

# Estudio farmacocinético de un nuevo antiinflamatorio no esteroide

por

REGINA REVILLA DE GRANDA, BERNARDO MARTINEZ OLLER  
y MIGUEL YRISARRY CORREA

## Primer accésit al premio de la Academia

### ABSTRACT

The quantitative determination of 2-(4-isobutylphenyl) butyric acid Butibufen in plasma and urine is described. Butibufen extracted with hexane from acidified plasma, is converted to the silyl ester and then measured by GLC utilizing a flame-ionization detector. Investigations with Butibufen, a well-tolerated, orally active, antiinflammatory drug were undertaken to: *a)* determine the pharmacokinetic model and the whole parameters related to the absorption and disposition of this compound. *b)* Pharmacotechnic variations which could be considered to modify the pharmacokinetic parameters. *c)* To study the kinetic in multiple-dose situations from single dose data. *d)* By using equilibrium dialysis in ultra filtration techniques, it was observed that binding of Butibufen at plasmatic proteins does occur at pH 7,4 and 88 % it was bound to albumin. *e)* clearance of exogen creatinin was undertaken in dog to verify that chronic treatment with Butibufen does not modify glomerular filtration. *f)* Uricosuric effect after multiple-dose situations was studied in dog. *g)* The Butibufen excreted as the glucuronide was calculated from the difference between the amounts of Butibufen present before and after the enzymatic hydrolysis. The results indicate that Butibufen is absorbed rapidly from the GI and rectal route and disappears rapidly from the plasma, with only trace amounts present after 8 hours.

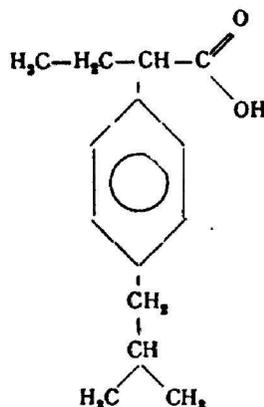
### KEYPHRASES

The quantitative determination of 2-(4-isobutylphenyl) butyric acid GLC analysis in human plasma and urine Absorption, distribution of acid, calcium and sodium salts and bioavalability, dog and man —Binding of Butibufen at plasma protein— Clearance renal of exogen creatinine —Uricosuric effect— Butibufen conjugates as urinary metabolites.

## INTRODUCCIÓN

Desde que en 1963 se descubrieron las propiedades antiinflamatorias de algunos derivados aril y alquil, sustituidos del ácido fenoxiacético, diversos investigadores, entre los que se encuentran Northover (1), Adams y Cliffe (2, 3, 4), Rubin (5, 6, 7), y Kaiser (8, 9, 10) dedicaron sus esfuerzos a la síntesis y estudio farmacológico y farmacocinético de nuevas moléculas de estructura química similar y análogas propiedades.

Nosotros hemos realizado el estudio farmacocinético del ácido 2-(4-isobutil fenil) butírico (Butibufén), cuya estructura química es la siguiente:



El objeto de este estudio fue determinar la biodisponibilidad y demás parámetros farmacocinéticos de este nuevo antiinflamatorio, por diferentes vías de administración y elaborar la forma de dosificación más adecuada, así como el régimen y posología de la misma en tratamientos prolongados.

Se estudió, también, la capacidad de fijación del Butibufén a las proteínas plasmáticas con el fin de poner de manifiesto las posibles incompatibilidades medicamentosas por desplazamiento en casos de terapia múltiple.

## DETERMINACIÓN DEL pKa DEL BUTIBUFÉN (ÁCIDO)

Se determinó potenciométricamente con un Radiometer, modelo pH-M4, calibrado en 0,01 unidades, el pKa del Butibufén en mezcla hidroalcohólica ana, a 20° C y 0,01 M de concentración. La valoración

se realizó con KOH 0,1 N. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla I.

TABLA I

Determinación del pKa del ácido (Butibufén) en mezcla hidroalcohólica 1:1

Producto: Butibufén ácido  $C_{14}H_{20}O_2 = 220,3$ . Temperatura: 20°

Concentración: 0,01 M secado en vacío sobre  $P_2O_5 \cdot t = 20'$

Se pesan 110,15 mg. disueltos en 25 ml. alcohol 90° previamente neutralizado y diluido a 50 ml. con agua

1	2	3	4	5	6	7
0,1 N-KOH ml	Lectura pH potenciómetro	Concentraciones estequiométricas		$\frac{(HA)}{(A^-)}$	Log de columna 5	$pK_a = pH +$ columna 6
0	4,20	0,010	0			
0,5	5,18	0,009	0,001	9/1	0,95	6,08
1,0	5,47	0,008	0,002	8/2	0,60	6,07
1,5	5,69	0,007	0,003	7/3	0,37	6,06
2,0	5,87	0,006	0,004	6/4	0,18	6,05
2,5	6,03	0,005	0,005	5/5	0	6,03
3,0	6,20	0,004	0,006	4/6	-0,18	6,02
3,5	6,39	0,003	0,007	3/7	-0,37	6,02
4,0	6,62	0,002	0,008	2/8	-0,60	6,02
4,5	6,98	0,001	0,009	1/9	-0,95	6,03
5,0	10,43	0	0,01			

Resultado:  $pK_a = 6,04 \pm 0,02$ .

$$\text{Error probable} = \frac{0,18 \times 3}{9 \sqrt{0}} = \frac{0,54}{27} = 0,02$$

## DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO P-ISOBUTIL FENIL BUTÍRICO EN LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

## Reactivos

Butibufén (ácido) y las sales sódica y cálcica.

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica, excepto el hexano, el sulfuro de carbono y el 1,1,1,3,3,3 hexametil disilazano, que fueron de calidad para espectroscopia.

Reactivo silanizante: sulfuro de carbono (0,7 ml.); 1,1,1,3,3,3 hexametildisilazano (0,1 ml.); 100 mcg de nafta eno/ml. en su furo de carbono (0,1 ml.).

Ha de ser recientemente preparado.

#### *Aparatos y material*

Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard de doble columna con detectores de ionización de llama de hidrógeno Modelo 5710A.

Agitador de vibración vibro-mixer F<sub>1</sub>, para facilitar la silanización de las muestras.

Centrífuga oscilante MIXTASEL.

Tubos de centrifuga con tapones a rosca de teflón (12 y 15 ml.).

#### *Condiciones de la cromatografía*

El registro electrónico operó a una velocidad de 0,63 cm/min. Se utilizó como gas portador el N<sub>2</sub>, a una velocidad de flujo de 30 ml/min.

El flujo de H<sub>2</sub> se ajustó a 60 ml/min.

El flujo de aire se ajustó a 200 ml/min.

Se utilizó una columna de acero de 1,82 m. de longitud y 0,3 cm. de diámetro interior, empaquetada con el 3 por 100 de D-C 550 polisiloxano metil fenílico sobre Chromosorb WAW-DMCS/80-100 mallas a una temperatura de 170° C durante los análisis.

#### *Acondicionamiento de la columna*

Se mantuvo durante una hora y media a 265° C, sin paso de gas portador. Se enfrió a 100° C y se calentó de nuevo durante doce horas a 240° C, con un gasto de gas portador equivalente a una presión de 2 kg/cm<sup>2</sup> a la salida del manorreductor manteniendo en todo momento desconectado el detector de la entrada.

Se practicaron inyecciones del producto a concentraciones de 20 mcg/ml. hasta que las alturas de los picos fueron estables.

El inyector y el detector operaron a 250° C. Bajo estas condiciones el tiempo de retención del trimetilsilil éster del Butibufén es de 5,5 minutos, trabajando a una atenuación de 10 × 32.

Los tubos de vidrio necesarios se lavaron con mezcla crómica, se enjuagaron con agua y se secaron.

#### *Curva de calibrado*

Se añadieron separadamente a cada tubo 0,0; 5,0; 10,0; 20,0; ó 40,0 mcl. de una solución acuosa standard de Butibufén sódico (100 mcg/ml.). Se añadieron a cada tubo 5 ml. de hexano reactivo, se agitaron vigorosamente durante dos minutos y se centrifugaron durante cinco minutos a 3.000 r. p. m.

Se tomaron aproximadamente 4 ml. de hexano y se pasaron a un tubo de centrifuga con tapón a rosca de 15 ml. de capacidad. Se repitió de nuevo la extracción con otros 5 ml. de hexano. Al combinado de los dos extractos de hexano se añadieron 5,0 ml. de NaOH 0,1 N. Los tubos se agitaron durante dos minutos y se centrifugaron. La fase orgánica se eliminó por aspiración. Después de ajustar el pH de la fase acuosa a 3,0 con 1,2 ml. de ácido acético glacial se practicó de nuevo una extracción utilizando hexano de calidad para espectroscopia.

La fase del hexano se pasó a un tubo de centrifuga, de fondo cónico, de 10 ml. de capacidad, y se concentró a sequedad en baño de agua a 50° C, bajo una suave corriente de N<sub>2</sub>.

Las paredes del tubo se lavaron dos veces con 0,5 ml. cada vez de hexano de calidad para espectroscopia.

Al residuo se añadieron 20 mcl. del reactivo silanizante, y se agitó en un vibrador durante treinta segundos. Las muestras se conservaron en baño de hielo hasta su lectura.

Se inyectó 1 mcl. de cada muestra en el cromatógrafo de gases.

La concentración se determinó por la diferencia de alturas de los picos del éster con respecto a los del nafta eno (fig. 1). La curva de calibrado se representa en la fig. 2.

El método es reproducible y su sensibilidad es de 0,5 mcg/ml.:

#### *Extracción a partir de la sangre*

Se pipeteó 1 ml. de plasma de perro en cada uno de cinco tubos de centrifuga de 12 ml. de capacidad.

Se añadieron separadamente a cada tubo 0,0; 5,0; 10,0; 20,0 ó 40,0 mcl. de una solución standard de Butibufén sódico (100 mcg/ml.). Se agitó la muestra para asegurar una distribución homogénea de sus componentes.

Se añadieron a cada tubo 2 ml. de una solución acuosa de ácido tricloroacético al 10 por 100. Se mezcló bien y se dejó reposar durante diez minutos.

Se extrajo con 5 ml. de hexano reactivo, como se indicó en el apartado anterior. Después de centrifugar, se tomaron aproxima-

damente 4 ml. de hexano y se pasaron a un tubo de centrifuga con tapón a rosca de 15 ml. de capacidad.

Después de redispersar el precipitado de proteína se repitió la extracción con hexano y se continuó como se especifica en el apartado «curva de calibrado».

Los resultados obtenidos para la extracción del plasma coincidieron con los de la curva de calibrado, con una significación del 95 por 100.

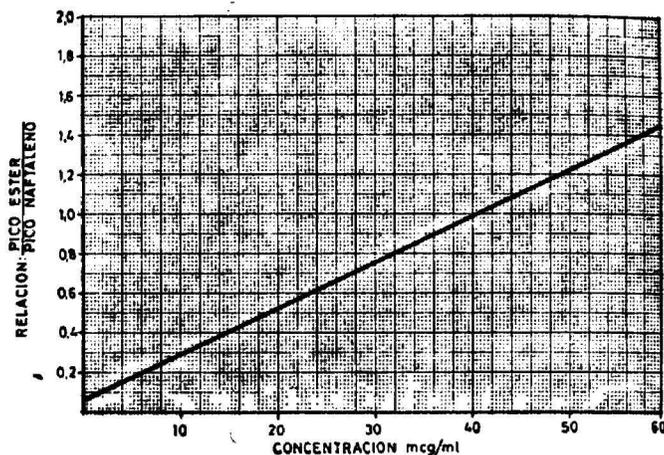
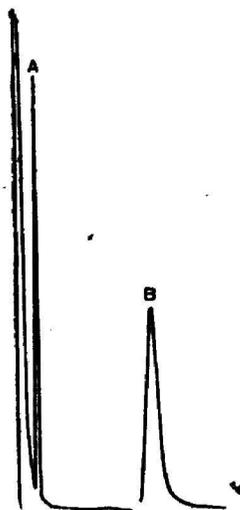


Fig. 2.—Curva de calibrado

x	y encontrado	y calculado	
5	0.175	0.180	$r = -0.999$ $m = 0.02$ $b = 0.05$
10	0.314	0.309	
20	0.570	0.568	
30	0.792	0.810	
40	1.081	1.076	

#### Extracción a partir de la orina

Las muestras de orina se extrajeron de forma análoga a las de sangre, pero sin usar el tricloroacético, por no ser necesaria la desproteinización previa.

#### DETERMINACIÓN DEL MODELO COMPARTIMENTAL Y ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DEL BUTIBUFÉN SÓDICO EN PERROS

Se realizó un estudio previo para determinar el modo farmacocinético aplicable al Butibufén.

Se utilizaron dos perros hembra y uno macho, de pesos corporales: 10,5, 12 y 13,6 kg., respectivamente, a los que se mantuvo en ayunas durante doce horas, con libre acceso al agua.

A cada perro se administró una inyección i. v. de 350 mg. de Butibufén sódico. Se tomaron muestras de sangre a los tiempos 0, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8 horas, y se analizaron por el procedimiento descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se indican en la tabla II y se representan en la fig. 3 en forma semilogarítmica. Cada resultado es el valor medio para cuatro determinaciones y viene expresado en forma de Butibufén ácido.

TABLA II

Administración i. v. de 350 mg. de Butibufén sódico a perros

Tiempo hr	Conc. plasmática mcg/ml		
	Perro A 10,5 Kg H	Perro B 12 Kg H	Perro C 13,6 Kg M
0,5	220	211	210
1	191	176,8	168,8
2	98,4	90,2	86,1
3	67,2	61,6	58,8
4	40,6	37,1	35,5
5	22,4	20,6	19,7
6	12,3	11,4	10,7
8	3,2	3	2,9

La línea de regresión obtenida para todos los puntos hallados experimentalmente, calculada por el método de los mínimos cuadrados, tiene un coeficiente de correlación  $r = -0,999$ , lo que indica que desde el punto de vista farmacocinético, el Butibufén se puede tratar como un modelo monocompartmental abierto.

Los parámetros farmacocinéticos, calculados para la vía endovenosa en perro, se indican en la tabla III y se representan en la fig. 3.

TABLA III

Parámetros farmacocinéticos según un modelo monocompartimental abierto

Sujeto	Peso corp.	Sexo	$K_d$	$A'$	$t^{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$
Perro A ..	10,5	H	0,55	327,01	1,26	92,4	576
Perro B ..	12	H	0,55	301,87	1,26	84,3	570
Perro C ..	13,6	M	0,55	290,03	1,26	80,8	525

 $\bar{x}$  de los parámetros:

$A'$	$K_e$	$t^{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$
306,3	0,55	1,26	87,19	557

Parámetros de las medias:

$A'$	$K_e$	$t^{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$
306,3	0,55	1,26	70,4	557

 $K_d$  = cte. de eliminación ( $hr^{-1}$ ). $t^{1/2}$  = periodo de semivida (hr).

