

**Doctorado en Biomedicina y Farmacia**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**UNIVERSIDAD DE VALENCIA**



**Simulación de estudios de bioequivalencia:  
Sensibilidad de los analitos en fármacos  
con farmacocinética similar al ácido acetilsalicílico y a la cafeína.  
Validación de modelos semifisiológicos.**

**Directores:**

Vicente G. Casabó Alós

Carmen Navarro Fontestad

Isabel González Álvarez

**TESIS DOCTORAL  
Ana Cuesta Gragera  
Valencia, 2015**



**Doctorado en Biomedicina y Farmacia**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**UNIVERSIDAD DE VALENCIA**



**Simulación de estudios de bioequivalencia:  
Sensibilidad de los analitos en fármacos  
con farmacocinética similar al ácido acetilsalicílico y a la cafeína.  
Validación de modelos semifisiológicos.**

Memoria presentada por **Ana Cuesta Gragera** para optar al  
grado de Doctora por la Universidad de Valencia

Fdo. Ana Cuesta Gragera

Valencia, 2015



D. VICENTE GERMÁN CASABÓ ALÓS, Doctor en Farmacia y Catedrático de la Universidad de Valencia, Dña. CARMEN NAVARRO FONTESTAD, Doctora en Farmacia y Dña. ISABEL GONZÁLEZ ÁLVAREZ, Doctora en Farmacia y Contratada Doctor en la Universidad Miguel Hernández de Elche

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo, **Simulación de estudios de bioequivalencia: sensibilidad de los analitos en fármacos con farmacocinética similar al ácido acetilsalicílico y la cafeína. Validación de modelos semifisiológicos**, presentado por Dña. Ana Cuesta Gragera para optar al título de Doctora, ha sido realizado bajo su dirección y, una vez revisado, no encuentran objeciones para que sea presentado a su lectura y defensa.

Y para que así conste, firman el presente certificado en Valencia, a 17 de noviembre de 2015.

Fdo: Vicente G. Casabó Alós    Fdo:Carmen Navarro Fontestad

Fdo: Isabel González Álvarez



***A mis padres***



## **Agradecimientos**

Quiero dejar constancia de mi profundo agradecimiento a las personas que me han ayudado en este trabajo:

A Vicente Germán Casabó. Él fue un auténtico maestro para mí. Siempre admiré sus conocimientos y su capacidad para resolver problemas. Agradezco sus explicaciones, su tiempo, su paciencia y su cariño. Me quedo con el recuerdo de las tardes con él en la facultad, entre el laboratorio y la cafetería, hablando de todo, desde lo más científico hasta lo más mundano, con la misma naturalidad. D.E.P.

A Carmen Navarro, por sus explicaciones y su ayuda en los momentos de crisis. Con una sonrisa y cargada de paciencia, me hacía ver fácil lo que hasta ese momento me parecía imposible.

A Isabel González le agradezco que tomara las riendas de la dirección de mi tesis tras el fallecimiento de Vicente. Con tesón y cariño, me ha ayudado a darle forma a este trabajo. Sin ella, esta tesis no habría sido posible.

A Marival Bermejo, por su ayuda, su apoyo y su cariño.

A Víctor Mangas, por echarme una mano en algunos aspectos técnicos.

A mi padre, Luis Ramón Cuesta, por sus consejos y por sus revisiones finales del texto.



**Índice**

Abreviaturas .....	5
Resumen .....	9
Introducción.....	13
Estudios de bioequivalencia y analitos a medir.....	13
Farmacocinética y modelado poblacional .....	27
Modelos de efectos mixtos no lineales .....	33
Simulación.....	35
Compuestos ensayados.....	38
Objetivos .....	43
Material y métodos .....	47
Programas informáticos .....	47
Modelo para el AAS .....	58
Farmacocinética del AAS.....	58
Modelo propuesto para el AAS .....	59
Parámetros poblacionales.....	72
Parámetros individuales.....	77
Validación del modelo para el AAS.....	78

## Índice

Estudios de bioequivalencia para el AAS.....	81
Cálculo de cocientes de Cmax y AUC .....	82
Cálculo del porcentaje de resultados de bioequivalencia ...	83
Modelo para la cafeína.....	85
Farmacocinética de la cafeína .....	85
Modelo propuesto para la cafeína.....	86
Parámetros poblacionales para la cafeína .....	91
Parámetros individuales.....	96
Validación del modelo de la cafeína.....	97
Resultados .....	101
Validación del modelo del AAS .....	101
Estudios de bioequivalencia del AAS.....	109
Validación del modelo de la cafeína.....	119
Discusión.....	129
Validación del modelo del AAS .....	134
Estudios de bioequivalencia del AAS .....	136
Validación del modelo de la cafeína.....	139
Conclusiones.....	143
Bibliografía .....	147

Anexos .....	157
Anexo I: Archivo de datos AAS. Dosis 1000mg, $k_D$ test $0,25h^{-1}$ .....	157
Anexo II: Archivo control AAS. Dosis 1000mg, $k_D$ test $0,25h^{-1}$ .....	158
Anexo III: Archivo de datos Cafeína. Dosis 100mg .....	170
Anexo IV: Archivo control Cafeína. Dosis 100mg .....	171
Anexo V: Archivo de datos Cafeína. Dosis 175mg .....	177
Anexo VI: Archivo control Cafeína. Dosis 175mg .....	178
Anexo VII: Archivo de datos Cafeína. Dosis 400mg .....	184
Anexo VIII: Archivo control Cafeína. Dosis 400mg .....	185
Anexo IX: Archivo de datos Cafeína. Pacientes cirróticos....	191
Anexo X: Archivo control Cafeína. Pacientes cirróticos.....	192



## **Abreviaturas**

AAS: Ácido acetilsalicílico.

ANOVA: Análisis de la varianza.

AS: Ácido salicílico.

AUC: Área bajo la curva.

BCS: Sistema de clasificación biofarmacéutica.

C: Concentración de analito en cada compartimento.

$CL^i$ : Aclaramiento metabólico intrínseco.

$CL_R$ : Aclaramiento renal.

$C_{max}$ : Concentración máxima.

E: Tasa de extracción.

EE: Error estándar.

EMA: Agencia europea de Medicamentos.

FDA: Administración de Medicamentos y Alimentos de los EE.UU.

h: Coeficiente de Hill.

IC90%: Intervalo de confianza del 90%.

## Abreviaturas

$k_A$ : Constante de velocidad de absorción real.

$k_{Aap}$ : Constante de velocidad de absorción aparente.

$k_D$ : Constante de disolución *in vivo*.

$k_{el}$ : Constante de eliminación.

$K_M$ : Constante de Michaelis-Menten.

LADME: Liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción.

NONMEM: Programa informático, NON Linear Mixed Effects Modeling.

Q: Cantidad de analito en cada compartimento.

S: Solubilidad.

$SC_F$ : Suma de cuadrados de la variabilidad de la formulación.

$SC_I$ : Suma de cuadrados de la variabilidad interindividual.

$SC_P$ : Suma de cuadrados de la variabilidad del período.

$SC_R$ : Suma de cuadrados de la variabilidad residual.

$SC_T$ : Suma de cuadrados total.

SU: Ácido salicílico.

t: Tiempo transcurrido desde la administración del fármaco.

Tmax: Tiempo al que se produce la concentración máxima.

TUA: Tiempo útil de absorción.

$t(v,\alpha)$ : t de Student con  $v$  grados de libertad y probabilidad  $\alpha$ .

V: Volumen de distribución aparente.

$\varepsilon$ : Variabilidad residual.

$\eta_i$ : Variabilidad interindividual.

$\eta_{io}$ : Variabilidad interocasión.

$\phi$ : Flujo sanguíneo.

$\theta$ : Parámetro.

$\omega_i^2$ : Varianza de la variabilidad interindividual.

$\omega_{io}^2$ : Varianza de la variabilidad interocasión.

$\sigma^2$ : Varianza de la variabilidad residual.



## Resumen

En los estudios de bioequivalencia se comparan las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de un grupo de voluntarios a los que se les ha administrado el medicamento de referencia y el medicamento problema. Esa comparación se realiza evaluando la velocidad y magnitud de absorción del medicamento problema, con respecto al de referencia. Por ello, los parámetros analizados son el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) y la concentración plasmática máxima (Cmax) (EMA, 2010). La EMA y la FDA (EMA, 2010; FDA, 2001, 2003) establecen que el intervalo de confianza del 90%, para la relación (test/referencia) de las medias geométricas poblacionales de los parámetros AUC y Cmax, debe encontrarse dentro del intervalo de aceptación del 80,00-125,00%. El intervalo de confianza se calcula usando la variabilidad residual obtenida de un ANOVA tras separar las distintas fuentes de variabilidad que puedan afectar a los resultados del estudio.

En principio, de acuerdo con las recomendaciones de la EMA y la FDA, la evaluación de la bioequivalencia debe basarse en las concentraciones de fármaco padre, ya que el perfil de concentraciones plasmáticas-tiempo del fármaco padre es más sensible a los cambios de una formulación que el metabolito (EMA, 2010; FDA, 2003). Sin embargo, la EMA y la FDA tienen

## Resumen

criterios distintos en cuanto a las situaciones en las que se puede aceptar la medida de un metabolito.

Debido a estas diferencias, el grupo de investigación del Profesor Dr. Casabó inició el estudio de la sensibilidad de los distintos analitos (fármaco padre y metabolitos) en los ensayos de bioequivalencia, para conocer en qué situaciones es recomendable o necesario medir el metabolito. Las herramientas de trabajo fueron el modelado farmacocinético poblacional y la simulación: se crearon modelos semifisiológicos con un metabolismo concreto, con los que se realizaron una serie de simulaciones cambiando la constante de disolución *in vivo*, para obtener concentraciones plasmáticas individuales del fármaco padre y del metabolito. Esto se realizó en un primer momento de forma teórica, con dos tipos de modelos farmacocinéticos semifisiológicos: uno con una sola vía metabólica (metabolismo hepático) (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) y otro con dos vías metabólicas y con metabolismo de primer paso hepático e intestinal (Navarro-Fontestad y col., 2010).

Esta tesis continúa la misma línea de investigación, y presenta un nuevo modelo, para fármacos que sufren un efecto de primer paso hepático e intestinal, que da lugar a la formación de dos metabolitos principales en dos generaciones. Con este modelo, se han simulado ensayos de bioequivalencia,

comparando una formulación de referencia con seis formulaciones test de constante de disolución *in vivo* decreciente. Por otro lado, en esta tesis se realiza la validación del modelo propuesto, así como del modelo con una sola vía metabólica (hepática), mediante la comparación de las gráficas de concentraciones plasmáticas-tiempo obtenidas en las simulaciones con datos experimentales publicados. Las sustancias empleadas en el proceso de validación son fármacos con metabolismo suficientemente conocido, representativo de cada modelo propuesto.

El modelado y simulación se han realizado con el programa informático NONMEM, programando las ecuaciones diferenciales que definen el modelo estructural y los modelos de variabilidad interindividual y residual. Los datos de AUC y Cmax obtenidos de las simulaciones de los ensayos de bioequivalencia han sido tratados posteriormente con Excel, para calcular los cocientes y para realizar el ANOVA que nos permita determinar los resultados de bioequivalencia.

Los **objetivos** de esta tesis son:

1. Presentar un modelo farmacocinético semifisiológico que muestre un metabolismo secuencial hepático e intestinal y validarlo, comparando concentraciones plasmáticas simuladas, con datos experimentales publicados de AAS.

2. Determinar el analito (compuesto padre o sus metabolitos) más sensible a los cambios en la formulación que implican una disminución en la constante de disolución *in vivo*, cuando se simulan estudios de bioequivalencia con el modelo citado en el objetivo número 1.

3. Presentar un modelo semifisiológico que muestre un metabolismo exclusivamente hepático que dé lugar a un metabolito principal y validarlo, comparando concentraciones plasmáticas simuladas, con datos experimentales publicados de cafeína, tanto en sujetos sanos como en pacientes cirróticos.

Los resultados de la validación de los dos modelos propuestos han mostrado que las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo simuladas, tanto del fármaco padre como del metabolito principal, se ajustan a los datos experimentales publicados.

Los resultados de bioequivalencia para el modelo con metabolismo secuencial hepático e intestinal, han demostrado que el fármaco padre es el analito más sensible a las diferencias de constante de disolución *in vivo* entre la formulación test y la de referencia.

## Introducción

---

### **Estudios de bioequivalencia y analitos a medir**

La Agencia Europea de Medicamentos (EMA, por sus siglas en inglés) establece en su *Guideline on the investigation of bioequivalence* (EMA, 2010) que dos medicamentos que contienen el mismo principio activo se consideran bioequivalentes si son equivalentes o alternativas farmacéuticas y sus biodisponibilidades (en velocidad y magnitud), tras la administración de la misma dosis molar, se encuentran dentro de unos límites aceptables predefinidos. Estos límites se

## Introducción

establecen para asegurar un comportamiento comparable *in vivo*, es decir, una similitud en términos de seguridad y eficacia (EMA, 2010).

La Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) define bioequivalencia en su *Guidance for Industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general considerations* (FDA, 2003) como la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y magnitud con la que la sustancia activa o la fracción activa en un equivalente o alternativa farmacéutica se convierte en disponible en el lugar de acción del fármaco, cuando se administra a la misma dosis molar en condiciones similares en un estudio diseñado adecuadamente.

En los estudios de bioequivalencia se comparan las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de un grupo de voluntarios a los que se les ha administrado el medicamento de referencia y el medicamento problema. Esa comparación se realiza evaluando la velocidad y magnitud de absorción del medicamento problema con respecto al de referencia. Por ello, los parámetros analizados son el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) y la concentración plasmática máxima (Cmax). El área bajo la curva (AUC) refleja la magnitud de la exposición, mientras que la concentración plasmática máxima o

pico de exposición (C<sub>max</sub>) y el tiempo al que se produce la máxima concentración plasmática (T<sub>max</sub>) reflejan la velocidad de absorción (EMA, 2010). La EMA y la FDA (EMA, 2010; FDA, 2001, 2003) establecen que el intervalo de confianza del 90% para la relación (test/referencia) de las medias geométricas poblacionales de los parámetros AUC y C<sub>max</sub>, debe encontrarse dentro del intervalo de aceptación del 80,00-125,00%. El intervalo de confianza se calcula usando la variabilidad residual obtenida de un ANOVA tras separar las distintas fuentes de variabilidad que se cree razonablemente que afectan a los resultados del estudio (periodo, secuencia, formulación y sujetos anidados dentro de la secuencia).

En principio, de acuerdo con las recomendaciones de ambas agencias reguladoras, la evaluación de la bioequivalencia debe basarse en las concentraciones de fármaco padre, ya que el perfil de concentraciones plasmáticas-tiempo del fármaco padre es más sensible que el metabolito a los cambios de una formulación (EMA, 2010; FDA, 2003). Sin embargo, la EMA y la FDA tienen criterios distintos en cuanto a las situaciones en las que se puede aceptar la medida de un metabolito.

En el caso de profármacos inactivos, la EMA sólo consideraría aceptable demostrar la bioequivalencia para el metabolito activo principal cuando las concentraciones

## Introducción

plasmáticas del profármaco son tan bajas que no es posible demostrar la bioequivalencia con el compuesto padre. En el caso de compuestos padre activos, el uso de los datos de un metabolito como sustituto del compuesto padre sólo se permite en casos excepcionales en los que la empresa justifique que la sensibilidad del método analítico para determinar las concentraciones de compuesto padre no se puede mejorar y que no es posible medir el compuesto padre con fiabilidad tras la administración de dosis únicas, considerando también la opción de emplear una dosis superior en el estudio de bioequivalencia (EMA, 2010).

La FDA, sin embargo, puede preferir la medida de un metabolito cuando los niveles de compuesto padre son demasiado bajos para permitir una medición fiable en sangre, plasma o suero durante un espacio de tiempo adecuado. En el caso de que hubiese algún problema relacionado con la eficacia o seguridad del compuesto padre, la FDA recomienda que se contacte con los evaluadores para determinar si el compuesto padre se debe medir también. En el caso de metabolitos formados como consecuencia de un metabolismo presistémico y que contribuyan de forma importante a la seguridad y/o eficacia, la FDA recomienda la determinación de los datos del metabolito y del compuesto padre. Cuando la actividad relativa del metabolito sea baja y no contribuya de forma importante a la seguridad y/o eficacia, no se requiere su medida. En este caso,

los datos del metabolito pueden aportarse como información adicional (FDA, 2003).

El papel de los metabolitos en la evaluación de la bioequivalencia ha sido estudiado por varios equipos de investigación, mediante la realización de simulaciones de ensayos de bioequivalencia, empleando distintos modelos farmacocinéticos. Desde hace unos años, el equipo del Profesor Dr. Casabó (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b; Navarro-Fontestad y col., 2010) se ha dedicado a la investigación de este asunto, estudiando los trabajos realizados anteriormente por otros autores y proponiendo nuevos modelos farmacocinéticos para la simulación de ensayos de bioequivalencia, que permitan resolver la polémica existente sobre el papel de los metabolitos.

En general, podemos decir que los modelos anteriores empleados para el estudio del papel de los metabolitos en la bioequivalencia, eran demasiado simples o estaban sobrep parametrizados. A continuación, se destacan algunos aspectos de estos estudios que consideramos importantes:

Chen y Jackson emplearon inicialmente un modelo (figura 1) con dos compartimentos, farmacocinética lineal y sin efecto de primer paso (Chen y Jackson, 1991). Cuatro años después, estos mismos autores emplearon el mismo modelo añadiendo el efecto de primer paso, pero con una única

## Introducción

constante para describir la formación y la absorción del metabolito (figura 1) (Chen y Jackson, 1995). En estos estudios, las simulaciones de los ensayos de bioequivalencia establecían la diferencia entre el medicamento de referencia y el test modificando la velocidad de absorción del fármaco. El principal parámetro para evaluar la diferencia entre las dos formulaciones fue la  $C_{max}$ , sin tener en cuenta la magnitud de la absorción.

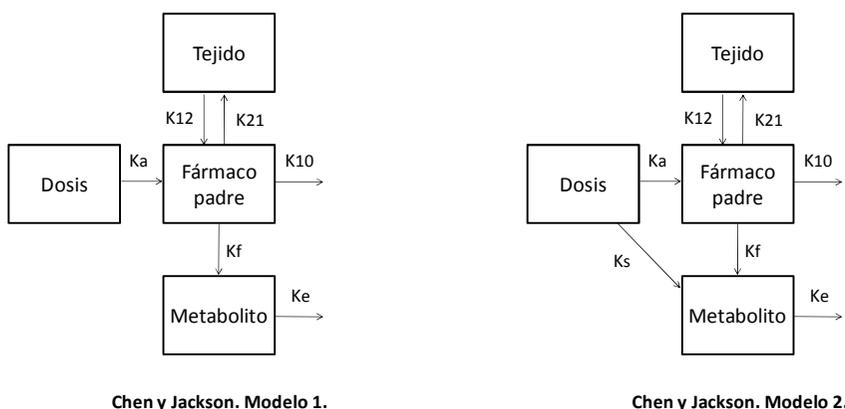


Figura 1. Modelos farmacocinéticos empleados por Chen y Jackson (Chen y Jackson, 1991, 1995) para la simulación de estudios de bioequivalencia, donde  $k_a$ : constante de absorción de primer orden,  $k_{12}$  y  $k_{21}$ : constantes de transferencia intercompartimental,  $k_{10}$ : constante de eliminación de primer orden del fármaco padre desde el compartimento central,  $k_f$ : constante de velocidad de formación del metabolito,  $k_e$ : constante de eliminación de primer orden del metabolito,  $k_s$ : constante de absorción/formación del metabolito.

Posteriormente, Jackson empleó un modelo semifisiológico más complejo que incluía el efecto de primer paso hepático (Jackson, 2000). Sin embargo, el aclaramiento del

efecto de primer paso era diferente e independiente del aclaramiento hepático del metabolismo sistémico (figura 2). En este caso, se evaluaron las diferencias en la velocidad y en la magnitud de la absorción. En 2010, Braddy y Jackson emplearon este último modelo, pero considerando un efecto de primer paso no lineal (Braddy y Jackson, 2010).

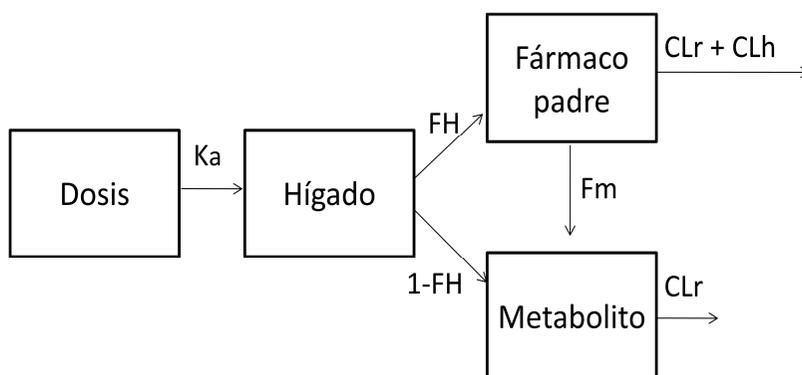


Figura 2. Modelo farmacocinético empleado por Jackson (Jackson, 2000), donde  $F_m$ : fracción de un fármaco intravenoso convertida a metabolito,  $FH$ : cantidad de fármaco padre absorbida,  $(1 - FH)$ : cantidad de metabolito formado vía primer paso,  $CL_r$ : aclaramiento renal, y  $CL_h$ : aclaramiento hepático.

Rosenbaum y Tucker también estudiaron esta cuestión, con modelos semifisiológicos similares pero relacionando el aclaramiento del efecto de primer paso hepático con el aclaramiento sistémico, solucionando así el problema de la sobreparametrización. Sin embargo, no estudiaron la no linealidad del metabolismo hepático (Rosenbaum, 1998; Rosenbaum y Lam, 1997; Tucker y col., 1993).

## Introducción

Además de las cuestiones mencionadas, relativas a los modelos farmacocinéticos, es importante destacar que, en todos esos trabajos, el criterio principal para la selección del analito era el porcentaje de ensayos de bioequivalencia fallidos. Sin embargo, esto no sólo depende de la diferencia entre las formulaciones, sino que también depende en gran medida de la variabilidad de los analitos.

La variabilidad de los analitos ha sido un factor de confusión en este tipo de estudios. Considerando un determinado diseño de un estudio de bioequivalencia, cuanto mayor es la variabilidad interocasión del analito, menor es el porcentaje de resultados satisfactorios de bioequivalencia para una diferencia real dada. La falta de potencia de un estudio se puede solucionar aumentando el número de pacientes del estudio, pero la falta de sensibilidad no se puede mejorar una vez seleccionado el analito insensible. La capacidad de reflejar las diferencias reales entre dos formulaciones en las estimaciones (exactitud) no se debe confundir con la variabilidad de las estimaciones (precisión). La selección del analito a medir se debe basar en la exactitud de las estimaciones. Seleccionar el analito en base al criterio de mayor porcentaje de ensayos fallidos podría llevar a elegir un analito insensible a los cambios pero con una gran variabilidad, que sería la responsable de ese incremento en el porcentaje de resultados fallidos.

Por otra parte, la permeabilidad, la solubilidad y la constante de disolución *in vivo* son los principales factores que influyen en la velocidad y la magnitud de la absorción de fármacos, y como consecuencia de ello, influyen directamente en los ensayos de bioequivalencia.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS, por sus siglas en inglés), que se basa en la permeabilidad y la solubilidad de los fármacos, establece cuatro clases de fármacos:

- Clase I: compuestos con alta permeabilidad y alta solubilidad.
- Clase II: compuestos con alta permeabilidad y baja solubilidad.
- Clase III: compuestos con baja permeabilidad y alta solubilidad.
- Clase IV: compuestos con baja permeabilidad y baja solubilidad.

Este sistema de clasificación no fue considerado en los trabajos anteriores mencionados, a pesar de su importante impacto en la velocidad y magnitud de la absorción.

## Introducción

En cuanto al diseño del estudio, Jackson publicó en primer lugar un trabajo sobre el comportamiento relativo y la utilidad de los regímenes de dosis única y dosis múltiple para la determinación de bioequivalencia, cuando la cinética es lineal (Jackson, 1987) y no lineal (Jackson, 1989). Posteriormente, la investigación se centró en fármacos con cinética lineal (el-Tahtawy y col., 1994, 1995; el-Tahtawy y col., 1998; Zha y Endrenyi, 1997), llegando a la conclusión de que, cuando la cinética es lineal, los ensayos a dosis única son más sensibles para detectar diferencias en la velocidad de absorción. No se realizaron estudios análogos para fármacos con cinética no lineal.

Con todas estas consideraciones, el equipo del Profesor Dr. Casabó comenzó la investigación de la implicación de los distintos analitos en los estudios de bioequivalencia:

En primer lugar, Fernández-Teruel y col. (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) crearon un modelo farmacocinético semifisiológico (figura 3) con una sola vía metabólica (metabolismo hepático) con el que se estudiaron distintos tipos de fármacos y escenarios para determinar cuál era el analito más sensible a los cambios en la calidad de un medicamento, en los ensayos de bioequivalencia.

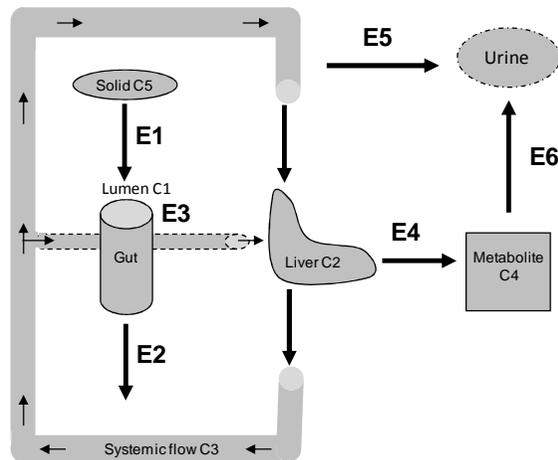


Figura 3. Modelo farmacocinético empleado por Fernández-Teruel y col. (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b), donde se representan los compartimentos C1: lumen intestinal, C2: hígado, C3: plasma sistémico, C4: metabolito, C5: forma farmacéutica sólida; y los procesos E1: disolución, E2: degradación en lumen, E3: absorción, E4: metabolismo hepático, E5: excreción renal del fármaco padre, E6: excreción renal del metabolito.

Para ello, se tuvieron en cuenta los distintos tipos de fármacos según el sistema BCS y el nivel de aclaramiento intrínseco, y los distintos escenarios, en función de la variabilidad interocasión, la calidad de la formulación (determinada por la constante de disolución), la cinética (lineal o no lineal) y el diseño del estudio (dosis única o dosis múltiple), como se puede observar en el esquema de la figura 4.

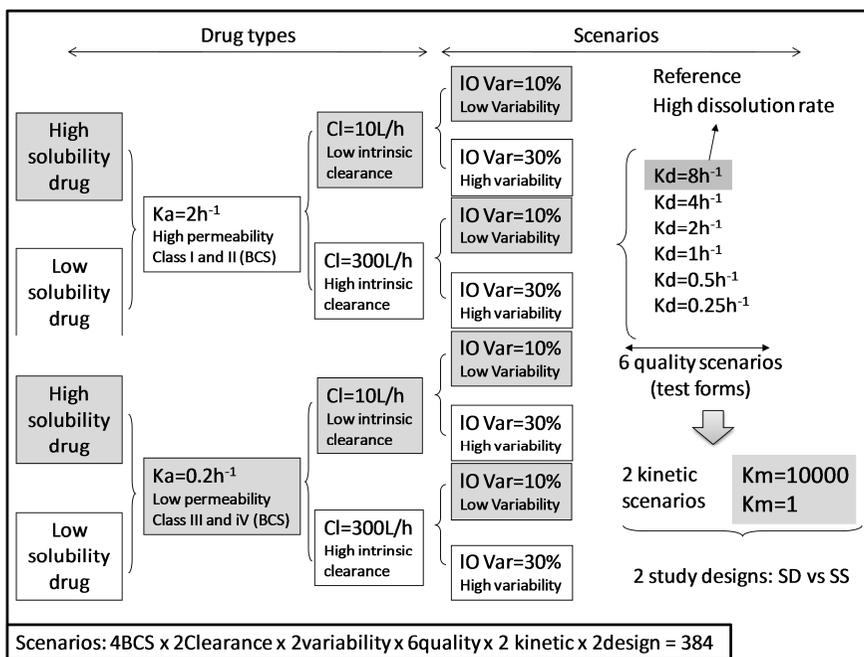


Figura 4. Esquema de los escenarios empleados por Fernández-Teruel y col. (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) en las simulaciones de estudios de bioequivalencia.

El interés de estas dos publicaciones era determinar si la existencia de un efecto de primer paso hepático es una razón para requerir la medida del metabolito activo, cuando la cinética es lineal o no lineal (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b). El modelo incluía la posibilidad de saturación del metabolismo enzimático hepático y consideraba los mismos parámetros para definir el efecto de primer paso y el aclaramiento metabólico sistémico, evitando así la sobrep parametrización de modelos anteriores. Este modelo no incluía el efecto de primer paso en la pared intestinal. Los

resultados se presentaron como los cocientes medios de AUC y C<sub>max</sub> de la formulación test frente a la de referencia del fármaco padre y del metabolito, graficados frente a la constante de velocidad de disolución *in vivo* y la fracción absorbida relativa. Así, se podía observar qué analito detectaba primero la disminución de la constante de disolución.

Para fármacos que siguen una cinética lineal y metabolismo únicamente hepático, se llegó a la conclusión de que el fármaco padre en régimen de dosis única era el analito más sensible para la demostración de bioequivalencia. La única excepción ocurrió en los fármacos de clase BCS III con bajo aclaramiento intrínseco, los cuales se espera que sean muy infrecuentes y que muestren una cinética no lineal debido a la absorción limitada causada por el tiempo útil de absorción o ventana de absorción. En este caso, el fármaco padre en régimen de dosis múltiple fue el analito más sensible. Por tanto, cuando la cinética es lineal, y no existe metabolismo intestinal, no se considera necesario medir el metabolito (Fernández-Teruel y col., 2009b).

En el caso de fármacos que siguen una cinética no lineal, la conclusión fue también que el metabolito no mostraba mayor sensibilidad a los cambios en la formulación que el fármaco padre. Cabe destacar que, en estas condiciones, el diseño de dosis múltiple era más sensible a los cambios de la calidad de la

## Introducción

formulación en algunos de los escenarios estudiados, por lo que se consideraba adecuado el criterio de la guía de la EMA del año 2001, en la que se requerían diseños de dosis múltiple adicionales a los de dosis única en el caso de farmacocinética dosis (o tiempo) dependiente (EMEA, 2001; Fernández-Teruel y col., 2009a). Sin embargo, la EMA actualmente no requiere investigar la necesidad de un estudio de dosis múltiple (EMA, 2010).

Posteriormente, se creó otro modelo para fármacos con dos vías metabólicas y con metabolismo de primer paso hepático e intestinal, en el que también se estudiaron las distintas condiciones de linealidad (Navarro-Fontestad y col., 2010). En este estudio se concluyó que cuando existe metabolismo presistémico, los metabolitos no muestran mayor sensibilidad que el fármaco padre a los cambios en la calidad farmacéutica, incluso cuando la cinética es no lineal. En este estudio se detectó que para el escenario específico de fármacos de clase I a altas dosis, en los que la principal vía metabólica está saturada, el metabolito principal mostraba un incremento en su AUC cuando disminuía la constante de disolución. Este cambio en la velocidad de disolución podría ocurrir en el caso de formulaciones de liberación modificada desarrolladas como una extensión de línea de una formulación de liberación inmediata. Una disminución importante de la constante de disolución en la

formulación de liberación modificada, podría llevar a un aumento considerable del AUC del metabolito principal, comprometiendo la bioequivalencia en magnitud de ambas formulaciones, al menos para el metabolito. Esto apoya las recomendaciones de la EMA, que requiere datos clínicos comparativos adicionales para solicitudes de autorización de comercialización de formulaciones de liberación modificada desarrolladas como extensión de línea de una autorización de comercialización existente (EMA, 2003).

### **Farmacocinética y modelado poblacional**

La farmacocinética es el estudio de la evolución temporal de los fármacos y/o sus metabolitos en el organismo. Comprende los procesos descritos en LADME (liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción) a los que la molécula es sometida.

La farmacocinética es una disciplina que utiliza modelos matemáticos para describir y predecir el curso temporal de las concentraciones de fármaco en los fluidos corporales. Para ello, se han descrito distintas metodologías o estrategias matemáticas. Básicamente, podemos clasificar las estrategias farmacocinéticas en dos categorías: análisis no compartimental y modelado. Dentro del modelado, encontramos el análisis

compartimental clásico, el análisis farmacocinético basado en la fisiología y los modelos híbridos, donde se mezclan el análisis compartimental clásico y los modelos basados en la fisiología (Ruiz-García y col., 2008).

El modelado emplea ecuaciones diferenciales para describir los procesos implicados en el curso temporal de las concentraciones de fármaco. El modelo puede ser totalmente empírico, cuando los compartimentos son cajas negras (el esquema del fármaco se generaliza normalmente en uno, dos o tres compartimentos), o puede tener algún significado fisiológico asignado a los compartimentos definidos en el modelo. La selección del modelo que mejor se ajusta a los datos se realiza empleando algún criterio estadístico, junto con gráficas diagnósticas. Sin embargo, en farmacocinética, no existe el modelo perfecto. Un análisis farmacocinético bueno proporcionará un modelo matemático que será capaz de ajustar los datos, simular y predecir varios escenarios con un cierto grado de confort. Esto no significa que sea necesariamente el mejor modelo; debe ser el modelo más sencillo que describe satisfactoriamente los datos. El principal propósito de un análisis farmacocinético es obtener un conjunto de parámetros que describan el comportamiento cinético del fármaco en el organismo tras su administración. Por ello, con el análisis farmacocinético, intentamos extrapolar los resultados obtenidos

en un estudio al conjunto de la población (Ruiz-García y col., 2008).

