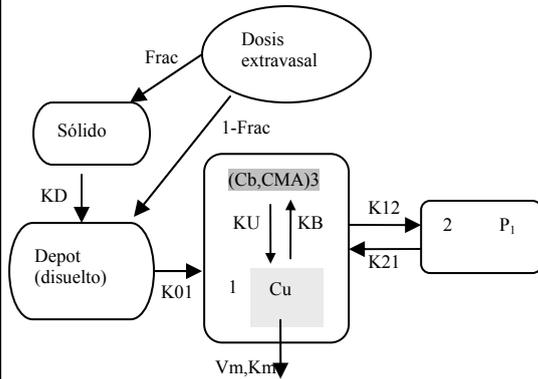
**2**  
IP017 (ADVAN 9)

Absorción con cinética de orden cero



**3**  
IP018 (ADVAN 9)

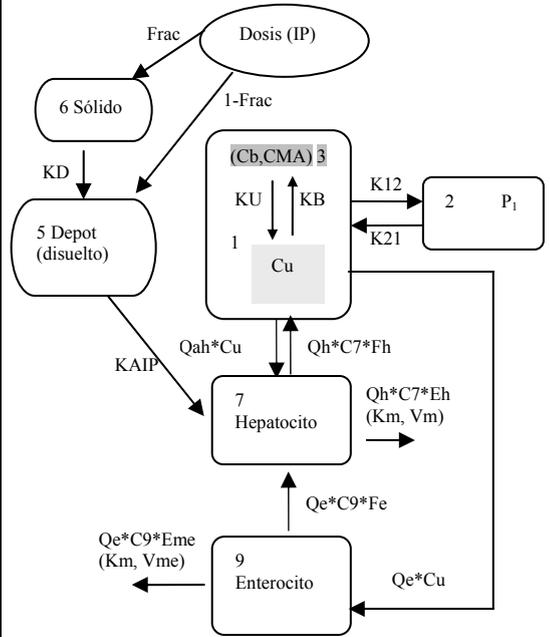
Disolución como factor limitativo de la absorción junto con cinética de eliminación de MM en el compartimento central y unión a proteínas plasmáticas



4  
IP052 (ADV AN 9)

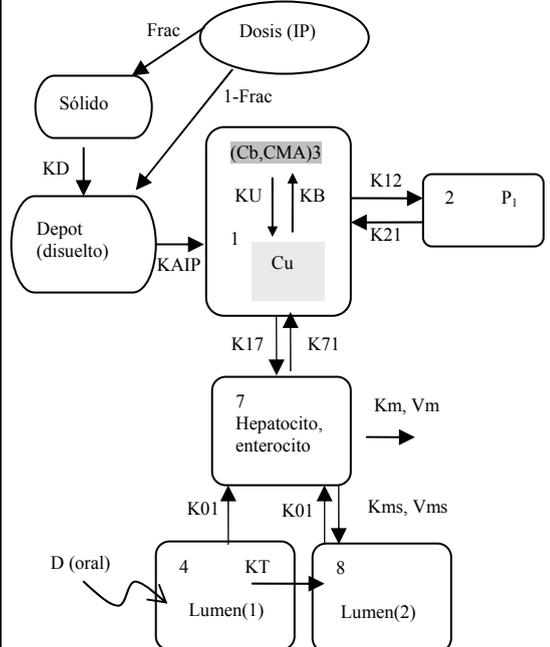
**(Retroalimentación)  
(P-PK híbrido)**

Disolución como factor limitativo de la absorción IP junto con cinética de eliminación de MM en hígado e intestino (considera el metabolismo de primer paso hepático e intestinal) y unión a proteínas plasmáticas



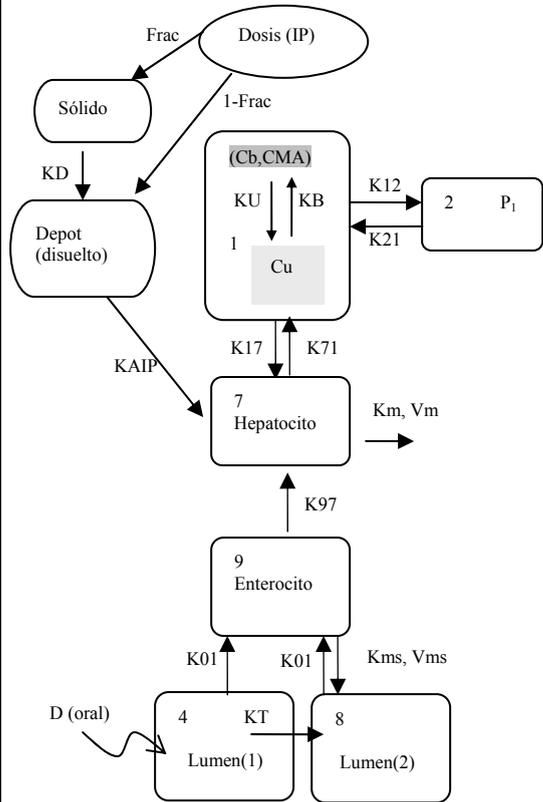
5  
o030 (ADV AN 9)

Considera dos compartimentos de tránsito intestinal con cinética de absorción de primer orden junto con un proceso de secreción intestinal desde un compartimento que representa un espacio hepato-portal (7) a la vez que un proceso de cinética de eliminación de MM desde este mismo compartimento. Además considera la disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión a proteínas plasmáticas



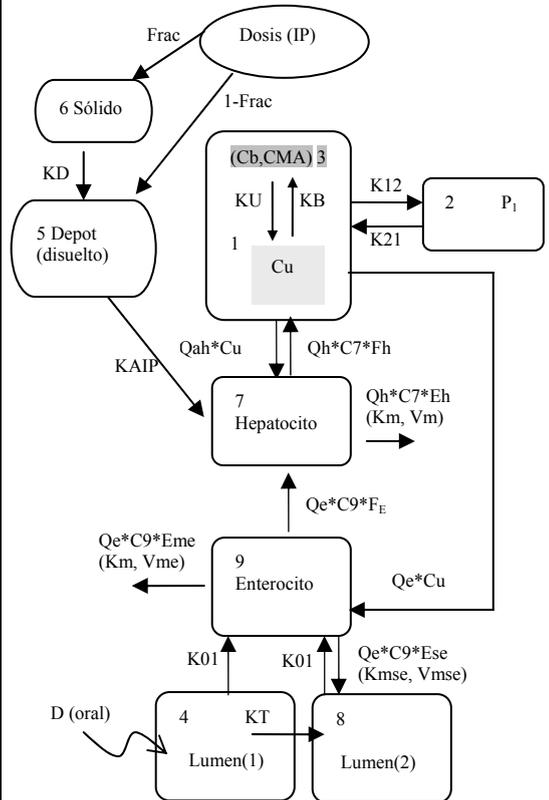
6  
o037 (ADVAN 9)

Se diferencia el compartimento hepatocito y enterocito, se considera una cinética de eliminación de MM desde el hepatocito y un proceso de secreción intestinal desde el compartimento enterocito a uno de los dos compartimentos de tránsito intestinal. A nivel de absorción IP y unión a proteínas plasmáticas tiene en cuenta las mismas consideraciones que en casos anteriores



7  
0049 (ADV AN 9)

**(P-PK híbrido)  
(Tras retroalimentación)**  
Se recurre a expresiones fisiológicas para describir este modelo, que considera cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal. A nivel de absorción IP y unión a proteínas plasmáticas tiene en cuenta las mismas consideraciones que en casos anteriores



**Cuadro 4.10** Algunas de las estructuras base ensayadas en el análisis mecanicista de los procesos de incorporación al organismo, correspondientes a las etapas 2, 3 y 4.

#### 4.7.2.1.2.2 RITONAVIR

En el cuadro 4.11 se muestra la estructura base de algunos de los modelos probados en el análisis mecanicista de los procesos del LADME para el ritonavir. En este caso al analizarse todos los datos experimentales disponibles de ritonavir a la vez, se han considerado diferentes combinaciones de todos los procesos del LADME desde un primer momento, comenzando con modelos sencillos a los que se les ha ido otorgando cierto grado de complejidad.

Como posibles procesos de eliminación se ha considerado: cinética de Michaelis-Menten o de primer orden, ocurriendo en el compartimento central o en otros compartimentos.

En el proceso de distribución se ha considerado: unión instantánea o unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas, aplicando las mismas consideraciones que en el caso del saquinavir, *epígrafe 4.7.2.1.2.1*, ecuaciones 4.9 a 4.18.

Para evaluar la cinética de incorporación del fármaco al organismo se ha considerado: un proceso de absorción de orden uno, así como una cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción. Como en el caso del saquinavir, en algunos modelos se han considerado procesos de secreción intestinal y procesos metabólicos intestinales y/o hepáticos saturables. Y se han tenido en cuenta uno o más compartimentos de tránsito intestinal, con procesos de absorción y secreción en uno o varios compartimentos a la vez, así como una absorción completa o incompleta del fármaco.

Del mismo modo que en el caso del saquinavir, los modelos mecanicistas se han transformado en P-PK híbridos, en este caso el objetivo es, además de obtener una explicación fisiológica del LADME, obtener un modelo compatible con el del saquinavir, para modelar satisfactoriamente la interacción entre ambos fármacos.

Al construir el modelo estructural del ritonavir, se ha llegado a probar modelos tan complejos como en el caso del saquinavir, del tipo **o049** que se muestra en el *cuadro 4.10*, que consideraba compartimentos como el

hepatocito y enterocito. Pero finalmente se ha optado por simplificar al máximo el modelo dado que de este fármaco se disponía de menor información en cuanto a datos experimentales, para poder discernir bien entre unos procesos y otros en los distintos compartimentos. Así, se han construido modelos P-PK híbridos más sencillos que no consideran los compartimentos hepatocito y enterocito. Al igual que antes se hace uso de expresiones fisiológicas, de aclaramientos, flujos y volúmenes, como las que se especifican a continuación.

En primer lugar, se definen los flujos sanguíneos de igual modo que para el saquinavir:

$$Q_h = Q_{ah} + Q_e \quad \text{Ecuación 4.43}$$

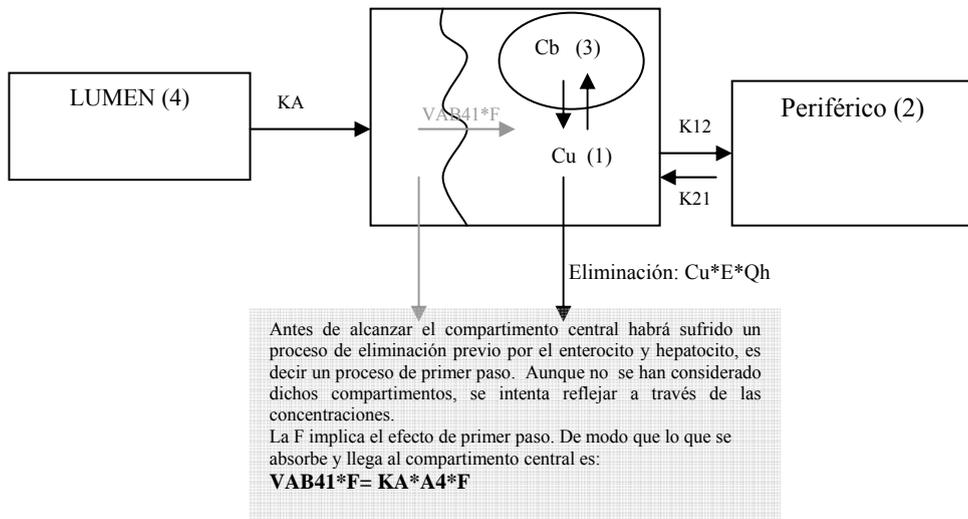
$$Q_{ah} = Q_h \cdot 0,13 \quad \text{Ecuación 4.44}$$

En los modelos que deslindan el compartimento enterocito y hepatocito se consideran las mismas expresiones fisiológicas ya descritas en el epígrafe anterior para el saquinavir. Mientras que en los modelos que no consideran estos dos compartimentos, sino que consideran un compartimento central y periférico, dándose el proceso de eliminación en el compartimento central, se define un aclaramiento  $Cl_0$ , para un flujo determinado y una concentración de fármaco cero, que se calcula a partir de la siguiente expresión:

$$Cl_0 = \frac{Cl_i \cdot Q_h}{(Cl_i + Q_h)} \quad \text{Ecuación 4.45}$$

en la que  $Cl_i$  es el aclaramiento intrínseco plasmático del fármaco a flujo infinito y  $Q_h$  el flujo hepático.

En este caso como ya se ha advertido anteriormente, no se deslindan los compartimentos enterocito ni hepatocito del central, a pesar de ello se puede reflejar el efecto de primer paso que afectaría al fármaco antes de alcanzar el compartimento central, de modo que el fármaco entra desde el lumen a una velocidad de absorción corregida por la fracción de fármaco que escapa del proceso de eliminación (F). A continuación, se muestra una representación gráfica de este supuesto:



**Figura 4.1.** Representación gráfica de un modelo bicompartimental con absorción de orden uno desde el lumen y procesos de unión a proteínas plasmáticas y de eliminación desde el compartimento central (1). Donde Cb es la concentración de fármaco unida a proteínas plasmáticas (en compartimento 3) y Cu la concentración de fármaco libre. VAB41, la velocidad de absorción, Ka la constante de absorción de orden uno, E, la tasa de extracción y F la fracción de fármaco que escapa del proceso de eliminación.

Previamente se define una concentración *Cre*, a la que entra el fármaco desde el lumen hacia el compartimento central antes de sufrir el efecto de primer paso.

$$C_{re} = \frac{K_a \cdot A_4}{Q_e} \quad \text{Ecuación 4.46}$$

siendo  $K_a$  la constante de velocidad de absorción,  $A_4$  la cantidad de fármaco en lumen y  $Q_e$ , el flujo de las arterias mesentéricas que recoge el fármaco que se absorbe.

En condiciones de un flujo determinado y una concentración dada de fármaco la siguiente expresión define el aclaramiento aparente:

$$V_m = Cl_0 \cdot K_m \quad \text{Ecuación 4.47}$$

$$Cl_A = \frac{Cl_0 \cdot K_m}{(K_m + C_u + C_{re})} \quad \text{Ecuación 4.48}$$

Finalmente las siguientes expresiones definen la tasa de extracción,  $E$ , y la fracción de fármaco que escapa del proceso de eliminación,  $F$ :

$$E = \frac{Cl_A}{Q_h} \quad \text{Ecuación 4.49}$$

$$F = 1 - E \quad \text{Ecuación 4.50}$$

A continuación se muestran a modo de ejemplo las ecuaciones diferenciales correspondientes a la estructura 5 de ritonavir, modelo P-PK híbrido **RO068**, que se muestra en el *cuadro 4.11*:

$$\begin{aligned} \frac{dA_1}{dt} = & -K_B \cdot C_u(CMA - C_b) \cdot V_c + K_u \cdot C_b \cdot V_c + K_{21} \cdot A_2 - K_{12} \cdot A_1 \\ & + K_a \cdot A_4 \cdot F - Q_h \cdot C_u \cdot E \end{aligned} \quad \text{Ecuación 4.51}$$

$$\frac{dA_2}{dt} = K_{12} \cdot A_1 - K_{21} \cdot A_2 \quad \text{Ecuación 4.52}$$

$$\frac{dA_3}{dt} = K_B \cdot (CMA - Cb) \cdot Cu \cdot Vc - K_u \cdot Cb \cdot Vc \text{ Ecuación 4.53}$$

$$\frac{dA_4}{dt} = -K_{01} \cdot A_4 \text{ Ecuación 4.54}$$

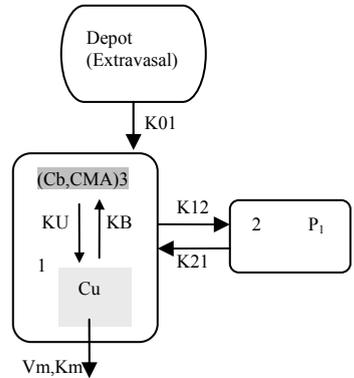
en las que  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  y  $A_4$ , son las cantidades de fármaco en cada compartimento de los considerados por el modelo. Tal y como se observa en la figura, el compartimento 1 correspondería al compartimento central dónde el fármaco se encuentra libre ( $Cu$ ) y a su vez unido ( $Cb$ ) a proteínas plasmáticas mediante un equilibrio dinámico (correspondería al compartimento 3). El fármaco se distribuye a un compartimento periférico (2) y sufre un proceso de extracción desde el compartimento central, representado por la tasa de extracción (definida por las ecuaciones 4.46-4.49).

A continuación, en el *cuadro 4.11* se muestra algunas de las estructuras desarrolladas para dar explicación a los procesos del LADME del ritonavir.

| Modelos ritonavir                   | Descripción   | Estructura |
|-------------------------------------|---|------------|
| LADME                               |   |            |
| <p><b>1</b><br/>RO021 (ADVAN 9)</p> | <p>Absorción con cinética de primer orden, unión dinámica a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de primer orden.</p> |            |

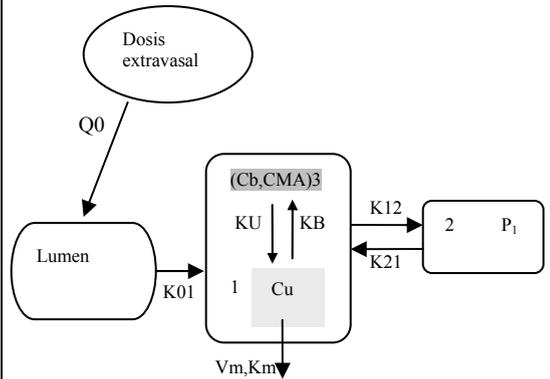
2  
RO024 (ADV AN 9)

Absorción con cinética de primer orden, unión dinámica a proteínas plasmáticas y eliminación con cinética de MM.



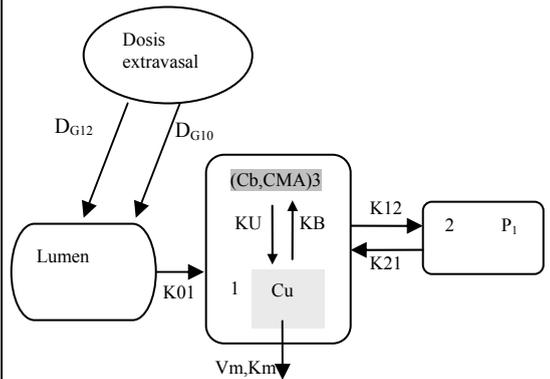
3  
RO027 (ADV AN 9)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (dónde se itera la velocidad a la que entra el fármaco). Cinética de eliminación de MM desde central y unión a proteínas plasmáticas



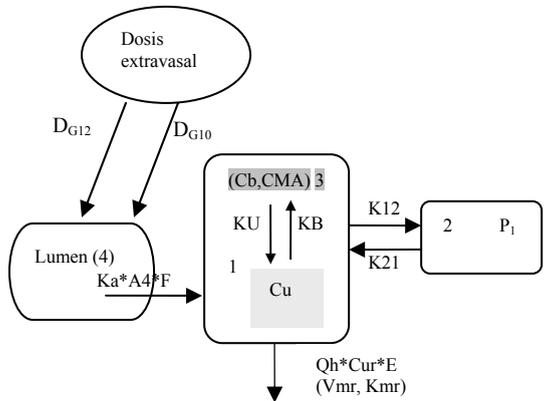
4  
RO043 (ADV AN 9)

Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (dónde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de MM desde central y unión a proteínas plasmáticas



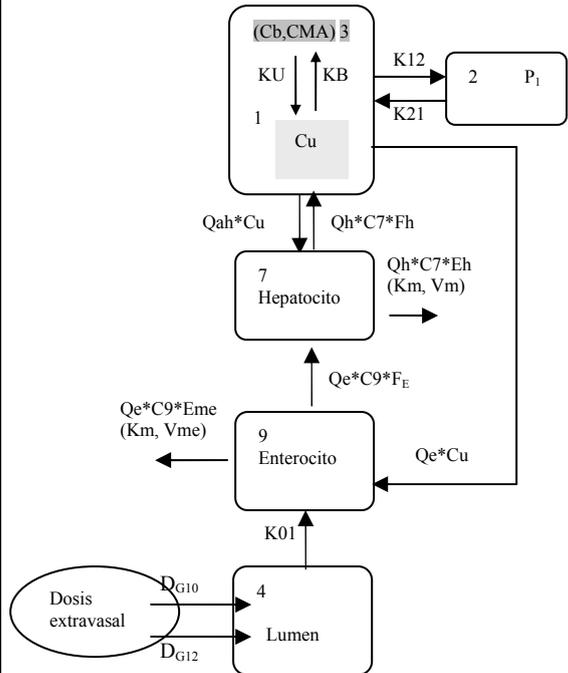
5  
RO068 (ADVAN 9)

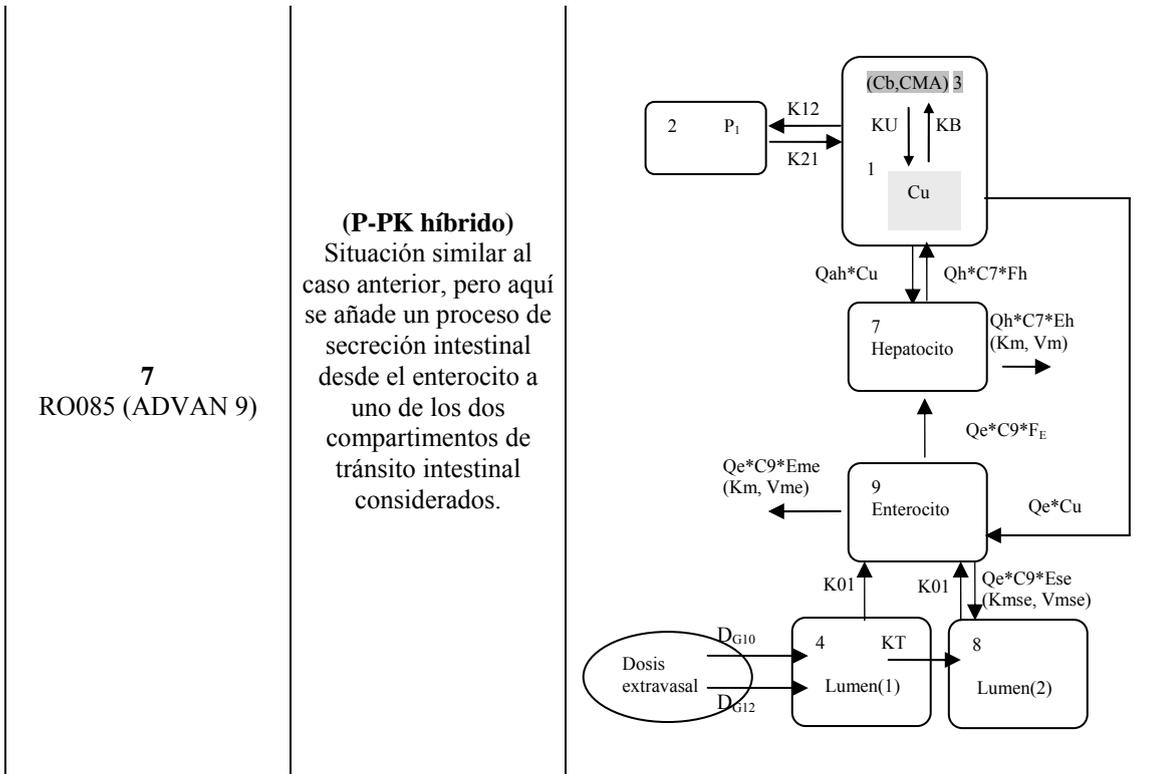
**(P-PK híbrido)**  
Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (donde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral. Cinética de eliminación de MM desde central editado con expresiones fisiológicas y unión a proteínas plasmáticas



6  
RO080 (ADVAN 9)

**(P-PK híbrido)**  
Considera cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal y una cinética de absorción de orden uno, desde un compartimento de tránsito intestinal, limitada por una cinética de orden cero (en la que se itera la duración de la entrada de fármaco, siendo distinta para los dos grupos orales). Además considera una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas.





**Cuadro 4.11** Algunas de las estructuras base ensayadas en el análisis mecanicista de los procesos del LADME, correspondientes a la etapa 5.

#### 4.7.2.1.2.3 INTERACCIÓN SAQUINAVIR-RITONAVIR

La etapa 6 consiste en el análisis conjunto de todos los datos disponibles de saquinavir y ritonavir, modelando la interacción entre ambos fármacos. En la construcción del modelo de interacción se parte de la información obtenida en todas las etapas previas, partiendo por tanto de los modelos alcanzados para los fármacos anteriores.

Estudiando los modelos desarrollados hasta el momento, se observa que estos fármacos pueden interactuar a través de varios procesos. En primer lugar podría darse un desplazamiento en la unión a proteínas plasmáticas, por otra parte podría esperarse competencia por los enzimas

metabólicos e incluso por los transportadores de secreción intestinal. Por ello se desarrollan diversos modelos de interacción basados en los modelos de elección para cada fármaco.

• **Unión a proteínas plasmáticas:**

En primer lugar se ha considerado que ambos fármacos se unen a las misma proteína plasmática, tal y como indica la bibliografía, ya que ambos se unen a la albumina y a la  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, siendo mayor su afinidad por esta última. En el modelo se ha reflejado esta posible interacción, de modo que la máxima cantidad de fármaco que puede unirse a proteínas plasmáticas (QMA) en mmoles, es la misma para los dos fármacos. De este modo puede producirse un desplazamiento de la unión entre los fármacos.

En este caso se define e itera QMA, siendo la misma para ambos fármacos. Para cada fármaco se define en el modelo una cantidad unida a proteína en mmoles (MB para el saquinavir y MRB para el ritonavir). A continuación, se define una capacidad disponible de unión a proteína en mmoles, que es la misma para ambos fármacos:

$$QM = QMA - MB - MRB \quad \text{Ecuación 4.55}$$

Posteriormente para cada fármaco se expresa esta QM en concentración, CMS y CMR, para saquinavir y ritonavir, respectivamente. Concentraciones que se obtienen multiplicando por el peso molecular y dividiendo por el correspondiente volumen (se ha considerado el volumen central de cada fármaco).

Por tanto, podemos definir la velocidad de unión y desunión para el saquinavir y ritonavir expresado en mg/h como:

$$\text{Vel.unión}_{\text{SQV}} = \text{Cu} \cdot \text{CMS} \cdot \text{K}_B \cdot \text{Vcs} \quad \text{Ecuación 4.56}$$

$$\text{Vel.desunión}_{\text{SQV}} = \text{Cb} \cdot \text{K}_U \cdot \text{Vcs} \quad \text{Ecuación 4.57}$$

$$\text{Vel.unión}_{\text{RTV}} = \text{Cu}_r \cdot \text{CMR} \cdot \text{K}_{\text{BR}} \cdot \text{Vcr} \quad \text{Ecuación 4.58}$$

$$\text{Vel.desunión}_{\text{RTV}} = \text{Cb}_r \cdot \text{K}_{\text{UR}} \cdot \text{Vcr} \quad \text{Ecuación 4.59}$$

en las que  $K_U$ ,  $K_B$  y  $K_{UR}$ ,  $K_{BR}$  son las constantes de desunión y unión a proteínas plasmática para el saquinavir y ritonavir, respectivamente.  $C_b$ ,  $C_u$  y  $C_{b_r}$ ,  $C_{u_r}$ , la concentración plasmática unida a proteína y libre, para el saquinavir y ritonavir, respectivamente.  $V_{cs}$  y  $V_{cr}$ , los volúmenes de distribución en el compartimento central para el saquinavir y ritonavir, respectivamente.

En algunos modelos se ha considerado que además de la unión de ambos fármacos a la misma proteína plasmática, el saquinavir se une a una segunda proteína plasmática. La unión a esa segunda proteína plasmática está definida por parámetros distintos de  $K_{U2}$ ,  $K_{B2}$  y  $QMA_2$ , y se expresa de igual forma que cuando se modela cada fármaco por separado, tal y como se muestra en el *epígrafe 4.7.2.1.2.1*.

**• Competencia por enzimas metabólicos o transportadores de secreción intestinal:**

En la construcción de los modelos para saquinavir y ritonavir, como se ha especificado en epígrafes anteriores, se ha tenido en cuenta la posible interacción de los fármacos a nivel enzimático, cuando se incorporaban los

datos correspondientes a los grupos 9 y 10, esa interacción se refleja a través de unos factores empíricos que pueden afectar a las  $K_m$  del fármaco, es decir pueden hacer variar la afinidad del fármaco por dicho enzima. El uso de dichos factores implica que la  $K_m$  del fármaco se encuentra modificada de manera constante por ese factor, cuando realmente si se produce una competencia por la unión al enzima, la  $K_m$  está modificada en función de la concentración del segundo fármaco. Esta es la consideración que se ha realizado cuando se ha modelado la interacción de los fármacos a nivel enzimático.

Tal y como se ha definido anteriormente, en condiciones de un flujo determinado y a concentración de fármaco cero, el aclaramiento  $Cl_0$ , bien sea hepático o intestinal, por metabolismo o secreción, se calcula a partir de la siguiente expresión:

$$Cl_0 = \frac{Cl_i \cdot Q}{(Cl_i + Q)}$$

Ecuación 4.60

en la que  $Cl_i$  es el aclaramiento intrínseco plasmático del fármaco en a flujo infinito y  $Q$ , el flujo correspondiente para el proceso que proceda.

En condiciones de un flujo determinado y una concentración dada de fármaco la siguiente expresión define el aclaramiento aparente:

$$V_m = Cl_0 \cdot K_m$$

Ecuación 4.61

$$Cl_A = \frac{Cl_0 \cdot K_m}{(K_{map} + C)}$$

Ecuación 4.62

Es en esta expresión dónde se refleja la interacción de ambos fármacos, ya que  $K_{map}$ , es la constante de Michaelis-Menten aparente del fármaco que se define como:

$$K_{map} = K_m \cdot \left( 1 + \frac{C_{F2}}{K_{m_{F2}}} \right) \quad \text{Ecuación 4.63}$$

en la que  $C_{F2}$  es la concentración del segundo fármaco en el compartimento donde tiene lugar el proceso de Michaelis-Menten, y  $K_{m_{F2}}$ , la constante de Michaelis-Menten de éste segundo fármaco.

Finalmente las siguientes expresiones definen la tasa de extracción hepática,  $E$ , y la fracción de fármaco que escapa del proceso de extracción,  $F$ :

$$E = \frac{Cl_A}{Q} \quad \text{Ecuación 4.64}$$

$$F = 1 - E \quad \text{Ecuación 4.65}$$

En algunos modelos de interacción se ha considerado, además, que la velocidad máxima a la que la enzima metaboliza a los dos fármacos es la misma, para incorporarlo en el modelo se ha considerado que  $V_{mi}$  es la velocidad máxima intrínseca a la que trabaja la enzima metabólica (mmoles/h):

$$V_{mis} = V_{mi} \cdot PM_s \quad \text{Ecuación 4.66}$$

$$V_{mir} = V_{mi} \cdot PM_r \quad \text{Ecuación 4.67}$$

V<sub>mis</sub> y V<sub>mir</sub> son la velocidad máxima expresada en mg/h de cada fármaco, siendo P<sub>M</sub>s y P<sub>M</sub>r el peso molecular de saquinavir y ritonavir, respectivamente.

$$Cl_{is} = V_{mis} / K_m \quad \text{Ecuación 4.68}$$

$$Cl_{ir} = V_{mir} / K_m \quad \text{Ecuación 4.69}$$

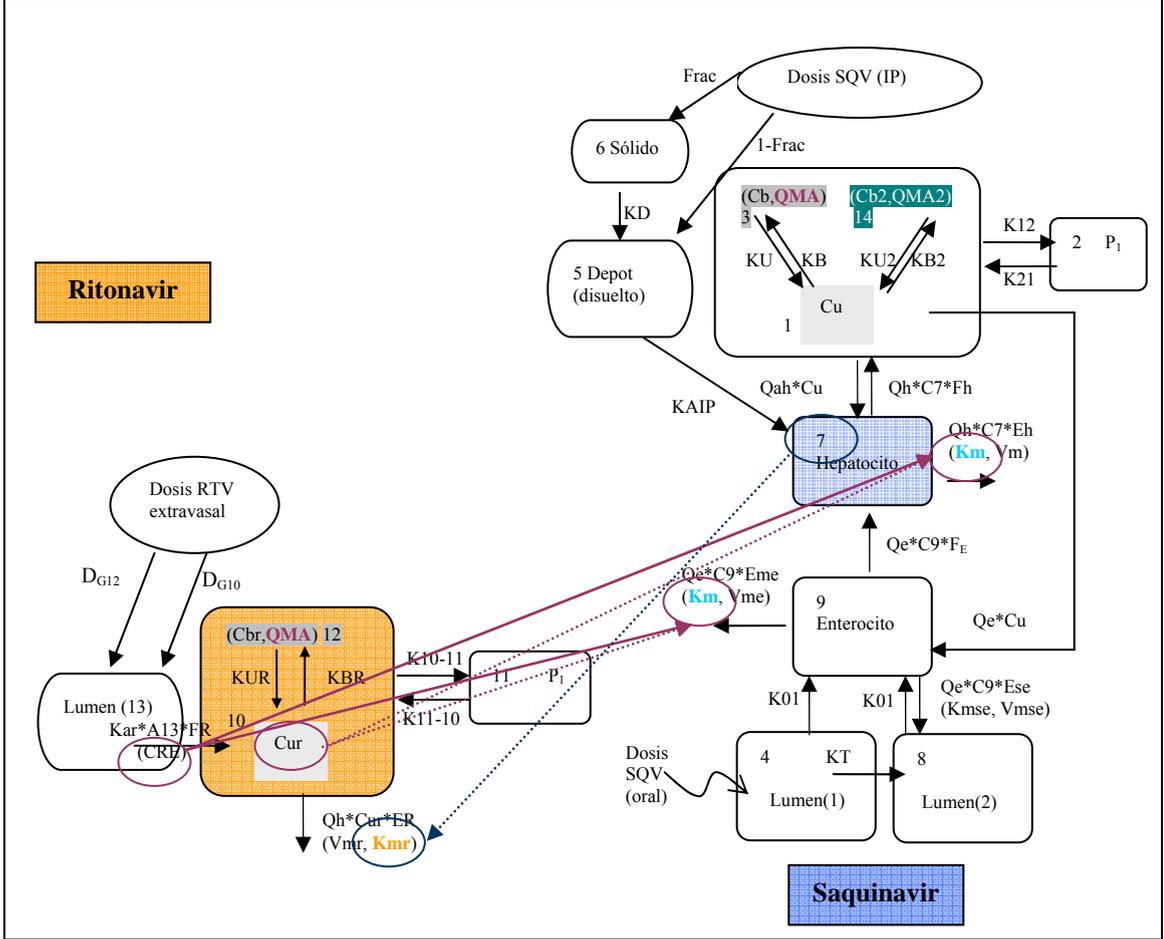
$$Cl_0 = \frac{Cl_{i(s/r)} \cdot Q}{(Cl_{i(s/r)} + Q)} \quad \text{Ecuación 4.70}$$

Cl<sub>ir</sub> y Cl<sub>is</sub>, son el aclaramiento plasmático intrínseco para ritonavir y saquinavir, respectivamente. A partir de la ecuación 4.70, se utilizan las mismas expresiones descritas anteriormente hasta llegar a la descripción de la tasa de extracción y la fracción de fármaco que escapa del proceso de extracción, ecuaciones 4.61-4.65.

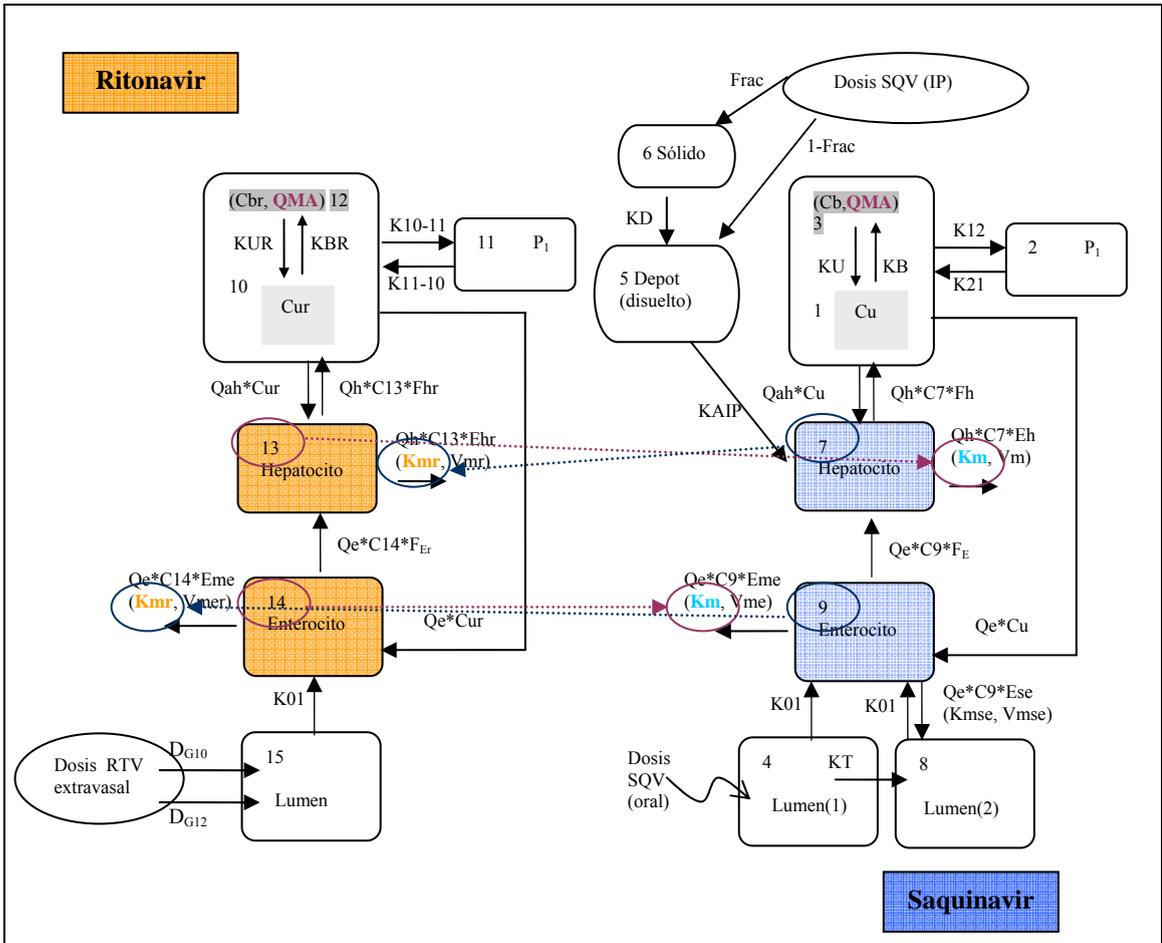
En el *cuadro 4.12* se muestra la estructura de dos de los modelos de interacción considerados.

| Modelos interacción                | Descripción y Estructura   |
|------------------------------------|--|
| LADME                              |  |
| <b>1</b><br><b>SR059 (ADVAN 9)</b> | <p style="text-align: center;"><b>(P-PK híbrido)</b></p> <p><b>Ritonavir:</b><br/>Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (donde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral). Cinética de eliminación de Michaelis-Menten (MM) desde el compartimento central, editado con expresiones fisiológicas y unión a proteínas plasmáticas.</p> <p><b>Saquinavir:</b><br/>Cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal.<br/>Disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a dos proteínas plasmáticas.</p> <p><b>Interacción:</b><br/>- Desplazamiento por unión a proteínas plasmáticas: misma QMA para ambos</p> |

fármacos en la unión una de las proteínas plasmáticas.  
 - Competencia por la enzima encargada del metabolismo:  
 En primer lugar, la  $K_m$  del saquinavir está afectada por la  $K_{mr}$  del ritonavir a nivel intestinal y hepático, así como por la concentración libre de ritonavir  $C_{ur}$  y la concentración  $C_{re}$  de ritonavir (definida en el epígrafe anterior).  
 Mientras que la  $K_{mr}$  del ritonavir puede verse afectada por la  $K_m$  del saquinavir y la concentración de saquinavir en hepatocito (otros modelos han considerado la concentración de enterocito).



|  |  |
|--|--|
| <p style="text-align: center;">2<br/>SR055 (ADVAN 9)</p> | <p style="text-align: center;"><b>(P-PK híbrido)</b></p> <p><b>Ritonavir:</b><br/>Cinética de orden cero que actúa como factor limitativo de la absorción (dónde se itera la duración (D) de la entrada de fármaco a velocidad constante, siendo distinta para cada grupo oral). Cinética de eliminación de MM desde compartimento hepatocito y enterocito, editado con expresiones fisiológicas y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas.</p> <p><b>Saquinavir:</b><br/>Cinéticas de eliminación de MM a nivel hepático e intestinal, junto con un proceso de secreción intestinal desde enterocito a lumen y una cinética de absorción de orden uno desde dos compartimentos de tránsito intestinal.<br/>Disolución como factor limitativo de la absorción IP y unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas.</p> <p><b>Interacción:</b><br/>- Desplazamiento por unión a proteínas plasmáticas: misma QMA para ambos fármacos.<br/>- Competencia por la enzima encargada del metabolismo:<br/>En primer lugar, en el hepatocito la Km del saquinavir se ve afectada por la K<sub>mr</sub> del ritonavir, así como por la concentración de ritonavir en este compartimento (C<sub>13</sub>) y lo mismo ocurre en enterocito, siendo la concentración de ritonavir de este compartimento la que afecta en este caso (C<sub>14</sub>).<br/>Las mismas consideraciones se tienen en cuenta para el ritonavir.</p> |
|--|--|



**Cuadro 4.12** Algunos de los modelos de interacción ensayados en el análisis mecanicista de los procesos del LADME, correspondientes a la etapa 6.

A continuación se muestran, a modo de ejemplo, las ecuaciones diferenciales correspondientes a la estructura 1, modelo P-PK híbrido **SR059**, que se muestra en el *cuadro 4.12*.

**Saquinavir:**

$$\begin{aligned} \frac{dA_1}{dt} = & -K_B \cdot Cu \cdot CMS \cdot Vcs + K_u \cdot Cb \cdot Vcs + K_{21} \cdot A_2 - K_{12} \cdot A_1 \\ & + Q_h \cdot C_7 \cdot F_h - Q_h \cdot Cu - K_{B2} \cdot Cu \cdot (CMA_2 - Cb_{M2}) \cdot 670,86 \cdot Vcs \\ & + K_{u2} \cdot Cb_2 \cdot Vcs \end{aligned}$$

Ecuación 4.72

$$\frac{dA_2}{dt} = K_{12} \cdot A_1 - K_{21} \cdot A_2 \quad \text{Ecuación 4.73}$$

$$\frac{dA_3}{dt} = K_B \cdot CMS \cdot Cu \cdot Vcs - K_u \cdot Cb \cdot Vcs \quad \text{Ecuación 4.74}$$

$$\frac{dA_4}{dt} = -K_{01} \cdot A_4 - K_T \cdot A_4 \quad \text{Ecuación 4.75}$$

$$\frac{dA_5}{dt} = -K_{AIP} \cdot A_5 + K_D \cdot A_6 \quad \text{Ecuación 4.76}$$

$$\frac{dA_6}{dt} = -K_D \cdot A_6 \quad \text{Ecuación 4.77}$$

$$\frac{dA_7}{dt} = Q_{ah} \cdot Cu + Q_e \cdot C_9 \cdot F_E - Q_h \cdot C_7 \cdot F_h - Q_h \cdot C_7 \cdot E_h + K_{AIP} \cdot A_5 \quad \text{Ecuación 4.78}$$

$$\frac{dA_8}{dt} = -K_{01} \cdot A_8 + K_T \cdot A_4 + Q_e \cdot C_9 \cdot E_{se} \quad \text{Ecuación 4.79}$$

$$\frac{dA_9}{dt} = -Q_e \cdot C_9 \cdot F_E - Q_e \cdot C_9 \cdot E_E + Q_e \cdot Cu + K_{01} \cdot A_4 + K_{01} \cdot A_8$$

Ecuación 4.80

$$\frac{dA_{14}}{dt} = K_{B2} \cdot (CMA_2 - Cb_{M2}) \cdot Cu \cdot 670,86 \cdot Vcs - K_{u2} \cdot Cb_2 \cdot Vcs$$

(PMs=670,86; CMA<sub>2</sub> y Cb<sub>M2</sub> en mmol/L) Ecuación 4.81

en las que A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>,A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>9</sub> y A<sub>14</sub>, son las cantidades de fármaco en cada compartimento de los considerados en el modelo. Tal y como se observa en la figura del *cuadro 4.12*, el compartimento 1 correspondería al compartimento central dónde el fármaco se encuentra libre (Cu) y a su vez unido a proteínas plasmáticas (Cb y Cb<sub>2</sub>) mediante dos equilibrios dinámicos (correspondería a los compartimentos 3 y 14).

Los procesos de distribución a través de los flujos así como los procesos de extracción son los mismos que se han descrito para el saquinavir en el epígrafe 4.7.2.1.2.1 cuando se describían las ecuaciones diferenciales del modelo **o049**.

**Ritonavir:**

$$\frac{dA_{10}}{dt} = -K_{BR} \cdot Cur \cdot CMR \cdot Vcr + K_{UR} \cdot Cbr \cdot Vcr + K_{11-10} \cdot A_{11} - K_{10-11} \cdot A_{10} + K_{ar} \cdot A_{13} \cdot F_R - Q_h \cdot Cur \cdot E_R$$

Ecuación 4.82

$$\frac{dA_{11}}{dt} = K_{10-11} \cdot A_{10} - K_{11-10} \cdot A_{11}$$

Ecuación 4.83

$$\frac{dA_{12}}{dt} = K_{BR} \cdot CMR \cdot Cur \cdot Vcr - K_{UR} \cdot Cbr \cdot Vcr$$

Ecuación 4.84

$$\frac{dA_{13}}{dt} = -K_{ar} \cdot A_{13}$$

Ecuación 4.85

en las que A<sub>10</sub>, A<sub>11</sub>, A<sub>12</sub> y A<sub>13</sub>, son las cantidades de fármaco en cada compartimento de los considerados por el modelo. Tal y como se observa en la figura del *cuadro 4.12*, el compartimento 10 correspondería al

compartimento central donde el fármaco se encuentra libre ( $C_{ur}$ ) y a su vez unido a proteínas plasmáticas ( $C_{br}$ ) mediante un equilibrio dinámico (correspondería al compartimento 12). El fármaco se distribuye a un compartimento periférico (11) y sufre un proceso de extracción desde el compartimento central, representado por la tasa de extracción ( $E_R$ ).

En cuanto a la **interacción**, el modelo considera que ambos fármacos interactúan a nivel enzimático en los procesos metabólicos hepático e intestinal, mientras que el proceso de secreción de saquinavir no se ve afectado por la presencia de ritonavir. Por otra parte, considera un posible desplazamiento de la unión a una de las proteínas plasmáticas tal y como se ha expresado previamente en este mismo epígrafe.

Siendo que la concentración de ritonavir  $C_{re}$  es: 
$$C_{re} = \frac{K_{ar} * A_{13}}{Q_e}$$

Para el **saquinavir** se definen los siguientes aclaramientos aparentes:

$$K_{msap} = K_m \cdot \left( 1 + \frac{(C_{ur} + C_{re})}{K_{mr}} \right) \quad \text{Ecuación 4.86}$$

$$Cl_{Ah} = \frac{Cl_{0h} \cdot K_m}{(K_{msap} + C_7)} \quad \text{Ecuación 4.87}$$

$$Cl_{Ame} = \frac{Cl_{0me} \cdot K_m}{(K_{msap} + C_9)} \quad \text{Ecuación 4.88}$$

$$Cl_{Ase} = \frac{Cl_{0se} \cdot K_{mse}}{(K_{mse} + C_9)} \quad \text{Ecuación 4.89}$$

Mientras que para el **ritonavir** se ha definido el siguiente aclaramiento aparente:

$$K_{mrapp} = K_{mr} \cdot \left( 1 + \frac{C_7}{K_m} \right) \quad \text{Ecuación 4.90}$$

$$Cl_A = \frac{Cl_0 \cdot K_{mr}}{(K_{mrapp} + C_{ur} + C_{re})} \quad \text{Ecuación 4.91}$$

#### 4.7.2.2 Modelo de variabilidad inter-individual

La variabilidad inter-individual se ha modelado mediante modelos exponenciales.

$$P_i = P_{pop} \exp(\eta_i) \quad \text{Ecuación 4.92}$$

siendo  $\eta_i$  un efecto aleatorio que pone de manifiesto la diferencia entre el parámetro individual,  $P_i$ , y el valor típico de la población,  $P_{pop}$ . La matriz de varianza-covarianza interindividual se ha modelado como diagonal, asumiendo que no existe covarianza entre los efectos aleatorios  $\eta_i$ . También, se ha tenido en cuenta la posibilidad de una correlación entre estos efectos aleatorios, por lo que se ha implementado en algunos casos.

#### 4.7.2.3 Modelo de variabilidad residual

La variabilidad residual inicialmente se ha modelado siguiendo un modelo de error exponencial tal y como describe la ecuación 4.24. Pero finalmente se ha utilizado un modelo de error exponencial-aditivo, ecuación 4.25.

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* \exp \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 4.93}$$

$$Cp_{ij} = Cp_{ij}^* \exp \varepsilon_{1ij} + \varepsilon_{2ij} \quad \text{Ecuación 4.94}$$

siendo  $Cp_{ij}$  la concentración experimental  $i$  en el individuo  $j$ ;  $Cp_{ij}^*$  la concentración estimada  $i$  en el individuo  $j$  y  $\varepsilon_{ij}$  el error residual aleatorio intraindividual que afecta a  $Cp_{ij}$ , que se asume presenta una distribución normal de media cero y varianza  $\sigma_\varepsilon^2$  [ $\varepsilon_{ij} = N(0, \sigma_\varepsilon^2)$ ].

### 4.7.3 Determinación de la biodisponibilidad

El cálculo de la *biodisponibilidad oral absoluta*, de saquinavir y ritonavir, se ha realizado en primer lugar a partir del *AUC no compartimental*.

Se calcula el cociente entre el valor del *AUC*, corregido para la dosis, obtenido por el método de suma de trapecios de la administración por vía oral,  $AUC_{no\ comp(OR)}$ , y el valor del *AUC*, corregido para la dosis, obtenido, para la administración intravenosa, por el método de suma de trapecios,  $AUC_{no\ comp(IV)}$ . En ambos casos se tomará el valor promedio de los parámetros individuales o el poblacional, cuando corresponda. Este valor se expresa en porcentaje.

$$f = \frac{AUC_{no\ comp(OR)}}{AUC_{no\ comp(IV)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.95}$$

La *biodisponibilidad IP absoluta*, se ha determinado con el fin de discernir la importancia del efecto de primer paso hepático en las pérdidas presistémicas del saquinavir y del ritonavir. Y se ha calculado a partir del

cociente entre el valor del  $AUC$ , corregido para la dosis, obtenido mediante el análisis no compartimental, de la administración intraperitoneal,  $AUC_{no\ comp(IP)}$ , y el valor del  $AUC$ , corregido para la dosis, obtenido en la administración intravenosa,  $AUC_{no\ comp(IV)}$ .

$$f = \frac{AUC_{no\ comp(IP)}}{AUC_{no\ comp(IV)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.96}$$

La *biodisponibilidad relativa* se ha determinado para discernir entre el efecto de primer paso intestinal y hepático, se calcula aplicando la siguiente expresión que considera, el cociente entre el valor de  $AUC_{no\ comp(OR)}$ , corregido para la dosis y el valor de  $AUC_{no\ comp(IP)}$ , corregido para la dosis, obtenidos mediante análisis no compartimental.

$$f = \frac{AUC_{no\ comp(OR)}}{AUC_{no\ comp(IP)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.97}$$

## 4.8 Métodos estadísticos

### 4.8.1 Correlaciones lineales

En el ensayo de linealidad del método analítico se ha utilizado el coeficiente de correlación ( $r$ ), como criterio estadístico para medir la bondad del ajustado.

Este criterio también se utiliza como criterio de selección de modelo.

### 4.8.2 Comparación de medias

La utilización de métodos paramétricos para la comparación de medias requiere dos condiciones previas. La primera es que las medias presenten distribución normal o de Gauss y que las varianzas sean

homogéneas. Por tal razón, previo a la aplicación de las pruebas estadísticas, se ha de contrastar la distribución de la variable mediante la prueba Z de Kolmogorov-Smirnov. Esta prueba compara la distribución acumulada de la muestra con la que se obtendría en el supuesto de que ésta siguiese la ley Normal.

Este procedimiento se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que una muestra procede de una población en la que la variable se distribuye según la ley Normal. Así, cuando la p del estadístico de Kolmogorov-Smirnov es superior a 0.05, se cumple la hipótesis nula ( $H_0$ ), es decir, la distribución de la variable no difiere de la normalidad. Por el contrario, si se cumple la hipótesis alternativa ( $H_1$ ), p es inferior a 0.05, la distribución de la variable difiere de la distribución normal y no se pueden utilizar pruebas paramétricas (Álvarez-Cáceres 1995).

El segundo requisito para la aplicación de pruebas paramétricas consiste en que las varianzas de las variables a comparar sean homogéneas para cualquier valor que tome la variable (homocedasticidad). Si existen diferencias en las varianzas de las variables a estudio, se dice que las varianzas son heterocedásticas y no se pueden utilizar pruebas paramétricas. Existen varias pruebas para contrastar la distribución de las varianzas entre ellas la de Levene (Abraira Santos et al. 1996). Cuando esta prueba arroja un valor de p superior a 0.05, se cumple la hipótesis nula ( $H_0$ ) y las desviaciones típicas o las varianzas son homogéneas, mientras que si p es inferior a 0.05, se cumple la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) y se considera que las varianzas no son homogéneas.

Además, las observaciones son independientes, es decir, el valor de una observación en un grupo no proporciona información sobre el valor de la observación en otro grupo (Curry et al. 1983).

#### 4.8.2.1 Pruebas paramétricas y no paramétricas

Como ya se ha dicho anteriormente, en la comparación de dos medias se exige que la variable siga una distribución normal y que las poblaciones presenten varianzas homogéneas. Pero ocurre muy frecuentemente que en la investigación las muestras son pequeñas y estos dos requisitos no se cumplen. En estos casos, se recurre a las pruebas no paramétricas en las que no se especifican las condiciones de normalidad en la distribución y homogeneidad de la población de donde se extrajo la muestra y nos permiten comparar grupos en los que las variables son sometidas a una escala ordinal. Estas pruebas son, en general, menos potentes que las pruebas paramétricas.