Vd = volumen de distribución (ml/Kg).

 $\int_0^8 cdt$  = área bajo la curva, calculada de la simpsoniana

$$S = \frac{h}{3} (E + 2P + 4I)$$

h = intervalo de abscisas.

E = suma de las ordenadas extremas.

P = suma de las ordenadas pares.

I = suma de las ordenadas impares.

Los valores obtenidos en los tres casos estudiados son tan próximos que no ha sido necesario tener en cuenta el coeficiente de variabilidad.

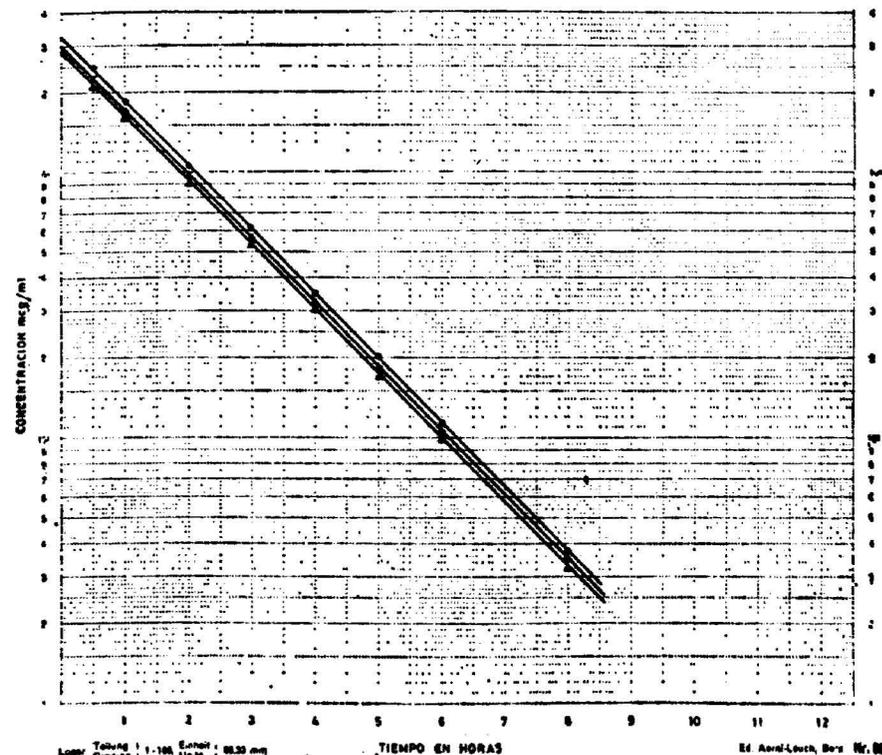


Fig. 3.—Administración IV  
 Perro A ●  
 Perro B x  
 Perro C ▲

## ADMINISTRACIÓN EXTRAVASAL EN EL PERRO

Cálculo de  $t_{max}$ .

A un perro macho de 17 kg. de peso corporal se administró una cápsula de gelatina dura que contenía 350 mg. de Butibufén sódico y se tomaron muestras de sangre a los tiempos 0,0; 0,5; 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2; 2,25; 2,5 y 2,75 h.

Los valores plasmáticos obtenidos figuran en la tabla IV.

TABLA IV

Cálculo del  $t_{max}$  en perro por administración extravasal

t (hr.)	c. mcg/ml
0, 0	0,3
0, 5	33,0
1, 0	57,8
1,25	69,7
1,50	75,4
1,75	68,6
2, 0	54,2
2,25	49,1
2,50	42,8
2,75	39,7

El  $t_{max}$  se alcanzó a los 90 minutos.

TABLA V

Administración oral de 350 mg. de Butibufén sódico en perro

Tiempo (hr)	Concentración plasmática mcg/ml.		
	Perro A (10,5 Kg) H	Perro B (12 Kg) H	Perro C (13,6 Kg) M
0	0,4	0,3	0,4
0,5	22	20,24	18,4
1	50,1	45,8	41,7
1,5	87,5	69,6	68,3
2	72,3	65,9	60,1
3	53,5	48,7	44,5
4	30,7	27,6	25,2
5	20,8	19	17,3
6	11,2	10,1	9,4
8	3,1	2,9	2,65

## ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL

Se administró una cápsula de Butibufén sódico a cada uno de los tres perros descritos anteriormente, a los que se había mantenido en ayunas desde doce horas antes de la prueba, permitiéndoseles el libre acceso al agua. Se tomaron muestras de sangre a los tiempos: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 y 8,0 horas.

Las concentraciones sanguíneas obtenidas se indican en la tabla V, y se representan en la fig. 4.

Los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos de concentraciones sanguíneas, figuran en la tabla VI.

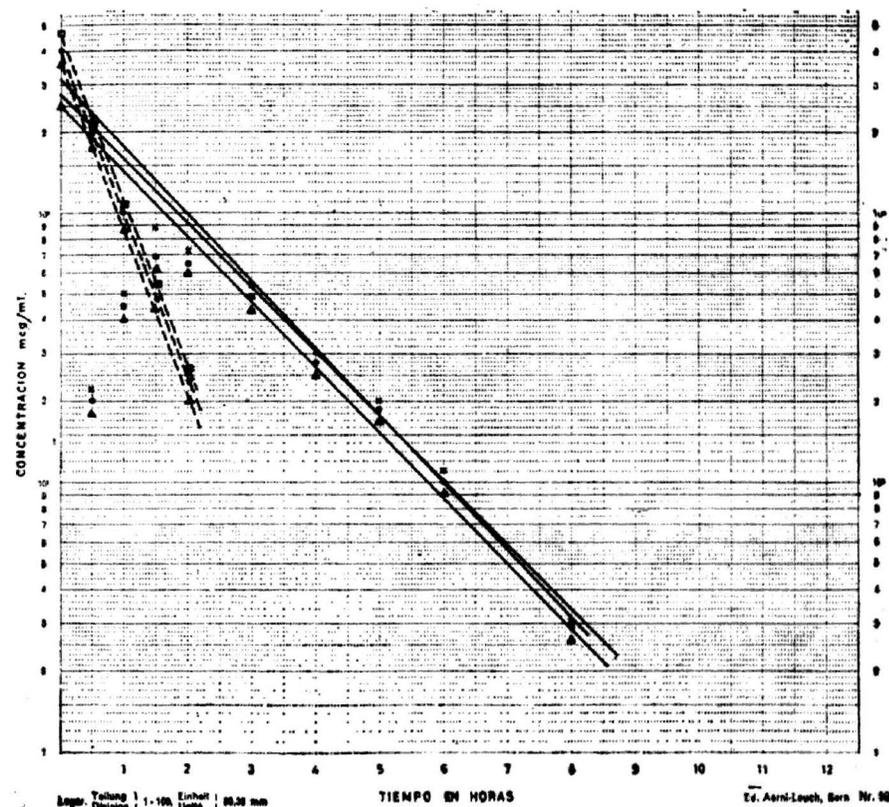


Fig. 4. — Administración oral en perros } Perro A x  
 } Perro B ●  
 } Perro C ▲

TABLA VI

Parámetros farmacocinéticos de acuerdo con un modelo monocompartimental abierto

Sujeto	Peso	S	$K_{el}$	$A'_{0}$	$t^{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	AE
Perro A..	10,5	H	0,56	317,34	1,23	96	253	1,40	47
Perro B..	12	H	0,55	270,42	1,26	98,6	231	1,41	42
Perro C..	13,6	M	0,55	249,63	1,26	94,1	210,5	1,45	39

$\bar{x}$  de los parámetros:

Peso	$K_{el}$	$A'_{0}$	$t^{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	AE
12	0,55	279	1,24	96,24	231,5	1,42	42,6

Parámetros de las  $\bar{x}$ . 1,26 95,8

AE: Absorción eficaz.

Si representamos gráficamente (fig. 5) los valores plasmáticos obtenidos para ambas vías, podemos observar claramente que las curvas correspondientes a la administración extravasal no cortan a sus correspondientes por vía i. v. por el  $t_{max}$ , lo que nos indica que por vía extravasal la absorción no es completa (11).

El hecho de que la diferencia en los valores hallados para ambas vías sea grande, puede deberse también al efecto de «primer paso». Por vía oral, el medicamento absorbido es metabolizado rápidamente por el hígado via porta, y esto explicaría el que los valores encontrados no fueran tan elevados.

En las pruebas farmacológicas realizadas, se ha determinado que el nivel medio hemático mínimo para la objetivación de respuesta es de 10 mcg/ml., lo que nos permite determinar la biodisponibilidad terapéutica por el cálculo de la simpsoniana de la curva limitada por la paralela al eje de abscisas que pasa por el punto correspondiente a los 10 mcg. (12).

La biodisponibilidad terapéutica correspondiente a los dos primeros perros tratados es del 95 por 100, y para el tercero del 90 por 100.

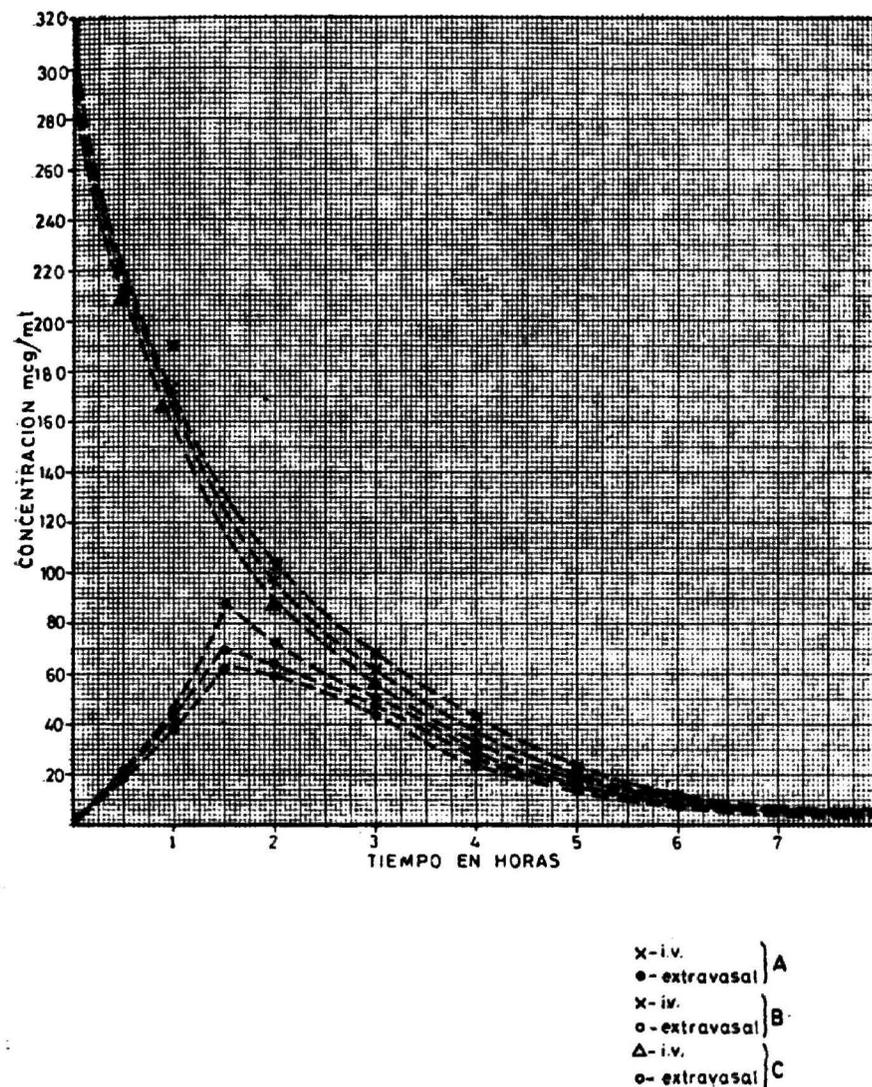


Fig. 5. — Comparación de los niveles plasmáticos por vías I. V. y per/os en perros

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DEL BUTIBUFÉN SÓDICO  
EN VOLUNTARIOS HUMANOS

Se eligieron tres voluntarios varones sanos, de edades comprendidas entre los dieciocho y veinticinco años y pesos corporales entre 53 y 70 kg., todos ellos estudiantes que accedieron libre y voluntariamente a someterse a la prueba. Ninguno de ellos estaba o había estado sometido a ningún tipo de medicación, por lo menos un mes antes de la experiencia, ni había padecido ningún tipo de alteración gástrica, hepática o renal a lo largo de su vida.

Se comenzó la experiencia a las 8 am. y se les administró a cada uno una solución de 350 mg. de Butibufén sódico en 100 c. c. de agua.

Durante las cuatro primeras horas sólo se les permitió beber agua y a la quinta hora de comenzada la experiencia tomaron una comida ligera.

Se tomaron muestras de sangre por venipuntura a los tiempos 0,0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 y 7,0 horas. Se heparinizaron y se centrifugaron para separar el suero, que se conservó congelado a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis. Las concentraciones plasmáticas obtenidas figuran en la tabla VII.

TABLA VII

Administración oral de una solución de 350 mg.  
de Butibufén sódico en voluntario humano

Tiempo (hr)	Concentración plasmática mcg/ml.		
	JHC 70 Kg	FUV 53 Kg	CJI 65 Kg
0	0,4	0,5	0,4
0,5	5,2	21,8	14,2
1	12,6	46	26,5
1,5	22,5	52	43,4
2	19,2	46,8	38,6
3	13	31,2	31,2
4	7,1	21,6	17
5	4	9,9	8,1
6	2,1	4,9	4,4
7	0,8	2,7	2

La línea de regresión de los puntos correspondientes a las concentraciones plasmáticas a partir de las tres horas presenta un coeficiente de correlación  $r = -0,99$ . Los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de estos datos se indican en la tabla VIII y se representan en la figura 6.