Durante la década de los 70 y principios de los 80, las inconsistencias en el análisis compartimental llevaron a algunos autores a considerar una nueva aproximación de análisis de datos en farmacocinética, que más tarde se denominó farmacocinética poblacional. Así, el análisis de datos pasó de tener un fundamento básicamente cinético, a incorporar fundamentos estadísticos. Con esta nueva aproximación surgió el programa informático NONMEM, cuyas prestaciones han ido evolucionando hasta la actualidad. Sheiner y Beal demostraron, con datos procedentes de la práctica clínica rutinaria, que con dicha aproximación era posible estimar parámetros farmacocinéticos poblacionales a partir de 2 o 3 muestras por paciente. También demostraron que con otros métodos de análisis poblacional, como el método de datos acumulados o el método estándar de dos etapas, se obtenían estimados sesgados de los parámetros farmacocinéticos. Aunque inicialmente los métodos de análisis poblacional se centraron en el análisis de datos obtenidos en la práctica clínica rutinaria y en la individualización de regímenes posológicos, en la actualidad esta metodología juega un papel muy importante en la farmacología clínica en general y durante las distintas etapas del desarrollo de un fármaco en particular (Trocóniz y col., 2013).

## Introducción

De acuerdo con la FDA, la farmacocinética poblacional es el estudio de las fuentes y correlaciones de variabilidad en las concentraciones de fármaco entre los individuos que son la población diana de pacientes que reciben dosis clínicamente relevantes del fármaco de interés. Se trata del estudio de la variabilidad en las concentraciones de fármaco entre individuos, ya sean voluntarios sanos o pacientes, que reciben un régimen de dosificación estándar (Trocóniz y col., 2013). La farmacocinética poblacional incluye el análisis de datos de un grupo (población) de individuos, analizados simultáneamente para aportar información sobre la variabilidad de los parámetros del modelo. La riqueza de esta información dependerá del análisis matemático realizado y del conjunto de datos disponible (Ruiz-García y col., 2008).

La farmacocinética poblacional permite cuantificar tanto la magnitud de la variabilidad dentro de la población de estudio, como el estudio de la contribución de determinadas características, ya sean demográficas, fisiopatológicas o terapéuticas, a dicha variabilidad (Trocóniz y col., 2013).

En los estudios farmacocinéticos clásicos, la variabilidad interindividual se ha intentado evitar a través de diseños de estudios complejos, controlados o criterios de inclusión y exclusión muy restrictivos en la selección de pacientes o voluntarios sanos, por lo que estos estudios no se han efectuado

en condiciones representativas de la utilización del fármaco. Esta es una de las principales diferencias entre el análisis poblacional y el clásico (Trocóniz y col., 2013).

Los objetivos del análisis farmacocinético poblacional pueden concretarse en:

- Estimar los valores promedio de los parámetros farmacocinéticos poblacionales.
- Estimar la magnitud de la variabilidad interindividual asociada a dichos parámetros.
- Estimar la variabilidad residual asociada a las concentraciones experimentales.
- Estimar la magnitud de la variabilidad entre ocasiones asociada a los parámetros farmacocinéticos.
- Identificar y evaluar la magnitud de la influencia de determinadas covariables sobre el valor de los parámetros farmacocinéticos.

Las ventajas del análisis poblacional se basan fundamentalmente en que permiten:

- Estimar parámetros farmacocinéticos a partir de diseños de muestreo tanto intensivos o densos, como dispersos.

## Introducción

- Caracterizar el comportamiento cinético de un fármaco en poblaciones especiales (neonatos, ancianos, etc.) o en pacientes en los que el número de muestras es limitado.
- Estimar parámetros farmacocinéticos para establecer las relaciones dosis-exposición o dosis-respuesta/seguridad en estudios de fase II y III durante las etapas de desarrollo de un fármaco, en las que se suelen extraer de 2 a 3 muestras por individuo.
- Obtener, a partir de diseños de datos dispersos, mejores estimas de la variabilidad interindividual que en los estudios farmacocinéticos clásicos.
- Efectuar análisis farmacocinéticos simultáneos de datos heterogéneos procedentes de distintas fuentes, tales como datos de distintos estudios, centros o matrices (plasma, suero, orina) procedentes de muestreo intensivo y datos dispersos, o bien de estudios experimentales y observacionales.

Entre los inconvenientes del análisis farmacocinético poblacional, es importante destacar la necesidad de disponer de personal con la formación suficiente para poder implementar e interpretar los modelos matemáticos y estadísticos utilizados en la estimación de parámetros (Trocóniz y col., 2013).

### ***Modelos de efectos mixtos no lineales***

Los modelos de efectos mixtos no lineales incluyen dos componentes fundamentales: modelo estructural, cuyos parámetros constituyen los efectos fijos, y el modelo estadístico o de varianza, cuyos parámetros constituyen los efectos aleatorios. Estos modelos consideran que la variabilidad global observada en la respuesta medida (concentración de fármaco) en una muestra de  $n$  individuos es producto tanto del error residual (que incluye la variabilidad intraindividual) como de la variabilidad interindividual. La concentración observada en un individuo dado puede ser descrita mediante la ecuación 1:

$$y_{ij} = f_{ij}(\theta, x_{ij}) + \varepsilon$$

Ecuación 1

Donde  $y_{ij}$ , para  $j=1$  a  $n$ , son las observaciones experimentales del individuo  $i$  a cada uno de los tiempos  $x_{ij}$ ;  $\theta_i$  es el vector de parámetros farmacocinéticos del individuo  $i$ ;  $f_{ij}$  es una función no lineal que establece la relación entre predicciones y parámetros farmacocinéticos en cada individuo  $i$ , o dicho de otro modo, el modelo estructural que mejor explica las observaciones experimentales de cada individuo  $i$  a cada tiempo  $j$ ;  $\varepsilon_j$  es el error de medida de la observación al tiempo  $j$ , o dicho de otro modo, la desviación entre el valor observado y el valor esperado a tiempo  $j$ . Se asume, en general, que los valores de  $\varepsilon_j$  son independientes y presentan una distribución

## Introducción

simétrica alrededor de cero y de varianza  $\sigma^2$ , representativa de la variabilidad residual.

Los parámetros farmacocinéticos ( $\theta_i$ ) pueden variar cuantitativamente de un individuo a otro, tal y como se expresa en la ecuación 2:

$$\theta_i = g(\bar{\theta}, z_{ij}) + \eta_i$$

Ecuación 2

Donde  $\theta_i$  es el valor esperado del parámetro, que es función del vector de parámetros poblacionales  $\bar{\theta}$  y de las covariables específicas para cada individuo  $z_{ij}$ ;  $\eta_i$  representa la desviación aleatoria del vector de parámetros farmacocinéticos individuales. Se asume que los valores de  $\eta_i$  son independientes y describen una distribución simétrica alrededor de cero y de varianza  $\omega^2$ , representativa de la variabilidad interindividual.

La aproximación de los modelos no lineales de efectos mixtos proporciona, por una parte, los valores poblacionales de los parámetros farmacocinéticos comunes a todos los sujetos del estudio, o bien efectos fijos, y por otra parte, los valores poblacionales de los parámetros de efectos aleatorios, representativos de la variabilidad interindividual y la variabilidad residual (Trocóniz y col., 2013).

## Simulación

La simulación consiste en generar datos a partir de un modelo. Una forma sencilla de simular consiste en fijar los valores de las varianzas de los efectos aleatorios interindividuales,  $\eta(\omega^2)$ , y residuales,  $\varepsilon(\sigma^2)$ , a cero. Esto equivale a simular el individuo típico de la población, y los valores predichos de concentración dependerán exclusivamente de la dosis administrada, los tiempos de muestreo y los valores poblacionales de los parámetros (Trocóniz y col., 2013).

La aproximación más frecuente de simulación es la estocástica, que consiste en generar datos muestreando aleatoriamente las distribuciones de probabilidad representativas de los efectos aleatorios (interindividuales y residuales), caracterizadas por sus respectivas varianzas asociadas ( $\omega^2$  y  $\sigma^2$ ). Este tipo de simulación es la denominada de Monte Carlo, y requiere fijar los valores de  $\omega^2$  y  $\sigma^2$ , así como los valores de los parámetros de efectos fijos en el modelo ( $\theta$ ) (Trocóniz y col., 2013).

La simulación es una potente herramienta para conocer el impacto que pueden tener sobre la estimación de parámetros farmacocinéticos, distintos factores como la intensidad del muestreo, los diferentes esquemas de muestreo de datos dispersos o el tamaño muestral. Además, puede ayudar a

## Introducción

conocer si un modelo es demasiado complejo o no para los datos de que se dispone y si la inclusión de una determinada covariable es relevante o no para predecir los parámetros estructurales del modelo. Por otra parte, también puede permitir obtener información acerca de cómo varía la exposición al fármaco frente a cambios en el régimen de dosificación y en el valor de las covariables, resultando de especial interés durante la utilización clínica del fármaco y como soporte para una correcta monitorización terapéutica en el caso de fármacos con estrecho margen terapéutico. Asimismo, la simulación es una potente herramienta para validar modelos farmacocinéticos, tras el proceso de modelización, en el que se selecciona el modelo que mejor se ajusta a los datos experimentales (Trocóniz y col., 2013).

Existen distintos programas informáticos para la realización de simulaciones en biomedicina (tabla 1). Para la realización de este trabajo, se ha empleado el programa NONMEM, ampliamente utilizado en farmacocinética poblacional por la comunidad científica.

Herramientas generales informáticas	Berkeley Madonna, <i>University of California at Berkeley</i>	<a href="http://www.berkeleymadonna.com">www.berkeleymadonna.com</a>
	MATLAB-Simulink, <i>The Math Works, Inc.</i>	<a href="http://es.mathworks.com">es.mathworks.com</a>
	MLAB, <i>Civilized Software, Inc.</i>	<a href="http://www.civilized.com">www.civilized.com</a>
	GNU Octave, <i>JW Eaton</i>	<a href="http://www.gnu.org">www.gnu.org</a>
Softwares para el modelado biomatemático y farmacocinético	ADAPT, <i>Biomedical Simulations Resource, USC.</i>	<a href="http://bmsr.usc.edu">bmsr.usc.edu</a>
	ModelMaker: ModelKinetix <i>AP Benson</i>	<a href="http://www.modelkinetix.com">www.modelkinetix.com</a>
	NONMEM <i>University of California</i>	<a href="http://www.iconplc.com">www.iconplc.com</a>
	Stella <i>Isee Systems, Inc.</i>	<a href="http://www.iseesystems.com">www.iseesystems.com</a>
	Phoenix NLME, Conect, PKS, WinNonlin, Simcyp, Trial Simulator <i>Certara, LP</i>	<a href="http://www.centara.com">www.centara.com</a>
	IntellipharmPKCR, IntellipharmCU <i>Intellipharm, LLC</i>	<a href="http://www.intellipharm.com">www.intellipharm.com</a>
	ADME Workbench <i>AEgis Technologies Group</i>	<a href="http://www.aegistg.com">www.aegistg.com</a>
	GastroPlus, ADMET predictor, MedChem Studio, DDD Plus, MedChem Designer, ADMET Design Suite, MembranePlus <i>Simulations Plus, Inc.</i>	<a href="http://www.simulations-plus.com">www.simulations-plus.com</a>

Tabla 1. Programas informáticos empleados en biomedicina para la realización de simulaciones.

## Compuestos ensayados

### Ácido acetilsalicílico

El ácido acetilsalicílico (AAS) se ha utilizado en esta tesis como ejemplo de un fármaco que sigue un modelo farmacocinético con un metabolismo secuencial hepático e intestinal en el que se forman dos metabolitos principales en dos generaciones.

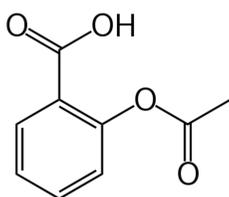


Figura 5. Estructura química del ácido acetilsalicílico.

El ácido acetilsalicílico o ácido 2-(acetiloxi)-benzoico (figura 5) es el éster de ácido acético del ácido salicílico. Es un fármaco analgésico, antipirético y antiinflamatorio no esteroideo (AINE), cuyo mecanismo de acción consiste en la inhibición de forma no selectiva de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), produciendo el bloqueo de la síntesis de prostaglandinas y tromboxano (Leza y Lizasoain, 2008).

El efecto analgésico del ácido acetilsalicílico se produce periféricamente a causa de la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, lo que impide la estimulación de los receptores

del dolor por la bradiquinina y otras sustancias. Asimismo, en el alivio del dolor son posibles efectos centrales sobre el hipotálamo.

El efecto antipirético parece ser debido a la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, aunque los núcleos del hipotálamo tienen un papel significativo en el control de estos mecanismos periféricos.

Por otra parte, el ácido acetilsalicílico inhibe la formación del tromboxano A<sub>2</sub>, por la acetilación de la ciclooxigenasa de las plaquetas. Este efecto antiagregante es irreversible durante la vida de las plaquetas (Bayer Hispania, 2013b).

Sus principales indicaciones terapéuticas son:

- Fiebre: disminuye la fiebre de manera rápida y eficaz.
- Dolor: es eficaz para el tratamiento de dolores moderados como cefalalgias, mialgias, odontalgias, artralgias y dismenorreas. En dosis superiores pueden ser útiles en dolores postoperatorios, postraumáticos, de origen cólico y algunos tipos de dolores cancerosos.
- Síndromes articulares: disminuye la hinchazón, el dolor y la rigidez matinal.

- Antiagregante plaquetario: es útil en la profilaxis de los cuadros que se acompañan de hiperagregabilidad plaquetaria, como las arteriopatías coronarias y cerebrales, las trombosis venosas profundas, la tromboembolia, los infartos, etc. (Leza y Lizasoain, 2008).

Las reacciones adversas más frecuentes son: hipoprotrombinemia (a dosis altas), espasmo bronquial paroxístico, disnea grave, rinitis, úlcera gástrica, úlcera duodenal, hemorragia gastrointestinal, dolor abdominal, dispepsia, náuseas, vómitos, urticaria, erupciones cutáneas y angioedema (Bayer Hispania, 2013b).

### Cafeína

La cafeína se ha empleado en esta tesis como ejemplo de un fármaco que sigue un modelo farmacocinético con un metabolismo exclusivamente hepático que da lugar a un metabolito principal.

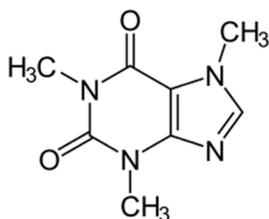


Figura 6. Estructura química de la cafeína.

La cafeína o 1,3,7-trimetilxantina (figura 6) es el psicoestimulante más consumido del mundo. La principal fuente de cafeína es el café o el té, pero también está presente en alimentos como el cacao, bebidas (cola) y formulaciones sin prescripción médica (Colado y Alguacil, 2008).

La cafeína actúa bloqueando los receptores de la adenosina de los subtipos A1, A2A y A2B. Este bloqueo es el responsable de su leve efecto excitante nervioso, ya que la absorción de la adenosina por las células del sistema nervioso es uno de los mecanismos que desencadenan el sueño y la sedación. Además, el receptor de subtipo A1 juega un papel importante ya que regula los mecanismos de neurotransmisión. En este sentido, parece que la cafeína incrementa levemente la liberación de noradrenalina y de dopamina, potenciando la actividad neural de numerosas áreas cerebrales. Por otra parte, la cafeína ejerce sobre el corazón un efecto cronotrópico e inotrópico positivo (Anotaciones Farmacéuticas, 2007).

La cafeína se emplea principalmente en combinación con otros principios activos, por distintos motivos, entre los que destacan los siguientes:

- Produce un aumento de la tonicidad y de la resistencia de los vasos sanguíneos cerebrales y una disminución de la presión del líquido cefalorraquídeo, lo que, en determinados tipos de cefalea, puede contribuir a aliviar

## Introducción

el dolor (Bayer Hispania, 2013a; Novartis Consumers Health, 2009).

- Amortigua el efecto sedante de otros principios activos (Bayer Hispania, 2013c; Uriach-Aquilea OTC, 2013).
- Acelera y aumenta la absorción entérica de algunos fármacos, como la ergotamina, que se utiliza para el tratamiento de la migraña (Amdipharm Limited, 2009).

También la encontramos en algunos medicamentos como único principio activo, con las siguientes indicaciones terapéuticas:

- Tratamiento de la apnea primaria en recién nacidos prematuros (Chiesi Farmaceutici, 2015).
- Alivio sintomático y ocasional de los estados pasajeros de astenia (Anotaciones Farmacéuticas, 2007).

Las reacciones adversas más frecuentes afectan principalmente al sistema nervioso central, y son el insomnio, la agitación y la excitación. Otras reacciones adversas frecuentes son: náuseas, vómitos, diarrea, gastralgia, cefalea, tinnitus, desorientación, extrasístoles, palpitaciones, taquicardia, arritmia cardíaca, irritabilidad, sofocos, taquipnea y poliuria. Con dosis altas, se pueden producir cuadros de neurosis y ansiedad (Anotaciones Farmacéuticas, 2007).

## Objetivos

---

Siguiendo la línea de los trabajos de Fernández-Teruel y col. (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) y de Navarro-Fontestad y col. (Navarro-Fontestad y col., 2010), sobre el papel de los metabolitos en los estudios de bioequivalencia, en esta tesis se presentan dos modelos semifisiológicos:

- Un nuevo modelo para fármacos que presentan un metabolismo secuencial, que da lugar a dos metabolitos creados en dos generaciones. Es decir, el fármaco padre

## Objetivos

se metaboliza y da lugar a un metabolito (primera generación), que a su vez se metaboliza para formar otro metabolito (segunda generación).

- Un modelo para fármacos con metabolismo únicamente hepático, que da lugar a un metabolito principal.

Por otra parte, en este trabajo se presenta la validación de los modelos farmacocinéticos propuestos. Dicha validación se basa en la comparación de los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas con el modelo de interés, con resultados reales *in vivo* obtenidos de la bibliografía. Para ello, se han empleado sustancias ampliamente conocidas con procesos LADME representativos de los modelos a validar.

Esta tesis surgió como continuación de los proyectos *Biosim: computer simulation as a tool in drug development* (con código LSHB-CT-2004-005137, financiado por la Comisión Europea) y *Modelización y simulación para el diseño de nuevos medicamentos* (con código SAF-2009-12768, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación), que respondían a la necesidad manifestada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) de generar conocimiento científico que pueda aplicarse por los sectores implicados en el diseño y desarrollo de nuevos medicamentos para que estos resulten seguros y eficaces: industria

farmacéutica, unidades de investigación clínica, universidades y autoridades sanitarias de los Estados Miembros de la Unión Europea, como responsables de la autorización de comercialización de los nuevos medicamentos.

Los **objetivos** de esta tesis son:

1. Presentar un modelo farmacocinético semifisiológico que muestre un metabolismo secuencial hepático e intestinal y validarlo, comparando concentraciones plasmáticas simuladas con datos experimentales publicados de AAS.
2. Determinar el analito (compuesto padre o sus metabolitos) más sensible a los cambios en la formulación que implican una disminución en la constante de disolución *in vivo*, cuando se simulan estudios de bioequivalencia con el modelo citado en el objetivo número 1.
3. Presentar un modelo semifisiológico que muestre un metabolismo exclusivamente hepático que dé lugar a un metabolito principal y validarlo, comparando concentraciones plasmáticas simuladas con datos experimentales publicados de cafeína, tanto en sujetos sanos como en pacientes cirróticos.



## **Material y métodos**

---

### **Programas informáticos**

El programa informático empleado en este trabajo es NONMEM. Su nombre viene de NON linear Mixed Effects Modeling, es decir, modelado no lineal de efectos mixtos.

NONMEM tiene en cuenta que los datos experimentales están sujetos a una variabilidad desconocida. Para poder representar datos reales, NONMEM se basa en dos aspectos: un modelo matemático y una variabilidad asociada.

## Material y métodos

El modelo matemático está formado por ecuaciones que describen un proceso concreto. En este caso, el modelo matemático describe procesos farmacocinéticos. Los modelos que describen los efectos aleatorios en NONMEM se construyen empleando distribuciones normales de aleatoriedad, aunque el usuario puede generar también otro tipo de distribuciones (Fisher y Shafer, 2006).

El modelo estructural contiene descriptores de un proceso, como son los parámetros farmacocinéticos, que varían entre los distintos individuos. Las propiedades observables conocidas de los individuos que causan que los descriptores varíen a lo largo de la población se conocen como los efectos fijos (Fisher y Shafer, 2006).

Pero, además de estos efectos fijos, encontramos una serie de efectos aleatorios. Estos son aleatorios ya que no pueden ser predichos con antelación. En general, hay dos fuentes de variabilidad aleatoria cuando tratamos con datos biológicos. La primera fuente de variabilidad es la diferencia existente entre los individuos por su distinta biología. Esta es la conocida como variabilidad interindividual. La segunda fuente de variabilidad es el error residual. Esto muestra la diferencia entre la predicción del modelo para un individuo y la observación medida. Es lo que conocemos como variabilidad intraindividual o

residual, e incluye el error en el análisis, en la dosis de fármaco, en el tiempo de medición, etc (Fisher y Shafer, 2006).

NONMEM asocia los efectos fijos, que vienen descritos por el modelo matemático, con los efectos aleatorios, que vienen descritos por dos modelos de variabilidad: variabilidad interindividual y variabilidad intraindividual o residual (Fisher y Shafer, 2006).

En NONMEM los parámetros ( $\theta$ ) se codifican como THETA. Para establecer la variabilidad de los parámetros, esta se incluye en los modelos de variabilidad. Las tres estructuras más comunes para establecer los modelos de variabilidad son aditiva, coeficiente de variación constante y log normal (Fisher y Shafer, 2006):

1. Modelo de error aditivo:

$$\text{Valor} = \text{predicho} + \text{error}$$

2. Modelo de coeficiente de variación constante o modelo de error proporcional:

$$\text{Valor} = \text{predicho} * (1 + \text{error})$$

Los errores siguen una distribución normal, pero son proporcionales a la magnitud de la predicción.

3. Modelo log normal:

$$\text{Valor} = \text{predicho} * \text{Exp}(\text{error})$$

## Material y métodos

El modelo de error aditivo en general funciona bien, pero cuando los datos cubren un amplio rango, tiende a ignorar concentraciones bajas. La diferencia entre el modelo coeficiente de variación constante y el modelo log normal, es pequeña cuando los errores son inferiores al 20%. Cuando los errores son mayores, sin embargo, las distribuciones divergen y el modelo de coeficiente de variación constante puede tomar valores negativos, mientras que el modelo log normal no puede tomar valores negativos.

La variabilidad interindividual ( $\eta$ ) se codifica en NONMEM con ETA, mientras que la variabilidad residual ( $\epsilon$ ) se codifica con EPSILON (o EPS). No se puede definir un valor particular de  $\eta$  ni de  $\epsilon$ , puesto que son aleatorias, pero sí se puede definir su distribución, que se suele asumir como distribución normal. Así,  $\eta$  tiene una distribución normal con media 0 y varianza  $\omega^2$ , y  $\epsilon$  tiene una distribución normal con media 0 y varianza  $\sigma^2$ .

NONMEM es ampliamente utilizado en el campo de la farmacocinética y la farmacodinamia. A continuación destacamos las ventajas de NONMEM frente a otros programas informáticos (Fisher y Shafer, 2006):

1. NONMEM está validado y es bien aceptado en la comunidad científica para el análisis de datos farmacocinéticos y farmacodinámicos.

2. Es un programa con un tamaño y velocidad aceptables.
3. NONMEM permite la construcción de un modelo de la realidad y posteriormente permite comprobar la validez del modelo frente a la realidad medida. Si somos capaces de plasmar nuestro entendimiento de la realidad en ecuaciones, NONMEM podrá encontrar probablemente los elementos desconocidos del modelo de las observaciones.
4. NONMEM es ampliamente utilizado en todo el mundo, por lo que es fácil encontrar usuarios expertos que nos aconsejen sobre nuestro modelado.
5. NONMEM es una herramienta que permite tratar numerosos problemas estadísticos y de análisis de datos con una flexibilidad considerable y un mayor control de los matices del análisis estadístico que los programas informáticos estadísticos estándar.
6. Hay distintas variedades de interfaces de NONMEM que ayudan a simplificar el uso de NONMEM, como Wings for NONMEM, PopPK o Xpose.
7. Se pueden hacer lanzamientos de secuencias en modo lote, lo que permite hacer análisis muy complejos con

múltiples pasos de regresión.

8. NONMEM puede usar los modelos desarrollados para simular datos hipotéticos, lo que constituye una potente herramienta de análisis.

Pero también encontramos algunas limitaciones importantes del uso de NONMEM (Fisher y Shafer, 2006):

1. Tiene poca capacidad para graficar resultados, por lo que se tiene que usar en combinación con otros programas, como Excel, R o S Plus, o bien, empleando interfaces de gráficas.
2. Puede ser muy difícil de usar. Los mensajes de error pueden ser desde muy útiles hasta muy difíciles de interpretar. Si el ajustado no es correcto, puede ser muy difícil entender la naturaleza del problema.
3. La comprobación de la bondad de los modelos se realiza por prueba y error. No existe un sistema automatizado para ello.
4. No aporta facilidades para conocer los modelos probados, por lo que si no se toman notas de los ajustes realizados, es muy difícil reconstruir el análisis realizado.

5. Es un programa caro.
6. El ancho del archivo control no puede ser superior a 80 caracteres.
7. Puede ser lento, especialmente con conjuntos de datos grandes. Una solución a este problema es ordenar a NONMEM que llame a ciertas funciones sólo cuando se necesite.
8. Lee 19 columnas del archivo de datos (además de la columna que contiene el MDV (missing dependent variable)). Si se tienen más de 20 columnas en los datos, se pueden omitir algunos valores empleando el código DROP.
9. Tiene términos reservados como DV (dependent variable), PRED (predichos), ID (individuo), etc., por lo que no se pueden emplear esos términos con otros propósitos.
10. En un conjunto de datos NONMEM, los individuos se distinguen por el cambio en la ID. Por lo tanto, si la columna ID es 1,1,1,1,2,2,2,2,1,1,1, NONMEM entenderá que se trata de tres individuos, dos de los cuales tienen la identificación 1.

11. Sólo permite un cierto número de dígitos a la izquierda y derecha del punto decimal.
12. Acepta datos en varios formatos, pero las normas para trabajar con los formatos poco habituales son complicadas, por lo que se prefiere preprocesar los datos para emplear NONMEM de forma sencilla.

NONMEM necesita un archivo control y un archivo de datos.

El archivo de datos está en código ASCII y contiene los datos que NONMEM necesita para estimar los parámetros o simular resultados, según el objetivo del estudio. Los archivos de datos de esta tesis (ver ejemplos en anexos I, III, V, VII y IX) incluyen los datos relativos a la administración de la dosis y a la toma de muestras:

ID: Individuo.

TIME: Tiempo.

AMT: Cantidad. El punto "." indica que en ese tiempo no hay cantidad administrada, sino toma de muestra.

CONC=DV: Concentración, variable dependiente.

MDV: Falta de la variable dependiente. El “1” indica que no existe variable dependiente en ese punto, coincidiendo con la administración de la dosis.

CMT: Compartimento en el que ocurre el evento. En el caso del modelo del AAS, el compartimento 6 es el asignado al AAS en forma sólida, mientras que el compartimento 1 es el compartimento central, correspondiente con el de toma de muestra (plasma).

FF: forma farmacéutica, siendo “0” la formulación de referencia y “1” la formulación test.

EVID: Identificación de evento de dosis. El “1” indica administración de la primera dosis a un individuo y el “4” indica la administración de la segunda dosis a ese mismo individuo en el mismo compartimento.

SEQ: Secuencia de administración. El “1” representa la secuencia referencia/test y el “0” representa la secuencia test/referencia.

El archivo control requerido por NONMEM es un archivo NMTRAN, también ASCII. En los anexos II, IV, VI, VIII y X podemos ver algunos de los archivos control empleados en esta tesis. Encontramos una serie de apartados introducidos por el símbolo “\$”:

## Material y métodos

**\$PROB:** Asigna un nombre al archivo control.

**\$IMPUT:** Indica las columnas del archivo de datos.

**\$DATA:** Identifica el archivo de datos.

**\$SUBROUTINES:** Hace referencia al modelo empleado. Existen subrutinas fijas para ciertos modelos, mientras que otras subrutinas permiten al usuario escribir las ecuaciones, como es el caso de la subrutina elegida, ADVAN9. La variable TOL especifica los dígitos significativos que son evaluados en aquellos valores predictivos que requieren integración numérica.

**\$MODEL:** Contiene los compartimentos del modelo, por orden.

**\$PK:** Define los parámetros, por orden. Se ha incluido la variabilidad interindividual e interocasión ( $\eta$ ), esta última sólo para los estudios de bioequivalencia, siguiendo un modelo log normal.

**\$THETA:** Se indican los valores de los parámetros.

**\$OMEGA:** Se indica el valor de  $\omega^2$  para cada  $\eta$ .

**\$DES:** Ecuaciones que describen el modelo farmacocinético.

**\$ERROR:** El nombre de este apartado puede llevar a confusión, puesto que no tiene nada que ver con el error, sino con los resultados. Es el apartado en el que se calculan los resultados. En este apartado, NONMEM conoce las cantidades de cada compartimento, designadas como  $A(x)$ , donde  $x$  es el número del compartimento (Fisher y Shafer, 2006). En el trabajo presentado en esta tesis, se han incluido en este apartado las cantidades en cada compartimento, la dosis, las cantidades absorbidas, las concentraciones con el modelo de variabilidad residual log normal, el cálculo de las AUC y de las  $C_{max}$ .

**\$SIGMA:** Indica el valor de  $\sigma^2$  para cada  $\epsilon$ .

**\$SIMULATION:** Indica la semilla inicial de iteración (12345) y el número de simulaciones a realizar.

**\$TABLE:** Datos que se desean obtener en las tablas que genera NONMEM.

Los modelos farmacocinéticos semifisiológicos descritos en esta tesis (figuras 7 y 9), junto con los datos de los parámetros poblacionales (tablas 2, 4 y 5) y los modelos de variabilidad (tablas 3 y 7) se han codificado en archivos control que se han lanzado con NONMEM 6 para simular los perfiles de concentraciones plasmáticas-tiempo.

## Material y métodos

Los resultados de concentraciones plasmáticas-tiempo obtenidos en las simulaciones se han importado desde los programas informáticos S-Plus 6.1 y R 2.6.0 para dibujar las curvas.

En el caso de los estudios de bioequivalencia realizados para el AAS, los cálculos de AUC y Cmax también se han realizado con NONMEN, mientras que los cálculos posteriores para obtener los cocientes de AUC y Cmax se han realizado con Excel, como se explica más adelante.

### **Modelo para el AAS**

#### ***Farmacocinética del AAS***

El AAS se absorbe por difusión pasiva en el tracto gastrointestinal y sufre metabolismo de primer paso intestinal y hepático. Una vez alcanzado el compartimento sistémico, se distribuye rápidamente en un compartimento y se elimina principalmente por metabolismo intestinal y hepático, aunque una pequeña fracción se elimina por excreción real. Su metabolito principal es el ácido salicílico (AS). Tanto el AAS como el AS presentan alta unión a proteínas plasmáticas, principalmente a la albúmina. El AS se elimina mediante cinco vías: eliminación renal y formación de cuatro metabolitos:

- Se conjuga con glicina para formar ácido salicílico (SU).
- Se conjuga con ácido glucurónico para formar el glucurónido salicílico-fenólico.
- Se conjuga con ácido glucurónico para formar salicílico-acil-glucurónido.
- Se oxida, dando lugar al ácido gálico.

Las vías de eliminación del AS que dan lugar a la formación del SU y el glucurónido salicílico-fenólico siguen cinética de Michaelis-Menten, siendo mayoritaria la formación de SU. El resto de vías muestran una cinética de eliminación lineal (Bayer Hispania, 2013b; Navarro y col., 2011; Needs y Brooks, 1985).

### ***Modelo propuesto para el AAS***

El modelo farmacocinético semifisiológico propuesto para representar los procesos LADME del AAS (figura 7) considera los siguientes compartimentos:

1. AAS (compuesto padre) en forma sólida en el lumen intestinal.
2. AAS disuelto en el lumen.

## Material y métodos

3. AAS en los enterocitos.
4. AAS en el hígado.
5. AAS en el compartimento central.
6. AS (metabolito de primera generación) en el compartimento central.
7. AS en los enterocitos.
8. AS en el hígado.
9. SU (metabolito de segunda generación) en el compartimento central.

En el modelo, se han realizado las siguientes simplificaciones de la farmacocinética del AAS, con respecto a la eliminación del AS:

- El modelo considera un único metabolito de segunda generación, obtenido mediante un proceso con cinética de Michaelis-Menten. Así, el SU y el glucurónido salicil-fenólico se han agrupado como un único metabolito (SU).
- El modelo considera el resto de procesos de eliminación del AS como un solo proceso de eliminación con cinética lineal. Por lo tanto, la formación de salicil-acil-glucurónido

y ácido gentísico, se han agrupado junto con la eliminación renal del AS.