- Pruebas paramétricas

Cuando se confirma la distribución normal y homogeneidad de las varianzas de la variable a estudio, se aplica la prueba *t de Student* bilateral que contrasta la presencia de diferencias entre dos medias. Y cuando se comparan más de dos medias se utiliza el análisis de varianza (ANOVA). El análisis de la varianza de un factor contrasta la hipótesis nula de que las K medias de una variable dependiente cuantitativa son iguales en K grupos independientes de casos definidos por una sola variable de agrupación (Neter et al. 1996). El análisis de la varianza pretende determinar si realmente existe una variación sistemática debida a la variable de

agrupación (variación entre grupos), superior a la variación residual (variación asociada a cada observación individual o variación intragrupos).

No obstante, la vulneración del supuesto de normalidad no afecta excesivamente al valor de  $p$  del grado de significación obtenida porque la prueba es muy robusta, es decir, no se afecta en gran medida por la presencia de valores extremos o atípicos. Asimismo, la falta de homogeneidad de varianzas sólo afecta de forma importante al valor de  $p$  del grado de significación cuando los grupos tienen diferente tamaño. Por esta razón, se ha aplicado este análisis paramétrico en todos los casos, al margen de la aplicación de una prueba no paramétrica.

- Pruebas no paramétricas

La prueba de *U de Mann-Whitney* es la alternativa no paramétrica a la prueba *t de Student para dos muestras independientes*. Esta prueba contrasta si dos grupos independientes han sido tomados de una misma población. La hipótesis nula ( $H_0$ ), consistirá en que las dos muestras proceden de una misma población, mientras que la confirmación de la hipótesis alternativa ( $H_1$ ), significará que no proceden de la misma población. El procedimiento que emplea consiste en ordenar de menor a mayor los casos de ambas muestras como si se tratase de una sola muestra, asignando un rango a cada caso, con la norma de que si hay dos o más valores de la variable iguales, se asigna como rango el valor de la media de los rangos que tendrían si fueran diferentes. El estadístico de contraste  $U$  es la suma de los rangos de cada grupo. Para contrastar la  $H_0$  se toma el de menor valor y se compara con los valores de  $U$  tabulados. Si el valor estimado es menor que el valor tabulado, se concluye que existen diferencias entre ambas medias (Altman et al. 1995; Neter et al. 1996).

En el caso de más de dos muestras se puede recurrir al análisis de varianza no paramétrico o prueba de *Kruskal-Wallis*. Esta prueba es el equivalente al ANOVA paramétrico cuando las variables a comparar no se ajustan a la normalidad.

El estadístico H de *Kruskal-Wallis* contrasta si la distribución de la variable dependiente es la misma en los K grupos. Los casos de los grupos se ordenan en series simples, sustituyendo cada observación por su rango, y se calcula la suma de los rangos para cada grupo (Álvarez-Cáceres 1995).

### **4.8.3 Criterios de calidad de los ajustados**

Mediante el programa de ajuste de datos se obtienen los valores de los parámetros que definen las ecuaciones representativas de los distintos modelos establecidos. Para la elección del modelo más idóneo, en cada caso, se utilizan los criterios que se definen a continuación.

#### **4.8.3.1 Análisis gráfico de la bondad de ajuste**

La bondad del ajuste se ha evaluado en primer lugar mediante un análisis gráfico, utilizando S-Plus®, V.7.0. Se han estudiado los valores predichos individuales y poblacionales por el modelo. De este modo, se representa:

- PRED/DV vs TIME
- PRED vs DV (con línea identidad)
- RES y WRES vs PRED (línea en cero superpuesta)
- RES y WRES vs TIME (línea en cero superpuesta)

#### 4.8.3.2 Coeficiente de variación de parámetros

El coeficiente de variación (CV) de un parámetro es la desviación estándar (DE) expresada como porcentaje respecto al valor del parámetro promedio estudiado (X):

$$CV = \frac{DE}{X} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.98}$$

Proporciona información sobre la certeza con la que se ha estimado un parámetro. El ajustado es tanto más fiable cuanto menor es el valor del coeficiente de variación (Shah et al. 1991).

#### 4.8.3.3 Función mínima objetivo (FMO)

Este criterio se ha utilizado en la elección del modelo farmacostatístico poblacional, obtenido mediante el modelo no lineal de efectos mixtos a través del programa NONMEM.

Se basa en la relación existente entre la función objetivo (Obj) y la función de máxima probabilidad (Lmax) optimizada en los métodos de mínimos cuadrados extendidos, de acuerdo a la ecuación:

$$Obj = -2 \ln(L \max) \quad \text{Ecuación 4.99}$$

Según esta ecuación, la función mínima objetivo es proporcional a menos dos veces el logaritmo de la probabilidad de los datos. En consecuencia, la minimización de Obj (FMO) equivale a la maximización de Lmax. El cambio que se produce en la función cuando se introducen uno o más parámetros en el modelo, puede utilizarse para evaluar su significación estadística, ya que la diferencia entre los valores de la función mínima objetivo obtenidos en los modelos, se encuentra asintóticamente

distribuida como  $\chi^2$  con tantos grados de libertad como diferencia en el número de parámetros entre los modelos (Sheiner et al. 1977; Beal et al. 1989).

Para analizar si la mejora del modelo es significativa, se compara la diferencia entre las funciones mínimas objetivo con el valor  $\chi^2$  tabulado, para los grados de libertad correspondientes a la diferencia entre el número de parámetros de los modelos y el nivel de significación ( $p$ ) elegido. Para la construcción de los modelos farmacostatísticos se ha requerido un cambio en la función mínima objetivo (FMO) mayor a un valor de  $p$  menor de 0.005 ( $p < 5\%$ ) que implica una mejora de FMO diferente en función del número de variables introducidas:

- Una variable, mejora de FMO de 7.879 ( $\chi^2$ ,  $\alpha=0.005$ ,  $gl=1$ )
- Dos variables, mejora de FMO de 10.596 ( $\chi^2$ ,  $\alpha=0.005$ ,  $gl=2$ )
- Tres variables, mejora de FMO de 12.838 ( $\chi^2$ ,  $\alpha=0.005$ ,  $gl=3$ )



## 5 Resultados

### 5.1 Validación del método analítico

#### 5.1.1 Ensayo de linealidad

En los cuadros 5.1, 5.2 y 5.3, se muestran los valores de la pendiente, ordenada en el origen y el coeficiente de correlación con sus respectivos errores estándar, de algunas de las curvas de calibración utilizadas en la valoración de las muestras de plasma obtenidas tras la administración por vía intravenosa, oral e intraperitoneal de los dos fármacos ensayados.

| Grupo             | Vía | Dosis (mg)              | Pendiente (EE)                  | Ordenada (EE)             | r                         |        |
|-------------------|-----|-------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------|
| SAQUINA VIR (SQV) | 1   | Intravenosa (perfusión) | 48<br>179575,363<br>(38077,858) | 50464,621<br>(2236,468)   | 0,9997                    |        |
|                   | 2   | Intravenosa (bolus)     | 24<br>183472,205<br>(1011,955)  | -19364,307<br>(8301,730)  | 0,9999                    |        |
|                   | 3   | Intravenosa (bolus)     | 12<br>289638,206<br>(1474,680)  | -25447,298<br>(13525,601) | 0,9999                    |        |
|                   | 4   | Oral                    | 48                              | 154793,743<br>(2059,007)  | -4483,504<br>(1455,760)   | 0,9996 |
|                   | 5   |                         |                                 | 140091,615<br>(2537,567)  | 8659,701<br>(1794,098)    |        |
|                   | 6   | Oral                    | 12                              | 188620,155<br>(4173,575)  | 4149,159<br>(2950,803)    | 0,9990 |
|                   | 7   | Intraperitoneal         | 24                              | 453713,618<br>(2356,368)  | -28819,370<br>(12977,847) | 0,9999 |
|                   | 8   | Intraperitoneal         | 12                              |                           |                           |        |

**Cuadro 5.1** Valores de la pendiente y ordenada en el origen, y sus respectivos errores estandar correspondientes a algunas de las rectas utilizadas en la valoración de saquinavir en las muestras obtenidas tras la administración de saquinavir en los grupos que se presentan en el cuadro. Asimismo, se muestra el coeficiente de correlación.

| Grupo   |    | Vía                     | Dosis (mg) | Pendiente (EE)           | Ordenada (EE)          | r      |
|---------|----|-------------------------|------------|--------------------------|------------------------|--------|
| SQV-RTV | 9  | Intravenosa (perfusión) | 24-SQV     | 36157,484<br>(628,718)   | 7953,015<br>(5157,783) | 0,9988 |
|         |    |                         | 6-RTV      | 26276,179<br>(1269,398)  | 1122,691<br>(3359,142) | 0,9954 |
|         | 10 | Oral                    | 24-SQV     | 21583,350<br>(655,656)   | 10454,922<br>(507,062) | 0,9986 |
|         |    |                         | 6-RTV      | 121491,655<br>(5844,447) | 36052,507<br>(567,014) | 0,9965 |

**Cuadro 5.2** Valores de la pendiente y ordenada en el origen, y sus respectivos errores estandar, correspondientes a algunas de las rectas utilizadas en la valoración de saquinavir (negro) y ritonavir (gris), en las muestras obtenidas tras la administración conjunta de ambos fármacos en los grupos que se presentan en el cuadro. Asimismo, se muestra el coeficiente de correlación.

| Grupo           |    | Vía         | Dosis (mg) | Pendiente (EE)         | Ordenada (EE)            | r      |
|-----------------|----|-------------|------------|------------------------|--------------------------|--------|
| RITONAVIR (RTV) | 11 | Intravenosa | 3          | 39528,042<br>(156,989) | -21842,087<br>(2713,811) | 0,9998 |
|                 | 12 | Oral        | 4,6±2,5    | 48078,46<br>(239,41)   | 1215,02<br>(778,10)      | 0,9999 |

**Cuadro 5.3** Valores de la pendiente y ordenada en el origen, y sus respectivos errores estandar correspondientes a algunas de las rectas utilizadas en la valoración de ritonavir en las muestras obtenidas tras la administración de ritonavir en los grupos que se presentan en el cuadro. Asimismo, se muestra el coeficiente de correlación.

### 5.1.2 Ensayo de precisión y exactitud

Para realizar el ensayo de precisión y exactitud del método analítico se han preparado patrones de concentración conocida, cuyas áreas de pico cromatográfico se han interpolado en las rectas de calibración junto con las muestras problema de plasma de forma aleatoria, para cada día de análisis de muestras.

Se han calculado los valores del error relativo para los patrones valorados en un mismo día, lo que indica la exactitud del método intradía. Por otra parte, se ha calculado el coeficiente de variación intradía, que indica la precisión del mismo. Tanto en la exactitud como precisión intradía se presenta el peor de los casos obtenido, es decir el máximo valor de error relativo y coeficiente de variación obtenido. Los patrones se valoron por triplicado en un mismo día, excepto en el caso de los patrones correspondientes a los grupos (4, 5 y 6) que se han valorado 5 veces.

| Grupo            | Ámbito de concentraciones de las rectas (µg/mL) | Referencia (µg/mL)       | E relativo% (intradía) | CV % (intradía) |       |
|------------------|---|--------------------------|------------------------|-----------------|-------|
| SAQUINAVIR (SQV) | 1   | 0,19 a 30                | 24                     | +4,117          | 1,606 |
|                  |   |                          | 15                     | -9,457          | 0,446 |
|                  | 2, 3, 7, 8                                      | 0,047 a 20<br>0,047 a 15 | 15                     | -10,69          | 0,394 |
|                  |   |                          | 6                      | +6,103          | 1,147 |
|                  |   |                          | 1,5                    | -6,462          | 0,681 |
|                  |   |                          | 0,187                  | +12,03          | 3,023 |
|                  | 4, 5, 6   | 0,047 a 1,5              | 1,5                    | +9,800          | 1,700 |
|                  |   |                          | 0,375                  | -6,986          | 8,491 |
|                  |   |                          | 0,187                  | -13,35          | 7,400 |
|                  |   |                          | 0,047                  | +14,46          | 2,886 |

**Cuadro 5.4** Concentración de referencia, valores del error relativo y coeficiente de variación máximos, obtenidos para cada uno de los patrones de saquinavir ensayados en un mismo día (patrones de los grupos 1, 2, 3, 7, 8 por triplicado y restantes por quintuplicado).

| Grupo   | Ámbito de concentraciones de las rectas (µg/mL) | Referencia (µg/mL) | E relativo% (intradía) | CV % (intradía) |  |
|---------|---|--------------------|------------------------|-----------------|--|
| SQV-RTV | SQV: 0,047 a 20<br>RTV: 0,012 a 5               | 15                 | -7,613                 | 5,521           |  |
|         |   | 3,75               | -5,947                 | 9,904           |  |
|         |   | 6                  | -4,616                 | 1,962           |  |
|         |   | 1,5                | -12,67                 | NA*             |  |
|         |   | 1,5                | +13,23                 | 4,873           |  |
|         |   | 0,375              | -11,16                 | 1,191           |  |
|         |   | 0,375              | +4,133                 | 1,992           |  |
|         |   | 9                  |                        |                 |  |
|         |   | 10                 |                        |                 |  |

|  |  |  |           |        |       |
|--|--|--|-----------|--------|-------|
|  |  |  | 0,094     | +4,647 | 11,22 |
|  |  |  | 0,1875    | +14,76 | 4,262 |
|  |  |  | 0,047(ND) | NA     | NA    |

**Cuadro 5.5** Concentración de referencia, concentración media estimada, valores del error relativo y coeficiente de variación obtenidos para cada uno de los patrones ensayados en un mismo día por triplicado. Los valores en gris corresponden a patrones del ritonavir mientras que en negro a los de saquinavir.

(NA) no aplicable

(ND) valorado pero no detectable

(\*) De las tres valoraciones sólo se detectó en una de ellas, por tanto no se puede estimar el CV%.

| Grupo           |    | Ámbito de concentraciones de las rectas (µg/mL) | Referencia (µg/mL) | E relativo% (intradía) | CV % (intradía) |
|-----------------|----|---|--------------------|------------------------|-----------------|
| RITONAVIR (RTV) | 11 | 3,75 a 30                                       | 15<br>3,75         | +7,523<br>-6,007       | 3,888<br>1,701  |
|                 | 12 | 0,5 a 5   | 2<br>0,25          | -7,483<br>-11,66       | 3,487<br>6,711  |

**Cuadro 5.6** Concentración de referencia, valores del error relativo y coeficiente de variación obtenidos para cada uno de los patrones ensayados de ritonavir en un mismo día por quintuplicado.

### 5.1.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación se ha determinado siguiendo el método descrito en el *epígrafe 4.6.3*, en el cuadro se muestran los resultados. La *figura 5.1* muestra un ejemplo.

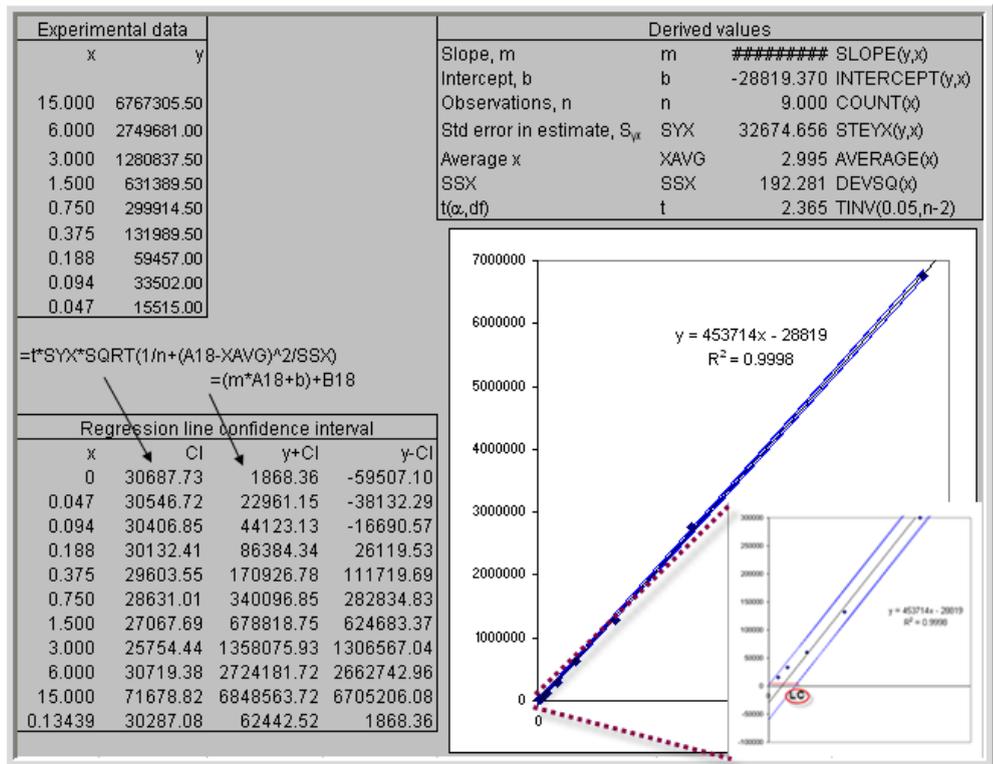


Figura 5.1. Ejemplo de hoja de cálculo del límite de cuantificación.

| Grupo            | Vía | Dosis (mg)              | LC (µg/mL) |       |
|------------------|-----|-------------------------|------------|-------|
| SAQUINAVIR (SQV) | 1   | Intravenosa (perfusión) | 48         | 1,140 |
|                  | 2   | Intravenosa (bolus)     | 24         | 0,207 |
|                  | 3   | Intravenosa (bolus)     | 12         |       |
|                  | 4   | Oral                    | 48         | 0,051 |
|                  | 5   | Oral                    | 24         |       |
|                  | 6   | Oral                    | 12         |       |
|                  | 7   | Intraperitoneal         | 24         | 0,134 |
|                  | 8   | Intraperitoneal         | 12         |       |

Cuadro 5.7. Valores del límite de cuantificación obtenido para cada grupo de ensayo, tras la administración de saquinavir.

| Grupo   |    | Vía                     | Dosis (mg)      | LC ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|---------|----|-------------------------|-----------------|-------------------------|
| SQV-RTV | 9  | Intravenosa (perfusión) | 24-SQV<br>6-RTV | 0,643<br>0,650          |
|         | 10 | Oral                    | 24-SQV<br>6-RTV | 0,140<br>0,027          |

**Cuadro 5.8.** Valores del límite de cuantificación obtenido para cada grupo de ensayo. En negro y gris se presenta el límite de cuantificación del saquinavir y ritonavir, respectivamente.

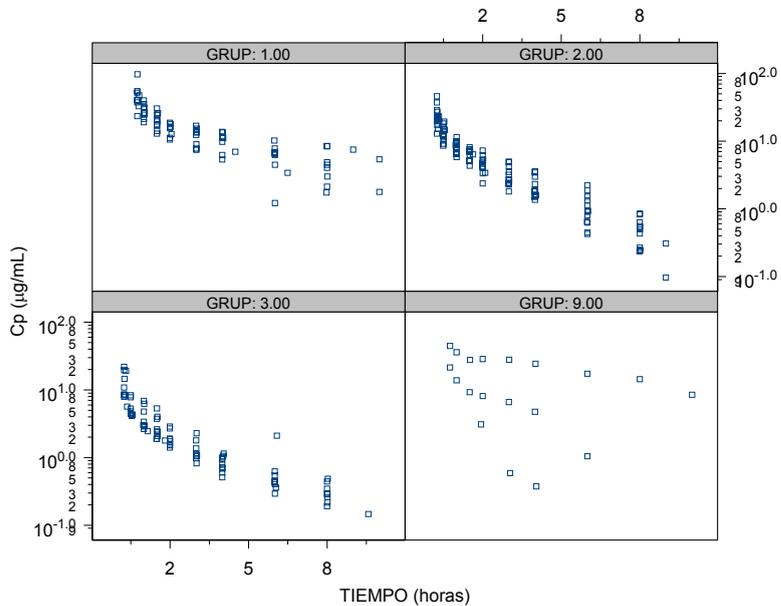
| Grupo           |    | Vía         | Dosis (mg)    | LC ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-----------------|----|-------------|---------------|-------------------------|
| RITONAVIR (RTV) | 11 | Intravenosa | 3             | 0,583                   |
|                 | 12 | Oral        | 4,6 $\pm$ 2,5 | 0,137                   |

**Cuadro 5.9.** Valores del límite de cuantificación obtenido para cada grupo de ensayo cuando se administra ritonavir.

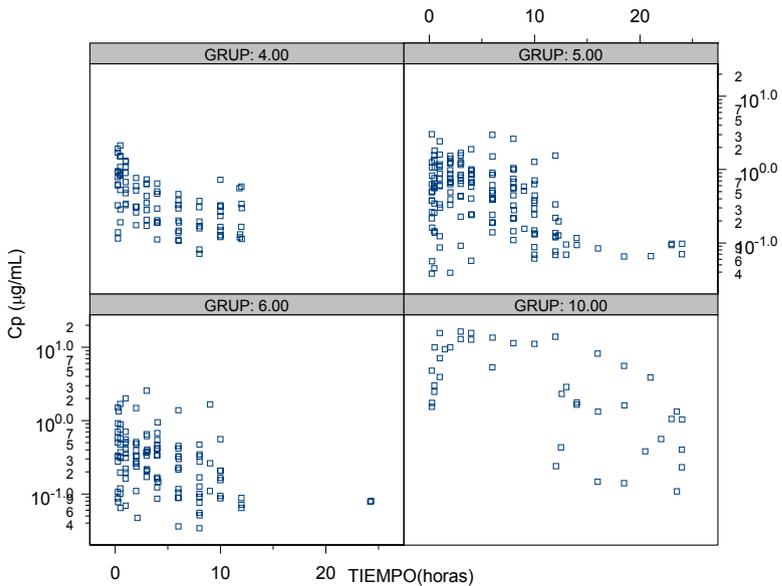
## 5.2 Concentraciones plasmáticas experimentales

En las *figuras 5.2, 5.3, 5.4 y 5.5* se presentan las concentraciones plasmáticas de saquinavir y ritonavir, expresadas en  $\mu\text{g/mL}$ , para los tiempos de muestreo preestablecidos en el protocolo, tras la administración por las distintas vías establecidas en el diseño experimental.

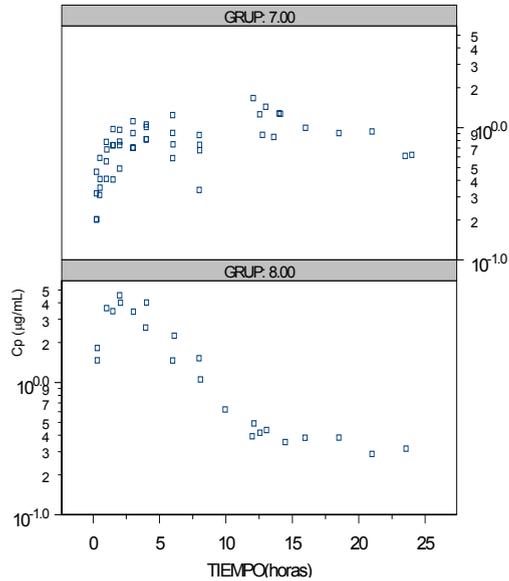
En los grupos 9 y 10, dos y cuatro animales, respectivamente, mostraron valores de concentración plasmática de ritonavir muy por debajo del límite de cuantificación, por lo que no se han tenido en cuenta en las representaciones ni en los posteriores análisis.



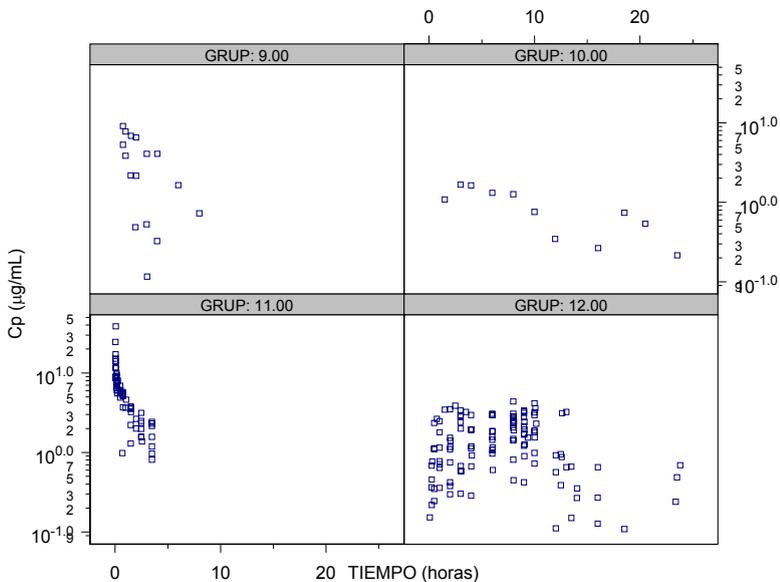
**Figura 5.2** Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de saquinavir tras su administración intravenosa, donde grupo 1, 2, 3 y 9 corresponden a los grupos 1 (48mg sqv; perfusión IV), 2 (24mg sqv; bolus), 3 (12mg sqv; bolus) y 9 (24mg sqv+6 mg rtv; perfusión IV), respectivamente.



**Figura 5.3** Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de saquinavir tras su administración oral, donde grupo 4, 5, 6 y 10 corresponden a los grupos 4 (48mg sqv), 5 (24mg sqv), 6 (12mg sqv) y 10 (24mg sqv+6mg rtv), respectivamente.



**Figura 5.4** Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de saquinavir tras su administración IP, dónde grup 7 y 8 corresponden a los grupos 7 (24mg sqv) y 8 (12mg sqv), respectivamente.



**Figura 5.5** Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de ritonavir tras su administración intravenosa y oral, dónde grup 9, 11, 10 y 12 corresponden a los grupos 9 (24mg sqv+6 mg rtv; perfusión), 11 (3mg rtv; bolus), 10 (24mg sqv+6mg rtv; oral) y 12 (4.6±2.5 mg rtv; oral), respectivamente.

### 5.3 Análisis farmacocinético

#### 5.3.1 Análisis no compartimental.

##### 5.3.1.1 SAQUINAVIR

Los valores experimentales de concentración plasmática frente a tiempo para los distintos grupos ensayados han permitido realizar el cálculo de los parámetros farmacocinéticos individuales o poblacionales, según el grupo mediante el análisis no compartimental tal y como se detalla en el epígrafe 4.7.1.

A continuación, en los cuadros 5.10-19, se muestra para cada grupo, bien los valores promedios obtenidos para los distintos parámetros farmacocinéticos tras realizar el análisis individual de los datos experimentales de saquinavir, en aquellos grupos que lo permitían, o en su caso, los valores de los parámetros obtenidos para aquellos grupos en los que se ha realizado un análisis poblacional como promedio simple de datos. En el caso de indicar el valor promedio de los valores individuales, se proporciona además, el coeficiente de variación (CV%), el error estándar (EE), la mediana, así como los intervalos de confianza del 95 % inferior (LI) y superior (LS).

| GRUPO 1: Perfusión IV 48 mg SQV         |       |       | N= 8; Nmiss= 2 |         |       |       |
|---|-------|-------|----------------|---------|-------|-------|
| Variable                                | Media | CV%   | EE             | Mediana | 95%LI | 95%LS |
| Tmax (h)                                | 0,768 | 3,592 | 0,010          | 0,756   | 0,745 | 0,791 |
| Cmax (mg/L)                             | 46,77 | 47,96 | 7,930          | 40,51   | 28,01 | 65,53 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,974 | 47,96 | 0,165          | 0,844   | 0,584 | 1,365 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,249 | 36,80 | 0,032          | 0,259   | 0,172 | 0,326 |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 3,268 | 50,41 | 0,582          | 2,680   | 1,890 | 4,645 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 4,459 | 48,86 | 0,770          | 3,565   | 2,637 | 6,280 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 126,6 | 32,98 | 14,77          | 121,8   | 91,72 | 161,6 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 2,639 | 32,98 | 0,308          | 2,538   | 1,911 | 3,366 |
| AUC%extrap                              | 14,85 | 71,80 | 3,769          | 11,52   | 5,933 | 23,76 |

|             |       |       |       |       |       |       |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Vdextrp (L) | 1,781 | 28,70 | 0,181 | 1,706 | 1,354 | 2,209 |
| Vdee (L)    | 1,703 | 29,43 | 0,177 | 1,741 | 1,284 | 2,123 |
| Cl (L/h)    | 0,421 | 36,59 | 0,055 | 0,394 | 0,292 | 0,550 |

**Cuadro 5.10** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 1. N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| GRUPO 2: Bolus IV 24 mg SQV   |       |       | N= 12; Nmiss= 2 |         |       |       |
|-------------------------------|-------|-------|-----------------|---------|-------|-------|
| Variable                      | Media | CV%   | EE              | Mediana | 95%LI | 95%LS |
| Cmax (mg/L)                   | 49,23 | 87,12 | 12,38           | 38,21   | 21,97 | 76,49 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 2,051 | 87,12 | 0,516           | 1,591   | 0,915 | 3,187 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,414 | 20,29 | 0,024           | 0,433   | 0,361 | 0,468 |
| t1/2 λ (h)                    | 1,753 | 25,80 | 0,131           | 1,608   | 1,466 | 2,041 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 1,884 | 24,96 | 0,136           | 1,745   | 1,585 | 2,183 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 38,30 | 26,74 | 2,957           | 37,63   | 31,79 | 44,81 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,596 | 26,74 | 0,123           | 1,568   | 1,325 | 1,867 |
| AUC%BackExt                   | 23,75 | 40,18 | 2,755           | 22,17   | 17,69 | 29,82 |
| AUC%extrap                    | 3,017 | 72,82 | 0,634           | 1,987   | 1,620 | 4,413 |
| Vdextrap (L)                  | 1,650 | 27,04 | 0,129           | 1,586   | 1,366 | 1,933 |
| Vdee (L)                      | 1,253 | 31,19 | 0,113           | 1,313   | 1,005 | 1,502 |
| Cl (L/h)                      | 0,672 | 28,86 | 0,056           | 0,639   | 0,549 | 0,795 |

**Cuadro 5.11** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 2. N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| GRUPO 3: Bolus IV 12 mg SQV   |       |       | N= 8; Nmiss= 2 |         |       |       |
|-------------------------------|-------|-------|----------------|---------|-------|-------|
| Variable                      | Media | CV%   | EE             | Mediana | 95%LI | 95%LS |
| Cmax (mg/L)                   | 29,59 | 93,14 | 9,744          | 16,03   | 6,544 | 52,64 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 2,466 | 93,14 | 0,812          | 1,336   | 0,545 | 4,386 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,262 | 26,19 | 0,024          | 0,255   | 0,205 | 0,320 |
| t1/2 λ (h)                    | 2,811 | 26,29 | 0,261          | 2,796   | 2,193 | 3,429 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 2,333 | 24,64 | 0,203          | 2,275   | 1,852 | 2,813 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 17,40 | 35,66 | 2,194          | 14,37   | 12,22 | 22,59 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,450 | 35,66 | 0,183          | 1,198   | 1,018 | 1,883 |
| AUC%BackExt                   | 27,73 | 37,52 | 3,679          | 24,28   | 19,03 | 36,44 |
| AUC%extrap                    | 7,114 | 43,70 | 1,099          | 7,539   | 4,514 | 9,715 |
| Vdextrap (L)                  | 3,050 | 36,54 | 0,394          | 2,995   | 2,118 | 3,982 |
| Vdee (L)                      | 1,813 | 38,73 | 0,248          | 2,041   | 1,226 | 2,400 |
| Cl (L/h)                      | 0,753 | 27,14 | 0,072          | 0,835   | 0,582 | 0,923 |

**Cuadro 5.12** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 3. N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| GRUPO 4: Oral 48 mg SQV                 |        |        | N= 9; Nmiss= 1 |         |       |        |
|---|--------|--------|----------------|---------|-------|--------|
| Variable                                | Media  | CV%    | EE             | Mediana | 95%LI | 95%LI  |
| Tmax (h)                                | 0,779  | 70,84  | 0,184          | 0,500   | 0,350 | 1,203  |
| Cmax (mg/L)                             | 1,161  | 56,96  | 0,220          | 0,895   | 0,650 | 1,670  |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,017  | 64,63  | 0,004          | 0,012   | 0,009 | 0,026  |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,134  | 64,51  | 0,029          | 0,143   | 0,068 | 0,201  |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 9,407  | 89,02  | 2,792          | 4,832   | 2,968 | 15,85  |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 13,456 | 89,941 | 4,034          | 6,846   | 4,151 | 22,761 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 6,766  | 41,49  | 0,936          | 6,787   | 4,608 | 8,924  |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 0,141  | 41,49  | 0,019          | 0,141   | 0,096 | 0,186  |
| AUC%extrap                              | 31,83  | 82,01  | 8,702          | 18,95   | 11,76 | 51,90  |
| Vd/F (L)                                | 85,81  | 53,26  | 15,23          | 78,25   | 50,67 | 120,9  |
| Cl/F (L/h)                              | 8,297  | 42,59  | 1,178          | 7,073   | 5,580 | 11,01  |

**Cuadro 5.13** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 4. N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| GRUPO 6: Oral 12 mg SQV                 |       |       | N= 13; Nmiss= 2 |         |       |       |       |
|---|-------|-------|-----------------|---------|-------|-------|-------|
| Variable                                | Media | CV%   | EE              | Mediana | CV%   | 95%LI | 95%LS |
| Tmax (h)                                | 2,247 | 110,1 | 0,686           | 1,017   | 110,1 | 0,751 | 3,742 |
| Cmax (mg/L)                             | 1,016 | 71,30 | 0,201           | 0,611   | 71,30 | 0,578 | 1,454 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,081 | 73,01 | 0,016           | 0,049   | 73,01 | 0,047 | 0,116 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,263 | 76,51 | 0,056           | 0,171   | 76,51 | 0,141 | 0,385 |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 6,706 | 156,8 | 2,917           | 4,051   | 156,8 | 0,349 | 13,06 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 10,49 | 138,1 | 4,020           | 7,193   | 138,1 | 1,730 | 19,25 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 4,707 | 50,98 | 0,666           | 3,891   | 50,98 | 3,256 | 6,157 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 0,392 | 50,98 | 0,055           | 0,324   | 50,98 | 0,271 | 0,513 |
| AUC%extrap                              | 19,55 | 96,39 | 5,227           | 17,58   | 96,39 | 8,160 | 30,94 |
| Vd/F (L)                                | 24,00 | 107,8 | 7,177           | 17,68   | 107,8 | 8,357 | 39,64 |
| Cl/F (L/h)                              | 3,070 | 39,23 | 0,334           | 3,084   | 39,23 | 2,342 | 3,798 |

**Cuadro 5.14** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 6. N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| <b>GRUPO 9: Perf.IV 24 mg SQV y 6mg RTV</b> |                       |
|---|-----------------------|
| <b>Variable</b>                             | <b>N= 1; Nmiss= 2</b> |
| Cmax (mg/L)                                 | 44,57                 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )                   | 1,857                 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )               | 0,163                 |
| t1/2 λ (h)                                  | 4,259                 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                        | 6,461                 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)                   | 263,6                 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)                   | 10,98                 |
| AUC%extrap                                  | 21,38                 |
| Vdextrap (L)                                | 0,559                 |
| Vdee (L)                                    | 0,588                 |
| Cl (L/h)                                    | 0,091                 |

**Cuadro 5.15** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 9 N es el número de individuos analizados y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por no disponer de un número suficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| <b>GRUPO 5: Oral 24 mg SQV</b> |             |
|--------------------------------|-------------|
| <b>Variable</b>                | <b>N=15</b> |
| Tmax (h)                       | 0,520       |
| Cmax (mg/L)                    | 1,807       |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )      | 0,075       |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )  | 0,114       |
| t1/2 λ (h)                     | 6,076       |
| MRT <sup>∞</sup> (h)           | 8,802       |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)      | 9,991       |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)      | 0,416       |
| AUC%extrap                     | 5,216       |
| Vd/F (L)                       | 21,056      |
| Cl/F (L/h)                     | 2,402       |

**Cuadro 5.16** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 5, como promedio simple de datos. N es el número de individuos analizados.

| <b>GRUPO 7: IP 24 mg SQV</b>  |             |
|-------------------------------|-------------|
| <b>Variable</b>               | <b>N= 6</b> |
| Tmax (h)                      | 12,06       |
| Cmax (mg/L)                   | 1,667       |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 0,069       |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,068       |
| t1/2 λ (h)                    | 10,23       |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 20,31       |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 31,59       |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,316       |
| AUC%extrap                    | 29,78       |
| Vd/F (L)                      | 11,21       |
| Cl/F (L/h)                    | 0,760       |

**Cuadro 5.17** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 7, como promedio simple de datos. N es el número de individuos analizados.

| <b>GRUPO 8: IP 12 mg SQV</b>  |            |
|-------------------------------|------------|
| <b>Variable</b>               | <b>N=3</b> |
| Tmax (h)                      | 2,000      |
| Cmax (mg/L)                   | 4,550      |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 0,379      |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,144      |
| t1/2 λ (h)                    | 4,799      |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 6,904      |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 29,72      |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 2,476      |
| AUC%extrap                    | 3,263      |
| Vd/F (L)                      | 2,796      |
| Cl/F (L/h)                    | 0,404      |

**Cuadro 5.18** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 8, como promedio simple de datos. Dónde N es el número de individuos analizados.

| <b>GRUPO 10: Oral 24 mg SQV y 6mg RTV</b> |             |
|---|-------------|
| <b>Variable</b>                           | <b>N= 6</b> |
| T <sub>max</sub> (h)                      | 3,000       |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                   | 14,62       |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> )    | 0,609       |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> )   | 0,149       |
| t <sub>1/2</sub> $\lambda$ (h)            | 4,648       |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                      | 8,373       |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)                 | 158,5       |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)                 | 6,603       |
| AUC%extrap                                | 2,278       |
| Vd/F (L)                                  | 1,016       |
| Cl/F (L/h)                                | 0,151       |

**Cuadro 5.19** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 10, como promedio simple de datos. N es el número de individuos analizados.

### 5.3.1.1.1 *Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos*

Los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos en el ajustado no compartimental mediante el programa WinNonlin, se han comparado estadísticamente entre los distintos grupos con el fin de detectar diferencias estadísticamente significativas entre los mismos, lo que indicaría pérdida de linealidad en alguno de los procesos del LADME. Para ello se ha aplicado el análisis de varianza paramétrico (ANOVA) a todos los grupos, cumplieren o no los requisitos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para aquellos parámetros que no cumplían estos requisitos se ha aplicado además un test no paramétrico.

A continuación, los cuadros 5.20-21 muestran los resultados obtenidos tras aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov, a los grupos de saquinavir con un tamaño muestral de más de un animal. En los cuadros 5.22-57 se presentan los resultados obtenidos para el saquinavir tras aplicar la prueba de Levene a los grupos con varianza calculable que se desea comparar, así como los resultados del ANOVA y en su caso, del test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras independientes. Por último, se ha representado gráficamente, en las figuras 5.6-18, los valores medios de los parámetros de saquinavir y su desviación estándar (sólo en los grupos en los que se ha realizado análisis individual), con el fin de observar las tendencias en caso de que existan.

| Parámetro                              | Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov |                     |       |                                |                     |       |                                   |                     |       |
|--|--|---------------------|-------|--------------------------------|---------------------|-------|-----------------------------------|---------------------|-------|
|  | GRUPO 1:<br>Perfusión IV 48 mg<br>SQV      |                     |       | GRUPO 2: Bolus IV<br>24 mg SQV |                     |       | GRUPO 3: Bolus IV<br>12 mg<br>SQV |                     |       |
|  | N  | Sign.<br>Asintótica | Sign. | N                              | Sign.<br>Asintótica | Sign. | N                                 | Sign.<br>Asintótica | Sign. |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 8  | 0,764               | NS    | 12                             | 0,152               | NS    | 8                                 | 0,412               | NS    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )          | 8  | 0,992               | NS    | 12                             | 0,593               | NS    | 8                                 | 0,645               | NS    |
| t <sub>1/2</sub> λ (h)                 | 8  | 0,537               | NS    | 12                             | 0,623               | NS    | 8                                 | 0,762               | NS    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 8  | 0,594               | NS    | 12                             | 0,798               | NS    | 8                                 | 0,511               | NS    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 8  | 0,982               | NS    | 12                             | 0,981               | NS    | 8                                 | 0,443               | NS    |
| AUC%back extrap                        |  |                     |       | 12                             | 0,486               | NS    | 8                                 | 0,654               | NS    |
| AUC%extrap                             | 8  | 0,843               | NS    | 12                             | 0,319               | NS    | 8                                 | 0,979               | NS    |
| V <sub>d</sub> extrap (L)              | 8  | 0,952               | NS    | 12                             | 0,928               | NS    | 8                                 | 0,998               | NS    |
| V <sub>d</sub> ee (L)                  | 8  | 0,979               | NS    | 12                             | 0,963               | NS    | 8                                 | 0,402               | NS    |
| Cl (L/h)                               | 8  | 0,537               | NS    | 12                             | 0,880               | NS    | 8                                 | 0,606               | NS    |

**Cuadro 5.20** Prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental de los datos del grupo 1, 2 y 3.

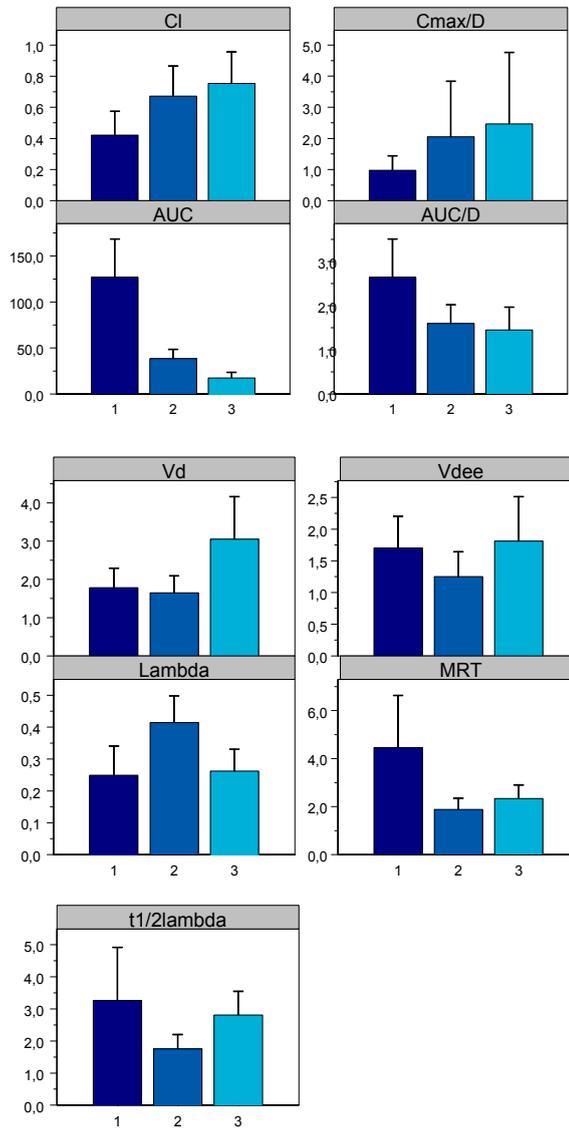
| Parámetro                               | Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. |                     |       |                            |                     |       |
|---|---|---------------------|-------|----------------------------|---------------------|-------|
|   | GRUPO 4:<br>Oral 48 mg SQV                  |                     |       | GRUPO 6:<br>Oral 12 mg SQV |                     |       |
|   | N   | Sign.<br>Asintótica | Sign. | N                          | Sign.<br>Asintótica | Sign. |
| Tmax (h)                                | 10  | 0,401               | NS    | 14                         | 0,511               | NS    |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 10  | 0,567               | NS    | 14                         | 0,271               | NS    |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 9   | 0,955               | NS    | 13                         | 0,587               | NS    |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 9   | 0,561               | NS    | 13                         | 0,090               | NS    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 9   | 0,562               | NS    | 13                         | 0,069               | NS    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 9   | 0,938               | NS    | 13                         | 0,202               | NS    |
| AUC%extrap                              | 9   | 0,654               | NS    | 13                         | 0,373               | NS    |
| Vd/F (L)                                | 9   | 0,924               | NS    | 13                         | 0,449               | NS    |
| Cl/F (L/h)                              | 9   | 0,898               | NS    | 13                         | 0,970               | NS    |

**Cuadro 5.21** Prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el análisis no compartimental de los datos del grupo 4 y 6.

### ❖ GRUPOS 1, 2, 3. SQV IV.

| Parámetro                               | GRUPO 1:<br>Perfusión IV 48<br>mg SQV |       | GRUPO 2:<br>Bolus IV 24<br>mg SQV |       | GRUPO 3:<br>Bolus IV 12 mg<br>SQV |       |
|---|---------------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
|   | Media                                 | EE    | Media                             | EE    | Media                             | EE    |
| Cmax (mg/L)                             | 46,77                                 | 7,930 | 49,23                             | 12,38 | 29,59                             | 9,744 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,974                                 | 0,165 | 2,051                             | 0,516 | 2,466                             | 0,812 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,249                                 | 0,032 | 0,414                             | 0,024 | 0,262                             | 0,024 |
| T1/2 $\lambda$ (h)                      | 3,268                                 | 0,582 | 1,753                             | 0,131 | 2,811                             | 0,261 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 4,459                                 | 0,770 | 1,884                             | 0,136 | 2,333                             | 0,203 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 126,6                                 | 14,77 | 38,30                             | 2,957 | 17,40                             | 2,194 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 2,639                                 | 0,308 | 1,596                             | 0,123 | 1,450                             | 0,183 |
| AUC%extrap                              | 14,85                                 | 3,769 | 3,017                             | 0,634 | 7,114                             | 1,099 |
| Vdextrap (L)                            | 1,781                                 | 0,181 | 1,650                             | 0,129 | 3,050                             | 0,394 |
| Vdee (L)                                | 1,703                                 | 0,177 | 1,253                             | 0,113 | 1,813                             | 0,248 |
| Cl (L/h)                                | 0,421                                 | 0,055 | 0,672                             | 0,056 | 0,753                             | 0,072 |

**Cuadro 5.22** Parámetros farmacocinéticos medios y EE de saquinavir tras el tratamiento no compartimental.



**Figura 5. 6** Parámetros farmacocinéticos medios y DE de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1, 2 y 3.

| Grupos 1 y 2                            | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|---|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 1,888                 | 1   | 18  | 0,186 | NS   |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,026                 | 1   | 18  | 0,873 | NS   |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 6,891                 | 1   | 18  | 0,017 | S    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 8,933                 | 1   | 18  | 0,008 | S    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 3,401                 | 1   | 18  | 0,082 | NS   |
| AUC%extrap                              | 9,370                 | 1   | 18  | 0,007 | S    |
| Vdextrap (L)                            | 0,248                 | 1   | 18  | 0,625 | NS   |
| Vdee (L)                                | 0,505                 | 1   | 18  | 0,486 | NS   |
| CI (L/h)                                | 0,269                 | 1   | 18  | 0,611 | NS   |

**Cuadro 5.23** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 2.

| Fuente de variación       | Grupos 1 y 2. |    | ANOVA test       |       |        |     |
|---------------------------|---------------|----|------------------|-------|--------|-----|
|                           | SS            | GL | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 5,569         | 1  | 5,569            | 2,734 | 0,116  | NS  |
|                           | 36,66         | 18 | 2,037            |       |        |     |
| Lambda ( $\lambda$ )      | 0,131         | 1  | 0,131            | 17,33 | 0,001  | S   |
|                           | 0,137         | 18 | 0,008            |       |        |     |
| t1/2 $\lambda$ (h)        | 11,00         | 1  | 11,00            | 9,324 | 0,007  | S   |
|                           | 21,24         | 18 | 1,180            |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 31,82         | 1  | 31,82            | 16,06 | 0,001  | S   |
|                           | 35,65         | 18 | 1,981            |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 5,219         | 1  | 5,219            | 12,86 | 0,002  | S   |
|                           | 7,305         | 18 | 0,406            |       |        |     |
| AUC%extrap                | 5,219         | 1  | 5,219            | 12,86 | 0,002  | S   |
|                           | 7,305         | 18 | 0,406            |       |        |     |
| Vdextrap (L)              | 0,083         | 1  | 0,083            | 0,372 | 0,550  | NS  |
|                           | 4,018         | 18 | 0,223            |       |        |     |
| Vdee (L)                  | 0,972         | 1  | 0,972            | 5,086 | 0,037  | S   |
|                           | 3,440         | 18 | 0,191            |       |        |     |
| CI (L/h)                  | 0,301         | 1  | 0,301            | 9,349 | 0,007  | S   |
|                           | 0,580         | 18 | 0,032            |       |        |     |

**Cuadro 5.24** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 2.

| Grupos 1 y 2.        |    | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  |     |
|----------------------|----|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro            | N  | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica | Sig |
| t1/2 λ (h)           | 8  | 15,38               | 9              | 87         | -3,009 | 0,003            | S   |
|                      | 12 | 7,25                |                |            |        |                  |     |
| AUC%extrap           | 8  | 16,13               | 3              | 81         | -3,472 | 0,001            | S   |
|                      | 12 | 6,75                |                |            |        |                  |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h) | 8  | 16,50               | 0              | 78         | -3,703 | 0,000            | S   |
|                      | 12 | 6,50                |                |            |        |                  |     |

**Cuadro 5.25** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir de los grupos 1 y 2, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

| Grupos 2 y 3                  | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|-------------------------------|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 1,012                 | 1   | 18  | 0,328 | NS   |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,264                 | 1   | 18  | 0,614 | NS   |
| t1/2 λ (h)                    | 7,528                 | 1   | 18  | 0,013 | S    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 0,006                 | 1   | 18  | 0,939 | NS   |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 0,496                 | 1   | 18  | 0,490 | NS   |
| AUC%back extrap               | 0,021                 | 1   | 18  | 0,885 | NS   |
| AUC%extrap                    | 0,577                 | 1   | 18  | 0,457 | NS   |
| Vdextrap (L)                  | 5,304                 | 1   | 18  | 0,033 | S    |
| Vdee (L)                      | 2,832                 | 1   | 18  | 0,110 | NS   |
| Cl (L/h)                      | 0,153                 | 1   | 18  | 0,700 | NS   |

**Cuadro 5.26** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 3.

| Grupos 2 y 3              |       | ANOVA test |                  |       |        |     |
|---------------------------|-------|------------|------------------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS    | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,825 | 1          | 0,825            | 0,206 | 0,655  | NS  |
|                           | 72,06 | 18         | 4,003            |       |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,111 | 1          | 0,111            | 18,09 | 0,000  | S   |
|                           | 0,111 | 18         | 0,006            |       |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 5,370 | 1          | 5,370            | 15,91 | 0,001  | S   |
|                           | 6,074 | 18         | 0,337            |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 0,967 | 1          | 0,967            | 3,667 | 0,072  | NS  |
|                           | 4,745 | 18         | 0,264            |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,102 | 1          | 0,102            | 0,473 | 0,500  | NS  |
|                           | 3,876 | 18         | 0,215            |       |        |     |
| AUC%back extrap           | 76,11 | 1          | 76,11            | 0,778 | 0,389  | NS  |

|              |        |    |       |       |       |    |
|--------------|--------|----|-------|-------|-------|----|
| AUC%extrap   | 1759,8 | 18 | 97,77 | 12,01 | 0,003 | S  |
|              | 80,60  | 1  | 80,59 |       |       |    |
|              | 120,7  | 18 | 6,709 |       |       |    |
| Vdextrap (L) | 9,409  | 1  | 9,409 | 15,57 | 0,001 | S  |
|              | 10,88  | 18 | 0,605 |       |       |    |
|              | 1,502  | 1  | 1,502 |       |       |    |
| Vdee (L)     | 5,132  | 18 | 0,285 | 5,268 | 0,034 | S  |
|              | 0,031  | 1  | 0,031 |       |       |    |
|              | 0,706  | 18 | 0,039 |       |       |    |
| Cl (L/h)     | 0,031  | 1  | 0,031 | 0,798 | 0,384 | NS |
|              | 0,706  | 18 | 0,039 |       |       |    |
|              |        |    |       |       |       |    |

**Cuadro 5.27** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 3.

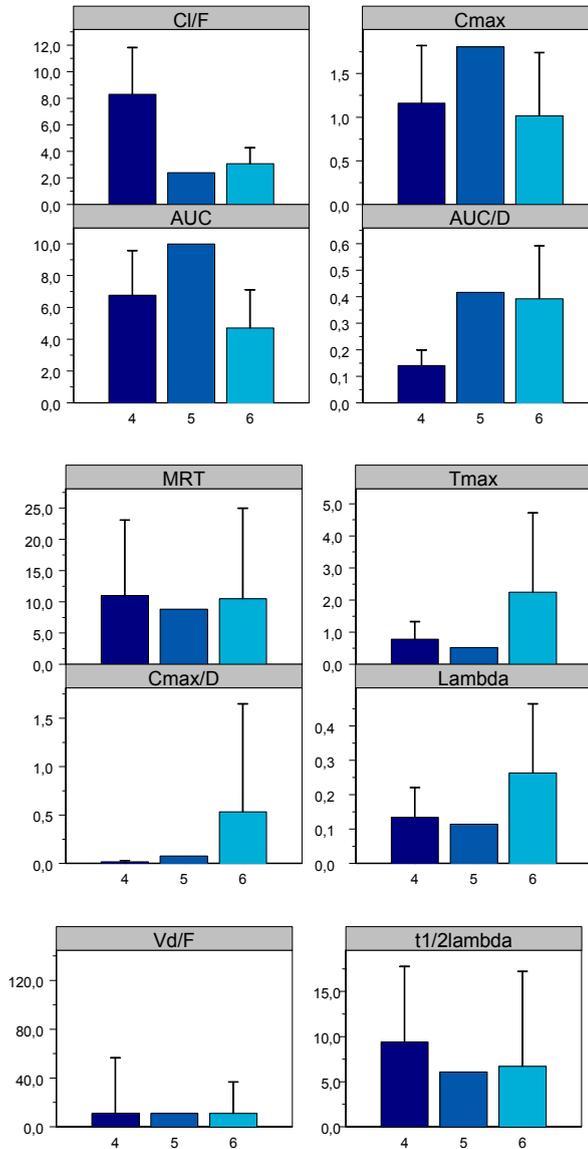
| Grupos 2 y 3.      |    | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  | Sig |
|--------------------|----|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro          | N  | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica |     |
| T1/2 $\lambda$ (h) | 12 | 6,92                | 5              | 83         | -3,318 | 0,001            | S   |
|                    | 8  | 15,88               |                |            |        |                  |     |
| Vd (L)             | 12 | 7,58                | 13             | 91         | -2,700 | 0,007            | S   |
|                    | 8  | 14,88               |                |            |        |                  |     |