TABLA VIII

Parámetros farmacocinéticos según un modelo monocompartimental abierto

Sujeto	Peso	S	$K_{el}$	$A'_{0}$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^7 cdt$	$K_a$	BT
JHC....	70	V	-0,67	106,7	1,03	42,8	60	1,5	92
FUV...	53	V	-0,63	235	1,10	25,66	166	1,39	96
CJI....	65	V	-0,68	252	1,01	19,38	126	1,25	94

$\bar{x}$  de los parámetros:

Peso	$K_{el}$	$A'_{0}$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^7 cdt$	$K_a$	BT
62,6	-0,66	198	1,04	29,28	117,3	1,38	94

Parámetros de las medias:

$t_{1/2}$	Vd
1,05	29,87

La experiencia se repitió después de dos semanas y se administró a los mismos voluntarios una cápsula de gelatina dura que contenía 350 mg. de Butibufén sódico. Las condiciones experimentales fueron idénticas a las anteriores y los resultados obtenidos se expresan en la tabla IX.

Los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los niveles de concentración sanguínea se indican en la tabla X y se representan en la figura 7.

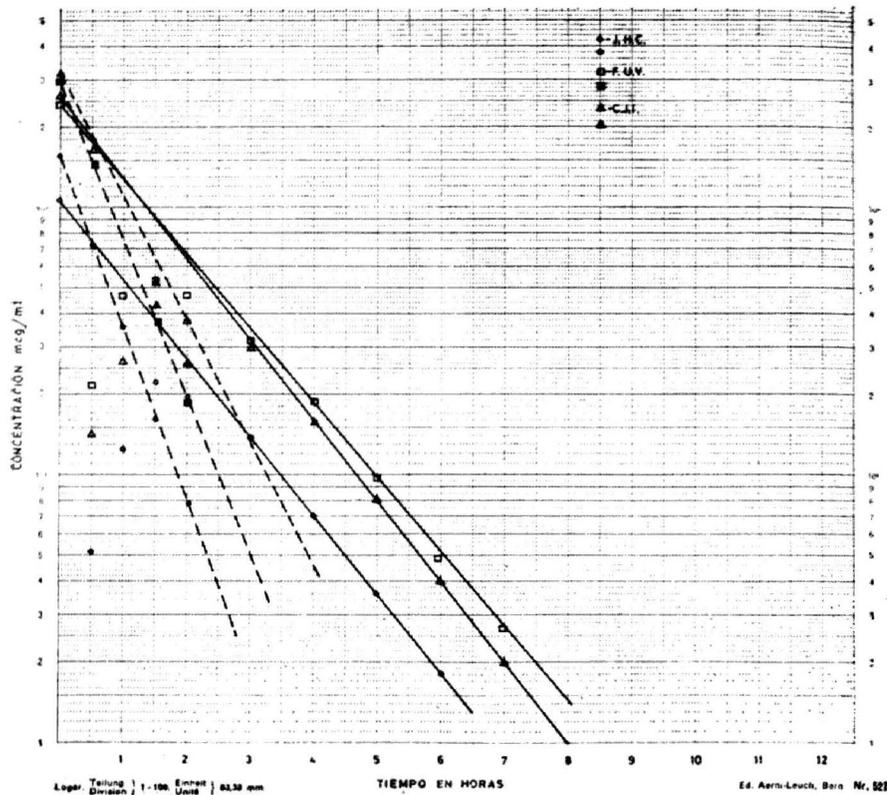


Fig. 6. - Solución oral de la sal sódica en voluntario humano

TABLA IX

Administración oral de una cápsula de 350 mg. de Butibufén sódico a voluntarios humanos

Tiempo (hr)	Concentración plasmática mcg/ml.		
	JHC	FUV	CJI
0	0.2	0.3	0.2
0.5	4.16	18.53	11.8
1	10.1	39.1	22
1.5	18.5	41.2	35
2	15.4	31.2	32.2
3	10.4	26.5	26
4	5.7	18.4	14.2
5	3.2	13.5	6.7
6	1.7	10.9	3.6
7	0.65	—	1.8
8	—	4	0.8

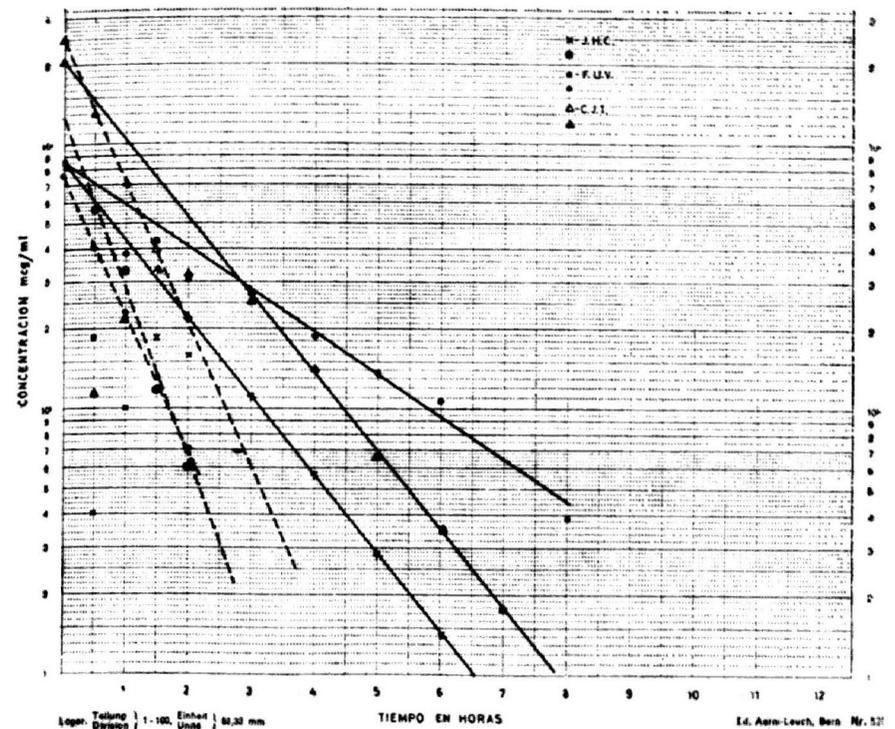


Fig. 7. - Cápsula de sal sódica en voluntario humano

TABLA X

Parámetros farmacocinéticos para la cápsula de 350 mg. de Butibufén sódico en voluntarios

Sujeto	Peso	S	$K_{el}$	$A'_o$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 c dt$	$K_a$	BR	BT
JHC.....	70	V	0.67	84.7	1.03	53.85	48	1.52	80	92
FUV.....	53	V	0.37	84	1.87	71.69	154	1.17	92	98
CJI.....	65	V	0.69	215	1.00	22.77	111	1.21	94	96

$\bar{x}$  de los parámetros:

Peso	$K_{el}$	$A'_o$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 c dt$	$K_a$	BR	BT
62.6	0.57	128	1.30	49.4	104.3	1.3	88.6	95

Parámetros de las  $\bar{x}$ :

$t_{1/2}$	Vd
1,21	48,08

BR: Biodisponibilidad relativa (%).

BT: Biodisponibilidad terapéutica (%).

Al comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos para la sal sódica del Butibufén, por vía oral, en diferentes formas de dosificación, observamos que el Butibufén sódico en voluntario humano obedece también a un sistema monocompartimental abierto.

Las diferencias de niveles sanguíneos obtenidos para ambas formas de dosificación son pequeñas, lo que indica que el Butibufén se absorbe fácilmente al administrarse en forma de cápsulas. Las áreas bajo la curva son similares para ambas vías y la biodisponibilidad terapéutica es buena.

Como cabría también esperar, se obtienen mayores diferencias interpersonales que cuando se trabaja con animales de laboratorio y los datos obtenidos presentan una dispersión mayor, aunque estadísticamente son homogéneos.

#### ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DEL BUTIBUFÉN CÁLCICO

Hemos ensayado la sal cálcica del Butibufén para comprobar si sales de un mismo compuesto con velocidad de disolución muy distinta se comportan farmacocinéticamente de un modo análogo. La sal sódica del Butibufén es muy soluble en el agua, mientras que la sal cálcica es muy poco soluble. Se han preparado cápsulas como forma de dosificación y se han administrado a voluntarios sanos operando en condiciones análogas a las que antes se expresaron para la sal sódica.

Los niveles plasmáticos alcanzados se indican en la tabla XI y se representan en la figura 8.

La línea de regresión de los puntos correspondientes a la fase de eliminación presenta un coeficiente de correlación  $r = -0,99$ .

En la tabla XII figuran los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de los niveles plasmáticos.

TABLA XI

Administración oral de una cápsula de 350 mg. de Butibufén cálcico a voluntarios humanos

Conc. plasmática mcg/ml		
Tiempo (hr)	JPA (77 Kg)	GPA (65 Kg)
0,5	5	2
1	24	18
1,5	25,5	23
2	35	27,8
2,5	40	25,1
3	32,6	19,9
4		14,2
5	20,4	—
6		7,1
8	6	3

TABLA XII

Parámetros farmacocinéticos para la administración oral del Butibufén cálcico

Sujeto	Peso	S	$K_{el}$	$A'_{\infty}$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 c dt$	$K_a$	BT
JPA.....	77	V	-0,28	79	2,47	52,6	173	1,23	99
GPA.....	65	V	-0,38	63,43	1,82	77,5	102	1,36	98

$\bar{x}$  de los parámetros:

Peso	$K_{el}$	$A'_{\infty}$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 c dt$	$K_a$
71	-0,33	71,2	2,14	65	137,5	1,24

Parámetros de las  $\bar{x}$ .

$K_{el}$	$t_{1/2}$	Vd
-0,33	2,10	63,2

Si comparamos los datos obtenidos para ambas sales, observamos que la curva de nivel plasmático para la sal cálcica es algo más platicúrtica, el  $t_{max}$  se ha desplazado una hora y se ha modificado la cte. de eliminación, quizá porque existe un solapamiento entre la absorción y la eliminación. Como consecuencia, la semivida en el organismo ha aumentado también, con lo que se consigue un efecto terapéutico más duradero con muy buena biodisponibilidad terapéutica.

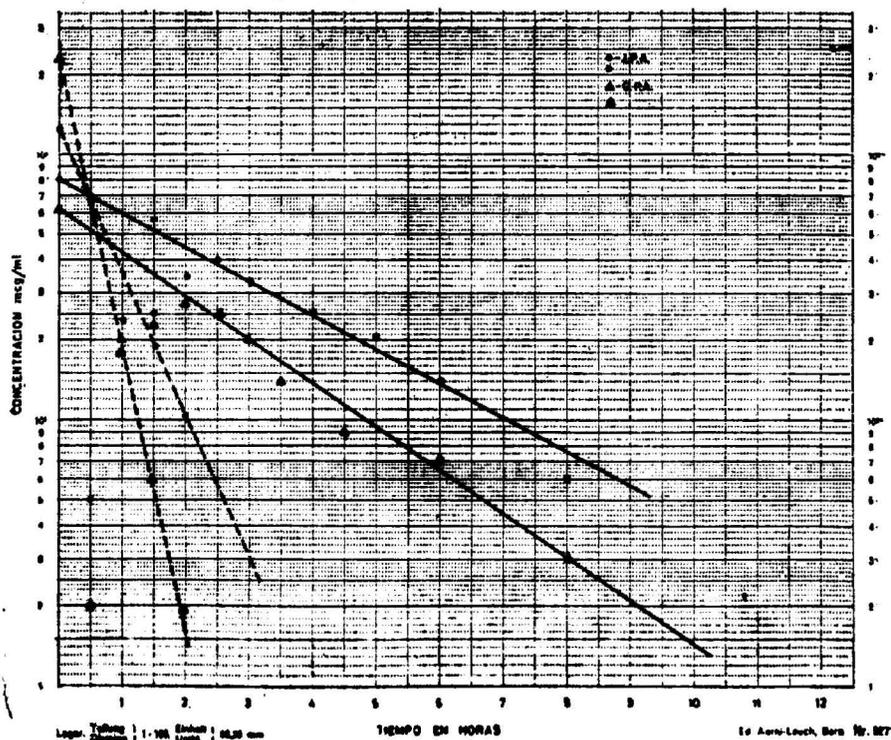


Fig. 8.—Cápsula de sal cálcica en voluntario humano

#### ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DEL BUTIBUFÉN (ÁCIDO) EN VOLUNTARIOS HUMANOS

Para la administración rectal se ha elegido el Butibufén en la forma de ácido libre, fundido en un excipiente inerte, y de este modo evitar la irritación de la mucosa producida por el pH 8,0 de la sal sódica.

El estudio se realizó con tres voluntarios sanos.

A cada voluntario se le administró un supositorio de 500 mg. de Butibufén.

Los resultados obtenidos se expresan en las tablas XIII y XIV y se representan en la figura 9.

TABLA XIII

Administración rectal de 500 mg. de Butibufén  
(ácido)

Tiempo (hr)	Concentración plasmática mcg/ml.		
	AGP (56 Kg)	JYJ (70 Kg)	CCD (97 Kg)
0,5	4	7	5,2
1	7,4	12,1	12,6
1,5	13,2	17,8	15,4
2	26,6	32,8	20,1
3	22	25,5	15,2
4	17,2	17,8	9,4
5	—	10,4	7,1
6	8,3	6,6	4,5
8	3,8	3,5	2,3

TABLA XIV

Parámetros farmacocinéticos para la administración rectal

Sujeto	Peso	S	$K_d$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	BT
AGP.....	56	V	-0,34	62,8	2,03	142,4	100,4	1,45	88
JYJ.....	70	V	-0,40	84,67	1,70	86	112,5	1,49	95
CCD....	97	V	-0,37	44,25	1,87	116,4	76	1,14	71

$\bar{x}$  de los parámetros:

Peso	$K_d$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	BT
74	-0,37	63,9	1,86	114,6	96,8	1,30	84,66

Parámetros de las  $\bar{x}$ :

$t_{1/2}$	Vd	BT
1,87	105,5	87

Como cabía esperar, las curvas se hacen algo más platicúrticas, se desplaza el  $t_{max}$  y el período de semivida se alarga. El área bajo la curva se mantiene constante con una biodisponibilidad terapéutica buena. Estas observaciones nos animaron a buscar formas de dosificación orales en las que se pudieran variar los parámetros farmacocinéticos para conseguir la máxima eficacia terapéutica.