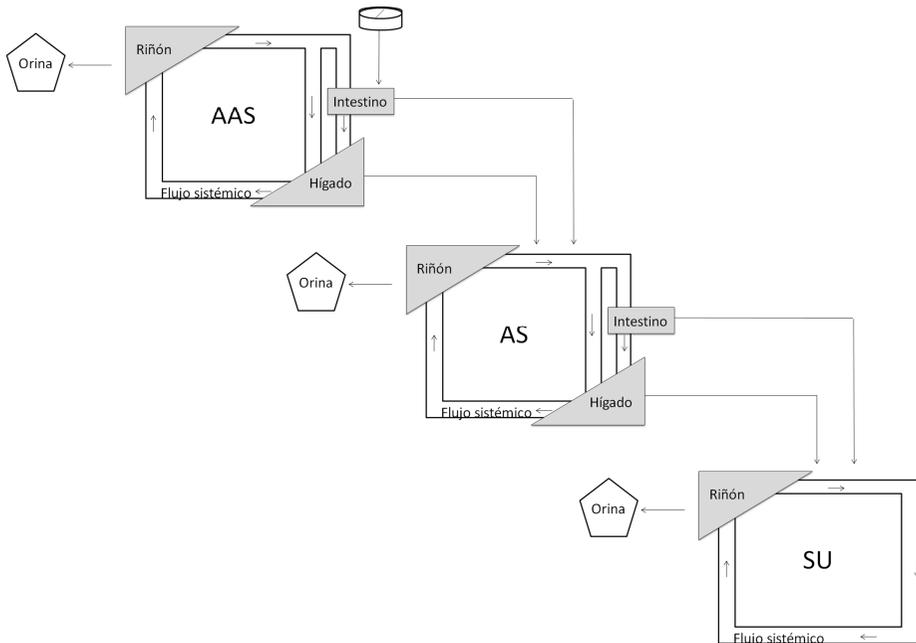


Figura 7: Esquema del modelo farmacocinético semifiológico propuesto para representar los procesos LADME del AAS y sus metabolitos, AS y SU.

El AAS se ha administrado en dosis única por vía oral dentro de una forma farmacéutica sólida. El AAS se disuelve a partir de la forma sólida en el lumen y después se absorbe en los enterocitos.

## Material y métodos

Se ha establecido un tiempo útil de absorción (TUA) para limitar el tiempo durante el cual se produce la absorción, teniendo en cuenta el tránsito intestinal, de forma que no se pueda producir absorción en la simulación después de haber transcurrido el tiempo de tránsito intestinal (Mudie y col., 2010).

Tras su absorción, el AAS se metaboliza parcialmente en los enterocitos (primer paso intestinal) y la fracción no metabolizada alcanza el hígado, donde se metaboliza parcialmente (primer paso hepático).

La fracción de AAS no metabolizada en enterocitos ni en hígado alcanza la circulación sistémica, donde se distribuye rápidamente en un compartimento.

El AAS se elimina mediante metabolismo intestinal y hepático y, en menor medida, por excreción renal.

El AS, que se forma como consecuencia del metabolismo del AAS, se distribuye en un compartimento y se elimina mediante excreción renal y mediante metabolismo intestinal y hepático, dando lugar al SU.

Por último, el SU formado se distribuye en un compartimento y se elimina directamente por excreción renal.

Las ecuaciones que representan la velocidad de cambio de la cantidad de AAS, AS y SU ( $dQ/dt$ ) en cada compartimento son las siguientes:

1. La velocidad de cambio en la cantidad de AAS en la forma farmacéutica sólida depende de la disolución del AAS en el lumen a partir de la forma farmacéutica:

$$\frac{dQ_s}{dt} = -k_D \cdot Q_s \cdot \left(1 - \frac{Q_L}{S}\right) \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde  $k_D$  es la constante de disolución de primer orden *in vivo*,  $Q_s$  es la cantidad de AAS en la forma farmacéutica sólida,  $Q_L$  es la cantidad de fármaco disuelto en el lumen y  $S$  es la cantidad máxima de fármaco que puede disolverse (solubilidad).

Teniendo en cuenta que la solubilidad del AAS a 37°C es elevada (10g/L) (Merck and Co., 2006) y que el AAS se absorbe rápidamente (Bayer Hispania, 2013b), se ha asumido que  $S$  es muy superior a  $Q_L$  a cualquier tiempo (a dosis normales de AAS), por lo que la ecuación 3 sería equivalente a la ecuación 4:

$$\frac{dQ_s}{dt} = -k_D \cdot Q_s \quad \text{Ecuación 4}$$

## Material y métodos

2. La velocidad de cambio en la cantidad de AAS en el lumen depende de la disolución del AAS a partir de la forma farmacéutica sólida y de su absorción desde los enterocitos:

$$\frac{dQ_L}{dt} = k_D \cdot Q_S - k_{A_{ap}} \cdot Q_L \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde  $k_{A_{ap}}$  es la constante de velocidad de absorción aparente de primer orden del AAS.

La absorción de AAS sólo es posible durante un período de tiempo limitado, el tiempo útil de absorción (TUA). La constante de velocidad de absorción aparente de primer orden se ha establecido con la siguiente ecuación:

$$k_{A_{ap}} = k_A \cdot \left( 1 - \frac{t^h}{TUA^h + t^h} \right) \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde  $k_A$  es la constante de velocidad de absorción real,  $t$  es el tiempo transcurrido desde la administración y  $h$  es el coeficiente de Hill, que es el parámetro de forma que hace que  $k_{A_{ap}}$  tenga un valor cercano a la  $k_A$  cuando el tiempo transcurrido es inferior al TUA y que disminuya hasta cero cuando se supere el TUA, tal y como se puede observar en la figura 8.

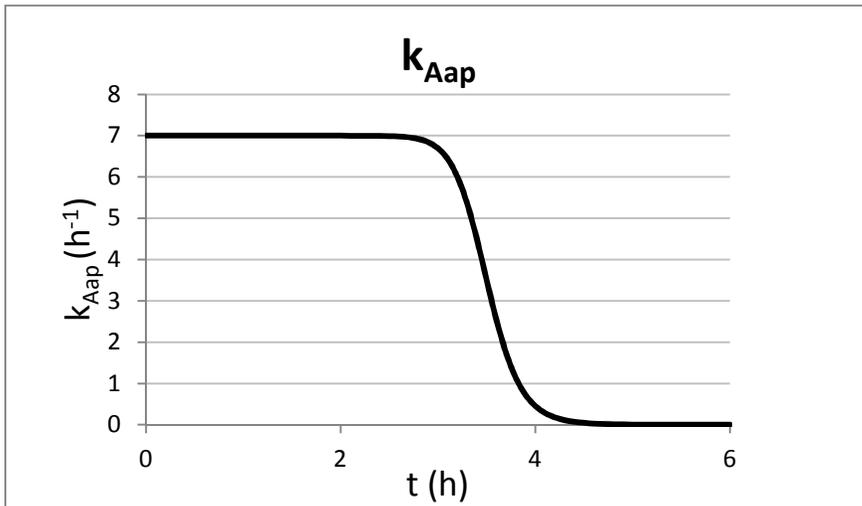


Figura 8. Evolución de la constante de absorción aparente en el modelo propuesto, con una constante de absorción *real* de  $7h^{-1}$ , un TUA de 3,5h y un coeficiente de Hill de 20.

Como se muestra en la tabla 2, se ha establecido un TUA de 3,5h, teniendo en cuenta el tránsito a lo largo del intestino delgado (Mudie y col., 2010).

3. La velocidad de cambio en la cantidad de AAS en los enterocitos ( $Q_E$ ) depende del proceso de absorción, del AAS procedente del compartimento central y de la salida de AAS hacia la vena porta en dos fracciones: como AS una vez metabolizado el AAS y como AAS sin metabolizar. El AAS se metaboliza con una tasa de extracción para formar el AS y la

fracción que escapa al metabolismo entérico se dirige al hígado como AAS:

$$\frac{dQ_E}{dt} = k_{A_{ap}} \cdot Q_L + \phi_E \cdot C_C - \phi_E \cdot E_E \cdot C_E - (1 - E_E) \cdot \phi_E \cdot C_E$$

Ecuación 7

Donde  $\phi_E$  es el flujo sanguíneo entérico,  $C_C$  es la concentración de AAS en el compartimento central,  $E_E$  es la tasa de extracción entérica y  $C_E$  es la concentración de AAS en los enterocitos.

4. La velocidad de cambio en la cantidad de AAS en el hígado depende del AAS procedente de la vena porta (se trata de la fracción de AAS que ha escapado al metabolismo entérico), del AAS procedente del compartimento central y de su salida hacia el compartimento central en dos fracciones: como AS una vez metabolizado el AAS y como AAS sin metabolizar. El AAS se metaboliza con una tasa de extracción para formar AS y la fracción que escapa al metabolismo hepático se dirige hacia el compartimento central como AAS:

$$\frac{dQ_H}{dt} = (1 - E_E) \cdot \phi_E \cdot C_E + \phi_H \cdot C_C - (\phi_H + \phi_E) \cdot E_H \cdot C_H - (\phi_H + \phi_E) \cdot (1 - E_H) \cdot C_H$$

Ecuación 8

Donde  $\phi_H$  es el flujo sanguíneo hepático,  $E_H$  es la tasa de extracción hepática y  $C_H$  es la concentración de AAS en el hígado.

5. La velocidad de cambio en la cantidad de AAS en el compartimento central depende de la fracción de AAS que ha escapado del metabolismo hepático (que alcanza la circulación sistémica con un flujo sanguíneo resultante de la suma de los flujos entérico y hepático), de la salida del AAS hacia los enterocitos e hígado y de la eliminación de AAS por orina:

$$\frac{dQ_C}{dt} = (1 - E_H) \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_H - \phi_E \cdot C_C - \phi_H \cdot C_C - k_{el} \cdot Q_C$$

Ecuación 9

Donde  $E_H$  es la tasa de extracción hepática,  $k_{el}$  es la constante de eliminación de primer orden (que incluye todas las formas de eliminación con cinética lineal) y  $Q_C$  es la cantidad de AAS en el compartimento central.

6. Cuando el AAS se metaboliza, el AS aparece en el compartimento central (la relación molar AAS y AS es 1:1). La velocidad de cambio en la cantidad de AS en el compartimento central depende del AS formado a partir del metabolismo del AAS en los enterocitos e hígado, del AS que circula hacia los enterocitos e hígado con la irrigación sistémica, de la fracción de AS que escapa al metabolismo hepático que alcanza el compartimento central y de la eliminación del AS:

$$\frac{dQ_{AS}}{dt} = E_E \cdot \phi_E \cdot C_E + E_H \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_H - \phi_E \cdot C_{CAS} - \phi_H \cdot C_{CAS} + (1 - E_{HAS}) \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_{HAS} - k_{elAS} \cdot Q_{CAS}$$

Ecuación 10

Donde  $C_{CAS}$  es la concentración de AS en el compartimento central,  $E_{HAS}$  es la tasa de extracción hepática del AS,  $C_{HAS}$  es la concentración de AS en el hígado,  $k_{elAS}$  es la constante de eliminación de primer orden, que incluye todas las formas de eliminación con cinética lineal, y  $Q_{CAS}$  es la cantidad de AS en el compartimento central.

7. La velocidad de cambio en la cantidad de AS en los enterocitos depende del AS procedente del compartimento central y de su salida hacia la vena porta en dos fracciones: como SU una vez metabolizado el AS y como AS sin metabolizar. El AS se metaboliza con una tasa de extracción para formar SU y la fracción de AS que escapa al metabolismo entérico va hacia el hígado sin metabolizar:

$$\frac{dQ_{EAS}}{dt} = \phi_E \cdot C_{CAS} - \phi_E \cdot E_{EAS} \cdot C_{EAS} - (1 - E_{EAS}) \cdot \phi_E \cdot C_{EAS}$$

Ecuación 11

Donde  $E_{EAS}$  es la tasa de extracción entérica de AS y  $C_{EAS}$  es la concentración de AS en los enterocitos.

8. La velocidad de cambio en la cantidad de AS en el hígado depende del AS procedente de la vena porta (se trata de la

fracción de AS que ha escapado al metabolismo entérico), del AS procedente del compartimento central y de su salida hacia el compartimento central en dos fracciones: como SU una vez metabolizado el AS y como AS sin metabolizar. El AS se metaboliza con una tasa de extracción para formar SU y la fracción de AS que escapa al metabolismo hepático va hacia el compartimento central sin metabolizar:

$$\frac{dQ_{H_{AS}}}{dt} = \phi_E \cdot (1 - E_{E_{AS}}) \cdot C_{E_{AS}} + \phi_H \cdot C_{C_{AS}} - (\phi_H + \phi_E) \cdot E_{H_{AS}} \cdot C_{H_{AS}} - (\phi_H + \phi_E) \cdot (1 - E_{H_{AS}}) \cdot C_{H_{AS}}$$

Ecuación 12

9. Cuando el AS se metaboliza, el SU aparece en el compartimento central (la relación molar AS y SU es 1:1). La velocidad de cambio en la cantidad de SU en el compartimento central depende del SU formado a partir del metabolismo del AS en los enterocitos e hígado y de la eliminación del SU:

$$\frac{dQ_{C_{SU}}}{dt} = E_{E_{AS}} \cdot \phi_E \cdot C_{E_{AS}} + E_{H_{AS}} \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_{H_{AS}} - k_{el_{SU}} \cdot Q_{C_{SU}}$$

Ecuación 13

Donde  $k_{el_{SU}}$  es la constante de eliminación de primer orden del SU y  $Q_{C_{SU}}$  es la cantidad de SU en el compartimento central.

Las tasas de extracción hepática e intestinal del AAS ( $E_H$  y  $E_E$ , respectivamente) y del AS ( $E_{H_{AS}}$  y  $E_{E_{AS}}$ , respectivamente) dependen del aclaramiento intrínseco a las distintas concentraciones en hígado ( $CL_{CH}^i$  y  $CL_{CH_{AS}}^i$ ) y enterocitos ( $CL_{CE}^i$

## Material y métodos

y  $CL_{CEAS}^i$ ), que disminuye cuando la concentración en el hígado o enterocitos aumenta (Labaune, 1988; Ritschel y Kearns, 2004), y de los flujos sanguíneos hepático e intestinal:

$$E_H = \frac{CL_{CH}^i}{\phi_H + \phi_E + CL_{CH}^i} \quad \text{Ecuación 14}$$

$$CL_{CH}^i = \frac{CL_{0H}^i \cdot K_{MH}}{K_{MH} + C_H} \quad \text{Ecuación 15}$$

$$E_{HAS} = \frac{CL_{CHAS}^i}{\phi_H + \phi_E + CL_{CHAS}^i} \quad \text{Ecuación 16}$$

$$CL_{CHAS}^i = \frac{CL_{0HAS}^i \cdot K_{MHAS}}{K_{MHAS} + C_{HAS}} \quad \text{Ecuación 17}$$

$$E_E = \frac{CL_{CE}^i}{\phi_E + CL_{CE}^i} \quad \text{Ecuación 18}$$

$$CL_{CE}^i = \frac{CL_{0E}^i \cdot K_{ME}}{K_{ME} + C_E} \quad \text{Ecuación 19}$$

$$E_{EAS} = \frac{CL_{CEAS}^i}{\phi_E + CL_{CEAS}^i} \quad \text{Ecuación 20}$$

$$CL_{CEAS}^i = \frac{CL_{0EAS}^i \cdot K_{MEAS}}{K_{MEAS} + C_{EAS}} \quad \text{Ecuación 21}$$

Donde  $CL_{0H}^i$  es el aclaramiento intrínseco hepático del AAS,  $CL_{0HAS}^i$  es el aclaramiento intrínseco hepático del AS,  $CL_{0E}^i$  es el aclaramiento intrínseco entérico del AAS,  $CL_{0EAS}^i$  es el aclaramiento intrínseco entérico del AS,  $K_{MH}$  es la constante de Michaelis-Menten en el hígado del AAS,  $K_{MHAS}$  es la constante de Michaelis-Menten en el hígado del AS,  $K_{ME}$  es la constante de Michaelis-Menten en los enterocitos del AAS, y  $K_{MEAS}$  es la constante de Michaelis-Menten en los enterocitos del AS.

Las constantes de eliminación de primer orden del AAS y AS se obtienen a partir del aclaramiento renal del AAS y AS:

$$K_{el} = \frac{CL_R}{V_C} \quad \text{Ecuación 22}$$

$$K_{elAS} = \frac{CL_{RAS}}{V_{CAS}} \quad \text{Ecuación 23}$$

Donde  $CL_R$  es el aclaramiento renal del AAS,  $CL_{RAS}$  es el aclaramiento renal del AS,  $V_C$  es el volumen de distribución aparente del AAS y  $V_{CAS}$  es el volumen de distribución aparente del AS. El volumen de distribución aparente se corresponde con el volumen del compartimento central.

La concentración (C) de cada compuesto en los distintos compartimentos se calcula como la división de la cantidad (Q) por el volumen del compartimento (V):

$$C = \frac{Q}{V} \quad \text{Ecuación 24}$$

No se ha considerado la unión a proteínas plasmáticas, a pesar de ser elevada, para simplificar el modelo. Se ha asumido que no hay cambios en el porcentaje de unión entre el fármaco problema y el de referencia.

### ***Parámetros poblacionales***

Los valores poblacionales de los parámetros empleados para el modelo del AAS se muestran en la tabla 2.

Las constantes de disolución han sido las estudiadas en este trabajo para establecer la bioequivalencia entre las formulaciones de referencia y test. Se han probado 6 valores decrecientes de constante de disolución del medicamento test para comprobar qué analito, AAS, AS o SU, detecta antes la diferencia entre la formulación test y la de referencia.

El resto de parámetros se han obtenido por búsqueda bibliográfica, tal y como se explica a continuación:

Se ha denominado “flujo hepático” al flujo de la arteria hepática, mientras que el llamado “flujo entérico” equivale al flujo de la vena porta. El flujo hepático total es, por tanto, la suma de ambos flujos, y se ha establecido en 90 L/h, correspondiendo el 20% al flujo de la arteria hepática y el 80% al flujo de la vena porta (Bradley y col., 1945; Carlisle y col., 1992).

Parámetro	Valor (unidad)
Constante de disolución del medicamento de referencia ( $k_{DR}$ )	8 ( $h^{-1}$ )
Constante de disolución del medicamento test ( $k_{DT}$ )	8 ( $h^{-1}$ )
	4 ( $h^{-1}$ )
	2 ( $h^{-1}$ )
	1 ( $h^{-1}$ )
	0,5 ( $h^{-1}$ )
	0,25 ( $h^{-1}$ )
<i>Flujo sanguíneo hepático (<math>\phi_H</math>)</i>	18 (L/h)
<i>Flujo sanguíneo entérico (<math>\phi_E</math>)</i>	72 (L/h)
Constante de absorción real ( $k_A$ )	7 ( $h^{-1}$ )
<i>Tiempo útil de absorción (TUA)</i>	3,5 (h)
<i>Coefficiente de Hill (h)</i>	20
Constante de Michaelis-Menten hepática del AAS ( $K_{MH}$ )	810 (mg/L)
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 del AAS ( $CL_{0H}^i$ )	48,3 (L/h)
Constante de Michaelis-Menten entérica del AAS ( $K_{ME}$ )	810 (mg/L)
Aclaramiento intrínseco entérico a tiempo 0 del AAS ( $CL_{0E}^i$ )	20,7 (L/h)
Constante de Michaelis-Menten hepática del AS ( $K_{MHAS}$ )	62,1 (mg/L)
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 del AS ( $CL_{0HAS}^i$ )	1,26 (L/h)
Constante de Michaelis-Menten entérica del AS ( $K_{MEAS}$ )	62,1 (mg/L)
Aclaramiento intrínseco entérico a tiempo 0 del AS ( $CL_{0EAS}^i$ )	0,54 (L/h)
Aclaramiento renal del AAS ( $CL_R$ )	0,105 (L/h)
Aclaramiento renal del AS ( $CL_{RAS}$ )	0,21 (L/h)
Constante de eliminación del SU ( $k_{eISU}$ )	0,14 ( $h^{-1}$ )
Volumen del compartimento central del AAS ( $V_C$ )	16(L)
Volumen del compartimento central del AS ( $V_{CAS}$ )	8 (L)
Volumen del compartimento central del SU ( $V_{CSU}$ )	7 (L)
<i>Volumen del compartimento hígado (<math>V_H</math>)</i>	1,1 (L)
<i>Volumen del compartimento enterocito (<math>V_E</math>)</i>	1,8 (L)

Tabla 2: Parámetros empleados para el modelo de AAS. Los datos en cursiva son parámetros fisiológicos.

## Material y métodos

La constante de absorción *real* se ha calculado con las ecuaciones 25 y 26 (Labaune, 1988; Ritschel y Kearns, 2004) a partir de los datos de semivida plasmática de eliminación ( $t_{1/2}$ ) y de tiempo al que se produce la concentración máxima ( $T_{max}$ ), obtenidos de Brantmarky col. (Brantmark y col., 1982):

$$T_{max} = \frac{\ln\left(\frac{ka}{kel}\right)}{(ka - kel)} \quad \text{Ecuación 25}$$

$$k_{el} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad \text{Ecuación 26}$$

Como se ha explicado anteriormente, los valores del tiempo útil de absorción (TUA) y del coeficiente de Hill se han establecido para permitir la absorción únicamente durante el tiempo de tránsito intestinal del medicamento (Mudie y col., 2010).

La constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ) del AAS se ha obtenido de Summerbell (Summerbell, 1992). La constante de Michaelis-Menten del AS es el resultado de la suma de las  $K_M$  del metabolismo del AS para dar lugar a la formación del SU (Owen y col., 1989) y del glucurónido salicil-fenólico (Kuehl y col., 2006). Se ha asumido que la  $K_M$  es igual en hepatocitos y enterocitos.

Los valores del aclaramiento intrínseco ( $CL_0^i$ ) se han obtenido a partir del aclaramiento metabólico total (CL) y el flujo sanguíneo total ( $\phi$ ), empleando la ecuación 27.

$$CL = \frac{CL_0^i \cdot \phi}{CL_0^i + \phi} \quad \text{Ecuación 27}$$

Esta aproximación podría llevar a una subestimación del  $CL_0^i$  cuando el sistema está bajo condiciones no lineales. Sin embargo, el valor del CL obtenido de la bibliografía se corresponde con niveles plasmáticos claramente por debajo del valor de la  $K_M$ .

Se ha empleado un valor de aclaramiento metabólico total de 39L/h para el AAS (Lausanne, 2009) y de 1,76 L/h para el AS (Miners y col., 1986). El 70% del aclaramiento se ha asignado al hígado y el 30% al intestino. Con estos valores, si despejamos el  $CL_0^i$  del AAS de la ecuación 27, obtenemos un valor de 69L/h. Como el 70% de ese aclaramiento metabólico corresponde a aclaramiento hepático, el valor de  $CL_0^i$  hepático son los 48,3L/h indicados en la tabla 2, mientras que el 30% corresponde a aclaramiento intestinal, con un valor de 20,7L/h. En el caso del AS, si despejamos el  $CL_0^i$  de la ecuación 27, obtenemos un valor de 1,8L/h, al que aplicamos el 70% y el 30% de los aclaramientos hepático e intestinal, respectivamente, para obtener los valores de  $CL_0^i$  del AS indicados en la tabla 2.

## Material y métodos

El valor del aclaramiento renal del AS se ha obtenido de Minersy col. (Miners y col., 1986) y se ha estimado que el aclaramiento renal del AAS es la mitad del aclaramiento renal del AS. El valor de la constante de eliminación del SU se ha obtenido de Lares-Asseff y col. (Lares-Asseff y col., 2004).

El valor del volumen de los compartimentos centrales se ha obtenido también de Lares-Asseff y col. (Lares-Asseff y col., 2004).

El volumen del compartimento hepático se ha calculado a partir del volumen del hígado, asumiendo un 70% de contenido en agua. El volumen del hígado se ha calculado con la ecuación 28, extraída de Heinemann y col.(Heinemann y col., 1999).

$$V_H (\text{mL}) = 1072,8 \cdot \text{ASC}(\text{m}^2) - 345,7 \quad \text{Ecuación 28}$$

Donde ACS es el área de la superficie corporal, que se ha fijado en  $1,75\text{m}^2$  (Mosteller, 1987).

El volumen del compartimento de los enterocitos se ha calculado a partir de la superficie de absorción de los *villi* y del volumen del compartimento celular intestinal (González-Álvarez y col., 2005), aplicando la ecuación 29:

$$V_E (\text{mL}) = 100000 \cdot (7,38 \cdot 10^{-2} / 4,2) \quad \text{Ecuación 29}$$

### Parámetros individuales

Los parámetros individuales se han obtenido tras aplicar los modelos de variabilidad mostrados en la tabla 3 a los parámetros poblacionales de la tabla 2.

<b>Modelo de variabilidad interindividual</b>		
$\theta_i = \theta_p \cdot e^{\eta_i}$	$\eta_i = N(0, \omega^2)$	$\omega^2 = 0,04$
<b>Modelo de variabilidad interocasión</b>		
$\theta_{io} = \theta_i \cdot e^{\eta_{io}}$	$\eta_{io} = N(0, \omega_{io}^2)$	$\omega_{io}^2 = 0,01$
<b>Modelo de variabilidad residual</b>		
$y_s = y_p \cdot e^{\varepsilon}$	$\varepsilon_i = N(0, \sigma_i^2)$	$\sigma_i^2 = 0,04$

Tabla 3. Modelos de variabilidad empleados para el modelo de AAS.

Se han tenido en cuenta tres fuentes de variabilidad:

- Variabilidad interindividual ( $\eta_i$ ), que representa el conjunto de discrepancias entre los parámetros poblacionales y los individuales.
- Variabilidad interocasión ( $\eta_{io}$ ), que representa el conjunto de discrepancias entre los parámetros individuales causadas por la secuencia de administración (secuencia 1: referencia-test y secuencia 2: test-referencia).

- Variabilidad residual ( $\epsilon$ ), que representa las discrepancias entre las observaciones y las predicciones del modelo.

Como muestra la tabla 3, son variables aleatorias con una distribución normal con media igual a 0 y varianza igual a  $\omega_i^2$ ,  $\omega_{i0}^2$  y  $\sigma^2$ , respectivamente.

### **Validación del modelo para el AAS**

La validación del modelo farmacocinético semifisiológico propuesto, se basa en la comparación de los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas mediante la codificación en el programa NONMEM del modelo descrito, con resultados reales *in vivo* obtenidos de la bibliografía.

La búsqueda bibliográfica se realizó en PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)) filtrando por las palabras “acetylsalicylic” y “pharmacokinetics”. Tras leer los distintos resultados de la búsqueda, y buscar en Google ([www.google.es](http://www.google.es)) aquellos textos que no estaban disponibles en PubMed, se eligió el artículo de Brantmarky col. (Brantmark y col., 1982) como fuente de los datos de referencia, dado que muestra parámetros farmacocinéticos y curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo tanto de AAS como de AS, de distintas formas

farmacéuticas. Esto nos permitiría comparar los resultados de las simulaciones realizadas en NONMEM con  $k_D$  alta y baja, con una forma farmacéutica convencional y otra de liberación modificada, respectivamente.

Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982) presentaron en su artículo dos estudios:

1. Una comparación de las biodisponibilidades del AAS y el AS, cuando el AAS se administra en distintas formulaciones de liberación rápida y lenta.

2. Un estudio de los efectos del dipiridamol sobre la biodisponibilidad del AAS y del AS, en el que se vio que el dipiridamol no afectaba significativamente a la biodisponibilidad del AAS y AS.

La dosis administrada en ambos estudios fue de 1000mg de AAS, por lo que la dosis empleada en las simulaciones ha sido también de 1000mg. Las constantes de disolución empleadas para la validación han sido de  $8h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ . La constante de disolución de  $8h^{-1}$  ha servido para comparar los resultados de las simulaciones con los datos de Brantmark y col. de comprimidos convencionales (Brantmark y col., 1982). La constante de disolución de  $0,25h^{-1}$  ha servido para comparar los resultados de las simulaciones con los datos de Brantmark y col.

## Material y métodos

de AAS microencapsulado en comprimidos, forma farmacéutica de liberación modificada (Brantmark y col., 1982).

Se han realizado simulaciones con los parámetros poblacionales, sin aplicar los modelos de variabilidad de la tabla 3, para comparar los parámetros poblacionales de AUC y C<sub>max</sub> obtenidos en las simulaciones con los publicados por Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982).

Para obtener las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo individuales, se han aplicado los modelos de variabilidad de la tabla 3 y se han realizado las simulaciones en 24 individuos. Estos resultados individuales se han graficado junto con los datos medios experimentales de Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982), para comparar visualmente las curvas.

Por otro lado, se ha estudiado la linealidad del sistema. Como se ha descrito anteriormente, el AAS se hidroliza rápidamente a AS mostrando una cinética de eliminación lineal, mientras que la eliminación del AS a SU (y glucurónido salicilfenólico) sigue cinética de Michaelis-Menten (Needs y Brooks, 1985). Para estudiar la linealidad de los resultados, se han graficado los resultados poblacionales de AUC/dosis a tres niveles de dosis (100, 1000 y 3000mg), para comprobar si el modelo es capaz de mostrar la hidrólisis lineal del AAS y la eliminación no lineal del AS. Para ello, se ha establecido un

margen del 20% del AUC/dosis obtenido a la dosis de 100mg. Además, para comprobar estos comportamientos, se han graficado las tasas de extracción del AAS y AS a lo largo del tiempo, para ver los cambios que se producen en ellas, en relación con la linealidad del proceso.

### **Estudios de bioequivalencia para el AAS**

El indicador del comportamiento farmacéutico empleado en este estudio ha sido la constante de disolución *in vivo* ( $k_D$ ), ya que permite medir la velocidad de liberación de la sustancia activa a partir de la forma farmacéutica y está directamente relacionada con la bioequivalencia. Se han explorado seis constantes de disolución *in vivo* decrecientes (valores de  $k_D$  desde 8 hasta  $0,25h^{-1}$ ). Además, se han comparado los efectos de la disminución de la  $k_D$  a tres niveles de dosis (100, 1000 y 3000mg), para evaluar la influencia de la dosis, dando lugar a un total de 18 escenarios ( $6k_D \times 3dosis$ ).

Se han simulado con NONMEM 200 estudios de bioequivalencia cruzados por cada escenario, en 24 sujetos sanos divididos en dos grupos secuenciados de 12 sujetos. Cada individuo se asignó aleatoriamente a un grupo: los individuos asignados a la secuencia 1 recibieron en primer lugar la formulación de referencia y, tras un periodo de lavado, la

## Material y métodos

formulación problema; mientras que los individuos asignados a la secuencia 2 recibieron en primer lugar la formulación problema y, posteriormente, la formulación de referencia.

Cada sujeto recibió una dosis única de 100, 1000 o 3000mg de AAS en la formulación test o de referencia, con un periodo de lavado entre administraciones que garantizara que no existen efectos acumulativos. Las muestras se han tomado a los siguientes tiempos tras la administración de la dosis: 0,25h, 0,5h, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h y 48h.

Se ha codificado en NONMEM el cálculo de los parámetros C<sub>max</sub> y AUC (siguiendo el sistema trapezoidal) individuales y, posteriormente, se han exportado los datos a Excel para calcular los cocientes de C<sub>max</sub> y AUC de cada estudio para cada analito y para calcular los porcentajes de estudios que declaran que ambas formulaciones son bioequivalentes, teniendo en cuenta los datos de C<sub>max</sub> y AUC de cada analito.

### ***Cálculo de cocientes de C<sub>max</sub> y AUC***

Para obtener los cocientes de C<sub>max</sub> y AUC de cada analito en cada escenario estudiado, se ha calculado en una hoja Excel la media de los C<sub>max</sub> o AUC (según el caso) de los 200 estudios, obtenidos tras la administración de la formulación

test y la formulación de referencia. Posteriormente, se ha obtenido el cociente entre el Cmax medio test y el de referencia y entre el AUC medio test y el de referencia.

### ***Cálculo del porcentaje de resultados de bioequivalencia***

La bioequivalencia entre las dos formulaciones (para cada analito y en cada escenario) se ha determinado calculando los intervalos de confianza del 90% (IC 90%) para el cociente de los valores de Cmax y AUC de la formulación test y de referencia, empleando datos logarítmicamente transformados:

$$IC90\% = \ln(C_{max_T}/C_{max_R}) \pm EE \cdot t(v, \alpha) = (\ln C_{max_T} - \ln C_{max_R}) \pm EE \cdot t(v, \alpha)$$

Ecuación 30

Donde  $C_{max_T}$  es la Cmax media de la formulación test,  $C_{max_R}$  es la Cmax media de la formulación de referencia, EE es el error estándar y  $t(v, \alpha)$  es el valor de la t de Student con v grados de libertad y una probabilidad  $\alpha$ .

$$IC90\% = \ln(AUC_T/AUC_R) \pm EE \cdot t(v, \alpha) = (\ln AUC_T - \ln AUC_R) \pm EE \cdot t(v, \alpha)$$

Ecuación 31

Donde  $AUC_T$  es el AUC medio de la formulación test,  $AUC_R$  es el AUC medio de la formulación de referencia, EE es el

## Material y métodos

error estándar y  $t(v,\alpha)$  es el valor de la  $t$  de Student con  $v$  grados de libertad y una probabilidad  $\alpha$ .