**Cuadro 5.28** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir de los grupos 2 y 3, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

### ❖ GRUPOS 4, 5, 6. SQV PO.

| Parámetro                               | GRUPO 4: Oral 48 mg SQV |       | GRUPO 5: Oral 24 mg SQV | GRUPO 6: Oral 12 mg SQV |       |
|---|-------------------------|-------|-------------------------|-------------------------|-------|
|   | Media                   | EE    | Media                   | Media                   | EE    |
| Tmax (h)                                | 0,779                   | 0,184 | 0,520                   | 2,247                   | 0,686 |
| Cmax (mg/L)                             | 1,161                   | 0,220 | 1,807                   | 1,016                   | 0,201 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,017                   | 0,004 | 0,075                   | 0,081                   | 0,016 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,134                   | 0,029 | 0,114                   | 0,263                   | 0,056 |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 9,407                   | 2,792 | 6,076                   | 6,706                   | 2,917 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 13,46                   | 4,034 | 8,802                   | 10,49                   | 4,020 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 6,766                   | 0,936 | 9,991                   | 4,707                   | 0,666 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 0,141                   | 0,019 | 0,416                   | 0,392                   | 0,055 |
| AUC%extrap                              | 31,83                   | 8,702 | 5,216                   | 19,55                   | 5,227 |
| Vd/F (L)                                | 85,81                   | 15,23 | 21,06                   | 24,00                   | 7,177 |
| Cl/F (L/h)                              | 8,297                   | 1,178 | 2,402                   | 3,070                   | 0,334 |

**Cuadro 5.29** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental.



**Figura 5. 7** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios y en su caso DE de saquinavir tras el análisis no compartimental de los grupos 4, 5 y 6.

| Grupos 4 y 5.             |         | ANOVA test |                  |       | F     | Probab | Sig |
|---------------------------|---------|------------|------------------|-------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS      | GL         | Media cuadrática |       |       |        |     |
| Tmax (h)                  | 0,048   | 1          | 0,048            | 0,174 | 0,686 | NS     |     |
|                           | 2,505   | 9          | 0,278            |       |       |        |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,002   | 1          | 0,002            | 14,15 | 0,004 | S      |     |
|                           | 0,002   | 9          | 0,000            |       |       |        |     |
| Lambda ( $\lambda$ )      | 0,000   | 1          | 0,000            | 0,049 | 0,830 | NS     |     |
|                           | 0,060   | 8          | 0,008            |       |       |        |     |
| t1/2 $\lambda$ (h)        | 9,992   | 1          | 9,992            | 0,142 | 0,716 | NS     |     |
|                           | 561,1   | 8          | 70,14            |       |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 19,49   | 1          | 19,49            | 0,133 | 0,725 | NS     |     |
|                           | 1171,8  | 8          | 146,5            |       |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,068   | 1          | 0,068            | 19,95 | 0,002 | S      |     |
|                           | 0,027   | 8          | 0,003            |       |       |        |     |
| AUC%extrap                | 637,6   | 1          | 637,6            | 0,936 | 0,362 | NS     |     |
|                           | 5451,8  | 8          | 681,5            |       |       |        |     |
| Vd/F (L)                  | 3774,2  | 1          | 3774,2           | 1,807 | 0,216 | NS     |     |
|                           | 16711,7 | 8          | 2088,9           |       |       |        |     |
| Cl/F (L/h)                | 31,274  | 1          | 31,274           | 2,504 | 0,152 | NS     |     |
|                           | 99,923  | 8          | 12,490           |       |       |        |     |

**Cuadro 5.30** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 4 y 5.

| Grupos 5 y 6.             |        | ANOVA test |                  |       | F     | Probab | Sig |
|---------------------------|--------|------------|------------------|-------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS     | GL         | Media cuadrática |       |       |        |     |
| Tmax (h)                  | 3,715  | 1          | 3,715            | 0,558 | 0,468 | NS     |     |
|                           | 86,55  | 13         | 6,658            |       |       |        |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,000  | 1          | 0,000            | 0,010 | 0,924 | NS     |     |
|                           | 0,046  | 13         | 0,004            |       |       |        |     |
| Lambda ( $\lambda$ )      | 0,021  | 1          | 0,021            | 0,509 | 0,489 | NS     |     |
|                           | 0,486  | 12         | 0,041            |       |       |        |     |
| t1/2 $\lambda$ (h)        | 0,369  | 1          | 0,369            | 0,003 | 0,955 | NS     |     |
|                           | 1327,3 | 12         | 110,6            |       |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 2,649  | 1          | 2,649            | 0,013 | 0,912 | NS     |     |
|                           | 2521,0 | 12         | 210,1            |       |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,001  | 1          | 0,001            | 0,013 | 0,910 | NS     |     |
|                           | 0,480  | 12         | 0,040            |       |       |        |     |
| AUC%extrap                | 190,8  | 1          | 190,8            | 0,537 | 0,478 | NS     |     |
|                           | 4262,6 | 12         | 355,2            |       |       |        |     |
| Vd/F (L)                  | 8,037  | 1          | 8,037            | 0,012 | 0,915 | NS     |     |

|            |        |    |       |       |       |    |
|------------|--------|----|-------|-------|-------|----|
| Cl/F (L/h) | 8035,7 | 12 | 669,6 | 0,285 | 0,603 | NS |
|            | 0,414  | 1  | 0,414 |       |       |    |
|            | 17,405 | 12 | 1,450 |       |       |    |

**Cuadro 5.31** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 5 y 6.

| Grupos 4 y 6                  | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|-------------------------------|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Tmax (h)                      | 10,36                 | 1   | 22  | 0,004 | S    |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 15,48                 | 1   | 22  | 0,001 | S    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 6,554                 | 1   | 20  | 0,019 | S    |
| t1/2 λ (h)                    | 0,100                 | 1   | 20  | 0,755 | NS   |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 0,223                 | 1   | 20  | 0,642 | NS   |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 6,222                 | 1   | 20  | 0,021 | S    |
| AUC%extrap                    | 3,101                 | 1   | 20  | 0,094 | NS   |
| Vd/F (L)                      | 7,825                 | 1   | 20  | 0,011 | S    |
| Cl/F (L/h)                    | 9,239                 | 1   | 20  | 0,006 | S    |

**Cuadro 5.32** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 4 y 6.

| Grupos 4 y 6.             |         | ANOVA test |                  |        |        |     |
|---------------------------|---------|------------|------------------|--------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS      | GL         | Media cuadrática | F      | Probab | Sig |
| Tmax (h)                  | 18,16   | 1          | 18,16            | 4,486  | 0,046  | S   |
|                           | 89,06   | 22         | 4,048            |        |        |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,019   | 1          | 0,019            | 9,024  | 0,007  | S   |
|                           | 0,047   | 22         | 0,002            |        |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,088   | 1          | 0,088            | 3,227  | 0,088  | NS  |
|                           | 0,546   | 20         | 0,027            |        |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 38,803  | 1          | 38,80            | 0,411  | 0,529  | NS  |
|                           | 1888,4  | 20         | 94,42            |        |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 46,74   | 1          | 46,74            | 0,253  | 0,620  | NS  |
|                           | 3692,7  | 20         | 184,6            |        |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,336   | 1          | 0,336            | 13,243 | 0,002  | S   |
|                           | 0,507   | 20         | 0,025            |        |        |     |
| AUC%extrap                | 802,0   | 1          | 802,0            | 1,651  | 0,213  | NS  |
|                           | 9714,5  | 20         | 485,7            |        |        |     |
| Vd/F (L)                  | 20321,7 | 1          | 20321,7          | 16,42  | 0,001  | S   |
|                           | 24747,4 | 20         | 1237,4           |        |        |     |

|            |       |    |       |       |       |   |
|------------|-------|----|-------|-------|-------|---|
| Cl/F (L/h) | 145,3 | 1  | 145,3 | 24,77 | 0,000 | S |
|            | 117,3 | 20 | 5,866 |       |       |   |

**Cuadro 5.33** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 4 y 6.

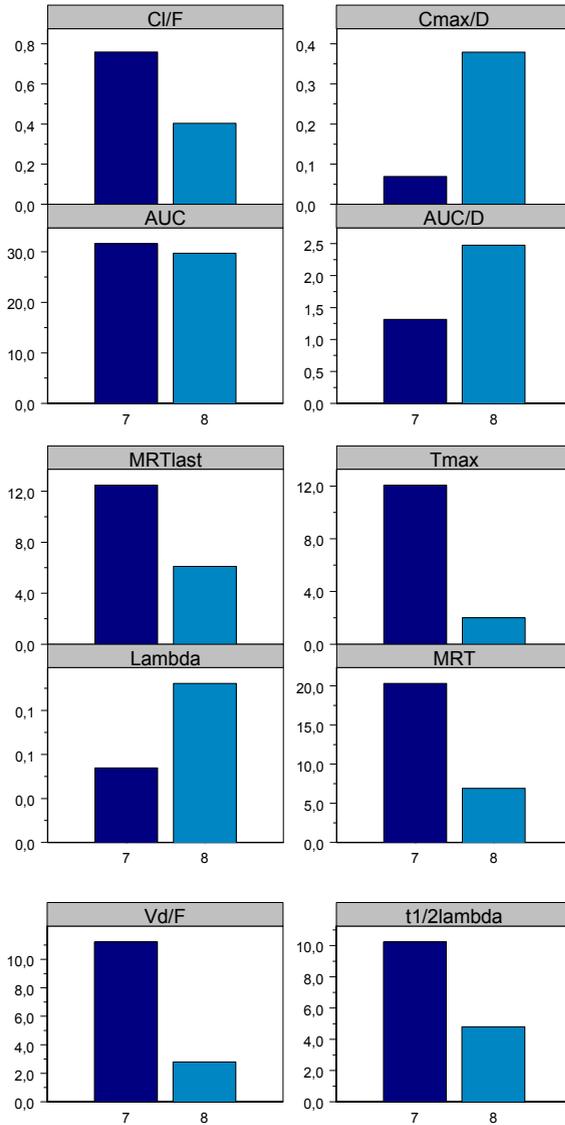
| Grupos 4 y 6.             |    | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  |     |
|---------------------------|----|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro                 | N  | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica | Sig |
| Tmax (h)                  | 10 | 9,40                | 39             | 94         | -1,822 | 0,068            | NS  |
|                           | 14 | 14,71               |                |            |        |                  |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 10 | 7,10                | 16             | 71         | -3,162 | 0,002            | S   |
|                           | 14 | 16,36               |                |            |        |                  |     |
| Lambda (λ)                | 9  | 9,33                | 39             | 84         | -1,302 | 0,193            | NS  |
|                           | 13 | 13,00               |                |            |        |                  |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 9  | 5,67                | 6              | 51         | -3,506 | 0,000            | S   |
|                           | 13 | 15,54               |                |            |        |                  |     |
| Vd/F (L)                  | 9  | 17,33               | 6              | 97         | -3,506 | 0,000            | S   |
|                           | 13 | 7,46                |                |            |        |                  |     |
| Cl/F (L/h)                | 9  | 17,33               | 6              | 97         | -3,506 | 0,000            | S   |
|                           | 13 | 7,46                |                |            |        |                  |     |

**Cuadro 5.34** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir de los grupos 4 y 6, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

### ❖ GRUPOS 7, 8. SQV IP.

| Parámetro                     | GRUPO 7: IP 24 mg SQV | GRUPO 8: IP 12 mg SQV |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                               | Media                 | Media                 |
| Tmax (h)                      | 12,07                 | 2,000                 |
| Cmax (mg/L)                   | 1,667                 | 4,550                 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 0,069                 | 0,379                 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,068                 | 0,144                 |
| t1/2 λ (h)                    | 10,23                 | 4,799                 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 20,31                 | 6,904                 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 31,59                 | 29,72                 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,316                 | 2,476                 |
| AUC%extrap                    | 29,78                 | 3,263                 |
| Vd/F (L)                      | 11,21                 | 2,796                 |
| Cl/F (L/h)                    | 0,760                 | 0,404                 |

**Cuadro 5.35** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el análisis no compartimental de los grupos 7 y 8.

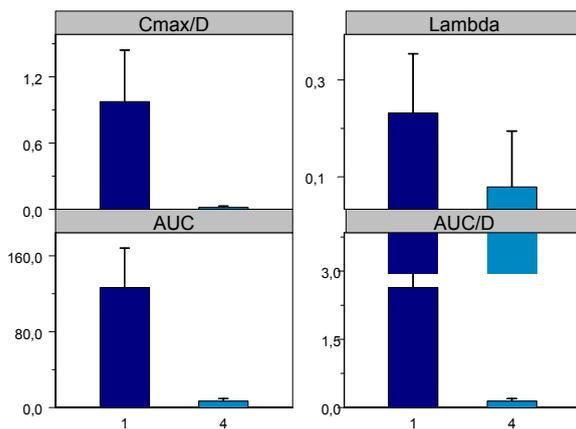


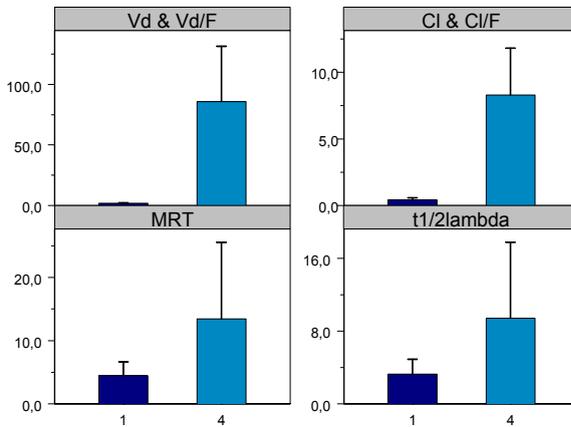
**Figura 5.8** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 7 y 8.

❖ **GRUPOS 1, 4. Dosis 48 mg SQV ( IV y PO)**

| Variable                                      | GRUPO 1:<br>Perfusión IV 48<br>mg SQV |       | GRUPO 4:<br>Oral 48 mg<br>SQV |       |
|---|---------------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|   | Media                                 | EE    | Media                         | EE    |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                       | 46,77                                 | 7,930 | 1,161                         | 0,220 |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> )        | 0,974                                 | 0,165 | 0,017                         | 0,004 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> )       | 0,249                                 | 0,032 | 0,134                         | 0,029 |
| t <sub>1/2</sub> $\lambda$ (h)                | 3,268                                 | 0,582 | 9,407                         | 2,792 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                          | 4,459                                 | 0,770 | 13,46                         | 4,034 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)                     | 126,66                                | 14,77 | 6,766                         | 0,936 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)                     | 2,639                                 | 0,308 | 0,141                         | 0,019 |
| AUC%extrap                                    | 14,85                                 | 3,769 | 31,83                         | 8,702 |
| V <sub>d</sub> extrap y V <sub>d</sub> /F (L) | 1,781                                 | 0,181 | 85,81                         | 15,23 |
| V <sub>d</sub> ec (L)                         | 1,703                                 | 0,177 |                               |       |
| Cl y Cl/F(L/h)                                | 0,421                                 | 0,055 | 8,297                         | 1,178 |

**Cuadro 5.36** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 4.





**Figura 5.9** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios y DE de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 4.

| Grupos 1 y 4                  | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|-------------------------------|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 8,230                 | 1   | 16  | 0,011 | S    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,171                 | 1   | 15  | 0,685 | NS   |
| t1/2 λ (h)                    | 12,07                 | 1   | 15  | 0,003 | S    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 13,23                 | 1   | 15  | 0,002 | S    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 12,09                 | 1   | 15  | 0,003 | S    |
| AUC%extrap                    | 11,17                 | 1   | 15  | 0,004 | S    |

**Cuadro 5.37** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 4.

| Grupos 1 y 4.             |        | ANOVA test |                  |       |        |     |  |
|---------------------------|--------|------------|------------------|-------|--------|-----|--|
| Fuente de variación       | SS     | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |  |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 4,017  | 1          | 4,017            | 42,01 | 0,000  | S   |  |
|                           | 1,530  | 16         | 0,096            |       |        |     |  |
| Lambda (λ)                | 0,056  | 1          | 0,056            | 7,024 | 0,018  | S   |  |
|                           | 0,119  | 15         | 0,008            |       |        |     |  |
| t1/2 λ (h)                | 159,6  | 1          | 159,6            | 4,128 | 0,060  | NS  |  |
|                           | 580,1  | 15         | 38,67            |       |        |     |  |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 342,8  | 1          | 342,8            | 4,268 | 0,057  | NS  |  |
|                           | 1205,0 | 15         | 80,33            |       |        |     |  |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 26,42  | 1          | 26,42            | 74,38 | 0,000  | S   |  |
|                           | 5,329  | 15         | 0,355            |       |        |     |  |
| AUC%extrap                | 1221,7 | 1          | 1221,7           | 2,933 | 0,107  | NS  |  |
|                           | 6247,5 | 15         | 416,5            |       |        |     |  |

**Cuadro 5.38** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 1 y 4.

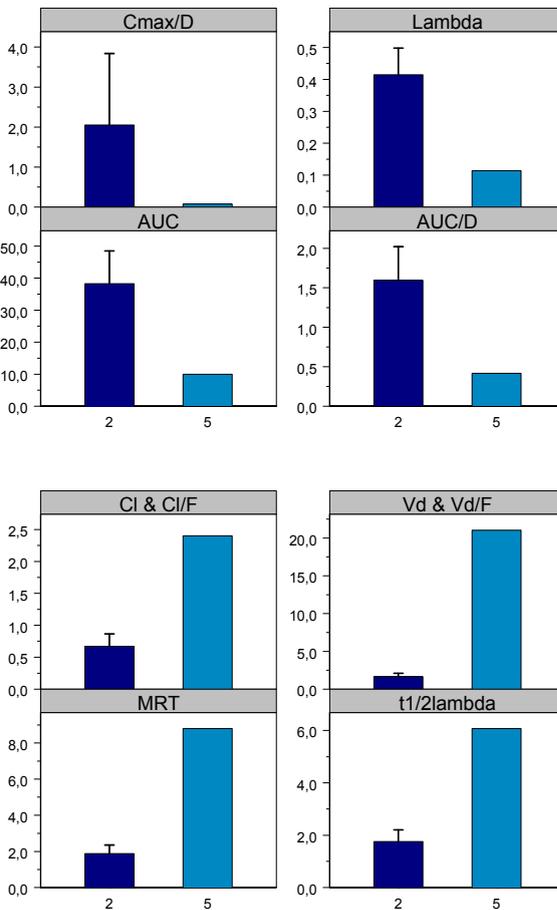
| Grupos 1 y 4.                          |    | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  |     |
|--|----|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro                              | N  | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica | Sig |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 8  | 14,50               | 0              | 55         | -3,554 | 0,000            | S   |
|  | 10 | 5,50                |                |            |        |                  |     |
| t <sub>1/2 λ</sub> (h)                 | 8  | 5,88                | 11             | 47         | -2,406 | 0,016            | S   |
|  | 9  | 11,78               |                |            |        |                  |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 8  | 5,88                | 11             | 47         | -2,406 | 0,016            | S   |
|  | 9  | 11,78               |                |            |        |                  |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 8  | 13,50               | 0              | 45         | -3,464 | 0,001            | S   |
|  | 9  | 5,00                |                |            |        |                  |     |
| AUC%extrap                             | 8  | 7,38                | 23             | 59         | -1,251 | 0,211            | NS  |
|  | 9  | 10,44               |                |            |        |                  |     |

**Cuadro 5.39** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir de los grupos 1 y 4, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

### ❖ GRUPOS 2, 5. Dosis 24 mg SQV (IV y PO).

| Variable                               | GRUPO 2: Bolus IV<br>24 mg SQV |       | GRUPO 5: Oral<br>24 mg SQV |
|--|--------------------------------|-------|----------------------------|
|  | Media                          | EE    | Media                      |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                | 49,23                          | 12,38 | 1,807                      |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 2,051                          | 0,516 | 0,075                      |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )          | 0,414                          | 0,024 | 0,114                      |
| t <sub>1/2 λ</sub> (h)                 | 1,753                          | 0,131 | 6,076                      |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 1,884                          | 0,136 | 8,802                      |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)              | 38,30                          | 2,957 | 9,991                      |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 1,596                          | 0,123 | 0,416                      |
| AUC%extrap                             | 3,017                          | 0,634 | 5,216                      |
| V <sub>d</sub> y V <sub>d</sub> /F (L) | 1,650                          | 0,129 | 21,06                      |
| V <sub>dee</sub> (L)                   | 1,253                          | 0,113 |                            |
| Cl y Cl/F(L/h)                         | 0,672                          | 0,056 | 2,402                      |

**Cuadro 5.40** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 5.



**Figura 5.10** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 5.

| Grupos 2 y 5.             |       | ANOVA test |                  |       |        |     |
|---------------------------|-------|------------|------------------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS    | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 3,605 | 1          | 3,605            | 1,129 | 0,311  | NS  |
|                           | 35,13 | 11         | 3,194            |       |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,083 | 1          | 0,083            | 11,78 | 0,006  | S   |
|                           | 0,078 | 11         | 0,007            |       |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 17,24 | 1          | 17,24            | 84,27 | 0,000  | S   |
|                           | 2,251 | 11         | 0,205            |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 44,18 | 1          | 44,18            | 199,8 | 0,000  | S   |
|                           | 2,433 | 11         | 0,221            |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 1,285 | 1          | 1,285            | 7,052 | 0,022  | S   |

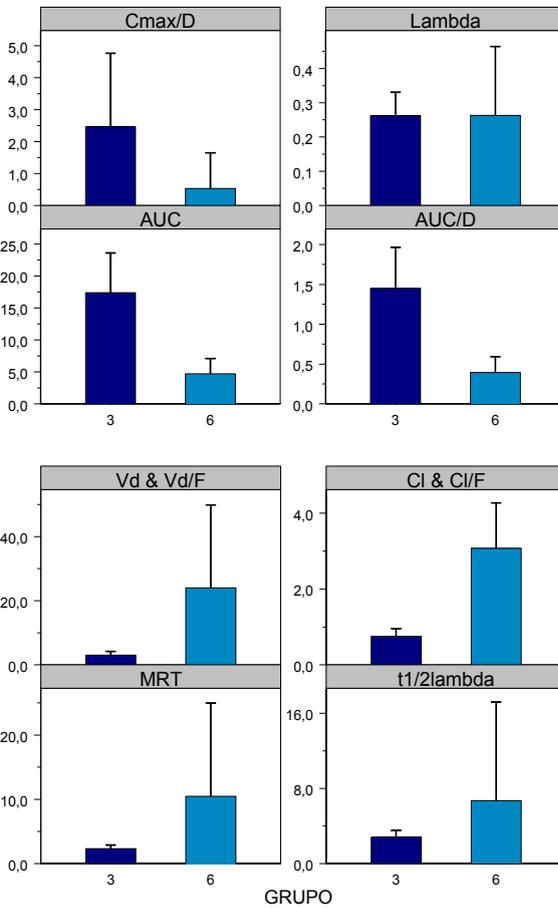
|            |       |    |       |       |       |    |
|------------|-------|----|-------|-------|-------|----|
| AUC%extrap | 2,004 | 11 | 0,182 | 0,925 | 0,357 | NS |
|            | 4,465 | 1  | 4,465 |       |       |    |
|            | 53,09 | 11 | 4,827 |       |       |    |

**Cuadro 5.42** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 5.

### ❖ GRUPOS 3, 6 . Dosis 12 mg SQV (IV y PO)

| Variable                                | GRUPO 3: Bolus IV 12 mg SQV |       | GRUPO 6: Oral 12 mg SQV |       |
|---|-----------------------------|-------|-------------------------|-------|
|   | Media                       | EE    | Media                   | EE    |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                 | 29,59                       | 9,744 | 1,016                   | 0,201 |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> )  | 2,466                       | 0,812 | 0,081                   | 0,016 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,262                       | 0,024 | 0,263                   | 0,056 |
| t <sub>1/2</sub> $\lambda$ (h)          | 2,811                       | 0,261 | 6,706                   | 2,917 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 2,333                       | 0,203 | 10,49                   | 4,020 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 17,40                       | 2,194 | 4,707                   | 0,666 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 1,450                       | 0,183 | 0,392                   | 0,055 |
| AUC%extrap                              | 7,114                       | 1,099 | 19,55                   | 5,227 |
| V <sub>d</sub> y V <sub>d</sub> /F (L)  | 3,050                       | 0,394 | 23,99                   | 7,177 |
| V <sub>dee</sub> (L)                    | 1,813                       | 0,248 |                         |       |
| Cl y Cl/F(L/h)                          | 0,753                       | 0,072 | 3,070                   | 0,334 |

**Cuadro 5.43** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 6.



**Figura 5. 11** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 6.

| Grupos 3 y 6                  | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|-------------------------------|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 18,88                 | 1   | 20  | 0,000 | S    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 8,072                 | 1   | 19  | 0,010 | S    |
| t1/2 λ (h)                    | 2,682                 | 1   | 19  | 0,118 | NS   |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 2,883                 | 1   | 19  | 0,106 | NS   |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 9,099                 | 1   | 19  | 0,007 | S    |
| AUC%extrap                    | 5,725                 | 1   | 19  | 0,027 | S    |

**Cuadro 5.44** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 6.

| Grupos 3 y 6.             |        | ANOVA test |                  |       |        |     |
|---------------------------|--------|------------|------------------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS     | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 28,95  | 1          | 28,95            | 15,66 | 0,001  | S   |
|                           | 36,97  | 20         | 1,849            |       |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,000  | 1          | 0,000            | 0,000 | 0,990  | NS  |
|                           | 0,519  | 19         | 0,027            |       |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 75,14  | 1          | 75,14            | 1,073 | 0,313  | NS  |
|                           | 1331,1 | 19         | 70,06            |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 329,6  | 1          | 329,6            | 2,482 | 0,132  | NS  |
|                           | 2523,3 | 19         | 132,8            |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 5,544  | 1          | 5,544            | 44,78 | 0,000  | S   |
|                           | 2,352  | 19         | 0,124            |       |        |     |
| AUC%extrap                | 766,2  | 1          | 766,2            | 3,362 | 0,082  | NS  |
|                           | 4330,3 | 19         | 227,9            |       |        |     |

**Cuadro 5.45** Anova de parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 6.

| Grupos 3 y 6              |    | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  |     |
|---------------------------|----|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro                 | N  | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 8  | 18,50               | 0              | 105        | -3,822 | 0,000            | S   |
|                           | 14 | 7,50                |                |            |        |                  |     |
| Lambda (λ)                | 8  | 12,50               | 40             | 131        | -0,869 | 0,385            | NS  |
|                           | 13 | 10,08               |                |            |        |                  |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 8  | 17,50               | 0              | 91         | -3,766 | 0,000            | S   |
|                           | 13 | 7,00                |                |            |        |                  |     |
| AUC%extrap                | 8  | 8,63                | 33             | 69         | -1,376 | 0,169            | NS  |
|                           | 13 | 12,46               |                |            |        |                  |     |

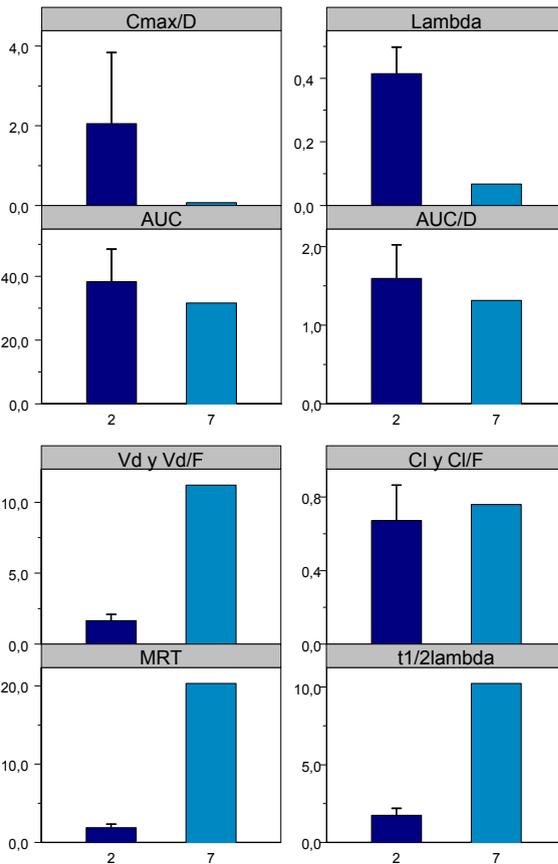
**Cuadro 5.46** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de saquinavir de los grupos 3 y 6, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

### ❖ GRUPOS 2, 7. Dosis 24 mg SQV (IV y IP)

| Variable                  | GRUPO 2: Bolus IV 24 mg SQV |       | GRUPO 7: IP 24 mg SQV |
|---------------------------|-----------------------------|-------|-----------------------|
|                           | Media                       | EE    | Media                 |
| Cmax (mg/L)               | 49,23                       | 12,38 | 1,667                 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 2,051                       | 0,516 | 0,069                 |

|                                   |       |       |       |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|
| Lambda ( $\lambda$ ) ( $h^{-1}$ ) | 0,414 | 0,024 | 0,068 |
| $t_{1/2 \lambda}$ (h)             | 1,753 | 0,131 | 10,23 |
| $MRT^{\infty}$ (h)                | 1,884 | 0,136 | 20,31 |
| $AUC^{\infty}$ (mg h/L)           | 38,30 | 2,957 | 31,59 |
| $AUC^{\infty}/D$ (h/L)            | 1,596 | 0,123 | 1,316 |
| AUC%extrap                        | 3,017 | 0,634 | 29,78 |
| Vd y Vd/F (L)                     | 1,650 | 0,129 | 11,21 |
| Vdee (L)                          | 1,253 | 0,113 |       |
| Cl y Cl/F(L/h)                    | 0,672 | 0,056 | 0,760 |

**Cuadro 5.47** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 7.



**Figura 5.12** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir y en su caso DE tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 7.

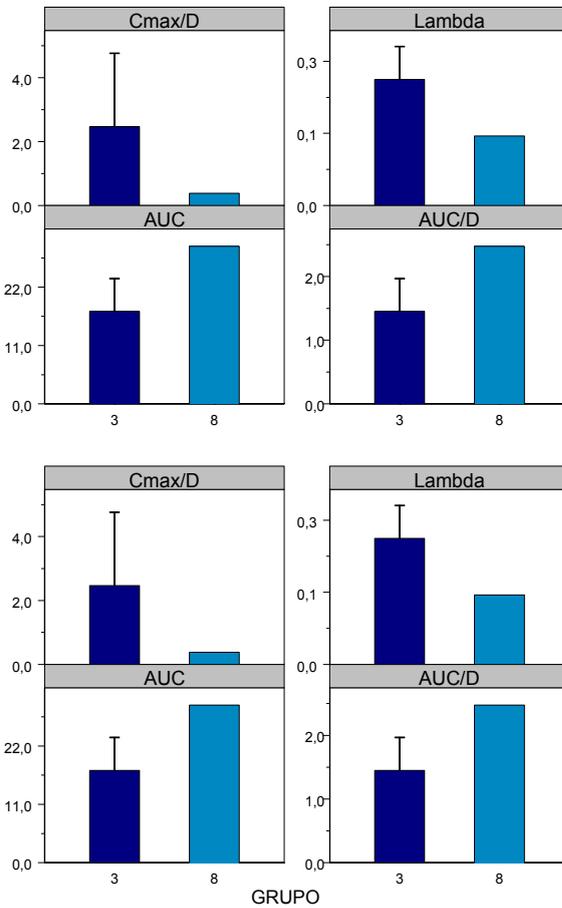
| Grupos 2 y 7.             |       | ANOVA test |                  |        |        |     |
|---------------------------|-------|------------|------------------|--------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS    | GL         | Media cuadrática | F      | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 3,626 | 1          | 3,626            | 1,135  | 0,309  | NS  |
|                           | 35,13 | 11         | 3,194            |        |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,111 | 1          | 0,111            | 15,70  | 0,002  | S   |
|                           | 0,078 | 11         | 0,007            |        |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 66,35 | 1          | 66,35            | 324,3  | 0,000  | S   |
|                           | 2,251 | 11         | 0,205            |        |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 313,3 | 1          | 313,3            | 1416,5 | 0,000  | S   |
|                           | 2,433 | 11         | 0,221            |        |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,072 | 1          | 0,072            | 0,396  | 0,542  | NS  |
|                           | 2,004 | 11         | 0,182            |        |        |     |
| AUC%extrap                | 661,3 | 1          | 661,3            | 137,0  | 0,000  | S   |
|                           | 53,09 | 11         | 4,827            |        |        |     |

**Cuadro 5.48** Anova de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 7.

### ❖ GRUPOS 3, 8. Dosis 12 mg SQV (IV y IP)

| Variable                      | GRUPO 3: Bolus IV 12 mg SQV |       | GRUPO 8: IP 12 mg SQV |
|-------------------------------|-----------------------------|-------|-----------------------|
|                               | Media                       | DE    | Media                 |
| Cmax (mg/L)                   | 29,59                       | 9,744 | 4,550                 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 2,466                       | 0,812 | 0,379                 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,262                       | 0,024 | 0,144                 |
| t1/2 λ (h)                    | 2,811                       | 0,261 | 4,799                 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 2,333                       | 0,203 | 6,904                 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 17,40                       | 2,194 | 29,72                 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,450                       | 0,183 | 2,476                 |
| AUC%extrap                    | 7,114                       | 1,099 | 3,263                 |
| Vd y Vd/F (L)                 | 3,050                       | 0,394 | 2,796                 |
| Vdee (L)                      | 1,813                       | 0,248 |                       |
| Cl y Cl/F(L/h)                | 0,753                       | 0,072 | 0,404                 |

**Cuadro 5.49** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 8.



**Figura 5.13** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 8.

| Grupos 3 y 8.        |       | ANOVA test |                  |       |        |     |
|----------------------|-------|------------|------------------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación  | SS    | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |
| Cmax/D ( $L^{-1}$ )  | 3,871 | 1          | 3,871            | 0,734 | 0,420  | NS  |
|                      | 36,92 | 7          | 5,275            |       |        |     |
| Lambda ( $\lambda$ ) | 0,012 | 1          | 0,012            | 2,616 | 0,150  | NS  |
|                      | 0,033 | 7          | 0,005            |       |        |     |
| t1/2 $\lambda$ (h)   | 3,513 | 1          | 3,513            | 6,433 | 0,039  | S   |
|                      | 3,823 | 7          | 0,546            |       |        |     |
| MRT $^{\infty}$ (h)  | 18,57 | 1          | 18,57            | 56,23 | 0,000  | S   |
|                      | 2,312 | 7          | 0,330            |       |        |     |

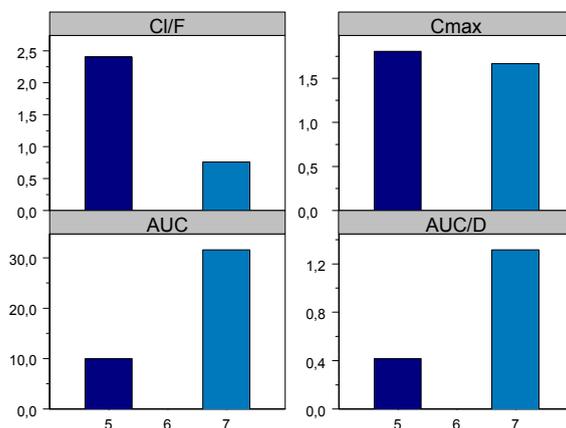
|                           |       |   |       |       |       |    |
|---------------------------|-------|---|-------|-------|-------|----|
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,936 | 1 | 0,936 | 3,499 | 0,104 | NS |
|                           | 1,872 | 7 | 0,267 |       |       |    |
| AUC%extrap                | 13,18 | 1 | 13,18 | 1,364 | 0,281 | NS |
|                           | 67,67 | 7 | 9,668 |       |       |    |

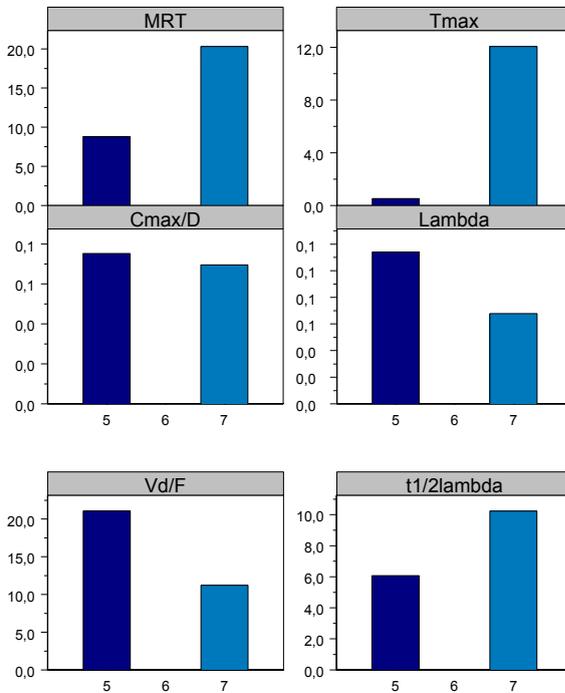
**Cuadro 5.50** Anova de los parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 3 y 8.

### ❖ GRUPOS 7, 5. Dosis 24 mg SQV (IP y PO)

| Parámetro                               | GRUPO 7: IP<br>24 mg SQV | GRUPO 5:<br>Oral 24 mg<br>SQV |
|---|--------------------------|-------------------------------|
|   | Media                    | Media                         |
| Tmax (h)                                | 0,520                    | 12,07                         |
| Cmax (mg/L)                             | 1,667                    | 1,807                         |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 0,069                    | 0,075                         |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,068                    | 0,114                         |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 10,23                    | 6,076                         |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 20,31                    | 8,802                         |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 31,59                    | 9,991                         |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 1,316                    | 0,416                         |
| AUC%extrap                              | 29,78                    | 5,216                         |
| Vd/F (L)                                | 11,21                    | 21,06                         |
| Cl/F(L/h)                               | 0,760                    | 2,402                         |

**Cuadro 5.51** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 7 y 5.



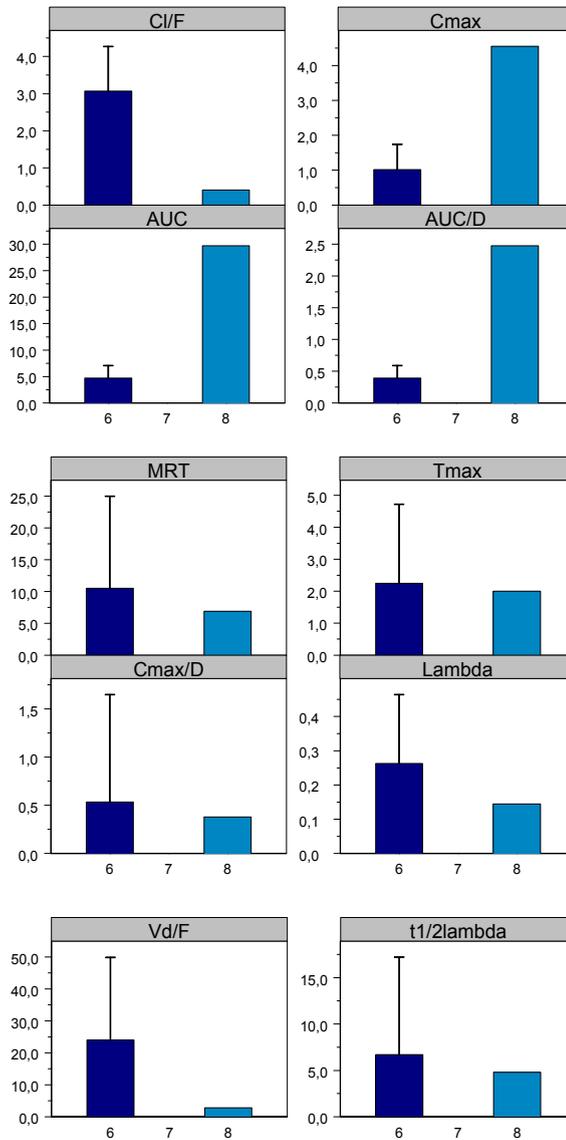


**Figura 5.14** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 7 y 5.

❖ **GRUPOS 8, 6. Dosis 12 mg SQV (IP y PO)**

| Variable                      | GRUPO 6: PO<br>12 mg SQV |       | GRUPO 8:<br>IP 12 mg<br>SQV |
|-------------------------------|--------------------------|-------|-----------------------------|
|                               | Media                    | DE    | Media                       |
| Tmax (mg/L)                   | 2,247                    | 0,686 | 2,000                       |
| Cmax (mg/L)                   | 1,016                    | 0,201 | 4,550                       |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 0,081                    | 0,016 | 0,379                       |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,263                    | 0,056 | 0,144                       |
| T1/2 λ (h)                    | 6,706                    | 2,917 | 4,799                       |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 10,49                    | 4,020 | 6,904                       |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 4,707                    | 0,666 | 29,72                       |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 0,392                    | 0,055 | 2,476                       |
| AUC%extrap                    | 19,55                    | 5,227 | 3,263                       |
| Vd/F (L)                      | 24,00                    | 7,177 | 2,796                       |
| Cl/F(L/h)                     | 3,070                    | 0,334 | 0,404                       |

**Cuadro 5.52** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 6 y 8.



**Figura 5. 15** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 6 y 8.

| Grupos 6 y 8.             |         | ANOVA test |                  |        | F     | Probab | Sig |
|---------------------------|---------|------------|------------------|--------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS      | GL         | Media cuadrática |        |       |        |     |
| Tmax (h)                  | 0,248   | 1          | 0,248            | 0,037  | 0,850 | NS     |     |
|                           | 86,55   | 13         | 6,658            |        |       |        |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,083   | 1          | 0,083            | 23,52  | 0,000 | S      |     |
|                           | 0,046   | 13         | 0,004            |        |       |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,013   | 1          | 0,013            | 0,323  | 0,580 | NS     |     |
|                           | 0,486   | 12         | 0,041            |        |       |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 3,377   | 1          | 3,377            | 0,031  | 0,864 | NS     |     |
|                           | 1327,3  | 12         | 110,6            |        |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 11,95   | 1          | 11,95            | 0,057  | 0,816 | NS     |     |
|                           | 2521,0  | 12         | 210,1            |        |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 4,033   | 1          | 4,033            | 100,87 | 0,000 | S      |     |
|                           | 0,480   | 12         | 0,040            |        |       |        |     |
| AUC%extrap                | 246,4   | 1          | 246,4            | 0,694  | 0,421 | NS     |     |
|                           | 4262,6  | 12         | 355,2            |        |       |        |     |
| Vd/F (L)                  | 417,431 | 1          | 417,4            | 0,623  | 0,445 | NS     |     |
|                           | 8035,7  | 12         | 669,6            |        |       |        |     |
| Cl/F (L/h)                | 6,601   | 1          | 6,601            | 4,551  | 0,054 | NS     |     |
|                           | 17,40   | 12         | 1,450            |        |       |        |     |

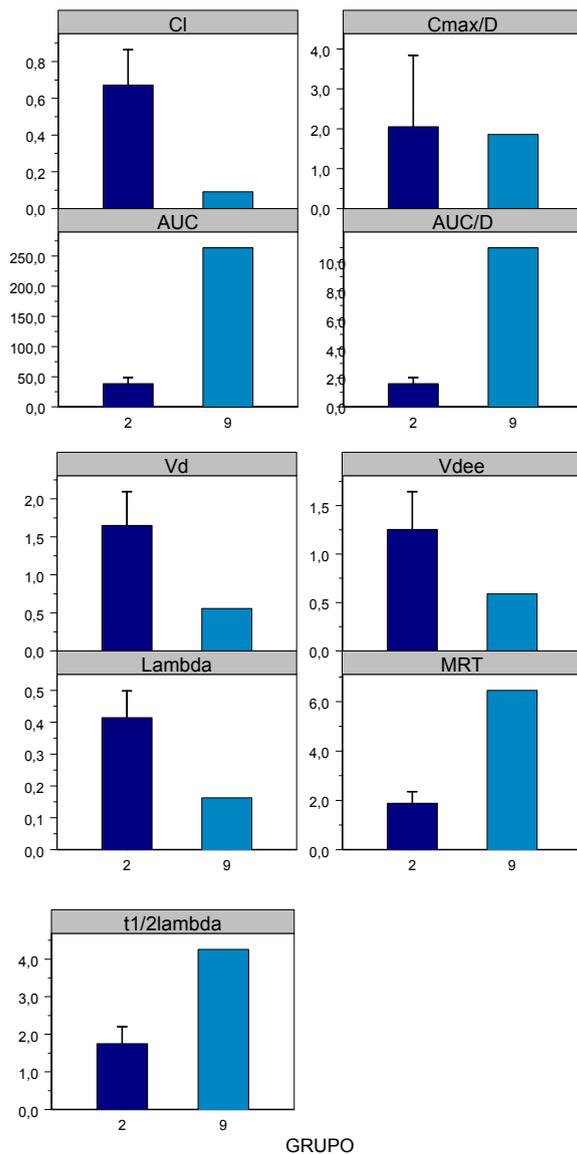
**Cuadro 5.53** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 6 y 8.

**❖ GRUPOS 2, 9. Dosis 24 mg SQV IV (sólo y en combinación)**

| Variable                      | GRUPO 2: Bolus IV 24 mg SQV |       | GRUPO 9: Perf.IV 24 mg SQV y 6mg RTV |
|-------------------------------|-----------------------------|-------|--------------------------------------|
|                               | Media                       | EE    | Media                                |
| Cmax (mg/L)                   | 49,23                       | 12,38 | 44,57                                |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 2,051                       | 0,516 | 1,857                                |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,414                       | 0,024 | 0,163                                |
| t1/2 λ (h)                    | 1,753                       | 0,131 | 4,259                                |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 1,884                       | 0,136 | 6,461                                |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 38,30                       | 2,957 | 263,6                                |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 1,596                       | 0,123 | 10,98                                |
| AUC%extrap                    | 3,017                       | 0,634 | 21,39                                |
| Vdextrap (L)                  | 1,650                       | 0,129 | 0,559                                |

|                     |       |       |       |
|---------------------|-------|-------|-------|
| V <sub>de</sub> (L) | 1,253 | 0,113 | 0,588 |
| Cl (L/h)            | 0,672 | 0,056 | 0,091 |

**Cuadro 5.54** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 9.



**Figura 5.16** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir y en su caso DE tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 9.

| Grupos 2 y 9.             |       | ANOVA test |                  |       |        |     |  |
|---------------------------|-------|------------|------------------|-------|--------|-----|--|
| Fuente de variación       | SS    | GL         | Media cuadrática | F     | Probab | Sig |  |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 0,035 | 1          | 0,035            | 0,011 | 0,919  | NS  |  |
|                           | 35,13 | 11         | 3,194            |       |        |     |  |
| Lambda (λ)                | 0,059 | 1          | 0,059            | 8,277 | 0,015  | S   |  |
|                           | 0,078 | 11         | 0,007            |       |        |     |  |
| t1/2 λ (h)                | 5,795 | 1          | 5,795            | 28,32 | 0,000  | S   |  |
|                           | 2,251 | 11         | 0,205            |       |        |     |  |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 19,34 | 1          | 19,34            | 87,45 | 0,000  | S   |  |
|                           | 2,433 | 11         | 0,221            |       |        |     |  |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 81,35 | 1          | 81,35            | 446,6 | 0,000  | S   |  |
|                           | 2,004 | 11         | 0,182            |       |        |     |  |
| AUC%extrap                | 311,5 | 1          | 311,5            | 64,54 | 0,000  | S   |  |
|                           | 53,09 | 11         | 4,827            |       |        |     |  |
| Vdextrap (L)              | 1,097 | 1          | 1,097            | 5,514 | 0,039  | S   |  |
|                           | 2,189 | 11         | 0,199            |       |        |     |  |
| Vdee (L)                  | 0,408 | 1          | 0,408            | 2,671 | 0,130  | NS  |  |
|                           | 1,681 | 11         | 0,153            |       |        |     |  |
| Cl (L/h)                  | 0,311 | 1          | 0,311            | 8,281 | 0,015  | S   |  |
|                           | 0,414 | 11         | 0,038            |       |        |     |  |

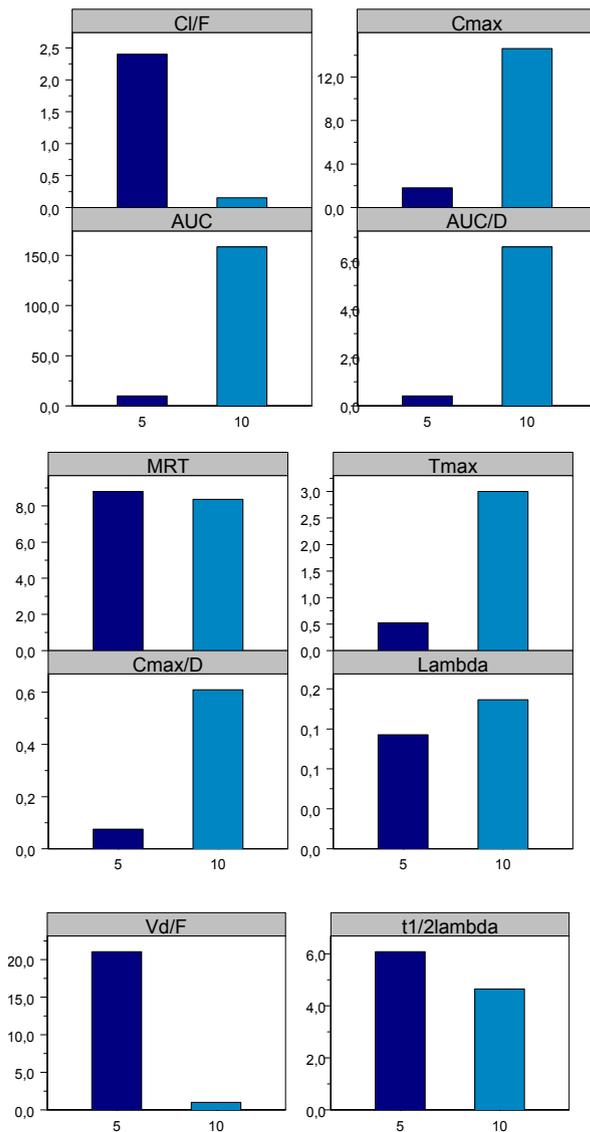
**Cuadro 5.55** Anova de parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 2 y 9.

**❖ GRUPOS 5, 10. Dosis 24 mg SQV PO (sólo y en combinación)**

| Variable                      | GRUPO 5: Oral<br>24 mg SQV | GRUPO 10: Oral<br>24 mg SQV y 6mg<br>RTV |
|-------------------------------|----------------------------|--|
|                               | Media                      | Media                                    |
| Tmax (h)                      | 0,520                      | 3,000                                    |
| Cmax (mg/L)                   | 1,807                      | 14,62                                    |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 0,075                      | 0,609                                    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,114                      | 0,149                                    |
| t1/2 λ (h)                    | 6,076                      | 4,648                                    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 8,802                      | 8,373                                    |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 9,991                      | 158,5                                    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 0,416                      | 6,603                                    |
| AUC%extrap                    | 5,216                      | 2,278                                    |

|            |       |       |
|------------|-------|-------|
| Vd/F (L)   | 21,06 | 1,016 |
| Cl/F (L/h) | 2,402 | 0,151 |

**Cuadro 5.56** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 5 y 10.

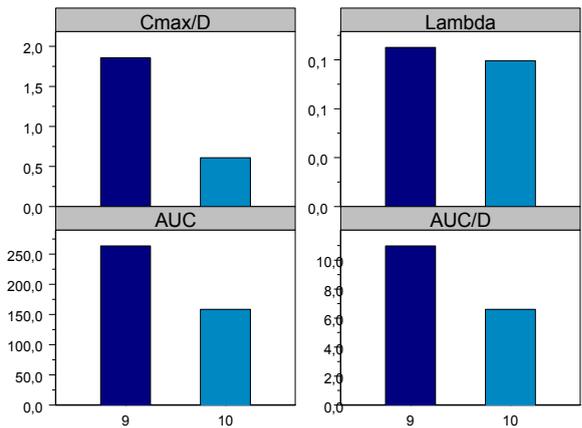


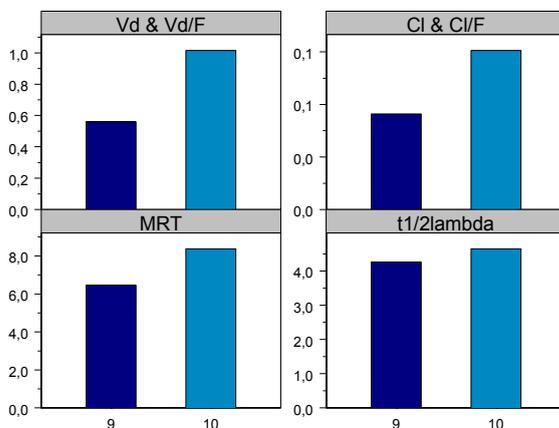
**Figura 5.17** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 5 y 10.

