

B-14. Determinación de parámetros farmacocinéticos luego de administración intravenosa y oral

Los parámetros farmacocinéticos de los compuestos de acuerdo con la invención se determinan en ratas macho Wistar, perros hembra Beagle y monos hembra Cynomolgus. La administración intravenosa se lleva a cabo por un vehículo de formulación adecuado para la respectiva especie, como una formulación de plasma/DMSO o solución salina fisiológica (pH4 o más) para ratas, o una formulación de agua/PEG400/etanol o solución salina fisiológica (pH4 o más) para perros y monos. En todas las especies, la administración oral de la sustancia disuelta se realiza por alimentación forzada, usando un vehículo de formulación adecuado, como formulación de agua/PEG400/etanol o solución salina fisiológica. La toma de muestra de sangre de ratas se simplifica insertando un catéter adecuado en la vena yugular externa derecha antes de la administración de sustancia. La operación se realiza al menos un día antes del experimento con anestesia de isoflurano y de la administración de un analgésico (atropina/Rimadyl (3/1) 0,1 ml s.c.). La sangre se toma (generalmente al menos 6 puntos de tiempo) en un período de tiempo que incluye puntos de tiempo terminales de al menos 7 horas hasta un máximo de 72 horas después de la administración de sustancia. Cuando se toma la sangre, se pasa a tubos que contienen un anticoagulante adecuado, preferentemente K-EDTA. Luego el plasma sanguíneo se obtiene por centrifugación y opcionalmente se almacena a -20°C hasta procesamiento adicional.

Un estándar interno (que también puede ser una sustancia químicamente no relacionada) se agrega a las muestras de los compuestos de acuerdo con la invención, las muestras de calibración y clasificadores, y le sigue la precipitación de proteínas por medio de exceso de acetonitrilo. De manera alternativa, el estándar interno se agrega al acetonitrilo y la mezcla luego se agrega en exceso a muestras de los compuestos de acuerdo con la invención, muestras de calibración y clasificadores para precipitación de proteínas. La adición de una solución amortiguadora coincidió con las condiciones LC, y posterior mezcla en vórtice, es seguido por la centrifugación a 2800g. El sobrenadante se analiza por LC-MS/MS usando C18 o columnas de fase inversa de bifenilo y mezclas de fase móvil variable. Las sustancias se cuantifican mediante las alturas o áreas máximas de cromatogramas de iones extraídos de experimentos de monitoreo de iones seleccionados específicos.

La concentración de plasma/gráficas de tiempo determinados se usan para calcular los parámetros farmacocinéticos como AUC (área bajo la curva), C_{máx} (máxima concentración), t_{1/2} (semivida terminal), F (biodisponibilidad), MRT (tiempo de permanencia medio) y CL (depuración), usando un programa de cálculo farmacocinético validado.

Dado que la cuantificación de sustancia se realiza en plasma, es necesario determinar la distribución de sangre/plasma de la sustancia para ser capaz de ajustarse a los parámetros farmacocinéticos correspondientes. Con este fin, una cantidad definida de sustancia se incuba en sangre entera de la especie en cuestión en una mezcla oscilante durante 20 min. Después de la centrifugación a 2800g,