Para obtener el error estándar, se ha realizado el estudio estadístico de los resultados de  $C_{max}$  y AUC con ANOVA, considerando los cuatro componentes de la suma de cuadrados total, y despejando el valor de la suma de cuadrados residual:

$$SC_R = SC_T - SC_I - SC_F - SC_P \quad \text{Ecuación 32}$$

Donde  $SC_R$  es la suma de cuadrados de la variabilidad residual,  $SC_T$  es la suma de cuadrados total,  $SC_I$  es la suma de cuadrados de la variabilidad interindividual,  $SC_F$  es la suma de cuadrados de la variabilidad de la formulación,  $SC_P$  es la suma de cuadrados de la variabilidad del período.

En primer lugar, se ha aplicado el logaritmo neperiano a cada  $C_{max}$  y AUC de referencia y test de cada analito. A partir de los logaritmos, se han calculado las sumas de cuadrados total, interindividual, debida a la formulación y debida al periodo. Con la ecuación 32 se ha obtenido la suma de cuadrados residual, a partir de la cual se determina el error estándar, tal y como se muestra en la ecuación 33:

$$EE = \sqrt{\frac{2 \cdot \left( \frac{SC_R}{n-2} \right)}{n}} \quad \text{Ecuación 33}$$

Donde  $n$  es el número de individuos.

Posteriormente, se ha calculado la media de los logaritmos neperianos de la  $C_{max}$  y el AUC test y referencia para cada analito y se ha obtenido la  $t$  de Student con 22 grados de libertad y una probabilidad 0,10.

Tras aplicar las ecuaciones 30 y 31, se han obtenido los intervalos de confianza del 90% y posteriormente se ha aplicado el antilogaritmo a los límites de los intervalos de confianza. Las formulaciones se consideran bioequivalentes si el IC90% de los cocientes de AUC y  $C_{max}$  está dentro del margen del 80-125%.

## **Modelo para la cafeína**

### ***Farmacocinética de la cafeína***

La absorción gastrointestinal de la cafeína se produce de forma rápida y completa. Una vez absorbida, se distribuye ampliamente en el agua corporal total, sin apenas producirse efecto de primer paso, y se elimina por cinética aparente de primer orden (Fredholm, 2010; McLean y Graham, 2002).

La cafeína se metaboliza principalmente vía N-3 desmetilación a paraxantina (Begas y col., 2007). Su metabolismo se produce a nivel hepático mediante el sistema

## Material y métodos

enzimático del citocromo P-450. En humanos adultos, más del 80% de la cafeína se biotransforma a paraxantina (Fredholm, 2010; McLean y Graham, 2002). Los otros metabolitos son teobromina, teofilina y ácido 1,3,7-trimetilúrico (Kot y Daniel, 2008). La eliminación de los metabolitos de la cafeína se produce principalmente por vía renal (Fredholm, 2010; McLean y Graham, 2002).

### ***Modelo propuesto para la cafeína***

El modelo farmacocinético semifisiológico propuesto para representar los procesos LADME de la cafeína (figura 9) considera los siguientes compartimentos:

1. Cafeína disuelta en lumen.
2. Cafeína en los enterocitos.
3. Cafeína en el hígado.
4. Cafeína en el compartimento central.
5. Paraxantina (principal metabolito) en el compartimento central.

El resto de metabolitos no se ha incluido en el modelo, pero se ha tenido en cuenta que la formación de paraxantina supone un 80% del metabolismo de la cafeína.

La cafeína se ha administrado en dosis única en forma de solución oral. La absorción se produce durante un tiempo limitado (TUA) establecido en base al tránsito intestinal (Mudie y col., 2010). La cafeína alcanza la circulación sistémica tras su paso por el hígado, y se distribuye rápidamente en un compartimento. Se elimina por metabolismo hepático, transformándose en un 80% en paraxantina. Una vez formada la paraxantina, se distribuye en un compartimento y se elimina por excreción renal.

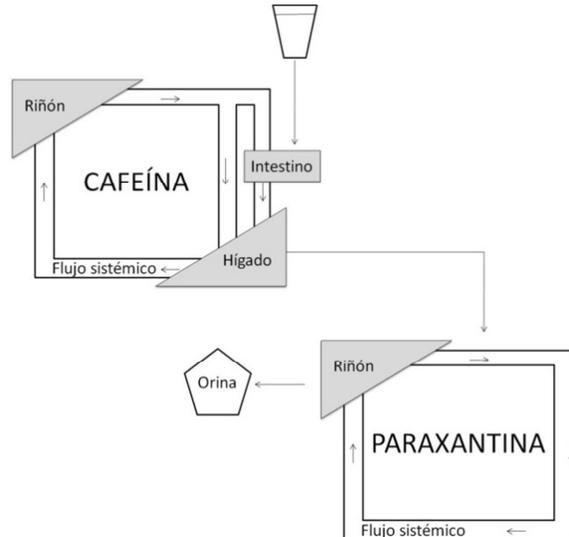


Figura 9: Esquema del modelo semifisiológico propuesto para representar el proceso LADME de la cafeína y su metabolito, la paraxantina.

## Material y métodos

Las ecuaciones que representan la velocidad de cambio de cafeína y paraxantina ( $dQ/dt$ ) en cada compartimento son las siguientes:

1. La velocidad de cambio en la cantidad de cafeína en el lumen depende sólo de la velocidad de absorción desde los enterocitos, ya que se ha administrado en forma de solución oral:

$$\frac{dQ_L}{dt} = -k_{Aap} \cdot Q_L$$

Ecuación 34

Donde  $k_{Aap}$  es la constante de velocidad de absorción aparente de primer orden de la cafeína y  $Q_L$  es la cantidad de cafeína disuelta en el lumen.

La absorción de cafeína, al igual que ocurre con el AAS, tiene lugar durante el tiempo útil de absorción, TUA (Mudie y col., 2010). Para ello se ha empleado la ecuación 6, al igual que ocurría con el AAS.

2. La velocidad de cambio en la cantidad de cafeína en los enterocitos ( $Q_E$ ) depende del proceso de absorción, de la cafeína procedente del compartimento central y de la salida de cafeína hacia la vena porta:

$$\frac{dQ_E}{dt} = k_{A_{ap}} \cdot Q_L + \phi_E \cdot C_C - \phi_E \cdot C_E \quad \text{Ecuación 35}$$

Donde  $\phi_E$  es el flujo sanguíneo entérico,  $C_C$  es la concentración de cafeína en el compartimento central,  $E_E$  es la tasa de extracción entérica y  $C_E$  es la concentración de cafeína en los enterocitos.

3. La velocidad de cambio en la cantidad de cafeína en el hígado depende de la cafeína procedente de la vena porta y del compartimento central y de su salida hacia el compartimento central en dos fracciones: como paraxantina una vez que se ha metabolizado la cafeína, y como cafeína sin metabolizar. La cafeína se metaboliza y da lugar a la paraxantina, y la fracción de cafeína que escapa al metabolismo hepático vuelve al compartimento central como cafeína no metabolizada:

$$\frac{dQ_H}{dt} = \phi_E \cdot C_E + \phi_H \cdot C_C - (\phi_H + \phi_E) \cdot E_H \cdot C_H - (\phi_H + \phi_E) \cdot (1 - E_H) \cdot C_H$$

Ecuación 36

Donde  $\phi_H$  es el flujo sanguíneo hepático,  $E_H$  es la tasa de extracción hepática y  $C_H$  es la concentración de cafeína en el hígado.

4. La velocidad de cambio en la cantidad de cafeína en el compartimento central depende de la fracción de cafeína que ha escapado del metabolismo hepático (que alcanza la circulación sistémica con un flujo sanguíneo resultante de la suma de los flujos entérico y hepático), y de la salida de cafeína hacia los enterocitos e hígado:

$$\frac{dQ_C}{dt} = (1 - E_H) \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_H - \phi_E \cdot C_C - \phi_H \cdot C_C \quad \text{Ecuación 37}$$

5. Cuando la cafeína se metaboliza, la paraxantina aparece en el compartimento central (la relación molar de cafeína y paraxantina es 1:1). La velocidad de cambio en la cantidad de paraxantina en el compartimento central depende de la formación de paraxantina en el hígado a partir del metabolismo de la cafeína y de la eliminación de la paraxantina a través de la orina. Se ha tenido en cuenta que el 80% del metabolismo de la cafeína ha dado lugar a la formación de paraxantina:

$$\frac{dQ_{C_{Px}}}{dt} = 0.8 \cdot E_H \cdot (\phi_H + \phi_E) \cdot C_H - k_{elPx} \cdot Q_{C_{Px}} \quad \text{Ecuación 38}$$

Donde  $C_{CPx}$  es la concentración de paraxantina en el compartimento central y  $k_{elPx}$  es la constante de eliminación de primer orden de la paraxantina.

La tasa de extracción hepática, tal y como se ha explicado para el AAS (ecuaciones 14 y 15), depende del aclaramiento intrínseco y de los flujos sanguíneos hepático e intestinal.

La concentración (C) de cada compuesto en los distintos compartimentos se calcula como la división de la cantidad (Q) por el volumen del compartimento (V).

No se ha considerado la unión a proteínas plasmáticas en el modelo. La unión de la cafeína a las proteínas plasmáticas es baja (Musteata y col., 2006), por lo que se ha asumido que la fracción libre es 1 y que es independiente de la concentración.

### ***Parámetros poblacionales para la cafeína***

Los valores poblacionales de los parámetros empleados con el modelo de la cafeína se han obtenido por búsqueda bibliográfica. La tabla 4 muestra los parámetros de sujetos sanos (sin cirrosis) a tres niveles de dosis (100, 175 y 400mg de cafeína base), mientras que la tabla 5 muestra los parámetros de pacientes cirróticos.

## Material y métodos

Se puede observar que los parámetros fisiológicos de las tablas 4 y 5 son comunes a los de la tabla 2 del AAS, puesto que se trata de parámetros fisiológicos. La excepción a esto son los flujos sanguíneos hepático y entérico en pacientes cirróticos, ya que son valores que se encuentran alterados en estos pacientes.

La constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ) del metabolismo de la cafeína también se ha fijado como parámetro común. Se ha calculado a partir de las  $K_M$  del metabolismo de cafeína a paraxantina, teobromina y teofilina, haciendo una media ponderada de los 3 valores de  $K_M$ , en función del porcentaje de formación de cada metabolito (Ha y col., 1996; McLean y Graham, 2002). Los valores de  $K_M$  y los porcentajes de formación de cada metabolito se muestran en la tabla 6.

<b>Parámetros para sujetos sanos</b>	
<b>Parámetros comunes</b>	<b>Valor (unidad)</b>
Constante de Michaelis-Menten hepática de cafeína ( $K_M$ )	0,19(mmol/L)
<i>Volumen del compartimento hígado (<math>V_H</math>)</i>	<i>1,1 (L)</i>
<i>Volumen del compartimento enterocitos (<math>V_E</math>)</i>	<i>1,8 (L)</i>
<i>Tiempo útil de absorción (TUA)</i>	<i>3,5 (h)</i>
<i>Coefficiente de Hill (h)</i>	<i>20</i>
<i>Flujo sanguíneo hepático (<math>\phi_H</math>)</i>	<i>18 (L/h)</i>
<i>Flujo sanguíneo entérico (<math>\phi_E</math>)</i>	<i>72 (L/h)</i>
<b>Parámetros para la dosis de 100mg</b>	<b>Valor (unidad)</b>
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 de cafeína ( $CL_{0H}^i$ )	5,5 (L/h)
Constante de absorción real ( $k_A$ )	8,5 ( $h^{-1}$ )
Constante de eliminación de la paraxantina ( $k_{elPx}$ )	0,125 ( $h^{-1}$ )
Volumen del compartimento central de la cafeína ( $V_C$ )	40 (L)
Volumen del compartimento central de la paraxantina ( $V_{Px}$ )	40 (L)
<b>Parámetros para la dosis de 175mg</b>	<b>Valor (unidad)</b>
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 de cafeína ( $CL_{0H}^i$ )	3,5 (L/h)
Constante de absorción real ( $k_A$ )	1,95 ( $h^{-1}$ )
Constante de eliminación de la paraxantina ( $k_{elPx}$ )	0,110 ( $h^{-1}$ )
Volumen del compartimento central de la cafeína ( $V_C$ )	30,8 (L)
Volumen del compartimento central de la paraxantina ( $V_{Px}$ )	30,8 (L)
<b>Parámetros para la dosis de 400mg</b>	<b>Valor (unidad)</b>
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 de cafeína ( $CL_{0H}^i$ )	5 (L/h)
Constante de absorción real ( $k_A$ )	1,55 ( $h^{-1}$ )
Constante de eliminación de la paraxantina ( $k_{elPx}$ )	0,108 ( $h^{-1}$ )
Volumen del compartimento central de la cafeína ( $V_C$ )	44 (L)
Volumen del compartimento central de la paraxantina ( $V_{Px}$ )	44 (L)

Tabla 4. Parámetros empleados para el modelo de cafeína en sujetos sanos. Los datos en cursiva son parámetros fisiológicos.

## Material y métodos

Parámetros para pacientes cirróticos	
Parámetros	Valor (unidad)
Constante de Michaelis-Menten hepática de cafeína ( $K_M$ )	0,19(mmol/L)
<i>Volumen del compartimento hígado (<math>V_H</math>)</i>	<i>1,1 (L)</i>
<i>Volumen del compartimento enterocitos (<math>V_E</math>)</i>	<i>1,8 (L)</i>
<i>Tiempo útil de absorción (TUA)</i>	<i>3,5 (h)</i>
<i>Coficiente de Hill (h)</i>	<i>20</i>
Flujo sanguíneo hepático ( $\phi_H$ )	40 (L/h)
Flujo sanguíneo entérico ( $\phi_E$ )	24 (L/h)
Aclaramiento intrínseco hepático a tiempo 0 de cafeína ( $CL_{0H}^i$ )	0,645 (L/h)
Constante de absorción real ( $k_A$ )	0,61 ( $h^{-1}$ )
Constante de eliminación de la paraxantina ( $k_{elPx}$ )	0,0156 ( $h^{-1}$ )
Volumen del compartimento central de la cafeína ( $V_C$ )	45,9 (L)
Volumen del compartimento central de la paraxantina ( $V_{Px}$ )	45,9 (L)

Tabla 5. Parámetros empleados para el modelo de cafeína en pacientes cirróticos. Los datos en cursiva son parámetros fisiológicos.

Metabolito	$K_M$	% de formación
Paraxantina	0,19mmol/L	83,9%
Teobromina	0,16mmol/L	12,2%
Teofilina	0,25mmol/L	3,7%

Tabla 6. Relación de  $K_M$  y porcentaje de formación de los metabolitos de la cafeína.

El resto de parámetros farmacocinéticos empleados en cada simulación son distintos, ya que se han obtenido de las correspondientes publicaciones de referencia empleadas para

validar el modelo (Haller y col., 2002; Marco Garbayo, 1999; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009).

Los volúmenes de los compartimentos hepático y entérico se han obtenido aplicando las ecuaciones 28 y 29.

Los valores del TUA y el coeficiente de Hill permiten la absorción durante el tiempo de tránsito intestinal, gracias a la aplicación de la ecuación 6, que hace que la constante de absorción aparente se comporte de forma equivalente a lo mostrado en la figura 8.

Los flujos sanguíneos hepático y entérico en sujetos sanos se han fijado de la misma forma que para el AAS (Bradley y col., 1945; Carlisle y col., 1992). Sin embargo, en pacientes cirróticos, los valores se han fijado en 40 y 24L/h, respectivamente (Bradley y col., 1952; Moreno y col., 1967).

Los aclaramientos intrínsecos ( $CL^i_0$ ) se han obtenido a partir del aclaramiento metabólico total reflejado en cada artículo de referencia (Haller y col., 2002; Marco Garbayo, 1999; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009) y el flujo sanguíneo total ( $\phi$ ), empleando la ecuación 27.

La constante de absorción *real* se ha obtenido aplicando las ecuaciones 25 y 26 (Labaune, 1988; Ritschel y Kearns, 2004), a partir de la semivida plasmática de eliminación ( $t_{1/2}$ ) y el

tiempo de la concentración máxima (Tmax) mostrados en cada publicación (Haller y col., 2002; Marco Garbayo, 1999; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009).

La constante de eliminación de la paraxantina se ha obtenido a partir del aclaramiento y el volumen de distribución (de forma equivalente a las ecuaciones 22 y 23), asumiendo que ambos son similares a los de cafeína (Haller y col., 2002; Marco Garbayo, 1999; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009).

### **Parámetros individuales**

Los parámetros individuales se han obtenido tras aplicar los modelos log normal de variabilidad interindividual y residual mostrados en la tabla 7 a los parámetros poblacionales indicados en las tablas 4 y 5.

<b>Modelo de variabilidad interindividual</b>		
$\theta_i = \theta_p \cdot e^{\eta_i}$	$\eta_i = N(0, \omega_i^2)$	$\omega_i^2 = 0,04$
<b>Modelo de variabilidad residual</b>		
$y_s = y_p \cdot e^{\varepsilon}$	$\varepsilon_i = N(0, \sigma_i^2)$	$\sigma_i^2 = 0,04$

Tabla 7. Modelos de variabilidad para la cafeína.

Se han tenido en cuenta dos fuentes de variabilidad:

- Variabilidad interindividual ( $\eta_i$ ), que representa el conjunto de discrepancias entre los parámetros poblacionales y los individuales.
- Variabilidad residual ( $\epsilon$ ), que representa las discrepancias entre las observaciones y las predicciones del modelo.

Como muestra la tabla 7, ambas son variables aleatorias con una distribución normal con media igual a 0 y varianza igual a  $\omega^2$  y  $\sigma^2$ , respectivamente.

### **Validación del modelo de la cafeína**

En el caso de la cafeína, se disponía de datos de estudios en sujetos sanos y de datos en pacientes cirróticos. Puesto que el metabolismo de la cafeína tiene lugar a nivel exclusivamente hepático, esto nos ha permitido evaluar el efecto de la alteración en la función hepática en las concentraciones plasmáticas.

La validación del modelo farmacocinético semifisiológico propuesto se basa en la comparación de los resultados obtenidos en las simulaciones, realizadas mediante la

codificación en el programa NONMEM del modelo descrito, con resultados reales *in vivo* obtenidos de la bibliografía.

La búsqueda bibliográfica se realizó en PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)) filtrando por las palabras “caffeine” y “pharmacokinetics”. Tras leer los distintos resultados de la búsqueda, y buscar en Google ([www.google.es](http://www.google.es)) aquellos textos que no estaban disponibles en PubMed, se eligieron los artículos de Turpault y col., Haller y col. y McLean y Graham (Haller y col., 2002; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009) como fuente de los datos de referencia, porque muestran parámetros farmacocinéticos y curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína y paraxantina a distintas dosis (excepto Haller y col., que sólo muestra datos de cafeína). Por otro lado, se eligió la tesis de Marco Garbayo (Marco Garbayo, 1999) porque muestra datos de pacientes cirróticos a los que se les ha administrado cafeína. Puesto que la cafeína muestra metabolismo únicamente hepático, resulta interesante ver si se puede simular el daño hepático, de forma que los resultados de concentraciones plasmáticas se correspondan con los datos clínicos de pacientes que sufren cirrosis.

Cada simulación se ha realizado en 24 individuos, excepto en el estudio de cafeína en pacientes cirróticos, en el que se han incluido 12 individuos, siguiendo la metodología del trabajo de referencia (Marco Garbayo, 1999).

En el caso de los sujetos sanos, se han empleado 3 niveles de dosis: 100, 175 y 400mg de cafeína base. Se han tenido en cuenta las concentraciones basales medidas en cada artículo de referencia, de manera que las concentraciones plasmáticas a tiempo 0, observadas en las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo publicadas, se han transformado en cantidad de cafeína y paraxantina y se han añadido a la dosis. De esta forma:

- La dosis de 100mg de cafeína se transformó en 110mg, correspondiéndose a la suma de los 100mg de dosis más los 10mg de cafeína basal (Turpault y col., 2009), y se añadieron 24mg de paraxantina en el compartimento central de la misma, ya que la curva del artículo mostraba concentración basal de paraxantina.
- La dosis de 175mg se transformó en 219mg, correspondiéndose con la suma de 175mg de dosis más 44mg de cafeína basal (Haller y col., 2002).
- La dosis de 400mg se mantuvo, ya que el criterio de exclusión en el estudio de referencia era más restrictivo en cuanto a la ingestión de cafeína previa al estudio y no había cafeína basal (McLean y Graham, 2002).

## Material y métodos

En los pacientes cirróticos, los datos experimentales se han obtenido de Marco Garbayo (Marco Garbayo, 1999). Así, disponíamos de datos de 12 pacientes cirróticos que recibieron una primera dosis intravenosa *in bolus* de 100,6mg de cafeína base y una segunda dosis vía oral (a las 24 horas) de 200 o 250mg, en función del peso del individuo. En la simulación se ha tenido en cuenta la velocidad de administración intravenosa y los niveles plasmáticos basales de cafeína de cada individuo, ya que se disponía de estos datos, que figuran en la publicación de referencia (Marco Garbayo, 1999).

Las simulaciones se han realizado de dos formas: aplicando los modelos de variabilidad de la tabla 7 y sin aplicarlos, para obtener las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo individuales y poblacionales, respectivamente.

Los resultados de las simulaciones se han graficado junto con las curvas de resultados medios experimentales de las publicaciones de referencia, para comparar visualmente las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo simuladas con las publicadas por Turpault y col. (Turpault y col., 2009), Haller y col. (Haller y col., 2002), McLean y Graham (McLean y Graham, 2002) y Marco Garbayo (Marco Garbayo, 1999), según el caso.

## Resultados

---

### Validación del modelo del AAS

Las figuras 10 y 11 muestran las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo del AAS y AS, respectivamente, en las que se pueden observar los resultados individuales obtenidos con las simulaciones y los datos medios de referencia publicados por Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982). Las líneas representan los datos de referencia: la línea gris representa los datos de AAS o AS cuando se administra AAS en forma de comprimidos convencionales, mientras que la

## Resultados

línea roja representa los datos de AAS o AS cuando se administra AAS microencapsulado en comprimidos. Los puntos representan los resultados individuales de las simulaciones: los puntos grises representan los resultados de AAS o AS cuando se administra AAS con una  $k_D$  de  $8h^{-1}$ , mientras que los puntos rojos representan los resultados de AAS o AS cuando se administra AAS con una  $k_D$  de  $0,25h^{-1}$ .

En el artículo de Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982) también se muestran los datos de AUC,  $C_{max}$  y  $T_{max}$ , por lo que se han empleado para realizar la tabla 8, en la que se muestra una comparativa de estos parámetros con los datos de AUC,  $C_{max}$  y  $T_{max}$  medios obtenidos en las simulaciones.

La linealidad del sistema se ha estudiado con las figuras 12, 13 y 14. En la figura 12 se representan los AUC medios de AAS, AS y SU de las simulaciones, divididos por la dosis (AUC/Dosis), frente a la dosis. En las figuras 13 y 14 se muestran las tasas de extracción hepática ( $E_H$ ) y entérica ( $E_E$ ), respectivamente, frente al tiempo, cuando las constantes de disolución son  $8h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ .

## Ácido acetilsalicílico

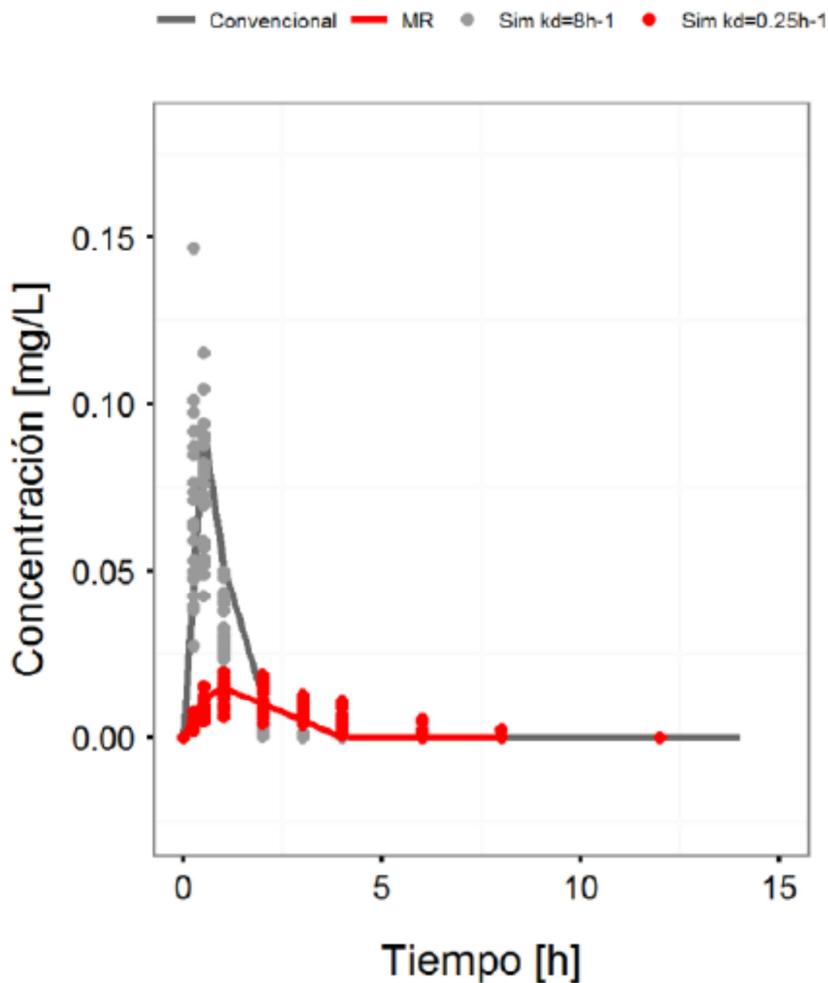


Figura 10. Concentraciones plasmáticas (mM) frente a tiempo (h) de AAS. Los datos representados corresponden a datos de referencia de comprimidos convencionales, de comprimidos de liberación modificada (AAS microencapsulado en comprimidos) y datos simulados obtenidos con  $k_D$  8 y  $0,25h^{-1}$ .

## Ácido salicílico

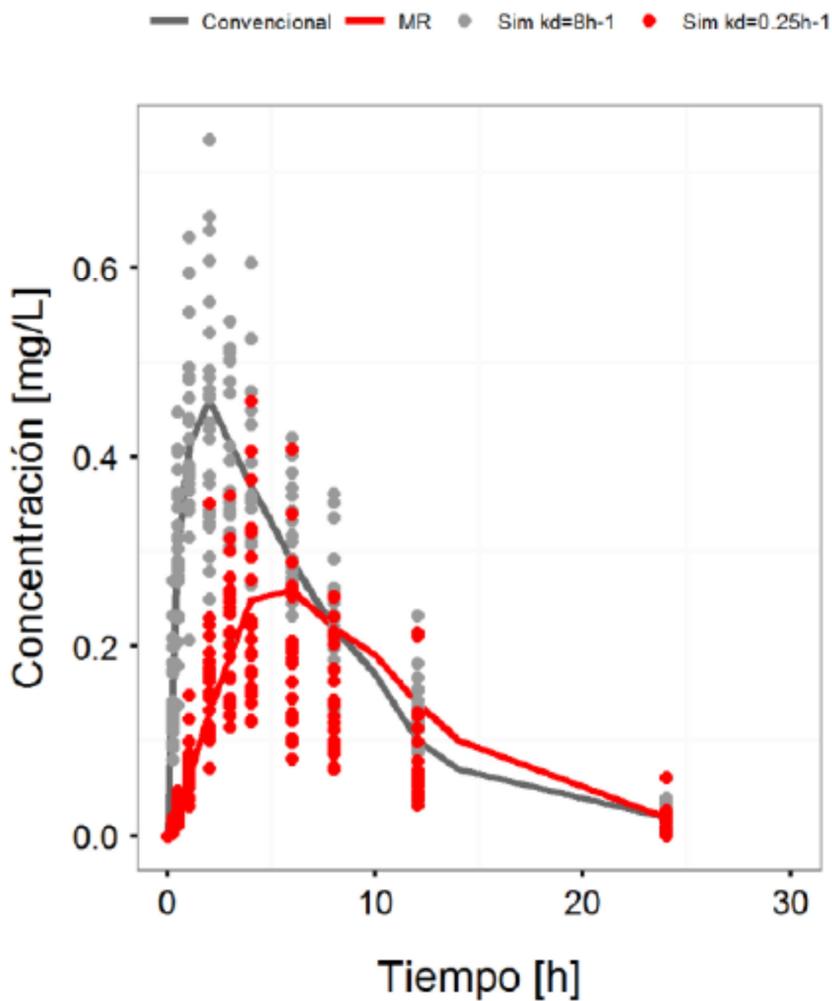


Figura 11. Concentraciones plasmáticas (mM) frente a tiempo (h) de AS. Los datos representados corresponden a datos de referencia de comprimidos convencionales, de comprimidos de liberación modificada (AAS microencapsulado en comprimidos) y datos simulados obtenidos con  $k_D$  8 y  $0,25\text{h}^{-1}$ .

	AAS				AS			
	Brantmark		Sim.		Brantmark		Sim.	
	1		2		1		2	
	A	B			A	B		
AUC (mg·h/L) FF convencional	8,6	11,0	-	13,5	-	-	542,80	598,4
AUC <sub>0-8h</sub> (mg·h/L) FF convencional	8,6	11,0	-	13,5	400,75	369,15	-	357,3
AUC (mg·h/L) FF modificada	-	-	-	7,4	-	-	404,80	307,0
C <sub>max</sub> (mg/L) FF convencional	14,2	16,2	18,0	14,4	70,65	67,48	67,62	59,4
C <sub>max</sub> (mg/L) FF modificada	-	-	3,0	2,2	-	-	38,64	30,1
T <sub>max</sub> (h) FF convencional	-	0,5	-	0,5	2,0	2,0	1,8	2,0
T <sub>max</sub> (h) FF modificada	-	-	-	0,5	-	-	6,7	4,0

Tabla 8. AUC, C<sub>max</sub> y T<sub>max</sub> de Brantmark y col. y de las simulaciones realizadas con NONMEM, cuando se administra una dosis de 1000mg de AAS. Brantmark y col. realizaron dos estudios. Estudio 1: comparación de la administración de AAS sólo (A) con la administración de AAS conjunta con dipiridamol (B); estudio 2: comparación de distintas formas farmacéuticas de AAS.

## Resultados

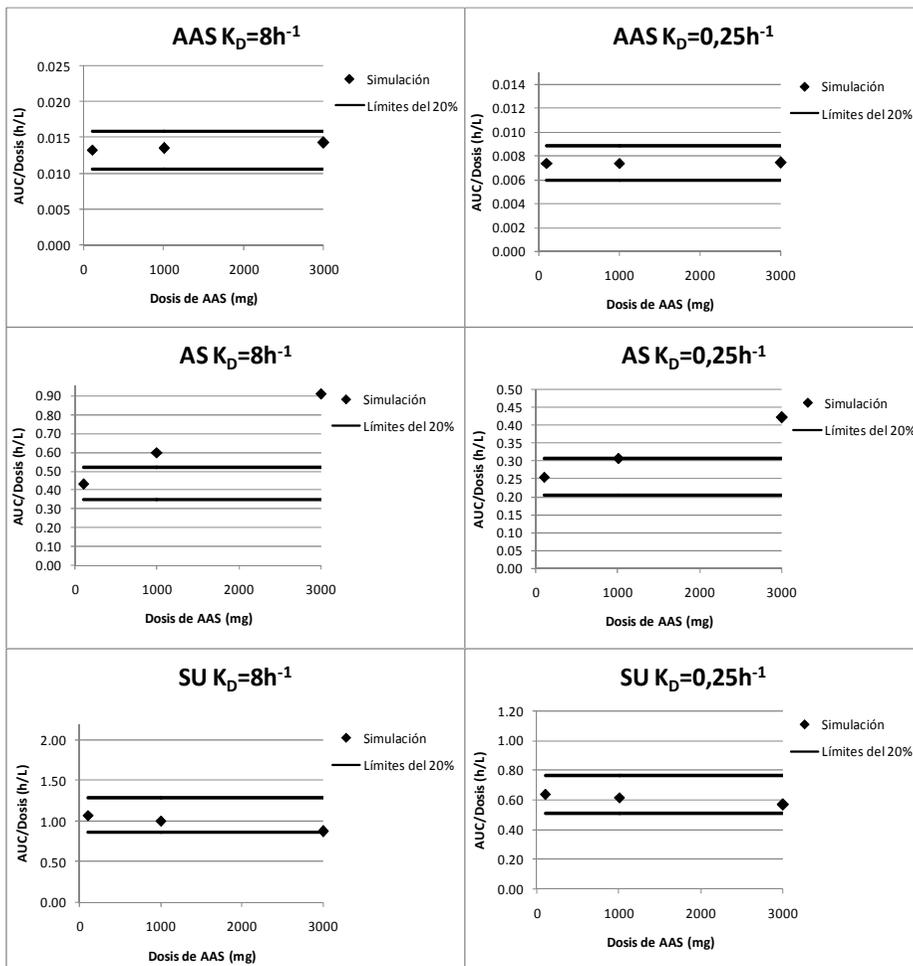


Figura 12. AUC/dosis (h/L) frente a dosis de AAS (mg) con un margen del 20%, para el AAS, AS y SU a  $k_D$  0,25 y 8h<sup>-1</sup>.