❖ **GRUPO 9, 10. Dosis 24 mg SQV en combinación (IV y PO)**

| Variable                      | GRUPO 9:<br>Perf.IV 24 mg<br>SQV y 6mg RTV | GRUPO 10: Oral<br>24 mg SQV y 6mg<br>RTV |
|-------------------------------|--|--|
|                               | Media                                      | Media                                    |
| Cmax (mg/L)                   | 44,57                                      | 14,62                                    |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 1,857                                      | 0,609                                    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,163                                      | 0,149                                    |
| t1/2 λ (h)                    | 4,259                                      | 4,648                                    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 6,461                                      | 8,373                                    |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 263,6                                      | 158,5                                    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 10,98                                      | 6,603                                    |
| AUC%extrap                    | 21,39                                      | 2,278                                    |
| Vdextrap y Vd/F (L)           | 0,559                                      | 1,016                                    |
| Cl y Cl/F(L/h)                | 0,091                                      | 0,151                                    |

**Cuadro 5.57** Parámetros farmacocinéticos de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 10.





**Figura 5. 18** Parámetros farmacocinéticos medios de saquinavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 10.

### 5.3.1.2 RITONAVIR

En los *cuadros* 5.58-61, se muestra para cada grupo de ritonavir, bien los valores promedios obtenidos para los distintos parámetros farmacocinéticos tras realizar el análisis individual de los datos experimentales, en aquellos grupos que lo permitían, o en su caso, los valores de los parámetros obtenidos para aquellos grupos en los que se ha realizado un análisis poblacional como promedio simple de datos. En el caso de proporcionar el valor promedio de los valores individuales, se indica además, el coeficiente de variación (CV%), el error estándar (EE), la mediana, así como los intervalos de confianza del 95 % inferior y superior.

| GRUPO 11: Bolus IV 3 mg RTV             |       |       | N= 7; Nmiss= 0 |         |        |       |
|---|-------|-------|----------------|---------|--------|-------|
| Variable                                | Media | CV%   | EE             | Mediana | 95%LI  | 95%LS |
| Cmax (mg/L)                             | 61,26 | 77,92 | 18,04          | 36,56   | 17,10  | 105,4 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )               | 20,42 | 77,92 | 6,014          | 12,19   | 5,702  | 35,14 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,472 | 28,12 | 0,050          | 0,459   | 0,349  | 0,595 |
| t1/2 $\lambda$ (h)                      | 1,575 | 28,44 | 0,169          | 1,510   | 1,161  | 1,990 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                    | 1,951 | 35,13 | 0,259          | 1,503   | 1,317  | 2,585 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)               | 18,28 | 32,34 | 2,234          | 20,27   | 12,811 | 23,75 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)               | 6,093 | 32,34 | 0,745          | 6,755   | 4,270  | 7,916 |
| AUC%back extrap                         | 15,24 | 63,61 | 3,665          | 15,55   | 6,272  | 24,21 |
| AUC%extrap                              | 18,52 | 48,78 | 3,414          | 12,33   | 10,16  | 26,87 |
| Vdextrap (L)                            | 0,388 | 22,69 | 0,033          | 0,392   | 0,307  | 0,469 |
| Vdee (L)                                | 0,337 | 31,23 | 0,040          | 0,346   | 0,240  | 0,435 |
| Cl (L/h)                                | 0,183 | 39,22 | 0,027          | 0,148   | 0,117  | 0,250 |

**Cuadro 5.58** Parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 12. Dónde N es el número de individuos tenidos en cuenta y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por un número insuficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| GRUPO 9: Perfusión IV 6mg RTV y 24 mg SQV |       |       | N= 2; Nmiss= 1 |         |        |       |
|---|-------|-------|----------------|---------|--------|-------|
| Variable                                  | Media | CV%   | EE             | Mediana | 95%LI  | 95%LS |
| Tmax (h)                                  | 0,750 | 0,000 | 0,000          | 0,750   | 0,750  | 0,750 |
| Cmax (mg/L)                               | 7,185 | 37,54 | 1,907          | 7,185   | -17,05 | 31,42 |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )                 | 1,198 | 37,54 | 0,318          | 1,198   | -2,841 | 5,236 |
| Lambda ( $\lambda$ ) (h <sup>-1</sup> )   | 0,654 | 47,81 | 0,221          | 0,654   | -2,154 | 3,461 |
| t1/2 $\lambda$ (h)                        | 1,197 | 47,81 | 0,405          | 1,197   | -3,945 | 6,340 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                      | 2,173 | 52,33 | 0,804          | 2,173   | -8,043 | 12,39 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)                 | 19,72 | 85,46 | 11,92          | 19,72   | -131,7 | 171,1 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)                 | 3,286 | 85,46 | 1,986          | 3,286   | -21,95 | 28,52 |
| AUC%extrap                                | 4,707 | 15,07 | 0,502          | 4,707   | -1,668 | 11,08 |
| Vdextrap (L)                              | 0,659 | 47,32 | 0,220          | 0,659   | -2,142 | 3,459 |
| Vdee (L)                                  | 0,809 | 42,67 | 0,244          | 0,809   | -2,291 | 3,908 |
| Cl (L/h)                                  | 0,479 | 85,46 | 0,290          | 0,479   | -3,201 | 4,160 |

**Cuadro 5.59** Parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el análisis no compartimental individual de los datos experimentales del grupo 9. Dónde N es el número de individuos tenidos en cuenta y Nmiss los que por no describir bien la fase terminal de la curva por un número insuficiente de muestras, se han excluido del análisis.

| <b>GRUPO 12: oral 4.6±2.5 mg RTV</b> |              |
|--------------------------------------|--------------|
| <b>Variable</b>                      | <b>N= 20</b> |
| Tmax (h)                             | 10,02        |
| Cmax (mg/L)                          | 1,136        |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )            | 1,136        |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )        | 0,116        |
| t1/2 λ (h)                           | 5,959        |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                 | 9,479        |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)            | 5,170        |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)            | 5,170        |
| AUC%extrap                           | 6,855        |
| Vd/F (L)                             | 1,663        |
| Cl/F (L/h)                           | 0,193        |

**Cuadro 5.60** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 12, como promedio simple de datos. Dónde N es el número de individuos tenidos en cuenta en el análisis.

| <b>GRUPO 10: Oral 6mg RTV y 24 mg SQV</b> |            |
|---|------------|
| <b>Variable</b>                           | <b>N=6</b> |
| Tmax (h)                                  | 3,000      |
| Cmax (mg/L)                               | 1,664      |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )                 | 0,277      |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )             | 0,250      |
| t1/2 λ (h)                                | 2,767      |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                      | 9,845      |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)                 | 18,946     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)                 | 3,158      |
| AUC%extrap                                | 4,754      |
| Vd/F (L)                                  | 1,264      |
| Cl/F (L/h)                                | 0,317      |

**Cuadro 5.61** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el análisis no compartimental poblacional de los datos del grupo 10, como promedio simple de datos. Dónde N es el número de individuos tenidos en cuenta en el análisis.

### 5.3.1.2.1 *Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos*

El *cuadro 5.62* muestra los resultados obtenidos tras aplicar la prueba de Kolgomorov-Smirnov, a los grupos de ritonavir con un tamaño muestral de más de un animal. En los *cuadros 5.63-71* se presentan los resultados obtenidos para el ritonavir tras aplicar la prueba de Levene a los grupos con varianza calculable que se desea comparar, así como los resultados del ANOVA y en su caso, del test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras independientes. Por último, se ha representado gráficamente, en las *figuras 5.19-22*, los valores medios de los parámetros de ritonavir y su desviación estándar (sólo en los grupos en los que se ha

realizado análisis individual), con el fin de observar las tendencias en caso de que existan.

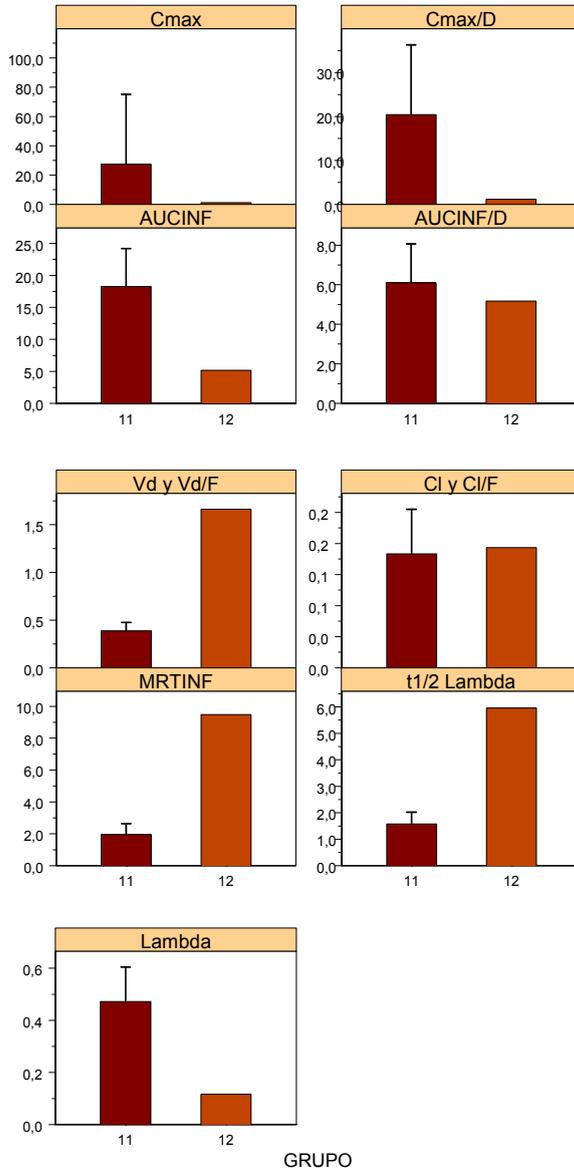
| Parámetro                              | Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov |                  |       |                           |                  |       |
|--|--|------------------|-------|---------------------------|------------------|-------|
|  | GRUPO 11: IV 3 mg RTV                      |                  |       | GRUPO 9: Perf.IV 6 mg RTV |                  |       |
|  | N  | Sign. Asintótica | Sign. | N                         | Sign. Asintótica | Sign. |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 7  | 0,691            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )          | 7  | 0,762            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| t <sub>1/2</sub> λ (h)                 | 7  | 0,776            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 7  | 0,491            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 7  | 0,935            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| AUC%back extrap                        | 7  | 0,950            | NS    |                           |                  |       |
| AUC%extrap                             | 7  | 0,452            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| Vdextrap (L)                           | 7  | 0,999            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| V <sub>d</sub> (L)                     | 7  | 0,999            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |
| Cl (L/h)                               | 7  | 0,732            | NS    | 2                         | 0,999            | NS    |

**Cuadro 5.62** Prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a los parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el análisis no compartimental de los datos de los grupos 11 y 9.

### ❖ GRUPOS 11, 12. Dosis 3 mg y 4,6 mg RTV (IV y PO)

| Variable                               | GRUPO 11: IV 3 mg RTV |       | GRUPO 12: PO 4,6 mg RTV |
|--|-----------------------|-------|-------------------------|
|  | Media                 | EE    | Media                   |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                | 61,26                 | 18,04 | 1,136                   |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 20,42                 | 6,014 | 1,136                   |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )          | 0,472                 | 0,050 | 0,116                   |
| t <sub>1/2</sub> λ (h)                 | 1,575                 | 0,169 | 5,959                   |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 1,951                 | 0,259 | 9,479                   |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)              | 18,28                 | 2,234 | 5,170                   |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 6,093                 | 0,745 | 5,170                   |
| AUC%extrap                             | 18,52                 | 3,414 | 6,855                   |
| V <sub>d</sub> y V <sub>d</sub> /F (L) | 0,388                 | 0,033 | 1,663                   |
| Cl y Cl/F(L/h)                         | 0,183                 | 0,027 | 0,193                   |

**Cuadro 5.63** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 11 y 12.



**Figura 5.19** Parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 11 y 12.

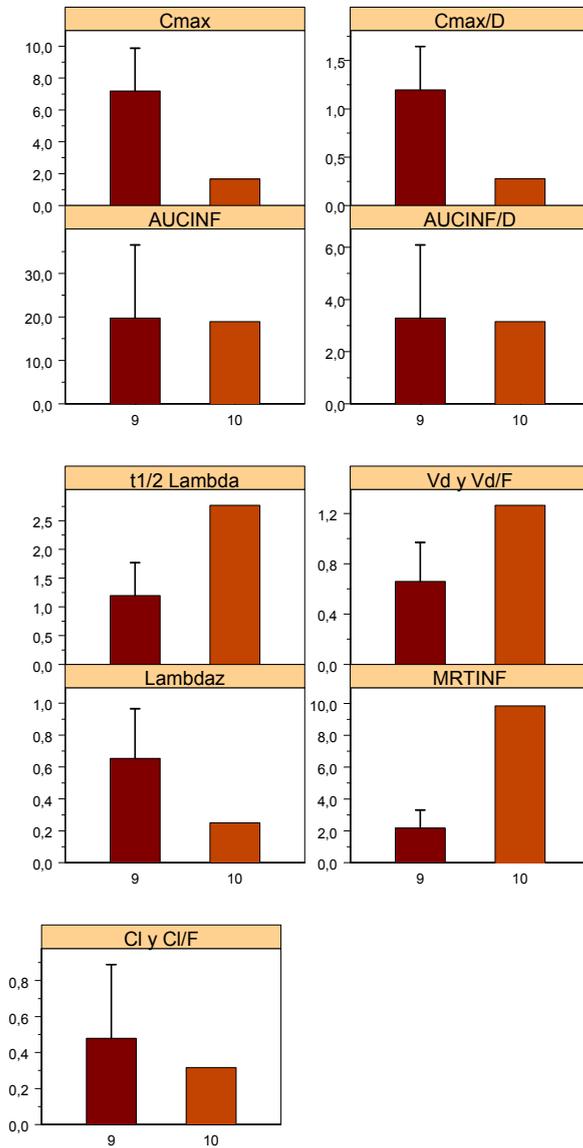
| Grupos 11 y 12.           |          | ANOVA test |                  |         | F     | Probab | Sig |
|---------------------------|----------|------------|------------------|---------|-------|--------|-----|
| Fuente de variación       | SS       | GL         | Media cuadrática |         |       |        |     |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 325,459  | 1          | 325,459          | 1,285   | 0,300 | NS     |     |
|                           | 1519,211 | 6          | 253,202          |         |       |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,111    | 1          | 0,111            | 6,283   | 0,046 | S      |     |
|                           | 0,106    | 6          | 0,018            |         |       |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 16,812   | 1          | 16,812           | 83,752  | 0,000 | S      |     |
|                           | 1,204    | 6          | 0,201            |         |       |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 49,584   | 1          | 49,584           | 105,508 | 0,000 | S      |     |
|                           | 2,820    | 6          | 0,470            |         |       |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 0,746    | 1          | 0,746            | 0,192   | 0,676 | NS     |     |
|                           | 23,300   | 6          | 3,883            |         |       |        |     |
| AUC%extrap                | 119,036  | 1          | 119,036          | 1,459   | 0,273 | NS     |     |
|                           | 489,649  | 6          | 81,608           |         |       |        |     |

**Cuadro 5.64** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 11 y 12.

**❖ GRUPOS 9, 10. Dosis 6 mg RTV en combinación (IV y PO)**

| Variable                      | GRUPO 9: Perf.IV 6 mg RTV y 24mg SQV |       | GRUPO 10: PO 6 mg RTV y 24mg SQV |
|-------------------------------|--------------------------------------|-------|----------------------------------|
|                               | Media                                | EE    | Media                            |
|                               | Cmax (mg/L)                          | 7,185 | 1,907                            |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 1,198                                | 0,318 | 0,277                            |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 0,654                                | 0,221 | 0,250                            |
| t1/2 λ (h)                    | 1,197                                | 0,405 | 2,767                            |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 2,173                                | 0,804 | 9,845                            |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)     | 19,72                                | 11,92 | 18,95                            |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 3,286                                | 1,986 | 3,158                            |
| AUC%extrap                    | 4,707                                | 0,502 | 4,754                            |
| Vd y Vd/F (L)                 | 0,659                                | 0,220 | 1,264                            |
| Cl y Cl/F(L/h)                | 0,479                                | 0,290 | 0,317                            |

**Cuadro 5.65** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 10.



**Figura 5.20** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 10.

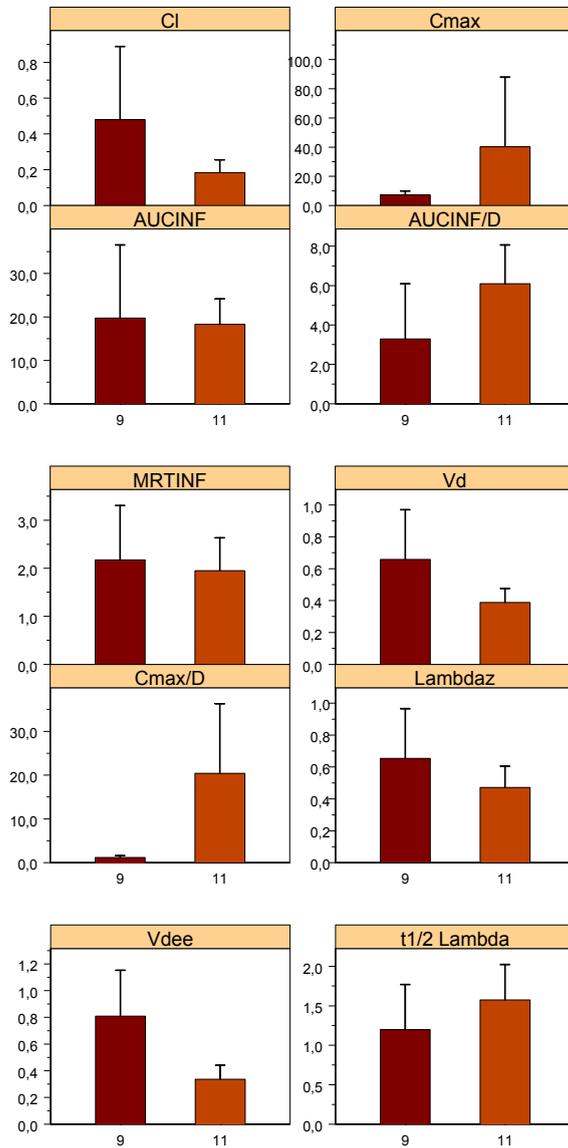
| Grupos 9 y 10.                         |        | ANOVA test |                  |        |        |     |
|--|--------|------------|------------------|--------|--------|-----|
| Fuente de variación                    | SS     | GL         | Media cuadrática | F      | Probab | Sig |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 0,565  | 1          | 0,565            | 2,794  | 0,343  | NS  |
|  | 0,202  | 1          | 0,202            |        |        |     |
| Lambda (λ)                             | 0,108  | 1          | 0,108            | 1,110  | 0,483  | NS  |
|  | 0,098  | 1          | 0,098            |        |        |     |
| t <sub>1/2</sub> λ (h)                 | 1,643  | 1          | 1,643            | 5,016  | 0,267  | NS  |
|  | 0,328  | 1          | 0,328            |        |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 39,242 | 1          | 39,242           | 30,355 | 0,114  | NS  |
|  | 1,293  | 1          | 1,293            |        |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 0,011  | 1          | 0,011            | 0,001  | 0,976  | NS  |
|  | 7,888  | 1          | 7,888            |        |        |     |
| AUC%extrap                             | 0,001  | 1          | 0,001            | 0,003  | 0,966  | NS  |
|  | 0,503  | 1          | 0,503            |        |        |     |

**Cuadro 5.66** Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 10.

❖ **GRUPOS 11, 9. Dosis 3 y 6 mg SQV IV (sólo y en combinación)**

| Variable                               | GRUPO 11: IV<br>3 mg RTV |       | GRUPO 9: Perf.IV 6<br>mg RTV y 24mg SQV |       |
|--|--------------------------|-------|---|-------|
|  | Media                    | EE    | Media                                   | DE    |
| C <sub>max</sub> (mg/L)                | 61,26                    | 18,04 | 7,185                                   | 1,907 |
| C <sub>max</sub> /D (L <sup>-1</sup> ) | 20,42                    | 6,014 | 1,198                                   | 0,318 |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> )          | 0,472                    | 0,050 | 0,654                                   | 0,221 |
| t <sub>1/2</sub> λ (h)                 | 1,575                    | 0,169 | 1,197                                   | 0,405 |
| MRT <sup>∞</sup> (h)                   | 1,951                    | 0,259 | 2,173                                   | 0,804 |
| AUC <sup>∞</sup> (mg h/L)              | 18,28                    | 2,234 | 19,72                                   | 11,92 |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)              | 6,093                    | 0,745 | 3,286                                   | 1,986 |
| AUC%extrap                             | 18,52                    | 3,414 | 4,707                                   | 0,502 |
| V <sub>d</sub> (L)                     | 0,388                    | 0,033 | 0,659                                   | 0,220 |
| V <sub>dee</sub> (L)                   | 0,337                    | 0,040 | 0,809                                   | 0,244 |
| Cl (L/h)                               | 0,183                    | 0,027 | 0,479                                   | 0,290 |

**Cuadro 5.67** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 11.



**Figura 5.21** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 11.

| Grupos 9 y 11                 | Estadístico de Levene | GL1 | GL2 | P     | Sig. |
|-------------------------------|-----------------------|-----|-----|-------|------|
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> )     | 1,768                 | 1   | 7   | 0,225 | NS   |
| Lambda (λ) (h <sup>-1</sup> ) | 9,409                 | 1   | 7   | 0,018 | S    |
| t1/2 λ (h)                    | 0,019                 | 1   | 7   | 0,895 | NS   |
| MRT <sup>∞</sup> (h)          | 2,843                 | 1   | 7   | 0,136 | NS   |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L)     | 0,294                 | 1   | 7   | 0,605 | NS   |
| AUC%extrap                    | 30,06                 | 1   | 7   | 0,001 | S    |
| Vdextrap (L)                  | 14,59                 | 1   | 7   | 0,007 | S    |
| Vdee (L)                      | 12,80                 | 1   | 7   | 0,009 | S    |
| Cl (L/h)                      | 65,67                 | 1   | 7   | 0,000 | S    |

**Cuadro 5.68** Prueba de Levene de los parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 9 y 11.

| Fuente de variación       | Grupos 11 y 9. |    |                  | ANOVA test |        |     |
|---------------------------|----------------|----|------------------|------------|--------|-----|
|                           | SS             | GL | Media cuadrática | F          | Probab | Sig |
| Cmax/D (L <sup>-1</sup> ) | 574,9          | 1  | 574,9            | 2,649      | 0,148  | NS  |
|                           | 1519,4         | 7  | 217,1            |            |        |     |
| Lambda (λ)                | 0,051          | 1  | 0,051            | 1,764      | 0,226  | NS  |
|                           | 0,203          | 7  | 0,029            |            |        |     |
| t1/2 λ (h)                | 0,222          | 1  | 0,222            | 1,016      | 0,347  | NS  |
|                           | 1,532          | 7  | 0,219            |            |        |     |
| MRT <sup>∞</sup> (h)      | 0,076          | 1  | 0,076            | 0,130      | 0,729  | NS  |
|                           | 4,113          | 7  | 0,588            |            |        |     |
| AUC <sup>∞</sup> /D (h/L) | 12,25          | 1  | 12,25            | 2,751      | 0,141  | NS  |
|                           | 31,19          | 7  | 4,455            |            |        |     |
| AUC%extrap                | 296,7          | 1  | 296,7            | 4,238      | 0,079  | NS  |
|                           | 490,1          | 7  | 70,02            |            |        |     |
| Vdextrap (L)              | 0,114          | 1  | 0,114            | 5,560      | 0,050  | NS  |
|                           | 0,144          | 7  | 0,021            |            |        |     |
| Vdee (L)                  | 0,346          | 1  | 0,346            | 13,04      | 0,009  | S   |
|                           | 0,186          | 7  | 0,027            |            |        |     |
| Cl (L/h)                  | 0,136          | 1  | 0,136            | 4,798      | 0,065  | NS  |
|                           | 0,199          | 7  | 0,028            |            |        |     |

**Cuadro 5.69** Anova de parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 11 y 9.

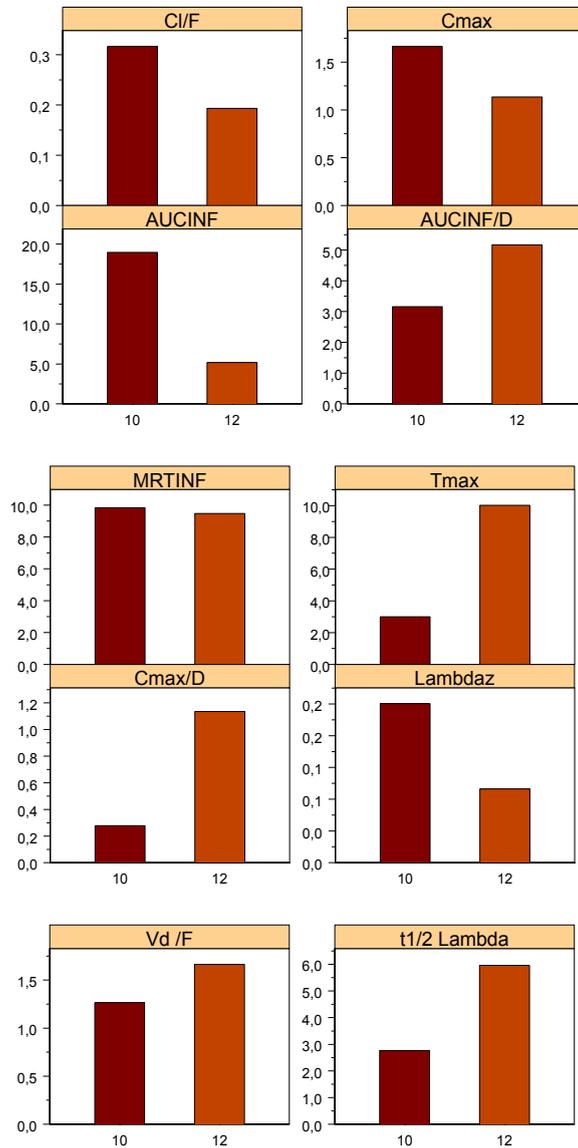
| Grupos 9 y 11.       |   | U Mann-Whitney test |                |            |        |                  |     |
|----------------------|---|---------------------|----------------|------------|--------|------------------|-----|
| Parámetro            | N | Rango medio         | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z      | Sign. Asintótica | Sig |
| Lambda ( $\lambda$ ) | 2 | 6,50                | 4,000          | 32,00      | -0,878 | 0,380            | NS  |
|                      | 7 | 4,57                |                |            |        |                  |     |
| AUC%extrap           | 2 | 1,50                | 0,000          | 3,000      | -2,049 | 0,040            | S   |
|                      | 7 | 6,00                |                |            |        |                  |     |
| Vdextrap (L)         | 2 | 7,50                | 2,000          | 30,00      | -1,464 | 0,143            | NS  |
|                      | 7 | 4,29                |                |            |        |                  |     |
| Cl (L/h)             | 2 | 7,00                | 3,000          | 31,00      | -1,171 | 0,242            | NS  |
|                      | 7 | 4,43                |                |            |        |                  |     |
| Vdee (L)             | 2 | 8,50                | 0,000          | 28,00      | -2,049 | 0,040            | S   |
|                      | 7 | 4,00                |                |            |        |                  |     |

**Cuadro 5.70** Test de Mann-Whitney aplicado a los parámetros farmacocinéticos de ritonavir de los grupos 11 y 9, para los que la prueba de Levene indicaba diferencias significativas.

❖ **GRUPOS 12, 10. Dosis 4,6 y 6 mg SQV PO (sólo y en combinación)**

| Variable                          | GRUPO 12: PO 4,6 mg RTV | GRUPO 10: PO 6 mg RTV y 24mg SQV |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
|                                   | Media                   | Media                            |
| Tmax (mg/L)                       | 10,017                  | 3,000                            |
| Cmax (mg/L)                       | 1,136                   | 1,664                            |
| Cmax/D ( $L^{-1}$ )               | 1,136                   | 0,277                            |
| Lambda ( $\lambda$ ) ( $h^{-1}$ ) | 0,116                   | 0,250                            |
| $t_{1/2} \lambda$ (h)             | 5,959                   | 2,767                            |
| MRT $^{\infty}$ (h)               | 9,479                   | 9,845                            |
| AUC $^{\infty}$ (mg h/L)          | 5,170                   | 18,946                           |
| AUC $^{\infty}$ /D (h/L)          | 5,170                   | 3,158                            |
| AUC%extrap                        | 6,855                   | 4,754                            |
| Vd/F (L)                          | 1,663                   | 1,264                            |
| Cl/F(L/h)                         | 0,193                   | 0,317                            |

**Cuadro 5.71** Parámetros farmacocinéticos de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 12 y 10.



**Figura 5.22** Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos medios de ritonavir tras el tratamiento no compartimental de los grupos 10 y 12.

### 5.3.1.3 Determinación de la biodisponibilidad

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el cálculo de la biodisponibilidad en magnitud absoluta y relativa para los dos fármacos tras el análisis farmacocinético no compartimental, siguiendo el método descrito en el *epígrafe 4.7.3*.

En el *cuadro 5.72* se exponen los valores de AUC medios obtenidos para las distintas dosis administradas de saquinavir, sólo y en combinación, por vía oral e intravenosa mediante el análisis no compartimental de suma de trapecios y los valores de biodisponibilidad oral absoluta, calculada para cada una de las dosis administradas tomando como referencia cada vez una de las dosis administrada por vía intravenosa.

En el *cuadro 5.73* se muestran los valores de AUC medios obtenidos para las distintas dosis administradas de saquinavir por vía intraperitoneal e intravenosa mediante el análisis no compartimental de suma de trapecios y los valores de biodisponibilidad intraperitoneal absoluta, calculada para cada una de las dosis administradas tomando como referencia cada vez una de las dosis administrada por vía intravenosa.

El *cuadro 5.74*, muestra los valores de AUC medios obtenidos para las distintas dosis administradas de saquinavir por vía oral e intraperitoneal mediante el análisis no compartimental y los valores de biodisponibilidad relativa de la administración oral respecto a la intraperitoneal.

| BIODISPONIBILIDAD ORAL ABSOLUTA (F%) |               |                           |                    |                    |                                      |
|--------------------------------------|---------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|
|                                      | GRUPO IV      | G1<br>(48mg<br>perfusión) | G2<br>(24mg bolus) | G3<br>(12mg bolus) | G9 (24mg SQV<br>+ RTV;<br>perfusión) |
| GRUPO ORAL                           | AUC/D no comp | 2,639±0,870               | 1,596±0,427        | 1,450±0,517        | 10,984                               |
| G4 (48mg)                            | 0,141±0,058   | 5,342                     | 8,832              | 9,719              |                                      |
| G5 (24 mg)                           | 0,416         | 15,78                     | 26,08              | 28,70              |                                      |
| G6 (12 mg)                           | 0,392±0,200   | 14,86                     | 24,58              | 27,04              |                                      |
| G10 (24mg<br>SQV + RTV)              | 6,603         | 250,2                     | 413,7              | 455,3              | 60,11                                |

**Cuadro 5.72** Biodisponibilidad absoluta en magnitud por vía oral de saquinavir, calculada a partir de los valores medios de AUC no compartimental corregidos para la dosis de los grupos IV y PO.

| BIODISPONIBILIDAD IP (F%) |               |                           |                    |                     |
|---------------------------|---------------|---------------------------|--------------------|---------------------|
|                           | GRUPO IV      | G1<br>(48mg<br>perfusión) | G2<br>(24mg bolus) | G3<br>(12 mg bolus) |
| GRUPO IP                  | AUC/D no comp | 2,639±0,870               | 1,596±0,427        | 1,450±0,517         |
| G7 (24mg)                 | 1,316         | 49,88                     | 82,48              | 90,76               |
| G8 (12 mg)                | 2,476         | 93,85                     | 155,2              | 170,7               |

**Cuadro 5.73** Biodisponibilidad absoluta en magnitud por vía intraperitoneal de saquinavir, calculada a partir de los valores medios de AUC no compartimental corregidos para la dosis de los grupos IV e IP.

| BIODISPONIBILIDAD RELATIVA (F%) |               |             |           |             |
|---------------------------------|---------------|-------------|-----------|-------------|
|                                 | GRUPO ORAL    | G4 (48mg)   | G5 (24mg) | G6 (12mg)   |
| GRUPO IP                        | AUC/D no comp | 0,141±0,058 | 0,416     | 0,392±0,200 |
| G7 (24mg)                       | 1,316         | 10,71       | 31,62     | 29,80       |
| G8 (12 mg)                      | 2,476         | 5,692       | 16,81     | 15,84       |

**Cuadro 5.74** Biodisponibilidad relativa en magnitud de saquinavir, calculada a partir de los valores medios de AUC no compartimental corregidos para la dosis de los grupos PO e IP.

En el *cuadro 5.75* se exponen los valores de AUC medios obtenidos para la dosis administrada por vía oral e intravenosa de ritonavir, sólo y en

combinación, mediante el análisis no compartimental de suma de trapecios y los valores de biodisponibilidad oral absoluta correspondientes.

| BIODISPONIBILIDAD ORAL (F%) |               |                     |                                 |
|-----------------------------|---------------|---------------------|---------------------------------|
|                             | GRUPO IV      | G11<br>(3 mg bolus) | G9 (6 mg RTV+SQV;<br>perfusión) |
| GRUPO PO                    | AUC/D no comp | 6,093±1,971         | 3,286±2,809                     |
| G12 (4.6 mg)                | 5,170         | 84,84               |                                 |
| G10 (6mg RTV+SQV)           | 3,158         | 51,82               | 96,08                           |

**Cuadro 5.75** Biodisponibilidad oral absoluta en magnitud de ritonavir, calculada a partir de los valores medios de AUC no compartimental corregidos para la dosis de los grupos PO e IV.

### 5.3.2 Análisis compartimental. Modelo no lineal de efectos mixtos

#### 5.3.2.1 Modelo estructural. SAQUINAVIR

El modelado farmacocinético se ha abordado de manera secuencial, implementando mayor grado de complejidad en el modelo escogido y observando si se mejora el ajustado obtenido.

En primer lugar se desarrollaron modelos empíricos basados en los modelos farmacocinéticos lineales clásicos bi y tricompartmental, que consideraban los mismos o distintos valores para los distintos parámetros farmacocinéticos, para ajustar sólo los datos intravenosos de los grupos 1, 2, 3 y 9 (Etapa 1). En el *cuadro 5.76* se muestra algunos de los modelos desarrollados, indicando el número de parámetros estimados, así como si se consideraban los mismos parámetros para todos los grupos, la subrutina utilizada, el número de omegas estimadas en la matriz de covarianza y la función mínima objetivo. Cuando se ha considerado diferentes valores de un mismo parámetro para los distintos grupos, en general se ha parametrizado

mediante un factor empírico que multiplica al valor del parámetro para cada grupo. Este factor se ha denominado “F” seguido del parámetro y el grupo al cuál se refiere.

| Modelo             | Parámetros (N total)   | N IIV | MVOF     |
|--------------------|--|-------|----------|
| IV003<br>(ADVAN3)  | Cl, k12, k21, Vc. <b>(4)</b>                                     | 3     | 620,169  |
| IV006<br>(ADVAN3)  | Cl (4), k12, k21, Vc. <b>(7)</b>                                 | 3     | 492, 139 |
| IV008<br>(ADVAN3)  | Cl, k12, k21, Vc (4). <b>(7)</b>                                 | 3     | 590,954  |
| IV009<br>(ADVAN3)  | Cl (4), k12, k21, Vc (FV <sub>C<sub>G9</sub></sub> ). <b>(8)</b> | 3     | 492,107  |
| IV012<br>(ADVAN3)  | Cl (4), k12, k21, Vc (4). <b>(10)</b>                            | 3     | 487,607  |
| IV023<br>(ADVAN3)  | Cl(4), k12 (4), k21, Vc. <b>(10)</b>                             | 3     | 492,438  |
| IV051<br>(ADVAN3)  | Cl(FCl <sub>G9</sub> ), k12, k21, Vc (4). <b>(8)</b>             | 3     | 538,146  |
| IV004<br>(ADVAN11) | Cl, k12, k21, k13, k31,Vc. <b>(6)</b>                            | 3     | 604,358  |
| IV025<br>(ADVAN11) | Cl(FCl <sub>G9</sub> ), k12, k21, k13, k31,Vc. <b>(7)</b>        | 3     | 548,491  |

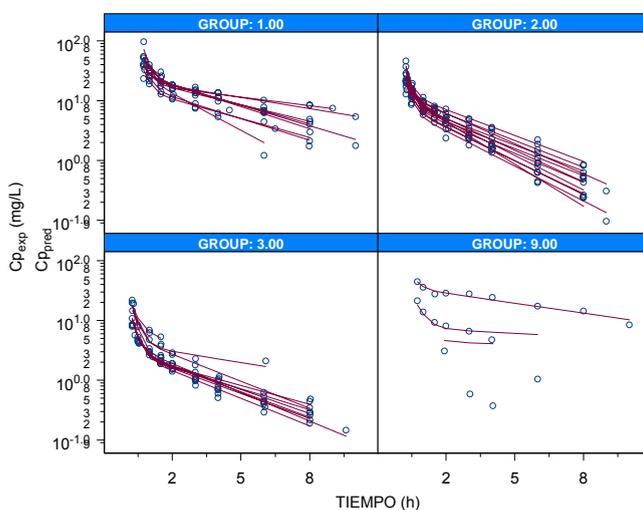
**Cuadro 5.76** Modelos lineales probados en el ajustado de datos de SQV IV, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

En el *cuadro 5.77* se muestra los parámetros obtenidos para el modelo **IV012** y la *figura 5.23* muestra la bondad de ajuste del modelo a los datos experimentales.

| Modelo: IV012 (ADVAN3)   |       |       | FMO: 487,607     |       |             |
|--------------------------|-------|-------|------------------|-------|-------------|
| Parámetro                | EE %  |       | IIV (ω)          | EE %  |             |
| Cl <sub>(G1)</sub> (L/h) | 0,373 | 10,90 | ω <sub>Cl</sub>  | 0,296 | 33,80       |
| FCl <sub>(G2)</sub>      | 1,860 | 12,30 | ω <sub>k12</sub> | 0     | 0           |
| FCl <sub>(G3)</sub>      | 1,500 | 21,90 | ω <sub>k21</sub> | 0,381 | 67,00       |
| FCl <sub>(G9)</sub>      | 0,277 | 18,30 | ω <sub>Vc</sub>  | 0,404 | 40,10       |
| K12 (h <sup>-1</sup> )   | 2,050 | 18,30 |                  |       |             |
| K21 (h <sup>-1</sup> )   | 0,779 | 9,600 | <b>σ exp</b>     |       | <b>EE %</b> |

|                 |       |       |          |       |       |
|-----------------|-------|-------|----------|-------|-------|
| $Vc_{(G1)}$ (L) | 0,316 | 31,20 | $\sigma$ | 0,198 | 20,40 |
| $FVc_{(G2)}$    | 1,200 | 29,00 |          |       |       |
| $FVc_{(G3)}$    | 1,370 | 29,40 |          |       |       |
| $FVc_{(G9)}$    | 1,140 | 33,20 |          |       |       |

**Cuadro 5.77** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo IV012 a los datos intravenosos de saquinavir de los grupos 1,2,3 y 9. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.



**Figura 5.23** Representación gráfica de las concentraciones experimentales ( $C_{p_{exp}}$ ) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas ( $C_{p_{pred}}$ ) por el modelo IV012 tras ajustarlo a los datos intravenosos de saquinavir de los grupos 1,2,3 y 9.

A continuación, teniendo en cuenta la información adquirida previamente, que indicaba pérdida de linealidad al menos en la eliminación, se procedió a evaluar los posibles mecanismos implicados en el proceso de disposición del fármaco. Para ello se desarrollaron modelos mecanicistas. En el *cuadro 5.78* se muestra algunos de los modelos testados a tal efecto. En aquellos modelos en los que para el grupo 9 se debía tener en cuenta una posible interacción, se ha parametrizado mediante un factor empírico, al

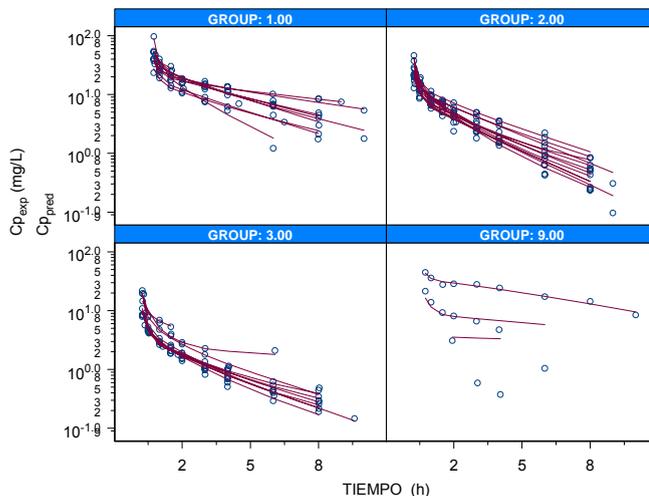
igual que se hacía en pasos anteriores. En el *cuadro 5.79* y *figura 5.24* se muestra los valores de los parámetros obtenidos tras ajustar el modelo **IV034** y la bondad de ajuste a los datos experimentales, respectivamente.

| Modelo            | Parámetros y comentarios   | N parámetros | N IIV | MVOF    |
|-------------------|--|--------------|-------|---------|
| IV013<br>(ADVAN6) | Vm, Km , k12, k21, Vc  | 5            | 3     | 604,875 |
| IV015<br>(ADVAN6) | Vm, Km, F <sub>KmG9</sub> , k12, k21, Vc<br>(MM eliminación + libertad G9)   | 6            | 3     | 543,512 |
| IV017<br>(ADVAN6) | Cl, Vm, Km, F <sub>KmG9</sub> , k12, k21, Vc<br>(eliminación combinada)  | 7            | 3     | 538,665 |
| IV027<br>(ADVAN6) | Vm, Km , k12, k21, k13,k31, Vc   | 7            | 4     | 601,196 |
| IV028<br>(ADVAN6) | Vm, Km, F <sub>KmG9</sub> , k12, k21, k13,k31, Vc<br>(MM eliminación + libertad G9)  | 8            | 4     | 514,891 |
| IV034<br>(ADVAN9) | Vm, Km, F <sub>KmG9</sub> , k12, k21, Vc, Kb, Ku, QMA<br>(unión dinámica a proteínas pl. + MM eliminación)   | 9            | 6     | 483,533 |
| IV039<br>(ADVAN9) | Vm, Km , F <sub>KmG9</sub> ,k12, k21, k13,k31, Vc<br>(MM metabolismo y efflux . Modelo hepatocito)   | 8            | 5     | 542,145 |
| IV044<br>(ADVAN9) | Vm, Km, k12, k21, Vc, Kb, F <sub>KbG9</sub> , Ku, QMA<br>(unión dinámica a proteínas pl.+libertad KbG9)  | 9            | 5     | 493,255 |
| IV049<br>(ADVAN9) | Vm, Km, F <sub>KmG9</sub> ,k12, k21, k13,k31, Vc, Kb, Ku, QMA<br>(unión dinámica a proteínas pl.+ metabolismo saturable desde el compartimento central)  | 11           | 5     | 519     |
| IV054<br>(ADVAN9) | CLi, Km, F <sub>KmG9</sub> ,k12, k21, k14,k41, Vc, Kb, Ku, QMA<br>(unión dinámica a proteínas pl.+ metabolismo saturable desde el compartimento central) | 9            | 6     | 516     |

**Cuadro 5.78** Modelos no lineales probados en el ajustado de datos de SQV IV, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

| Modelo: IV034 (ADVAN9) |          | FMO: 483,533                   |          |
|------------------------|----------|--------------------------------|----------|
| Parámetro              |          | IIV ( $\omega$ )               |          |
| Vm (mg/h)              | 45,2     | $\omega_{Vm}$                  | 6,56E-06 |
| Km (mg/L)              | 39       | $\omega_{km}$                  | 0        |
| FKm <sub>(G9)</sub>    | 5,09     | $\omega_{k12}$                 | 0        |
| K12 (h <sup>-1</sup> ) | 2,77     | $\omega_{k21}$                 | 0,407    |
| K21 (h <sup>-1</sup> ) | 1,15     | $\omega_{Vc}$                  | 0,611    |
| Vc (L)                 | 0,267    | $\omega_{kb}$                  | 0,034    |
| Kb (L/mg-h)            | 9,18E-06 | $\omega_{ku}$                  | 0,668    |
| Ku (h <sup>-1</sup> )  | 0,169    | $\omega_{QMA}$                 | 0,616    |
| QMA (mg)               | 3710     | <b><math>\sigma</math> exp</b> |          |
|                        |          | $\sigma$                       | 0,143    |

**Cuadro 5.79** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo IV034 a los datos intravenosos de saquinavir de los grupos 1,2,3 y 9. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.



**Figura 5.24** Representación gráfica de las concentraciones experimentales ( $C_{p,exp}$ ) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas ( $C_{p,pred}$ ) por el modelo IV034 tras ajustarlo a los datos intravenosos de saquinavir de los grupos 1,2,3 y 9.

Posteriormente, se incorporan los datos de saquinavir obtenidos tras la administración intraperitoneal, grupos 7 y 8 (etapa 2). Partiendo del

modelo desarrollado para describir los procesos de disposición (IV034) se exploran diversas posibilidades para los procesos de absorción tras la administración intraperitoneal. En un primer momento se mantienen fijos los parámetros de disposición a los valores obtenidos con los datos intravenosos. Algunas de las posibilidades consideradas de una forma empírica, se muestran en el *cuadro 5.80*. Y en el *cuadro 5.81*, se muestran las posibilidades desarrolladas para modelar la absorción intraperitoneal desde un punto de vista mecanístico, teniendo en cuenta la información del análisis empírico que indicaba pérdida de linealidad.

| Modelo            | Parámetros y comentarios  | N parámetros | N IIV | MVOF  |
|-------------------|---|--------------|-------|-------|
| IP005<br>(ADVAN9) | Cl(F <sub>ClG9</sub> ), k <sub>12</sub> , k <sub>21</sub> , V <sub>c</sub> , KaIP, F5                     | 7            | 5     | 523,7 |
| IP008<br>(ADVAN9) | Cl(F <sub>ClG1</sub> , F <sub>ClG9</sub> ), k <sub>12</sub> , k <sub>21</sub> , V <sub>c</sub> , KaIP, F5 | 8            | 5     | 474,5 |
| IP010<br>(ADVAN9) | KaIP, F5<br>(basado en IV034)   | 11           | 7     | 469,1 |
| IP019<br>(ADVAN9) | KaIP(2), F5(2, G8 FIX=1)<br>(basado en IV034)   | 12           | 6     | 357,9 |

**Cuadro 5.80** Modelos semiempíricos probados en el ajustado de datos de SQV IV e IP, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

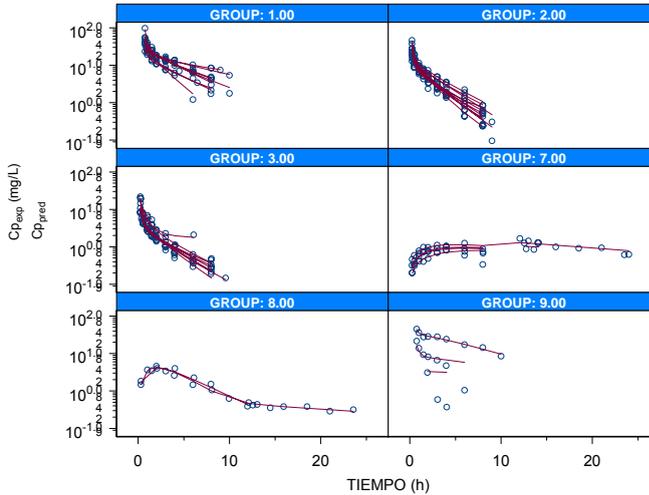
| Modelo            | Parámetros y comentarios  | N parámetros | N IIV     | MVOF  |
|-------------------|---|--------------|-----------|-------|
| IP025<br>(ADVAN9) | KaIP, F5(2, G8 FIX=1), 2R5;<br>Absorción de orden cero<br>(basado en IV034)                             | 13           | Restring. | 351,0 |
| IP029<br>(ADVAN9) | KaIP, BIO(fix), KD, Frac(2);<br>Disolución como factor limitativo de la absorción<br>(basado en IV034)  | 13           | Restring. | 361,4 |
| IP035<br>(ADVAN9) | KaIP, BIO(fix), KD (2), Frac;<br>Disolución como factor limitativo de la absorción<br>(basado en IV034) | 14           | Restring. | 334,8 |

**Cuadro 5.81** Modelos no lineales probados en el ajustado de datos de SQV IV e IP, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

En el *cuadro 5.82* y *figura 5.25* se muestra los valores de los parámetros obtenidos tras ajustar el modelo **IP035** y la bondad de ajuste a los datos experimentales, respectivamente.

| Modelo: IP035 (ADVAN9) |          | FMO: 334,773                   |         |
|------------------------|----------|--------------------------------|---------|
| Parámetro              |          | IIV ( $\omega$ )               |         |
| Vm (mg/h)              | 56,7     | $\omega_{Vm}$                  | 1,8E-04 |
| Km (mg/L)              | 57,7     | $\omega_{km}$                  | 0       |
| FKm <sub>(G9)</sub>    | 4,88     | $\omega_{k12}$                 | 0       |
| K12 (h <sup>-1</sup> ) | 2,77     | $\omega_{k21}$                 | 0,391   |
| K21 (h <sup>-1</sup> ) | 1,12     | $\omega_{Vc}$                  | 0,708   |
| Vc (L)                 | 0,244    | $\omega_{kb}$                  | 0,352   |
| Kb (L/mg-h)            | 2,71E-06 | $\omega_{ku}$                  | 0,940   |
| Ku (h <sup>-1</sup> )  | 0,137    | $\omega_{QMA}$                 | 0,557   |
| QMA (mg)               | 9720     | <b><math>\sigma</math> exp</b> |         |
| KalP (h-1)             | 1,05     | $\sigma_1$<br>(CV)             | 0,134   |
| BIO                    | 1        |                                |         |
| FR8                    | 0,951    |                                |         |
| KDG7                   | 0,0436   | $\sigma_1$<br>(SD)             | 0,031   |
| KDG8                   | 0,596    | (mg/L)                         |         |

**Cuadro 5.82** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo IP035 a los datos intravenosos e intraperitoneales de saquinavir de los grupos 1,2,3,7,8 y 9. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.



**Figura 5.25** Representación gráfica de las concentraciones experimentales ( $C_{p_{exp}}$ ) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas ( $C_{p_{pred}}$ ) por el modelo IP035 tras ajustarlo a los datos intravenosos e intraperitoneales de saquinavir de los grupos 1,2,3,7,8 y 9.

A continuación, se incorporan los datos de saquinavir obtenidos tras la administración oral, grupos 4, 5 y 6 (etapa 3). Partiendo del modelo desarrollado, IP035, se exploran los procesos de absorción tras la administración oral. En un primer momento se mantienen fijos los parámetros de disposición y de incorporación intraperitoneal a los valores obtenidos en la etapa 2. Algunas de las posibilidades consideradas de una forma empírica, se muestran en el *cuadro 5.83*. Los resultados obtenidos indican que el modelo que mejor ajusta a los datos debe considerar no linealidad en la absorción oral.

| Modelo        | Parámetros y comentarios                             | N parámetros | N IIV     | MVOF    |
|---------------|--|--------------|-----------|---------|
| o021 (ADVAN9) | Ka, F4; (basado en IP035)                            | 2            | Restrिंग. | 192,502 |
| o023 (ADVAN9) | Ka(FKaG4), F4(F <sub>F</sub> 4G4); (basado en IP035) | 4            | Restrिंग. | 43,369  |
| o024 (ADVAN9) | Ka(FKaG4 ,FKaG5), F4(1); (basado en IP035)           | 4            | Restrिंग. | 164,971 |
| o029 (ADVAN9) | Ka(3), F4(3); (basado en IP035)                      | 6            | Restrिंग. | 38,003  |

**Cuadro 5.83** Modelos semiempíricos probados en el ajustado de datos de SQV IV, IP y oral, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

Para llevar a cabo el estudio desde un punto de vista mecánico, se desarrollan nuevos modelos en los que se consideran nuevos compartimentos de tránsito intestinal y se comienza a diferenciar del compartimento central posibles compartimentos implicados en procesos de efecto de primer paso. De este modo, en primer lugar se diferencia un compartimento que engloba el espacio portal, enterocito y hepatocito, pero que desde un punto de vista fisiológico no es del todo real, ya que la administración intraperitoneal debería alcanzar directamente el hepatocito y no el compartimento central, ni el enterocito. A modo de ejemplo, en el *cuadro 5.84* se muestra alguno de los modelos probados en los que se incluye el compartimento “espacio portal”, cuya estructura base corresponde a la 5, que puede observarse en el *epígrafe 4.7.2.1.2*, en el *cuadro 4.10*, modelo **o030**.

| Modelo           | Parámetros y comentarios                           | N<br>parametros | N<br>IIV  | MVOF  |
|------------------|--|-----------------|-----------|-------|
| o031<br>(ADVAN9) | Ka, Kt, Kms, Vms, K17, K71 (basado en IP035)       | 6               | Restring. | 211,2 |
| o035<br>(ADVAN9) | Ka, Kt, Kms, Vms, K17, K71, F4 (basado en IP035)   | 7               | Restring. | 177,5 |
| o036<br>(ADVAN9) | Ka1, Ka2, Kt, Kms, Vms, K17, K71 (basado en IP035) | 7               | Restring. | 163,2 |

**Cuadro 5.84** Modelos probados en el ajustado de datos de SQV IV, IP y oral, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

Por ello, se han desarrollado modelos que distinguen, entre otros, estos tres compartimentos: central, hepatocito y enterocito; llegando la administración IP al compartimento hepatocito. Estos modelos son fisiológicamente más reales pero no ajustan bien los datos. La estructura

base corresponde a la 6, que puede observarse en el *epígrafe 4.7.2.1.2*, en el *cuadro 4.10*, modelo o037.

Llegados a este punto, debido a la complejidad que empiezan a adquirir los modelos, se editan en términos más bien fisiológicos, sirviéndonos de expresiones de aclaramientos, flujos y volúmenes para los distintos compartimentos. Y se desarrollan nuevos modelos considerando que los procesos metabólicos también ocurren en enterocito.

Debido a los cambios realizados a nivel de disposición con la incorporación de estos nuevos compartimentos, se realiza un proceso de retroalimentación, en el que se vuelve a las etapas anteriores y se ajustan los nuevos modelos a los datos intravenosos e intraperitoneales, con los cambios incorporados. En primer lugar, con el fin de evaluar como afectan estos cambios a la bondad del ajuste de estos datos experimentales y por otra parte, para obtener valores de los parámetros de disposición y de absorción intraperitoneal, que pueden fijarse para facilitar la exploración de los procesos de absorción oral. La estructura base de estos modelos puede observarse en el *epígrafe 4.7.2.1.2*, en el *cuadro 4.9 y 4.10*, estructuras 9 (modelo IV060) y estructura 4 (modelo IP052), respectivamente.