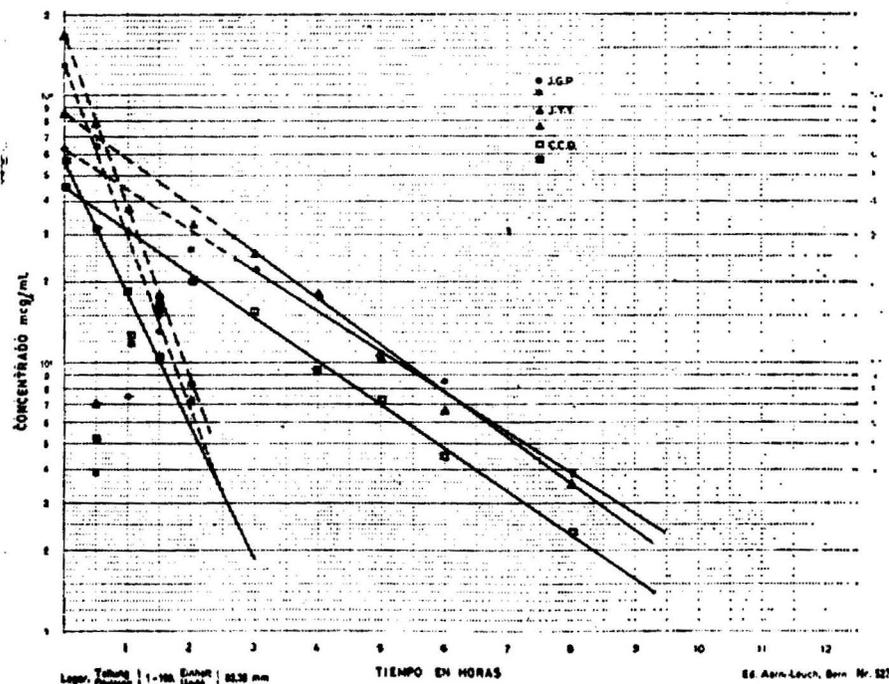


Fig. 9. —Supositorio Butibufén ácido en voluntario humano

#### VARIACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS POR MODIFICACIÓN FARMACOTÉCNICA

Con el fin de alargar el período de semivida del Butibufén en el organismo, manteniendo al mismo tiempo niveles sanguíneos adecuados para conseguir un buen efecto terapéutico, hemos preparado cápsulas de acción sostenida utilizando pectina, a la que se adicionó un 20 por 100 de ortofosfato cálcico como excipiente. La pectina, en presencia de iones  $Ca^{++}$  y en contacto con el jugo gástrico, forma un gel dializante a través del cual se libera, de forma homogénea y progresiva, el Butibufén, según cinéticas de primer

orden. Con ello se evitan además los efectos secundarios de irritación local de la mucosa gastrointestinal, característicos de los antiinflamatorios por vía oral.

#### Preparación

Se mezcló íntimamente la pectina con un 20 por 100 de ortofosfato monocálcico. Se adicionó el Butibufén sódico de modo que existiese un 30 o un 40 por 100 de excipiente, según los casos. Se mezcló de nuevo íntima y homogéneamente. Se comprimió en formas que se pasaron por un tamiz de acero inoxidable de 64 mallas/cm<sup>2</sup> y con este granulado seco se llenaron las cápsulas de gelatina.

Se determinó con un viscosímetro Brookfield M-LV la viscosidad a que daban lugar las cápsulas así preparadas cuando se colocaban en un vaso de 250 c. c. que contenía 100 c. c. de jugo gástrico artificial USP XIX a 20° C.

Los valores encontrados fueron:

1 cápsula (140 mg. excipiente):	5 cP
2 cápsulas (280 mg. excipiente):	13 cP
3 cápsulas (420 mg. excipiente):	102 cP.

Como se observa, los valores crecen de modo exponencial y nos indican la extraordinaria importancia que tiene la cantidad de excipiente que se utilice para modificar la viscosidad del medio y con ello la velocidad de difusión del medicamento.

Nosotros hemos preparado dos concentraciones diferentes de excipiente para la misma cantidad de medicamento y hemos realizado el estudio farmacocinético en voluntarios humanos.

Se eligieron tres voluntarios sanos, varones, de edades comprendidas entre veinte y veinticuatro años y pesos 60, 97 y 70 kg., respectivamente, que permanecieron en ayunas desde doce horas antes de comenzar la prueba. Se les administró a cada uno una cápsula de Butibufén sódico con el 30 por 100 de excipiente. Se tomaron muestras de sangre por venipuntura a los tiempos: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 5,0, 6,0, 7,0 y 8,0 horas. Se conservaron y posteriormente se analizaron cromatográficamente, como ya se ha explicado anteriormente. Los resultados obtenidos para los niveles plasmáticos y los parámetros farmacocinéticos elaborados a partir de los mismos se expresan en las tablas XV y XVI y se representan en la figura 10.

Como se puede observar de los datos obtenidos, el período de semivida ha aumentado, lo mismo que el área bajo la curva con un porcentaje de biodisponibilidad terapéutica muy bueno.

TABLA XV

Administración oral de una cápsula de Butibufén  
sódico con el 30 por 100 de pectina-ortofosfato  
cálcico

Concentración plasmática mcg/ml.			
Tiempo (hr)	JAAR (60 Kg)	CCD (97 Kg)	DHS (70 Kg)
0.5	24,2	2,7	14
1	38,2	4,9	24
1,5	49	—	—
2	38,8	25	31
2,5	34	—	—
3	32,4	24,5	28,3
4	—	22	14,6
5	18,5	15,7	11
6	11,2	12,6	9
7	—	8,4	5,2
8	4,8	7,2	6

TABLA XVI

Parámetros farmacocinéticos según un modelo monocompartimental abierto

Sujeto	Peso	S	$K_{el}$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_e$	BT
JAAR....	60	V	0,34	84,2	1,98	63,3	179	1,81	97
CCD....	97	V	0,28	65,6	2,47	50,3	118	1,15	92
DHS.....	70	V	0,35	69,6	1,98	65,57	132,5	1,83	95

$\bar{f}$  de los parámetros:

Peso	$K_{el}$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_e$	BT
75,7	0,328	78,1	2,14	59,7	143,1	1,59	94,66

Parámetros de las  $\bar{f}$ :

$t_{1/2}$	Vd
2,14	57,8

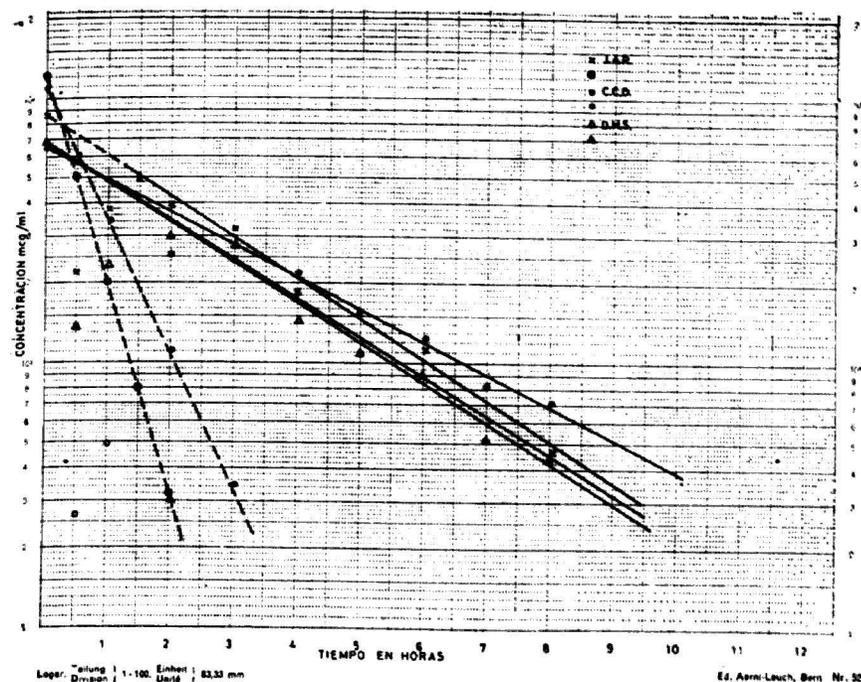


Fig. 10.—Cápsula de 350 mg Butibufén sódico + 30% (pectina-fosfato cálcico)

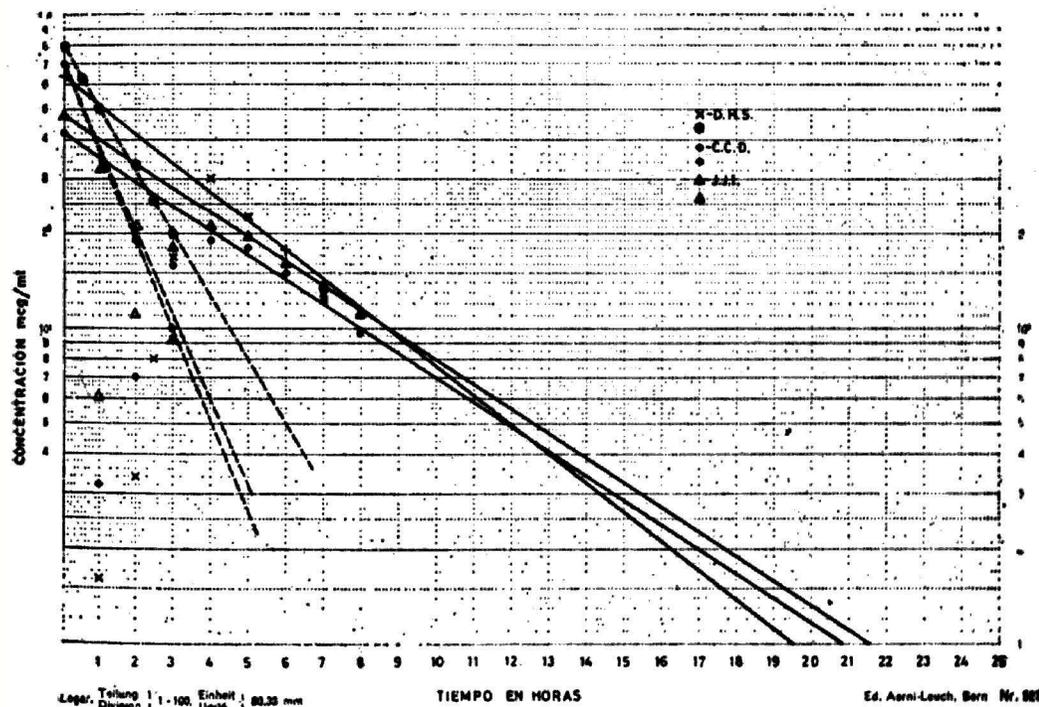


Fig. 11.—Cápsula de 350 mg Butibufén sódico + 40% (pectina-fosfato cálcico)

Hemos ensayado una concentración de excipiente algo mayor (el 40 por 100) y los resultados obtenidos se expresan en las tablas XVII y XVIII y se representan en la figura 11.

TABLA XVII

Administración oral de una cápsula de Butibufén sódico con el 40 por 100 de pectina-ortofosfato cálcico

Tiempo (hr)	Concentración plasmática mcg/ml.		
	JJI (65 Kg)	CCD (97 Kg)	DHS (70 Kg)
0,5	0,5	0,6	0,5
1	3,2	6,2	1,6
2	7,2	11	3,4
2,5	—	—	8
3	16,3	18,6	17,7
4	19	21,8	30
5	17	19,7	22,4
6	15,2	16,8	17,6
7	12,9	14,1	13,4
8	9,9	11,6	11,8

TABLA XVIII

Parámetros farmacocinéticos según un modelo monocompartimental abierto

Sujeto	Peso	S	$K_d$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	BT
JJI.....	65	V	0,21	64,8	3,30	70,28	182,6	0,45	61
CCD.....	97	V	0,17	42,94	4,07	76,7	144,5	0,65	81
DHS.....	70	V	0,17	48	4,07	114,46	172	0,64	70

$F$  de los parámetros:

Peso	$K_d$	$A'_0$	$t_{1/2}$	Vd	$\int_0^8 cdt$	$K_a$	BT
77,3	0,18	52	3,81	87,14	166,3	0,58	70,6

Parámetros de las  $F$ :

$t_{1/2}$	Vd
3,85	79,8

Al ir aumentando la concentración de excipiente, la curva de concentración plasmática se hace más platicúrtica, puesto que se solapan cada vez más los procesos de absorción y los de eliminación; en consecuencia, el  $t_{max}$  se desplaza, los niveles plasmáticos alcanzados son menores, el periodo de semivida en el organismo aumenta y el efecto terapéutico se prolonga por más tiempo. La biodisponibilidad terapéutica disminuye también, pero para esta concentración de excipiente consideramos que es buena, pues las áreas bajo la curva efectiva son comparables a las halladas para la administración de la solución de Butibufén sódico.

Concentraciones mayores de excipiente dan curvas cada vez más platicúrticas y con una biodisponibilidad terapéutica mala, por lo que pensamos que la forma de dosificación óptima para conseguir el mejor efecto terapéutico es la de cápsulas de gelatina que contienen 350 mg. de Butibufén sódico con un 40 por 100 de excipiente.

#### CINÉTICA DE LAS DOSIS MÚLTIPLES DEL BUTIBUFÉN SÓDICO

Como ya hemos indicado anteriormente, el Butibufén es un medicamento antiinflamatorio que se utiliza, por tanto, para tratamientos prolongados de enfermos reumáticos. Esto nos obliga a determinar el nivel terapéutico eficaz en biofase, o en su defecto en el plasma, cómo mantenerlo y cómo evitar la incidencia de efectos tóxicos.

Lo ideal sería conseguir una concentración plasmática que proporcione una meseta terapéutica limitada por los niveles asintóticos plasmático máximo y mínimo, inferiores a la concentración plasmática tóxica y superiores a la concentración correspondiente al nivel medio hemático de objetivación de respuesta.

#### Estudio matemático

Con los datos obtenidos en el estudio farmacocinético de las dosis únicas del Butibufén sódico de cesión sostenida en voluntarios humanos, se realizó el estudio matemático teórico de la cinética de las dosis múltiples.

La concentración asintótica mínima por vía extravasal se calculó según la expresión

$$C_{min, asint.} = \frac{D \cdot K_a}{Vd(K_a - K)} \left( \frac{e^{-K\tau}}{1 - e^{-K\tau}} - \frac{e^{-K_a\tau}}{1 - e^{-K_a\tau}} \right)$$

D = dosis.

$K_a$  = constante de absorción.

Vd = volumen de distribución aparente.

K = constante de eliminación.

$\tau$  = intervalo entre dosis.

Aplicando los datos experimentales se halló un valor

$$C_{\min, \text{asint.}} = 32 \text{ mcg/ml.}$$

Se eligió como intervalo de dosis  $\tau$  = seis horas, en lugar de cuatro, que sería el período de semivida del Butibufén en el organismo, por considerar que a las cuatro horas todavía quedan niveles importantes de Butibufén en el plasma, dadas las características de la cesión por ósmosis regresiva de la forma de dosificación preparada y al mismo tiempo evitar las molestias en la administración al enfermo de dosis repetidas del medicamento.

