

# FARMACOCINÉTICA DEL RITONAVIR ADMINISTRADO POR VÍA ORAL EN LA RATA

*Rocío Lledó García, Luis Prats García, Matilde Merino Sanjuán, Vicente G. Casabó Alós, Amparo Nácher Alonso.*

*Dpto. Farmacia y Tecnología farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universitat de Valencia. C/ Vicent Andrés Estellés s/n. Burjasot. Valencia*

## Resumen / Abstract

Ritonavir is a protease inhibitor of the HIV, currently used as a booster in combination with other protease inhibitor. High variability is presented in the therapeutic response to the drug. The aim of this research was to study deeply the pharmacokinetic issues involved in the variability phenomenon, by determining the pharmacokinetic model, when ritonavir is orally and intravenously administered in rats, and calculating its absolute oral bioavailability. Venous blood samples were collected from rats receiving a 3 or 4.6 mg dose, for a range between 0.05 and 23.5h, depending on the administration route. The F-Snedecor criterion did not show significant differences between the different adjusted models. Therefore, the simple ones were firstly considered. Finally, the one reflecting a zero order incorporation with a possible saturated mechanism based on carriers, was selected. The calculated bioavailability corresponding to the selected model was 76.4 %.

El ritonavir es un inhibidor de la proteasa del VIH. Se utiliza como potenciador de otros inhibidores de proteasa, ya que es un potente inhibidor de la isoenzima CYP3A4. Se caracteriza por presentar variabilidad en la respuesta terapéutica cuando es administrado por vía oral. El objetivo de este trabajo, es profundizar en los aspectos farmacocinéticos del ritonavir que contribuyen a la obtención de esta variabilidad. Para ello, se ha caracterizado el modelo farmacocinético del fármaco en rata, tras su administración oral e

intravenosa, y se ha calculado la biodisponibilidad oral absoluta del fármaco.

Se ha administrado una dosis única de 3 o 4,6 mg y se han tomado muestras sanguíneas en un periodo de tiempo comprendido entre 0,05 y 23,5 h. El criterio F de Snedecor sugiere que el modelo que mejor describe el proceso de incorporación del fármaco al organismo, obedece a una cinética de orden cero, probablemente por saturación de los sistemas de transporte implicados en dicho proceso. La biodisponibilidad oral absoluta se ha estimado en un 76,4 % para el modelo de elección.

## Introducción y objetivos

La introducción en terapéutica en 1995 de los fármacos antirretrovirales inhibidores de la proteasa supuso un gran avance en la lucha contra el SIDA. A pesar de ello, presentan una serie de inconvenientes, entre los que destaca: el desarrollo de toxicidad y resistencias, la falta de adherencia al tratamiento o el elevado coste de las terapias [1]

El ritonavir, pertenece a la familia de los inhibidores de proteasa (IPs). Se caracteriza por poseer una biodisponibilidad oral absoluta irregular [2], estimada por algunos autores en rata en un 70% [3, 4]. Presenta numerosas interacciones con sustancias de diversa naturaleza por ser sustrato de enzimas metabólicas (citocromo P450) y de enzimas de secreción intestinal (sistema MRP o la glicoproteína P). Actualmente, se utiliza como potenciador de otros IPs, ya que es un potente inhibidor de la isoenzima CYP3A4 [5].

El objetivo de este trabajo, es profundizar en los aspectos farmacocinéticos del ritonavir que contribuyen a la obtención de la elevada variabilidad en la respuesta tras su administración por vía oral. Para ello, se ha caracterizado el modelo farmacocinético del ritonavir tras su administración por vía oral e intravenosa y se ha calculado la biodisponibilidad oral absoluta del fármaco. Conocer en profundidad el perfil farmacocinético constituye un aspecto relevante para justificar la utilización de nuevos recursos o alternativas tecnológicas, que permitan modular y/o mejorar el rendimiento del proceso de absorción del fármaco.

## Materiales y Métodos

Los ensayos *in vivo* se han realizado utilizando la técnica de canulación de la vena yugular de la rata [6]. Se han utilizado ratas macho de la raza Wistar con un peso corporal de entre 280 y 300 g. Los ensayos han sido aprobados por el Comité Ético de la Facultad de Farmacia, Universitat de València.

Se ha administrado por vía intravenosa una dosis única de 3 mg del fármaco puro en disolución y por vía oral, una dosis única de 4,6 mg diluyendo el contenido de las cápsulas blandas comerciales (Norvir®). En ambos casos se ha utilizado como cosolventes: una mezcla de etanol, propilenglicol y suero fisiológico. Se han establecido de forma aleatoria dos grupos de animales, uno para cada vía de administración, siendo el periodo de toma de muestras de 0,05 a 3,5 h y 0,25 a 23,5 h para la vía intravenosa y oral, respectivamente.