A continuación, en el *cuadro 5.85*, se muestra las posibilidades desarrolladas para modelar la absorción oral desde un punto de vista mecanicista, teniendo en cuenta la información adquirida en las etapas previas de retroalimentación y la información del análisis empírico que indicaba pérdida de linealidad. La estructura base de los modelos desarrollados correspondería a la 7, que puede observarse en el *epígrafe 4.7.2.1.2*, en el *cuadro 4.10*, en concreto se muestra la del modelo **o049**.

| Modelo           | Parámetros y comentarios   | Mensaje <sup>(*)</sup> | N<br>parametros | N<br>IIV  | MVOF    |
|------------------|--|------------------------|-----------------|-----------|---------|
| o049<br>(ADVAN9) | Ka1, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>2 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 8; absorción completa<br>(basado en IP052)                | S-U                    | 8               | Restrिंग. | 229,62  |
| o055<br>(ADVAN9) | Ka1, Ka2, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>2 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 8; absorción completa<br>(basado en IP052)           | S-A                    | 9               | Restrिंग. | 174,389 |
| o058<br>(ADVAN9) | Ka1, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>2 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 4 y 8; absorción completa<br>(basado en IP052)            | S-A                    | 8               | Restrिंग. | 229,671 |
| o059<br>(ADVAN9) | Ka1, Ka2, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>2 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 4 y 8; absorción completa<br>(basado en IP052)       | S-OK                   | 9               | Restrिंग. | 174,39  |
| o061<br>(ADVAN9) | Ka1, Ka2, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>2 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 8; absorción incompleta<br>(basado en IP052)         | S-OK                   | 9               | Restrिंग. | 214,057 |
| o073<br>(ADVAN9) | Ka1, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise, Kmse<br>3 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 8 y 10; absorción completa<br>(basado en IP052)           | S-A                    | 8               | Restrिंग. | 229,63  |
| o088<br>(ADVAN9) | Ka1, Ka2, Ka3, Kt, Cli, Km, F <sub>KmG9</sub> , Clie, Clise,<br>Kmse<br>3 compartimentos de tránsito intestinal.<br>Secreción a comp. 8; absorción incompleta<br>(basado en IP052) | S-A                    | 10              | Restrिंग. | 193,062 |

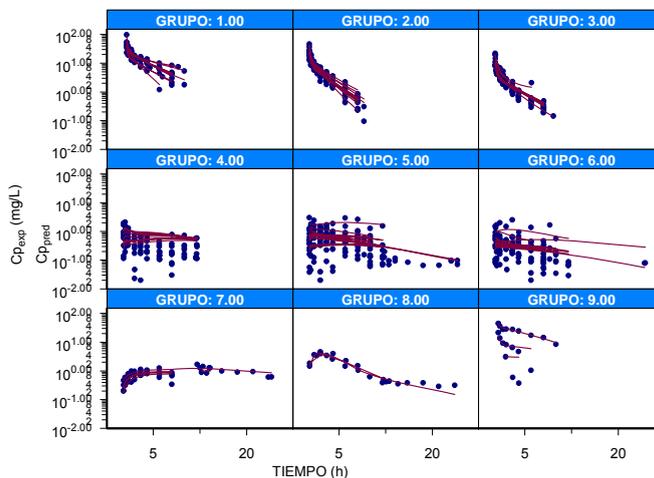
**Cuadro 5.85** Modelos no lineales probados en el ajustado de datos de SQV IV, IP y PO, parámetros estimados y función objetivo obtenida. (IP052: ver abreviaturas). <sup>(\*)</sup>

Mensaje del Nonmem (la 1ª letra se refiere a la convergencia del proceso de iteración de los parámetros; la 2ª letra se refiere al cálculo de la matriz de covarianza): S (successful, converge exitosamente), T (Termina con errores de redondeo), A (cálculo de la covarianza abortado), N (no estimable), U (no se obtiene la matriz de covarianza), OK (calcula la matriz de covarianza).

En el *cuadro 5.86* y *figura 5.26* se muestra los valores de los parámetros obtenidos tras ajustar el modelo **o055** a los datos experimentales y la bondad de ajuste, respectivamente.

| Modelo: o055 (ADVAN9)                                  |           | FMO: 174,389      |       |
|--|-----------|-------------------|-------|
| Parámetro  |           | IIV ( $\omega$ )  |       |
| Cl <sub>i</sub> (L/h)                                  | 0,41      | $\omega_{Cl_i}$   | 0,00  |
| K <sub>m</sub> = K <sub>m<sub>e</sub></sub> (mg/L)     | 72,9      | $\omega_{k_m}$    | 0,00  |
| FK <sub>m<sub>i</sub>(<math>\omega_{q_1}</math>)</sub> | 5,15      | $\omega_{k_{12}}$ | 0,00  |
| K <sub>12</sub> (h <sup>-1</sup> )                     | 2,80      | $\omega_{k_{21}}$ | 0,375 |
| K <sub>21</sub> (h <sup>-1</sup> )                     | 1,14      | $\omega_{V_c}$    | 0,73  |
| V <sub>c</sub> (L)                                     | 0,24      | $\omega_{K_b}$    | 0,404 |
| K <sub>b</sub> (L/mg·h)                                | 2,00 E-06 | $\omega_{K_u}$    | 0,784 |
| K <sub>u</sub> (h <sup>-1</sup> )                      | 0,153     | $\omega_{QMA}$    | 0,508 |
| QMA (mg)   | 12900     | $\omega_{KaIP}$   | 1,658 |
| Ka <sub>IP</sub> (h <sup>-1</sup> )                    | 1,090     | $\omega_{KD}$     | 0,00  |
| BIO <sub>IP</sub>                                      | 1         | $\sigma$ exp      |       |
| FR8  | 0,972     |                   |       |
| KDG7 (h <sup>-1</sup> )                                | 0,0398    | $\sigma_1$ (CV)   | 0,122 |
| KDG8   | 0,482     |                   |       |
| Ka (h <sup>-1</sup> )                                  | 0,285     | $\sigma_1$ (SD)   | 0,294 |
| Kt (h <sup>-1</sup> )                                  | 1,390     | (mg/L)            |       |
| Qh (L/h)   | 1,15      |                   |       |
| Vh (L)   | 0,01      |                   |       |
| Ve (L)   | 0,006     |                   |       |
| Cl <sub>ie</sub> (L/h)                                 | 4,370     |                   |       |
| Cl <sub>ise</sub> (L/h)                                | 0,875     |                   |       |
| K <sub>m<sub>se</sub></sub> (mg/L)                     | 2,59E-08  |                   |       |
| Ka <sub>2</sub> (h <sup>-1</sup> )                     | 0,096     |                   |       |

**Cuadro 5.86** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo o055 a los datos IV, IP y PO de saquinavir de los grupos 1,2,3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.



**Figura 5.26** Representación gráfica de las concentraciones experimentales ( $C_{p_{exp}}$ ) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas ( $C_{p_{pred}}$ ) por el modelo o055 tras ajustarlo a los datos IV, IP y PO de saquinavir de los grupos 1,2,3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9.

Por último, a se incorporan al análisis los datos experimentales del grupo 10 (etapa 4) y basándose en el modelo o055 se desarrollan modelos que consideran una posible interacción entre los fármacos en los procesos de metabolismo hepático e intestinal y/o secreción intestinal. Esta interacción se implementa en los modelos mediante un factor empírico “F” que multiplica a la constante de Michaelis-Menten,  $K_m$ , del proceso correspondiente, para el grupo 10, al igual que se hacía hasta ahora para el grupo 9.

Finalmente, en el *cuadro 5.87*, se muestran los resultados obtenidos tras efectuar el ajuste de las concentraciones plasmáticas experimentales a los diferentes tiempos de toma de muestras de las 94 ratas de los 10 grupos ensayados para saquinavir, mediante el método no lineal de efectos mixtos utilizando como modelo de ajuste el **o055f**. Se presentan las thetas o

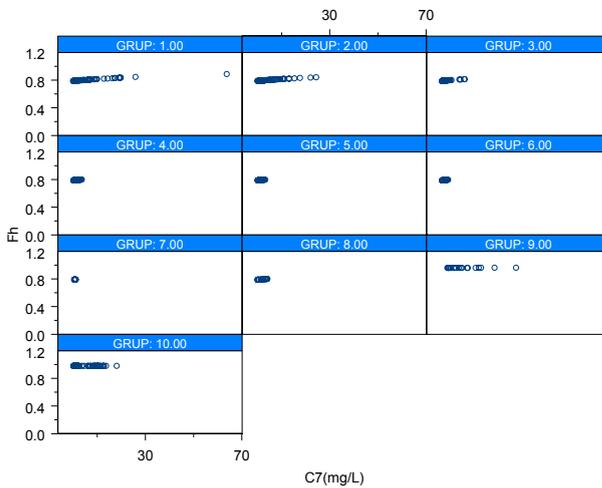
parámetros farmacocinéticos calculados, así como las desviaciones estándar de los parámetros de efecto aleatorio interindividual para aquellos parámetros para los que se ha obtenido. Por otra parte se muestran las desviaciones estándar de epsilon, que se refieren al error residual.

| Modelo: o055f (ADVAN9)  |           | FMO: 195,353                   |       |
|-------------------------|-----------|--------------------------------|-------|
| Parámetro               |           | IIV ( $\omega$ )               |       |
| Cli (L/h)               | 0,31      | $\omega_{Cli}$                 | 0,909 |
| Km = Kme (mg/L)         | 72,0      | $\omega_{km}$                  | 0,00  |
| FKm <sub>(G9)</sub>     | 5,16      | $\omega_{k12}$                 | 0,00  |
| K12 (h <sup>-1</sup> )  | 2,80      | $\omega_{k21}$                 | 0,375 |
| K21 (h <sup>-1</sup> )  | 1,14      | $\omega_{Vc}$                  | 0,73  |
| Vc (L)                  | 0,241     | $\omega_{Kb}$                  | 0,404 |
| Kb (L/mg-h)             | 1,12 E-06 | $\omega_{Ku}$                  | 0,784 |
| Ku (h <sup>-1</sup> )   | 0,20      | $\omega_{QMA}$                 | 0,508 |
| QMA (mg)                | 21700     | $\omega_{KaIP}$                | 1,658 |
| KaIP (h <sup>-1</sup> ) | 1,090     | $\omega_{KD}$                  | 0,00  |
| BIO <sub>IP</sub>       | 1         | $\omega_{Ka1}$                 | 0,556 |
| FR8                     | 0,972     | $\omega_{Ka2}$                 | 0,593 |
| KDG7 (h <sup>-1</sup> ) | 0,0398    | $\omega_{KT}$                  | 6,099 |
| KDG8                    | 0,482     | $\omega_{Qh}$                  | 0,065 |
| Ka (h <sup>-1</sup> )   | 0,245     | $\omega_{Clie}$                | 0,917 |
| Kt (h <sup>-1</sup> )   | 0,583     | $\omega_{Clise}$               | 0,069 |
| Qh (L/h)                | 1,15      |                                |       |
| Vh (L)                  | 0,01      | <b><math>\sigma</math> exp</b> |       |
| Ve (L)                  | 0,006     | $\sigma_1$                     | 0,146 |
| Clie (L/h)              | 4,35      | (CV)                           |       |
| Clise (L/h)             | 2,83 E-06 |                                |       |
| Kmse (mg/L)             | 0,017     | $\sigma_1$                     | 0,235 |
| Ka2 (h <sup>-1</sup> )  | 0,166     | (SD)                           |       |
| FKm <sub>(G10)</sub>    | 10,2      | (mg/L)                         |       |

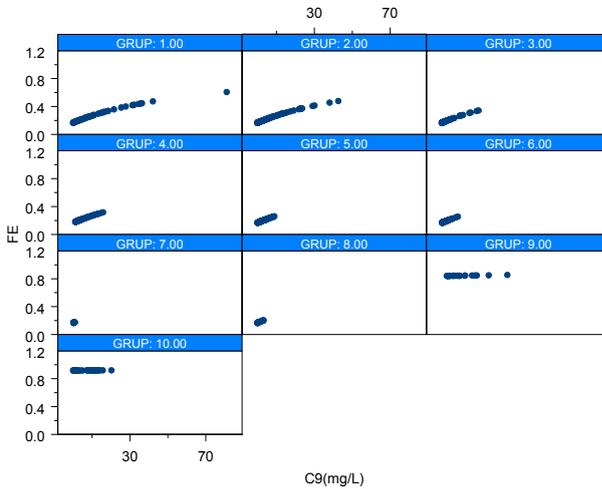
**Cuadro 5.87** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo o055f a los datos intravenosos, intraperitoneales y orales de saquinavir de los grupos 1-10. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo.

A continuación, las *figuras 5.27-5.30* muestran de qué modo las fracciones de dosis de fármaco que escapan de los procesos implicados en hígado y enterocito, son concentración dependiente, de acuerdo al modelo de elección.

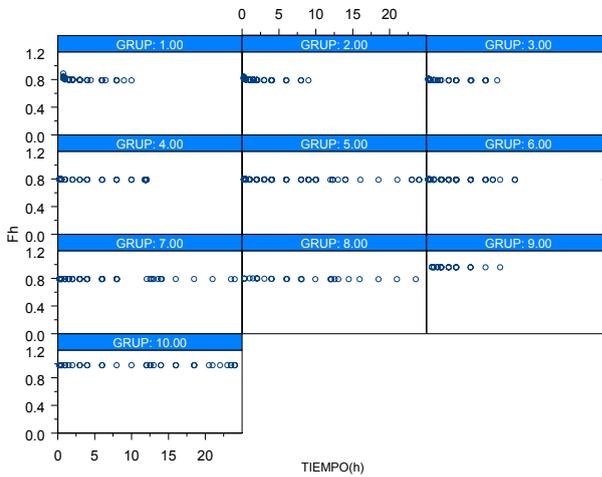
Las fracciones  $F_E$  y  $F_h$ , fracción que escapa de enterocito y hepatocito, respectivamente, se han calculado de acuerdo a las expresiones detalladas en el epígrafe 4.7.2.1.2, ecuaciones 4.25 y 4.33. Para ello se ha hecho uso de las concentraciones alcanzadas en el compartimento hepatocito ( $C_7$ ) y enterocito ( $C_9$ ) predichas por el modelo. En el caso de los grupos 9 y 10, se tiene en cuenta en las expresiones empleadas para definir los procesos metabólicos la interacción con ritonavir, de modo que se considera en las expresiones de  $Cl_{Ah}$  y  $Cl_{Ame}$  (ecuaciones 4.23 y 4.28) que la  $K_m$  del denominador es una constante aparente afectada por las concentraciones de ritonavir, y dado que no estamos modelando aún la interacción, de momento se implementa a través de los factores empíricos que multiplican a dicha  $K_m$  ( $FKm_{(G9)}$  y  $FKm_{(G10)}$ ).



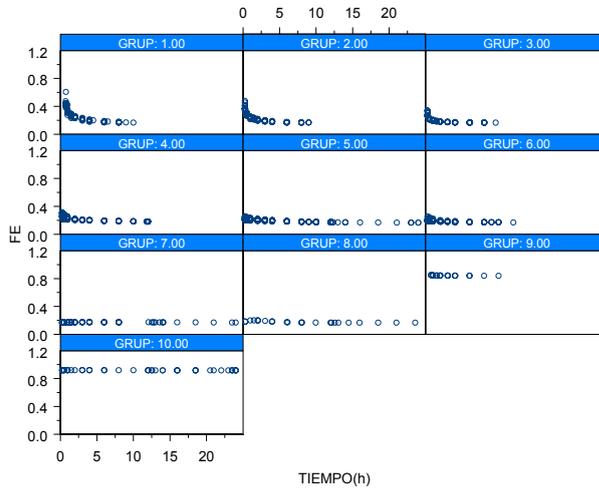
**Figura 5.27** Relación entre la fracción que escapa del hígado con la concentración en dicho compartimento.



**Figura 5.28** Relación entre la fracción que escapa del enterocito con la concentración en dicho compartimento.



**Figura 5.29** Evolución de la fracción que escapa del hepatocito en función del tiempo.



**Figura 5.30** Evolución de la fracción que escapa del enterocito en función del tiempo.

La figura 5.31 muestra el archivo control del modelo de elección.

```

$PROB  SQV IVIPO. 0055F
$INPUT VIA ID GRUP SGRU SSGR SSSG TIME AMT DV CMT MDV MDV2 RATE
      DRUG DOSI
$DATA  ..sqvivipo.5.csv
$SUBROUTINES ADVAN9 TOL=5
$MODEL COMP=(CP,DEFOBS)
      COMP=(PERI)
      COMP=(PROT)
      COMP=(OR1)
      COMP=(IP)  ;DISUELTO IP
      COMP=(PRECIP);SOLIDO IP
      COMP=(HEP) ;HEPATOCITO(PORTA)
      COMP=(OR2) ;TRAMO LUMEN
      COMP=(ENTER) ;ENTEROCITO

$PK

" FIRST
" COMMON/PRCOMG/IDUM1, IDUM2, IMAX, IDM4, IDUM5
" INTEGER IDUM1, IDUM2, IMAX, IDM4, IDUM5
" IMAX=700000000

GR1=0
GR2=0
GR3=0
GR9=0
GR7=0
GR8=0
GR4=0
GR5=0
GR6=0
GR10=0

IF(GRUP.EQ.1) GR1=1
IF(GRUP.EQ.2) GR2=1
IF(GRUP.EQ.3) GR3=1
IF(GRUP.EQ.9) GR9=1
IF(GRUP.EQ.7) GR7=1
IF(GRUP.EQ.8) GR8=1
IF(GRUP.EQ.4) GR4=1
IF(GRUP.EQ.5) GR5=1
IF(GRUP.EQ.6) GR6=1
IF(GRUP.EQ.10) GR10=1

; **DISPOSICION**

TVCLI=THETA(1)
CLI=TVCLI*EXP(ETA(1))
TVKM=THETA(5)
KM=TVKM*EXP(ETA(5))
KMA=KM*THETA(6)**GR9*THETA(24)**GR10
TVK12=THETA(2)
K12=TVK12*EXP(ETA(2))
TVK21=THETA(3)
K21=TVK21*EXP(ETA(3))
TVVC=THETA(4)
VC=TVVC*EXP(ETA(4))

; **PROTEINAS**

TVKB=THETA(7)
KB=TVKB*EXP(ETA(6))
TVKU=THETA(8)
KU=TVKU*EXP(ETA(7))
TVQMA=THETA(9)
QMA=TVQMA*EXP(ETA(8))
CMA=QMA/V

```

; \*\*IP\*\*

TVKAIP=THETA(10)  
 KAIP=TVKAIP\*EXP(ETA(9))  
 BIO=THETA(11)  
 FR8=THETA(12)  
 FR=FR8\*\*GR8\*((FR8+1)/2)\*\*GR7  
 F5=BIO\*(1-FR)  
 F6=BIO\*FR

; \*\*PRECIPITACION IP\*\*

TVKD=THETA(13)\*\*GR7\*THETA(14)\*\*GR8  
 KD=TVKD\*EXP(ETA(10))

; \*\*ORAL\*\*

TVKA1=THETA(15)  
 KA1=TVKA1\*EXP(ETA(11))  
 TVKA2=THETA(23)  
 KA2=TVKA2\*EXP(ETA(12))  
 TVKT=THETA(16)  
 KT=TVKT\*EXP(ETA(13))

; \*\*DISTRIBUCION\*\*

TVQH=THETA(17)  
 QH=TVQH\*EXP(ETA(14))

QAH=QH\*0.13  
 QE=QH\*0.87  
 VH=THETA(18)  
 VE=THETA(19)

; \*\*ESPECIALES METABOLISMO Y SECRECION\*\*

TVCLIE=THETA(20); CLI DEL ENTEROCITO(METABOLISMO)  
 CLIE=TVCLIE\*EXP(ETA(15))

KME=KM  
 KMEA=KMA  
 TVCLIS=THETA(21); CLI DEL ENTEROCITO(SECRECION)  
 CLISE=TVCLIS\*EXP(ETA(16))  
 KMSE=THETA(22)

; \*\*PARAMETROS DERIVADOS\*\*

S1=VC

\$DES

; \*\*DEFINICIONES\*\*

CU=A(1)/VC  
 CB=A(3)/VC  
 C7=A(7)/VH  
 C9=A(9)/VE

; \*\*DISTRIBUCION\*\*

BOUND=KB\*CU\*(CMA-CB)\*VC  
 UNBOU=KU\*CB\*VC  
 PERI=-K12\*A(1)+K21\*A(2)

; \*\*ABSORCION IP\*\*

VABIP=KAIP\*A(5)  
 VDISOL=KD\*A(6)

; \*\*ABSORCION ORAL\*\*

VAB49=KA1\*A(4)  
 VAB89=KA2\*A(8)  
 VTRAN=KT\*A(4)

; \*\*PRIMER PASO HEPAT Y ELIMINACION\*\*

CLO=CLI/(CLI+QH) ;CLO=CL\*QH/(CLI+QH)  
 CLA=CLO\*KM/(KMA+C7)  
 E=CLA ;E=CLA/QH  
 FH=1-E  
 PASOHE=-QH\*CU+QH\*C7\*FH

; \*\*PRIMER PASO INTESTINAL Y SECRECION\*\*

CLOE=CLIE/(CLIE+QE+CLISE); CLO DEL METABOLISMO EN ENTEROCITO  
 CLAME=CLOE\*KME/(C9+KMEA)

CLOSE=CLISE/(CLIE+QE+CLISE); CLO DE SECRECION EN ENTEROCITO  
 CLASE=CLOSE\*KMSE/(C9+KMSE)  
 EES=CLASE

VSECR=QE\*C9\*EES  
 EE=CLAME+CLASE; TASA DE EXTRACCION TOTAL DEL ENTEROCITO(METAB Y SECRECION)  
 FE=1-EE

DADT(1)=BOUND+UNBOU+PERI+PASOHE  
 DADT(2)= -PERI  
 DADT(3)= BOUND-UNBOU  
 DADT(4)= -VTRAN -VAB49  
 DADT(5)= VDISOL -VABIP  
 DADT(6)= -VDISOL  
 DADT(7)=QAH\*CU+QE\*C9\*FE-QH\*C7 +VABIP  
 DADT(8)= VTRAN -VAB89 +VSECR  
 DADT(9)=-QE\*C9+QE\*CU +VAB89 +VAB49

\$THETA

|                       |     |        |
|-----------------------|-----|--------|
| (0.000001,0.309,1000) |     | ;CLI   |
| (0.0,2.8,100)         | FIX | ;K12   |
| (0.0,1.14,100)        | FIX | ;K21   |
| (0.001,0.241,100)     | FIX | ;VC    |
| (0.0,72.2,100000)     |     | ;KM    |
| (0.0,5.16,100)        |     | ;GR9KM |
|                       |     |        |
| (0.0,0.000002,1000)   |     | ;KB    |
| (0.0,0.2,1000)        |     | ;KU    |
| (0.001,12500,100000)  |     | ;QMA   |
|                       |     |        |
| (0.0,1.09,1000)       | FIX | ;KAIP  |
| (0.0,1,1)             | FIX | ;BIO   |
| (0.0,0.972,1)         | FIX | ;FR8   |
| (0.0,0.0398,100)      | FIX | ;KD67  |
| (0.0,0.482,100)       | FIX | ;KD68  |
|                       |     |        |
| (0.0,0.245,1000)      |     | ;KA1   |
| (0.0,0.583,1000)      |     | ;KT    |
|                       |     |        |
| (0.0,1.15,1000)       | FIX | ;QH    |
| (0.0,0.010,1000)      | FIX | ;VH    |
| (0.0,0.006,1000)      | FIX | ;VE    |
|                       |     |        |
| (0.0,99.8,1000)       |     | ;CLIE  |
| (0.0,21.9,1000)       |     | ;CLISE |
| (0.0,0.00059,1000)    |     | ;KMSE  |
| (0.0,0.166,1000)      |     | ;KA2   |
| (0.0,10.2,100)        |     | ;G10KM |

\$OMEGA

|         |     |          |
|---------|-----|----------|
| 0.001   |     | ;CVCLI   |
| 0.00    | FIX | ;CVK12   |
| 0.141   | FIX | ;CVK21   |
| 0.533   | FIX | ;CVVC    |
| 0.00    | FIX | ;CVKM    |
|         |     |          |
| 0.163   | FIX | ;CVKB    |
| 0.615   | FIX | ;CVKU    |
| 0.258   | FIX | ;CVQMA   |
| 2.75    | FIX | ;CVKAIP  |
| 0.00    | FIX | ;CVKD    |
|         |     |          |
| 2.28    |     | ;CVKA1   |
| 2.28    |     | ;CVKA2   |
| 3.36    |     | ;CVKT    |
|         |     |          |
| 0.0043  | FIX | ;CVQH    |
|         |     |          |
| 0.00053 |     | ;CVCLIE  |
| 0.227   |     | ;CVCLISE |

```
$ERROR

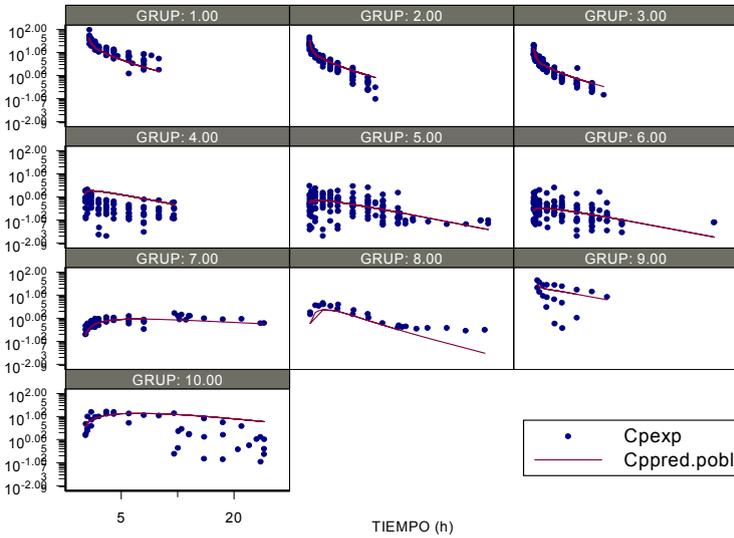
IPRE=(A(1)+A(3))/VC
Y=IPRE*EXP(EPS(1))+EPS(2)
IRES=DV-Y
PES=Y+0.000001
IWRE=IRES/PES
A1=A(1)
A3=A(3)
A4=A(4)
A5=A(5)
A6=A(6)
CC7=A(7)/VH
CC9=A(9)/VE

$$SIGMA .04 ;CV
        .01 ;SD

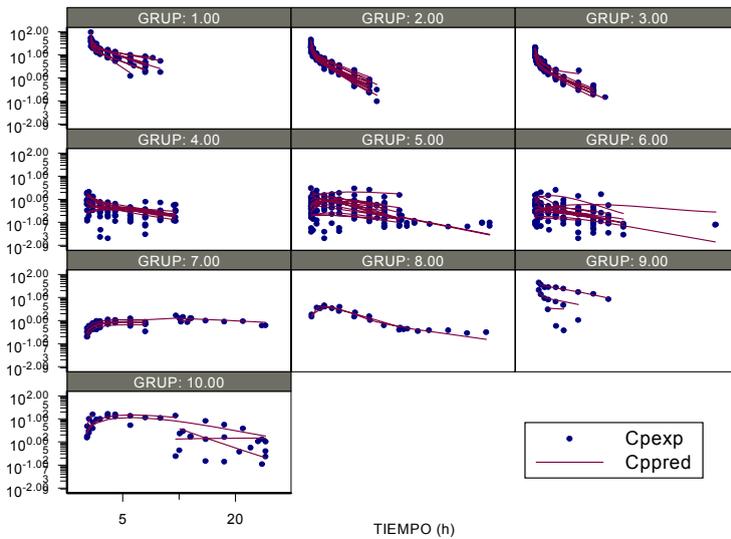
$EST  MAXEVAL=9000 PRINT=10 POSTHOC NOABORT MSFO=o055f2.msf
$COV
```

**Figura 5.31** Archivo control del modelo o055f que responde a la mejor FMO (195,5).

A continuación las figuras 5.32 y 5.33, muestran la representación gráfica de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo para los distintos grupos ensayados ( $C_{p_{exp}}$  vs tiempo) y las concentraciones poblacionales e individuales predichas para cada tiempo ( $C_{p_{pred.pobl}}$  y  $C_{p_{pred}}$  vs tiempo), respectivamente.



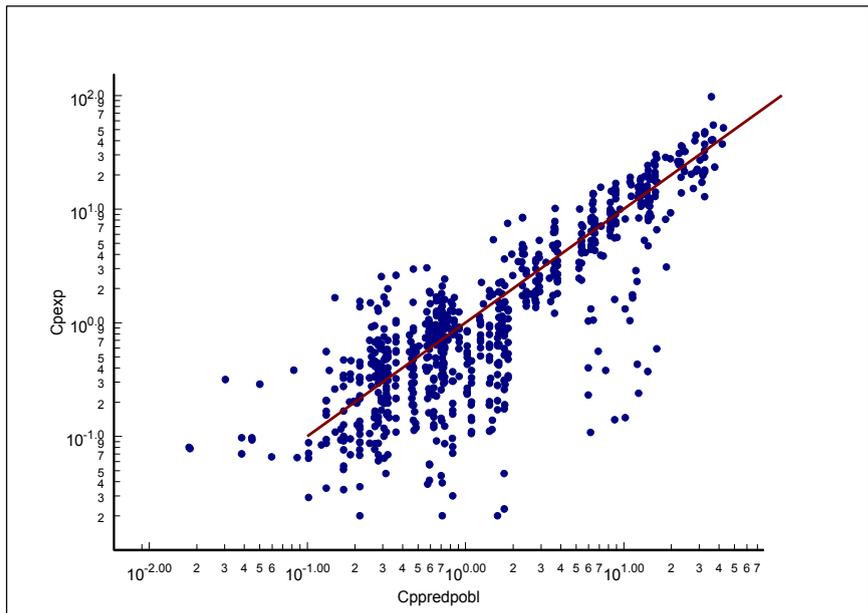
**Figura 5.32** Concentraciones plasmáticas experimentales vs tiempo y concentraciones plasmáticas poblacionales predichas por el modelo de elección o055f.



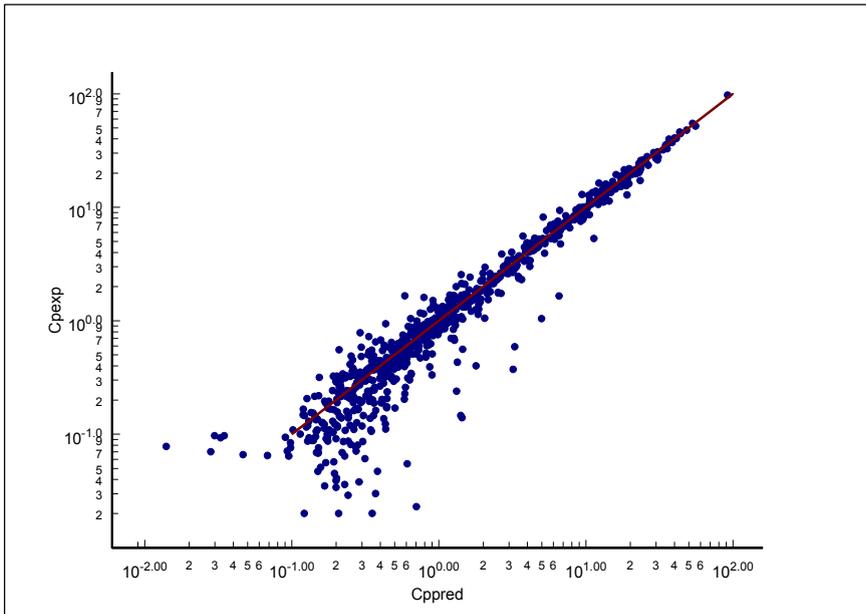
**Figura 5.33** Concentraciones plasmáticas experimentales vs tiempo y concentraciones plasmáticas individuales predichas por el modelo de elección.

Las *figuras 5.34 y 5.35*, muestran las concentraciones plasmáticas experimentales (DV) frente a las concentraciones predichas poblacionales y las individuales predichas respectivamente. En ambas representaciones se muestra la línea identidad, ausencia de sesgo y pendiente 1.

Se puede observar como las diferentes concentraciones experimentales obtenidas se ajustan a la concentración predicha poblacional, en general se observa concordancia para todos los casos, excepto para concentraciones por debajo de 1 mg/L para las que se observa en algunos casos una predicción por exceso.

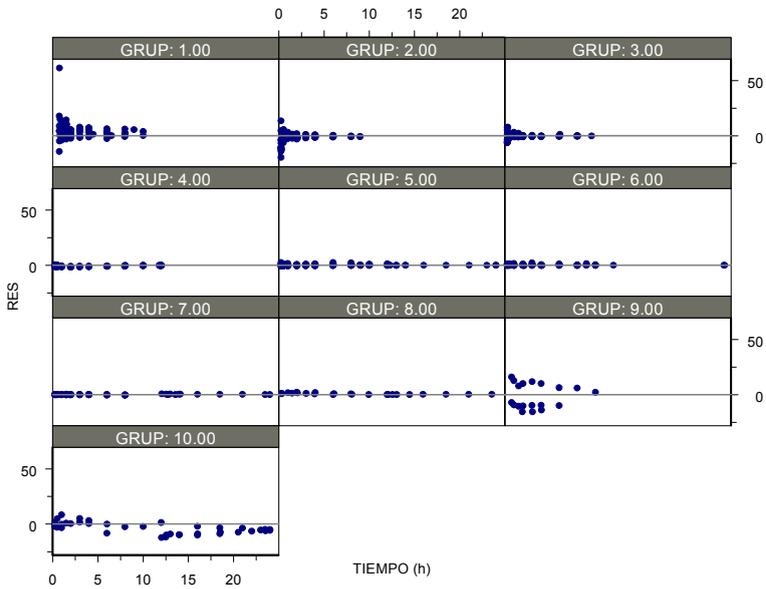


**Figura 5.34** Concentraciones plasmáticas experimentales vs concentraciones plasmáticas poblacionales predichas por el modelo de elección.

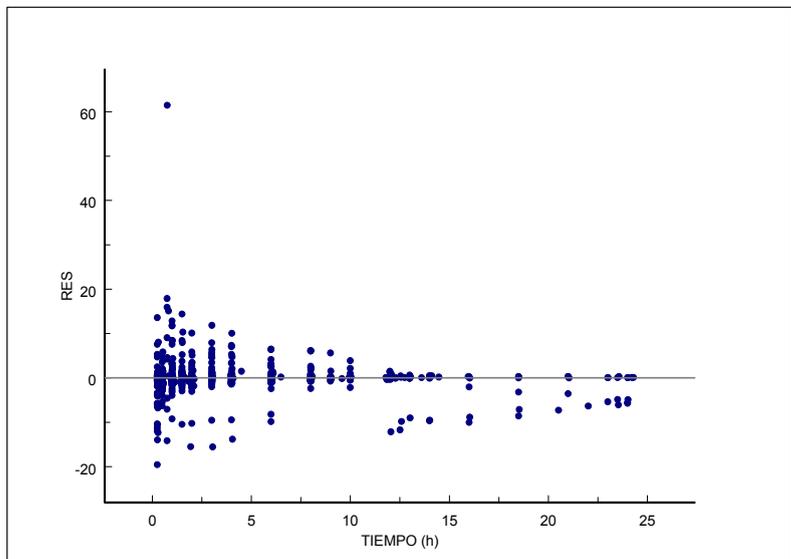


**Figura 5.35** Concentraciones plasmáticas experimentales vs concentraciones plasmáticas individuales predichas por el modelo de elección.

Las *figuras 5.36* y *5.37*, muestran la representación gráfica de los residuales en función del tiempo para los distintos grupos del ensayo y cuando se agrupan todos los residuales de los grupos en bloque.

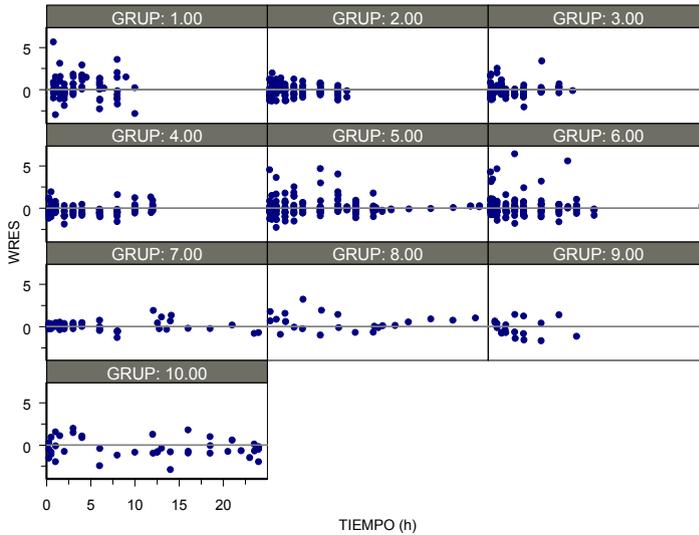


**Figura 5.36** Representación gráfica de los residuales para los distintos tiempos de toma de muestra para cada grupo de ensayo.

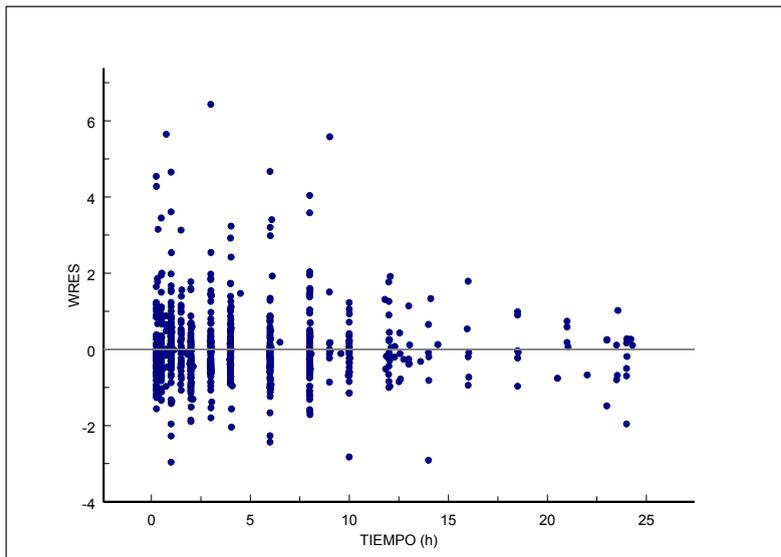


**Figura 5.37** Representación gráfica de los residuales para los distintos tiempos de toma de muestra.

Las figuras 5.38 y 5.39, muestran la representación gráfica de los residuales ponderados en función del tiempo para los distintos grupos del ensayo y cuando se agrupan todos los residuales de los grupos en bloque.

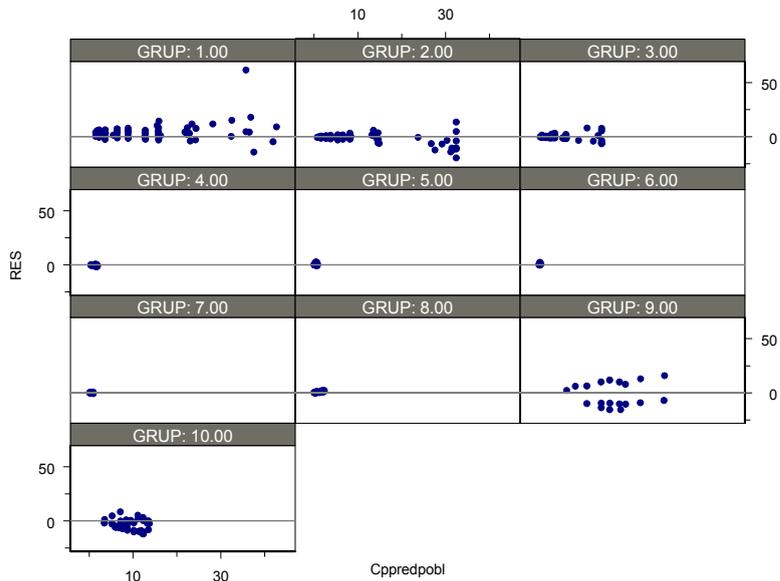


**Figura 5.38** Representación gráfica de los residuales ponderados para los distintos tiempos de toma de muestra para cada grupo de ensayo.

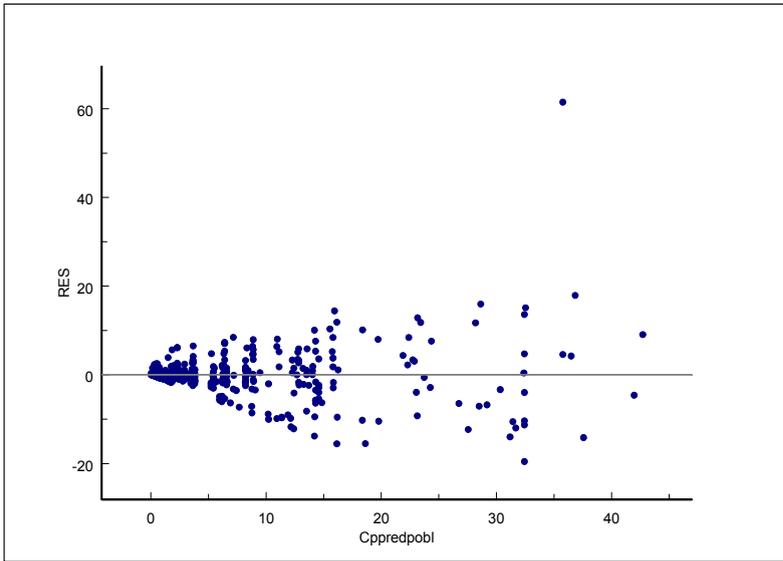


**Figura 5.39** Representación gráfica de los residuales ponderados para los distintos tiempos de toma de muestra.

A continuación, se representan los residuales obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha para cada grupo, *figura 5.40*, mientras que en la *figura 5.41*, se representan los valores para todos los grupos conjuntamente.

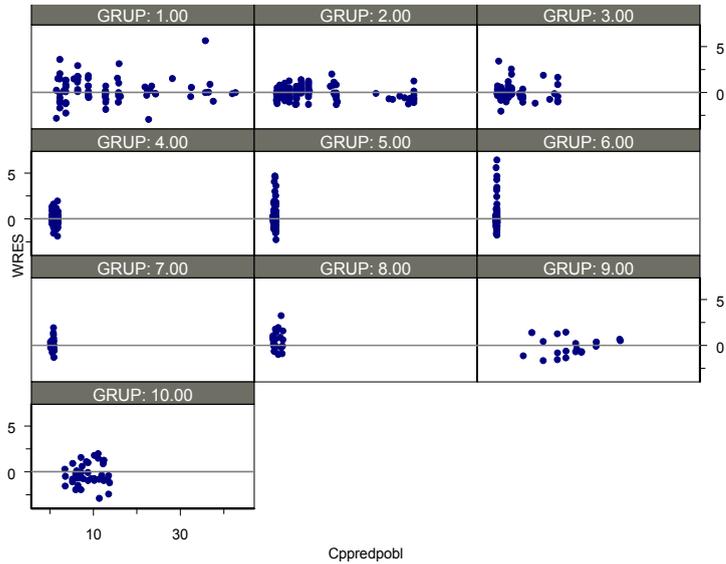


**Figura 5.40** Representación gráfica de los residuales frente a las concentraciones plasmáticas poblacionales predichas para cada grupo de ensayo.

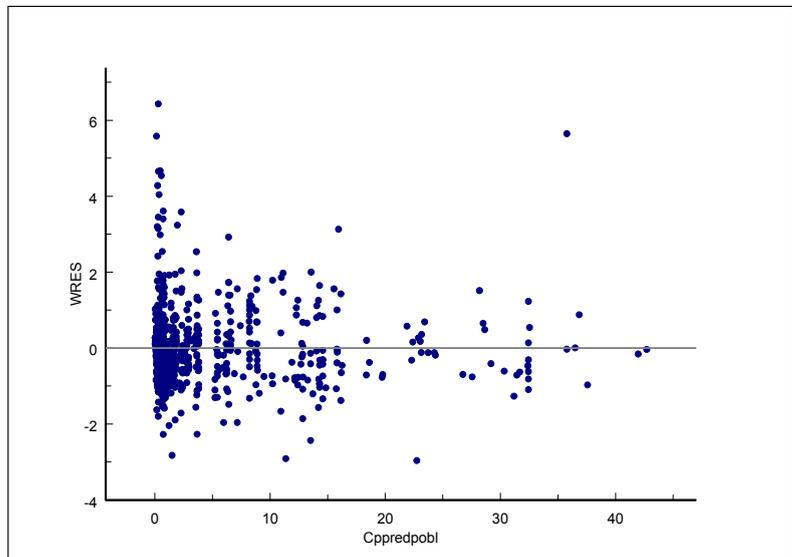


**Figura 5.41** Representación gráfica de los residuales frente a las concentraciones plasmáticas poblacionales predichas.

A continuación, se representan los residuales ponderados obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha para cada grupo, *figura 5.42*, mientras que en la *figura 5.43*, se representan los valores para todos los grupos conjuntamente.



**Figura 5.42** Representación gráfica de los residuales ponderados frente a las concentraciones poblacionales predichas para los distintos grupos ensayados.



**Figura 5.43** Representación gráfica de los residuales ponderados frente a las concentraciones poblacionales predichas.

### 5.3.2.2 Modelo estructural. RITONAVIR

El modelado farmacocinético se ha abordado de manera secuencial, implementando mayor grado de complejidad en el modelo escogido y obsevando si se mejora el ajustado obtenido.

En primer lugar se desarrollaron modelos empíricos basados en los modelos farmacocinéticos lineales clásicos bicompartimentales, que consideraban los mismos o distintos valores para los distintos parámetros farmacocinéticos, para ajustar los datos intravenosos y orales de los grupos 11,12, 9 y 10 (Etapa 5). En el *cuadro 5.88* se muestra algunos de los modelos desarrollados, indicando el número de parámetros estimados, así como si se consideraban los mismos parámetros para todos los grupos, la subrutina utilizada, el número de omegas estimadas en la matriz de covarianza y la función mínima objetivo. Cuando se ha considerado diferentes valores de un mismo parámetro para los distintos grupos, se ha parametrizado mediante un factor empírico que multiplica al valor del parámetro para cada grupo. Este factor se ha denominado “F” seguido del parámetro y el grupo al cuál se refiere.

| Modelo            | Parámetros (N total)  | N IIV | MVOF    |
|-------------------|---|-------|---------|
| RO001<br>(ADVAN9) | Cl, k12, k21, Vc, Ka, F. <b>(6)</b>   | 4     | 207,814 |
| RO007<br>(ADVAN9) | Cl, k12, k21, Vc (FVc <sub>G9</sub> , FVc <sub>G10</sub> ), Ka, F. <b>(8)</b>   | 4     | 204,542 |
| RO008<br>(ADVAN9) | Cl, k12, k21, Vc (FVc <sub>G9</sub> , FVc <sub>G10</sub> , FVc <sub>G11</sub> ), Ka, F. <b>(9)</b>                            | 4     | 186,772 |
| RO009<br>(ADVAN9) | Cl (FCl <sub>G11</sub> , FCl <sub>G12</sub> ), k12, k21, Vc, Ka, (F=1). <b>(7)</b>  | 4     | 184,126 |
| RO004<br>(ADVAN9) | Cl (4), k12, k21, Vc, Ka, (F=1). <b>(8)</b>   | 4     | 181,577 |
| RO010<br>(ADVAN9) | Cl (FCl <sub>G11</sub> , FVc <sub>G12</sub> ), k12, k21, Vc (FVc <sub>G12</sub> , FVc <sub>G10</sub> ), Ka, (F=1). <b>(9)</b> | 4     | 181,200 |

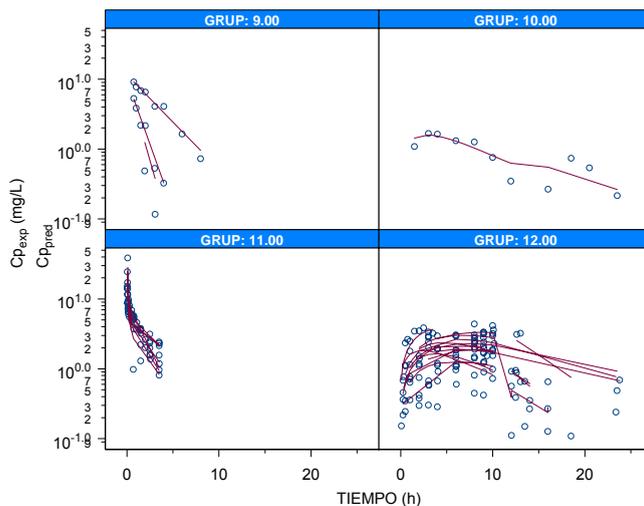
|                   |   |   |         |
|-------------------|---|---|---------|
| RO017<br>(ADVAN9) | CI, k12 (4), k21, Vc, Ka, F. <b>(9)</b>   | 4 | 187,913 |
| RO018<br>(ADVAN9) | CI (FCI <sub>G11</sub> , FCI <sub>G12</sub> ), k12 (4), k21, Vc, Ka, (F=1). <b>(10)</b> | 4 | 173,673 |

**Cuadro 5.88** Modelos lineales probados en el ajustado de los datos de RTV, parámetros estimados y función objetivo obtenida.

En el *cuadro 5.89* se muestra los parámetros obtenidos para el modelo RO009 y la *figura 5.44* muestra la bondad de ajuste del modelo a los datos experimentales.

| Modelo: RO009 (ADVAN 9)   |       | FMO: 184,126                   |         |
|---------------------------|-------|--------------------------------|---------|
| Parámetro                 |       | IIV ( $\omega$ )               |         |
| CI <sub>(G11)</sub> (L/h) | 0,227 | $\omega_{CI}$                  | 0,422   |
| FCI <sub>(G12)</sub>      | 0,619 | $\omega_{k12}$                 | 7,6E-05 |
| FCI <sub>(G9-G10)</sub>   | 1,25  | $\omega_{k21}$                 | 0       |
| K12 (h <sup>-1</sup> )    | 11,6  | $\omega_{Vc}$                  | 0,508   |
| K21 (h <sup>-1</sup> )    | 2,27  | $\omega_{Ka}$                  | 0,739   |
| Vc (L)                    | 0,064 | <b><math>\sigma</math> exp</b> |         |
| Ka                        | 0,143 | CV                             | 0,242   |
| F                         | 1     | $\sigma$                       | 0,304   |

**Cuadro 5.89** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo RO009 a los datos intravenosos y orales de ritonavir de los grupos 11,12, 9 y 10. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.



**Figura 5.44** Representación gráfica de las concentraciones experimentales ( $C_{p_{exp}}$ ) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas ( $C_{p_{pred}}$ ) por el modelo RO009 tras ajustarlo a los datos intravenosos y orales de ritonavir de los grupos 11,12, 10 y 9.

En el *cuadro 5.90* se muestra los parámetros obtenidos para el modelo RO018.

| Modelo: RO018 (ADVAN 9)                 |       |      | FMO: 173,673                     |             |       |
|---|-------|------|----------------------------------|-------------|-------|
| Parámetro                               | EE %  |      | IIV ( $\omega$ )                 | EE %        |       |
| Cl <sub>(G11)</sub> (L/h)               | 0,188 | 15   | $\omega_{Cl}$                    | 0,426       | 67,6  |
| FCI <sub>(G12)</sub>                    | 0,716 | 18,6 | $\omega_{k12}$                   | 0,509       | 66,8  |
| FCI <sub>(G9-G10)</sub>                 | 1,71  | 20,5 | $\omega_{k21}$                   | 0           | -     |
| K12 <sub>(G11)</sub> (h <sup>-1</sup> ) | 26,1  | 11,3 | $\omega_{Vc}$                    | 0,271       | 210,3 |
| K21 (h <sup>-1</sup> )                  | 1,65  | 34,4 | $\omega_{Ka}$                    | 0,804       | 31,5  |
| Vc (L)                                  | 0,012 | 67,9 | <b><math>\sigma_{exp}</math></b> | <b>EE %</b> |       |
| Ka (h <sup>-1</sup> )                   | 0,157 | 25,4 | CV                               | 0,193       | 87,1  |
| F                                       | 1     | -    | $\sigma$                         | 0,352       | 151,6 |
| FK12 <sub>(G9)</sub>                    | 2,27  | 14,9 |                                  |             |       |
| FK12 <sub>(G10)</sub>                   | 8,97  | 49,7 |                                  |             |       |
| FK12 <sub>(G12)</sub>                   | 1,83  | 69,4 |                                  |             |       |

**Cuadro 5.90** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo RO018 a los datos intravenosos y orales de ritonavir de los grupos 11,12, 9 y 10. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo, que indican la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad residual, respectivamente.

El análisis empírico indica que considerar que los diferentes grupos presentan diferentes aclaramientos mejora la FMO respecto a considerar el mismo aclaramiento para todos los grupos, tal y como muestra el modelo RO009. Además, considerar diferentes K12 para los distintos grupos, aparentemente también la mejora, aunque en este caso la diferencia no es estadísticamente significativa, tal y como muestra el modelo RO018.

Si se observa los valores que toman los parámetros, ambos modelos indican que el grupo oral (G12) presenta un menor aclaramiento; por otra parte el saquinavir aumenta el aclaramiento del ritonavir. Esto último, junto con las diferencias en  $K_{12}$ , suscitan el pensar en una no linealidad en la distribución, causado por ejemplo por un posible desplazamiento de la unión a proteínas plasmáticas.