La concentración asintótica máxima, operando en similares condiciones se calculó por la expresión

$$C_{\max, \text{asint.}} = \frac{D}{Vd} \cdot \frac{K_a}{K_a - K} \left( \frac{e^{-K} a t_{\max}}{1 - e^{-K\tau}} - \frac{e^{-K_a} a t_{\max}}{1 - e^{-K_a\tau}} \right)$$

El valor de  $t_{\max}$  se calculó por la expresión

$$t_{\max} = \frac{2.303}{K_a - K} \lg \left( \frac{K_a}{K} \frac{(1 - e^{-K\tau})}{(1 - e^{-K_a\tau})} \right)$$

Los valores obtenidos al aplicar estas ecuaciones fueron

$$t_{\max} = 1.91 \text{ horas}$$

$$C_{\max, \text{asint.}} = 54 \text{ mcg/ml.}$$

Las dosis necesarias para alcanzar estas concentraciones plasmáticas, calculadas de los datos farmacocinéticos, y mantener el estado de equilibrio durante toda la pauta de administración, se calculó según la expresión

$$D = \frac{C_{\min, \text{asint.}} Vd}{\frac{K_a}{K_a - K} \left( \frac{e^{-K\tau}}{1 - e^{-K\tau}} - \frac{e^{-K_a\tau}}{1 - e^{-K_a\tau}} \right)}$$

Aplicando nuestros datos se obtuvo un valor  $D = 327$  mg. (expresado en ácido), que equivalen a 357 mg. de sal sódica.

Si se desean alcanzar los niveles asintóticos máximo y mínimo desde el comienzo del tratamiento, habría que administrar una dosis de choque inicial que se calcula por la expresión

$$\frac{D^*}{D} = \frac{1}{(1 - e^{-K\tau}) (1 - e^{-K_a\tau})}$$

Aplicando nuestros datos se obtuvo un valor  $D^* = 529$  mg. de Butibufén ácido, correspondientes a 578 mg. de la sal sódica.

El número de dosis necesario para alcanzar el 90 por 100 de la concentración asintótica se calculó de la expresión

$$n = \frac{2.3 \lg(1 - 0.9)}{-K_a}$$

En nuestro caso,  $n = 3$ .

Dado que el Butibufén obedece a un modelo farmacocinético lineal, se aplicó el método de superposición de Wagner (13) a la elaboración de una tabla que permita estimar los niveles sanguíneos de Butibufén administrado en dosis múltiples para cualquier tiempo y además predecir el momento en el que se alcanzará el equilibrio.

Los niveles sanguíneos de Butibufén para cada tiempo se obtuvieron de la expresión

$$C_{(t)} = C_0 \left( \frac{K_a}{K_a - K} \right) (e^{-Kt} - e^{-K_a t})$$

Se dieron a  $t$  valores comprendidos entre 0,5 y 48,0 horas. Una vez resueltas las ecuaciones correspondientes, se obtuvieron los valores de la tabla XIX, que se representan en la figura 12.

Como se observa de los datos obtenidos, el equilibrio se consigue a partir de la quinta dosis.

TABLA XIX

Principio de superposición para la predicción de niveles sanguíneos por administración de dosis múltiples en un sistema lineal

Tiempo (hr)	Dosis								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	0,5	13,07							13,07
	1	20,91							20,91
	2	28,75							28,75
	3	30,06							30,06
	4	28,10							28,10
	5	24,83							24,83
	6	22,22							22,22
2	6,5	20,91	13,07						33,98
	7	18,95	20,91						39,86
	8	16,01	28,75						44,76
	9	13,52	30,06						43,58
	10	11,69	28,10						39,79
	11	9,80	24,83						34,63
	12	8,49	22,22						30,71
3	12,5	7,84	20,91	13,07					41,82
	13	7,17	18,95	20,91					47,03
	14	5,88	16,01	28,75					50,64
	15	5,10	13,52	30,06					48,68
	16	4,30	11,69	28,10					44,09
	17	3,26	9,80	24,83					37,89
	18	3,06	8,49	22,22					33,77
4	18,5	2,82	7,84	20,91	13,07				44,64
	19	2,58	7,17	18,95	20,91				49,61
	20	2,58	5,88	16,01	28,75				53,22
	21	1,30	5,10	13,52	30,06				49,98
	22	1,30	4,30	11,69	28,10				45,89
	23	1,30	3,26	9,80	24,83				39,19
	24	1,10	3,06	8,49	22,22				34,87
5	24,5	1,10	2,82	7,84	20,91	13,07			45,74
	25	1,10	2,58	7,17	18,95	20,91			50,71
	26	1,10	2,58	5,88	16,01	28,75			54,82
	27	1,10	1,30	5,10	13,52	30,06			51,08
	28	0,55	1,30	4,30	11,69	28,10			45,94
	29	0,45	1,30	3,26	9,80	24,83			39,64
	30	0,39	1,10	3,06	8,49	22,22			35,26

6	30,5	0,32	1,10	2,82	7,84	20,91	13,07		46,06
	31	0,32	1,10	2,58	7,17	18,95	20,91		51,03
	32	0,26	1,10	2,58	5,88	16,01	28,75		54,58
	33	0,19	1,10	1,30	5,10	13,52	30,06		51,27
	34	0,19	0,55	1,30	4,30	11,69	28,10		46,13
	35	0,13	0,45	1,30	3,26	9,80	24,83		39,77
	36	0,13	0,39	1,10	3,06	8,49	22,22		35,39
7	36,5	0,13	0,32	1,10	2,82	7,84	20,91	13,07	46,19
	37	0,12	0,32	1,10	2,58	7,17	18,95	20,91	51,15
	38	0,12	0,26	1,10	2,58	5,88	16,01	28,75	54,70
	39	0,12	0,19	1,10	1,30	5,10	13,52	30,06	51,39
	40	0,12	0,19	0,55	1,30	4,30	11,69	28,10	46,25
	41	0,06	0,13	0,45	1,30	3,26	9,80	24,83	39,88
	42	0,05	0,13	0,39	1,10	3,06	8,49	22,22	35,44
8	42,5	0,05	0,13	0,32	1,10	2,82	7,84	20,91	46,24
	43	0,04	0,12	0,32	1,10	2,58	7,17	18,95	51,19
	44	0,03	0,12	0,26	1,10	2,58	5,88	16,01	54,78
	45	0,02	0,12	0,19	1,10	1,30	5,10	13,52	51,88
	46	0,02	0,12	0,19	0,55	1,30	4,30	11,69	46,28
	47	0,01	0,06	0,13	0,45	1,30	3,26	9,80	39,84
	48	0,01	0,05	0,13	0,39	1,10	3,06	8,49	35,43

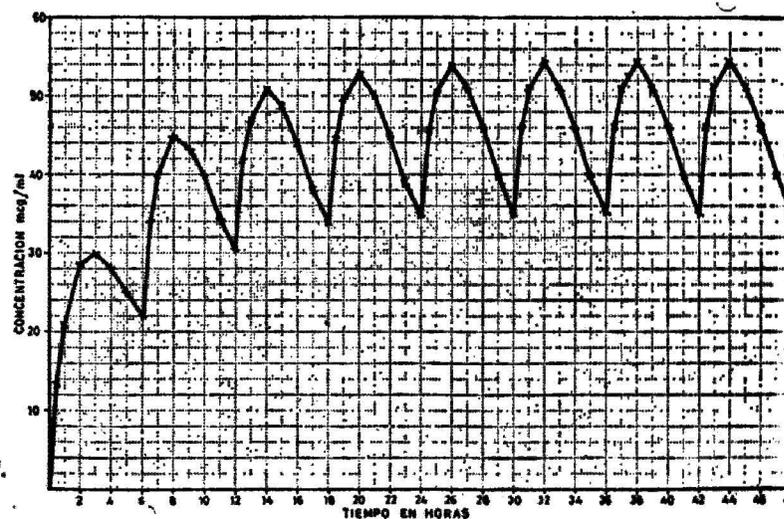


Fig. 12.--Cinética de las dosis múltiples

## ESTUDIO EN VOLUNTARIO HUMANO

Se realizó el estudio farmacocinético de las dosis múltiples del Butibufén sódico en un voluntario sano, varón, de diecinueve años de edad y 63 kilos de peso corporal, que no había tomado ningún tipo de medicamento durante, por lo menos, una semana antes de realizar la experiencia.

Se le administró una cápsula de 350 mg. de Butibufén sódico de cesión sostenida cada seis horas, en un número total de cinco, con la siguiente pauta:

Domingo: 12 m., 6 pm., 0 horas.

Lunes: 6 am., 12 m.

El lunes se tomaron muestras de sangre cada hora, desde las 8 am. hasta la 4 pm., ambas inclusive, y el martes se tomó una muestra a las 12 m., es decir, a las veinticuatro horas de la administración de la última cápsula. Después de extraer el Butibufén, por el procedimiento ya descrito, se procedió a su valoración cuantitativa por cromatografía de gases.

Los valores obtenidos se indican en la tabla XX y se representan en la figura 13.

TABLA XX

Valores plasmáticos del Butibufén tras administración de dosis múltiples en voluntario humano

Día	Tiempo	Concentración mcg/ml
Lunes .....	8 am	45
	9 am	38
	10 am	33
	11 am	29
	12 m	26
	1 pm	37
	2 pm	46
Martes .....	3 pm	48
	4 pm	45
	12 m	1.5

Como puede observarse, los datos experimentales obtenidos, aunque ligeramente inferiores a los teóricos, presentan una buena concordancia con éstos y permiten constatar, en la práctica, que tanto la forma de dosificación elegida como la posología y la pauta de administración empleadas, son correctas desde el punto de vista farmacocinético.

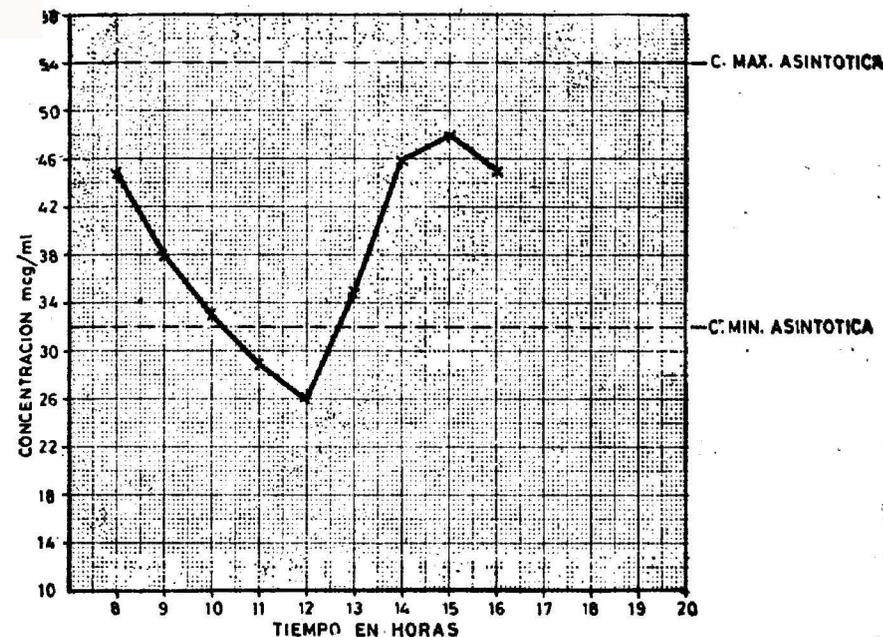
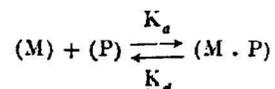


Fig. 13.—Valores plasmáticos del Butibufén tras administración de dosis múltiples a voluntario humano.

## ESTUDIO DE LA FIJACIÓN DEL BUTIBUFÉN A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

El Butibufén, por ser una molécula de carácter ácido y pequeño tamaño, es susceptible de fijarse reversiblemente en gran proporción a las proteínas plasmáticas, con un tipo de unión lábil. Al pH 7,4 del plasma, los aminoácidos arginina, histidina y lisina, pertenecientes a las moléculas de seralbúmina, presentan sus grupos básicos cargados negativamente, por lo que pueden atraer, por fuerzas electrostáticas, a los iones de carga opuesta procedentes del Butibufén (14-18).

El proceso reversible se esquematiza en la ecuación



(M) = concentración de medicamento libre (M/L).

(P) = concentración de proteína libre (M/L).

(M · P) = concentración de, complejo medicamento-proteína.

$K_a$  = constante de asociación.

$K_d$  = constante de disociación.

Se realizó el estudio *in vitro* de la capacidad de fijación del Butibufén a la seralbúmina por medio de las técnicas de diálisis de equilibrio y ultrafiltración (19, 20).

#### Diálisis de equilibrio

#### Reactivos

Butibufén sódico.

Solución tampón de fosfatos pH = 7,4.

Seralbúmina bovina, fracción V (sigma) P. M. 67.000.

Todos los reactivos ya especificados para la extracción y valoración del Butibufén por cromatografía gaseosa.

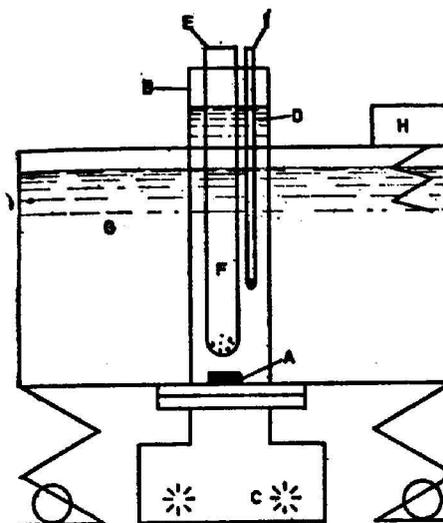
#### Técnica

Se montó el dispositivo que se representa en la figura 14 y que consiste en una bolsa de celofán para diálisis de 4 cm. de diámetro y 37 cm. de longitud, en la que se colocan 100 ml. de solución de seralbúmina bovina al 5 por 100 en tampón de fosfatos a pH 7,4 y unas holitas de vidrio para aumentar el peso y evitar que la bolsa se pliegue.

La bolsa, así preparada, se sujeta a un termómetro y se introduce en una probeta de 500 ml. que contiene 100 mg. de Butibufén sódico disueltos en 500 ml. de solución tampón de fosfatos. Se introduce una barrita magnética, se tapa con Parafilm para evitar la evaporación y el conjunto se sumerge en un baño termostatizado a 37° C. Se conecta el agitador magnético y se sigue la diálisis de equilibrio por análisis periódico de las muestras tomadas de la probeta, hasta conseguir tres valores iguales.