Se lleva a cabo un tratamiento de purificación de las muestras sanguíneas, previo a su valoración por cromatografía líquida de alta resolución. Éste ha consistido en una centrifugación (10000 g, 5 min) de la muestra (0,5 mL); se toman 0,3 mL de sobrenadante (mantenidos a -30°C hasta su valoración). Por último, se procede a precipitar las proteínas, añadiendo 0,3 mL de acetonitrilo. Se centrifugan las muestras a 10500 g durante 5 min a 10°C. Finalmente, se obtienen 0,45 mL de muestra plasmática purificada.

La valoración del ritonavir en las muestras plasmáticas se ha realizado mediante cromatografía líquida, utilizando un detector UV ( $\lambda = 235$  nm) y una columna cromatográfica de

fase inversa (Nova-pack® C<sub>18</sub> Waters, 3,9×150 mm). La fase móvil empleada para la cuantificación del ritonavir ha consistido en una mezcla de acetonitrilo y de una solución formada por un 99% de agua bidestilada y un 1% de tampón fosfato 1/15 M (pH 6.9), en proporciones 55:45 (V/V).

Tras la obtención de los datos experimentales, se ha procedido a su tratamiento matemático utilizando la metodología compartimental mediante el programa informático WinNonlin® 4.1.

En los datos procedentes de la administración intravenosa se ha realizado un tratamiento poblacional combinado simple de datos, ajustando la ecuación integrada del modelo bicompartmental a los datos de concentración plasmática-tiempo; se utiliza la ponderación 1/DE<sup>2</sup> (DE es la desviación estándar de la media de las concentraciones plasmáticas para un mismo tiempo de toma de muestras).

Con los datos procedentes de la administración oral se realiza un tratamiento poblacional promedio simple de datos, aplicando el método descrito por Loo y Riegelman para fármacos bicompartmentales.

Asimismo, se ha realizado un tratamiento combinado simple de datos intravenosos y orales, ajustando las ecuaciones diferenciales de cinco modelos bicompartmentales que consideran diferentes cinéticas de absorción (Ponderación 1/DE<sup>2</sup>). Tras aplicar el criterio F de Snedecor, se seleccionan los modelos 1, que considera una absorción de primer orden y 2, que considera una cinética de incorporación de orden cero, como posibles modelos que describen la farmacocinética del ritonavir, tras su administración por vía oral.

### Modelo 1. Absorción de primer orden

Administración intravenosa:

$$\frac{dQ}{dt} = -k_{10} \cdot Q - k_{12} \cdot Q + k_{21} \cdot Q_p$$

Administración oral:

$$\frac{dQ}{dt} = k_0 \cdot Q_0 - k_{10} \cdot Q - k_{12} \cdot Q + k_{21} \cdot Q_p$$

### Modelo 2. Incorporación de orden cero

Administración intravenosa:

$$\frac{dQ}{dt} = -k_{10} \cdot Q - k_{12} \cdot Q + k_{21} \cdot Q_p$$

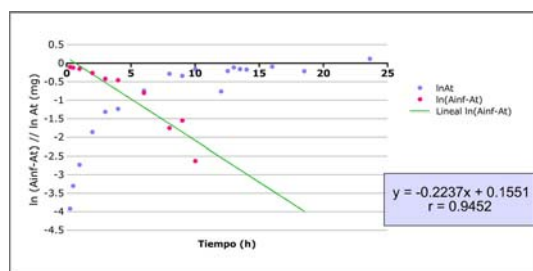
Administración oral:

$$\frac{dQ}{dt} = k_0 - k_{10} \cdot Q - k_{12} \cdot Q + k_{21} \cdot Q_p$$

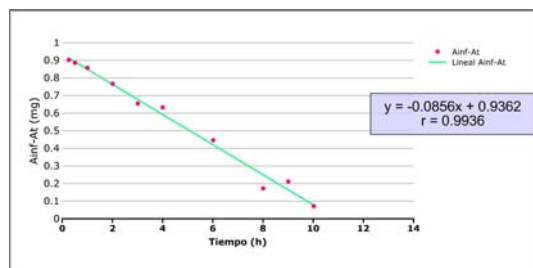
La biodisponibilidad oral absoluta se ha estimado como parámetro primario en los diferentes modelos bicompartmentales ensayados.

## Resultados y Discusión

En las *figuras 1 y 2* se muestran los resultados obtenidos en la aplicación del método de Loo y Riegelman al tratamiento combinado simple de datos obtenidos tras la administración del fármaco por vía oral. La bondad del ajustado del  $\ln$  de la cantidad de fármaco remanente en lugar de absorción frente a los tiempos de toma de muestra obtenida a la ecuación clásica de primer orden, indica que la ecuación no satisface los datos experimentales disponibles (*figura 1*). Por ello, se ha realizado el ajuste de los datos experimentales a la cinética de absorción de orden cero, (*figura 2*). El coeficiente de correlación obtenido en este caso indica una mejora en la bondad del ajuste.



**Figura 1.** Representación gráfica del  $\ln$  de las cantidades de fármaco absorbidas acumuladas ( $A_t$ ) y tiempos de toma de muestra. Asimismo, se muestra la recta semilogarítmica que se obtiene de representar  $\ln$  de la cantidad de fármaco remanente en lugar de absorción ( $A_{\infty}-A_t$ ) frente al tiempo. (Cinética de absorción de orden uno).