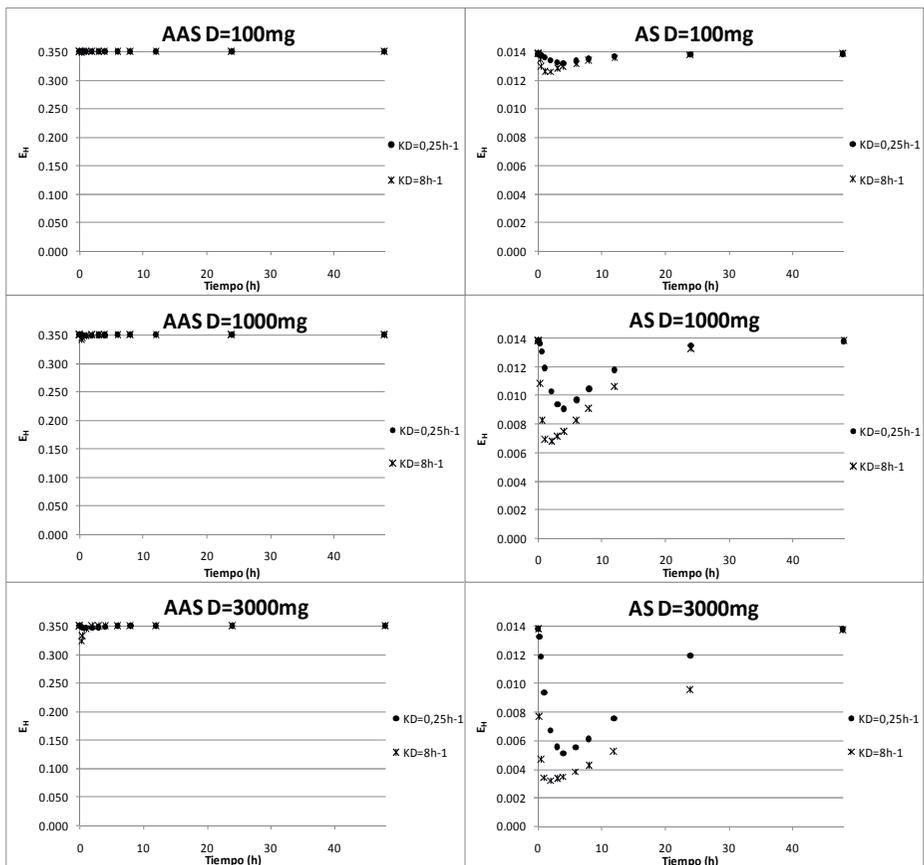


Figura 13. Tasas de extracción hepática ( $E_H$ ) frente a tiempo (h) obtenidas con  $k_D$   $8h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ , del AAS y AS, a dosis 100mg, 1000mg y 3000mg de AAS.

# Resultados

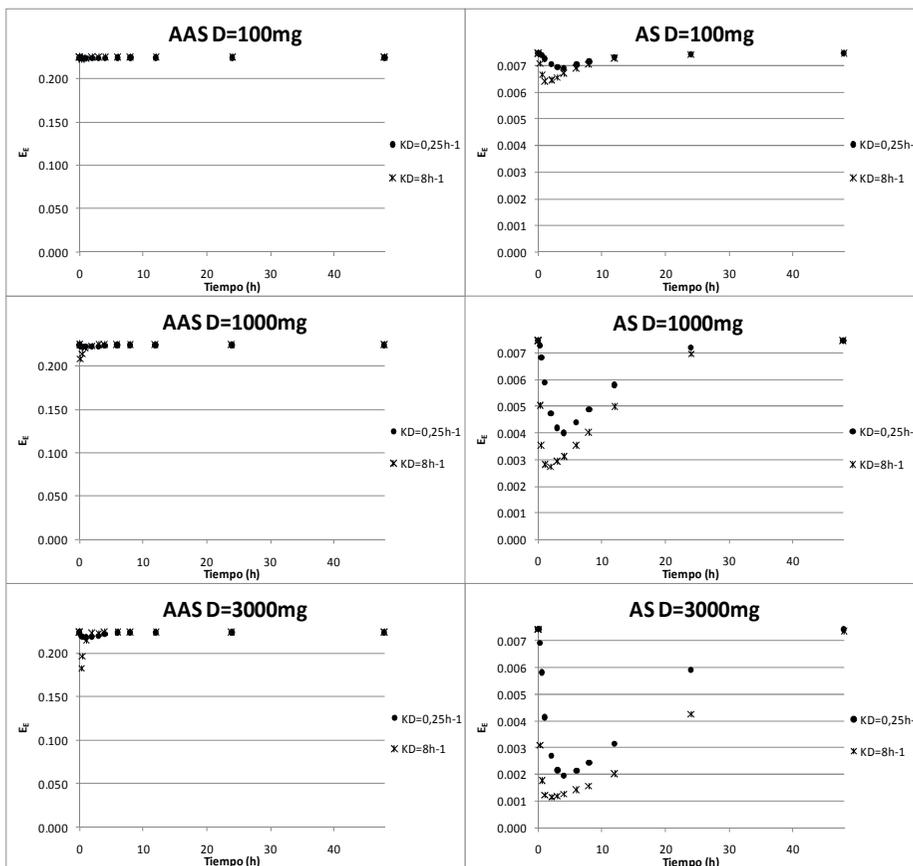


Figura 14. Tasas de extracción entérica ( $E_E$ ) frente a tiempo (h) obtenidas con  $k_D$  8 y  $0,25 h^{-1}$ , del AAS y AS, a dosis 100mg, 1000mg y 3000mg de AAS.

## Estudios de bioequivalencia del AAS

Los cocientes de  $C_{max}$  test/referencia del AAS, AS y SU se han graficado frente a la constante de disolución *in vivo* ( $k_D$ ) del medicamento test y frente a la fracción absoluta de AAS absorbido a partir del medicamento test, como se puede ver en la figura 15. Las tablas 10, 11 y 12 muestran las  $C_{max}$  medias a dosis 100mg, 1000mg y 3000mg de AAS, respectivamente.

De forma análoga, se han graficado los cocientes de AUC test/referencia del AAS, AS y SU, como se puede ver en la figura 16. Las tablas 13, 14 y 15 muestran las AUC medias a dosis 100mg, 1000mg y 3000mg de AAS, respectivamente.

También se han graficado las concentraciones plasmáticas poblacionales de AAS, AS y SU (figuras 17, 18 y 19) que se obtienen con cada  $k_D$  de la formulación test, para ver la evolución de las curvas a medida que disminuye la  $k_D$ .

Las gráficas de las figuras 20 y 21 muestran el porcentaje de estudios que declaran que las dos formulaciones (test y referencia) son bioequivalentes frente a la  $k_D$  del medicamento test y a la fracción absoluta de AAS absorbido a partir del medicamento test, para los 3 analitos, AAS, AS y SU. Para determinar esos porcentajes se han empleado los cocientes de  $C_{max}$ , en el caso de la figura 20, y de AUC, en el caso de la figura 21.

## Resultados

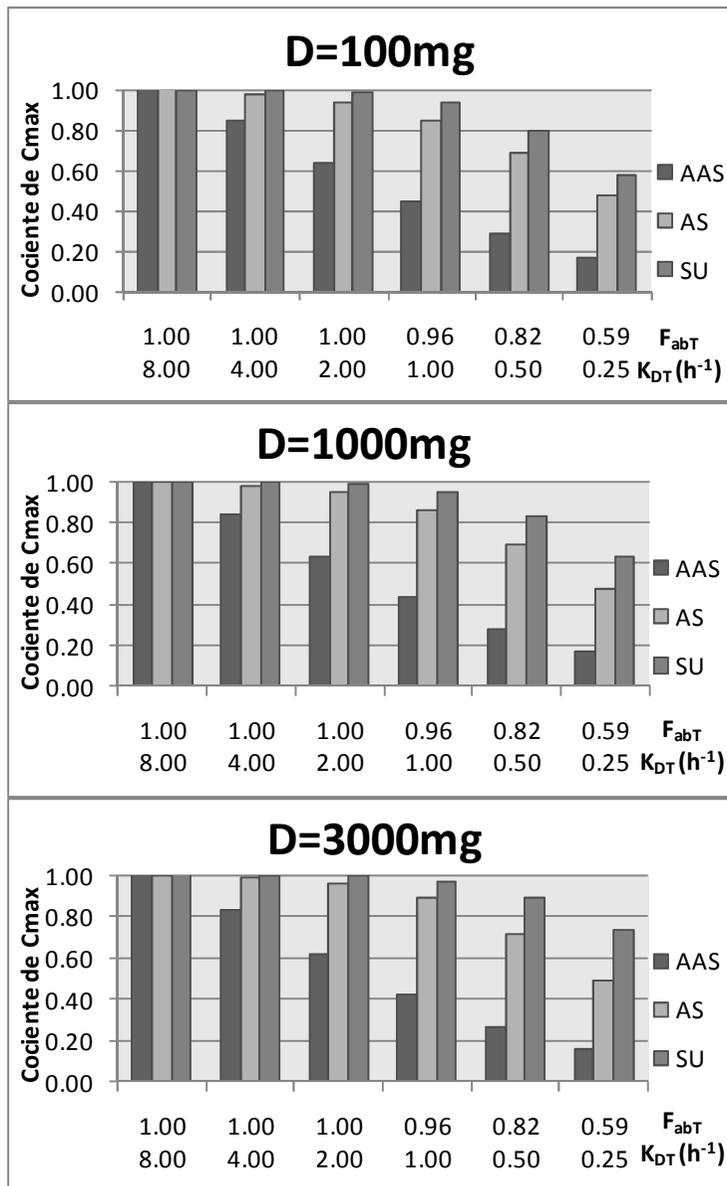


Figura 15. Cocientes de  $C_{max}$  del AAS, AS y SU frente a fracción absorbida ( $F_{abT}$ ) y  $K_D$  ( $h^{-1}$ ) de la formulación test, obtenidos en las simulaciones, cuando la dosis de AAS es de 100, 1000 y 3000mg.

## Resultados

D= 100mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
Cmax AAS(mg /L)	1.45	1.46	1.23	0.93	0.65	0.42	0.25
Cmax AS (mg /L)	6.42	6.45	6.29	6.00	5.45	4.42	3.08
Cmax SU (mg /L)	6.67	6.68	6.66	6.59	6.27	5.32	3.84

Tabla 10. Cmax medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 100mg de AAS.

D= 1000mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
Cmax AAS (mg/L)	14.80	14.88	12.45	9.36	6.53	4.19	2.53
Cmax AS (mg/L)	69.29	69.58	68.36	65.90	60.07	48.37	33.15
Cmax SU (mg/L)	51.76	51.79	51.68	51.31	49.41	43.31	32.89

Tabla 11. Cmax medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 1000mg de AAS.

D= 3000mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
Cmax AAS (mg/L)	46.95	47.18	39.10	29.09	20.10	12.77	7.66
Cmax AS (mg/L)	224.19	224.80	222.18	216.20	198.96	161.22	110.13
Cmax SU (mg/L)	100.80	101.26	101.10	100.65	98.24	89.89	73.82

Tabla 12. Cmax medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 3000mg de AAS.

## Resultados

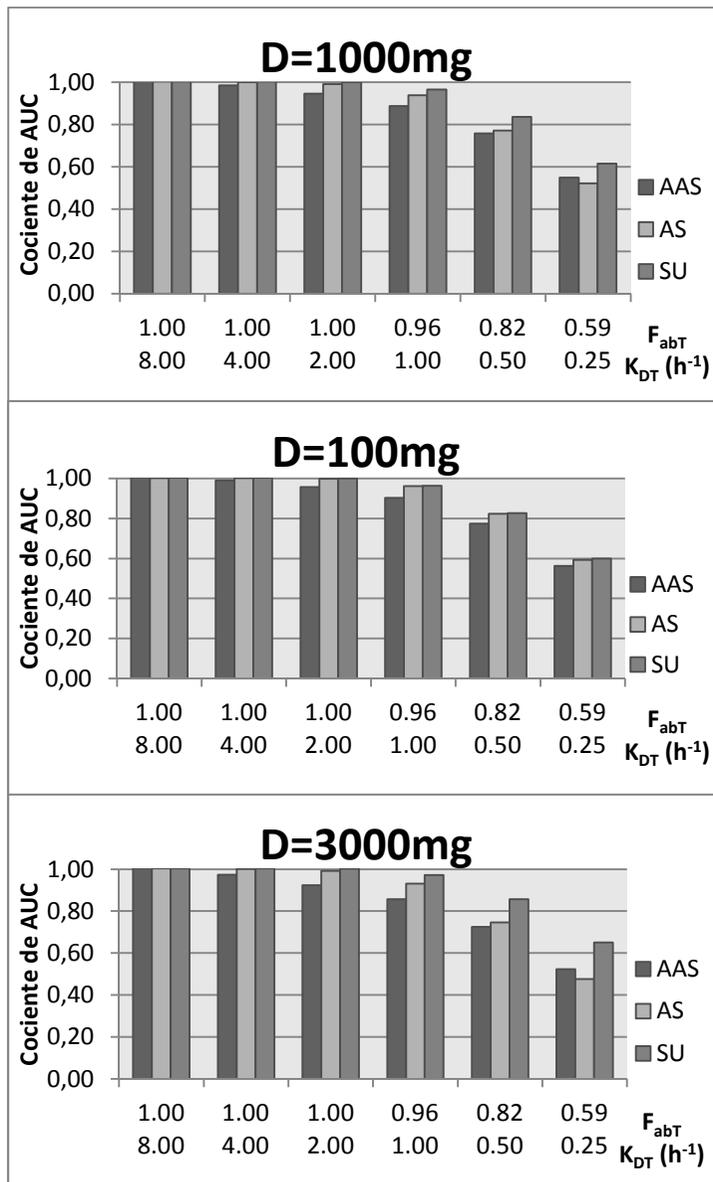


Figura 16. Cocientes de AUC del AAS, AS y SU frente a fracción absorbida ( $F_{abT}$ ) y  $k_D$  ( $h^{-1}$ ) de la formulación test, obtenidos en las simulaciones, cuando la dosis de AAS es de 100, 1000 y 3000mg.

## Resultados

D= 100mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
AUC AAS(mg·h/L)	1.34	1.35	1.33	1.28	1.21	1.04	0.75
AUC AS (mg·h/L)	44.09	44.19	44.15	44.01	42.39	36.28	26.12
AUC SU (mg·h/L)	113.84	114.19	114.22	113.89	109.66	94.11	68.28

Tabla 13. AUC medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 100mg de AAS.

D= 1000mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
AUC AAS(mg·h/L)	13.68	13.76	13.47	12.94	12.15	10.36	7.52
AUC AS (mg·h/L)	609.91	611.94	610.45	605.13	572.98	470.78	318.07
AUC SU (mg·h/L)	1063.07	1066.78	1067.04	1064.31	1027.46	889.05	653.57

Tabla 14. AUC medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 1000mg de AAS.

D= 3000mg							
	Ref.	Test					
$k_D$ ( $h^{-1}$ )	8	8	4	2	1	0.5	0.25
AUC AAS(mg·h/L)	43.55	43.82	42.40	40.20	37.28	31.55	22.75
AUC AS (mg·h/L)	2762.27	2773.03	2766.05	2738.87	2573.92	2059.11	1314.85
AUC SU (mg·h/L)	2773.47	2784.01	2784.42	2778.56	2696.98	2378.11	1802.46

Tabla 15. AUC medias de AAS, AS y SU, obtenidas de las formulaciones de referencia y test, cuando se administra una dosis de 3000mg de AAS.

Figura 17. Evolución de las concentraciones plasmáticas poblacionales de AAS frente al tiempo, obtenidas en las simulaciones, cuando la  $k_D$  del medicamento test es  $8h^{-1}$ ,  $4h^{-1}$ ,  $2h^{-1}$ ,  $1h^{-1}$ ,  $0,5h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ .

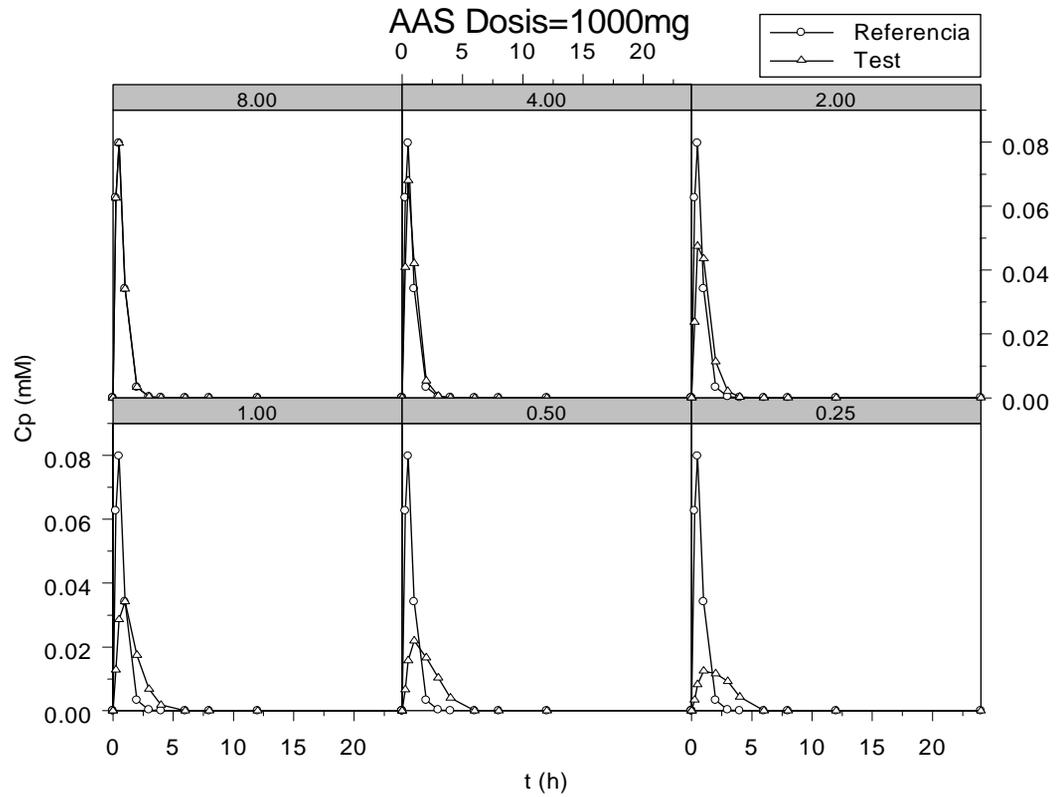


Figura 18. Evolución de las concentraciones plasmáticas poblacionales de AS frente al tiempo, obtenidas en las simulaciones, cuando la  $k_D$  del medicamento test es  $8h^{-1}$ ,  $4h^{-1}$ ,  $2h^{-1}$ ,  $1h^{-1}$ ,  $0,5h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ .

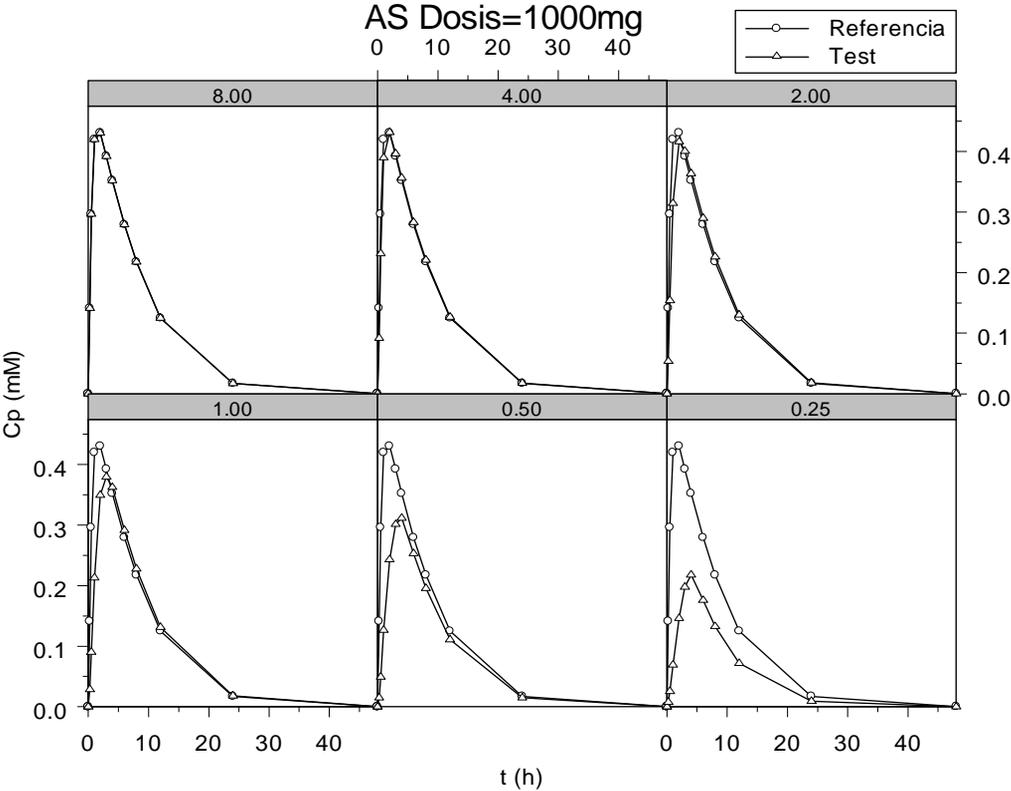
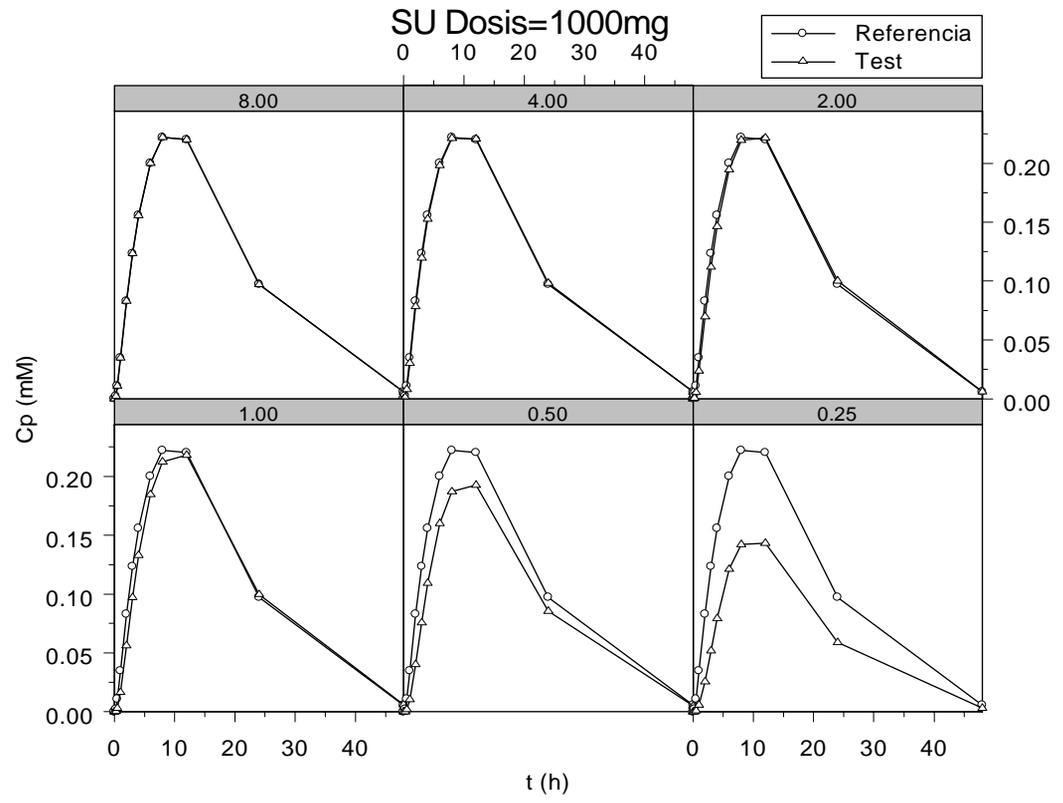


Figura 19. Evolución de las concentraciones plasmáticas poblacionales de SU frente al tiempo, obtenidas en las simulaciones, cuando la  $k_D$  del medicamento test es  $8h^{-1}$ ,  $4h^{-1}$ ,  $2h^{-1}$ ,  $1h^{-1}$ ,  $0,5h^{-1}$  y  $0,25h^{-1}$ .



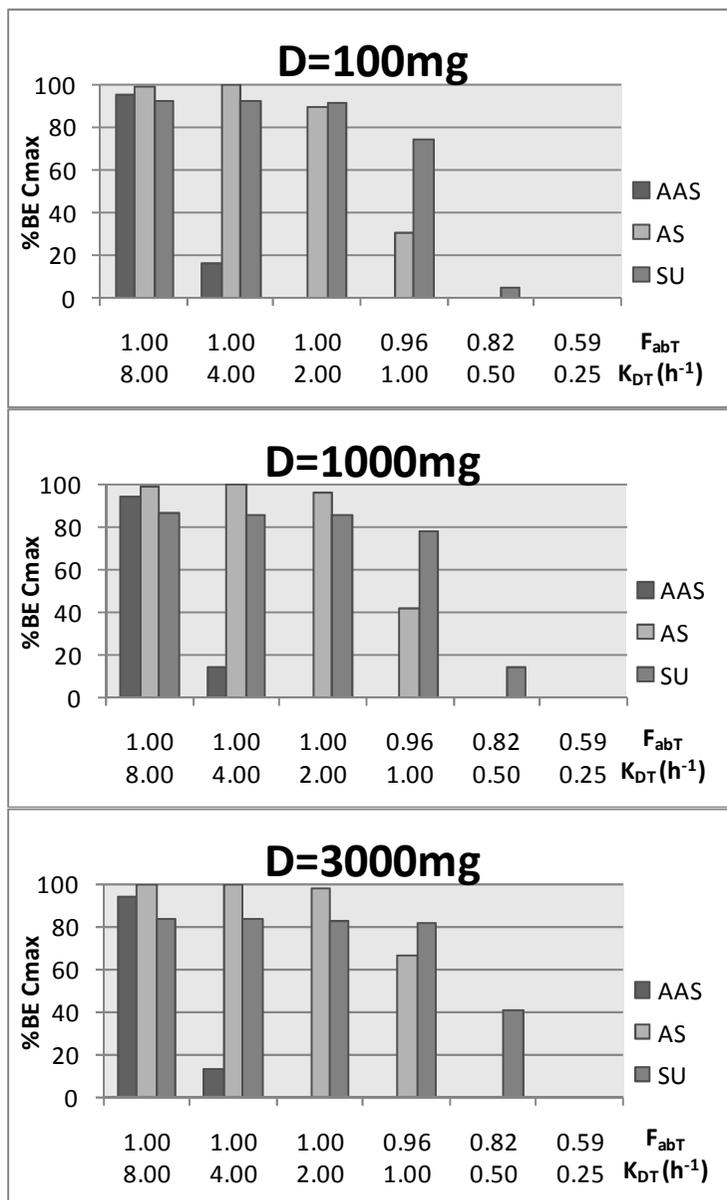


Figura 20. Porcentajes de estudios de bioequivalencia positivos basándose en los cocientes de Cmax, obtenidos para AAS, AS y SU, frente a fracción absorbida ( $F_{abT}$ ) y  $K_D (h^{-1})$  de la formulación test, cuando la dosis de AAS es de 100, 1000 y 3000mg.

## Resultados

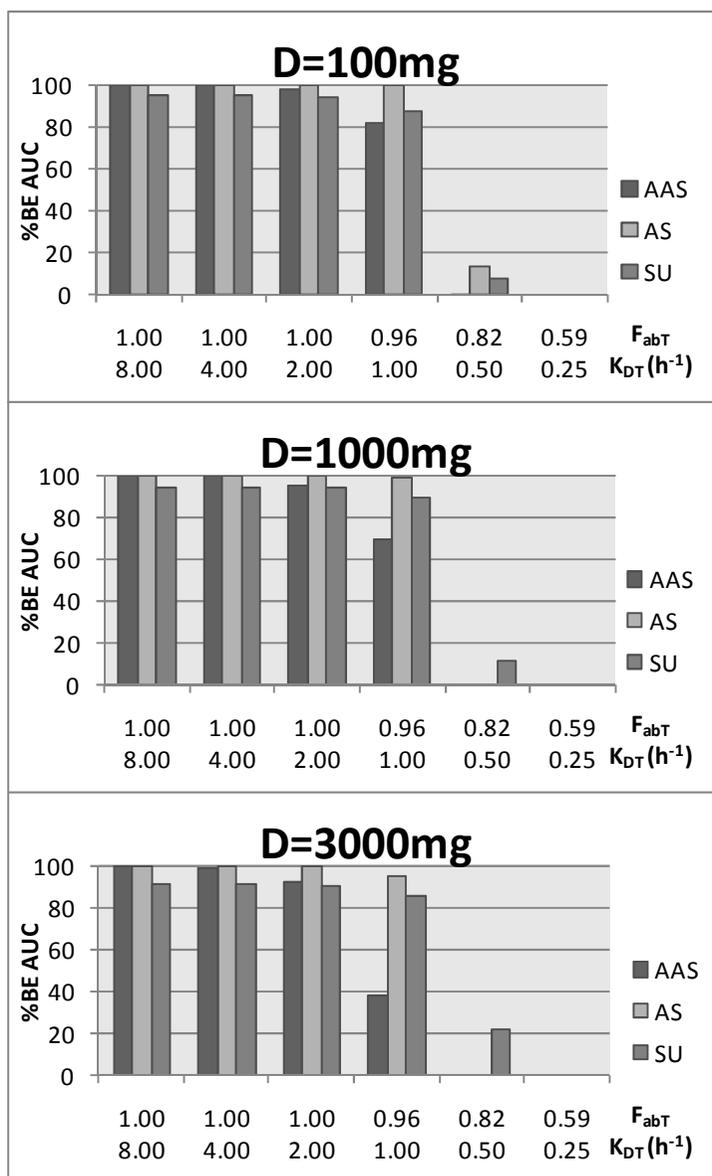


Figura 21. Porcentajes de estudios de bioequivalencia positivos basándose en los cocientes de AUC, obtenidos para AAS, AS y SU, frente a fracción absorbida ( $F_{abT}$ ) y  $k_D$  ( $h^{-1}$ ) de la formulación test, cuando la dosis de AAS es de 100, 1000 y 3000mg.

### **Validación del modelo de la cafeína**

Las figuras 22 a 28 muestran las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína y paraxantina a los distintos niveles de dosis estudiados.

Las figuras 22 y 23 muestran las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína y paraxantina, respectivamente, en las que se pueden observar los resultados individuales y poblacionales obtenidos con las simulaciones y los datos medios de referencia publicados por Turpault y col. (Turpault y col., 2009). La dosis administrada teórica es de 100mg, aunque como se ha explicado anteriormente, la dosis real de las simulaciones ha sido de 110mg, ya que se ha tenido en cuenta la cafeína basal. Los puntos amarillos representan los datos de referencia, la línea azul representa los resultados poblacionales de las simulaciones y los puntos grises representan los resultados individuales de las simulaciones.

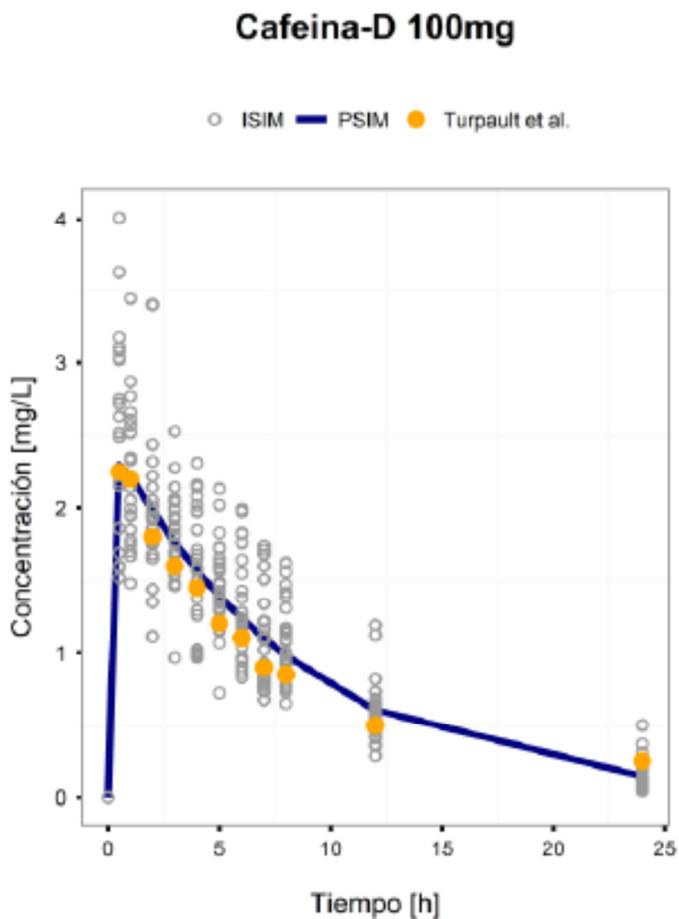


Figura 22. Concentraciones plasmáticas individuales y poblacionales (mg/L) frente a tiempo (h) de cafeína, cuando se administra una dosis de 100mg de cafeína base. Se muestran los datos de Turpault y col. y los resultados de las simulaciones de NONMEM.