Las muestras se valoraron con un espectrofotómetro Perkin El-

mer 124 de doble haz y registro automático. El Butibufén presentó dos máximos de absorción a 273 nm. y 263 nm., respectivamente (fig. 15).



A-BARRITA MAGNETICA  
B-PROBETA DE 500 ml  
C-AGITADOR MAGNETICO  
D-SOLUCION DE MEDICAMENTO  
E-BOLSA DE CELOFAN PARA DIALISIS  
F-SOLUCION DE PROTEINA  
G-BAÑO DE AGUA  
H-TERMOSTATO  
I-TERMOMETRO

Fig. 14.—Dispositivo para determinar la diálisis de equilibrio

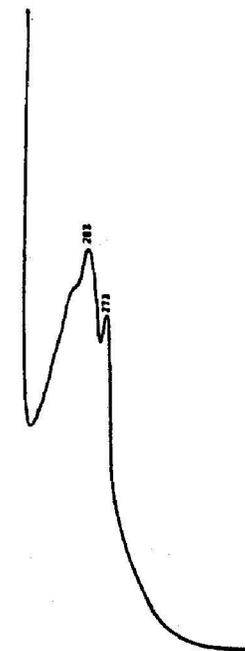


Fig. 15.—Registro gráfico espectrofotométrico

Previamente se realizó una curva de calibrado (fig. 16) con concentraciones comprendidas entre 20 y 200 mcg/ml.

Concentraciones inferiores a 20 mcg/ml. ya no se aprecian por este método, pero nos pareció lo suficientemente sensible para seguir la diálisis de equilibrio, pues al analizar por cromatografía de gases la solución de medicamento, después de concluida la prueba, hemos obtenido iguales resultados.

La ventaja del análisis espectrofotométrico es que las muestras se analizan rápida y directamente sin tratamiento previo y una vez registradas las lecturas se devuelven a la probeta de origen, por lo

que las condiciones se mantienen constantes durante todo el proceso de diálisis.

El equilibrio se consiguió a las veintiséis horas de iniciada la experiencia y el porcentaje de medicamento, unido a las proteínas, fue de un 88 por 100.

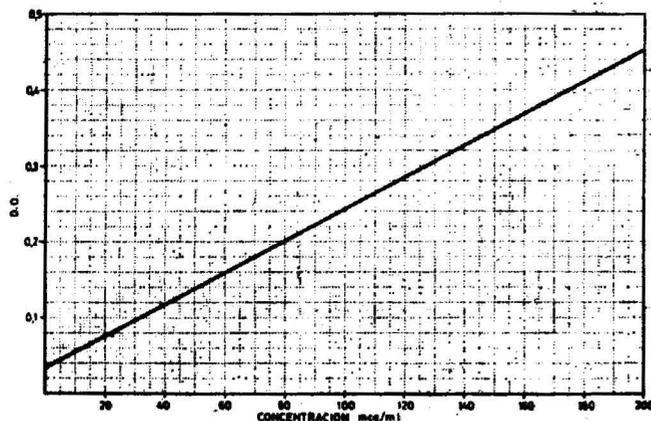


Fig. 16. — Curva de calibrado del Butibufén sódico en solución tampón de fosfatos pH = 7,44  $\lambda = 273$  nm

x	y encontrado	y calculado
20	0,070	0,080
40	0,158	0,148
80	0,200	0,205
120	0,275	0,280
160	0,365	0,361
200	0,435	0,436

$r = 0,998$   
 $s = 0,001$   
 $b = 0,051$

### Ultrafiltración

#### Reactivos y material

Los mismos que para la técnica anteriormente descrita.

Conos «centriflo» de Amicón® (tamaño de poro; 50.000).

#### Técnica

Se añadieron a cada uno de siete tubos con tapón roscado 4 ml. de una solución de seralbúmina al 6 por 100 en solución tampón

de fosfatos a pH 7,4 y 1 ml. de solución de Butibufén sódico en la misma solución tampón, de tal modo que la concentración final de Butibufén sódico fuera: 0,0, 10,0, 20,0, 40,0, 80,0 y 100 mcg/ml.; y la de seralbúmina a 5 por 100. Los tubos se taparon y se colocaron en un baño termostatzado a 37° C con agitación continua durante veintiséis horas.

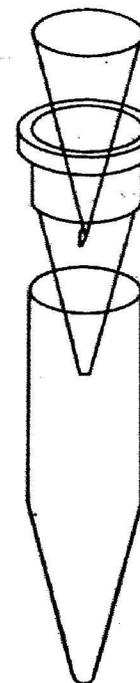


Fig. 17. — Dispositivo para ultrafiltración

Una hora antes de finalizar el tiempo señalado se comenzaron a preparar los conos para la ultrafiltración.

Se sumergieron en agua destilada hasta diez minutos antes de usarlos, se sacaron, se sacudieron ligeramente para retirar el exceso de agua y se montaron en un soporte cónico de polietileno con sumo cuidado para no estropear la membrana. El soporte se encajó en unos tubos de centrifuga graduados, de policarbonato con fondo cónico (ver fig. 17).

En cada cono se colocó el contenido de un tubo y se favoreció la ultrafiltración por centrifugación a 2.000 r. p. m., durante treinta minutos. Todos los compuestos de peso molecular mayor de 50.000

quedan retenidos en el filtro, y en el filtrado se encuentra la porción de medicamento libre.

Se midió el volumen del filtrado y se tomó 1 ml. para su valoración por cromatografía gaseosa, según el método ya descrito.

Para mayor seguridad se recogió el complejo medicamento-proteína con solución tampón de fosfatos a pH 7,4, se desproteinizó y se analizó por cromatografía gaseosa. Se realizó también un ensayo paralelo en blanco, con las mismas concentraciones de medicamento, pero sin proteína.

Los resultados obtenidos figuran en la tabla XXI.

TABLA XXI

Estudio de la fijación del Butibufén a seralbúmina bovina

mcg p uestos	mcg libres	mcg unidos	% unido	A	Moles unidos	V	V/A
10	0.9	9.1	91	$0,04 \times 10^{-7}$	$0,47 \times 10^{-7}$	$0,109 \times 10^{-1}$	$2,72 \times 10^6$
20	2,4	17,6	88	$0,1 \times 10^{-7}$	$0,8 \times 10^{-7}$	$0,214 \times 10^{-1}$	$2,14 \times 10^6$
40	5,1	34,9	87,2	$0,23 \times 10^{-7}$	$1,58 \times 10^{-7}$	$0,423 \times 10^{-1}$	$1,839 \times 10^6$
60	7,8	52,2	87	$0,35 \times 10^{-7}$	$2,37 \times 10^{-7}$	$0,635 \times 10^{-1}$	$1,814 \times 10^6$
80	10,3	69,7	87,1	$0,46 \times 10^{-7}$	$3,16 \times 10^{-7}$	$0,847 \times 10^{-1}$	$1,841 \times 10^6$
100	13,3	86,7	86,7	$0,6 \times 10^{-7}$	$3,94 \times 10^{-7}$	$1,05 \times 10^{-1}$	$1,75 \times 10^6$

A = concentración de medicamento libre (M/L).

V = concentración de medicamento unido (moles) por concentración total de proteína.

Hemos indicado anteriormente que la interacción de un medicamento libre con los aminoácidos de las moléculas de proteínas para formar el complejo medicamento-proteína, obedece a la ley de acción de masas, siendo tanto las constantes de velocidad de asociación como la de disociación de primer orden. En los sistemas *in vivo*, la concentración de proteína es el factor limitante.

En el equilibrio se cumplirá:

$$V = \frac{n K (M)}{1 + K (M)}$$

n = número de puntos de unión de cada clase.

Esta ecuación es aplicable cuando existe un solo tipo de uniones.

La transformación lineal de esta ecuación nos da la modificación de Scatchard (21-23).

$$\frac{V}{A} = nK - VK.$$

La modificación de Scatchard tiene el enorme interés de dar directamente el valor de n. Si se representa gráficamente V/A con respecto a V y se halla la correlación lineal de los puntos obtenidos, la intersección de la recta con el eje de ordenadas es el valor nK, la pendiente de la recta es -K, y su intersección con el eje de abscisas da el valor de n (24).

En la figura 18 se puede apreciar la representación de Scatchard para nuestros valores.

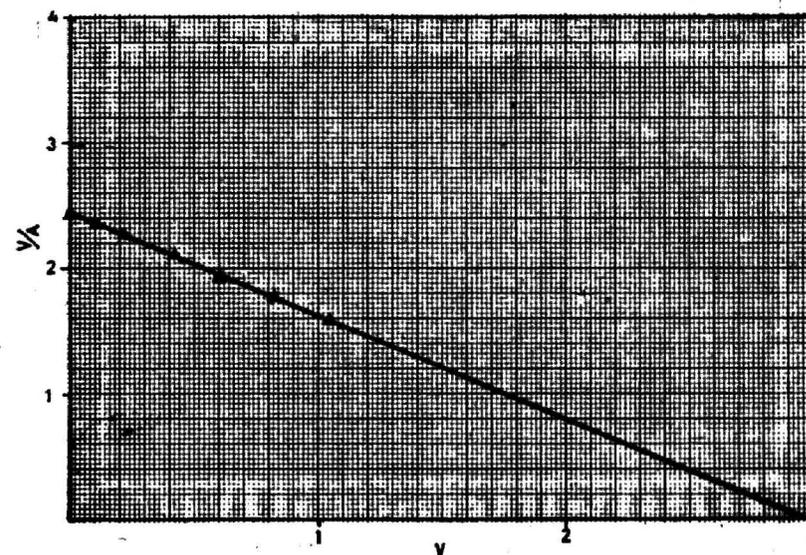


Fig. 18.—Representación de Scatchard

El número de puntos de unión para el Butibufén es de tres.

Análogo valor se ha encontrado al aplicar la ecuación de Edsall:

$$\lg \varphi = \lg \left( \frac{V}{n - V} \right) - \lg (A)$$

$\varphi$  = función de la constante de equilibrio.

Se han dado a  $n$  los valores: 1, 2, 3, 4 y 5, y se ha resuelto la ecuación correspondiente para cada caso.

Para un valor de  $n = 3$ , los puntos obtenidos presentan una buena correlación lineal, como puede apreciarse en la figura 19.

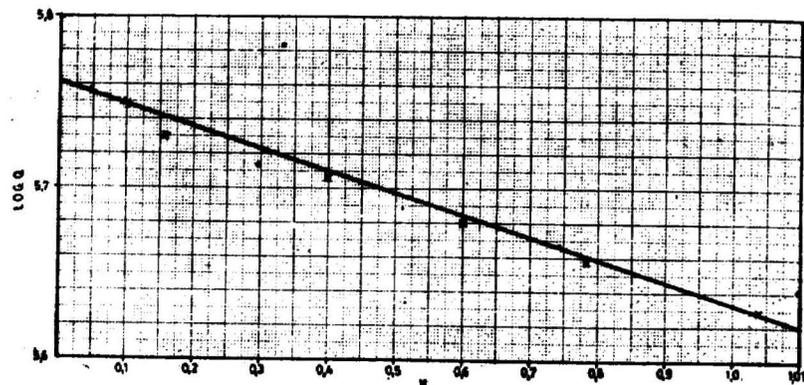


Fig. 19.—Representación de Edfall

El complejo medicamento-proteína recogido de los filtros de membrana se ha liofilizado y se están realizando estudios por R.M.N. para determinar cuál es el lugar de fijación de la molécula de Butibufén a los aminoácidos de la seralbúmina bovina (25). Los resultados obtenidos serán objeto de una próxima comunicación.

Es muy importante conocer el tipo y capacidad de fijación del Butibufén a las proteínas plasmáticas por el efecto de competición que se puede presentar en el caso de terapia múltiple, sobre todo con medicamentos de carácter muy activo.

El tipo de unión debe ser muy lábil, como lo demuestra su corto período de semivida en el organismo.

En el caso de enfermos con hipoalbuminemia o insuficiencia renal aguda, sería necesario recalcular los parámetros farmacocinéticos y adaptar tanto las dosis como la pauta de administración a las necesidades específicas de cada uno de ellos.

#### ESTUDIO DEL CLEARANCE RENAL DE CREATININA EXÓGENA EN PERRO

Hemos utilizado la creatinina exógena como sustancia de referencia para determinar la velocidad de la filtración glomerular y comprobar si la administración de dosis múltiples de Butibufén sódico durante un período de tiempo prolongado altera o no esta función fisiológica.

Se ha seguido la técnica descrita por Ritschel (26).

#### Reactivos y material

Pentobarbital sódico (Nembutal).  
 Suero glucosado 5 por 100 (Rapide).  
 Creatinina.  
 Sondas catéter uretral (Dremoplex) calibre 6/12.  
 Aguja 25/9.  
 Jeringas estériles desechables ICO-CLARA de 10 y 20 ml.  
 Bomba peristáltica de infusión continua (Peristaltic Pump model 1201 HARVARD APPARATUS).

#### Sujeto

Perro mestizo, macho, de dos años de edad y 16 kg. de peso.

#### Técnica

Se anestesia el perro mediante inyección i. v. de una solución de pentobarbital sódico al 5 por 100, a dosis de 30 mg/kg.

Se administra por vía i. v. una solución estéril y apirógena de glucosa al 5 por 100 por infusión continua de 20 ml/kg. durante la primera media hora, se mantiene después la infusión durante el resto de la experiencia a velocidad de 1,5 ml/min.

Se administran por vía s. c. 20 ml. de una solución al 10 por 100 de creatinina en agua destilada estéril. Treinta minutos después se introduce un catéter en la vejiga, se inyectan 10 ml. de aire y se presiona el abdomen para extraer la totalidad de la orina contenida en la vejiga (tiempo 0).

Se sitúa el extremo libre del catéter en una probeta graduada. A los quince minutos se extraen 8 ml. de sangre de la vena radial.

A los treinta minutos se inyecta aire por el catéter y se presiona el abdomen para obtener la totalidad de la orina residual de la vejiga. Se mide exactamente el volumen recogido en los treinta minutos.

#### VALORACIÓN COLORIMÉTRICA DE LA CREATININA

Se diluye la orina recogida en los treinta minutos con agua destilada (1:150).