A continuación, teniendo en cuenta la información adquirida previamente, que indicaba pérdida de linealidad al menos en la eliminación, se procedió a evaluar los posibles mecanismos implicados en los procesos del LADME del fármaco. Para ello se desarrollaron modelos mecanicistas. En el *cuadro 5.91* se muestra algunos de los modelos probados, enfocados desde un punto de vista mecanicista. La interacción de los fármacos se ha tenido en cuenta para los grupos 9 y 10 a través de los modelos y se ha parametrizado mediante un factor empírico, tal y como se hacía para el saquinavir.

| Modelo mecanicista | Parámetros y comentarios   | Mensaje <sup>(*)</sup> | N parámetros | N IIV | MVOF    |
|--------------------|--|------------------------|--------------|-------|---------|
| RO019<br>(ADVAN9)  | $V_m, K_m, k_{12}, k_{21}, V_c, K_a, F_3$<br>(MM eliminación)  | S-A                    | 7            | 4     | 208,154 |
| RO020<br>(ADVAN9)  | $V_m, K_m, F_{K_mG9}, F_{K_mG10}, k_{12}, k_{21}, V_c, K_a, F_3$<br>(MM eliminación + libertad G9 y G10)   | S-A                    | 9            | 4     | 189,919 |
| RO024<br>(ADVAN9)  | $V_m, K_m, K_b, K_u, QMA, k_{12}, k_{21}, V_c, K_a, F_3$<br>(MM eliminación + unión dinámica a prots. plasmáticas)   | S-A                    | 10           | 7     | 157,730 |
| RO022<br>(ADVAN9)  | $V_m, K_m, F_{K_mG9}, F_{K_mG10}, K_b, K_u, QMA, k_{12}, k_{21}, V_c, K_a, F_3$<br>(MM eliminación + libertad G9 y G10+ unión dinámica a prots. plasmáticas) | S-A                    | 12           | 7     | 143,362 |
| RO026<br>(ADVAN9)  | $V_m, K_m, R_{3G12}, R_{3G10}, K_b, K_u, QMA, k_{12}, k_{21}, V_c, K_a, F_3$<br>(MM eliminación + unión dinámica a prots. plasmáticas+entrada de orden cero) | S-A                    | 12           | 7     | 173,443 |

|                   |   |     |    |   |         |
|-------------------|---|-----|----|---|---------|
| RO029<br>(ADVAN9) | Cl, R3, Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc, Ka, F3<br>(unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)   | T-N | 10 | 7 | 146,304 |
| RO031<br>(ADVAN9) | Cl, R3G10, R3G12, Kb, Ku, QMA, k12,<br>k21, Vc, Ka, (F3=1)<br>(unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)  | S-A | 10 | 7 | 147,245 |
| RO032<br>(ADVAN9) | Cl, D3, Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc, Ka,<br>(F3=1)<br>(unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)  | T-N | 9  | 7 | 143,153 |
| RO033<br>(ADVAN9) | Cl, D3, Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc, Ka, F3<br>(unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)   | S-A | 10 | 8 | 118,624 |
| RO034<br>(ADVAN9) | Cl, DG10, DG12, Kb, Ku, QMA, k12, k21,<br>Vc, Ka, F3<br>(unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)  | S-A | 11 | 8 | 114,022 |
| RO042<br>(ADVAN9) | Vm, Km, D3, Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc,<br>Ka, F3<br>(MM eliminación+ unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)  | T-N | 11 | 8 | 109,772 |
| RO043<br>(ADVAN9) | Vm, Km, DG10, DG12, Kb, Ku, QMA, k12,<br>k21, Vc, Ka, F3<br>(MM eliminación+unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero)   | S-A | 12 | 8 | 113,968 |
| RO038<br>(ADVAN9) | Cl, D3, Kb, Ku, QMA (FQMAG10, FQMA<br>G9), k12, k21, Vc, Ka, F3<br>(unión dinámica a prots. plasmáticas +<br>entrada de orden cero +libertad en QMA<br>para G9 y G10)                             | T-N | 12 | 8 | 105,729 |
| RO039<br>(ADVAN9) | Cl, DG10, DG12, Kb, Ku, QMA (FQMAG10,<br>FQMA G9), k12, k21, Vc, Ka, F3<br>(unión dinámica a prots.plasmáticas<br>+entrada de orden cero +libertad en QMA<br>para G9 y G10)                       | T-N | 13 | 8 | 109,458 |
| RO044<br>(ADVAN9) | Vm, Km, D3, Kb, Ku, QMA (FQMAG10,<br>FQMA G9), k12, k21, Vc, Ka, F3<br>(MM eliminación+unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero<br>+libertad en QMA para G9 y G10)            | T-N | 13 | 8 | 103,151 |
| RO045<br>(ADVAN9) | Vm, Km, DG10, DG12, Kb, Ku, QMA<br>(FQMAG10, FQMA G9), k12, k21, Vc, Ka,<br>F3<br>(MM eliminación+unión dinámica a prots.<br>plasmáticas+entrada de orden cero<br>+libertad en QMA para G9 y G10) | S-A | 14 | 8 | 102,546 |

**Cuadro 5.91** Modelos no lineales (mecanicistas) probados en el ajustado de datos de RTV, parámetros estimados y función objetivo obtenida. <sup>(\*)</sup> Mensaje del Nonmem (la 1ª letra se refiere a la convergencia del proceso de iteración de los parámetros; la 2ª letra se refiere al cálculo de la matriz de

covarianza): S (successful, converge exitosamente), T (Termina con errores de redondeo), A (cálculo de la covarianza abortado), N (no estimable)

De los modelos mecanicistas que se muestran se observa, en primer lugar, si se comparan los modelos RO033 y RO042 que la FMO mejoraría significativamente si se considera una cinética de eliminación de MM, mientras que si se comparan los modelos RO034 y RO043, que además consideran diferentes duraciones de la entrada del fármaco al organismo para cada grupo oral, no muestra diferencias estadísticamente significativas entre considerar una cinética de eliminación de MM y una cinética de eliminación de orden uno.

Si se compara el RO026 y el RO043, se observa que se produce una significativa mejora en la FMO si se itera la duración de la absorción de orden cero (D3) frente a iterar la velocidad de dicho proceso (R3).

Por último destacar que si se compara el modelo RO043 y RO045, el RO042 y RO044, o el RO034 y RO039, que se diferencian en que los que aparecen en segundo lugar, tienen en cuenta un posible desplazamiento de la unión a proteínas plasmáticas cuando se coadministra ritonavir (grupos 9 y 10), parece observarse una mejora de la FMO aunque no es estadísticamente significativa.

| Modelo P-PK híbrido | Parámetros y comentarios  | Mensaje <sup>(*)</sup> | N parámetros | N IIV | MVOF    |
|---------------------|---|------------------------|--------------|-------|---------|
| RO062 (ADVAN9)      | Cl <sub>i</sub> , Km, Kb, Ku, QMA, k <sub>12</sub> , k <sub>21</sub> , Vc, Ka, D4 (MM eliminación+unión dinámica a prots. plasmáticas+entrada de orden cero) (sin compartimento enterocito ni hepatocito) Estructura similar a RO068 en mats. y métodos | S-A                    | 10           | 8     | 127,097 |
| RO068 (ADVAN9)      | Cl <sub>i</sub> , Km, Kb, Ku, QMA (FQMAG10, FQMA G9), k <sub>12</sub> , k <sub>21</sub> , Vc, Ka, D4G10, D4G12 (MM eliminación+unión dinámica a prots.  | S-A                    | 13           | 8     | 110,975 |

|                   |   |     |    |   |         |
|-------------------|---|-----|----|---|---------|
|                   | Plasmáticas (libertad G9 y G10)+entrada de orden cero)<br>(sin compartimento enterocito ni hepatocito)<br>Estructura RO068 en mats. y métodos   |     |    |   |         |
| RO073<br>(ADVAN9) | Cli, Kb, Ku, QMA (FQMAG10, FQMA G9), k12, k21, Vc, Ka, D4<br>(unión dinámica a prots. plasmáticas (libertad G9 y G10)+entrada de orden cero)<br>(sin compartimento enterocito ni hepatocito)<br>Estructura similar a RO068 en mats. y métodos   | S-A | 11 | 8 | 128,441 |
| RO076<br>(ADVAN9) | Cli, Kb, Ku, QMA (FQMAG10, FQMA G9), k12, k21, Vc, Ka, D4G10, D4G12<br>(unión dinámica a prots. plasmáticas (libertad G9 y G10)+entrada de orden cero)<br>(sin compartimento enterocito ni hepatocito)<br>Estructura RO068 en mats. y métodos   | T-N | 12 | 8 | 106,383 |
| RO083<br>(ADVAN9) | Cli, Km (FKmG9-10), Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc, Ka1, Kt, Clie, Clise, Kmse<br>(MM eliminación (libertad G9 y G10) +unión dinámica a prots.plasmáticas +entrada 1 <sup>er</sup> orden)<br>(Compartimentos: enterocito, hepatocito, 2 lumen intestinal)<br>Estructura similar a RO085 en mats. y métodos | S-A | 8  | 6 | 218,783 |
| RO082<br>(ADVAN9) | Cli, Km, Kb, Ku, QMA, k12, k21, Vc, Ka1, Clie, Clise, Kmse,D6<br>(MM eliminación +unión dinámica a prots. Plasmáticas +orden cero como factor limitativo de la absorción<br>(Compartimentos: enterocito, hepatocito, 1 lumen intestinal)<br>Estructura similar a RO080 en mats. y métodos             | T-N | 13 | 9 | 142,794 |

**Cuadro 5.92** Modelos no lineales (mecanicistas) probados en el ajustado de datos de RTV, parámetros estimados y función objetivo obtenida. <sup>(\*)</sup> Mensaje del Nonmem (la 1ª letra se refiere a la convergencia del proceso de iteración de los parámetros; la 2ª letra se refiere al cálculo de la matriz de covarianza): S (successful, converge exitosamente), T (Termina con errores de redondeo), A (cálculo de la covarianza abortado), N (no estimable)

En el *cuadro 5.92*, se muestra algunos de los modelos probados, ya transformados en modelos P-PK híbridos. Así por ejemplo, el RO062 correspondería con el RO042 mecanicista, el RO068 con el RO045 o el RO076 con el RO039, pero estos últimos editados con expresiones semifisiológicas. También se ensayan modelos más complejos como RO083

o el RO082, que diferencian los compartimentos enterocito y hepatocito, y que no parecen satisfacer los datos de los que se dispone de ritonavir, ya que posiblemente resultan insuficientes para diferenciar ciertos procesos, como los de eliminación. En los modelos que no diferencian entre enterocito y hepatocito, se observa que no es posible diferenciar estadísticamente una cinética de eliminación de MM de una de orden uno, aunque cabría esperar una eliminación de MM dado que se espera una interacción con saquinavir en los procesos metabólicos.

Por tanto, los datos disponibles parecen ser insuficientes, en primer lugar para poder observar si existe o no linealidad cinética, y por otra parte para detallar y diferenciar los procesos metabólicos en intestino e hígado.

Finalmente, en el *cuadro 5.93* se muestran los resultados obtenidos tras efectuar el ajuste de las concentraciones plasmáticas experimentales a los diferentes tiempos de toma de muestras de las 36 ratas de los 4 grupos ensayados para ritonavir, mediante el método no lineal de efectos mixtos utilizando como modelo de ajuste el **RO076**. Se representan las thetas o parámetros farmacocinéticos calculados, así como las desviaciones estándar de eta (parámetro de efecto aleatorio interindividual) para aquellos parámetros para los que se ha obtenido. Por otra parte se muestran las desviaciones estándar de epsilon, que se refieren al error residual.

| Modelo: RO076 (ADVAN9) |       | FMO: 106,383     |       |
|------------------------|-------|------------------|-------|
| Parámetro              |       | IIV ( $\omega$ ) |       |
| Cli (L/h)              | 0,496 | $\omega_{Cli}$   | 0,289 |
| K12 (h <sup>-1</sup> ) | 17,30 | $\omega_{km}$    | 0,00  |
| K21 (h <sup>-1</sup> ) | 0,641 | $\omega_{k12}$   | 1,555 |
| Vc (L)                 | 0,011 | $\omega_{k21}$   | 0,00  |
| Kb (L/mg-h)            | 0,512 | $\omega_{Vc}$    | 0,115 |
| Ku (h <sup>-1</sup> )  | 2,190 | $\omega_{Kb}$    | 0,195 |
| QMA (mg)               | 0,076 | $\omega_{Ku}$    | 0,798 |

|                       |          |                      |       |
|-----------------------|----------|----------------------|-------|
| Ka (h <sup>-1</sup> ) | 1,780    | $\omega_{QMA}$       | 0,007 |
| Qh (L/h)              | 1,150    | $\omega_{Ka1}$       | 1,3   |
| D4 <sub>(G12)</sub>   | 9,960    | $\omega_{Qh}$        | 0,065 |
| FD <sub>d/(G1m)</sub> | 0,926    | $\omega_{D4}$        | 0,065 |
| FQMA <sub>(G9)</sub>  | 0,892    | $\sigma \text{ exp}$ |       |
| FQMA <sub>(G10)</sub> | 3,53E-05 | $\sigma_1$ (CV)      | 0,119 |
|                       |          | $\sigma_2$ (SD)      | 0,333 |
|                       |          | (mg/L)               |       |

**Cuadro 5.93** Valores de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos tras el ajustado del modelo RO076 a los datos intravenosos y orales de saquinavir de los grupos 9, 10, 11 y 12. Asimismo, se muestran los valores de las  $\omega$  y  $\sigma$  implementadas en el modelo.

A continuación, la *figura 5.45* muestra el archivo control del modelo de elección.

```

$PROB RTV IVO RO076
$INPUT VIA ID GRUP SGRU SSGR SSSG TIME AMT DV CMT MDV MDV2 RATE
      DRUG DOSI
$DATA ..rtvsolo8.csv
$SUBROUTINES ADVAN9 TOL=5
$MODEL COMP=(CP,DEFOBS)
      COMP=(PERI)
      COMP=(PROT)
      COMP=(OR1)
$PK
" FIRST
" COMMON/PRCOMG/IDUM1.IDUM2.IMAX.IDM4.IDUM5
" INTEGER IDUM1.IDUM2.IMAX.IDM4.IDUM5
" IMAX=700000000
GR9=0
GR10=0
GR11=0
GR12=0
IF(GRUP.EQ.9) GR9=1
IF(GRUP.EQ.10) GR10=1
IF(GRUP.EQ.11) GR11=1
IF(GRUP.EQ.12) GR12=1

; **DISPOSICION**

TVCLI=THETA(1)
CLI=TVCLI*EXP(ETA(1))
TVK12=THETA(2)
K12=TVK12*EXP(ETA(2))
TVK21=THETA(3)
K21=TVK21*EXP(ETA(3))
TVVC=THETA(4)
VC=TVVC*EXP(ETA(4))

; **PROTEINAS**

TVKB=THETA(5)
KB=TVKB*EXP(ETA(5))
TVKU=THETA(6)
KU=TVKU*EXP(ETA(6))
TVQMA=THETA(7)*THETA(11)**GR9*THETA(12)**GR10
QMA=TVQMA*EXP(ETA(7))
CMA=QMA/VC

; **ORAL**
TVKA1=THETA(8)
KA1=TVKA1*EXP(ETA(8))
TVD4=THETA(10)*THETA(13)**GR10
D4=TVD4*EXP(ETA(10))

; **DISTRIBUCION**
TVQH=THETA(9)
QH=TVQH*EXP(ETA(9))
QE=QH*0.87

; **PARAMETROS DERIVADOS**
S1=VC
    
```

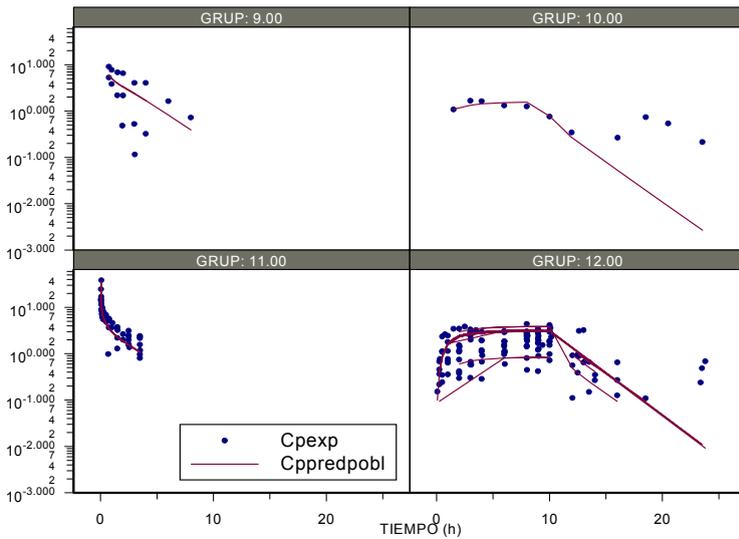
```

$DES
; **DEFINICIONES**
CU=A(1)/VC
CB=A(3)/VC
; **DISTRIBUCION**
BOUND=KB*CU*(CMA-CB)*VC
UNBOU=KU*CB*VC
PERI=-K12*A(1)+K21*A(2)
; **ABSORCION ORAL**
VAB41=KA1*A(4)
; **ELIMINACION**
CRE=VAB41/QE
CLO=CLI/(CLI+QH); CLO=CLI*QH/(CLI+QH)
E=CLO/QH
FR=1-E
DADT(1)=-BOUND+UNBOU+PERI+VAB41*FR-QH*CU*E
DADT(2)= -PERI
DADT(3)= BOUND-UNBOU
DADT(4)= -VAB41
$THETA
(0.000001,0.392,1000) ;CLI
(0.0,20.7,100) ;K12
(0.0,0.572,100) ;K21
(0.001,0.017,100) ;VC
(0.000001,0.633,1000) ;KB
(0.0,2.14,1000) ;KU
(0.0001,0.115,100000) ;QMA
(0.0,1.73,1000) ;KA1
(0.0,1.15,1000) FIX ;QH
(0.0,10.2,1000) ;D4
(0.0,1.04,100) ;FQM9
(0.0,0.1,100) ;FQM10
(0.0,0.937,100) ;FD410
$OMEGA
0.0758 ;CVCLI
2.49 ;CVK12
0.00 FIX ;CVK21
0.0456 ;CVVC
0.08 ;CVKB
0.713 ;CVKU
0.07 ;CVQMA
2.59 ;CVKA1
0.0043 FIX ;CVQH
0.0146 ;CVD4
$ERROR
IPRE=(A(1)+A(3))/VC
Y=IPRE*EXP(EPS(1))+EPS(2)
IRES=DV-Y
PES=Y+0.000001
IWRE=IRES/PES
A1=A(1)
A3=A(3)
A4=A(4)
$SIGMA .04 ;CV
.182 ;SD
$EST MAXEVAL=9000 PRINT=10 POSTHOC NOABORT MSFO=RO076.msf
$COV

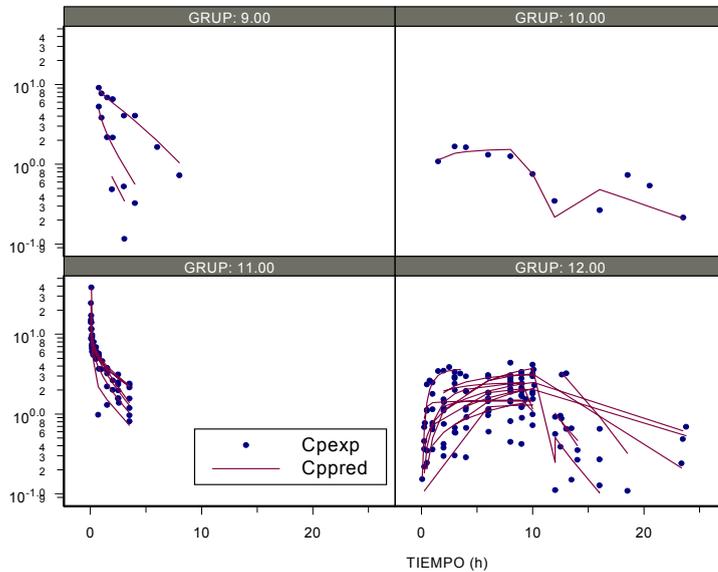
```

**Figura 5.45** Archivo control del modelo RO076 que responde a la mejor FMO (106,083).

A continuación, las figuras 5.46 y 5.47 muestran la representación gráfica de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo para los distintos grupos ensayados ( $C_{p\text{exp}}$  vs tiempo) y las concentraciones poblacionales e individuales predichas para cada tiempo ( $C_{p\text{pred.pobl}}$  y  $C_{p\text{pred}}$  vs tiempo), respectivamente.



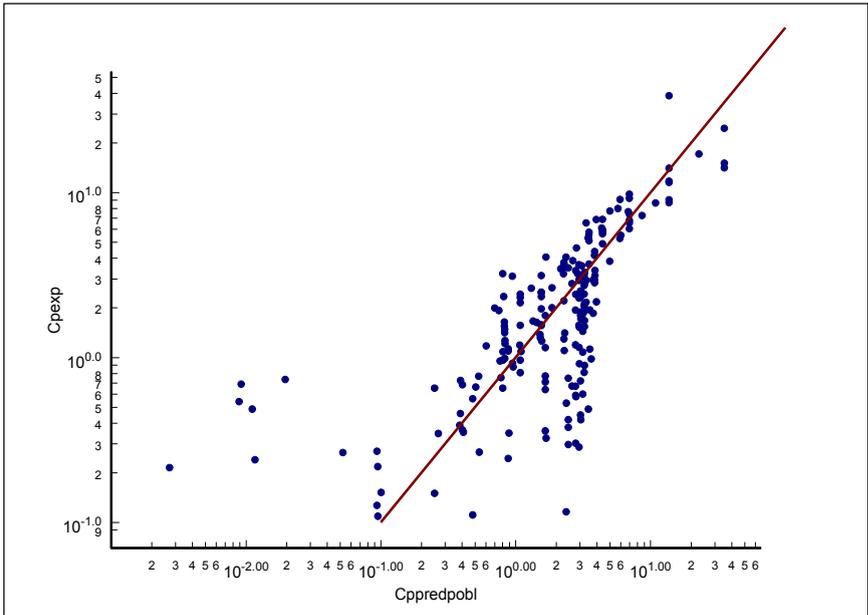
**Figura 5.46** Concentraciones plasmáticas experimentales vs tiempo y concentraciones plasmáticas poblacionales predichas por el modelo de elección.



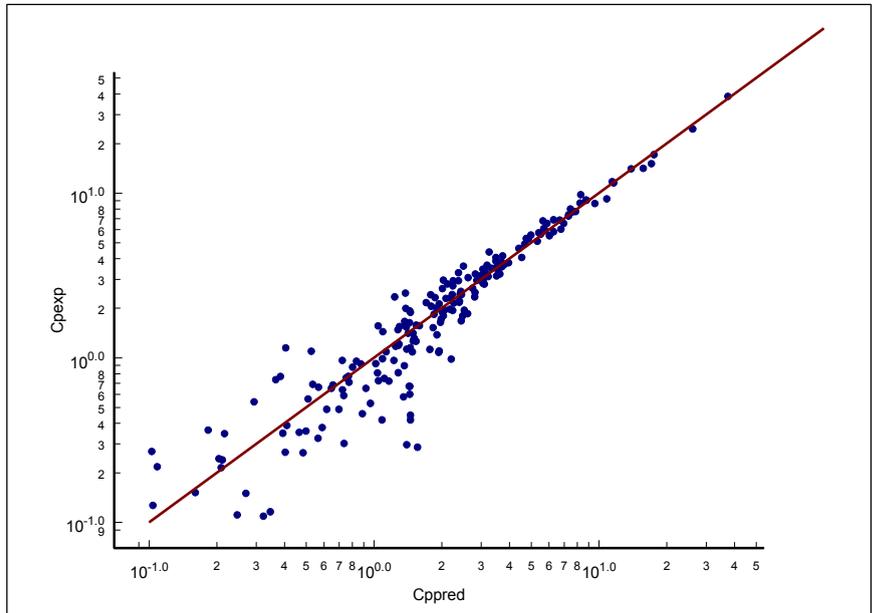
**Figura 5.47** Concentraciones plasmáticas experimentales vs tiempo y concentraciones plasmáticas individuales predichas por el modelo de elección.

Las *figuras 5.48* y *5.49*, muestran las concentraciones plasmáticas experimentales ( $C_{pexp}$ ) frente a las concentraciones predichas poblacionales y las individuales predichas respectivamente. En ambas representaciones se muestra la línea identidad y pendiente 1.

Se puede observar como las diferentes concentraciones experimentales obtenidas se ajustan a la concentración predicha poblacional, en general para todos los casos.

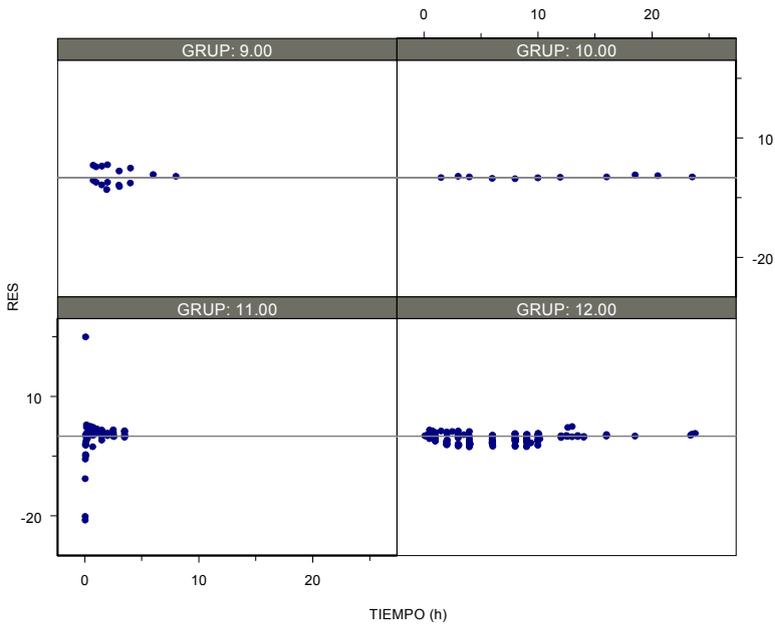


**Figura 5.48** Concentraciones plasmáticas experimentales vs concentraciones plasmáticas poblacionales predichas por el modelo de elección.

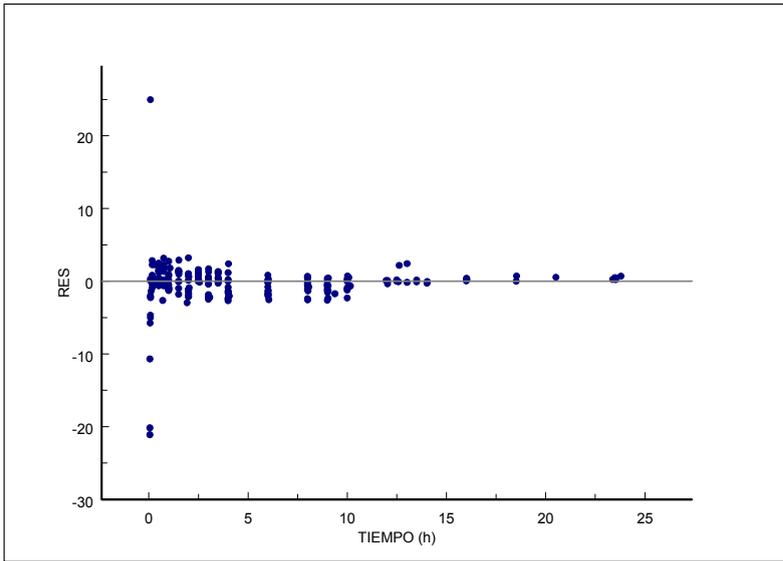


**Figura 5.49** Concentraciones plasmáticas experimentales vs concentraciones plasmáticas individuales predichas por el modelo de elección.

Las *figuras 5.50* y *5.51* muestran la representación gráfica de los residuales en función del tiempo para los distintos grupos del ensayo y cuando se agrupan todos los residuales de los grupos en bloque.

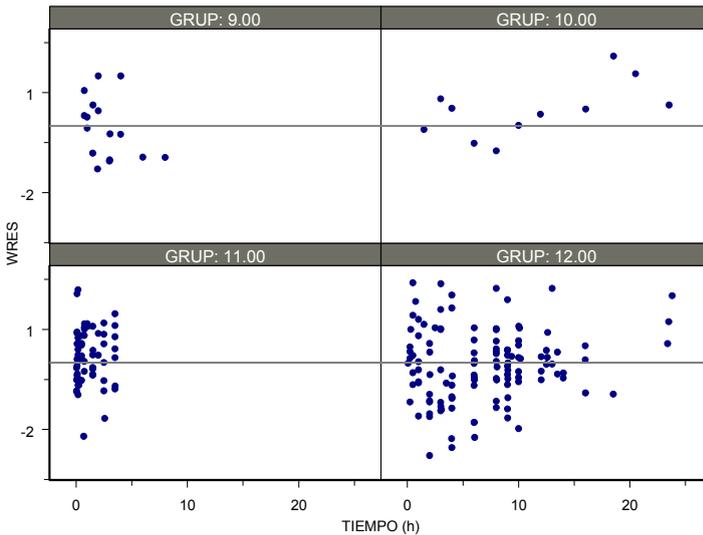


**Figura 5.50** Representación gráfica de los residuales para los distintos tiempos de toma de muestra para cada grupo de ensayo.

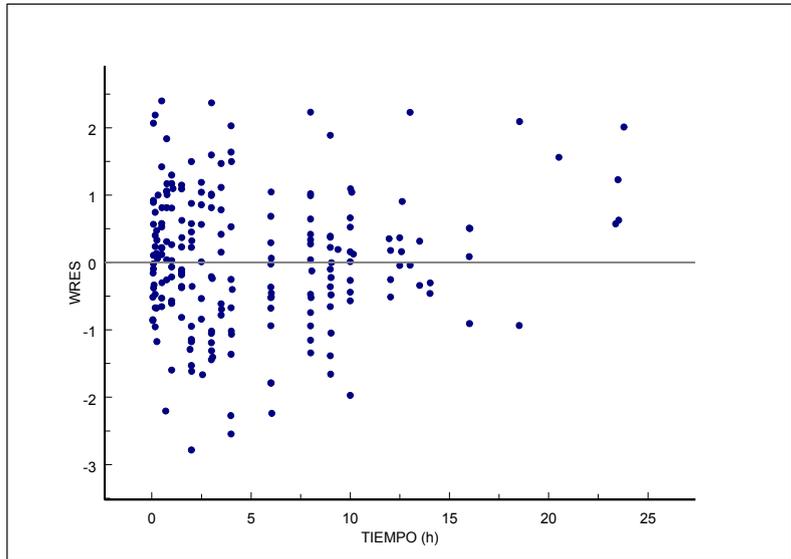


**Figura 5.51** Representación gráfica de los residuales para los distintos tiempos de toma de muestra.

Las *figuras 5.52* y *5.53*, muestran la representación gráfica de los residuales ponderados en función del tiempo para los distintos grupos del ensayo y cuando se agrupan todos los residuales de los grupos en bloque.

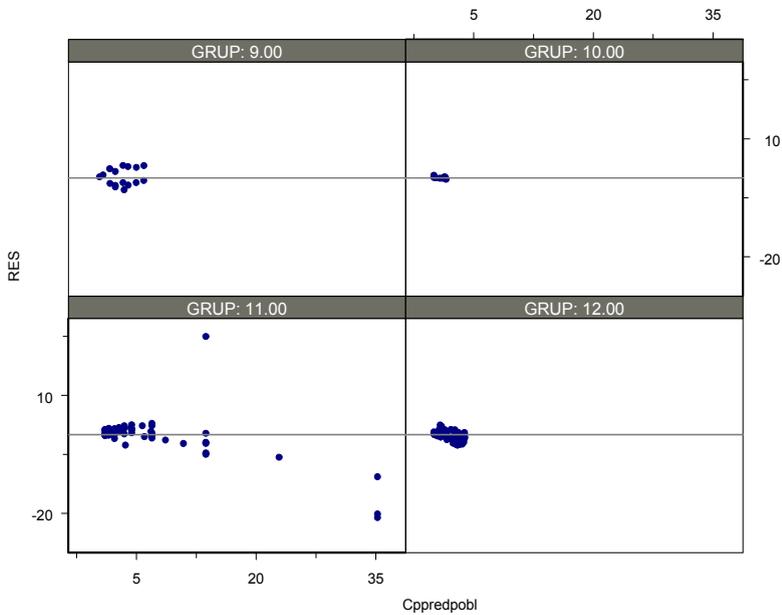


**Figura 5.52** Representación gráfica de los residuales ponderados para los distintos tiempos de toma de muestra para cada grupo de ensayo.

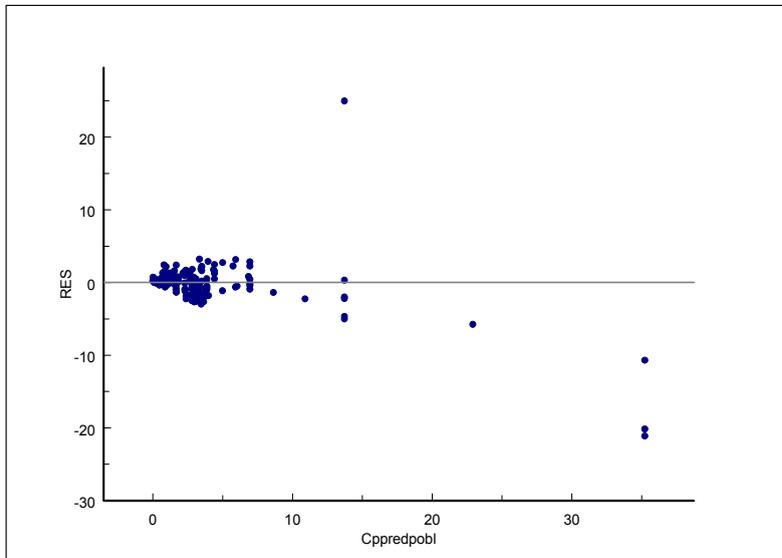


**Figura 5.53** Representación gráfica de los residuales ponderados para los distintos tiempos de toma de muestra.

A continuación, se representan los residuales obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha para cada grupo, *figura 5.54*, mientras que en la *figura 5.55*, se representan los valores para todos los grupos conjuntamente.



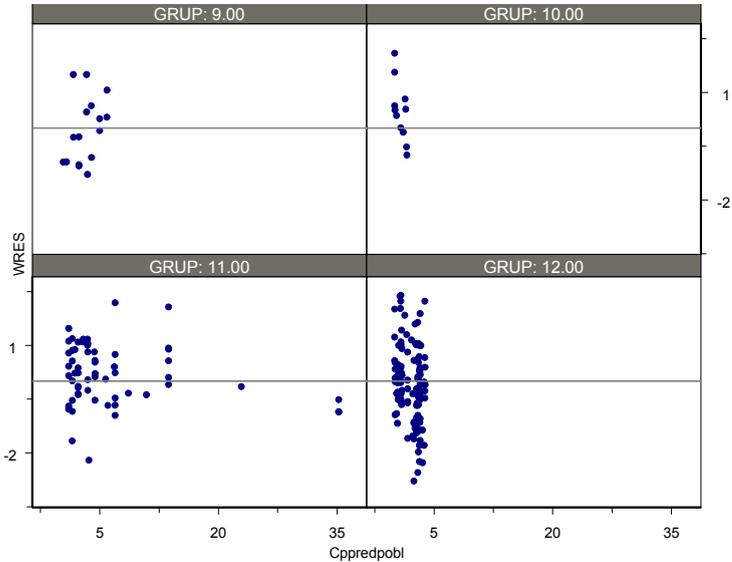
**Figura 5.54** Representación gráfica de los residuales frente a las concentraciones plasmáticas poblacionales predichas para cada grupo de ensayo.



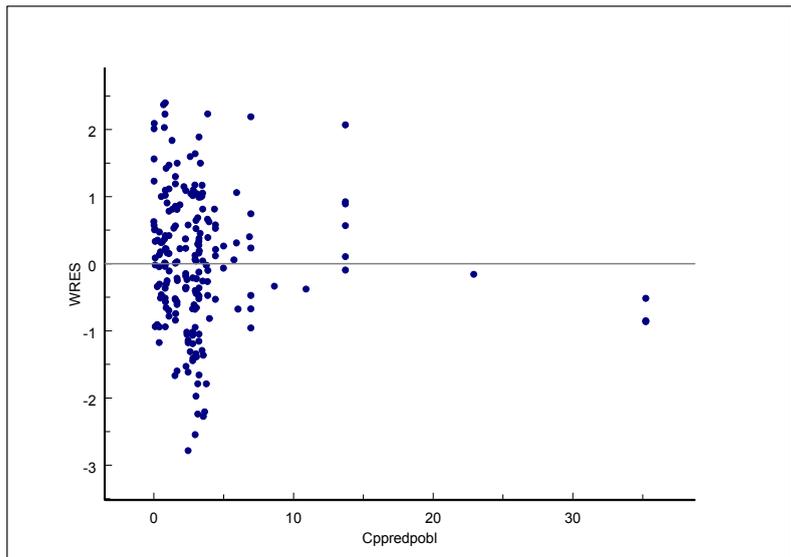
**Figura 5.55** Representación gráfica de los residuales frente a las concentraciones plasmáticas poblacionales predichas.

A continuación, se representan los residuales ponderados obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha para cada grupo,

figura 5.56, mientras que en la figura 5.57, se representan los valores para todos los grupos conjuntamente.



**Figura 5.56** Representación gráfica de los residuales ponderados frente a las concentraciones poblacionales predichas para los distintos grupos ensayados.



**Figura 5.57** Representación gráfica de los residuales ponderados frente a las concentraciones poblacionales predichas.

### 5.3.2.3 Interacción SAQUINAVIR-RITONAVIR. Modelado

Como modelos de interacción se han probado diferentes posibilidades basándose en los modelos de elección, en el modelo **o055f** del saquinavir y el **RO068** del ritonavir. Éste último, es el que se ha considerado en lugar del RO076 a la hora de modelar la interacción, ya que considera una eliminación de Michaelis-Menten, necesaria para explicar las observaciones del saquinavir de los grupos 9 y 10; a pesar de ello, cuando se ha estudiado únicamente el ritonavir, se hacía difícil la elección entre un modelo u otro en base a la FMO, de modo que se podría considerar como válida una eliminación de orden uno.

Llegados a este punto, debido a la complejidad de los modelos, no ha sido posible hasta la fecha obtener una convergencia de ninguno de los modelos probados. Algunos modelos se han abortado con mensajes debidos a errores de integración y en otros casos los procesadores se encuentran todavía resolviendo los modelos, por lo que se puede concluir que estos modelos por el momento no son factibles para describir la interacción entre los fármacos y se necesitarían herramientas más potentes para resolverlos.

En el cuadro 5.94 se muestra alguno de los modelos de interacción ensayados.

| Modelo P-PK híbrido | Parámetros y comentarios  | Estado <sup>(*)</sup> | N parámetros            | N IIV                   |
|---------------------|---|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| SR055               | <b>SQV:</b> Cli, Km, Kb, Ku, k12, k21, Vcs, Ka1, Ka2, Kt, Clie, Clise, Kmse, KDG7, KDG8, Kaip, FR8, BIO<br><b>Comunes:</b> QMA (mmol), Qh, Ve, Vh<br><b>RTV:</b> Clir, Kmr, Kbr, Kur, k12r, k21r, Vcr, Ka1r, Clier, Cliser, | procesando            | 33<br>(4 restricciones) | 24<br>(9 restricciones) |

|       |   |            |                            |                             |
|-------|---|------------|----------------------------|-----------------------------|
|       | Kmser.<br>(estructura <i>cuadro 4.12</i> )  |            |                            |                             |
| SR056 | <b>SQV:</b> Km, Kb, Ku, k12, k21, Vcs, Ka1, Ka2, Kt, Kmse, KDG7, KDG8, Kaip, FR8, BIO<br><b>Comunes:</b> Vmi, Vmie, Vmise (mmol/h), QMA (mmol), Qh, Ve, Vh<br><b>RTV:</b> Kmr, Kbr, Kur, k12r, k21r, Vcr, Ka1r, Kmser.  | procesando | 30<br>(4<br>restricciones) | 21<br>(10<br>restricciones) |
| SR058 | <b>SQV:</b> Km, Kb, Ku, k12, k21, Vcs, Ka1, Ka2, Kmse, KDG7, KDG8, Kaip, FR8, BIO<br><b>Comunes:</b> Kt, Vmi, Vmie, Vmise (mmol/h), QMA (mmol), Qh, Ve, Vh<br><b>RTV:</b> Kmr, Kbr, Kur, k12r, k21r, Vcr, Ka1r, Ka2r, Kmser.  | procesando | 32<br>(4<br>restricciones) | 19<br>(7<br>restricciones)  |
| SR059 | <b>SQV:</b> Cli, Km, Kb, Ku, Kb <sub>2</sub> , Ku <sub>2</sub> , QMA <sub>2</sub> (mmol), k12, k21, Vcs, Ka1, Ka2, Kt, Clie, Clise, Kmse, KDG7, KDG8, Kaip, FR8, BIO<br><b>Comunes:</b> QMA (mmol)<br><b>RTV:</b> Kmr, Kbr, Kur, k12r, k21r, Vcr, Ka1r, Kmser, D13, FD13 <sub>G10</sub> , Clir.<br>(estructura <i>cuadro 4.12</i> ) | procesando | 35<br>(4<br>restricciones) | 23<br>(10<br>restricciones) |

**Cuadro 5.94** Modelos de interacción P-PK híbridos probados en el análisis de los datos experimentales de saquinavir y ritonavir. Se indica los parámetros que se iteran para cada fármaco y los comunes para ambos, así como el estado actual en el que se encuentra el modelo. (\*) Estos modelos se encuentran aún procesándose.

Finalmente, en la *figura 5.58* se muestran el archivo control que incluye las estimas iniciales de los parámetros que describen el modelo SR059, posible modelo de interacción del cual se muestra una simulación de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo en base a los valores iniciales de los parámetros, *figura 5.59*.

```

$PROB  SQV-RTV SR059
$INPUT  VIA ID GRUP SGRU SSGR SSSG TIME AMT DV CMT MDV MDV2 RATE
        DRUG DOSI
$DATA  ..lsqrv5.csv
$SUBROUTINES ADVAN9 TOL=5
$MODEL

; SAQUINAVIR

    COMP=(CP)
    COMP=(PER1)
    COMP=(PROT)
    COMP=(OR1)
    COMP=(IP) ;DISUELTO IP
    COMP=(PRECIP) ;SOLIDO IP
    COMP=(HEP) ;HEPATOCITO(PORTA)
    COMP=(OR2) ;TRAMO LUMEN
    COMP=(ENTER) ;ENTEROCITO

; RITONAVIR

    COMP=(CPR)
    COMP=(PERIR)
    COMP=(PROTR)
    COMP=(OR1R)

    COMP=(PROT2); PROTEINA 2 DE SQV

$ABBREVIATED DERIV2=NO

$PK

" FIRST
" COMMON/PRCOMG/IDUM1,IDUM2,IMAX,IDM4,IDUM5
" INTEGER IDUM1,IDUM2,IMAX,IDM4,IDUM5
" IMAX=700000000

CALLFL=1

GR1=0
GR2=0
GR3=0
GR9=0
GR7=0
GR8=0
GR10=0
IF(GRUP.EQ.1) GR1=1
IF(GRUP.EQ.2) GR2=1
IF(GRUP.EQ.3) GR3=1
IF(GRUP.EQ.9) GR9=1
IF(GRUP.EQ.7) GR7=1
IF(GRUP.EQ.8) GR8=1
IF(GRUP.EQ.10) GR10=1

```

```

; *****SAQUINAVIR*****
;
; **DISPOSICION**
;
TVKM=THETA(5)
KM=TVKM*EXP(ETA(5))
TVK12=THETA(2)
K12=TVK12*EXP(ETA(2))
TVK21=THETA(3)
K21=TVK21*EXP(ETA(3))
TVVCS=THETA(4)
VCS=TVVCS*EXP(ETA(4))
;
; **PROTEINAS**
;
TVKB=THETA(6)
KB=TVKB*EXP(ETA(6))
TVKU=THETA(7)
KU=TVKU*EXP(ETA(7))
;
; **PROTEINAS2**
;
TVKB2=THETA(32)
KB2=TVKB2*EXP(ETA(6))
TVKU2=THETA(33)
KU2=TVKU2*EXP(ETA(7))
TVQMA2=THETA(34) ;en mmoles
QMA2=TVQMA2*EXP(ETA(8))
CMA2=QMA2/VCS
;
; **IP**
;
TVKAIP=THETA(9)
KAIP=TVKAIP*EXP(ETA(9))
BIO=THETA(10)
FR8=THETA(11)
FRA=FR8**GR8*((FR8+1)/2)**GR7
F5=BIO*(1-FRA)
F6=BIO*FRA
;
; **PRECIPITACION IP**
;
TVKD=THETA(12)**GR7*THETA(13)**GR8
KD=TVKD*EXP(ETA(10))
;
; **ORAL**
;
TVKA1=THETA(14)
KA1=TVKA1*EXP(ETA(11))
TVKA2=THETA(22)
KA2=TVKA2*EXP(ETA(12))
TVKT=THETA(15)
KT=TVKT*EXP(ETA(20))
;
; **ESPECIALES METABOLISMO Y SECRECION**
;
KME=KM
KMSE=THETA(21)
;
; **PARAMETROS DERIVADOS**
;
S1=VCS

```

```

; *****RITONAVIR*****
;
; **DISPOSICION**
K12R=THETA(23)
TVK21R=THETA(24)
K21R=TVK21R*EXP(ETA(13))
TVVCR=THETA(25)
VCR=TVVCR*EXP(ETA(14))

; **PROTEINAS**
;
TVKBR=THETA(26)
KBR=TVKBR*EXP(ETA(15))
TVKUR=THETA(27)
KUR=TVKUR*EXP(ETA(16))

; **ORAL**
;
TVKA1R=THETA(28)
KA1R=TVKA1R*EXP(ETA(17))
TVD13=THETA(30)*THETA(31)**GR10
D13=TVD13*EXP(ETA(23))

; **PARAMETROS DERIVADOS**
;
S10=VCR

; **ESPECIALES METABOLISMO Y SECRECION**
;
; **SQV**
;
TVCLI=THETA(1)
CLI=TVCLI*EXP(ETA(1))
TVCLIE=THETA(19);          CLI DEL ENTEROCITO(METABOLISMO)
CLIE=TVCLIE*EXP(ETA(18))
TVCLIS=THETA(20);          CLI DEL ENTEROCITO(SECRECION)
CLISE=TVCLIS*EXP(ETA(19))

;
; **RTV**
;
TVCLIR=THETA(29)
CLIR=TVCLIR*EXP(ETA(22))
KMR=THETA(35)

;
; *****COMUNES*****
;
TVQMA=THETA(8)              ;en mmoles
QMA=TVQMA*EXP(ETA(8))

;
; **DISTRIBUCION**
;
TVQH=THETA(16)
QH=TVQH*EXP(ETA(21))
QAH=QH*0.13
QE=QH*0.87
VH=THETA(17)
VE=THETA(18)

```

```

$DES
; **DEFINICIONES**
; saquinavir

CU=A(1)/VCS
CB=A(3)/VCS
MB=A(3)/670.86 ; cantidad unida a prot1 en mmoles
CB2=A(14)/VCS
CBM2=CB2/670.86
C7=A(7)/VH
C9=A(9)/VE
; ritonavir

CUR=A(10)/VCR
CBR=A(12)/VCR
MRB=A(12)/720.95 ; cantidad unida a prot1 en mmoles

; **DISTRIBUCION**
; saquinavir
QM=QMA-MB-MRB ; capacidad disponible de unión a prot1 en mmoles, es la misma para ambos fármacos
CMS=(QM*670.86) ; capacidad disponible de unión a prot1 en mg/L, ya pasado a concentración de SQV
BOUND=KB*CU*CMS ; en la expresión anterior dividido por VCS para sacar concentración, y en ésta multiplico
por VCS para pasar a mg
UNBOU=KU*CB*VCS
BOUND2=KB2*CU*(CMA2-CBM2)*670.86*VCS
UNBOU2=KU2*CB2*VCS
PERI=-K12*A(1)+K21*A(2)

; ritonavir
CMR=(QM*720.95) ; capacidad disponible de unión a prot1 en mg/L, ya pasado a concentración de RTV
BOUNR=KBR*CUR*CMR
UNBOR=KUR*CBR*VCR
PERIR=-K12R*A(10)+K21R*A(11)

; **ABSORCION IP**
VABIP=KAIP*A(5)
VDISOL=KD*A(6)

; **ABSORCION ORAL**
; saquinavir
VAB49=KA1*A(4)
VAB89=KA2*A(8)
VTRAN=KT*A(4)
; ritonavir
VAB13=KA1R*A(13)

; **PRIMER PASO HEPAT Y ELIMINACION**
; saquinavir

CRE=VAB13/QE

CLO=CLI/(CLI+QH) ;CLO=CLI*QH/(CLI+QH)
KMA=KM*(1+(CUR+CRE)/KMR)
E=CLO*KM/(KMA+C7) ;E=CLA/QH
FH=1-E
PASOHE=-QH*CU+QH*C7*FH

```

; ritonavir

CLOR=CLIR/(CLIR+QH) ;CLOR=CLIR\*QH/(CLIR+QH)  
 KMAR=KMR\*(1+(C9/KME))  
 ER=CLOR\*KMR/(KMAR+CUR+CRE) ;ER=CLAR/QH  
 FR=1-ER

; \*\*PRIMER PASO INTESTINAL Y SECRECION\*\*

; saquinavir

DENOM=CLIE+QE+CLISE  
 CLOE=CLIE/DENOM ; CLO DEL METABOLISMO EN ENTEROCITO  
 KMEA=KME\*(1+(CUR+CRE)/KMR)  
 CLAME=CLOE\*KME/(C9+KMEA)

CLOSE=CLISE/DENOM ; CLO DE SECRECION EN ENTEROCITO  
 CLASE=CLOSE\*KMSE/(C9+KMSE) ; EES=CLASE--> VSECR=QE\*C9\*EES  
 VSECR=QE\*C9\*CLASE  
 EE=CLAME+CLASE ; TASA DE EXTRACCION TOTAL DEL ENTEROCITO(METAB Y SECRECION)

FE=1-EE

; saquinavir

DADT(1)=-BOUND+UNBOU+PERI+PASOHE-BOUND2+UNBOU2  
 DADT(2)= -PERI  
 DADT(3)= BOUND-UNBOU  
 DADT(4)= -VTRAN -VAB49  
 DADT(5)= VDISOL -VABIP  
 DADT(6)= -VDISOL  
 DADT(7)=QAH\*CU+QE\*C9\*FE-QH\*C7 +VABIP  
 DADT(8)= VTRAN -VAB89 +VSECR  
 DADT(9)=-QE\*C9+QE\*CU +VAB89 +VAB49

; ritonavir

DADT(10)=-BOUNR+UNBOR+PERIR+VAB13\*FR-QH\*ER\*CUR  
 DADT(11)= -PERIR  
 DADT(12)= BOUNR-UNBOR  
 DADT(13)= -VAB13

DADT(14)= BOUND2-UNBOU2

\$THETA

; SAQUINAVIR  
 (0.000001,0.309,1000) ;CLI  
 (0.0,2.8,100) FIX ;K12  
 (0.0,1.14,100) FIX ;K21  
 (0.001,0.241,100) FIX ;VCS  
 (0.0,72.2,10000) ;KM  
 (0.000001,0.000002,1000) ;KB  
 (0.0,0.2,1000) ;KU  
 (0.000001,0.0001,1000) ;QMA ; COMUN RTV-SQV  
  
 (0.0,1.09,1000) FIX ;KAIP  
 (0.0,1,1) FIX ;BIO  
 (0.0,0.972,1) FIX ;FR8  
 (0.0,0.0398,100) FIX ;KDG7  
 (0.0,0.482,100) FIX ;KDG8

|                          |     |          |                 |
|--------------------------|-----|----------|-----------------|
| (0.0,0.245,1000)         | FIX | ;KA1     |                 |
| (0.0,0.583,1000)         | FIX | ;KT      |                 |
| (0.0,1.15,1000)          | FIX | ;QH      | ; COMUN RTV-SQV |
| (0.0,0.010,1000)         | FIX | ;VH      | ; COMUN RTV-SQV |
| (0.0,0.006,1000)         | FIX | ;VE      | ; COMUN RTV-SQV |
| (0.0,99.8,1000)          |     | ;CLIE    |                 |
| (0.0,21.9,1000)          |     | ;CLISE   |                 |
| (0.0,0.000599,1000)      |     | ;KMSE    |                 |
| (0.0,0.166,1000)         | FIX | ;KA2     |                 |
| ;                        |     |          |                 |
| RITONAVIR                |     |          |                 |
| (0.0,19.1,100)           | FIX | ;K12R    |                 |
| (0.0,0.619,100)          | FIX | ;K21R    |                 |
| (0.001,0.0103,100)       | FIX | ;VCR     |                 |
| (0.0,0.466,1000)         |     | ;KBR     |                 |
| (0.0,2.1,1000)           |     | ;KUR     |                 |
| (0.0,1.73,1000)          | FIX | ;KA1R    |                 |
| (0.0,0.414,1000)         |     | ;CLIR    |                 |
| (0.001,9.96,100)         | FIX | ;D13     |                 |
| (0.0,1.11,100)           | FIX | ;FD310   |                 |
| ;                        |     |          |                 |
| **SAQUINAVIR**           |     |          |                 |
| (0.000001,0.000002,1000) | FIX | ;KB2     |                 |
| (0.0,0.2,1000)           | FIX | ;KU2     |                 |
| (0.000001,18.63,1000)    | FIX | ;QMA2    | ; SOLO SQV      |
| (0.0,0.25,10000)         |     | ;KMR     | ; KM RITONAVIR  |
| SOMEGA                   |     |          |                 |
| 0.4                      |     | ;CVCLI   |                 |
| 0.00                     | FIX | ;CVK12   |                 |
| 0.141                    | FIX | ;CVK21   |                 |
| 0.533                    | FIX | ;CVVCS   |                 |
| 0.00                     | FIX | ;CVKM    |                 |
| 0.163                    | FIX | ;CVKB    |                 |
| 0.615                    | FIX | ;CVKU    |                 |
| 0.258                    | FIX | ;CVQMA   |                 |
| 2.75                     | FIX | ;CVKAIP  |                 |
| 0.00                     | FIX | ;CVKD    |                 |
| 0.4                      |     | ;CVKA1   |                 |
| 0.4                      |     | ;CVKA2   |                 |
| 0.41                     |     | ;CVK21R  |                 |
| 0.533                    |     | ;CVVCR   |                 |
| 0.4                      |     | ;CVKBR   |                 |
| 0.4                      |     | ;CVKUR   |                 |
| 0.4                      |     | ;CVKA1R  |                 |
| 0.4                      |     | ;CVCLIE  |                 |
| 0.4                      |     | ;CVCLISE |                 |
| 0.2                      |     | ;CVKT    |                 |
| 0.0043                   | FIX | ;CVQH    |                 |
| 0.4                      |     | ;CVCLIR  |                 |
| 0.168                    |     | ;CVD3    |                 |

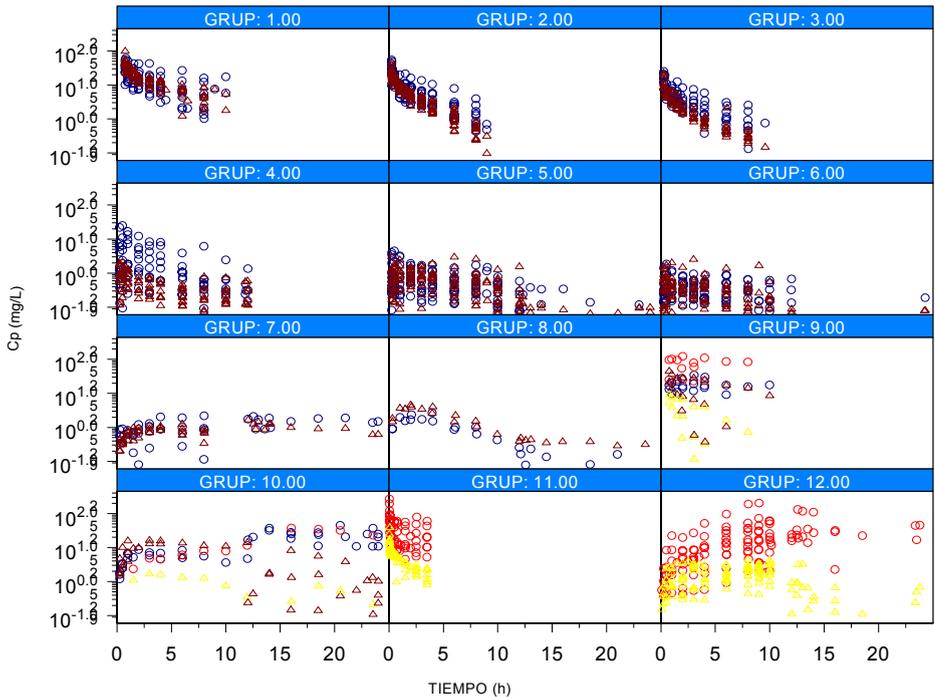
```

$ERROR
IPRE=(A(1)+A(3)+A(14))/VCS
IF(DRUG.EQ.1) IPRE=(A(10)+A(12))/VCR
Y=(IPRE*EXP(EPS(1))+EPS(2))*(1-DRUG)+(IPRE*EXP(EPS(3))+EPS(4))*(DRUG)
IRES=DV-Y
PES=Y+0.000001
IWRE=IRES/PES

$$SIGMA
.04 ;CV
.01 ;SD
.04 ;CVR
.01 ;SDR

$EST MAXEVAL=9000 PRINT=10 POSTHOC NOABORT MSFO=sr059.msfl
$COV
    
```

**Figura 5.58** Archivo control del modelo de interacción P-PK híbrido SR059, se indican las estimas iniciales que han sido utilizadas en la simulación que se muestra en la figura 5.59.