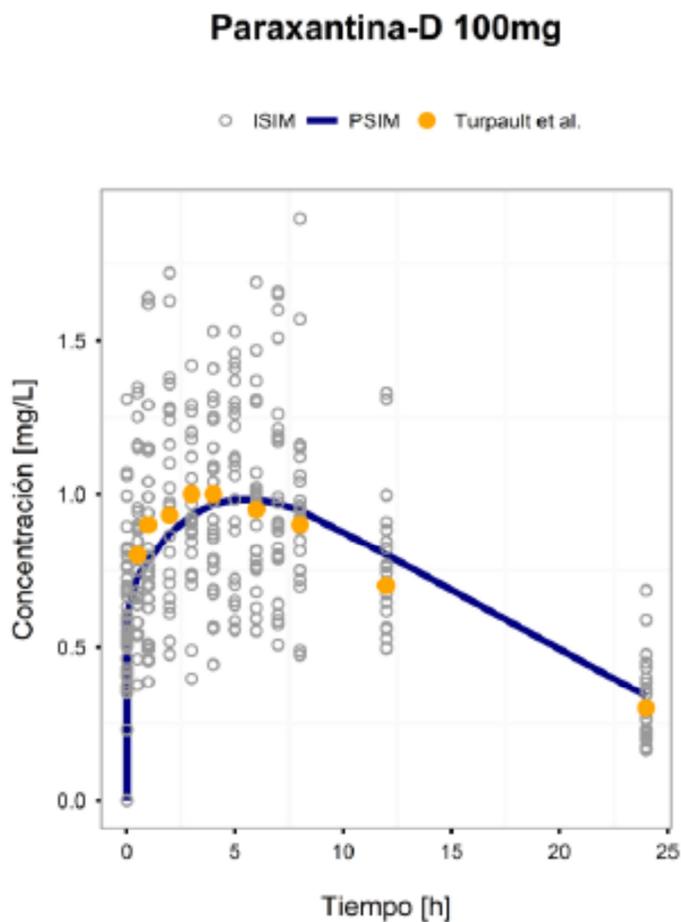


Figura 23. Concentraciones plasmáticas individuales y poblacionales (mg/L) frente a tiempo (h) de paraxantina, cuando se administra una dosis de 100mg de cafeína base. Se muestran los datos de Turpault y col. y los resultados de las simulaciones de NONMEM.

## Resultados

En la figura 24 podemos ver la curva de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína, con los resultados individuales y poblacionales obtenidos con las simulaciones y los datos medios de referencia publicados por Haller y col. (Haller y col., 2002). La dosis administrada teórica es de 175mg, aunque como se ha explicado anteriormente, la dosis real de las simulaciones ha sido de 219mg, ya que se ha tenido en cuenta la cafeína basal. Los puntos verdes representan los datos de referencia, la línea azul representa los resultados poblacionales de las simulaciones y los puntos grises representan los resultados individuales de las simulaciones.

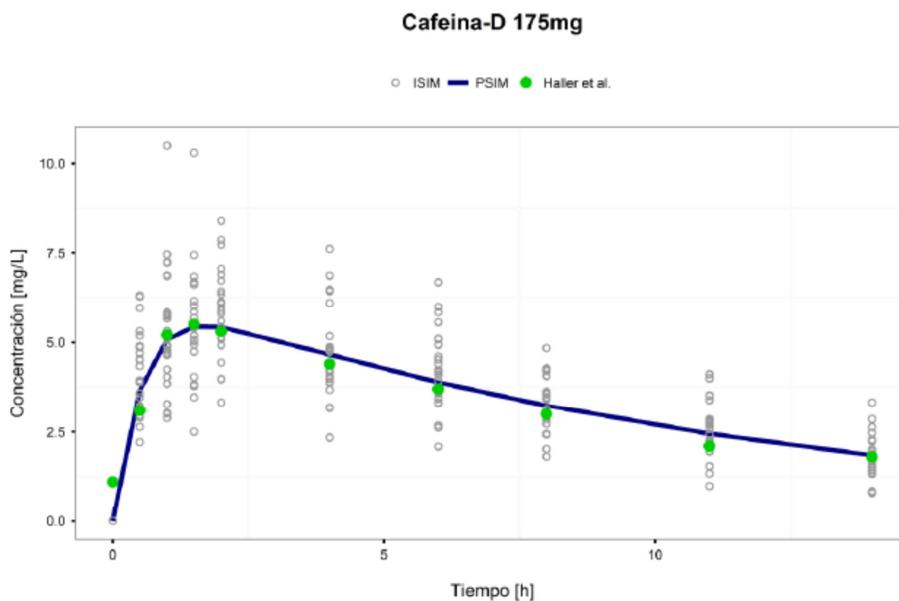


Figura 24. Concentraciones plasmáticas individuales y poblacionales (mg/L) frente a tiempo (h) de cafeína, cuando se administra una dosis de 175mg de cafeína base. Se muestran los datos de Haller y col. y los resultados de las simulaciones de NONMEM.

Las figuras 25 y 26 muestran las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína y paraxantina, respectivamente, en las que se pueden observar los resultados individuales y poblacionales obtenidos con las simulaciones y los datos medios de referencia publicados por McLean y Graham (McLean y Graham, 2002), cuando se administran 400mg de cafeína base. Los puntos de colores (azul, rojo, verde y amarillo) representan los datos de referencia, la línea azul representa los resultados poblacionales de las simulaciones y los puntos grises representan los resultados individuales de las simulaciones. Los resultados de McLean y Graham (McLean y Graham, 2002) están divididos en cuatro tipos, debido a que estos autores estudiaron el efecto del ejercicio y el estrés térmico en la farmacocinética de la cafeína en mujeres y hombres.

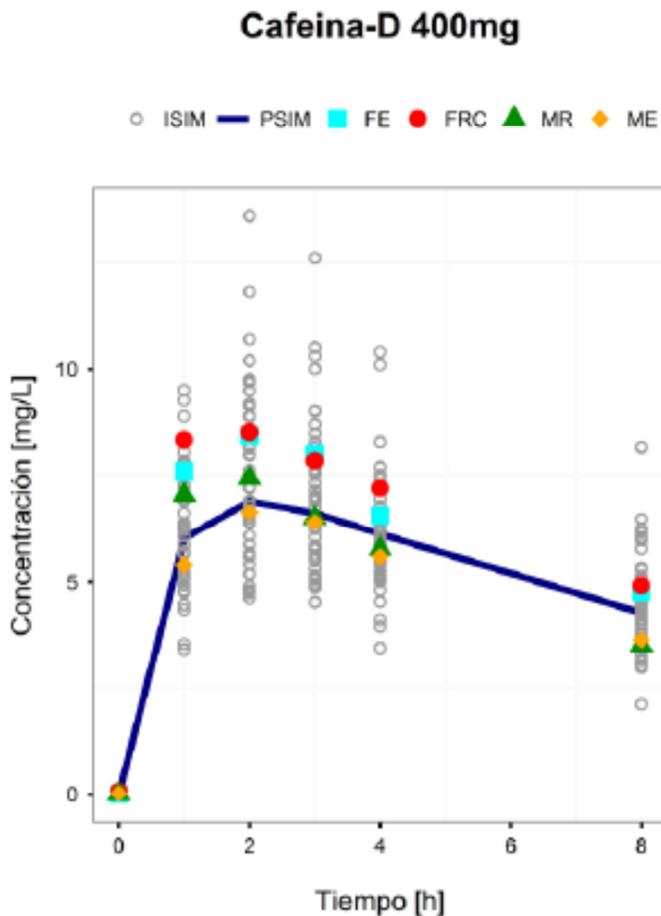


Figura 25. Concentraciones plasmáticas individuales y poblacionales (mg/L) frente a tiempo (h) de cafeína, cuando se administra una dosis de 400mg de cafeína base. Se muestran los datos de McLean y Graham y los resultados de las simulaciones de NONMEM. McLean y Graham estudiaron el efecto del ejercicio y el estrés térmico en la farmacocinética de la cafeína en mujeres y hombres. FE: mujeres en ejercicio; FRC: mujeres en reposo; MR: hombres en reposo; ME: hombres en ejercicio.

### Paraxantina-D 400mg

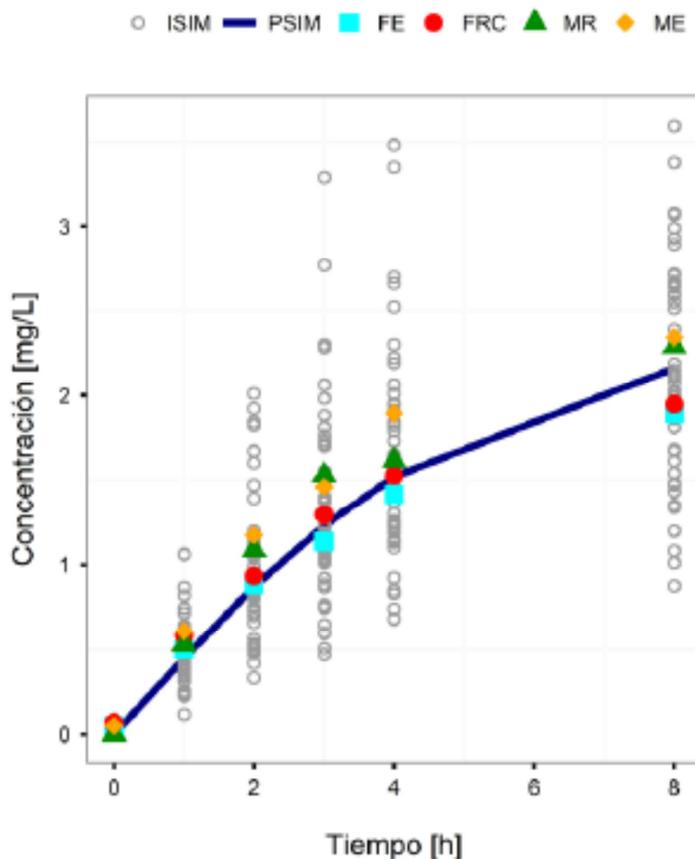


Figura 26. Concentrações plasmáticas individuais e populacionais (mg/L) frente a tempo (h) de paraxantina, quando se administra uma dose de 400mg de cafeína base. Se mostram los datos de McLean y Graham y los resultados de las simulaciones de NONMEM. McLean y Graham estudiaron el efecto del ejercicio y el estrés térmico en la farmacocinética de la cafeína en mujeres y hombres. FE: mujeres en ejercicio; FRC: mujeres en reposo; MR: hombres en reposo; ME: hombres en ejercicio.

## Resultados

Las figuras 27 y 28 muestran las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo de cafeína, cuando se administra una primera dosis de 100,6 mg de cafeína base *in bolus* intravenoso y una segunda dosis de 200mg o 250mg (dependiendo del peso del sujeto) de cafeína base en solución oral, en comparación con las curvas de Marco Garbayo (Marco Garbayo, 1999). Los datos de referencia están representados con los puntos rojos. La figura 27 muestra con puntos azules los resultados de las simulaciones realizadas con los parámetros poblacionales, mientras que la figura 28 muestra con puntos grises los resultados de las simulaciones realizadas con los parámetros individuales.

### Cafeina-Pacientes cirróticos

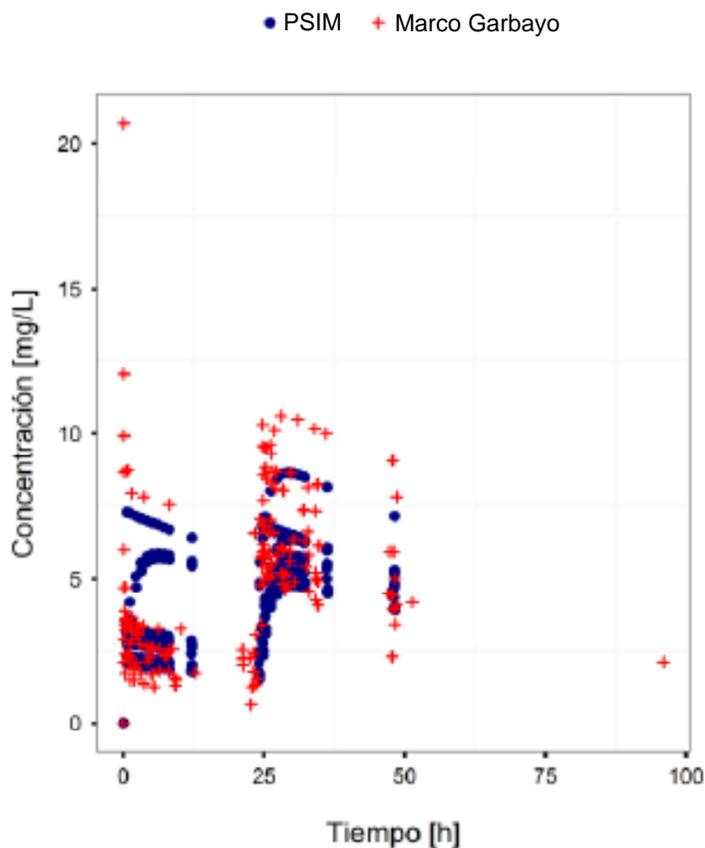


Figura 27. Concentraciones plasmáticas de simulaciones con parámetros poblacionales (mg/L) frente a tiempo (h) de cafeína, cuando se administra una primera dosis intravenosa *in bolus* de 100,6mg y una segunda dosis vía oral (a las 24 horas) de 200 o 250mg de cafeína base, en función del peso del individuo. Se muestran los datos de Marco Garbayo y los resultados de las simulaciones de NONMEM.

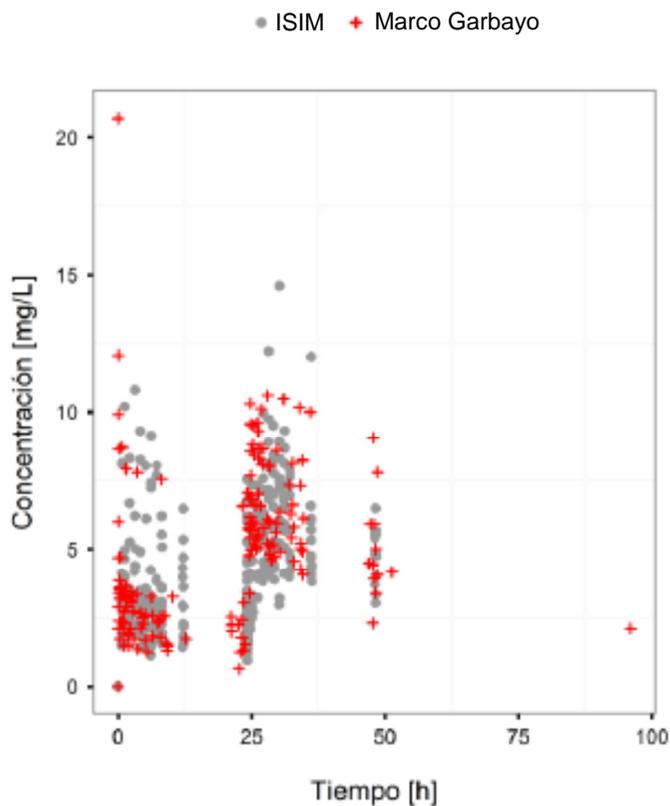
**Cafeína-Pacientes cirróticos**

Figura 28. Concentraciones plasmáticas de simulaciones con parámetros individuales (mg/L) frente a tiempo (h) de cafeína, cuando se administra una primera dosis intravenosa *in bolus* de 100,6mg y una segunda dosis vía oral (a las 24 horas) de 200 o 250mg de cafeína base, en función del peso del individuo. Se muestran los datos de Marco Garbayo y los resultados de las simulaciones de NONMEM.

## Discusión

---

Este trabajo continúa la línea de investigación de los proyectos *Biosim: computer simulation as a tool in drug development* (con código LSHB-CT-2004-005137, financiado por la Comisión Europea) y *Modelización y simulación para el diseño de nuevos medicamentos* (con código SAF-2009-12768, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación), entre cuyos objetivos se encontraba la determinación de cuál es el analito más sensible (fármaco padre o sus metabolitos) en los ensayos de bioequivalencia, para determinar la diferencia entre dos formulaciones. Esto surgió como consecuencia de la falta de

## Discusión

uniformidad de criterio que tienen las agencias regulatorias de medicamentos de la Unión Europea y Estados Unidos, EMA y FDA, en sus recomendaciones para la industria farmacéutica, a la hora de solicitar el estudio de las concentraciones de metabolito en los ensayos de bioequivalencia (EMA, 2010; FDA, 2003).

Esta cuestión fue estudiada con anterioridad por otros autores empleando también las técnicas de modelado y simulación, aunque con modelos, a nuestro juicio, muy simples y/o sobreparametrizados o con falta de sentido fisiológico (Braddy y Jackson, 2010; Chen y Jackson, 1991, 1995; Jackson, 2000; Rosenbaum, 1998; Rosenbaum y Lam, 1997; Tucker y col., 1993).

Por ello, el grupo de investigación del Profesor Dr. Casabó inició el desarrollo de modelos de simulación mediante una aproximación fisiológica para tratar de dar respuesta a la pregunta de la selección del analito más sensible. Se consideró necesario estudiar en profundidad la utilidad de medir el/los metabolito/s y el origen de este requisito regulatorio a partir de los modelos previamente publicados. Así, Fernández-Teruel y col. desarrollaron, en primer lugar, un modelo semifisiológico farmacocinético para fármacos con metabolismo únicamente hepático (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) y, posteriormente, Navarro-Fontestad y col.

desarrollaron un modelo con metabolismo hepático e intestinal (Navarro-Fontestad y col., 2010). En el trabajo actual, se ha desarrollado un modelo farmacocinético semifisiológico para fármacos con un metabolismo hepático e intestinal secuencial; es decir, que da lugar a dos metabolitos en dos generaciones.

Las herramientas empleadas para abordar esta cuestión han sido el modelado y la simulación. El procedimiento consiste en diseñar en primer lugar un modelo farmacocinético semifisiológico para, posteriormente, realizar una serie de simulaciones de estudios de bioequivalencia en el programa informático NONMEM, comparando la formulación test con la de referencia.

La diferencia entre la formulación test y la de referencia se ha establecido en base a su constante de disolución *in vivo*, ya que esta es capaz de reflejar la posible influencia de un cambio en los excipientes, en el proceso de fabricación o en la forma farmacéutica, a la hora de administrar el fármaco.

Para llevar a cabo este estudio, se ha empleado el programa informático NONMEM, puesto que es un programa validado y aceptado internacionalmente para el modelado farmacocinético poblacional. NONMEM asocia los efectos fijos del modelo matemático, con los efectos aleatorios de los modelos de variabilidad interindividual y residual. En este caso,

## Discusión

NONMEM ha permitido asociar a los parámetros medios obtenidos de la bibliografía, una variabilidad interindividual del 20% y residual del 10%, para estimar las diferentes concentraciones que se obtendrían en el caso de un ensayo de bioequivalencia real entre los distintos individuos y en las distintas ocasiones (en función de la formulación recibida, referencia o test).

El modelado poblacional se ha empleado para obtener resultados de concentraciones plasmáticas individuales en estudios de bioequivalencia simulados. No se trata del modelado poblacional habitual empleado en la práctica clínica o en los estudios previos a la autorización de un medicamento, que consiste en elegir el modelo más sencillo que describa adecuadamente el comportamiento farmacocinético a partir de unos datos experimentales, sino que se trata de un modelado semifisiológico que nos permita reproducir los procesos farmacocinéticos que sufre un fármaco en el organismo. De esta manera, se pretende simular lo que ocurriría al administrar ese fármaco, teniendo en cuenta no sólo procesos y parámetros farmacocinéticos, sino también fisiológicos. Por ello, se han estudiado fármacos suficientemente conocidos, con datos farmacocinéticos publicados, para poder diseñar un modelo semifisiológico que reproduzca los procesos LADME, y validar la capacidad del modelo para reproducir la realidad experimental.

De esta forma, si el modelo demuestra su funcionalidad podría utilizarse en el futuro para fármacos de características similares y evaluar qué ocurriría si se llevara a cabo un ensayo de bioequivalencia, con respecto a las  $C_{max}$  y AUC del fármaco padre y sus metabolitos. En última instancia, ello permitiría establecer recomendaciones razonadas sobre el analito a medir.

En relación con esto, el proceso de validación no sigue la metodología habitual empleada en farmacocinética poblacional, como son la exploración predictiva visual (VPC por sus siglas en inglés), la exploración predictiva cuantitativa (NPC por sus siglas en inglés), la simulación/estimación con reemplazo “Bootstrap” o el “log-likelihood profiling” (Trocóniz y col., 2013), ya que no se dispone de unos datos brutos que se pretenden ajustar a un modelo adecuado, sino que se dispone de un modelo semifisiológico con un esquema farmacocinético concreto, que se quiere validar. Por ello, se ha elegido la comparación visual de los datos medios experimentales encontrados en bibliografía con los datos individuales simulados obtenidos con NONMEM.

A continuación, se comentan por apartados los resultados obtenidos en los trabajos realizados en el desarrollo de esta tesis:

### **Validación del modelo del AAS**

El modelo semifisiológico propuesto pretende representar el comportamiento farmacocinético del AAS en humanos. La validación del modelo se ha desarrollado mediante la comparación gráfica de los resultados simulados obtenidos con datos experimentales publicados previamente. El AAS se ha empleado como ejemplo de un fármaco con metabolismo hepático e intestinal, con dos metabolitos formados en dos generaciones, porque es un compuesto cuya farmacocinética es muy conocida y por lo tanto se dispone de datos suficientes para evaluar el modelo. La validación del modelo se ha fundamentado en los datos extraídos de Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982). El interés de esta publicación reside en que presenta datos de parámetros farmacocinéticos y concentraciones plasmáticas tanto del AAS como del AS, para formas farmacéuticas distintas.

Observando las figuras 10 y 11 y la tabla 8 podemos decir que el modelo propuesto representa adecuadamente el comportamiento farmacocinético del AAS y el AS. Las nubes de datos simulados se sitúan alrededor de las curva de datos medios publicados por Brantmark y col. (Brantmark y col., 1982), tanto para el AAS como para el AS. Además, vemos que los resultados de AUC, Cmax y Tmax medios de las simulaciones son similares a los datos publicados por Brantmark y col.

(Brantmark y col., 1982). Las curvas no siguen exactamente el trazado de la de referencia puesto que los parámetros poblacionales empleados (tabla 2) no han sido extraídos de Brantmark y col. en su mayoría, ya que no se disponía de esta información (Brantmark y col., 1982).

La linealidad del sistema se ha estudiado con los resultados de la figura 12. Cuando AUC/dosis está dentro del margen del 20%, establecido a partir del AUC/dosis obtenido con la dosis de 100mg, podemos decir que se muestra un comportamiento lineal, ya que indica que un incremento de la dosis produce un aumento del AUC proporcional a la dosis. En el caso del AAS, este descriptor se mantiene dentro del margen a las dos  $k_D$  estudiadas ( $0,25$  y  $8h^{-1}$ ). Sin embargo, se puede observar que en el AS la tendencia es que, a medida que aumenta la dosis, aumenta la fracción AUC/dosis, llegando a superarse el margen del 20%. Esto se debe a que la eliminación del AS sigue una cinética no lineal y el sistema se satura a altas concentraciones de AS. El incremento del AUC/dosis de AS en función de la dosis es mayor cuando la  $k_D$  de la formulación es  $8h^{-1}$ , ya que esto implica un acceso más rápido del AAS al torrente sanguíneo, lo que permite una absorción completa del AAS, que lleva a alcanzar mayores AUC de AS. En el caso del analito SU, vemos una tendencia contraria a la del AS, situándose a la dosis de 3000mg y a  $k_D 8h^{-1}$  en el límite inferior

## Discusión

del 20%. Es decir, a medida que aumenta la dosis, disminuye la relación AUC/dosis del SU. Esto se debe a que la saturación de la eliminación del AS lleva a un estancamiento de la formación de SU.

Este comportamiento se confirma con las gráficas de las tasas de extracción frente al tiempo (figuras 13 y 14). Las tasas de extracción hepática y entérica se han graficado de manera que la tasa de extracción inicial a tiempo cero se considera el 100% de la tasa de extracción. Por ello, el eje de las ordenadas comprende desde el cero hasta la tasa de extracción del 100%, para poder visualizar el grado de disminución de la tasa de extracción. Así, podemos ver que las tasas de extracción del AAS apenas cambian a lo largo del tiempo, en ningún nivel de dosis estudiado. Sin embargo, las tasas de extracción del AS disminuyen notablemente, y esta disminución es mayor a medida que aumenta la dosis, debido a la saturación de los sistemas enzimáticos responsables de su metabolismo. Por lo tanto, observamos el comportamiento lineal del metabolismo del AAS y el comportamiento no lineal del metabolismo del AS.

### **Estudios de bioequivalencia del AAS**

Los estudios de bioequivalencia realizados con el modelo que muestra metabolismo hepático e intestinal y dos metabolitos

formados en dos generaciones, pretenden mostrar cuál es el analito más sensible a la disminución de la  $k_D$  de una formulación, el fármaco padre (AAS) o sus metabolitos (AS o SU).

En las figuras 15 y 16 se puede observar el efecto de la disminución de la  $k_D$  del medicamento test en los cocientes de  $C_{max}$  y AUC, respectivamente, del AAS, AS y SU, a cada dosis. Los cocientes medios de  $C_{max}$  y AUC muestran las diferencias entre formulaciones con distinta  $k_D$ . Los datos medios de  $C_{max}$  y AUC, de los que se han obtenido los cocientes para cada dosis, cada analito y cada  $k_D$ , se encuentran plasmados en las tablas 10 a 15. Si se comparan las figuras 15 y 16, se puede ver que los cocientes de  $C_{max}$  son más sensibles a las diferencias en la  $k_D$  que los cocientes de AUC, ya que la  $k_D$  afecta directamente a la velocidad de absorción y, en consecuencia, a la  $C_{max}$ . En la figura 15 se observa que el AAS (fármaco padre) es el analito más sensible para la  $C_{max}$ , ya que es el primer analito que muestra una gran disminución en la  $C_{max}$  cuando disminuye la  $k_D$ . En la figura 16 se observa que el AAS es también el primer analito que muestra una disminución en el AUC, cuando la  $k_D$  disminuye, aunque esta disminución no es muy pronunciada. En la figura 16 también se puede observar que a dosis de 1000 y 3000mg y  $k_D$  de la formulación test de  $0,25h^{-1}$ , el cociente de AUC del AS es algo inferior al cociente de

## Discusión

AUC del AAS, pero no tiene relevancia dado que es una diferencia mínima, que además no ocurre con el cociente de  $C_{max}$ .

En relación con estos resultados, se han representado las curvas de concentraciones plasmáticas-tiempo poblacionales (figuras 17, 18 y 19), para poder observar la evolución de las mismas, a medida que disminuye la  $k_D$ , para cada dosis de AAS administrada. Los datos empleados para dibujar estas curvas, son los resultados obtenidos en simulaciones de NONMEM en las que se ha fijado a cero la varianza de la variabilidad interindividual, interocasión y residual. Es decir, las simulaciones realizadas para obtener estas curvas se han realizado con los parámetros farmacocinéticos de la tabla 2 para obtener los resultados de un individuo medio de la población. Así, se puede observar con claridad cómo la disminución de la  $k_D$  lleva a una disminución de las concentraciones plasmáticas del AAS, AS y SU. Consecuencia de la disminución de las concentraciones plasmáticas, son los resultados de las tablas 10 a 15 y de las figuras 15 y 16 aunque, en este caso, se trata de las  $C_{max}$  y AUC medias y sus cocientes obtenidos en los estudios de bioequivalencia, en los que sí se ha aplicado la variabilidad interindividual, interocasión y residual.

Los resultados de los estudios de bioequivalencia dependen de los cocientes de  $C_{max}$  y AUC. Cuando estos

cocientes están fuera del intervalo del 80,00-125,00%, el porcentaje de estudios que declaran la bioequivalencia entre las formulaciones es inferior al 5% (figuras 20 y 21). Esto significa que la probabilidad de que un estudio establezca que existe bioequivalencia entre dos formulaciones, cuando las formulaciones en realidad no son bioequivalentes, es inferior al 5% (este sería el riesgo que asumen las agencias regulatorias).

### **Validación del modelo de la cafeína**

El modelo semifisiológico propuesto pretende representar el comportamiento farmacocinético la cafeína en humanos, tanto en sujetos sanos, como en pacientes cirróticos. Este modelo fue empleado por Fernández-Teruel y col. para desarrollar un ejercicio de simulación de estudios de bioequivalencia (Fernández-Teruel y col., 2009a; Fernández-Teruel y col., 2009b) en el que se concluyó que el fármaco padre era el mejor analito a la hora de detectar cambios en la calidad farmacéutica de una formulación.

La validación del modelo se ha desarrollado mediante la comparación gráfica de los resultados simulados obtenidos con datos experimentales publicados previamente. La cafeína se ha empleado como ejemplo de un fármaco con metabolismo exclusivamente hepático, ya que existía suficiente información

## Discusión

bibliográfica que permitiera la evaluación de la capacidad predictiva del modelo. La validación se ha basado en los datos extraídos de Turpault y col., McLean y Graham, Haller y col. y Marco Garbayo (Haller y col., 2002; Marco Garbayo, 1999; McLean y Graham, 2002; Turpault y col., 2009). Los tres primeros artículos se han elegido porque presentan concentraciones plasmáticas de cafeína y paraxantina en sujetos sanos (a excepción de Haller y col., que sólo muestra concentraciones de cafeína), a tres niveles de dosis de cafeína. El cuarto trabajo se ha elegido porque muestra concentraciones plasmáticas de cafeína en pacientes cirróticos; esto nos ha permitido evaluar la capacidad del modelo para reflejar una disminución de la función hepática.

Los datos de sujetos sanos encontrados en la bibliografía, son datos medios de concentraciones plasmáticas-tiempo, no datos individuales en una nube de puntos. Por ello, los datos experimentales de las figuras 22 a 26 son datos medios. Sin embargo, los datos experimentales de los pacientes cirróticos sí son datos individuales, por lo que se muestran en forma de una nube de puntos, tal y como se puede observar en las figuras 27 y 28.

Las figuras 25 y 26 muestran cuatro tipos de datos experimentales, debido a que la publicación original (McLean y

Graham, 2002) estudiaba cuatro grupos diferenciados que eran objeto de comparación (hombres y mujeres tras realizar ejercicio y en descanso).

Tanto los datos de cafeína como los de paraxantina son interesantes en la validación, para poder evaluar todo el proceso farmacocinético. Las curvas experimentales de paraxantina no estaban reflejadas para la dosis de 175mg (Haller y col., 2002) ni para los pacientes cirróticos (Marco Garbayo, 1999). Por ello, la comparación de los datos de paraxantina no se ha podido realizar en esas condiciones.

En las figuras 22 a 28 se puede observar el correcto ajuste de los datos simulados a los datos experimentales de referencia, cuando se superponen las curvas. Los datos poblacionales de concentraciones plasmáticas-tiempo son prácticamente los mismos en las simulaciones y en los datos experimentales. Los datos individuales simulados son heterogéneos y se mantienen alrededor de los datos poblacionales. El modelo describe los datos experimentales de la cafeína y paraxantina, en su caso, en todo el rango de dosis estudiado, tanto en sujetos sanos, como en pacientes cirróticos. Por ello, el modelo se considera validado para sustancias con un metabolismo únicamente hepático que da lugar a un único metabolito principal.



## Conclusiones

---

A la vista de los resultados obtenidos en los estudios realizados en esta tesis doctoral, se establecen las siguientes conclusiones:

1. El modelo semifisiológico propuesto para el AAS permite reproducir de forma satisfactoria el proceso LADME del AAS, cuando este se administra por vía oral, tanto en una forma farmacéutica convencional como en una forma farmacéutica de liberación modificada.

## Conclusiones

2. El compuesto padre (AAS) es más sensible que sus principales metabolitos (AS y SU) a los cambios en el comportamiento farmacéutico de las formulaciones, cuando estos cambios implican una modificación en la  $k_D$ . Esto apoya las recomendaciones generales de la EMA y FDA, que establecen que la bioequivalencia debe basarse en las concentraciones de fármaco padre. Sin embargo, esta conclusión no apoya la recomendación específica de la FDA, que solicita la medición del metabolito y del fármaco padre, cuando el metabolito se forma como consecuencia de un metabolismo presistémico y este contribuye de forma significativa en la eficacia. A la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, podemos decir que los datos del metabolito no aportarían ninguna evidencia adicional de bioequivalencia.
3. El modelo semifisiológico propuesto para la cafeína permite reproducir de forma satisfactoria el proceso LADME de esta sustancia, tanto en sujetos sanos como en pacientes cirróticos.
4. Los modelos propuestos para el AAS y la cafeína se podrían emplear para realizar simulaciones de concentraciones plasmáticas frente a tiempo de fármacos con un esquema farmacocinético similar al de estas sustancias, siempre que

se conozcan los parámetros farmacocinéticos poblacionales. Esto tiene su aplicación para la simulación de estudios de bioequivalencia, en el caso de que, por ejemplo, se quieran prever los resultados que se obtendrían en un ensayo en el que se comparen dos formulaciones.



## **Bibliografía**

---

Amdipharm Limited, 2009. Ficha técnica Cafegot 1 mg/100 mg comprimidos. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Anotaciones Farmacéuticas, S.L., 2007. Ficha técnica Durvitan 300 mg cápsulas. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Bayer Hispania, S.L., 2013a. Ficha técnica Actron compuesto comprimidos efervescentes. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Bayer Hispania, S.L., 2013b. Ficha técnica Aspirina 500 mg comprimidos. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

## Bibliografía

Bayer Hispania, S.L., 2013c. Ficha técnica Saldeva Forte comprimidos. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Begas, E., Kouvaras, E., Tsakalof, A., Papakosta, S., Asproдини, E.K., 2007. In vivo evaluation of CYP1A2, CYP2A6, NAT-2 and xanthine oxidase activities in a Greek population sample by the RP-HPLC monitoring of caffeine metabolic ratios. *Biomed Chromatogr* 21, 190-200.