A cada uno de los cuatro tubos Kimex se añaden: al primero, 4 ml. de la dilución final de orina; al segundo, 1 ml. de plasma desprotenizado y 3 ml. de agua; al tercero, 4 ml. de solución stan-

TABLA XXIII

*Efecto uricosúrico del Butibufén sódico*

Tratamiento (días)	Vol. recogido (c. c.)	Voi. gastado (c. c.)	Concentración
0	12	7,5	8
1	16,8	6,0	14
2	18,7	4,4	21,25
3	77,8	7,3	53,28
4	61,2	5,9	51,8
5	46,1	4,3	53,6

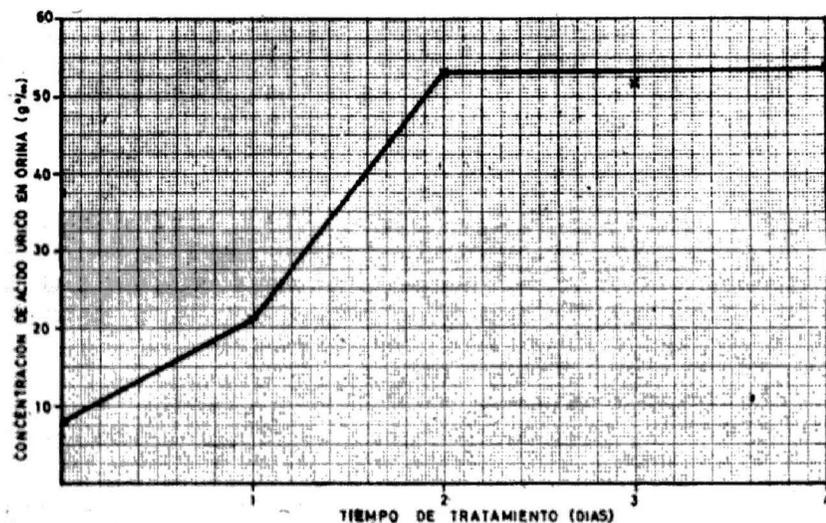


Fig. 20. — Efecto uricosúrico del Butibufén

## ESTUDIO DE LOS METABOLITOS URINARIOS DEL BUTIBUFÉN

Se estudió la eliminación urinaria del Butibufén en un perro de 16 kg.

Se tomó una primera muestra de orina basal, que sirvió como blanco. Se administró al perro una cápsula de 350 mg. de Butibufén sódico y se le sondó a las seis horas para recoger toda la orina contenida en la vejiga.

Se analizó por GLC y TLC para ambas muestras:

- Butibufén libre.
- Glucurónido del Butibufén.
- Conjugados del Butibufén ácido-lábiles.

*Reactivos*

Solución de ClH 2 N.

SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> concentrado.

Solución tampón de acetato sódico 0,2 M., pH 5.

β-glucuronidasa (ex *Petella vulgaris* 2300 UF/mg.)

Todos los reactivos especificados para la extracción del Butibufén de muestras de orina.

a) *Análisis del Butibufén libre*

Se tomó una parte alícuota de orina que se ajustó a pH 4,0 con ácido clorhídrico 2 N.

Se colocó 1 ml. de la muestra en cada uno de los dos tubos de centrifuga de 12 ml. de capacidad. Se extrajo el Butibufén por el procedimiento ya descrito. El contenido del primero de los tubos se valoró por cromatografía en capa fina, y el del segundo por GLC.

b) *Análisis del glucurónido del Butibufén*

Se tomó una parte alícuota de orina que se ajustó a pH 5,0 con ácido clorhídrico 2 N.

Se colocaron 0,25 ml. de la muestra en cada uno de los dos tubos de centrifuga de 10 ml. de capacidad. Se añadieron a cada tubo 500 Unidades Fishman de β-glucuronidasa (28), y 0,1 ml. de solución tampón de acetatos 0,2 M., a pH 5,0.

Las muestras se incubaron durante veinte horas a 37° C, con ligera agitación, y se extrajeron el Butibufén liberado y sus metabolitos por el procedimiento habitual.

Con el contenido del primer tubo se realizó una cromatografía en capa fina, según la técnica ya mencionada. El contenido del segundo tubo se valoró por GLC.

### c) *Análisis de los conjugados del Butibufén ácido-lábiles*

Se tomó una parte alícuota de orina que se ajustó a pH 1,0, con ácido sulfúrico concentrado.

Se colocaron 0,25 ml. de la muestra en cada uno de los dos tubos de centrifuga de 10 ml. de capacidad, y se calentaron en un baño de agua hirviendo durante treinta minutos. Se extrajeron el Butibufén y sus metabolitos por el procedimiento habitual. Con el contenido del primer tubo se realizó una cromatografía en capa fina, según la técnica que a continuación se describe. El del segundo tubo se valoró por GLC.

#### CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

##### *Materiales y método*

Soporte: Placas de Kieselgel 60 F<sub>254</sub> Merck 20 × 20, 0,25 mm.

Fase móvil: benceno, metanol, ac. acético glacial (18,3:2:1,6) v/v.

Recorrido: 15 cm. desde el origen (1,6 cm. de la base).

Tiempo de elución: aproximadamente ochenta a noventa minutos.

Concentración: 20 µl de solución clorofórmica de Butibufén ácido al 2 por 100.

Revelador: observado a la luz UV de 254 mµ se ven manchas oscuras sobre fondo fluorescente. Utilizando como revelador una solución alcohólica de azul de bromofenol al 0,1 por 100, alcalinizada con NaOH, se espraya la placa, se seca en estufa a 110° C durante una hora, y se observan bajo luz UV. de 365 mµ manchas de color rojo sobre fondo violeta (\*).

R<sub>f</sub> encontrado: 0,57.

##### *Resultados*

En la placa de Kieselgel se depositan 20 µl. de cada una de las siguientes soluciones:

- 1.º Procedente del análisis de Butibufén libre.
- 2.º Blanco correspondiente.

- 3.º Procedente del análisis del glucurónido del Butibufén.
- 4.º Blanco correspondiente.
- 5.º Procedente de los conjugados del Butibufén ácido-lábiles.
- 6.º Blanco correspondiente.
- 7.º Solución clorofórmica standard de Butibufén ácido.

Una vez eluida la placa y seca, se observó a la luz U. V. de 254 mµ y posteriormente se reveló con la solución alcohólica alcalina de azul de bromofenol.

En los recorridos de los puntos 2, 4 y 6, correspondientes a los blancos, no se apreció ninguna mancha. En el recorrido del punto 1, correspondiente al Butibufén libre, y en el del punto 3, correspondiente a la hidrólisis enzimática del glucurónido del Butibufén, se apreció una sola mancha para cada uno, más intensa en el segundo que en el primero y ambas con un R<sub>f</sub> = 0,57.

En el recorrido del punto 5, correspondiente a la hidrólisis ácida de los conjugados ácido lábiles del Butibufén y sus metabolitos, se observaron dos manchas, una muy intensa de R<sub>f</sub> = 0,57 y otra de intensidad menor y R<sub>f</sub> = 0,47.

#### CROMATOGRAFÍA GASEOSA

Las muestras obtenidas se valoraron cuantitativamente por GLC, según la técnica habitual.

En la fig. 21 se pueden observar los cromatogramas correspondientes a las tres muestras analizadas. En los cromatogramas de los blancos respectivos, sólo se detectó el pico del patrón interno.

La cantidad de Butibufén excretada como glucurónido se calculó de la diferencia entre las cantidades de Butibufén existentes antes y después de la hidrólisis enzimática.

Los niveles de los conjugados ácido-lábiles urinarios del Butibufén se calcularon por diferencias entre la cantidad de Butibufén analizada después de la hidrólisis con la β-glucuronidasa y la cantidad analizada después de la hidrólisis ácida.

Los resultados obtenidos se indican en la tabla XXIV

Como se puede apreciar en los cromatogramas, se elimina una parte muy pequeña del Butibufén administrado en forma libre y la proporción mayor eliminada es en forma de glucurónido; por hidrólisis enzimática se obtiene un solo producto, cuyo tiempo de retención coincide con el del Butibufén. Los resultados son concordantes con los obtenidos por cromatografía en capa fina y el total recuperado de la orina coincide también con los datos obtenidos para la absorción eficaz por vía oral en el perro.

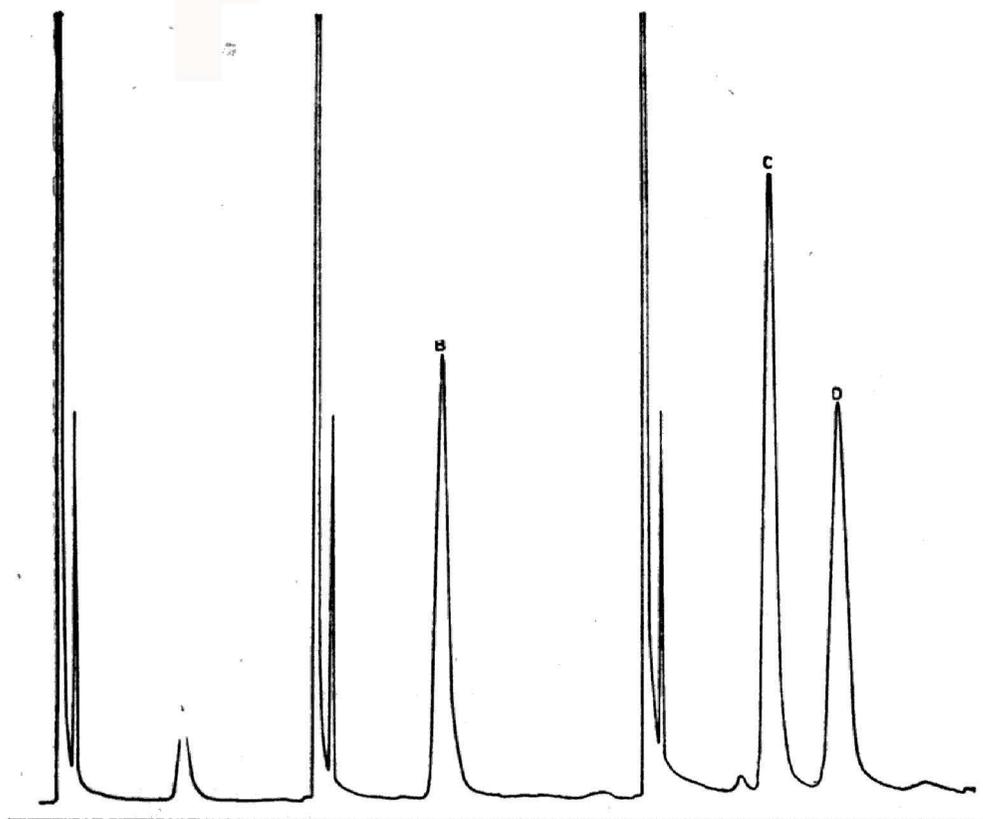


Fig. 21.—A Butibufén libre; B Glucurónido del Butibufén; C Conjugado ácido lábil del Butibufén; D Conjugado ácido lábil de un metabolito no identificado del Butibufén

Por hidrólisis ácida se obtienen 2 productos de características muy similares, y tiempo de retención 5,5 minutos y 9,6 minutos respectivamente. Estos resultados también son concordantes con los obtenidos por cromatografía en capa fina.

El segundo metabolito se ha aislado por cromatografía en capa preparativa y se están realizando estudios de espectro de I. R., espectro de R. M. N. y espectrometría de masas para su identificación (29, 30) y que serán objeto de una comunicación posterior.

Paralelamente se sigue una investigación con Butibufén. H<sup>3</sup> (\*\*) para el estudio del ciclo enterohepático, historradiografías de órganos aislados y metabolismo, que se comunicará oportunamente.

TABLA XXIV

Excreción de Butibufén y sus metabolitos en orina de perro

Cantidad eliminada en 8 hr.	Butibufén libre	Glucurónido del Butibufén	Conjugado ácido-lábil del Butibufén	Conjugado ácido-lábil de metabolito no identificado	Total
mg	1,43	57,08	25,83	54, 4	138,73
% de la dosis recuperada	1,03	41,14	18,61	39,21	100
% de la dosis administrada	0,44	17,83	8	17	43

#### DISCUSIÓN

En el último decenio se han publicado innumerables trabajos (31-39) sobre biodisponibilidad y farmacocinética que demuestran que los problemas planteados no son casos aislados, sino que afectan a muchos medicamentos importantes. Para el farmacéutico se abre un campo apasionante, no sólo desde el punto de vista científico, sino también desde el ético, pues ya no es suficiente la elaboración de una buena forma de dosificación y el control de todos sus parámetros farmacotécnicos, sino que es exigible que ese medicamento alcance la circulación sistémica y actúe en la biofase produciendo la respuesta farmacológica adecuada, con la máxima efectividad y el mínimo de efectos secundarios o aleatorios.

Será posible elaborar una terapia medicamentosa efectiva y segura cuando se conozcan los parámetros farmacocinéticos del medicamento en el paciente al que va destinado, de ahí el enorme interés y la necesidad de desarrollar la Farmacia Clínica al mismo nivel que existe ya en otros países.

Con nuestro trabajo, no hemos querido sólo estudiar en profundidad el proceso que sufre un medicamento dentro del organismo, sino también demostrar la importancia de la formación integral del Farmacéutico y del cultivador de las ciencias afines en el desarrollo de la Farmacia moderna.

Hemos elegido para nuestro estudio el Butibufén, medicamento antiinflamatorio que ha dado buenos resultados en los ensayos clí-

nicos realizados. El estudio farmacocinético previo demostró que el Butibufén obedecía a un modelo monocompartmental abierto, siendo su disposición muy rápida, por lo que el compartimento periférico se puede considerar como despreciable.

Por vía oral, la absorción de la sal sódica es fácil, aunque no completa, encontrándose ya niveles apreciables en sangre a la media hora de su administración. El nivel plasmático máximo se consiguió a los noventa minutos.

Los resultados obtenidos, tanto en perros como en voluntarios humanos, son análogos, aunque la dispersión de los valores y las variaciones intersujetos son mucho menores en los primeros. Esto se debe a que las variables externas son mejor controladas en los animales de laboratorio, pues todos están sometidos a una dieta y un régimen de vida y condiciones externas iguales, factores que son muy difíciles de controlar en voluntarios sanos.

En el caso de la absorción de la sal cálcica por vía oral, ha cambiado el perfil de la curva de absorción-eliminación con desplazamiento del  $t_{max}$ . Los valores alcanzados a los treinta minutos son muy bajos, lo que sugiere que existe un lapso de tiempo de aproximadamente diez-quince minutos antes de que el Butibufén empiece a absorberse, posiblemente por la escasa solubilidad de la sal cálcica. Al prolongarse el tiempo de absorción, aun eliminándose el producto a la misma velocidad, el efecto terapéutico tiene una duración más prolongada, como se observa de su período de semivida.

La biodisponibilidad terapéutica es buena, por lo que sería interesante su uso desde el punto de vista terapéutico.