**Figura 5.59** Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo simuladas con el modelo que se muestra en la figura 5.58. En azul y en rojo, se muestra el valor de Cp simulado para saquinavir y ritonavir, respectivamente. Mientras que los triangulos marrones y amarillos, muestran las Cp experimentales del saquinavir y ritonavir, respectivamente.

## 6 *Discusión*

---

### 6.1 *Fármacos ensayados*

El saquinavir y ritonavir son dos inhibidores de la proteasa (IP) del VIH-1, que se encuentran indicados en el tratamiento de la enfermedad del SIDA como primera línea. La familia de los IP se caracteriza por presentar variabilidad en la biodisponibilidad oral, que se traduce en variabilidad en la respuesta terapéutica. Es por ello, que el comportamiento farmacocinético de esta familia es de gran interés, así como la identificación de aquellos factores que pueden determinar dicha variabilidad. Con el mejor conocimiento de estos fármacos se ha comenzado a abrir un campo de nuevas posibilidades, como la terapia combinada de dos IP, con el fin de obtener perfiles de efectividad de tratamiento potenciados.

En concreto la combinación saquinavir-ritonavir resulta de las más interesantes dado la baja y variable biodisponibilidad oral del saquinavir, estimada en aproximadamente un 4 %, que resulta potenciada cuando se administra simultáneamente con el ritonavir gracias a sus propiedades.

La variabilidad en la biodisponibilidad del saquinavir se ha atribuido en parte a un amplio metabolismo mediado por el CYP3A4 (Fitzsimmons et al. 1997) y secreción mediada por gp-P como se ha puesto de manifiesto en cultivos celulares de caco-2, MDR1-transfected LLC-PK1 y MDCKII/P (Kim et al. 1998; Williams et al. 2003).

Sin embargo, la pérdida de la dosis administrada debida a procesos de secreción mediados por la gp-P y/o metabolismo de primer paso mediado

por la enzima CYP3A4 sólo puede ser evaluada *in vivo*, dado que los estudios *in vitro* no tienen en cuenta muchos de los factores fisiológicos críticos que afectan a la circulación intestinal o entero-hepática.

Hasta la fecha no ha sido totalmente esclarecido el papel que juega el hígado y el intestino en la absorción oral y eliminación del saquinavir. El presente estudio fue diseñado, en parte, para diferenciar la influencia de estos órganos en los procesos de disposición del fármaco, mediante la administración IV, IP y PO, así como para poner de manifiesto y evaluar si existe pérdida de linealidad cinética tras la administración de distintas dosis y estudiar la influencia del ritonavir en todos estos procesos cuando se coadministra junto con saquinavir.

## ***6.2 Modelo animal y diseño experimental***

### **6.2.1 Fisiología y técnica quirúrgica**

La especie animal utilizada en este estudio ha sido la rata albina de la raza Wistar, macho y de peso comprendido entre 280 y 310 g. Ésta presenta similitud anatomofisiológica con el hombre en cuanto al proceso de absorción intestinal se refiere. Asimismo, resulta fácil de manipular y presenta elevada capacidad proliíca.

La canulación de la vena yugular de forma permanente permite la toma de muestras de forma sencilla y sin causar ningún trauma al animal, que permanece consciente y en libertad dentro de su jaula durante la realización de la experiencia. El animal, transcurridas 24h desde la operación, se recupera plenamente. Presenta algunos inconvenientes, como: el escaso volumen sanguíneo, ritmos biológicos muy rápidos, ausencia de vesícula biliar y hábitos nocturnos.

### **6.2.2 Toma de muestras**

Los estudios farmacocinéticos requieren, sobre todo en las primeras fases del ensayo, un amplio muestreo, para definir la fase rápida de disposición (fase  $\alpha$ ) en el caso de la administración intravenosa y la fase de absorción en el caso de la administración oral. Esto puede producir alteraciones en los animales. Por este motivo, se han tomado un máximo de 10-11 muestras con objeto de producir las menores alteraciones posibles al animal y el volumen extraído en cada muestra plasmática ha sido de 0,5 mL que se ha repuesto con suero fisiológico heparinizado, con el fin de no alterar la volemia del animal.

En los estudios farmacocinéticos es importante establecer adecuadamente el periodo de toma de muestras. En nuestras condiciones experimentales, tras la administración intravenosa de saquinavir se han recogido muestras durante 8-10h y para el ritonavir administrado sólo, durante 3,5h, tiempo suficiente para obtener una adecuada descripción de la fase terminal (fase  $\beta$ ), dado que estudios previos realizados por otros autores en ratas estimaban la  $t_{1/2}$  en 1,6 h (5mg/Kg rata dosis IV en rata) y 0,66 h (5mg/Kg dosis IV en rata), para el saquinavir y ritonavir, respectivamente (Kempf et al. 1995; Shibata et al. 2003). En los ensayos realizados tras la administración oral e intraperitoneal de ambos fármacos, hubo necesidad de ampliar el periodo de tiempo de muestreo hasta 24h, con objeto de describir eficientemente la fase terminal de la curva concentración plasmática-tiempo, ya que inicialmente se obtuvieron muestras durante un periodo de tiempo inferior, lo que resultó inadecuado. Por ello y ante la imposibilidad de un muestreo continuo durante 24h, estos grupos se han dividido en dos subgrupos, de modo que se han tomado muestras durante las primeras 12h

tras la administración a un primer grupo y, en el otro grupo, las muestras se han tomado entre las 12h y 24h posteriores a la administración.

### 6.2.3 Selección de dosis

En el caso del **saquinavir** se han ensayado diferentes dosis dentro de un amplio ámbito de dosis para poner en evidencia, en caso de existir, la pérdida de linealidad. Entre éstas, se ha seleccionado la dosis intermedia de 24 mg en rata, con el fin de aproximar el estudio a la dosis de fármaco que se utiliza habitualmente en terapéutica, ya que corresponde a la dosis de 1000 mg de saquinavir en humanos, que ha sido recientemente aprobada en combinación con 100 mg de ritonavir (b.i.d) (FDA 2002). Por otra parte, la dosis de **ritonavir** seleccionada para la administración intravenosa ha sido de 3 mg (equivalentes a 10mg/Kg de rata), equivalente a 100 mg en humanos. Sin embargo, en este caso, la necesidad de conseguir niveles plasmáticos cuantificables ha obligado a administrar por vía oral una dosis más elevada de la administrada por vía intravenosa. Por este mismo motivo y con el fin de observar la interacción, en caso de existir, entre los fármacos, se ha administrado 6 mg de ritonavir en lugar de 3 mg en la perfusión intravenosa y por vía oral en combinación con 24 mg de saquinavir.

Además, cabe decir que la dosis de ritonavir administrada por vía oral cuando se administra sólo, se ha preparado como una dilución del contenido de cápsulas blandas de ritonavir (Norvir®), siendo la dosis media administrada de  $4,6 \pm 2,5$  mg. No obstante, en cada ensayo, la dosis oral real administrada se ha cuantificado mediante patrones de concentración conocida. Por ello, se han normalizado los datos para una misma dosis en el posterior análisis farmacocinético.

## 6.2.4 Vías de administración

Respecto a las formas de administración de los fármacos, se han seleccionado la vía intravenosa, intraperitoneal y oral, con el fin de elucidar los procesos intestinales y hepáticos que condicionan el aprovechamiento del fármaco por parte del organismo. Se ha realizado una administración intravenosa en forma de bolus, de las dosis de 24 y 12 mg de saquinavir, así como de la dosis de 3 mg de ritonavir sólo. Mientras que para la administración de la mayor dosis de saquinavir, así como la dosis de 24 mg de saquinavir potenciada con ritonavir, se ha seleccionado una perfusión intravenosa a velocidad constante durante 30 min. Esta forma de administración se seleccionó con el fin de evitar episodios de toxicidad ocasionada por las concentraciones plasmáticas elevadas después de la administración del fármaco en bolus intravenoso. Además, *in vitro* se observó una precipitación del fármaco a través del microscopio óptico tras mezclar una alícuota del fármaco disuelto en los cosolventes a una concentración de 48 mg/mL con una alícuota de plasma, en proporciones aproximadas a cuando se administra un bolus IV de dicha dosis en la rata.

### **6.3 Técnica analítica**

La cromatografía líquida de alta resolución resulta ser una técnica adecuada para la correcta cuantificación y separación de los picos de saquinavir y ritonavir en las muestras plasmáticas. El método de valoración propuesto, se encuentra descrito en el *epígrafe 4.5*.

#### **6.3.1 Linealidad**

Se han construido curvas de calibración que abarcan el ámbito de concentración necesario para valorar las muestras por interpolación. En los *cuadros 4.5, 4.6 y 4.7* se muestran los ámbitos de concentraciones utilizados en cada caso. Y los *cuadros 5.1, 5.2, 5.3* se muestra la pendiente y ordenada en el origen de algunas de las rectas utilizadas en la valoración de las muestras, así como sus respectivos coeficientes de correlación que confirman la linealidad del método analítico.

#### **6.3.2 Precisión, exactitud y límite de cuantificación**

El ensayo de precisión y exactitud se ha realizado para un ámbito de concentraciones entre 0,047 a 24  $\mu\text{g/mL}$  de saquinavir y 0,047 a 15  $\mu\text{g/mL}$  de ritonavir. Los patrones se escogían al azar, dependiendo del ámbito de concentraciones de la recta utilizada, y se valoraban intercalados entre las muestras problema.

En la literatura, se indica que la precisión de la medida, representada por el coeficiente de variación, y la exactitud, representada por el error relativo, no deben ser superiores al 15% para que el método analítico se considere fiable (Oh et al. 1992). En la técnica descrita, los coeficientes de variación nunca han superado el 8,49%, 5,52%, 6,71% y 11,22% cuando se valoraban patrones de saquinavir, saquinavir combinado, ritonavir y

ritonavir combinado, respectivamente. Y los errores relativos el +14,46, +14,76, -11,66% y el 12,67% cuando se valoraban patrones de saquinavir, saquinavir combinado, ritonavir y ritonavir combinado, respectivamente, tal y como se observa en los *cuadros 5.4, 5.5 y 5.6*, que corresponden al peor de los resultados obtenidos; por ello, se puede considerar el método analítico utilizado como satisfactorio.

Se ha determinado el límite de cuantificación del método analítico empleado siguiendo la técnica descrita en el *epígrafe 4.6.3*, ya que en ocasiones se han valorado muestras de concentración muy baja. En los *cuadros 5.8, 5.9 y 5.10*, se muestran los límites obtenidos para cada ámbito de concentraciones estudiado, al igual que antes los cuadros muestran el peor de los resultados obtenido. Para el análisis farmacocinético se han tenido en cuenta las concentraciones que se observaban por debajo del límite de cuantificación (BLC), teniéndose identificadas en la base de datos. De manera que estas concentraciones deben ser interpretadas con cierta precaución. Finalmente, de 915 concentraciones plasmáticas de saquinavir, 23 se encuentran BLC, mientras que de ritonavir se dispone de 350 concentraciones plasmáticas, 5 de las cuales están BLC. En total se dispone de 1265 muestras.

## ***6.4 Análisis farmacocinético***

### **6.4.1 Análisis no compartimental**

Como primera aproximación a los datos se ha llevado a cabo un análisis no compartimental de los mismos, con el fin de obtener información sobre la posible existencia de no linealidad en algunos de los procesos del LADME, así como para determinar la biodisponibilidad del fármaco. Este

análisis se ha realizado de forma individual en aquellos grupos de los que se disponía un perfil completo de concentración plasmática-tiempo para cada animal. Mientras que en aquellos grupos, que dado su largo periodo de toma de muestras habían sido divididos en dos subgrupos de 12h, se ha llevado a cabo el análisis mediante el método promedio simple de datos, de manera que se realiza el promedio de las concentraciones plasmáticas para un mismo tiempo, obteniéndose datos de concentración plasmática-tiempo como un animal único.

#### 6.4.1.1 Linealidad cinética

Con objeto de estudiar la linealidad cinética en cada uno de los procesos del LADME, se han administrado dosis crecientes del fármaco dentro de una misma vía de administración.

##### 6.4.1.1.1 SAQUINAVIR

#### ❖ Administración del saquinavir por vía IV.

En primer lugar, con el fin de estudiar la linealidad cinética en la fase de disposición, se han comparado los parámetros farmacocinéticos obtenidos para las dosis de 12 (grupo 3), 24 (grupo 2) y 48 (grupo 1) mg de saquinavir administrado por vía intravenosa. Parámetros que se muestran en los cuadros 5.22-28 y figura 5.6.

El análisis de varianza no encuentra diferencias significativas ni en el  $AUC^{\infty}/D$ , ni en el  $Cl$ , para las dosis menores, sin embargo, sí que las encuentra entre el grupo de mayor dosis y los de menor dosis, siendo los valores de los parámetros de: 2,639, 1,596 y 1,450 mgh/L el  $AUC^{\infty}/D$  de los grupos 1, 2 y 3 respectivamente; 0,421, 0,672 y 0,753 L/h, el  $Cl$ , de los

grupos 1, 2 y 3, respectivamente. Este mayor valor de  $AUC^{\infty}/D$  en la dosis mayor, puede estar relacionado con su menor  $Cl$ .

Por otra parte, se encuentran diferencias significativas en el volumen de distribución, entre las distintas dosis para el  $V_{dee}$  (1,703-G.1, 1,253-G.2 y 1,813-G.3 L), y entre las dosis menores para el  $V_d$  (1,650-G.2 y 3,050-G.3 L). El  $V_{dee}$  es uno de los parámetros más interesantes y representativos de la fase de distribución, ya que da idea del volumen de agua al que accede el fármaco así como los falseamientos, en caso de existir.

También se encuentran diferencias significativas en la semivida de eliminación,  $t_{1/2\lambda}$ .

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras la administración del fármaco por vía intravenosa indican que cabe esperar que tanto el proceso de distribución como el de eliminación del fármaco sean no lineales.

#### ❖ Administración del saquinavir por vía oral.

Para detectar no linealidad cinética en la fase de absorción del fármaco, se han comparado los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras la administración de las tres dosis crecientes del fármaco por la vía oral, 12 (grupo 6), 24 (grupo 5) y 48 mg (grupo 4). Estos parámetros pueden observarse en los cuadros 5.29-34 y figura 5.7. El análisis de varianza encuentra diferencias significativas en el  $AUC^{\infty}/D$  obtenido para la dosis mayor respecto al valor obtenido para las dosis menores, siendo el de estas últimas, tres veces el valor de la mayor dosis (0,141, 0,416 y 0,392 mg/L, para los grupos 4, 5 y 6, respectivamente). La tendencia contraria se observa cuando se analiza el aclaramiento aparente,  $Cl/F$ , aunque en este caso sólo se obtienen diferencias significativas entre los grupos 4 y 6, (8,297, 2,402 y

3,070 L/h, para los grupos 4, 5 y 6, respectivamente). Estos resultados aunque pueden estar falseados por la biodisponibilidad ( $F$ ), indican no linealidad en la eliminación.

En este caso, el análisis de varianza y el test no paramétrico de Mann-Whitney encuentran diferencias significativas en el  $Vd/F$ , entre los grupos de mayor y menor dosis. El volumen de distribución además se puede encontrar falseado por la fracción de dosis absorbida.

#### ❖ Administración del saquinavir por vía IP.

El objeto primordial de la administración del fármaco por vía IP es deslindar el metabolismo de primer paso hepático del intestinal; sin embargo, la administración de distintas dosis por vía IP permite observar, además, si existe o no linealidad cinética en los procesos del LADME, es decir en la absorción IP del fármaco y en la disposición del mismo. La *figura 5.8* muestra la tendencia de los distintos parámetros farmacocinéticos cuando se administran las dosis de 24 y 12 mg por vía intraperitoneal.

En este caso no era aplicable ninguna de las pruebas estadísticas, ya que se realiza un análisis no compartimental utilizando el método promedio simple de datos, en ambos grupos.

En primer lugar se observa que el  $AUC^\infty/D$  es el doble para la dosis 12 respecto a la de 24 mg. Esto significa que ambas dosis muestran un mismo valor de  $AUC^\infty$ , lo que podría indicar una no linealidad en la disposición, sin embargo, tras la administración de estas dosis (12 y 24 mg) por vía IV no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada grupo. Además, tras la administración del fármaco por vía IP el valor de  $t_{max}$  es seis veces mayor

para la dosis de 24 mg, y  $C_{max}/D$  en la dosis de 12 mg es cuatro veces el valor obtenido para la dosis de 24 mg, lo que es bastante paradójico.

También  $Vd/F$  es mayor para la dosis de 24 mg, aunque puede estar falseado por  $F$ , y  $t_{1/2\lambda}$  sigue esta misma tendencia.

#### 6.4.1.2 Análisis de la biodisponibilidad y caracterización del efecto de 1<sup>er</sup> paso hepático e intestinal

Con el fin de determinar la biodisponibilidad oral absoluta del fármaco se ha administrado una misma dosis por vía PO e IV, tomando el AUC de esta última como referencia. Por otra parte, se ha seleccionado la vía IP, ya que obvia los procesos implicados a nivel intestinal, permitiendo establecer la participación relativa del hígado e intestino en las pérdidas presistémicas del fármaco. De este modo se ha determinado la biodisponibilidad IP absoluta, tomando como referencia el AUC de la vía IV, y la biodisponibilidad relativa, comparando este mismo parámetro IP con el oral.

##### 6.4.1.2.1 SAQUINAVIR

En el *cuadro 5.72* se muestran los valores de biodisponibilidad oral absoluta de saquinavir, debido a que el AUC no sólo depende de la biodisponibilidad sistémica sino que también depende del aclaramiento, y éste último no ha permanecido constante entre los distintos grupos, los valores de biodisponibilidad que se muestran deben ser interpretados con precaución. Como puede observarse dependiendo de qué grupos se escojan como referencia, se obtiene un valor de biodisponibilidad u otro.

❖ **Administración de dosis 48 mg de SQV por vía IV y PO.**

Cuando se comparan los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administrar la dosis de 48 mg por vía IV (grupo 1) y PO (grupo4), *cuadros 5.36-39* y *figura 5.9*, el análisis de varianza encuentra diferencias significativas en el  $AUC^{\infty}/D$  siendo mayor el de la vía intravenosa respecto a la oral, lo que indica pérdidas presistémicas, no pudiendo diferenciar entre las intestinales y las hepáticas.

Asimismo, el test no paramétrico de Mann-Whitney encuentra diferencias significativas en  $t_{1/2\lambda}$ , siendo mayor para la vía oral.

En los parámetros  $Vd$  y  $Cl$  se puede observar un mayor valor cuando el fármaco se administra por vía oral, aunque en este caso ambos parámetros son aparentes y pueden estar falseados por la F.

En general, se observa el comportamiento esperado y común. Y la biodisponibilidad oral absoluta calculada entre estos dos grupos resulta de 5,34 % valor que está en línea con el descrito en la bibliografía (Shibata et al. 2002), que la estiman en un 4%.

#### **❖ Administración de dosis 24 mg de SQV por vía IV, IP y PO.**

Para analizar la biodisponibilidad y deslindar el metabolismo intestinal y hepático, se comparan los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administrar una misma dosis de 24 mg por vía IV (grupo 2), IP (grupo 7) y PO (grupo 5), que pueden observarse en los *cuadros 5.40-42*, *5.47-48* y *5.51*, y *figuras 5.10*, *5.12* y *5.14*. El análisis de varianza encuentra diferencias significativas en el  $AUC^{\infty}/D$  entre la vía IV e PO, pero no entre la IV e IP, no siendo aplicable entre la IP y PO.

Se observa un  $AUC^{\infty}/D$  de 1,596, 0,416 y 1,316 mgh/L, por vía IV, PO e IP, respectivamente. Es decir, una pequeña diferencia no significativa entre la administración IV e IP, siendo la diferencia de ambas vías con la oral bastante importante, lo que significa que pueden existir importantes pérdidas presistémicas a nivel intestinal. Se observa una biodisponibilidad oral calculada del 26,08% mientras que la IP es del 82,47%, cuadros 5.72 y 5.73. En el cuadro 5.74 se muestra la biodisponibilidad relativa, que diferencia entre el componente hepático e intestinal. Se observa en este caso que sólo un 31,62 % del fármaco escapa al metabolismo de primer paso intestinal, lo que indica que la pérdida de fármaco a nivel intestinal es elevada.

Por otra parte, se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el parámetro  $t_{1/2\lambda}$ , cuando se administra el fármaco por las distintas vías. Siendo el valor obtenido tras la administración del fármaco por vía IP el mayor (10,232 h), seguido del obtenido cuando se administra por vía oral (6,076 h) y por vía IV (1,753 h), este resultado puede reflejar un fenómeno de flip-flop, en el que en la fase terminal de la curva se solapan procesos de eliminación junto con procesos de absorción, siendo este fenómeno aparentemente más importante en la vía IP.

Además, el  $t_{max}$  resulta ser 22 veces superior cuando se administra saquinavir por vía oral que cuando se administra por vía IP, y aparentemente no se observan diferencias en  $C_{max}/D$ .

❖ **Administración de dosis de 12 mg de SQV por vía IV, IP y PO.**

Para analizar la biodisponibilidad y deslindar el metabolismo intestinal y hepático, se comparan los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administrar una misma dosis de 12 mg por vía IV (grupo 3), IP (grupo 8) y PO (grupo 6), cuadros 5.43-46, 5.49-50 y 5.52-53, y figuras 5.11, 5.13 y 5.15. El análisis de varianza encuentra diferencias significativas en el  $AUC^{\infty}/D$  obtenido tras la administración del fármaco por vía IV e PO, siendo el valor de ésta última menor, lo cual implica pérdidas presistémicas de la dosis de fármaco administrada. Ahora bien, cuando se ha tratado de elucidar el primer paso hepático con la administración IP, encontramos un valor de  $AUC^{\infty}/D$  superior al obtenido tras administrar el fármaco por vía IV, 2,476 frente a 1,450 mg/L. En este caso, el análisis de varianza no encuentra diferencias significativas entre este par de valores, pero si se hace caso a la tendencia de estos parámetros sólo cabría una explicación. Dado que una biodisponibilidad mayor que la alcanzada por vía IV no es posible, este mayor  $AUC^{\infty}/D$  podría deberse a un menor aclaramiento en la vía IP. Por tanto no es posible saber qué fracción de la dosis de fármaco escapa del hígado hacia el torrente circulatorio, aunque parece ser una fracción importante. Si se analiza el valor de  $Vd$  tras la administración IV e IP, aparentemente no existen diferencias, lo que indicaría una F de prácticamente uno, que corroboraría por tanto la disminución que se da en el  $Cl$  aparente en la vía IP.

En este caso se observa una biodisponibilidad oral absoluta de un 27% que indica importantes pérdidas presistémicas, pero la biodisponibilidad del fármaco cuando se administra por vía IP resulta de 170,75%, lo que indica un falseamiento debido al aclaramiento y parece ser que una parte

importante del fármaco escapa al metabolismo de primer paso hepático. Mientras que sólo el 15,8% escapa de las pérdidas intestinales.

Por último, las diferencias en el parámetro  $t_{1/2\lambda}$ , no son tan evidentes como en la administración de la dosis media, aunque el análisis de varianza encuentra diferencias significativas en el valor de dicho parámetro cuando el fármaco se administra por vía IV e IP.

#### 6.4.1.2.2 RITONAVIR

##### ❖ Administración de 3 mg y 4,6 mg de RTV por vía IV y PO.

En los cuadros 5.63-64 y figura 5.19, se compara los parámetros farmacocinéticos del ritonavir tras la administración de 3 y 4,6 mg administrado sólo, por vía IV y PO. El análisis de varianza no muestra diferencias significativas en el  $AUC^{\infty}/D$ , aunque es menor el valor que se obtiene cuando el fármaco se administra por vía oral, lo que puede indicar, en caso de que el  $Cl$  del fármaco permanezca constante para las distintas vías y dosis administradas, una biodisponibilidad elevada, que resulta ser de un 84%, valor similar al determinado por otros autores que la estimaban en un 70% (Kempf et al. 1995; Eron 2000).

El  $Vd$  aparente es mayor cuando el fármaco se administra por vía oral, aunque puede estar falseado por la biodisponibilidad.

Por último, el análisis de varianza detecta diferencias significativas en el parámetro  $t_{1/2\lambda}$ , siendo mayor el que se estima cuando el fármaco se administra por vía oral, lo que quizás refleje un fenómeno de flip-flop.

En este caso, como paso previo al análisis no compartimental, se han normalizado sus concentraciones plasmáticas respecto a la dosis real administrada con el fin de poder aplicar el método promedio simple de datos.

### 6.4.1.3 Estudio de la interacción

#### 6.4.1.3.1 SAQUINAVIR

##### ❖ Administración de 24 mg de SQV sólo y en combinación con RTV por vía IV y PO.

En los cuadros 5.54-5.56 y figuras 5.16-17, se comparan los parámetros farmacocinéticos cuando se administra el saquinavir sólo a la dosis de 24 mg y en combinación con 6 mg de ritonavir tanto por vía intravenosa como por vía oral.

El análisis de varianza encuentra diferencias significativas en todos los parámetros farmacocinéticos excepto en el  $V_{dee}$  y  $C_{max}/D$ , cuando se administra el saquinavir por vía intravenosa. En concreto, el  $AUC^{\infty}/D$  del saquinavir resulta ser de 1,596 cuando se administra sólo, y de 10,984 h/L cuando se coadministra con ritonavir. En consecuencia, como por definición la biodisponibilidad en la vía intravenosa es uno, este resultado indica que al administrar simultáneamente ambos fármacos el ritonavir provoca una disminución en el aclaramiento del saquinavir, que puede observarse en los resultados obtenidos, siendo el  $Cl$  de 0,672 L/h cuando se administra sólo y de 0,091 L/h cuando se administra en combinación, es decir el ritonavir disminuye el  $Cl$  del saquinavir unas seis veces.

En cuanto a la vía oral, se observa un aumento en el  $AUC^{\infty}/D$  del saquinavir cuando se administra en combinación con ritonavir (6,603 h/L) de 15 veces respecto a cuando se administra sólo (0,416 h/L). Por lo que en este caso, la posible interacción también se produce sobre el proceso de incorporación del fármaco al organismo, produciendo por una parte un aumento de biodisponibilidad y por otra una disminución del aclaramiento. Su biodisponibilidad se ve duplicada, de modo que si se toma como referencia la dosis de 24 mg de saquinavir sólo y en combinación, pasa de 26,083 a 60, 112 %.

Por último, si se compara los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administrar el fármaco por vía IV y PO, cuando se administra la dosis de 24 mg de saquinavir en combinación con ritonavir, *cuadro 5.57* y *figura 5.18*, se observa diferencias en  $AUC^{\infty}/D$ , es decir que siguen existiendo pérdidas presistémicas, aunque a priori se ven disminuidas.

#### 6.4.1.3.2 RITONAVIR

##### ❖ Administración de 3 y 6 mg de RTV por vía IV y 4,6 y 6 mg por vía oral (sólo y en combinación)

En los *cuadros 5.67-71* y *figuras 5.21-22*, se compara el efecto que pueda tener el saquinavir sobre los parámetros farmacocinéticos del ritonavir cuando ambos fármacos se administran conjuntamente. De este modo, si comparamos los parámetros farmacocinéticos obtenidos cuando el fármaco se administra por vía intravenosa, el análisis de varianza encuentra diferencias significativas solamente en el  $V_{dee}$ , siendo mayor cuando se coadministra el ritonavir junto con saquinavir. Este resultado podría deberse a un desplazamiento de la unión del fármaco a las proteínas plasmáticas cuando se coadministra con saquinavir. A su vez podría explicar la

tendencia del  $AUC^{\infty}/D$ , que disminuye cuando se combina con saquinavir, aunque no es estadísticamente significativa. El ritonavir ha sido descrito no sólo como inhibidor del metabolismo de otros fármacos, sino que también como autoinductor de su propio metabolismo (Hsu et al. 1997; Hsu et al. 1998), en este caso la autoinducción no es probable, dado que se está administrando en dosis única, la posible explicación por tanto de estas tendencias, sería el desplazamiento de la unión a proteínas, de modo que habría más fármaco libre para eliminarse y el  $Cl$  aparentemente estaría aumentado.

En el caso de la administración oral de ritonavir sólo y en combinación, se observa que es 1,6 veces el valor de  $AUC^{\infty}/D$  obtenido cuando se administra en combinación. Es decir, se obtiene la misma tendencia que cuando el fármaco se administra por vía intravenosa, siendo la relación de los valores similar. Por lo que en este caso no es tan evidente si la interacción de los fármacos se da también a nivel de la incorporación de fármaco al organismo, o sólo en la disposición, como ocurría en el caso del saquinavir. El  $Cl/F$  sigue la misma tendencia cuando el fármaco se administra por vía intravenosa, pero además, cuando el fármaco se administra por vía oral este parámetro puede estar falseado por la F.

Se observa un aumento de la biodisponibilidad cuando se coadministra con saquinavir, alcanzando un 96 %.

En los cuadros 5.65-66 y figura 5.20, se compara los parámetros farmacocinéticos del ritonavir obtenidos tras la administración del fármaco por la vía IV y por vía oral cuando se administra la dosis de 6 mg en combinación con saquinavir.

El análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos analizados. Aunque si se observan los valores de  $t_{1/2\lambda}$ , se aprecia que siguen una tendencia similar a la del caso anterior. Por otra parte, los valores de  $AUC^\infty/D$  son similares, lo que implicaría una biodisponibilidad cercana al 100% siempre que el  $Cl$  sea constante.

El  $Vd$  aparente parece ser mayor para la vía oral, aunque puede estar falseado por la F.

En definitiva, el análisis no compartimental no ha sido suficiente para alcanzar los objetivos planteados, dado que los resultados son de difícil interpretación tanto para el saquinavir como para el ritonavir.

Para éste primero, la no linealidad en la eliminación, que se ha puesto de manifiesto cuando se han administrado las distintas dosis por vía intravenosa, e incluso aparentemente entre las distintas vías, dificulta el cálculo de la biodisponibilidad, y por tanto no es factible dilucidar el papel del hígado y del intestino. El tratamiento no compartimental ha permitido establecer la falta de linealidad cinética en la fase de disposición y muy probablemente en la fase de la incorporación del fármaco al organismo, esto último sobre todo se ha puesto de manifiesto en la interacción del saquinavir con el ritonavir, pero no permite establecer el mecanismo responsable de la misma. También ha permitido poner de manifiesto la interacción entre los dos fármacos, interacción que parece que tiene lugar en la fase de la eliminación y de la incorporación del saquinavir al organismo.

En el caso del ritonavir, los resultados obtenidos tras el análisis no compartimental también son de difícil interpretación. Si bien, se puede intuir que existe no linealidad cinética en el proceso de distribución, posiblemente por unión a proteínas plasmáticas, sería necesario ampliar el diseño experimental para poner de manifiesto realmente los procesos no lineales.

## **6.4.2 Análisis compartimental. Modelo no lineal de efectos mixtos**

Los pares de valores de concentración plasmática-tiempo de las poblaciones de estudio se utilizan para caracterizar los modelos farmacostatísticos que describen el comportamiento farmacocinético del saquinavir y ritonavir, mediante el modelo no lineal de efectos mixtos a través de la regresión no lineal por mínimos cuadrados extendidos, con doble precisión y estimación de primer orden (FO), implementada en el software NONMEM.

Para ambos fármacos el análisis mediante el modelo no lineal de efectos mixtos se ha llevado a cabo en dos fases. En primer lugar se abordó la elección del modelo farmacocinético, para más tarde centrarse en la optimización del modelo escogido y obtención de los parámetros farmacocinéticos estudiados.

### **6.4.2.1 SAQUINAVIR**

El modelado farmacocinético se ha abordado de manera secuencial, implementando mayor grado de complejidad en el modelo escogido y observando si se mejora el ajustado obtenido.

En una primera fase, se desarrollan modelos empíricos basados en los modelos farmacocinéticos clásicos bi y tricompartmental que consideran los mismos o distintos valores para los distintos parámetros farmacocinéticos.

En el *cuadro 5.76* se muestra algunos de los modelos desarrollados para el modelado farmacocinético lineal de los datos intravenosos (etapa 1),

se indica el número de parámetros implementados y la función mínima objetivo obtenida (FMO).

Se comenzó implementando un modelo bicompartimental tradicional (IV003) utilizando la subrutina ADVAN3. Se establecieron valores comunes a todos los grupos (etapa 1) para los parámetros considerados, volúmenes de distribución ( $V_c$ ), constante de eliminación ( $K_{10}$ ), de distribución ( $K_{12}$ ) y de retorno ( $K_{21}$ ), obteniéndose una FMO de 620,169.

A continuación, se realizaron diferentes modificaciones al modelo de partida, otorgando libertad a un mismo parámetro para tomar valores distintos dependiendo del grupo. De este modo se evaluaba si existía no linealidad en algún proceso. Se lanzaron, entre otros, los modelos que se muestran en el *cuadro 5.76*. Se observó una mejora en FMO, llegando a 487,6 para el **IV012**. En todos ellos se obtuvo la matriz de covarianza.

En el *cuadro 5.77* se muestra los valores poblacionales obtenidos para los distintos parámetros farmacocinéticos y los factores empíricos que modifican el parámetro para cada grupo, tras ajustar el modelo IV012 a los datos. De este modo se observa que el proceso de eliminación es no lineal, pero se encuentra una tendencia del  $Cl$  que no responde a un comportamiento lógico, debería de disminuir al aumentar la dosis por saturación del mecanismo eliminador, pero en este caso se observa que para la menor dosis de 12 mg ( $G_3$ ) el aclaramiento es mayor que el obtenido cuando se administra la dosis mayor, de 48 mg ( $G_1$ ); pero menor que cuando se administra la dosis media de 24 mg ( $G_2$ ), de manera que sigue la siguiente tendencia:  $Cl_{G_9} < Cl_{G_1} < Cl_{G_3} < Cl_{G_2}$ . El hecho de que el grupo administrado con 24 mg de saquinavir y coadministrado con ritonavir ( $G_9$ ), presente aparentemente menor aclaramiento, podría explicarse por una

disminución de la eliminación del saquinavir por producirse una inhibición del metabolismo del saquinavir por parte del ritonavir. Por otra parte, cabría esperar un menor aclaramiento en el grupo administrado con la dosis media de 24mg (G2), en caso de que hubiera una saturación del proceso de biotransformación metabólica. También se puede intuir una no linealidad en la distribución, ya que el modelo considera distintos valores de  $V_c$  para cada grupo.

Desde un punto de vista mecanicista se ha intentado dar explicación a estas observaciones, por lo que se desarrollaron diversos modelos no lineales, algunos de los cuales se muestran en el *cuadro 5.78*. Con los modelos desarrollados se pretende discernir en qué procesos del LADME se da, en caso de existir, no linealidad.

Entre los modelos que se consideran, teniendo en cuenta la información adquirida en el paso previo, y que el saquinavir parece ser que se une en un 97% a proteínas plasmáticas, se incorpora, un proceso de unión a proteínas plasmáticas y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten, entre otros posibles procesos. Una posible saturación de las proteínas plasmáticas podría explicar que a la dosis de 24 mg quede más fármaco libre disponible para eliminarse, por lo que aparentemente se aclararía más que con la dosis de 12 mg, mientras que a la dosis de 48 mg podría encontrarse saturados tanto el proceso de unión a proteínas plasmáticas como el de eliminación.

Finalmente se obtiene el modelo **IV034**, que alcanza tan buena FMO como el empírico, siendo de 483,5. En el *cuadro 5.79* se muestran los resultados obtenidos para este modelo que considera una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas, es decir, que el equilibrio de la unión no

se produce de forma instantánea sino que tarda un tiempo en alcanzarse, y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten. Del valor obtenido de QMA (cantidad máxima de fármaco que puede unirse a las proteínas plasmáticas) (3710 mg), se desprende que en principio el proceso no se satura a las dosis administradas. Realizando el cálculo aproximado de los moles de saquinavir que podrían unirse a proteína plasmática, en base al volumen de plasma de un animal, las concentraciones de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida y albumina en el plasma de rata y la estequiometría de unión del saquinavir a dichas proteínas (valores tomados de la literatura (Chauvelot-Moachon et al. 1988; Schon et al. 2003; Adedapo et al. 2005)), se llega a que serían necesarios 4,62 mg de saquinavir para saturar por completo a ambas proteínas. Valor muy alejado del que predice el modelo de 3710 mg. El valor predicho por el modelo, está sobreestimado, pero el hecho de que no se encuentre estimado con seguridad, no invalida la funcionalidad del modelo. Este parámetro estaría indicando que el proceso de unión a proteínas plasmáticas actúa como si de otro compartimento periférico se tratase, produciendo un retraso en la distribución.

Entre los resultados, se observa que el grupo administrado con 24 mg de saquinavir y coadministrado con ritonavir (G9), presenta una  $K_m$  5 veces superior al valor obtenido para el resto de grupos, que está parametrizada por un factor empírico  $FK_{m(G9)}$ . Ello indica una pérdida de afinidad por la enzima implicada en el proceso metabólico cuando se administra el saquinavir junto con ritonavir, por lo que se pone de manifiesto la interacción de ambos fármacos. Este resultado concuerda con los resultados del análisis no compartimental, que ya mostraban una diferencia en  $AUC/D$

de 6 veces, tras la administración intravenosa del saquinavir sólo y en combinación.

Posteriormente, se incorporaron los datos de saquinavir correspondientes a la administración intraperitoneal. Se realizó una primera exploración empírica del proceso de absorción basándose en el modelo alcanzado con los datos IV, modelo IV034. En el *cuadro 5.80* se muestra algunas de las alternativas probadas, llegándose a que el modelo que mejor satisface los datos tenía que considerar diferente constante de absorción y biodisponibilidad para cada grupo, es decir que se da un proceso no lineal en el proceso de incorporación del fármaco al organismo. En el *cuadro 5.81* se muestra algunas de las alternativas desarrolladas para tratar de explicar la no linealidad en la absorción, de donde se desprende que el modelo que mejor FMO arrojó fue el **IP035** ( $FMO = 334,8$ ), que considera que una fracción de la dosis administrada precipita ( $FR_8$ ), siendo la disolución factor limitativo de la absorción, que está parametrizada por las constantes de disolución ( $K_D$ ), siendo la constante de disolución obtenida en el grupo administrado con 12 mg de saquinavir ( $G_8$ ) mayor que la obtenida en el grupo administrado con 24 mg ( $G_7$ ). Ello indicaría una disolución más rápida del fármaco cuando se administra una dosis menor, lo que indica que el precipitado es diferente dependiendo de la dosis administrada.

En el modelo se itera la fracción de dosis que precipita en el grupo 8 ( $FR_8$ ) y se expresa la del grupo 7 ( $FR_7$ ) a través de las siguientes expresiones:

$$\begin{aligned}
 FR_7 &= \frac{Q_{pp7}}{D_7} & FR_8 &= \frac{Q_{pp8}}{D_8} \\
 1 - FR_7 &= \frac{Q_{dis7}}{D_7} = \frac{Q_{dis7}}{D_8 \cdot 2} & 1 - FR_8 &= \frac{Q_{dis8}}{D_8} \\
 Q_{dis8} &= Q_{dis7} \\
 D_8 \cdot (1 - FR_8) &= 2D_8 \cdot (1 - FR_7) \\
 \boxed{\frac{1 + FR_8}{2} = FR_7}
 \end{aligned}$$

**Figura 6.1.** Relación de las fracciones de dosis que precipitan tras la administración intraperitoneal de 12 y 24 mg, grupos 8 y 7, respectivamente.

En las que  $FR_i$ , es la fracción de dosis de fármaco que precipita en tanto por uno,  $Q_{pp_i}$ , la cantidad que precipita,  $D_i$ , es la dosis administrada,  $Q_{dis_i}$ , la cantidad de fármaco disuelto. ( $i$  se refiere al grupo de animales, 7 u 8).

El modelo también considera unión dinámica a proteínas plasmáticas y una cinética de eliminación de Michaelis-Menten. Se obtiene una biodisponibilidad del 100%.

En este estadio del modelado, se exploró la variabilidad interindividual, se estudió la posible existencia de covarianza entre los parámetros farmacocinéticos y finalmente se modeló de manera exponencial sin covarianza entre parámetros. De igual modo se exploró la variabilidad residual de las concentraciones plasmáticas, dónde se vió una mejora en los ajustados cuando se consideraba un modelo exponencial aditivo, de manera que la variabilidad residual consta de un componente exponencial, y un aditivo, este último obliga a que exista un valor mínimo de error residual, que afectará por igual a todas las concentraciones plasmáticas, de manera que otorga un porcentaje de error mayor para las concentraciones

plasmáticas bajas. Y así complementa al porcentaje de error representado por el componente exponencial que afecta con un mismo peso a todas las concentraciones.

En la etapa 3, se incorporaron los datos obtenidos tras la administración oral de saquinavir. Siguiendo el mismo procedimiento, se explora de manera empírica la fase de absorción oral, partiendo como base del modado alcanzado en el paso anterior (IP035). Tal y como muestra el *cuadro 5.83* el modelo que mejor satisface los datos, considera diferente constante de velocidad de absorción oral y biodisponibilidad para cada grupo. Desde una perspectiva mecanicista, se desarrollan modelos que consideran uno o más compartimentos de tránsito intestinal y se incorporan procesos de secreción hacia estos compartimentos. La incorporación de estos procesos de secreción y la localización de los efectos de primer paso, llevan a tratar de diferenciar ciertos compartimentos.

En el *cuadro 5.84* se muestra alguno de los modelos desarrollados en este sentido, concretamente estos modelos diferencian un compartimento al que se ha denominado “espacio portal” que engloba enterocito y hepatocito, desde este compartimento se consideraba un proceso de secreción y un proceso de eliminación con cinética de Michaelis-Menten, pero desde un punto de vista fisiológico es poco real. Además, la dosis IP debería alcanzar el compartimento hepatocito. Por ello, se desarrollan modelos que distinguen entre hepatocito y enterocito, permitiendo así, que la dosis IP alcance directamente este primer compartimento. Estos modelos resultan ser fisiológicamente más reales, pero no satisfacen los datos experimentales. El motivo principal parecía ser que se encontraba en los datos IP, que

indicaban que una fracción importante de la dosis de fármaco administrada debía escapar del efecto de primer paso hepático.

Por ello, se desarrollan nuevos modelos considerando que los procesos metabólicos también ocurren en enterocito.

Llegados a este punto, debido a la complejidad que adquieren los modelos, se comienza a editar en términos fisiológicos, utilizando expresiones de aclaramientos, flujos y volúmenes para los distintos compartimentos.

Debido a los cambios realizados a nivel de disposición con la incorporación de estos nuevos compartimentos, se realiza un proceso de retroalimentación, en el que se vuelve a las etapas anteriores (1 y 2) y se ajustan nuevos modelos, con los cambios incorporados, a los datos obtenidos tras administrar el fármaco por vía intravenosa e intraperitoneal. En primer lugar, con el fin de evaluar como afectan estos cambios a la bondad del ajuste de estos datos experimentales y por otra parte, de este modo se obtienen valores para los parámetros de disposición y de absorción intraperitoneal, que pueden fijarse para facilitar la exploración de los procesos de absorción oral.

De los modelos que se muestran en el *cuadro 5.85* que tienen en cuenta un compartimento hepatocito, enterocito e incorporan uno o más compartimentos de tránsito intestinal, con la misma o diferentes constantes de velocidad de absorción, procesos de secreción, así como que la absorción es completa o incompleta; se selecciona el modelo **0055** como modelo que mejor satisface los datos experimentales de saquinavir, que alcanza una FMO de 174, 4 y cuya estructura puede observarse en la *figura 4.10*.

A continuación, tras incorporar al análisis los datos experimentales del grupo administrado con 24 mg de saquinavir en coadministración con ritonavir, por vía oral, grupo 10 (etapa 4), se obtiene el modelo **o055f** cuyos parámetros se muestran en el *cuadro 5.87*.

El modelo considera dos compartimentos de tránsito intestinal, con diferentes constantes de velocidad de absorción, siendo de 0,245 y 0,166 h<sup>-1</sup> para el primer y segundo compartimento, respectivamente, la constante de tránsito de un compartimento a otro, es de 0,583 h<sup>-1</sup>, lo que indica que el fármaco permanece 1,715 h en cada uno de los compartimentos de tránsito intestinal, siendo la absorción del fármaco completa. Además, incorpora un proceso de secreción desde el enterocito al segundo compartimento de tránsito intestinal, proceso caracterizado por una Kmse de 0,017 mg/L y un aclaramiento plasmático intrínseco de secreción intestinal (Clise) de 2,83·10<sup>-6</sup> L/h, lo que indica que no tiene gran afinidad por el transportador de secreción intestinal y que el proceso de secreción es poco importante. Por otra parte, presenta un proceso metabólico tanto en hígado como en intestino, siendo la Km en ambos procesos de 72,0 mg/L, es decir que la afinidad por la enzima se ha considerado la misma, ocurra el proceso metabólico en un lugar u otro. Esta Km está multiplicada por un factor de 5 en el caso del grupo administrado con 24mg de saquinavir junto con ritonavir por vía IV (G9) y por 10,2 en el caso del grupo administrado con 24mg de saquinavir junto con ritonavir por vía oral (G10), indicando que en presencia de ritonavir el saquinavir tiene menos afinidad por la enzima metabólica, se produce una competencia de los fármacos por esta enzima. Además el hecho de que para el grupo 10, administrado por vía oral, el factor sea mayor que cuando la administración es IV (G9) apoya la teoría de

un metabolismo intestinal predominante para el saquinavir, en el que tras la administración oral, el ritonavir estará inhibiendo el metabolismo de primer paso intestinal. El aclaramiento plasmático intrínseco en hepatocito e intestino debido al proceso metabólico,  $Cl_i$  y  $Cl_{ie}$ , respectivamente, ha sido de 0,31 y 4,35 L/h, lo que indica que el proceso metabólico más importante ocurre a nivel intestinal. En la literatura consultada hasta el momento algunos autores atribuyen el efecto de primer paso mayoritariamente al hígado. En intentos por diferenciar *in vivo* la contribución de hígado e intestino, Sinko et al. 2004, llevaron a cabo ensayos en conejos tomando muestras en sangre portal y sangre sistémica arterial tras la administración IV de tres dosis crecientes de 1 a 5 mg/Kg de saquinavir y administración en intestino delgado (USI) de 5mg/Kg. Estos autores realizaron un análisis no compartimental de los datos, concluyendo que el metabolismo y la secreción intestinal son significativas pero en menor medida que el metabolismo hepático, siendo la fracción de la dosis de fármaco que escapa del hígado del 56%, la fracción de dosis administrada que escapa del intestino del 61%, la fracción que se absorbe desde lumen de un 12% y finalmente la biodisponibilidad que obtienen es de 4%. Si se compara con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en el que el modelo es capaz de calcular para cada concentración del fármaco en el compartimento enterocito o hepatocito y en un instante determinado, la tasa de extracción correspondiente, tal y como se observa en las *figuras 5.27-28* que representa la evolución de las fracciones que escapan de los dos órganos metabolizadores en función de la concentración, la  $F_E$  sufre variaciones con la concentración y obtiene valores que oscilan entre un 15% para concentraciones del orden de bajas hasta un 60% para concentraciones elevadas de saquinavir en enterocito, ya que se satura el sistema enzimático.

Aunque parece ser que sin llegar a saturarlo por completo en el ámbito de concentraciones estudiado. Éste último valor se encuentra próximo al obtenido por Sinko et al. Mientras que el modelo del presente trabajo obtiene valores de  $F_h$  que no sufren grandes variaciones con la concentración, situándose ésta entre un 80 y 86%, frente al 56% que obtenían estos autores en su modelo. Estos resultados indican que en el modelo presentado en esta Memoria, el proceso de biotransformación más importante se da en el intestino. Por lo que la baja biodisponibilidad oral del saquinavir, se debe principalmente al metabolismo de primer paso intestinal, y no a una falta de absorción del fármaco, ya que el modelo presentado en esta Memoria, es compatible con una absorción completa del saquinavir.

Por otra parte, el modelo utilizado por estos autores no es capaz de distinguir entre los procesos de secreción y metabolismo a nivel intestinal. Destacar que en el ámbito de concentraciones estudiado obtienen linealidad cinética, contrariamente a lo que los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto. Y utilizan la metodología no compartimental para analizar sus resultados, que como se ha puesto de manifiesto en el presente trabajo, no parece ser suficiente para vislumbrar el perfil farmacocinético del saquinavir.

Shibata et al. 2002, utilizando datos *in vitro* e *in vivo* (estos últimos tras la administración de una dosis única de 20mg/Kg y 5mg/Kg por vía oral e IV, respectivamente), desarrollaron un modelo fisiológico de interacción entre inhibidores de proteasa, entre los que se encuentra la combinación saquinavir-ritonavir. De modo que el modelo desarrollado para el saquinavir también considera los compartimentos enterocito y hepatocito y tiene en

cuenta posibles procesos metabólicos en ambos compartimentos. Sin embargo, no tiene en cuenta el proceso de secreción intestinal, el cual los propios autores indican que debería de ser incluido, ya que es posible que dicho proceso participe en la interacción entre los fármacos, y que podría corregir las contradicciones que encuentran entre sus resultados *in vivo* e *in vitro*. Entre los parámetros que consideran en el modelo para simular los datos de saquinavir, se encuentra un  $Cl_{ih}$  de 11,16 L/h y  $Cl_{ie}$  de 0,25 L/h y una  $K_a$  de 2,852  $h^{-1}$  (calculada a partir del modelo monocompartimental clásico). Las fracciones de dosis de fármaco administrado que escapan del hepatocito ( $F_h$ ) y del enterocito ( $F_E$ ) son 51,1% y 97,4%, respectivamente. La biodisponibilidad oral de 4,1%, por lo que la fracción absorbida calculada es de un 8,3%. En este caso los valores utilizados por estos autores también sitúan el proceso metabólico más importante en el hígado.

Sin embargo, autores como Thummel et al.1997, ya vaticinaban la importancia de las pérdidas presistémicas debidas a un intenso proceso metabólico intestinal, atribuyendo la elevada tasa de extracción observada *in vivo* (0,96) al primer paso intestinal. Estos autores indican que en base a estudios realizados por otros autores, como (Vickers et al. 1992), con fármacos sustrato de CYP3A, se espera que el aclaramiento intrínseco microsomal en la mucosa intestinal, de la mayor parte de fármacos sustrato de dicho sistema enzimático, sea unas tres veces el aclaramiento intrínseco microsomal hepático. Además, éstos atribuyen mayoritariamente al CYP3A expresado en intestino, la baja biodisponibilidad así como la elevada variabilidad inter-individual de los niveles plasmáticos de los fármacos que pueden ser metabolizados por este sistema enzimático, como es el caso del

saquinavir, como consecuencia de la variabilidad en la expresión enzimática y las interacciones entre fármacos (Shen et al. 1997).

En las *figuras 5.27-28*, como se ha indicado anteriormente, se ha representado la evolución de las fracciones que escapan de los dos órganos metabolizadores con la concentración. Para ello se ha utilizado los parámetros farmacocinéticos poblacionales, así como el ámbito de concentraciones de saquinavir en el compartimento enterocito ( $C_9$ ) y hepatocito ( $C_7$ ) calculados por el modelo **o055f**. En el cálculo de  $F_E$ , para los grupos coadministrados con ritonavir, grupos 9 y 10, se ha tenido en cuenta la interacción con ritonavir, de modo que la fracción de dosis administrada que escapa del efecto de primer paso intestinal y hepático se ve modificada por el factor empírico que multiplica a la  $K_m$  del saquinavir; lo que en realidad supone una aproximación, ya que este factor está influyendo al metabolismo con un valor constante, cuando estrictamente este factor depende a su vez de la concentración de ritonavir que hay en el compartimento en dicho momento. Se observa valores de  $F_E$  del orden de un 85 y un 93%, para el ámbito de concentraciones de saquinavir calculadas por el modelo en el compartimento enterocito y considerando que la  $K_m$  se ve modificada por el factor empírico, en los grupos 9 y 10, respectivamente. Mientras que se observa valores de  $F_h$  del orden de un 96-98 %, para estos dos grupos. Estos resultados indican que se produce una inhibición del metabolismo del saquinavir por parte del ritonavir, siendo esta inhibición más evidente en intestino.

El modelo **o055f**, además considera que el saquinavir se une a proteínas plasmáticas a través de un equilibrio dinámico que no llega a

saturarse, ya que la QMA es de 21700 mg. Siendo las constantes cinéticas de unión ( $K_b$ ) y desunión ( $K_u$ ),  $1,12 \cdot 10^{-6}$  L/mg·h y  $0,2 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente.

Por otra parte, indicar, tal y como se observa en los parámetros del *cuadro 5.87*, que tras la administración IP del saquinavir se produce una precipitación del fármaco, de modo que su disolución actúa como factor limitativo de la absorción y finalmente el 100% de la dosis IP se absorbe.

Las **representaciones gráficas de bondad de ajuste** muestran por norma general que los puntos experimentales se disponen de manera equidistante alrededor de la curva teórica poblacional, indicando una buena adecuación del modelo a los datos (*figura 5.32*).