Braddy, A.C., Jackson, A.J., 2010. Role of metabolites for drugs that undergo nonlinear first-pass effect: impact on bioequivalency assessment using single-dose simulations. *Journal of pharmaceutical sciences* 99, 515-523.

Bradley, S.E., Ingelfinger, F.J., Bradley, G.P., 1952. Hepatic circulation in cirrhosis of the liver. *Circulation* 5, 419-429.

Bradley, S.E., Ingelfinger, F.J., et al., 1945. The estimation of hepatic blood flow in man. *J Clin Invest* 24, 890-897.

Brantmark, B., Wahlin-Boll, E., Melander, A., 1982. Bioavailability of acetylsalicylic acid and salicylic acid from rapid- and slow-release formulations, and in combination with dipyridamol. *Eur J Clin Pharmacol* 22, 309-314.

Carlisle, K.M., Halliwell, M., Read, A.E., Wells, P.N., 1992. Estimation of total hepatic blood flow by duplex ultrasound. *Gut* 33, 92-97.

Chen, M.L., Jackson, A.J., 1991. The role of metabolites in bioequivalency assessment. I. Linear pharmacokinetics without first-pass effect. *Pharm Res* 8, 25-32.

Chen, M.L., Jackson, A.J., 1995. The role of metabolites in bioequivalency assessment. II. Drugs with linear pharmacokinetics and first-pass effect. *Pharm Res* 12, 700-708.

Chiesi Farmaceutici, S.p.A., 2015. Ficha técnica Peyona 20 mg/ml solución para perfusión y solución oral. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Colado, M.I., Alguacil, L.F., 2008. Drogas de abuso, en: Velazquez (Ed.), *Farmacología básica y clínica*, 18 ed. Editorial médica panamericana, Buenos Aires, pp. 335-353.

el-Tahtawy, A.A., Jackson, A.J., Ludden, T.M., 1994. Comparison of single and multiple dose pharmacokinetics using clinical bioequivalence data and Monte Carlo simulations. *Pharm Res* 11, 1330-1336.

el-Tahtawy, A.A., Jackson, A.J., Ludden, T.M., 1995. Evaluation of bioequivalence of highly variable drugs using Monte Carlo simulations. I. Estimation of rate of absorption for single and multiple dose trials using  $C_{max}$ . *Pharm Res* 12, 1634-1641.

el-Tahtawy, A.A., Tozer, T.N., Harrison, F., Lesko, L., Williams, R., 1998. Evaluation of bioequivalence of highly variable drugs using clinical trial simulations. II: Comparison of single and multiple-dose trials using AUC and  $C_{max}$ . *Pharm Res* 15, 98-104.

## Bibliografía

EMA, 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).

EMA, 2001. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP).

EMA, 2003. Points to consider on the clinical requirements of modified release products submitted as a line extension of an existing marketing authorisation. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP).

FDA, 2001. Guidance for industry. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. Center for Drug Evaluation and Research (CDER).

FDA, 2003. Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products - General considerations. Center for Drug Evaluation and Research (CDER).

Fernández-Teruel, C., González-Álvarez, I., Navarro-Fontestad, C., García-Arieta, A., Bermejo, M., Casabó, V.G., 2009a. Computer simulations of bioequivalence trials: selection of design and analyte in BCS drugs with first-pass hepatic metabolism: Part II. Non-linear kinetics. *Eur J Pharm Sci* 36, 147-156.

Fernández-Teruel, C., Nalda Molina, R., González-Álvarez, I., Navarro-Fontestad, C., García-Arieta, A., Casabó, V.G., Bermejo, M., 2009b. Computer simulations of bioequivalence trials: selection of design and analyte in BCS drugs with first-pass hepatic metabolism: linear kinetics (I). *Eur J Pharm Sci* 36, 137-146.

Fisher, D., Shafer, S., 2006. Fisher/Shafer NONMEM Workshop. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis with NONMEM. Basic Concepts.

Fredholm, B., 2010. Pharmacokinetics and Metabolism of Natural Methylxantines in Animal and Man, in: Fredholm, B. (Ed.), *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2010/12/18 ed. Springer, pp. 33-92.

González-Álvarez, I., Fernández-Teruel, C., Garrigues, T.M., Casabó, V.G., Ruiz-García, A., Bermejo, M., 2005. Kinetic modelling of passive transport and active efflux of a fluoroquinolone across Caco-2 cells using a compartmental approach in NONMEM. *Xenobiotica* 35, 1067-1088.

Ha, H.R., Chen, J., Krahenbuhl, S., Follath, F., 1996. Biotransformation of caffeine by cDNA-expressed human cytochromes P-450. *Eur J Clin Pharmacol* 49, 309-315.

Haller, C.A., Jacob, P., 3rd, Benowitz, N.L., 2002. Pharmacology of ephedra alkaloids and caffeine after single-dose dietary supplement use. *Clin Pharmacol Ther* 71, 421-432.

## Bibliografia

Heinemann, A., Wischhusen, F., Puschel, K., Rogiers, X., 1999. Standard liver volume in the Caucasian population. *Liver Transpl Surg* 5, 366-368.

Jackson, A.J., 1987. Prediction of steady-state bioequivalence relationships using single dose data I-linear kinetics. *Biopharm Drug Dispos* 8, 483-496.

Jackson, A.J., 1989. Prediction of steady state bioequivalence relationships using single dose data II-nonlinear kinetics. *Biopharm Drug Dispos* 10, 489-503.

Jackson, A.J., 2000. The role of metabolites in bioequivalency assessment. III. Highly variable drugs with linear kinetics and first-pass effect. *Pharm Res* 17, 1432-1436.

Kot, M., Daniel, W.A., 2008. Caffeine as a marker substrate for testing cytochrome P450 activity in human and rat. *Pharmacol Rep* 60, 789-797.

Kuehl, G.E., Bigler, J., Potter, J.D., Lampe, J.W., 2006. Glucuronidation of the aspirin metabolite salicylic acid by expressed UDP-glucuronosyltransferases and human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 34, 199-202.

Labauve, J.P., 1988. *Pharmacocinétique, Principes fondamentaux*. Masson, Paris.

Lares-Asseff, I., Juarez-Olguin, H., Flores-Perez, J., Guille-Perez, A., Vargas, A., 2004. Pharmacokinetics and metabolic rates of acetyl salicylic acid and its metabolites in an Otomi ethnic group of Mexico. *Biol Pharm Bull* 27, 706-709.

Lausanne, U., 2009. Aspirin pharmacokinetics. <http://sepia.unil.ch/pharmacology/index.php?id=83>.

Leza, J.C., Lizasoain, I., 2008. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos y otros analgésicos-antipiréticos, en: Velazquez (Ed.), *Farmacología básica y clínica*, 18 ed. Editorial médica panamericana, Buenos Aires, pp. 513-536.

Marco Garbayo, J.L., 1999. Farmacocinética de la cafeína en pacientes cirróticos y correlación con parámetros clínicos y bioquímicos de disfunción hepática, *Farmacia y tecnología farmacéutica*. Universidad de Valencia, Valencia.

McLean, C., Graham, T.E., 2002. Effects of exercise and thermal stress on caffeine pharmacokinetics in men and eumenorrheic women. *J Appl Physiol* (1985) 93, 1471-1478.

Merck and Co., I., 2006. *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. O'Neil, M.J., Whitehouse Station, NJ.

Miners, J.O., Grgurinovich, N., Whitehead, A.G., Robson, R.A., Birkett, D.J., 1986. Influence of gender and oral contraceptive steroids on the metabolism of salicylic acid and acetylsalicylic acid. *Br J Clin Pharmacol* 22, 135-142.

## Bibliografía

Moreno, A.H., Burchell, A.R., Rousselot, L.M., Panke, W.F., Slafsky, F., Burke, J.H., 1967. Portal blood flow in cirrhosis of the liver. *J Clin Invest* 46, 436-445.

Mosteller, R.D., 1987. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med* 317, 1098.

Mudie, D.M., Amidon, G.L., Amidon, G.E., 2010. Physiological parameters for oral delivery and in vitro testing. *Mol Pharm* 7, 1388-1405.

Musteata, F.M., Pawliszyn, J., Qian, M.G., Wu, J.T., Miwa, G.T., 2006. Determination of drug plasma protein binding by solid phase microextraction. *J Pharm Sci* 95, 1712-1722.

Navarro-Fontestad, C., González-Álvarez, I., Fernández-Teruel, C., García-Arieta, A., Bermejo, M., Casabó, V.G., 2010. Computer simulations for bioequivalence trials: selection of analyte in BCS drugs with first-pass metabolism and two metabolic pathways. *Eur J Pharm Sci* 41, 716-728.

Navarro, S.L., Saracino, M.R., Makar, K.W., Thomas, S.S., Li, L., Zheng, Y., Levy, L., Schwarz, Y., Bigler, J., Potter, J.D., Lampe, J.W., 2011. Determinants of aspirin metabolism in healthy men and women: effects of dietary inducers of UDP-glucuronosyltransferases. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 4, 110-118.

Needs, C.J., Brooks, P.M., 1985. Clinical pharmacokinetics of the salicylates. *Clin Pharmacokinet* 10, 164-177.

Novartis Consumers Health, S.A., 2009. Ficha técnica Excedite 250 mg / 250 mg / 65 mg comprimidos recubiertos con película. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Owen, S.G., Roberts, M.S., Friesen, W.T., Francis, H.W., 1989. Salicylate pharmacokinetics in patients with rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol* 28, 449-461.

Ritschel, W.A., Kearns, G.L., 2004. Handbook of basic pharmacokinetics- including clinical applications. APhA, Washington D.C.

Rosenbaum, S.E., 1998. Effects of variability in hepatic clearance on the bioequivalence parameters of a drug and its metabolite: simulations using a pharmacostatistical model. *Pharm Acta Helv* 73, 135-144.

Rosenbaum, S.E., Lam, J., 1997. Bioequivalence Parameters of Parent Drug and Its First-Pass Metabolite: Comparative Sensitivity to Sources of Pharmacokinetic Variability. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 23, 337-344.

Ruiz-García, A., Bermejo, M., Moss, A., Casabó, V.G., 2008. Pharmacokinetics in drug discovery. *Journal of pharmaceutical sciences* 97, 654-690.

Summerbell, J., 1992. Plasma aspirin esterase and associated plasma esterases in old age and frailty, *Clinical pharmacology*. University of Newcastle Upon Tyne, Newcastle Upon Tyne.

## Bibliografía

Trocóniz, I.F., Cendrós-Carreras, J.M., Colom-Codina, H., 2013. Farmacocinetica poblacional, en: Doménech-Berrozpe, J., Martínez-Lanao, J., Peraire-Guitart, C. (Eds.), Tratado General de Biofarmacia y Farmacocinetica. Síntesis, Madrid, pp. 319-363.

Tucker, G.T., Rostami-Hodjegan, A., Jackson, P.R., 1993. Metabolite measurement in bioequivalence studies: Theoretical considerations, in: Midha, K.K., Blume, H.H. (Eds.), Bio-International : bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetics : International Conference of F.I.P. Bio-International 92, held in Bad Homburg, Germany, may 20-22, 1992. Medpharm, Stuttgart, pp. 163-170.

Turpault, S., Brian, W., Van Horn, R., Santoni, A., Poitiers, F., Donazzolo, Y., Boulenc, X., 2009. Pharmacokinetic assessment of a five-probe cocktail for CYPs 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 and 3A. Br J Clin Pharmacol 68, 928-935.

Uriach-Aquilea OTC, S.L., 2013. Ficha técnica Biodramina Cafeina comprimidos recubiertos. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es).

Zha, J., Endrenyi, L., 1997. Variation of the peak concentration following single and repeated drug administrations in investigations of bioavailability and bioequivalence. J Biopharm Stat 7, 191-204.

## Anexos

---

### Anexo I: Archivo de datos AAS. Dosis 1000mg, $k_D$ test $0,25h^{-1}$

Archivo de datos para simular con NONMEM:

- 200 ensayos de bioequivalencia
- Dosis 1000mg de AAS (5,56mmoles);  $k_D$  test=  $0,25h^{-1}$ .

Se presentan los datos del individuo 1 (ID 1). El archivo real contiene los datos de los 24 individuos.

#ID	TIME	AMT	CONC=DV	MDV	CMT	FF	EVID	SEQ
1	0	5.56	.	1	6	0	1	1
1	0	.	.	0	1	0	0	1
1	0.25	.	.	0	1	0	0	1
1	0.5	.	.	0	1	0	0	1
1	1	.	.	0	1	0	0	1
1	2	.	.	0	1	0	0	1
1	3	.	.	0	1	0	0	1
1	4	.	.	0	1	0	0	1
1	6	.	.	0	1	0	0	1
1	8	.	.	0	1	0	0	1
1	12	.	.	0	1	0	0	1
1	24	.	.	0	1	0	0	1
1	48	.	.	0	1	0	0	1
1	0	5.56	.	1	6	1	4	1
1	0	.	.	0	1	1	0	1
1	0.25	.	.	0	1	1	0	1
1	0.5	.	.	0	1	1	0	1
1	1	.	.	0	1	1	0	1
1	2	.	.	0	1	1	0	1
1	3	.	.	0	1	1	0	1
1	4	.	.	0	1	1	0	1
1	6	.	.	0	1	1	0	1
1	8	.	.	0	1	1	0	1
1	12	.	.	0	1	1	0	1
1	24	.	.	0	1	1	0	1
1	48	.	.	0	1	1	0	1

**Anexo II: Archivo control AAS. Dosis 1000mg,  $k_D$  test 0,25h<sup>-1</sup>**

Archivo control para simular con NONMEM:

- 200 ensayos de bioequivalencia
- Dosis 1000mg de AAS (5,56mmoles);  $k_D$  test= 0,25h<sup>-1</sup>.

Todo lo escrito después de “ ; “ no es leído por el sistema. Son notas aclaratorias.

```
$PROB ASA06B; DOSIS=5.56MMOL KDT=0.25 200SUBPROBCON VARIAB
$INPUT ID TIME AMT CONC=DV MDV CMT FF EVID SEQ
$DATA ASA1.PRN; DOSIS=5.56MMOL con calculo de AUC y CMAX
$SUBROUTINES ADVAN9 TOL=4
```

```
$MODEL
```

```
,*****PADRE: AAS*****
```

```
COMP=CENTRAL;1
```

```
COMP=PERIF;2
```

```
COMP=HIGADO;3
```

```
COMP=ENTERO;4
```

```
COMP=LUMEN;5
```

```
COMP=SOLIDO;6
```

```
,*****M1G: AS*****
```

```
COMP=CENTRM1G;7
```

```
COMP=PERIFM1G;8
```

```
COMP=HIGM1G;9
```

```
COMP=ENTM1G;10
```

```
,*****M2G: SU Y SPG*****
```

```
COMP=CENTRM2G;11
```

```
,*****DUMMY*****
```

```
COMP=DUMMY;12
```

```
COMP=EXCRAAS;13
```

```
COMP=EXCRAS;14
```

```
COMP=EXCRSU;15
```

```
$PK
;THETA(1)=K12
;THETA(2)=K21

;THETA(3)=QH(FLUJO HEP)
;THETA(6)=QE(FLUJO ENT)

,*****METB PADRE A M1G*****
;THETA(4)=KMH
;THETA(5)=CLOIH
;THETA(7)=KME
;THETA(8)=CLOIE
;THETA(9)=KAN
;THETA(10)=KDR
;THETA(11)=KDT

,*****METB M1G A M2G*****
;THETA(12)=KMHM
;THETA(13)=CLOIHM
;THETA(14)=KMEM
;THETA(15)=CLOIEM

;THETA(16)=K78
;THETA(17)=K87
;THETA(18)=CLR (CL RENAL PADRE)
;THETA(19)=V1
;THETA(20)=V2
;THETA(21)=V3
;THETA(22)=V4
;THETA(23)=V7
;THETA(24)=V8
;THETA(25)=V9
;THETA(26)=V10
;THETA(27)=V11
;THETA(28)=TUA
;THETA(29)=H
```

## Anexos

;THETA(30)=CLRM1G (CL RENAL M1G)

;THETA(31)=KELM2G

K12=THETA(1)\*EXP(ETA(1)+ETA(30)\*(1-FF)-ETA(30)\*FF)

K21=THETA(2)\*EXP(ETA(2)+ETA(31)\*(1-FF)-ETA(31)\*FF)

QH=THETA(3)\*EXP(ETA(3)+ETA(32)\*(1-FF)-ETA(32)\*FF)

KMH=THETA(4)\*EXP(ETA(4)+ETA(33)\*(1-FF)-ETA(33)\*FF)

CLOIH=THETA(5)\*EXP(ETA(5)+ETA(34)\*(1-FF)-ETA(34)\*FF)

QE=THETA(6)\*EXP(ETA(6)+ETA(35)\*(1-FF)-ETA(35)\*FF)

KME=THETA(7)\*EXP(ETA(7)+ETA(36)\*(1-FF)-ETA(36)\*FF)

CLOIE=THETA(8)\*EXP(ETA(8)+ETA(37)\*(1-FF)-ETA(37)\*FF)

KAN=THETA(9)\*EXP(ETA(9)+ETA(38)\*(1-FF)-ETA(38)\*FF)

KDR=THETA(10)\*EXP(ETA(10)+ETA(39)\*(1-FF)-ETA(39)\*FF)

KDT=THETA(11)\*EXP(ETA(11)+ETA(40)\*(1-FF)-ETA(40)\*FF)

KMHM=THETA(12)\*EXP(ETA(12)+ETA(41)\*(1-FF)-ETA(41)\*FF)

CLOIHM=THETA(13)\*EXP(ETA(13)+ETA(42)\*(1-FF)-ETA(42)\*FF)

KMEM=THETA(14)\*EXP(ETA(14)+ETA(43)\*(1-FF)-ETA(43)\*FF)

CLOIEM=THETA(15)\*EXP(ETA(15)+ETA(44)\*(1-FF)-ETA(44)\*FF)

K78=THETA(16)\*EXP(ETA(16)+ETA(45)\*(1-FF)-ETA(45)\*FF)

K87=THETA(17)\*EXP(ETA(17)+ETA(46)\*(1-FF)-ETA(46)\*FF)

CLR=THETA(18)\*EXP(ETA(18)+ETA(47)\*(1-FF)-ETA(47)\*FF)

V1=THETA(19)\*EXP(ETA(19)+ETA(48)\*(1-FF)-ETA(48)\*FF)

V2=THETA(20)\*EXP(ETA(20)+ETA(49)\*(1-FF)-ETA(49)\*FF)

V3=THETA(21)\*EXP(ETA(21)+ETA(50)\*(1-FF)-ETA(50)\*FF)

V4=THETA(22)\*EXP(ETA(22)+ETA(51)\*(1-FF)-ETA(51)\*FF)

V7=THETA(23)\*EXP(ETA(23)+ETA(52)\*(1-FF)-ETA(52)\*FF)

V8=THETA(24)\*EXP(ETA(24)+ETA(53)\*(1-FF)-ETA(53)\*FF)

V9=THETA(25)\*EXP(ETA(25)+ETA(54)\*(1-FF)-ETA(54)\*FF)

V10=THETA(26)\*EXP(ETA(26)+ETA(55)\*(1-FF)-ETA(55)\*FF)

V11=THETA(27)\*EXP(ETA(27)+ETA(56)\*(1-FF)-ETA(56)\*FF)

TUA=THETA(28)\*EXP(ETA(28)+ETA(57)\*(1-FF)-ETA(57)\*FF)

H=THETA(29)\*EXP(ETA(29)+ETA(58)\*(1-FF)-ETA(58)\*FF)

CLRM1G=THETA(30)\*EXP(ETA(59)+ETA(60)\*(1-FF)-ETA(60)\*FF)

KELM2G=THETA(31)\*EXP(ETA(61)+ETA(62)\*(1-FF)-ETA(62)\*FF)

S1=V1

KD=KDR\*(1-FF)+KDT\*FF

KEL=CLR/V1  
KELM1G=CLRM1G/V7

## \$THETA

(0,0,0);TH1K12  
(0,0,0);TH2K21  
(1.8,18,180);TH3QH  
(0.45,4.5,45);TH4KMH  
(4.83,48.3,483);TH5CLOIH  
(7.2,72,720);TH6QE  
(0.45,4.5,45);TH7KME  
(2.07,20.7,207);TH8CLOIE  
(0.7,7,70);TH9KAN  
(0.8,8,80);TH10KDR  
(0.025,0.25,2.5);TH11KDT  
(0.045,0.45,4.5);TH12KMHM  
(0.126,1.26,12.6);TH13CLOIHM  
(0.045,0.45,4.5);TH14KMEM  
(0.054,0.54,5.4);TH15CLOIEM  
(0,0,0);TH16K78  
(0,0,0);TH17K87  
(0.0105,0.105,1.05);TH18CLR  
(1.6,16,160);TH19V1CENTR  
(1,1,1);TH20V2PERIF  
(0.11,1.1,11);TH21V3HIG  
(0.18,1.8,18);TH22V4ENT  
(0.8,8,80);TH23V7CENTRM1G  
(1,1,1);TH24V8PERIFM1G  
(0.11,1.1,11);TH25V9HIGM1G  
(0.18,1.8,18);TH26V10ENTM1G  
(0.7,7,70);TH27V11CENTRM2G  
(0.35,3.5,35);TH28TUA  
(2,20,200);TH29H  
(0.021,0.21,2.1);TH30CLRM1G  
(0.014,0.14,1.4);TH31KELM2G

## \$OMEGA

## Anexos

0.04;ETA1K12  
0.04;ETA2K21  
0.04;ETA3QH  
0.04;ETA4KMH  
0.04;ETA5CLOIH  
0.04;ETA6QE  
0.04;ETA7KME  
0.04;ETA8CLOIE  
0.04;ETA9KAN  
0.04;ETA10KDR  
0.04;ETA11KDT  
0.04;ETA12KMHM  
0.04;ETA13CLOIHM  
0.04;ETA14KMEM  
0.04;ETA15CLOIEM  
0.04;ETA16K78  
0.04;ETA17K87  
0.04;ETA18CLR  
0.04;ETA19V1CENTR  
0.04;ETA20V2PERIF  
0.04;ETA21V3HIG  
0.04;ETA22V4ENT  
0.04;ETA23V7CENTRM1G  
0.04;ETA24V8PERIFM1G  
0.04;ETA25V9HIGM1G  
0.04;ETA26V10ENTM1G  
0.04;ETA27V11CENTR2G  
0.04;ETA28TUA  
0.04;ETA29H  
0.01;ETA30K12  
0.01;ETA31K21  
0.01;ETA32QH  
0.01;ETA33KMH  
0.01;ETA34CLOIH  
0.01;ETA35QE  
0.01;ETA36KME  
0.01;ETA37CLOIE

0.01;ETA38KA  
0.01;ETA39KDR  
0.01;ETA40KDT  
0.01;ETA41KMHM  
0.01;ETA42CLOIHM  
0.01;ETA43KMEM  
0.01;ETA44CLOIEM  
0.01;ETA45K78  
0.01;ETA46K87  
0.01;ETA47CLR  
0.01;ETA48V1CENTR  
0.01;ETA49V2PERIF  
0.01;ETA50V3HIG  
0.01;ETA51V4ENT  
0.01;ETA52V7CENTRM1G  
0.01;ETA53V8PERIFM1G  
0.01;ETA54V9HIGM1G  
0.01;ETA55V10ENTM1G  
0.01;ETA56V11CENTR2G  
0.01;ETA57TUA  
0.01;ETA58H  
0.04;ETA59CLRM1G  
0.01;ETA60CLRM1G  
0.04;ETA61KELM2G  
0.01;ETA62KELM2G

\$DES

,\*\*\*\*\*CONC PADRE\*\*\*\*\*

C1=A(1)/V1

C2=A(2)/V2

C3=A(3)/V3

C4=A(4)/V4

,\*\*\*\*\*CONC M1G\*\*\*\*\*

C7=A(7)/V7

C8=A(8)/V8

C9=A(9)/V9

## Anexos

$$C10=A(10)/V10$$

.\*\*\*\*\*CONC M2G\*\*\*\*\*

$$C11=A(11)/V11$$

.\*\*\*\*METB PADRE A M1G\*\*\*\*

$$CLCIH=CLOIH*KMH/(KMH+C3)$$

$$EH=CLCIH/(QH+QE+CLCIH)$$

$$CLCIE=CLOIE*KME/(KME+C4)$$

$$EE=CLCIE/(QE+CLCIE)$$

.\*\*\*\*\*METB M1G A M2G\*\*\*\*\*

$$CLCIHM=CLOIHM*KMHM/(KMHM+C9)$$

$$EHM=CLCIHM/(QH+QE+CLCIHM)$$

$$CLCIEM=CLOIEM*KMEM/(KMEM+C10)$$

$$EEM=CLCIEM/(QE+CLCIEM)$$

.\*\*\*\*\*CTE ABSORCIÓN\*\*\*\*\*

$$KA=KAN*(1-T**H/(TUA**H+T**H))$$

.\*\*\*\*\*EC DIFERENCIALES\*\*\*\*\*

.\*\*\*\*\*PADRE\*\*\*\*\*

$$DADT(1)=-K12*A(1)+K21*A(2)-QH*C1+(1-EH)*(QH+QE)*C3-QE*C1-KEL*A(1)$$

$$DADT(2)=-K21*A(2)+K12*A(1)$$

$$DADT(3)=QH*C1-(QH+QE)*C3+(1-EE)*QE*C4$$

$$DADT(4)=QE*C1-QE*C4+KA*A(5)$$

$$DADT(5)=KD*A(6)-KA*A(5)$$

$$DADT(6)=-KD*A(6)$$

.\*\*\*\*\*M1G\*\*\*\*\*

$$DADT(7)=EH*(QH+QE)*C3+EE*QE*C4-QH*C7+(1-EHM)*(QH+QE)*C9-K78*A(7)+K87*A(8)-QE*C7-KELM1G*A(7)$$

$$DADT(8)=K78*A(7)-K87*A(8)$$

$$DADT(9)=QH*C7+QE*(1-EEM)*C10-(QH+QE)*C9$$

$$DADT(10)=QE*C7-QE*C10$$

.,\*\*\*\*\*M2G\*\*\*\*\*

DADT(11)=EHM\*(QH+QE)\*C9+EEM\*QE\*C10-KELM2G\*A(11)

.,\*\*\*\*\*DUMMY\*\*\*\*\*

DADT(12)=KA\*A(5)

DADT(13)=KEL\*A(1)

DADT(14)=KELM1G\*A(7)

DADT(15)=KELM2G\*A(11)

\$ERROR

A1=A(1)

A2=A(2)

A3=A(3)

A4=A(4)

A5=A(5)

A6=A(6)

A7=A(7)

A8=A(8)

A9=A(9)

A10=A(10)

A11=A(11)

A12=A(12)

A13=A(13)

A14=A(14)

A15=A(15)

DOSE=5.56

FABR=A(12)\*(1-FF)/DOSE

FABT=A(12)\*FF/DOSE

CP1P=(A(1)\*180/V1)\*EXP(EPS(1)); CP PADRE

CM1G=(A(7)\*138/V7)\*EXP(EPS(2)); CP M1G

CM2G=(A(11)\*195/V11)\*EXP(EPS(3)); CP M2G

CPM=(A(1)/V1)\*EXP(EPS(1)); CP PADRE MOLAR

C1GM=(A(7)/V7)\*EXP(EPS(2)); CP M1G MOLAR

## Anexos

$C2GM=(A(11)/V11)*EXP(EPS(3));$  CP M2G MOLAR

$EXPMG=A(13)*180;$  CANTIDAD PADRE ORINA EN MG

$EXM1MG=A(14)*138;$  CANTIDAD M1G ORINA EN MG

$EXM2MG=A(15)*195;$  CANTIDAD M2G ORINA EN MG

\*\*\*\*\*CALCULO AUC\*\*\*\*\*

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) THEN

TIMD=TIME

CP1PD=CP1P

CM1GD=CM1G

CM2GD=CM2G

ELSE

TIMD=TIMD

CP1PD=CP1PD

CM1GD=CM1GD

CM2GD=CM2GD

ENDIF

$AUC1=((CP1PD+CP1P)/2)*(TIME-TIMD)*(1-FF);$ TRAPECIO AUC PADR REF

$AUC2=((CP1PD+CP1P)/2)*(TIME-TIMD)*FF;$ TRAPECIO AUC PADRE PROB

$AUC3=((CM1GD+CM1G)/2)*(TIME-TIMD)*(1-FF);$ TRAPECIO AUC M1G REF

$AUC4=((CM1GD+CM1G)/2)*(TIME-TIMD)*FF;$ TRAPECIO AUC M1G PROB

$AUC5=((CM2GD+CM2G)/2)*(TIME-TIMD)*(1-FF);$ TRAPECIO AUC M2G REF

$AUC6=((CM2GD+CM2G)/2)*(TIME-TIMD)*FF;$ TRAPECIO AUC M2G PROB

IF(TIME.EQ.0) AUCA1=0

IF(TIME.EQ.0) AUCA2=0

IF(TIME.EQ.0) AUCA3=0

IF(TIME.EQ.0) AUCA4=0

IF(TIME.EQ.0) AUCA5=0

IF(TIME.EQ.0) AUCA6=0

$AUCA1=AUCA1+AUC1;$  AUC ACUM PADRE REF

AUCA2=AUCA2+AUC2; AUC ACUM PADRE PROB

AUCA3=AUCA3+AUC3; AUC ACUM M1G REF  
 AUCA4=AUCA4+AUC4; AUC ACUM M1G PROB

AUCA5=AUCA5+AUC5; AUC ACUM M2G REF  
 AUCA6=AUCA6+AUC6; AUC ACUM M2G PROB

AUCF1=AUCA1+(CP1P/(KMH+KME+KEL))\*(1-FF); AUC FINAL PADRE REF  
 AUCF2=AUCA2+(CP1P/(KMH+KME+KEL))\*FF; AUC FINAL PADRE PROB

AUCF3=AUCA3+(CM1G/(KMHM+KMEM+KELM1G))\*(1-FF); AUC FINAL  
 M1G REF  
 AUCF4=AUCA4+(CM1G/(KMHM+KMEM+KELM1G))\*FF; AUC FINAL M1G  
 PROB

AUCF5=AUCA5+(CM2G/(KELM2G))\*(1-FF); AUC FINAL M2G REF  
 AUCF6=AUCA6+(CM2G/(KELM2G))\*FF; AUC FINAL M2G PROB

;REINICIACION DE LOS DELAYED

TIMD=TIME

CP1PD=CP1P

CM1GD=CM1G

CM2GD=CM2G

,\*\*\*\*\*CALCULO CMAX\*\*\*\*\*

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX1=0; PADRE REF

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX2=0; PADRE PROB

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX3=0; M1G REF

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX4=0; M1G PROB

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX5=0; M2G REF

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX6=0; M2G PROB

IF(CP1P.GT.CMAX1) THEN

CMAX1=CP1P\*(1-FF)

## Anexos

```
ELSE  
CMAX1=CMAX1  
ENDIF
```

```
IF(CP1P.GT.CMAX2) THEN  
CMAX2=CP1P*FF  
ELSE  
CMAX2=CMAX2  
ENDIF
```

```
IF(CM1G.GT.CMAX3) THEN  
CMAX3=CM1G*(1-FF)  
ELSE  
CMAX3=CMAX3  
ENDIF
```

```
IF(CM1G.GT.CMAX4) THEN  
CMAX4=CM1G*FF  
ELSE  
CMAX4=CMAX4  
ENDIF
```

```
IF(CM2G.GT.CMAX5) THEN  
CMAX5=CM2G*(1-FF)  
ELSE  
CMAX5=CMAX5  
ENDIF
```

```
IF(CM2G.GT.CMAX6) THEN  
CMAX6=CM2G*FF  
ELSE  
CMAX6=CMAX6  
ENDIF
```

```
$SIGMA 0.04 0.04 0.04
```

```
$SIMULATION (12345) ONLYSIM SUBPROBLEM 200
```

```
$TABLE ID TIME SEQ FF A12 CP1P CM1G CM2G CPM C1GM C2GM  
EXPMG EXM1MG EXM2MG  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=S.ASC
```

```
$TABLE ID TIME SEQ FF AUCF1 AUCF2 AUCF3 AUCF4 AUCF5 AUCF6  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=AUCF.ASC
```

```
$TABLE ID TIME SEQ FF CMAX1 CMAX2 CMAX3 CMAX4 CMAX5 CMAX6  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=CMAX.ASC
```

### Anexo III: Archivo de datos Cafeína. Dosis 100mg

Archivo de datos para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 100mg de cafeína, corregida a 110mg por la concentración basal (0,566mmoles).
- Cantidad de paraxantina basal: 24 mg (0,133mmoles).

Se presentan los datos del individuo 1 (ID 1). El archivo real contiene los datos de los 24 individuos.