El problema que se nos planteó con la sal cálcica fue la presencia de polimorfos de biodisponibilidad muy diferente, hasta el punto de que sales cálcicas del Butibufén perfectamente cristalizadas no se absorbieron en absoluto. Este interesante punto está siendo objeto de un estudio más detallado por análisis térmico diferencial y determinación de la biodisponibilidad de los diferentes polimorfos obtenidos (40).

Por vía rectal se eligió la forma de Butibufén ácido libre para evitar la irritación de la mucosa rectal en contacto con el elevado pH de la sal alcalina.

Se realizó una prueba previa en perro para comprobar que no había diferencias entre los parámetros farmacocinéticos de la sal sódica y del ácido.

La dosis por vía rectal se elevó a 500 mg. de ácido (equivalentes a 548 mg. de la sal sódica), ya que la absorción eficaz por esta vía es menor que por vía oral. Al cederse más lentamente el principio activo, se prolonga la fase de absorción que se solapa con la de eliminación y el efecto terapéutico se prolonga de un modo algo similar al que tenía lugar en la administración de la sal cálcica por

vía oral. Este hecho nos llevó a preparar formas de dosificación orales de cesión sostenida, pues al mantener por más tiempo el Butibufén en el lugar de absorción, se consigue un efecto similar al arriba mencionado, con la ventaja de que se puede prolongar todavía más su período de semivida, con una buena disponibilidad terapéutica, pudiéndose, de este modo, espaciar las tomas de medicamento y mantener durante todo el tratamiento niveles hemáticos efectivos, como se deduce del estudio de la cinética de las dosis múltiples.

Este hecho confirma la importancia del estudio farmacocinético para optimizar la forma de dosificación y el cálculo adecuado de la dosis y la posología para una población estadísticamente homogénea, con la posibilidad de considerarse casos aislados y tratarlos según sus necesidades.

Estudios de fijación a proteínas plasmáticas, realizados *in vitro*, han demostrado que el Butibufén se fija a la seralbúmina en un 88 por 100 a pH 7,4. Los datos obtenidos se confirmaron *in vivo* por análisis de las muestras de plasma recogidas a diferentes tiempos después de la administración oral de Butibufén sódico y sometidas al proceso de ultrafiltración.

El Butibufén se metaboliza rápida y considerablemente en el hígado, como lo demuestra el hecho de que aparezca en orina muy pronto y en forma principalmente de conjugado ácido lábil y de glucurónido. Es una confirmación más de la importancia de los parámetros calculados y nos hace reconsiderar que los valores encontrados para el Butibufén en el plasma, cuando se ha administrado por vía oral, son menores de las cantidades realmente absorbidas por haber sufrido el medicamento el efecto de primer paso.

La eliminación por vía urinaria no afecta el proceso de filtración glomerular, ni aun en el caso de la administración de dosis múltiples durante un período de tiempo prolongado, como se observa de los valores de clearance renal de creatinina exógena en perros sometidos a tratamiento crónico.

Al igual que otros antiinflamatorios, el Butibufén es uricosúrico, elevando los niveles de ácido úrico eliminados por el perro 6,5 veces después de tres días de tratamiento, aspecto muy interesante en el tratamiento de enfermos reumáticos.

Son de señalar dos hechos curiosos:

1.º En la administración oral de Butibufén sódico, nos hemos encontrado con un voluntario, F. U. V., que presentó anomalías plasmáticas macroscópicas, cuyo comportamiento cinético difirió del de los otros dos voluntarios. La constante de absorción fue similar en los tres casos tratados, pero la de eliminación fue inferior para F. U. V., prolongándose la semivida del Butibufén en el organismo,

casi el doble de tiempo. Hecho que se ha interpretado como estrechamente ligado a la fijación del Butibufén a las proteínas plasmáticas.

2.º En el caso de la administración oral de Butibufén en cápsulas de cesión sostenida, uno de los voluntarios, C. C. D., pesaba 97 kg. La constante de absorción del Butibufén fue similar a la de los otros dos voluntarios tratados, el  $t_{max}$  fue el mismo, el  $y_{max}$  fue inferior al de los otros dos voluntarios, pero proporcional a los volúmenes de distribución, sin embargo, en la eliminación, los valores alcanzados son superiores al de los otros dos voluntarios, lo que indica una fijación selectiva del Butibufén a los lípidos.

### CONCLUSIONES

1.º El Butibufén se absorbe del tracto gastrointestinal según cinética de primer orden, independientemente de la forma de dosificación y de la forma ácida o sal administrada.

2.º Desde el punto de vista cinético, obedece a un modelo mono-compartimental abierto.

3.º El período de semivida depende de la forma de dosificación administrada, pues la constante de eliminación obtenida para la sal cálcica, las formas de cesión sostenida y los supositorios es una constante de eliminación aparente al solaparse los procesos de absorción con los de eliminación.

4.º Las dosis y posología elegidas, de acuerdo con el cálculo matemático teórico, son correctas en la práctica.

5.º El Butibufén se fija en un 88 por 100 a las proteínas plasmáticas.

6.º El Butibufén se metaboliza rápidamente en el hígado y se elimina en forma de glucurónido y de conjugado ácido lábil, sin afectar al proceso normal de filtración glomerular, aun en tratamiento prolongado.

7.º El Butibufén es uricosúrico.

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) NORTHOVER, B. J.: «J. Pathol. Bacteriol.», 85, 361 (1963).
- (2) ADAMS, S. S. and CLIFFE, E. E.: «Nature», 200, 271 (1963).
- (3) ADAMS, S. S. and CLIFFE, E. E.: «J. Pharm. Pharmacol.», 17, 173 (1956).
- (4) ADAMS, S. S. and CLIFFE, E. E.: «J. Pharm. Sci.», 56, 1686 (1967).
- (5) RUBIN, A.; RODDA, B. E.; WARRICK, P.; RIDOLFO, A. and GRUBER, C. M.: «Ibid.», 60, 1797 (1971).

- (6) RUBIN, A.; RODDA, B. E.; WARRICK, P.; RIDOLFO, A. and GRUBER, C. M.: «Ibid.», 61, 5, 739 (1972).
- (7) NASH, J. F.; BOPP, R. J.: «J. Pharm. Sci.», 60, 1062 (1971).
- (8) KAISER, G. D.: «Ibid.», 63, 784 (1974).
- (9) KAISER, G. D. and VANGIESSEN, J. G.: «Ibid.», 63, 219 (1974).
- (10) KAISER, G. D. and VANGIESSEN, J. G.: «Ibid.», 65, 269, (1976).
- (11) CADÓRNIGA, R. y PAZO, S.: «Arch. Farmacol. y Toxicol.», 1, 211 (1975).
- (12) CADÓRNIGA, R. y ARIAS, I.: «Boll. Chim. Farm.», 112, 586 (1973).
- (13) WAGNER, J. G.: «Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics». 1ª edición. Drug Intelligence Publications Inc. Hamilton Illinois. 62341, pág. 137.
- (14) RITSCHER, W. A.: «Handbook of Basic Pharmacokinetics». 1ª edición, 1976, pág. 120.
- (15) MIZUSHIMA, Y. and SUZUKI, H.: «Arch. Int. Pharmacodyn.», 1, 157 (1964).
- (16) WITZGALL, H. und BOYENS, H.: «Ibid.», 3-4, 148 (1964).
- (17) JUSKO, W. J. y LEVY, G.: «J. Pharm. Sci.», 58, 58 (1969).
- (18) BOYER, P. D.; BALLOU, G. A. and LUCK, J. M.: «J. Biol. Chem.», 167, 107 (1947).
- (19) KLOTZ, I. M.; WALKER, F. M. and PIVAN, R. B.: «J. Am. Chem. Soc.», 68, 1486 (1946).
- (20) KLOTZ, I. M.; BURKHARD, R. K. and URGUART, J. M.: «Ibid.», 74, 202 (1952).
- (21) TERESI, J. D.; LUCK MURRAY, J.: «J. Biol. Chem.», 174, 653 (1948).
- (22) GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L. and KOLMAN, S. M.: «Principles of Drug Action. The basis of Pharmacology», 2ª edición, pág. 50.
- (23) SCATCHARD, G.: «Ann. N. Y. Acad. Sci.», 51, 660 (1949).
- (24) GOLDSTEIN, A.: «Pharm. Rev.», 1, 102 (1949).
- (25) FISCHER, J. J. and JARDETZKI, O.: «J. Am. Chem. Soc.», 87, 3237 (1965).
- (26) RITSCHER, W. A.: «Laboratory Manual of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics». «Drug Intelligence Publications Inc.», pág. 257 (1974).
- (27) PIALA, J. J.; POUTSIKA, J. W.; SMITH, C. I.; BURKE, J. C. and CRAVER, B. N.: «J. Pharm. Expt. Therap.», 134, 273 (1961).
- (28) BERGMAYER, N.: «Methods in Enzymatic Analysis», pág. 400; 2ª edición. «Verlag Chemie Academic Press» (1974).
- (29) BROOKS, J. W. and GILBERT, T. M.: «J. Chrom.», 90, 541 (1974).
- (30) BROOKS, J. W. and GILBERT, T. M.: «Mass. Spectrom. Biochem. Med. Symp.», pág. 379. Raven Press, New York (1974).
- (31) RITSCHER, W. A.: «Boll. Chim. Farm.», 112, 137 (1973).
- (32) FELDMAN, G. E.: «J. Pharm. Sci.», 61, 8 (1972).
- (33) GIBALDI, M. and LEVY, G.: JAMA, 235, 1864 (1976).
- (34) GIBALDI, M. and LEVY, G.: JAMA, 235, 1987 (1976).
- (35) TEORELL, T.; DEDRICK, R. L. and CONDLIFFE, P. G.: «Pharmacology and Pharmacokinetics. Proceedings of an international conference held at the John E. Fogarty International Center for Advanced Study in the Health Sciences. Maryland. 30 oct.-1 nov. 1972.
- (36) «Clinical Pharmacokinetics. A Symposium. American Pharmaceutical Association Academy of Pharmaceutical Sciences, oct. 1974.
- (37) «Recommendations from the Drug Bioequivalence Study Panel to the Office of

*Technology Assessment, Congress of the United States, «Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics»,* vol. 2, núm. 5 (1974).

- (38) SMOLEN, F. V. and WEIGAND, A. W.: «J. Pharm. Biopharm.», 1, 329 (1973).  
 (39) RIEGELMAN, S.; ROWLAND, M. and BENET, L. Z.: *Ibid.*, 1, 83 (1973).  
 (40) MARTÍNEZ OLLER, B.; CADÓRNIGA CARRO, R.; REVILLA DE GRANDA, R.; MARTÍNEZ DE LA GÁNDARA, M.: *Polimorfismo de la sal cálcica del Butibufén*. Comunicación presentada al 2.º Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética, Mayo 1977. Publicación del Colegio Oficial de Farmacéuticos. Madrid.

(\*) DOMÍNGUEZ GIL, A.: Comunicación personal.

(\*\*) Comunicación que se presentará en el III Congreso Internacional Farmacéutico Mediterráneo. Tolouse, mayo 1978.

#### OBRAS CONSULTADAS

- (1) PLA DELFINA, J. M. y DEL POZO OJEDA, A.: *Manual de Iniciación a la Biofarmacia. Farmacocinética Aplicada*. Universidad de Barcelona. Departamento de Farmacia Galénica. 1974.  
 (2) ARIENS, E. J.: *Physico-Chemicals aspects of Drug Action. Proceedings of the 3rd. International Pharmacological Meeting*. 1966. Sao Paulo.  
 (3) SWARBRICK, J.: *Currents concepts in the Pharmaceutical Sciences. Dosage Form Design and Bioavailability*. Lea y Fabiger. Philadelphia. 1973.  
 (4) RABINOWITZ, J. L. and MYERSON, R.: *Absorption Phenomena Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 4. 1971.  
 (5) BRODIE, B. B. and HELLER, W. M.: *Bioavailability of Drugs*. Proceedings of the Conference on Bioavailability of Drugs. Washington. 1971.  
 (6) GIBALDI, M. and PERRIER, D.: *Pharmacokinetics*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1975.  
 (7) NOTARI, R. E.: *Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. An introduction*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1975.  
 (8) MCMAHON, F. G.: *Pharmacokinetics, Drug metabolism and Drug Interactions*. Futura Publishing Company. 1974.  
 (9) WAGNER, J. G.: *Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics*. Drug Intelligence Publications. Hamilton, Illinois. 1971.  
 (10) ROLAND, M. y REVILLA, DE GRANDA, R.: *5ème. Colloque de Pharmacie Industrielle*. Lille, le 12 Mai 1973. Association Lilloise des Pharmaciens Industriels. Lille.  
 (11) SAUNDERS y FLEMING: *Mathematics and Statistics for use in the biological and Pharmaceutical Sciences*. The Pharmaceutical Press. 1971.

## Inhibición selectiva del crecimiento en estirpes de *Salmonella typhimurium* producida por colifagos. Investigación de factores asociados similares a bacteriocinas

por

ERNESTO GARCIA LOPEZ

### Segundo accesit al Premio de la Academia

#### SUMMARY

Both smooth and rough strains of *Salmonella typhimurium* are sensitive to the coliphage BF23. This phage is neither restricted nor modified in *Salmouella* strains. *GaIE* mutants and other rough strains supported phage development almost as well as *Escherichia coli* but smooth strains were unable to allow phage growth. Physical, biochemical and microbiological tests have been carried out and the results suggest that purified BF23 lysates contain a bacteriocin-like activity that prevents bacterial growth of *S. typhimurium* smooth strains. Clinical uses of this bacteriocin-like activity and the future involvement of these results are discussed.

#### INTRODUCCIÓN

Como es sabido, el descubrimiento de las bacteriocinas no puede ser concretado en una fecha. Ya desde el comienzo del presente siglo se conocía el hecho de que determinadas estirpes bacterianas eran capaces de inhibir el crecimiento de otras. No obstante, la primera investigación cuidadosa de estas interacciones en estirpes de *Escherichia coli* fue realizada por Gratia en 1925 y posteriormente por este mismo investigador y por el Dr. Fredericq. Gratia fue capaz de aislar a una sustancia en cultivos de *E. coli* cepa V que inhibían el crecimiento de la misma estirpe  $\phi$  de la misma especie y que denominó a esta sustancia *colicina*. Aunque esta sustancia se parecía a un bacteriófago en ciertos aspectos, se comprobó que la colicina era incapaz de multiplicarse sobre la estirpe sensible. Posteriormente se descubrieron otros factores de acción similar en otras especies bacterianas y el conjunto de todas estas sustancias inhibidoras del crecimiento bacteriano recibió el nombre genérico de *bacteriocinas*.