La estimación bayesiana posterior (POSTHOC de NONMEM) permite obtener los parámetros farmacocinéticos individuales. En la *figura 5.33* se observa el buen ajuste de la línea teórica de  $C_p$  individuales predichas a los datos experimentales.

La gráfica de bondad de ajuste que representa las  $C_p$  experimentales frente a las predicciones poblacionales y frente a las predicciones individuales (*figuras 5.34 y 5.35*) muestra excelente grado de concordancia y ausencia de sesgo.

Los valores de los residuales a los tiempos experimentales (*figura 5.36 y 5.37*) informan de una variación mayor de éstos a tiempos de toma de muestra próximos a la administración, especialmente en los grupos IV. En cambio, cuando se efectúa la ponderación de los mismos (*figura 5.38 y 5.39*) se observa una distribución más homogénea de los mismos, comprendida entre +3 y -3.

La representación de los residuales experimentales obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha (*figuras 5.40 y 5.41*) se aparta más de la línea de referencia cuanto mayor es la concentración que se espera obtener, aunque en general todas las concentraciones son predichas poblacionalmente con una diferencia del  $\pm 20$ .

Los residuales experimentales ponderados muestran que se predicen por igual tanto las concentraciones pequeñas como las grandes y están comprendidos dentro de una horquilla de +3 y -3 (*figuras 5.42 y 5.43*).

#### 6.4.2.2 RITONAVIR

En la construcción del modelo farmacocinético del ritonavir se ha partido de la información adquirida en estudios previos realizados por nuestro grupo sobre la farmacocinética de éste fármaco (Muñoz et al. 2005; Lledó-García et al. Aceptado 2006), de modo que se ha partido en un primer momento de modelos farmacocinéticos lineales clásicos bicompartimentales. En el *cuadro 5.88* se muestra algunos de los modelos desarrollados para el modelado farmacocinético lineal de los datos de ritonavir (etapa 5), se indica el número de parámetros implementados y la mínima función objetivo obtenida (FMO).

Se comenzó implementando un modelo bicompartimental tradicional (RO001) utilizando la subrutina ADVAN 9. Se establecieron valores comunes a todos los grupos para los parámetros considerados, volumen de distribución ( $V_c$ ), constante de eliminación ( $K_{10}$ ), de distribución ( $K_{12}$ ) y de retorno ( $K_{21}$ ), constante de absorción ( $K_a$ ) y biodisponibilidad (F), obteniéndose una FMO de 207,8.

A continuación, se realizaron diferentes modificaciones al modelo de partida, otorgando libertad a un mismo parámetro para tomar valores distintos dependiendo del grupo. De este modo se evaluaba si existía no linealidad en algún proceso. Se lanzaron, entre otros, los modelos que se muestran en el *cuadro 5.88*. Se observó una mejora en FMO, llegando a 184,1 para el **RO009** y 173,7 para el **RO018**.

En el *cuadro 5.89* se muestra los valores poblacionales obtenidos para los distintos parámetros farmacocinéticos y los factores empíricos que modifican el parámetro para cada grupo, tras ajustar el modelo **RO009** a los datos. Se observa que el proceso de eliminación es no lineal, obteniéndose una tendencia en el *Cl* no esperada para los grupos administrados con 6 mg de ritonavir y coadministrados con saquinavir (G9 y G10). En primer lugar el aclaramiento del grupo administrado con 4,6 mg de ritonavir por vía oral (G12) es aproximadamente la mitad del valor obtenido para el grupo administrado con 3 mg por vía intravenosa (G11), pudiendo este primero estar falseado por la biodisponibilidad, que en este caso no se ha iterado, se ha fijado a 1. Por otra parte, para los grupos coadministrados con saquinavir se encuentra un mayor aclaramiento, cuando en todo caso se esperaría la tendencia contraria, es decir que el saquinavir inhibiese el proceso de eliminación (biotransformación metabólica) del ritonavir por competencia enzimática, no que potencie dicho proceso. Aunque el ritonavir ha sido descrito en la bibliografía como autoinductor metabólico (Hsu et al. 1997; Hsu et al. 1998; Kageyama et al. 2005), es poco probable encontrar un proceso de autoinducción tras la administración de una dosis única. Por lo que se intuye que estos resultados pueden ser consecuencia de un posible

desplazamiento de la unión de proteínas plasmáticas como posible explicación a dicho fenómeno.

En el *cuadro 5.90* se muestra los valores poblacionales obtenidos para los distintos parámetros farmacocinéticos y los factores empíricos que modifican el parámetro para cada grupo, tras ajustar el modelo **RO018** a los datos. En este caso, se obtiene la misma tendencia que en el caso anterior, en cuanto al aclaramiento. Pero además parece que el considerar diferentes  $K_{12}$  para los distintos grupos resulta en una mejora en el ajustado, aunque sin significación estadística. Se observa que las constantes de distribución al compartimento periférico son mayores cuando se administra el fármaco combinado con saquinavir. Lo que podría explicarse a través de un desplazamiento de la unión del ritonavir a las proteínas plasmáticas.

Desde un punto de vista mecanicista se intenta dar explicación a estas observaciones, por lo que se desarrollan diversos modelos no lineales, algunos de los cuales se muestran en el *cuadro 5.91*. Con estos modelos se pretende discernir en qué procesos del LADME se da, en caso de existir, no linealidad. De todos ellos, se extrae en primer lugar, que no es posible diferenciar con los datos disponibles entre una cinética de eliminación de primer orden y una de Michaelis-Menten. Parece que el considerar diferentes valores de QMA (hace referencia a la capacidad máxima de unión del fármaco a la proteína plasmática) mejore el ajustado, aunque no con evidencia estadísticamente significativa. Y por último, los modelos indican que el proceso de incorporación del fármaco al organismo está condicionado por un proceso con cinética de orden cero, siendo la duración del mismo diferente para cada uno de los grupos en los que el fármaco se ha

administrado por vía oral. Esto último concuerda con resultados previos obtenidos en nuestro grupo, en los que *in vivo*, se obtuvo que la incorporación del fármaco al organismo estaba mediada por un proceso global con cinética de orden cero (Lledó-García et al. Aceptado 2006). Sin embargo, en estudios realizados *in situ* se observó a las concentraciones utilizadas, un proceso no lineal, siguiendo una absorción con cinética de Michaelis-Menten, más un proceso de secreción intestinal saturable (Muñoz et al. 2005). La cinética de orden cero puede estar motivada por diversas causas. En primer lugar, la liberación del fármaco de la forma farmacéutica o la disolución del mismo puede actuar como factor limitativo del proceso de absorción, tal y como ocurría en la administración IP del saquinavir tras la precipitación del fármaco. En el caso que nos ocupa, aunque el ritonavir se caracteriza por su limitada hidrosolubilidad (Williams et al. 1999), una precipitación del mismo es poco probable, ya que en nuestro laboratorio un ensayo *in vitro* llevado a cabo, emulando los jugos gástrico e intestinal, no permitió observar dicha precipitación.

Por otra parte la cinética de orden cero podría explicarse a través de la saturación de los mecanismos especializados, observándose cuando el fármaco satura al sistema enzimático en el proceso de incorporación del fármaco al organismo. Si fuese este el caso, concordaría con los resultados hallados *in situ*. En la literatura algunos autores han citado la posible implicación del sistema Anión orgánico transportador de polipéptido (OATP), en la entrada de los inhibidores de proteasa a células (ej. el ritonavir), de modo que 100  $\mu\text{M}$  de ritonavir lleva a un  $94\pm 2.9$  porcentaje de inhibición de la entrada de fexofenadina ( $2\mu\text{M}$ ) mediada por el OATP-A. Estos hallazgos podrían justificar la saturación de los sistemas enzimáticos

involucrados en el transporte de ritonavir a las dosis administradas, en el intestino delgado de la rata, causando la cinética de incorporación de orden cero. Debido a la baja  $K_m=8,77 \mu\text{M}$  (Muñoz et al. 2005) (dato *in situ*), el impacto en el transporte intestinal tras la administración oral es cuestionable, ya que a las dosis habituales el OATP-A estaría saturado durante más tiempo del tiempo de residencia en intestino.

A continuación, se exploran los mismos procesos del LADME pero transformando los modelos en híbridos fisiológicos farmacocinéticos, ya que en esta Memoria el objetivo de desarrollar un modelo farmacocinético poblacional para el ritonavir está más encaminado a dar explicación a la interacción entre saquinavir y ritonavir, que al propio estudio del fármaco, de ahí el menor número de grupos, dosis y vías utilizados. Este diseño experimental ha llevado a un déficit de datos experimentales para poder dar explicación consolidada a su perfil farmacocinético. Es decir, los modelos desarrollados tienen como objeto alcanzar un modelo funcional compatible con el desarrollado para el saquinavir.

En el *cuadro 5.92* se muestra algunos de los modelos híbridos fisiológicos farmacocinéticos desarrollados, entre estos finalmente aquéllos que no consideran el compartimento hepatocito y enterocito describen mejor los datos experimentales.

Se observa que no es posible diferenciar estadísticamente una eliminación con cinética de Michaelis-Menten de una con cinética de orden uno, aunque cabría esperar una cinética de Michaelis-Menten, para dar explicación a la interacción con el saquinavir en los procesos de biotransformación metabólica de ambos fármacos.

En el *cuadro 5.93* se muestra los parámetros poblacionales obtenidos tras ajustar el modelo **RO076** a los datos experimentales, considerándose éste como modelo posible para describir los datos experimentales de ritonavir.

El modelo considera un proceso de eliminación global desde el compartimento central, sin discernir entre órganos eliminadores, que se caracteriza por un aclaramiento intrínseco ( $Cl_i$ ) de 0,496 L/h, el fármaco se distribuye a un compartimento periférico, en el que parece quedar retenido si se observan los valores de  $K_{12}$  y  $K_{21}$ , 17,3 y 0,641  $h^{-1}$ , respectivamente. Por otra parte, se da una unión a proteínas plasmáticas a través de un equilibrio de unión dinámico y saturable, caracterizado por una constante de unión ( $K_b$ ) de 0,512 L/mg·h y de desunión ( $K_u$ ) de 2,19  $h^{-1}$ , en este caso se observa que la QMA para los grupos administrados con 4,6 y 3 mg de ritonavir por vía oral e IV (G11 y G12), es de 0,076 mg que podría llegar a saturarse a concentraciones superiores a 6,9 mg/L, concentración que sólo se ha visto alcanzada para algunos animales del grupo administrado con 3 mg de ritonavir por vía IV (G11). Mientras que para los grupos administrados con 6 mg de ritonavir junto con saquinavir (G9 y G10), se observa que este valor de QMA está multiplicado por un factor empírico que considera el posible desplazamiento de la unión a proteínas, siendo éste de 0,892 y  $3,53 \cdot 10^{-5}$  para cada grupo, respectivamente. Estos resultados indican que ambos fármacos se unen a la misma proteína, desplazando el saquinavir la unión del ritonavir a dicha proteína, de modo que se encontraría más fármaco libre disponible para eliminarse y podría dar explicación a la tendencia observada para el valor de aclaramiento obtenido en los modelos empíricos, en los que se obtenía un valor superior en

comparación con la administración de ritonavir sólo. Estos resultados en parte son contrarios a la literatura consultada, que indica que el saquinavir a las concentraciones terapéuticas, utilizadas en humanos, no modifica la unión del ritonavir a proteínas plasmáticas. Aunque apoyan el hecho de que en el ámbito de concentraciones terapéuticas obtenidas clínicamente, la unión a proteínas no se sature, ya que para la vía oral siempre se han obtenido concentraciones por debajo de 6,9 mg/L (Hsu et al. 1998; Abbott Laboratories 2005).

Por último, destacar que considera una absorción de orden uno, con una constante de velocidad de absorción de  $1,78 \text{ h}^{-1}$ , limitada por una cinética de orden cero cuya duración es de 9,96h para el grupo administrado con 4,6 mg de ritonavir por vía oral (G12) y 9,22h para el grupo administrado con 6 mg de ritonavir junto con saquinavir por vía oral (G10), siendo la velocidad del proceso de orden cero,  $Q_0$ , de 0,461 mg/h y 0,65 mg/h, respectivamente.

Las **representaciones gráficas de bondad de ajuste** muestran por norma general que los puntos experimentales se disponen de manera equidistante alrededor de la curva teórica poblacional, indicando una buena adecuación del modelo a los datos (*figura 5.46*).

La estimación bayesiana posterior (POSTHOC de NONMEM) permite obtener los parámetros farmacocinéticos individuales. En la *figura 5.47* se observa el buen ajuste de la línea teórica de  $C_p$  individuales predichas a los datos experimentales.

La gráfica de bondad de ajuste que representa las  $C_p$  experimentales frente a las predicciones poblacionales y frente a las predicciones individuales (*figuras 5.48 y 5.49*) muestra excelente grado de concordancia y ausencia de sesgo.

Los valores de los residuales a los tiempos experimentales (*figura 5.50 y 5.51*) informan de una variación mayor de éstos a tiempos de toma de muestra próximos a la administración, especialmente en los grupos IV. En cambio, cuando se efectúa la ponderación de los mismos (*figura 5.52 y 5.53*) se observa una distribución más homogénea de los mismos, comprendida entre +3 y -3.

La representación de los residuales experimentales obtenidos frente a la concentración plasmática poblacional predicha (*figuras 5.54 y 5.55*) se aparta más de la línea de referencia cuanto mayor es la concentración que se espera obtener, aunque en general todas las concentraciones son predichas poblacionalmente con una diferencia del  $\pm 10$ .

Los residuales experimentales ponderados muestran que se predicen por igual tanto las concentraciones pequeñas como las grandes y están comprendidos dentro de una horquilla de +3 y -3 (*figuras 5.56 y 5.57*).

#### 6.4.2.3 Interacción SAQUINAVIR-RITONAVIR. Modelado.

En el *cuadro 5.94* se muestra algunos de los modelos de interacción ensayados. Debido a la complejidad alcanzada en los modelos, no ha sido posible hasta la fecha obtener una convergencia de estos, lo que parece indicar que serían necesarias herramientas más potentes, de las que no disponemos, para resolverlos y a su vez indica que por el momento se trata

de modelos teóricamente próximos a la realidad fisiológica pero poco útiles en la práctica.

En la *figura 5.58* se muestra el archivo control de uno de los posibles modelos de interacción, el modelo **SR059** cuya estructura se muestra en el *cuadro 4.12* y sus ecuaciones diferenciales a partir de la *ecuación 4.72* (p.184), que tiene en cuenta la interacción de ambos fármacos en los procesos de biotransformación metabólica tanto en hígado como en intestino, así como la competencia de los mismos por la unión a las proteínas plasmáticas, considerando así el posible desplazamiento de la unión.

Shibata et al. 2002, como se ha indicado anteriormente, desarrollaron un modelo fisiológico de interacción entre estos dos fármacos, en el que sólo se considera la interacción en el proceso de biotransformación metabólica, tanto en hígado como en intestino, de un modo similar a como lo considera el modelo que se ha desarrollado en este trabajo. Sin embargo, no contempla la posibilidad de una interacción a través del proceso de secreción intestinal, ni el posible desplazamiento de la unión a proteínas plasmáticas. Por otra parte, destacar que el modelo que utilizan para describir el perfil farmacocinético del ritonavir, cuando éste interacciona con el saquinavir, es el modelo monocompartimental clásico.

En cuanto a la naturaleza de las enzimas implicadas en los procesos de biotransformación comunes para el saquinavir y el ritonavir, la literatura consultada indica que se trataría del CYP450 3A4 (Fitzsimmons et al. 1997; Hsu et al. 1998; Eagling et al. 2002). Del mismo modo la literatura describe a ambos fármacos como sustrato de la glicoproteína-P y otros sistemas de

secreción intestinal como el sistema MRP (Kim et al. 1998; Huisman et al. 2002). Aunque finalmente, en este modelo (SR059), no se ha considerado la competencia de ambos fármacos por el transportador de secreción, ya que en el modelo de elección del saquinavir, **055f** los valores de los parámetros daban poco peso a dicho proceso y por otra parte, respecto al ritonavir, no hay suficiente información para discernir dicho proceso, aunque la literatura indique lo contrario (Kageyama et al. 2005). De todos modos, en otros modelos probados si se ha contemplado como posible diana de interacción el proceso de secreción intestinal (ej. modelos SR056 y SR058).

Debido a la dificultad que estos modelos han planteado, en la *figura 5.59* se muestran las concentraciones plasmáticas simuladas para cada tiempo de muestreo mediante éste modelo, **SR059**, y se observa una buena descripción de los perfiles farmacocinéticos de ambos fármacos cuando se comparan los perfiles simulados con las concentraciones plasmáticas experimentales. Lo que indica que la aproximación presentada en esta Memoria muy probablemente conseguiría satisfacer los datos experimentales con unos valores de los parámetros farmacocinéticos próximos a los utilizados en ésta simulación.

## 7 *Conclusiones*

---

1. El análisis no compartimental indica que el saquinavir a las dosis administradas por vía intravenosa y oral, sigue una cinética no lineal en la fase de disposición. Aunque en el caso de la vía oral, estos resultados pueden estar afectados por la biodisponibilidad. El análisis de los datos tras la administración intraperitoneal de saquinavir pone de manifiesto la existencia de no linealidad cinética en las fases de absorción y disposición.

2. El análisis no compartimental ha permitido poner de manifiesto la interacción del saquinavir y el ritonavir, situándola en el proceso de eliminación así como en el de incorporación del fármaco al organismo. De modo que el ritonavir aumenta los niveles plasmáticos del saquinavir, lo que corrobora algunos resultados publicados en la literatura.

3. El análisis no compartimental, en este caso, no resulta útil para el cálculo de la biodisponibilidad oral del saquinavir, ya que la biodisponibilidad calculada toma valores comprendidos entre 5 y 28 %, según la dosis que se utilice como referencia. Además, no permite deslindar la participación de los órganos metabolizadores, hígado e intestino, en el proceso global de eliminación del fármaco.

4. El análisis poblacional en una etapa mediante un modelo no lineal de efectos mixtos, indica que en la fase de disposición del saquinavir intervienen procesos no lineales, como son: una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten desde el compartimento enterocito y hepatocito. En la fase de incorporación

del saquinavir tras su administración oral, interviene: un proceso de absorción de orden uno junto con un proceso de secreción intestinal mediado por transportador. Y tras la administración intraperitoneal, pone de manifiesto una precipitación del fármaco en la cavidad abdominal, actuando la disolución como factor limitativo de la absorción.

5. Los valores de los parámetros farmacocinéticos que describen el perfil del saquinavir indican que el intestino desempeña el papel más importante en el proceso metabolizador del fármaco, ya que el  $Cl_i$  del fármaco en el intestino resulta ser 14 veces superior al valor hepático.

6. La tasa de extracción del saquinavir en los órganos metabolizadores es concentración dependiente. En este sentido, las fracciones de dosis de saquinavir que escapan de los órganos metabolizadores han sido de entre un 15 y un 60 % en el intestino y de un 86 % en el hígado, para las concentraciones resultantes en dichos órganos, en nuestras condiciones experimentales.

7. La biodisponibilidad oral de ritonavir calculada tras el análisis no compartimental para la dosis ensayada de ritonavir es de un 84%, valor similar al obtenido por otros autores.

8. El análisis poblacional en una etapa mediante un modelo no lineal de efectos mixtos realizado con la información de ritonavir disponible, no ha permitido esclarecer de forma unívoca la cinética de eliminación del fármaco. De modo que las opciones, cinética de orden uno y de Michaelis-Menten, resultan adecuadas para describir el proceso de disposición del fármaco, junto con un proceso de unión dinámica y saturable a proteínas

plasmáticas. La incorporación del fármaco se describe mediante una cinética de orden cero, caracterizada por una velocidad de entrada de 0,46 mg/h para la dosis de 4,6 mg y de 0,65 mg/h para la dosis de 6 mg coadministrada con saquinavir.

9. La interacción entre el saquinavir y ritonavir se ha puesto de manifiesto en los modelos híbridos fisiológicos farmacocinéticos (P-PK híbridos). Los procesos implicados en la interacción son el proceso de biotransformación intestinal y hepática, de manera que el ritonavir inhibe el metabolismo del saquinavir. Por otra parte, se pone de manifiesto que el saquinavir desplaza al ritonavir de su unión a proteínas plasmáticas. Sin embargo, la complejidad del modelo no ha permitido poner de manifiesto la implicación de sistemas de secreción intestinal en la interacción de estos fármacos.

10. Cuando se coadministran saquinavir y ritonavir, el ritonavir origina un descenso de la tasa de extracción del saquinavir, lo que se traduce en un aumento del AUC del saquinavir debido probablemente a un doble efecto, un aumento de la biodisponibilidad en magnitud y un descenso del aclaramiento del saquinavir.

11. Los modelos poblacionales híbridos fisiológicos farmacocinéticos (P-PK híbridos) propuestos para cada uno de los fármacos han resultado ser herramientas útiles y adecuadas para interpretar datos experimentales que requieren modelos complejos, mientras que el análisis no compartimental no ha permitido obtener resultados concluyentes aún en situación de disponer de muchos datos por individuo.

Sin embargo, estos modelos han resultado ser demasiado complejos y poco útiles a la hora de modelar la interacción, haciéndose necesaria la búsqueda de un equilibrio entre la complejidad de la realidad fisiológica y la sencillez que asume la farmacocinética clásica.

## 8 *Bibliografía*

---

Directiva del Consejo 86/609/CEE sobre Protección de los Animales de Experimentación, promulgada en España por el R.D 223/1988, de 14 de Marzo de 1988.

(1996). "Delta: a randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. Delta Coordinating Committee." *Lancet* **348**(9023): 283-91.

Aarons, L. (1991). "Population pharmacokinetics: theory and practice." *Br J Clin Pharmacol* **32**(6): 669-70.

Abbott Laboratories (2005). [www.abbott.com](http://www.abbott.com).

Abraira Santos, V.yPérez de Vargas, A. (1996). Métodos multivariantes en Bioestadística. Madrid.

Adedapo, A.A., Adegbayibi, A.Y.yEmikpe, B.O. (2005). "Some clinico-pathological changes associated with the aqueous extract of the leaves of *Phyllanthus amarus* in rats." *Phytother Res* **19**(11): 971-6.

Altman, D.G.yBland, J.M. (1995). "Statistics notes: the normal distribution." *Bmj* **310**(6975): 298.

Álvarez-Cáceres (1995). Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS. Madrid.

Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W.yMontagnier, L. (1983). "Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)." *Science* **220**(4599): 868-71.

Beal, S.L.ySheiner, L.B. (1989). Users supplemental guide. NONMEM users guide. California, U.d. San Francisco.

- Birnbaum, L., Brown, R., Bischoff, K., Foran, J., Blancato, J., Clewell, H.yDedrick, R. (1994). Physiological parameter values for PBPK models, International Life Science Institute, Risk Science Institute.
- Boffito, M., Hoggard, P.G., Reynolds, H.E., Bonora, S., Meaden, E.R., Sinicco, A., Di Perri, G.yBack, D.J. (2002). "The unbound percentage of saquinavir and indinavir remains constant throughout the dosing interval in HIV positive subjects." *Br J Clin Pharmacol* **54**(3): 262-8.
- Bonfanti, P., Valsecchi, L., Parazzini, F., Carradori, S., Pusterla, L., Fortuna, P., Timillero, L., Alessi, F., Ghiselli, G., Gabbuti, A., Di Cintio, E., Martinelli, C., Faggion, I., Landonio, S.yQuirino, T. (2000). "Incidence of adverse reactions in HIV patients treated with protease inhibitors: a cohort study. Coordinamento Italiano Studio Allergia e Infezione da HIV (CISAI) Group." *J Acquir Immune Defic Syndr* **23**(3): 236-45.
- Broder, S.yGallo, R.C. (1984). "A pathogenic retrovirus (HTLV-III) linked to AIDS." *N Engl J Med* **311**(20): 1292-7.
- Caceci, M.S.yCacheris, W.P. (1984). "Fitting curves to data. The simplex algorithm is the answer." *BYTE*: 340-362.
- Cameron, D.W., Heath-Chiozzi, M., Danner, S., Cohen, C., Kravcik, S., Maurath, C., Sun, E., Henry, D., Rode, R., Potthoff, A.yLeonard, J. (1998). "Randomised placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. The Advanced HIV Disease Ritonavir Study Group." *Lancet* **351**(9102): 543-9.
- Cameron, D.W., Japour, A.J., Xu, Y., Hsu, A., Mellors, J., Farthing, C., Cohen, C., Poretz, D., Markowitz, M., Follansbee, S., Angel, J.B., McMahon, D., Ho, D., Devanarayan, V., Rode, R., Salgo, M., Kempf, D.J., Granneman, R., Leonard, J.M.ySun, E. (1999). "Ritonavir and saquinavir combination therapy for the treatment of HIV infection." *Aids* **13**(2): 213-24.
- Carpenter, C.C., Fischl, M.A., Hammer, S.M., Hirsch, M.S., Jacobsen, D.M., Katzenstein, D.A., Montaner, J.S., Richman, D.D., Saag, M.S., Schooley, R.T., Thompson, M.A., Vella, S., Yeni,

- P.G.yVolberding, P.A. (1996). "Antiretroviral therapy for HIV infection in 1996. Recommendations of an international panel. International AIDS Society-USA." *Jama* **276**(2): 146-54.
- Cato, A., 3rd, Cavanaugh, J., Shi, H., Hsu, A., Leonard, J.yGranneman, R. (1998). "The effect of multiple doses of ritonavir on the pharmacokinetics of rifabutin." *Clin Pharmacol Ther* **63**(4): 414-21.
- Cato III, A., Bertz, R.yCao, G. (1996). Evaluation of the role of CYP3A inhibition in food and formulation effects on ritonavir absorption. 7<sup>th</sup> North America ISSX Annual Meetings, San Diego.
- Cavert, W., Notermans, D.W., Staskus, K., Wietgreffe, S.W., Zupancic, M., Gebhard, K., Henry, K., Zhang, Z.Q., Mills, R., McDade, H., Schuwirth, C.M., Goudsmit, J., Danner, S.A.yHaase, A.T. (1997). "Kinetics of response in lymphoid tissues to antiretroviral therapy of HIV-1 infection." *Science* **276**(5314): 960-4.
- Chauvelot-Moachon, L., Delers, F., Pous, C., Engler, R., Tallet, F.yGiroud, J.P. (1988). "Alpha-1-acid glycoprotein concentrations and protein binding of propranolol in Sprague-Dawley and Dark Agouti rat strains treated by phenobarbital." *J Pharmacol Exp Ther* **244**(3): 1103-8.
- Colburn, W.A.yOlson, S.C. (1988). Classic and population pharmacokinetics. *Pharmacokinetics: Regulatory, industry, academic perspectives*. Welling, P.G.yTse, F.L. New York, Marcel Dekker: 337-384.
- Corbett, A.H., Eron, J.J., Fiscus, S.A., Rezk, N.L.yKashuba, A.D. (2004). "The pharmacokinetics, safety, and initial virologic response of a triple-protease inhibitor salvage regimen containing amprenavir, saquinavir, and ritonavir." *J Acquir Immune Defic Syndr* **36**(4): 921-8.
- Curry, S.H.yWhelpton, R. (1983). Physicochemical properties of drug and dosage forms. *Manual of laboratory pharmacokinetics*. Sons, J.W.a. New York.
- D'Argenio, D.Z. (1981). "Optimal sampling times for pharmacokinetic experiments." *J Pharmacokinet Biopharm* **9**(6): 739-56.

- Deeks, S.G., Smith, M., Holodniy, M.yKahn, J.O. (1997). "HIV-1 protease inhibitors. A review for clinicians." *Jama* **277**(2): 145-53.
- Dodge, W.F., Jelliffe, R.W., Richardson, C.J., McCleery, R.A., Hokanson, J.A.ySnodgrass, W.R. (1991). "Gentamicin population pharmacokinetic models for low birth weight infants using a new nonparametric method." *Clin Pharmacol Ther* **50**(1): 25-31.
- Drake, J.W. (1993). "Rates of spontaneous mutation among RNA viruses." *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**(9): 4171-5.
- Eagling, V.A., Back, D.J.yBarry, M.G. (1997). "Differential inhibition of cytochrome P450 isoforms by the protease inhibitors, ritonavir, saquinavir and indinavir." *Br J Clin Pharmacol* **44**(2): 190-4.
- Eagling, V.A., Wiltshire, H., Whitcombe, I.W.yBack, D.J. (2002). "CYP3A4-mediated hepatic metabolism of the HIV-1 protease inhibitor saquinavir in vitro." *Xenobiotica* **32**(1): 1-17.
- Eron, J.J., Jr. (2000). "HIV-1 protease inhibitors." *Clin Infect Dis* **30 Suppl 2**: S160-70.
- F.D.A. (2005). U.S. Food and Drug Administration- Center for Drug Evaluation and Research. [www.fda.gov/cder/](http://www.fda.gov/cder/).
- FDA (2002). "Guidance for Industry and Reviewers. Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers."
- Fischl, M.A., Richman, D.D., Hansen, N., Collier, A.C., Carey, J.T., Para, M.F., Hardy, W.D., Dolin, R., Powderly, W.G., Allan, J.D.yet al. (1990). "The safety and efficacy of zidovudine (AZT) in the treatment of subjects with mildly symptomatic human immunodeficiency virus type 1 (HIV) infection. A double-blind, placebo-controlled trial. The AIDS Clinical Trials Group." *Ann Intern Med* **112**(10): 727-37.
- Fitzsimmons, M.E.yCollins, J.M. (1997). "Selective biotransformation of the human immunodeficiency virus protease inhibitor saquinavir by human small-intestinal cytochrome P4503A4: potential contribution to high first-pass metabolism." *Drug Metab Dispos* **25**(2): 256-66.

- Flexner, C. (1998). "HIV-protease inhibitors." *N Engl J Med* **338**(18): 1281-92.
- Gallo, R.C., Salahuddin, S.Z., Popovic, M., Shearer, G.M., Kaplan, M., Haynes, B.F., Palker, T.J., Redfield, R., Oleske, J., Safai, B. et al. (1984). "Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS." *Science* **224**(4648): 500-3.
- Garcia de Olalla, P., Knobel, H. y Carmona, A. (2002). "Impact of adherence and HAART on survival in HIV-infected patients." *J Acquir Imm Defic Syndr* **30**: 105-10.
- Geletko, S.M. y Erickson, A.D. (2000). "Decreased methadone effect after ritonavir initiation." *Pharmacotherapy* **20**(1): 93-4.
- Gibaldi, M. y Perrier, D. (1982). "Pharmacokinetics." Marcel Dekker Inc. Nueva York.
- Giltinan, D.M. y Ruppert, D. (1989). "Fitting heteroscedastic regression models to individual pharmacokinetic data using standard statistical software." *J Pharmacokinet Biopharm* **17**(5): 601-14.
- Giner, M., Figuera, J. y Ga-Borobia, F. (1989). "Técnica de infusión intravenosa continua en ratas en libertad." *Res. Surg.* **1**: 3-9.
- Gisolf, E.H., Jurriaans, S., Pelgrom, J., van Wanseele, F., van der Ende, M.E., Brinkman, K., Borst, M.J., de Wolf, F., Japour, A.J. y Danner, S.A. (2000). "The effect of treatment intensification in HIV-infection: a study comparing treatment with ritonavir/saquinavir and ritonavir/saquinavir/stavudine. Prometheus Study Group." *Aids* **14**(4): 405-13.
- Grasela, T.H. y Sheiner, L.B. (1991). "Pharmacostatistical modeling for observational data." *J Pharmacokinet Biopharm* **19**: 11-24.
- Grasela, T.H., Sheiner, L.B., Rambeck, B., Boenigk, H.E., Dunlop, A., Mullen, P.W., Wadsworth, J., Richens, A., Ishizaki, T., Chiba, K. et al. (1983). "Steady-state pharmacokinetics of phenytoin from routinely collected patient data." *Clin Pharmacokinet* **8**(4): 355-64.

- Guiard-Schmid, J.B., Poirier, J.M., Meynard, J.L., Bonnard, P., Gbadoe, A.H., Amiel, C., Calligaris, F., Abraham, B., Pialoux, G., Girard, P.M., Jaillon, P.yRozenbaum, W. (2003). "High variability of plasma drug concentrations in dual protease inhibitor regimens." *Antimicrob Agents Chemother* **47**(3): 986-90.
- Gulick, R.M., Mellors, J.W., Havlir, D., Eron, J.J., Gonzalez, C., McMahon, D., Richman, D.D., Valentine, F.T., Jonas, L., Meibohm, A., Emini, E.A.yChodakewitz, J.A. (1997). "Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy." *N Engl J Med* **337**(11): 734-9.
- Hall, C.S., Raines, C.P., Barnett, S.H., Moore, R.D.yGallant, J.E. (1999). "Efficacy of salvage therapy containing ritonavir and saquinavir after failure of single protease inhibitor-containing regimens." *Aids* **13**(10): 1207-12.
- Hammer, S.M., Katzenstein, D.A., Hughes, M.D., Gundacker, H., Schooley, R.T., Haubrich, R.H., Henry, W.K., Lederman, M.M., Phair, J.P., Niu, M., Hirsch, M.S.yMerigan, T.C. (1996). "A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team." *N Engl J Med* **335**(15): 1081-90.
- Hammer, S.M., Squires, K.E., Hughes, M.D., Grimes, J.M., Demeter, L.M., Currier, J.S., Eron, J.J., Jr., Feinberg, J.E., Balfour, H.H., Jr., Deyton, L.R., Chodakewitz, J.A.yFischl, M.A. (1997). "A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team." *N Engl J Med* **337**(11): 725-33.
- Hebert, M.F. (1997). "Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery." *Adv Drug Deliv Rev* **27**(2-3): 201-214.
- Hoffman, C., Kamps, B.S.yRocstroh, J.K. (2005). *HIV-Medicine*, Flying Publisher.

- Holladay, J.W., Dewey, M.J., Michniak, B.B., Wiltshire, H., Halberg, D.L., Weigl, P., Liang, Z., Halifax, K., Lindup, W.E.yBack, D.J. (2001). "Elevated alpha-1-acid glycoprotein reduces the volume of distribution and systemic clearance of saquinavir." *Drug Metab Dispos* **29**(3): 299-303.
- Hsu, A., Granneman, G.R.yBertz, R.J. (1998). "Ritonavir. Clinical pharmacokinetics and interactions with other anti-HIV agents." *Clin Pharmacokinet* **35**(4): 275-91.
- Hsu, A., Granneman, G.R., Witt, G., Locke, C., Denissen, J., Molla, A., Valdes, J., Smith, J., Erdman, K., Lyons, N., Niu, P., Decourt, J.P., Fourtillan, J.B., Girault, J.yLeonard, J.M. (1997). "Multiple-dose pharmacokinetics of ritonavir in human immunodeficiency virus-infected subjects." *Antimicrob Agents Chemother* **41**(5): 898-905.
- Hugen, P.W., Burger, D.M., Koopmans, P.P., Stuart, J.W., Kroon, F.P., van Leusen, R.yHekster, Y.A. (2002). "Saquinavir soft-gel capsules (Fortovase) give lower exposure than expected, even after a high-fat breakfast." *Pharm World Sci* **24**(3): 83-6.
- Huisman, M.T., Smit, J.W., Crommentuyn, K.M., Zelcer, N., Wiltshire, H.R., Beijnen, J.H.ySchinkel, A.H. (2002). "Multidrug resistance protein 2 (MRP2) transports HIV protease inhibitors, and transport can be enhanced by other drugs." *Aids* **16**(17): 2295-301.
- Jelliffe, R.W., Iglesias, T., Hurst, A.K., Foo, K.A.yRodriguez, J. (1991). "Individualising gentamicin dosage regimens. A comparative review of selected models, data fitting methods and monitoring strategies." *Clin Pharmacokinet* **21**(6): 461-78.
- Johnson, V.A., Brun-Vezinet, F., Clotet, B., Conway, B., D'Aquila, R.T., Demeter, L.M., Kuritzkes, D.R., Pillay, D., Schapiro, J.M., Telenti, A.yRichman, D.D. (2004). "Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2004." *Top HIV Med* **12**(4): 119-24.
- Kageyama, M., Namiki, H., Fukushima, H., Terasaka, S., Togawa, T., Tanaka, A., Ito, Y., Shibata, N.yTakada, K. (2005). "Effect of chronic administration of ritonavir on function of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein in rats." *Biol Pharm Bull* **28**(1): 130-7.

- Karlsson, M.O., Molnar, V., Bergh, J., Freijs, A.yLarsson, R. (1998). "A general model for time-dissociated pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship exemplified by paclitaxel myelosuppression." *Clin Pharmacol Ther* **63**(1): 11-25.
- Kataria, B.K., Ved, S.A., Nicodemus, H.F., Hoy, G.R., Lea, D., Dubois, M.Y., Mandema, J.W.yShafer, S.L. (1994). "The pharmacokinetics of propofol in children using three different data analysis approaches." *Anesthesiology* **80**(1): 104-22.
- Kempf, D.J., Marsh, K.C., Denissen, J.F., McDonald, E., Vasavanonda, S., Flentge, C.A., Green, B.E., Fino, L., Park, C.H., Kong, X.P.yet al. (1995). "ABT-538 is a potent inhibitor of human immunodeficiency virus protease and has high oral bioavailability in humans." *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**(7): 2484-8.
- Kim, R.B., Fromm, M.F., Wandel, C., Leake, B., Wood, A.J., Roden, D.M.yWilkinson, G.R. (1998). "The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors." *J Clin Invest* **101**(2): 289-94.
- Kravicik, S. (2001). "Pharmacology and clinical experience with saquinavir." *Expert Opin Pharmacother* **2**(2): 303-15.
- Kravicik, S., Gallicano, K., Roth, V., Cassol, S., Hawley-Foss, N., Badley, A.yCameron, D.W. (1999). "Cerebrospinal fluid HIV RNA and drug levels with combination ritonavir and saquinavir." *J Acquir Immune Defic Syndr* **21**(5): 371-5.
- Kurowski, M., Sternfeld, T., Sawyer, A., Hill, A.yMocklinghoff, C. (2003). "Pharmacokinetic and tolerability profile of twice-daily saquinavir hard gelatin capsules and saquinavir soft gelatin capsules boosted with ritonavir in healthy volunteers." *HIV Med* **4**(2): 94-100.
- LLedó-García, R., Náchér, A., Prats, L., Casabó, V.yMerino-Sanjúan, M. (Aceptado 2006). "Bioavailability and pharmacokinetic model for ritonavir in the rat." *J Pharm Sci*.
- Lucas, G.M. (2005). "Antiretroviral adherence, drug resistance, viral fitness and HIV disease progression: a tangled web is woven." *J Antimicrob Chemother* **55**(4): 413-6.

- Luo, G., Cunningham, M., Kim, S., Burn, T., Lin, J., Sinz, M., Hamilton, G., Rizzo, C., Jolley, S., Gilbert, D., Downey, A., Mudra, D., Graham, R., Carroll, K., Xie, J., Madan, A., Parkinson, A., Christ, D., Selling, B., LeCluyse, E.yGan, L.S. (2002). "CYP3A4 induction by drugs: correlation between a pregnane X receptor reporter gene assay and CYP3A4 expression in human hepatocytes." *Drug Metab Dispos* **30**(7): 795-804.
- Mallet, A. (1986). "A maximum likelihood estimation method for random coefficient regression models." *Biometrika* **73**: 645-656.
- Mandema, J.W. (1995). Population pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacokinetics: regulatory, industrial academic perspectives*. Welling, P.G.yTse, F.L. New York, Marcel Dekker: 411-450
- Mannheimer, S., Friedland, G., Matts, J., Child, C.yChesney, M. (2002). "The consistency of adherence to antiretroviral therapy predicts biologic outcomes for human immunodeficiency virus-infected persons in clinical trials." *Clin Infect Dis* **34**(8): 1115-21.
- Mariani, R., Chen, D., Schrofelbauer, B., Navarro, F., Konig, R., Bollman, B., Munk, C., Nymark-McMahon, H.yLandau, N.R. (2003). "Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by Vif." *Cell* **114**(1): 21-31.
- Martindale (2004). [www.emartindale.com](http://www.emartindale.com).
- Mentre, F., Burtin, P., Merle, Y., Van Bree, J., Mallet, A.ySteimer, J.L. (1995). "Sparse-sampling optimal designs in pharmacokinetics and toxicokinetics." *Drug Inf J* **29**: 997-1019.
- Metzler, C.M. (1987). "Extended least squares (ELS) for pharmacokinetic models." *J Pharm Sci* **76**(7): 565-71.
- Metzler, C.M., Elfrig, G.L.yMcEwen, A.J. (1974). *Users manual for NONLIN and associated programs*. Kalamazoo, Michigan, The Upjhon Company.

- Mocroft, A., Vella, S., Benfield, T.L., Chiesi, A., Miller, V., Gargalianos, P., d'Arminio Monforte, A., Yust, I., Bruun, J.N., Phillips, A.N.yLundgren, J.D. (1998). "Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. EuroSIDA Study Group." *Lancet* **352**(9142): 1725-30.
- Molla, A., Vasavanonda, S., Kumar, G., Sham, H.L., Johnson, M., Grabowski, B., Denissen, J.F., Kohlbrenner, W., Plattner, J.J., Leonard, J.M., Norbeck, D.W.yKempf, D.J. (1998). "Human serum attenuates the activity of protease inhibitors toward wild-type and mutant human immunodeficiency virus." *Virology* **250**(2): 255-62.
- Morissette, S.L., Soukasene, S., Levinson, D., Cima, M.J.yAlmarsson, O. (2003). "Elucidation of crystal form diversity of the HIV protease inhibitor ritonavir by high-throughput crystallization." *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(5): 2180-4.
- Mouly, S.J., Paine, M.F.yWatkins, P.B. (2004). "Contributions of CYP3A4, P-glycoprotein, and serum protein binding to the intestinal first-pass extraction of saquinavir." *J Pharmacol Exp Ther* **308**(3): 941-8.
- Muñoz, M.J., Merino-Sanjuan, M., Lledo-Garcia, R., Casabo, V.G., Manez-Castillejo, F.J.yNacher, A. (2005). "Use of nonlinear mixed effect modeling for the intestinal absorption data: application to ritonavir in the rat." *Eur J Pharm Biopharm* **61**(1-2): 20-6.
- Nelder, J.A.yMead, R. (1965). "Simplex method for function minimization." *Comput J.* **7**: 308-313.
- Neter, J., Kutner, M.H., Nachtsheim, C.J.yWasserman, W. (1996). *Applied Linear Statistical Models*. Chicago.
- Nolan, D.yMallal, S. (2004). "Complications associated with NRTI therapy: update on clinical features and possible pathogenic mechanisms." *Antivir Ther* **9**(6): 849-63.
- Oh, S.K., Cruikshank, W.W., Raina, J., Blanchard, G.C., Adler, W.H., Walker, J.yKornfeld, H. (1992). "Identification of HIV-1 envelope glycoprotein in the serum of AIDS and ARC patients." *J Acquir Immune Defic Syndr* **5**(3): 251-6.

- Oser, B.L., Melnick, D.yHOchsberg, M. (1945). "Physiological availability of the vitamins. Study of methods for determining availability in pharmaceutical products." *Ind. End Chem. (Anal De)* **17**: 401-411.
- Ouellet, D., Hsu, A., Granneman, G.R., Carlson, G., Cavanaugh, J., Guenther, H.yLeonard, J.M. (1998). "Pharmacokinetic interaction between ritonavir and clarithromycin." *Clin Pharmacol Ther* **64**(4): 355-62.
- Ouellet, D., Hsu, A., Qian, J., Locke, C.S., Eason, C.J., Cavanaugh, J.H., Leonard, J.M.yGranneman, G.R. (1998). "Effect of ritonavir on the pharmacokinetics of ethinyl oestradiol in healthy female volunteers." *Br J Clin Pharmacol* **46**(2): 111-6.
- Owen, A., Chandler, B.yBack, D.J. (2005). "The implications of P-glycoprotein in HIV: friend or foe?" *Fundam Clin Pharmacol* **19**(3): 283-96.
- Palella, F.J., Jr., Delaney, K.M., Moorman, A.C., Loveless, M.O., Fuhrer, J., Satten, G.A., Aschman, D.J.yHolmberg, S.D. (1998). "Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators." *N Engl J Med* **338**(13): 853-60.
- Park, S.ySinko, P.J. (2005). "P-glycoprotein and mutlidrug resistance-associated proteins limit the brain uptake of saquinavir in mice." *J Pharmacol Exp Ther* **312**(3): 1249-56.
- Perelson, A.S., Neumann, A.U., Markowitz, M., Leonard, J.M.yHo, D.D. (1996). "HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time." *Science* **271**(5255): 1582-6.
- Peter, F. (1998). "HIV nef: the mother of all evil?" *Immunity* **9**(4): 433-7.
- Plosker, G.L.yScott, L.J. (2003). "Saquinavir: a review of its use in boosted regimens for treating HIV infection." *Drugs* **63**(12): 1299-324.
- Purnell, J.Q., Zambon, A., Knopp, R.H., Pizzuti, D.J., Achari, R., Leonard, J.M., Locke, C.yBrunzell, J.D. (2000). "Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects." *Aids* **14**(1): 51-7.

- Racine-Poon, A. (1985). "A Bayesian approach to nonlinear random effects models." *Biometrics* **41**(4): 1015-23.
- Robbins, G.K., De Gruttola, V., Shafer, R.W., Smeaton, L.M., Snyder, S.W., Pettinelli, C., Dube, M.P., Fischl, M.A., Pollard, R.B., Delapenha, R., Gedeon, L., van der Horst, C., Murphy, R.L., Becker, M.I., D'Aquila, R.T., Vella, S., Merigan, T.C.yHirsch, M.S. (2003). "Comparison of sequential three-drug regimens as initial therapy for HIV-1 infection." *N Engl J Med* **349**(24): 2293-303.
- Roche Laboratories Inc. (Septiembre, 2005). [www.roche.com](http://www.roche.com).
- Rodriguez, J. (1996). "Estudio de la variabilidad poblacional en farmacocinética y farmacodinamia (I).Conceptos generales." *Cienc Pharm* **6**: 96-106.
- Rodriguez, J. (1996). "Estudio de la variabilidad poblacional en farmacocinética y farmacodinamia (II).Métodos paramétricos." *Cienc Pharm* **6**: 152-162.
- Ronaldson, P.T., Lee, G., Dallas, S.yBendayan, R. (2004). "Involvement of P-glycoprotein in the transport of saquinavir and indinavir in rat brain microvessel endothelial and microglia cell lines." *Pharm Res* **21**(5): 811-8.
- Saksena, N.K.yPotter, S.J. (2003). "Reservoirs of HIV-1 in vivo: implications for antiretroviral therapy." *AIDS Rev* **5**(1): 3-18.
- Schon, A., del Mar Ingaramo, M.yFreire, E. (2003). "The binding of HIV-1 protease inhibitors to human serum proteins." *Biophys Chem* **105**(2-3): 221-30.
- Shah, V.P., Midha, K.K., Dighe, S., McGilveray, I.J., Skelly, J.P., Yacobi, A., Layloff, T., Viswanathan, C.T., Cook, C.E., McDowall, R.D.yet al. (1991). "Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Conference report." *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* **16**(4): 249-55.
- Sheiner, B.L.yBeal, S.L. (1981). "Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. II. Biexponential model and

experimental pharmacokinetic data." *J Pharmacokinet Biopharm* **9**(5): 635-51.

Sheiner, L.B. (1985). Modeling pharmacokinetic/pharmacodynamic variability. Variability in drug therapy. Description, estimation and control. Rowland, M., Sheiner, L.B.ySteimer, J.L. New York, Raven Press: 51-64.

Sheiner, L.B.yBeal, S.L. (1980). "Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetics parameters. I. Michaelis-Menten model: routine clinical pharmacokinetic data." *J Pharmacokinet Biopharm* **8**(6): 553-71.

Sheiner, L.B.yBeal, S.L. (1981). "Some suggestions for measuring predictive performance." *J Pharmacokinet Biopharm* **9**(4): 503-12.

Sheiner, L.B., Rosenberg, B.yMarathe, V.V. (1977). "Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data." *J Pharmacokinet Biopharm* **5**(5): 445-79.

Shen, D.D., Kunze, K.L.yThummel, K.E. (1997). "Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction." *Adv Drug Deliv Rev* **27**(2-3): 99-127.

Shibata, N., Gao, W., Okamoto, H., Kishida, T., Iwasaki, K., Yoshikawa, Y.yTakada, K. (2002). "Drug interactions between HIV protease inhibitors based on physiologically-based pharmacokinetic model." *J Pharm Sci* **91**(3): 680-9.

Shibata, N., Kageyama, M., Kishida, T., Kimura, K., Yoshikawa, Y., Kuwahara, T., Toh, J., Shirasaka, T.yTakada, K. (2003). "Pharmacokinetic characterization of a human immunodeficiency virus protease inhibitor, saquinavir, during ethanol intake in rats." *Biopharm Drug Dispos* **24**(8): 335-44.

Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M., Inui, Y.yGuengerich, F.P. (1994). "Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians." *J Pharmacol Exp Ther* **270**(1): 414-23.

- Sinko, P.J., Kunta, J.R., Usansky, H.H.yPerry, B.A. (2004). "Differentiation of gut and hepatic first pass metabolism and secretion of saquinavir in ported rabbits." *J Pharmacol Exp Ther* **310**(1): 359-66.
- Staszewski, S., Morales-Ramirez, J., Tashima, K.T., Rachlis, A., Skiest, D., Stanford, J., Stryker, R., Johnson, P., Labriola, D.F., Farina, D., Manion, D.J.yRuiz, N.M. (1999). "Efavirenz plus zidovudine and lamivudine, efavirenz plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. Study 006 Team." *N Engl J Med* **341**(25): 1865-73.
- Steimer, J.L., Mallet, A., Golmard, J.L.yBoisvieux, J.F. (1984). "Alternative approaches to estimation of population pharmacokinetic parameters: comparison with the nonlinear mixed-effect model." *Drug Metab Rev* **15**(1-2): 265-92.
- Strain, M.C., Gunthard, H.F., Havlir, D.V., Ignacio, C.C., Smith, D.M., Leigh-Brown, A.J., Macaranas, T.R., Lam, R.Y., Daly, O.A., Fischer, M., Opravil, M., Levine, H., Bachelier, L., Spina, C.A., Richman, D.D.yWong, J.K. (2003). "Heterogeneous clearance rates of long-lived lymphocytes infected with HIV: intrinsic stability predicts lifelong persistence." *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(8): 4819-24.
- Sunila, I., Vaccarezza, M., Pantaleo, G., Fauci, A.S.yOrenstein, J.M. (1997). "gp120 is present on the plasma membrane of apoptotic CD4 cells prepared from lymph nodes of HIV-1-infected individuals: an immunoelectron microscopic study." *Aids* **11**(1): 27-32.
- Torres, F., Peris, J.E.yGarcía, M.C. (1996). "Use of rats chronically cannulated in the jugular vein and the duodenum in pharmacokinetics studies. Effect of ether anesthesia on absorption of amoxicilin." *Arzneimittelforschung* **46**(7): 716-719.
- Turner, B.J. (2002). "Adherence to antiretroviral therapy by human immunodeficiency virus-infected patients." *J Infect Dis* **185** **Suppl 2**: S143-51.
- UNAIDS (2004). AIDS Epidemic. <http://hiv.net/link.php?id=227>.

- Vickers, A.E., Fischer, V., Connors, S., Fisher, R.L., Baldeck, J.P., Maurer, G.yBrendel, K. (1992). "Cyclosporin A metabolism in human liver, kidney, and intestine slices. Comparison to rat and dog slices and human cell lines." *Drug Metab Dispos* **20**(6): 802-9.
- Vila Jato, J.L.yTorres, J.J. (1989). "La biodisponibilidad. Concepto y Evaluación (III parte)." *Revista S.E.F.H.* **XIII**(1): 63-71.
- Volberding, P.A., Lagakos, S.W., Koch, M.A., Pettinelli, C., Myers, M.W., Booth, D.K., Balfour, H.H., Jr., Reichman, R.C., Bartlett, J.A., Hirsch, M.S.yet al. (1990). "Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimeter. The AIDS Clinical Trials Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases." *N Engl J Med* **322**(14): 941-9.
- Wagner, J.G. (1993). "Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist." Technomic Publishing. Lancaster.
- Wagner, J.G.yNelson, E. (1963). "Per cent absorbed time plots derived from blood level and/or urinary excretion data." *J Pharm Sci* **52**: 610-1.
- Walli, R., Herfort, O., Michl, G.M., Demant, T., Jager, H., Dieterle, C., Bogner, J.R., Landgraf, R.yGoebel, F.D. (1998). "Treatment with protease inhibitors associated with peripheral insulin resistance and impaired oral glucose tolerance in HIV-1-infected patients." *Aids* **12**(15): F167-73.
- Washington, C.B., Wiltshire, H.R., Man, M., Moy, T., Harris, S.R., Worth, E., Weigl, P., Liang, Z., Hall, D., Marriott, L.yBlaschke, T.F. (2000). "The disposition of saquinavir in normal and P-glycoprotein deficient mice, rats, and in cultured cells." *Drug Metab Dispos* **28**(9): 1058-62.
- Wei, P., Garber, M.E., Fang, S.M., Fischer, W.H.yJones, K.A. (1998). "A novel CDK9-associated C-type cyclin interacts directly with HIV-1 Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA." *Cell* **92**(4): 451-62.
- Williams, G.C., Knipp, G.T.ySinko, P.J. (2003). "The effect of cell culture conditions on saquinavir transport through, and interactions with,

MDCKII cells overexpressing hMDR1." *J Pharm Sci* **92**(10): 1957-67.

Williams, G.C.ySinko, P.J. (1999). "Oral absorption of the HIV protease inhibitors: a current update." *Adv Drug Deliv Rev* **39**(1-3): 211-238.

Yamaoka, K., Nakagawa, T., Tanaka, H., Yasuhara, M., Okumura, K.yHori, R. (1985). "A nonlinear multiple regression program, MULTI2 (BAYES), based on Bayesian algorithm for microcomputers." *J Pharmacobiodyn* **8**(4): 246-56.

Yamaoka, K., Nakagawa, T.yUno, T. (1978). "Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations." *J Pharmacokinet Biopharm* **6**(2): 165-75.

Yazdanpanah, Y., Sissoko, D., Egger, M., Mouton, Y., Zwahlen, M.yChene, G. (2004). "Clinical efficacy of antiretroviral combination therapy based on protease inhibitors or non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors: indirect comparison of controlled trials." *Bmj* **328**(7434): 249.

Zeldin, R.K.yPetruschke, R.A. (2004). "Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients." *J Antimicrob Chemother* **53**(1): 4-9.