#ID	TIME	AMT	CONC=DV	MDV	CMT	EVID	SEQ
1	0	0.566	.	1	4	1	1
1	0	0.133	.	1	5	1	1
1	0	.	.	0	1	0	1
1	0.5	.	.	0	1	0	1
1	1	.	.	0	1	0	1
1	2	.	.	0	1	0	1
1	3	.	.	0	1	0	1
1	4	.	.	0	1	0	1
1	5	.	.	0	1	0	1
1	6	.	.	0	1	0	1
1	7	.	.	0	1	0	1
1	8	.	.	0	1	0	1
1	12	.	.	0	1	0	1
1	24	.	.	0	1	0	1

**Anexo IV: Archivo control Cafeína. Dosis 100mg**

Archivo control para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 100mg de cafeína, corregida a 110mg por la concentración basal (0,566mmoles).
- Cantidad de paraxantina basal: 24 mg (0,133mmoles).

Todo lo escrito después de “ ; “ no es leído por el sistema. Son notas aclaratorias.

```
$PROB C011AV; 1 SUBPROB VARIAB ka 8.5
```

```
$DATA CAF6.PRN;D=0.566MMOL(110MG)PARAX0.133MMOL, AUCyCMAX
$INPUT ID TIME AMT CONC=DV MDV CMT EVID SEQ
```

```
$SUBROUTINE ADVAN9 TOL=4
```

```
$MODEL
```

```
COMP=CENTRAL;1
```

```
COMP=HIGADO;2
```

```
COMP=ENTERO;3
```

```
COMP=LUMEN;4
```

```
COMP=PARAX;5
```

```
COMP=EXCCAF;6
```

```
COMP=EXCPAR;7
```

```
$PK
```

```
QH=THETA(1)*EXP(ETA(1));FLUJO HEP
```

```
QE=THETA(2)*EXP(ETA(2));FLUJO ENT
```

```
KMH1=THETA(3)*EXP(ETA(3));KM HEP
```

```
CLOIH1=THETA(4)*EXP(ETA(4));CLOI HEP
```

```
KME1=THETA(5)*EXP(ETA(5));KM ENT
```

```
CLOIE1=THETA(6)*EXP(ETA(6));CLOI ENT
```

```
KAN=THETA(7)*EXP(ETA(7));K ABSORC
```

## Anexos

KEL1=THETA(8)\*EXP(ETA(8));KEL CAF  
KEL2=THETA(9)\*EXP(ETA(9));KEL PARAX

V1=THETA(10)\*EXP(ETA(10));V CENTRAL CAF  
V2=THETA(11)\*EXP(ETA(11));V HIG  
V3=THETA(12)\*EXP(ETA(12));V ENT  
V5=THETA(13)\*EXP(ETA(13));V CENTRAL PARAX

TUA=THETA(14)\*EXP(ETA(14));TUA  
H=THETA(15)\*EXP(ETA(15));COEF HISS

S1=V1

\$THETA

,\*\*\*\*\*FLUJOS\*\*\*\*\*

(1.8,18,180);TH1=QH

(7.2,72,720);TH2=QE

,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

(0.019,0.19,1.9);TH3=KMH1 CAF A PARAX

(0.55,5.5,55);TH4=CLOIH1

(1 FIX);TH5=KME1 CAF A PARAX

(0 FIX);TH6=CLOIE1

,\*\*\*\*\*ABSORC\*\*\*\*\*

(0.85,8.5,85);TH7=KAN

,\*\*\*\*\*K ELIM\*\*\*\*\*

(0 FIX);TH8 KEL1 CAF

(0.0125,0.125,1.25);TH9 KEL2 PARAX

,\*\*\*\*\*VOL\*\*\*\*\*

(4,40,400);TH10 V1 CENTRAL CAF

(0.11,1.1,11);TH11 V2 HIG

(0.18,1.8,18);TH12 V3 ENT

(4,40,400);TH13 V4 CENTRAL PARAX

,\*\*\*\*\*TUA Y COEF HISS\*\*\*\*\*

(0.35,3.5,35);TH14 TUA

(2,20,200);TH15 H

\$OMEGA

0.04;ETA1 QH

0.04;ETA2 QE

0 FIX;ETA3 KMH1

0.04;ETA4 CLOIH1

0 FIX;ETA5 KME1

0.04;ETA6 CLOIE1

0.04;ETA7 KAN

0 FIX;ETA8 KEL1

0.04;ETA9 KEL2

0.04;ETA10 V1

0.04;ETA11 V2

0.04;ETA12 V3

0.04;ETA13 V5

0 FIX;ETA14 TUA

0 FIX;ETA15 H

\$DES

C1=A(1)/V1

C2=A(2)/V2

C3=A(3)/V3

C5=A(5)/V5

,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

CLCIH=CLOIH1\*KMH1/(KMH1+C2)

EH=CLCIH/(QH+QE+CLCIH)

CLCIE=CLOIE1\*KME1/(KME1+C3)

EE=CLCIE/(QE+CLCIE)

,\*\*\*\*\*K ABSORC\*\*\*\*\*

KA=KAN\*(1-T\*\*H/(TUA\*\*H+T\*\*H))

## Anexos

```
.*****EC DIFERENCIALES*****
,
.*****CAF*****
,
DADT(1)=-QH*C1+(1-EH)*(QH+QE)*C2-QE*C1-KEL1*A(1)
DADT(2)=QH*C1-(QH+QE)*C2+(1-EE)*QE*C3
DADT(3)=QE*C1-QE*C3+KA*A(4)
DADT(4)=-KA*A(4)

.*****PARAX*****
,
DADT(5)=0.8*EH*(QH+QE)*C2+0.8*EE*QE*C3-KEL2*A(5)

.*****DUMMY*****
,
DADT(6)=KEL1*A(1)
DADT(7)=KEL2*A(5)

$ERROR
A1=A(1)
A2=A(2)
A3=A(3)
A4=A(4)
A5=A(5)
A6=A(6)
A7=A(7)

DOSE=0.566

CP=(A(1)*194.19/V1)*EXP(EPS(1));CP MG CAF
CM=(A(5)*180.19/V5)*EXP(EPS(2));CP MG PAR

CPM=(A(1)/V1)*EXP(EPS(1));CP CAF MOLAR
CMM=(A(5)/V5)*EXP(EPS(2));CP PAR MOLAR

EXPMG=A(6)*194.19;CANTIDAD PADRE ORINA MG
EXMMG=A(7)*180.19;CANTIDAD METAB ORINA MG

.*****CALCULO AUC*****
,
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) THEN
TIMD=TIME
```

```

CPD=CP
CMD=CM
ELSE
TIMD=TIMD
CPD=CPD
CMD=CMD
ENDIF

```

```

AUC1=((CPD+CP)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC CAF
AUC2=((CMD+CM)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC PAR

```

```

IF(TIME.EQ.0) AUCA1=0
IF(TIME.EQ.0) AUCA2=0

```

```

AUCA1=AUCA1+AUC1;AUC ACUM CAF
AUCA2=AUCA2+AUC2;AUC ACUM PAR

```

```

AUCF1=AUCA1+(CP/(KMH1+KME1+KEL1));AUC FINAL CAF
AUCF2=AUCA2+(CP/(KEL2));AUC FINAL PAR

```

```

;REINICIACION DE LOS DELAYED
TIMD=TIME
CPD=CP
CMD=CM

```

```

,*****CALCULO CMAX*****

```

```

IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX1=0;CAF
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX2=0;PAR

```

```

IF(CP.GT.CMAX1) THEN
CMAX1=CP
ELSE
CMAX1=CMAX1
ENDIF

```

```

IF(CP.GT.CMAX2) THEN
CMAX2=CP

```

## Anexos

```
ELSE  
CMAX2=CMAX2  
ENDIF
```

```
$$SIGMA 0.04 0.04
```

```
$$SIMULATION (12346) ONLYSIM SUBPROBLEM 1
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CP CM CPM CMM EXPMG EXMMG  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=S.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ AUCF1 AUCF2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=AUCF.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CMAX1 CMAX2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=CMAX.ASC
```

-

**Anexo V: Archivo de datos Cafeína. Dosis 175mg**

Archivo de datos para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 175mg de cafeína, corregida a 219mg por la concentración basal (1,13mmoles).

Se presentan los datos del individuo 1 (ID 1). El archivo real contiene los datos de los 24 individuos.

#ID	TIME	AMT	CONC=DV	MDV	CMT	EVID	SEQ
1	0	1.13	.	1	4	1	1
1	0	.	.	0	1	0	1
1	0.5	.	.	0	1	0	1
1	1	.	.	0	1	0	1
1	1.5	.	.	0	1	0	1
1	2	.	.	0	1	0	1
1	4	.	.	0	1	0	1
1	6	.	.	0	1	0	1
1	8	.	.	0	1	0	1
1	11	.	.	0	1	0	1
1	14	.	.	0	1	0	1

### **Anexo VI: Archivo control Cafeína. Dosis 175mg**

Archivo control para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 175mg de cafeína, corregida a 219mg por la concentración basal (1,13mmoles).

Todo lo escrito después de “ ; “ no es leído por el sistema. Son notas aclaratorias.

```
$PROB C025AV;D=1.13MMOL(175+44=219MG) 1SUBPROB VARIAB  
$DATA CAF18.PRN  
$INPUT ID TIME AMT CONC=DV MDV CMT EVID SEQ
```

```
$SUBROUTINE ADVAN9 TOL=4
```

```
$MODEL
```

```
COMP=CENTRAL;1
```

```
COMP=HIGADO;2
```

```
COMP=ENTERO;3
```

```
COMP=LUMEN;4
```

```
COMP=PARAX;5
```

```
COMP=EXCCAF;6
```

```
COMP=EXCPAR;7
```

```
$PK
```

```
QH=THETA(1)*EXP(ETA(1));FLUJO HEP
```

```
QE=THETA(2)*EXP(ETA(2));FLUJO ENT
```

```
KMH1=THETA(3)*EXP(ETA(3));KM HEP
```

```
CLOIH1=THETA(4)*EXP(ETA(4));CLOI HEP
```

```
KME1=THETA(5)*EXP(ETA(5));KM ENT
```

```
CLOIE1=THETA(6)*EXP(ETA(6));CLOI ENT
```

```
KAN=THETA(7)*EXP(ETA(7));K ABSORC
```

KEL1=THETA(8)\*EXP(ETA(8));KEL CAF  
 KEL2=THETA(9)\*EXP(ETA(9));KEL PARAX

V1=THETA(10)\*EXP(ETA(10));V CENTRAL CAF  
 V2=THETA(11)\*EXP(ETA(11));V HIG  
 V3=THETA(12)\*EXP(ETA(12));V ENT  
 V5=THETA(13)\*EXP(ETA(13));V CENTRAL PARAX

TUA=THETA(14)\*EXP(ETA(14));TUA  
 H=THETA(15)\*EXP(ETA(15));COEF HISS

S1=V1

\$THETA

,\*\*\*\*\*FLUJOS\*\*\*\*\*

(1.8,18,180);TH1=QH

(7.2,72,720);TH2=QE

,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

(0.019,0.19,1.9);TH3=KMH1 CAF A PARAX

(0.35,3.5,35);TH4=CLOIH1

(1 FIX);TH5=KME1 CAF A PARAX

(0 FIX);TH6=CLOIE1

,\*\*\*\*\*ABSORC\*\*\*\*\*

(0.195,1.95,19.5);TH7=KAN

,\*\*\*\*\*K ELIM\*\*\*\*\*

(0 FIX);TH8 KEL1 CAF

(0.011,0.110,1.1);TH9 KEL2 PARAX

,\*\*\*\*\*VOL\*\*\*\*\*

(3.08,30.8,308);TH10 V1 CENTRAL CAF

(0.11,1.1,11);TH11 V2 HIG

(0.18,1.8,18);TH12 V3 ENT

(3.08,30.8,308);TH13 V4 CENTRAL PARAX

## Anexos

,\*\*\*\*\*TUA Y COEF HISS\*\*\*\*\*  
,  
(0.35,3.5,35);TH14 TUA  
(2,20,200);TH15 H

### \$OMEGA

0.04;ETA1 QH  
0.04;ETA2 QE  
0 FIX;ETA3 KMH1  
0.04;ETA4 CLOIH1  
0 FIX;ETA5 KME1  
0.04;ETA6 CLOIE1  
0.04;ETA7 KAN  
0 FIX;ETA8 KEL1  
0.04;ETA9 KEL2  
0.04;ETA10 V1  
0.04;ETA11 V2  
0.04;ETA12 V3  
0.04;ETA13 V5  
0 FIX;ETA14 TUA  
0 FIX;ETA15 H

### \$DES

C1=A(1)/V1  
C2=A(2)/V2  
C3=A(3)/V3  
C5=A(5)/V5

,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*  
,  
CLCIH=CLOIH1\*KMH1/(KMH1+C2)  
EH=CLCIH/(QH+QE+CLCIH)  
CLCIE=CLOIE1\*KME1/(KME1+C3)  
EE=CLCIE/(QE+CLCIE)

,\*\*\*\*\*K ABSORC\*\*\*\*\*  
,  
KA=KAN\*(1-T\*\*H/(TUA\*\*H+T\*\*H))

,\*\*\*\*\*EC DIFERENCIALES\*\*\*\*\*  
,

```

,*****CAF*****
DADT(1)=-QH*C1+(1-EH)*(QH+QE)*C2-QE*C1-KEL1*A(1)
DADT(2)=QH*C1-(QH+QE)*C2+(1-EE)*QE*C3
DADT(3)=QE*C1-QE*C3+KA*A(4)
DADT(4)=-KA*A(4)

```

```

,*****PARAX*****
DADT(5)=0.8*EH*(QH+QE)*C2+0.8*EE*QE*C3-KEL2*A(5)

```

```

,*****DUMMY*****
DADT(6)=KEL1*A(1)
DADT(7)=KEL2*A(5)

```

\$ERROR

A1=A(1)

A2=A(2)

A3=A(3)

A4=A(4)

A5=A(5)

A6=A(6)

A7=A(7)

DOSE=1.13

CP=(A(1)\*194.19/V1)\*EXP(EPS(1));CP MG CAF  
CM=(A(5)\*180.19/V5)\*EXP(EPS(2));CP MG PAR

CPM=(A(1)/V1)\*EXP(EPS(1));CP CAF MOLAR  
CMM=(A(5)/V5)\*EXP(EPS(2));CP PAR MOLAR

EXPMG=A(6)\*194.19;CANTIDAD PADRE ORINA MG  
EXMMG=A(7)\*180.19;CANTIDAD METAB ORINA MG

```

,*****CALCULO AUC*****
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) THEN
TIMD=TIME
CPD=CP

```

## Anexos

```
CMD=CM
ELSE
TIMD=TIMD
CPD=CPD
CMD=CMD
ENDIF
```

```
AUC1=((CPD+CP)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC CAF
AUC2=((CMD+CM)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC PAR
```

```
IF(TIME.EQ.0) AUCA1=0
IF(TIME.EQ.0) AUCA2=0
```

```
AUCA1=AUCA1+AUC1;AUC ACUM CAF
AUCA2=AUCA2+AUC2;AUC ACUM PAR
```

```
AUCF1=AUCA1+(CP/(KMH1+KME1+KEL1));AUC FINAL CAF
AUCF2=AUCA2+(CP/(KEL2));AUC FINAL PAR
```

```
;REINICIACION DE LOS DELAYED
TIMD=TIME
CPD=CP
CMD=CM
```

```
;*****CALCULO CMAX*****
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX1=0;CAF
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX2=0;PAR
```

```
IF(CP.GT.CMAX1) THEN
CMAX1=CP
ELSE
CMAX1=CMAX1
ENDIF
```

```
IF(CP.GT.CMAX2) THEN
CMAX2=CP
ELSE
```

```
CMAX2=CMAX2  
ENDIF
```

```
$$SIGMA 0.04 0.04
```

```
$$SIMULATION (12346) ONLYSIM SUBPROBLEM 1
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CP CM CPM CMM EXPMG EXMMG  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=S.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ AUCF1 AUCF2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=AUCF.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CMAX1 CMAX2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=CMAX.ASC
```

**Anexo VII: Archivo de datos Cafeína. Dosis 400mg**

Archivo de datos para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 200mg de cafeína (2,06mmoles).

Se presentan los datos del individuo 1 (ID 1). El archivo real contiene los datos de los 24 individuos.

#ID	TIME	AMT	CONC=DV	MDV	CMT	EVID	SEQ
1	0	2.06	.	1	4	1	1
1	0	.	.	0	1	0	1
1	1	.	.	0	1	0	1
1	2	.	.	0	1	0	1
1	3	.	.	0	1	0	1
1	4	.	.	0	1	0	1
1	8	.	.	0	1	0	1

**Anexo VIII: Archivo control Cafeína. Dosis 400mg**

Archivo control para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 24 individuos.
- Dosis: 400mg de cafeína (2,06mmoles).

Todo lo escrito después de “ ; “ no es leído por el sistema. Son notas aclaratorias.

```
$PROB C024AV;D=2.06MMOL(400MG) 1 SUBPROB VARIAB
$DATA CAF4.PRN
$INPUT ID TIME AMT CONC=DV MDV CMT EVID SEQ
```

```
$SUBROUTINE ADVAN9 TOL=4
```

```
$MODEL
```

```
COMP=CENTRAL;1
```

```
COMP=HIGADO;2
```

```
COMP=ENTERO;3
```

```
COMP=LUMEN;4
```

```
COMP=PARAX;5
```

```
COMP=EXCCAF;6
```

```
COMP=EXCPAR;7
```

```
$PK
```

```
QH=THETA(1)*EXP(ETA(1));FLUJO HEP
```

```
QE=THETA(2)*EXP(ETA(2));FLUJO ENT
```

```
KMH1=THETA(3)*EXP(ETA(3));KM HEP
```

```
CLOIH1=THETA(4)*EXP(ETA(4));CLOI HEP
```

```
KME1=THETA(5)*EXP(ETA(5));KM ENT
```

```
CLOIE1=THETA(6)*EXP(ETA(6));CLOI ENT
```

```
KAN=THETA(7)*EXP(ETA(7));K ABSORC
```

```
KEL1=THETA(8)*EXP(ETA(8));KEL CAF
```

## Anexos

$KEL2 = THETA(9) * EXP(ETA(9));$  KEL PARAX

$V1 = THETA(10) * EXP(ETA(10));$  V CENTRAL CAF

$V2 = THETA(11) * EXP(ETA(11));$  V HIG

$V3 = THETA(12) * EXP(ETA(12));$  V ENT

$V5 = THETA(13) * EXP(ETA(13));$  V CENTRAL PARAX

$TUA = THETA(14) * EXP(ETA(14));$  TUA

$H = THETA(15) * EXP(ETA(15));$  COEF HISS

$S1 = V1$

\$THETA

.,\*\*\*\*\*FLUJOS\*\*\*\*\*

,  
(1.8,18,180);TH1=QH

(7.2,72,720);TH2=QE

.,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

,  
(0.019,0.19,1.9);TH3=KMH1 CAF A PARAX

(0.5,5,50);TH4=CLOIH1

(1 FIX);TH5=KME1 CAF A PARAX

(0 FIX);TH6=CLOIE1

.,\*\*\*\*\*ABSORC\*\*\*\*\*

,  
(0.155,1.55,15.5);TH7=KAN

.,\*\*\*\*\*K ELIM\*\*\*\*\*

,  
(0 FIX);TH8 KEL1 CAF

(0.0108,0.108,1.08);TH9 KEL2 PARAX

.,\*\*\*\*\*VOL \*\*\*\*\*

,  
(4,44,400);TH10 V1 CENTRAL CAF

(0.11,1.1,11);TH11 V2 HIG

(0.18,1.8,18);TH12 V3 ENT

(4,44,400);TH13 V4 CENTRAL PARAX

.,\*\*\*\*\*TUA Y COEF HISS\*\*\*\*\*

,  
,

(0.35,3.5,35);TH14 TUA  
 (2,20,200);TH15 H

\$OMEGA

0.04;ETA1 QH

0.04;ETA2 QE

0 FIX;ETA3 KMH1

0.04;ETA4 CLOIH1

0 FIX;ETA5 KME1

0.04;ETA6 CLOIE1

0.04;ETA7 KAN

0 FIX;ETA8 KEL1

0.04;ETA9 KEL2

0.04;ETA10 V1

0.04;ETA11 V2

0.04;ETA12 V3

0.04;ETA13 V5

0 FIX;ETA14 TUA

0 FIX;ETA15 H

\$DES

C1=A(1)/V1

C2=A(2)/V2

C3=A(3)/V3

C5=A(5)/V5

.,\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

,  
 $CLCIH=CLOIH1 * KMH1 / (KMH1 + C2)$

$EH=CLCIH / (QH + QE + CLCIH)$

$CLCIE=CLOIE1 * KME1 / (KME1 + C3)$

$EE=CLCIE / (QE + CLCIE)$

.,\*\*\*\*\*K ABSORC\*\*\*\*\*

,  
 $KA=KAN * (1 - T^{**H} / (TUA^{**H} + T^{**H}))$

.,\*\*\*\*\*EC DIFERENCIALES\*\*\*\*\*

,  
 .,\*\*\*\*\*CAF\*\*\*\*\*

## Anexos

DADT(1)=-QH\*C1+(1-EH)\*(QH+QE)\*C2-QE\*C1-KEL1\*A(1)

DADT(2)=QH\*C1-(QH+QE)\*C2+(1-EE)\*QE\*C3

DADT(3)=QE\*C1-QE\*C3+KA\*A(4)

DADT(4)=-KA\*A(4)

.,\*\*\*\*\*PARAX\*\*\*\*\*

,  
DADT(5)=0.8\*EH\*(QH+QE)\*C2+0.8\*EE\*QE\*C3-KEL2\*A(5)

.,\*\*\*\*\*DUMMY\*\*\*\*\*

,  
DADT(6)=KEL1\*A(1)

DADT(7)=KEL2\*A(5)

\$ERROR

A1=A(1)

A2=A(2)

A3=A(3)

A4=A(4)

A5=A(5)

A6=A(6)

A7=A(7)

DOSE=2.06

CP=(A(1)\*194.19/V1)\*EXP(EPS(1));CP MG CAF

CM=(A(5)\*180.19/V5)\*EXP(EPS(2));CP MG PAR

CPM=(A(1)/V1)\*EXP(EPS(1));CP CAF MOLAR

CMM=(A(5)/V5)\*EXP(EPS(2));CP PAR MOLAR

EXPMG=A(6)\*194.19;CANTIDAD PADRE ORINA MG

EXMMG=A(7)\*180.19;CANTIDAD METAB ORINA MG

.,\*\*\*\*\*CALCULO AUC\*\*\*\*\*

,  
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) THEN

TIMD=TIME

CPD=CP

CMD=CM

```

ELSE
TIMD=TIMD
CPD=CPD
CMD=CMD
ENDIF

AUC1=((CPD+CP)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC CAF
AUC2=((CMD+CM)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC PAR

IF(TIME.EQ.0) AUCA1=0
IF(TIME.EQ.0) AUCA2=0

AUCA1=AUCA1+AUC1;AUC ACUM CAF
AUCA2=AUCA2+AUC2;AUC ACUM PAR

AUCF1=AUCA1+(CP/(KMH1+KME1+KEL1));AUC FINAL CAF
AUCF2=AUCA2+(CP/(KEL2));AUC FINAL PAR

;REINICIACION DE LOS DELAYED
TIMD=TIME
CPD=CP
CMD=CM

,*****CALCULO CMAX*****
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX1=0;CAF
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX2=0;PAR

IF(CP.GT.CMAX1) THEN
CMAX1=CP
ELSE
CMAX1=CMAX1
ENDIF

IF(CP.GT.CMAX2) THEN
CMAX2=CP
ELSE
CMAX2=CMAX2

```

## Anexos

ENDIF

\$SIGMA 0.04 0.04

\$SIMULATION (12346) ONLYSIM SUBPROBLEM 1

\$TABLE ID TIME SEQ CP CM CPM CMM EXPMG EXMMG

NOPRINT NOAPPEND

ONEHEADER FILE=S.ASC

\$TABLE ID TIME SEQ AUCF1 AUCF2

NOPRINT NOAPPEND

ONEHEADER FILE=AUCF.ASC

\$TABLE ID TIME SEQ CMAX1 CMAX2

NOPRINT NOAPPEND

ONEHEADER FILE=CMAX.ASC

**Anexo IX: Archivo de datos Cafeína. Pacientes cirróticos**

Archivo de datos para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 12 individuos con cirrosis.
- Dosis: 100,6mg de cafeína *in bolus* (0,518mmoles) y 200 o 250mg de cafeína oral (1,03 o 1,29mmoles) + cafeína basal de cada individuo (0,06mmoles en el caso del individuo 1).

Se presentan los datos del individuo 1 (ID 1). El archivo real contiene los datos de los 24 individuos.

#ID	TIME	AMT	RATE	CONC=DV	MDV	CMT	EVID	SEQ
1	0	0.518	2.07	.	1	1	1	1
1	0	0.06	.	.	1	1	1	1
1	0	.	.	.	0	1	0	1
1	0.75	.	.	.	0	1	0	1
1	1.25	.	.	.	0	1	0	1
1	2.25	.	.	.	0	1	0	1
1	3.25	.	.	.	0	1	0	1
1	4.25	.	.	.	0	1	0	1
1	5.25	.	.	.	0	1	0	1
1	6.25	.	.	.	0	1	0	1
1	7.25	.	.	.	0	1	0	1
1	8.25	.	.	.	0	1	0	1
1	12.25	.	.	.	0	1	0	1
1	24.25	.	.	.	0	1	0	1
1	24.25	1.03	.	.	1	4	1	1
1	24.25	.	.	.	0	1	0	1
1	24.75	.	.	.	0	1	0	1
1	25.25	.	.	.	0	1	0	1
1	26.25	.	.	.	0	1	0	1
1	27.25	.	.	.	0	1	0	1
1	28.25	.	.	.	0	1	0	1
1	29.25	.	.	.	0	1	0	1
1	30.25	.	.	.	0	1	0	1
1	31.25	.	.	.	0	1	0	1
1	32.25	.	.	.	0	1	0	1
1	36.25	.	.	.	0	1	0	1
1	48.25	.	.	.	0	1	0	1

### **Anexo X: Archivo control Cafeína. Pacientes cirróticos**

Archivo control para simular con NONMEM:

- Administración de cafeína en 12 individuos con cirrosis.
- Dosis: 100,6mg de cafeína *in bolus* (0,518mmoles) y 200 o 250mg de cafeína oral (1,03 o 1,29mmoles) + cafeína basal de cada individuo.

Todo lo escrito después de “ ; “ no es leído por el sistema. Son notas aclaratorias.

```
$PROB C030AV; 1 SUBPROB CON VARIAB CIRROSIS
$DATA CAF20.PRN; DOSIS SEGÚ-N TESIS
$INPUT ID TIME AMT RATE CONC=DV MDV CMT EVID SEQ
```

```
$SUBROUTINE ADVAN9 TOL=4
```

```
$MODEL
COMP=CENTRAL;1
COMP=HIGADO;2
COMP=ENTERO;3
COMP=LUMEN;4
COMP=PARAX;5
COMP=EXCCAF;6
COMP=EXCPAR;7
```

```
$PK
QH=THETA(1)*EXP(ETA(1));FLUJO HEP
QE=THETA(2)*EXP(ETA(2));FLUJO ENT
```

```
KMH1=THETA(3)*EXP(ETA(3));KM HEP
CLOIH1=THETA(4)*EXP(ETA(4));CLOI HEP
```

```
KME1=THETA(5)*EXP(ETA(5));KM ENT
CLOIE1=THETA(6)*EXP(ETA(6));CLOI ENT
```

```
KAN=THETA(7)*EXP(ETA(7));K ABSORC
```

KEL1=THETA(8)\*EXP(ETA(8));KEL CAF  
 KEL2=THETA(9)\*EXP(ETA(9));KEL PARAX

V1=THETA(10)\*EXP(ETA(10));V CENTRAL CAF  
 V2=THETA(11)\*EXP(ETA(11));V HIG  
 V3=THETA(12)\*EXP(ETA(12));V ENT  
 V5=THETA(13)\*EXP(ETA(13));V CENTRAL PARAX

TUA=THETA(14)\*EXP(ETA(14));TUA  
 H=THETA(15)\*EXP(ETA(15));COEF HISS

S1=V1

\$THETA

.;\*\*\*\*\*FLUJOS\*\*\*\*\*

(4,40,400);TH1=QH

(2.4,24.12,241.2);TH2=QE

.;\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*

(0.019,0.19,1.9);TH3=KMH1 CAF A PARAX

(0.064,0.645,6.45);TH4=CLOIH1

(1 FIX);TH5=KME1 CAF A PARAX

(0 FIX);TH6=CLOIE1

.;\*\*\*\*\*ABSORC\*\*\*\*\*

(0.061,0.61,6.1);TH7=KAN

.;\*\*\*\*\*K ELIM\*\*\*\*\*

(0 FIX);TH8 KEL1 CAF

(0.00156,0.0156,0.156);TH9 KEL2 PARAX

.;\*\*\*\*\*VOL \*\*\*\*\*

(4.59,45.9,459);TH10 V1 CENTRAL CAF

(0.11,1.1,11);TH11 V2 HIG

(0.18,1.8,18);TH12 V3 ENT

(4.59,45.9,459);TH13 V4 CENTRAL PARAX

## Anexos

.\*\*\*\*\*TUA Y COEF HISS\*\*\*\*\*  
,  
(2.75,27.5,275);TH14 TUA  
(2,20,200);TH15 H

### \$OMEGA

0.04;ETA1 QH  
0.04;ETA2 QE  
0 FIX;ETA3 KMH1  
0.04;ETA4 CLOIH1  
0 FIX;ETA5 KME1  
0.04;ETA6 CLOIE1  
0.04;ETA7 KAN  
0 FIX;ETA8 KEL1  
0.04;ETA9 KEL2  
0.04;ETA10 V1  
0.04;ETA11 V2  
0.04;ETA12 V3  
0.04;ETA13 V5  
0 FIX;ETA14 TUA  
0 FIX;ETA15 H

### \$DES

C1=A(1)/V1  
C2=A(2)/V2  
C3=A(3)/V3  
C5=A(5)/V5

.\*\*\*\*\*CAF A PARAX\*\*\*\*\*  
,  
CLCIH=CLOIH1\*KMH1/(KMH1+C2)  
EH=CLCIH/(QH+QE+CLCIH)  
CLCIE=CLOIE1\*KME1/(KME1+C3)  
EE=CLCIE/(QE+CLCIE)

.\*\*\*\*\*K ABSORC\*\*\*\*\*  
,  
KA=KAN\*(1-T\*\*H/(TUA\*\*H+T\*\*H))

```

.*****EC DIFERENCIALES*****
,
.*****CAF*****
,
DADT(1)=-QH*C1+(1-EH)*(QH+QE)*C2-QE*C1-KEL1*A(1)
DADT(2)=QH*C1-(QH+QE)*C2+(1-EE)*QE*C3
DADT(3)=QE*C1-QE*C3+KA*A(4)
DADT(4)=-KA*A(4)

.*****PARAX*****
,
DADT(5)=0.8*EH*(QH+QE)*C2+0.8*EE*QE*C3-KEL2*A(5)

.*****DUMMY*****
,
DADT(6)=KEL1*A(1)
DADT(7)=KEL2*A(5)

$ERROR
A1=A(1)
A2=A(2)
A3=A(3)
A4=A(4)
A5=A(5)
A6=A(6)
A7=A(7)

CP=(A(1)*194.19/V1)*EXP(EPS(1));CP MG CAF
CM=(A(5)*180.19/V5)*EXP(EPS(2));CP MG PAR

CPM=(A(1)/V1)*EXP(EPS(1));CP CAF MOLAR
CMM=(A(5)/V5)*EXP(EPS(2));CP PAR MOLAR

EXPMG=A(6)*194.19;CANTIDAD PADRE ORINA MG
EXMMG=A(7)*180.19;CANTIDAD METAB ORINA MG

.*****CALCULO AUC*****
,
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) THEN
TIMD=TIME
CPD=CP

```

## Anexos

```
CMD=CM
ELSE
TIMD=TIMD
CPD=CPD
CMD=CMD
ENDIF
```

```
AUC1=((CPD+CP)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC CAF
AUC2=((CMD+CM)/2)*(TIME-TIMD);TRAPECIO AUC PAR
```

```
IF(TIME.EQ.0) AUCA1=0
IF(TIME.EQ.0) AUCA2=0
```

```
AUCA1=AUCA1+AUC1;AUC ACUM CAF
AUCA2=AUCA2+AUC2;AUC ACUM PAR
```

```
AUCF1=AUCA1+(CP/(KMH1+KME1+KEL1));AUC FINAL CAF
AUCF2=AUCA2+(CP/(KEL2));AUC FINAL PAR
```

```
;REINICIACION DE LOS DELAYED
TIMD=TIME
CPD=CP
CMD=CM
```

```
;*****CALCULO CMAX*****
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX1=0;CAF
IF(NEWIND.EQ.0.OR.NEWIND.EQ.1) CMAX2=0;PAR
```

```
IF(CP.GT.CMAX1) THEN
CMAX1=CP
ELSE
CMAX1=CMAX1
ENDIF
```

```
IF(CP.GT.CMAX2) THEN
CMAX2=CP
ELSE
```

```
CMAX2=CMAX2  
ENDIF
```

```
$$SIGMA 0.04 0.04
```

```
$$SIMULATION (12346) ONLYSIM SUBPROBLEM 1
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CP CM CPM CMM EXPMG EXMMG  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=S.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ AUCF1 AUCF2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=AUCF.ASC
```

```
$$TABLE ID TIME SEQ CMAX1 CMAX2  
NOPRINT NOAPPEND  
ONEHEADER FILE=CMAX.ASC
```