**Figura 2.** Representación gráfica de la cantidad de fármaco remanente en lugar de absorción y tiempo de toma de muestra. (Cinética de absorción orden cero).

Tras el análisis compartimental realizado mediante el tratamiento combinado simple de datos se ha utilizado el criterio F de Snedecor utilizado para seleccionar el modelo

farmacocinético que mejor satisface los datos obtenidos. Este criterio indica que el modelo 2, es el que mejor describe el perfil farmacocinético del ritonavir en la rata (*figura 3*). Este modelo permite corroborar los resultados obtenidos por el método de Loo y Riegelman con los datos experimentales disponibles tras la administración del fármaco por vía oral.

La cinética de orden cero en el proceso de absorción puede estar motivada por varias causas. En primer lugar, puede atribuirse a que el proceso de liberación del fármaco de la forma farmacéutica que lo contiene o la disolución del fármaco en el medio actúe como factor limitativo de la absorción. En este caso si la cinética de liberación o disolución es de orden cero, la cinética de absorción también lo será.

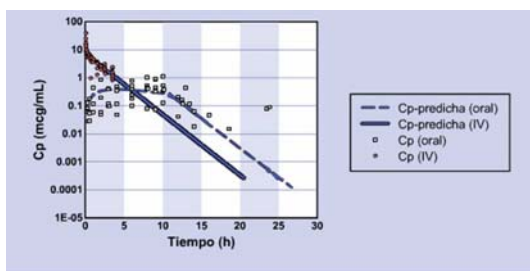
El ritonavir es un fármaco muy poco soluble en medio acuoso y para administrarlo por vía oral en solución ha sido necesaria la utilización de cosolventes. Por ello se consideró que la disolución del fármaco precipitado en el lumen intestinal podría motivar la cinética de absorción de orden cero del ritonavir. Sin embargo, ensayos realizados *in vitro* utilizando fluidos gástrico e intestinal simulado no han permitido poner de manifiesto que el fármaco precipita en las condiciones ensayadas.

La cinética de absorción de orden cero también puede atribuirse a la saturación de mecanismos especializados de transporte, lo que puede observarse cuando la dosis de fármaco administrada satura a los sistemas enzimáticos de transporte que intervienen en el proceso de incorporación del fármaco al organismo.

Ensayos realizados *in situ* en ratas[7] han permitido establecer que la incorporación del ritonavir al organismo obedece a una cinética no lineal, mediada por portadores saturables, de acuerdo a un proceso de absorción y secreción de Michaelis-Menten. Estos resultados permiten concluir que la saturación de los sistemas enzimáticos de transporte del ritonavir en el intestino delgado de rata justifica la cinética de absorción de orden cero obtenida en este estudio.

La biodisponibilidad en magnitud es un factor determinante en la eficacia de un fármaco, ya que determina el aprovechamiento de la dosis del fármaco por el organismo y en consecuencia, su actividad terapéutica. La biodisponibilidad oral absoluta estimada en el modelo seleccionado ha sido de un 76,4%, ámbito similar a los obtenidos por otros autores que la estiman aproximadamente en un 70%.

Rocío Lledó García  
 rocio.lledo@uv.es  
 Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universitat de València.  
 C/ Vicente Andrés Estellés s/n. Burjassot.  
 València  
 Telf. 963544912  
 Fax:963544911



**Figura 3.** Representación gráfica de las curvas de niveles plasmáticos frente al tiempo, según el modelo bicompartimental que considera una absorción de orden cero.

## Bibliografía

1. García de Olalla, P., Knobel, H. y Carmona, A. *Impact of adherence and HAART on survival in HIV-infected patients.* J Acquir Imm Defic Syndr. **30**: p. 105-10. 2002
2. Guiard-Schmid, J.B., et al. *High variability of plasma drug concentrations in dual protease inhibitor regimens.* Antimicrob Agents Chemother. **47**(3): p. 986-90. 2003
3. Kempf, D.J., et al. *ABT-538 is a potent inhibitor of human immunodeficiency virus protease and has high oral bioavailability in humans.* Proc Natl Acad Sci U S A. **92**(7): p. 2484-8. 1995
4. Flexner, C. *HIV-protease inhibitors.* N Engl J Med. **338**(18): p. 1281-92. 1998
5. Zeldin, R.K. y Petruschke, R.A. *Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients.* J Antimicrob Chemother. **53**(1): p. 4-9. 2004
6. Giner, M., Figuera, J. y Ga-Borobia, F. *Técnica de infusión intravenosa continua en ratas en libertad.* Res. Surg. **1**: p. 3-9. 1989
7. Muñoz, M.J. *Absorción gastrointestinal de fármacos inhibidores de la proteasa,* in Farmacia y Tecn. farmacéutica. 2003, Universitat de Valencia: Valencia.

**Autor de contacto:**