

ESTUDIO FARMACOCINETICO DE QUININA ORAL EN MALARIA FALCIPARUM NO COMPLICADA

E. Muñoz Carnago, J. Pérez Avila y H. Arasosa*

Laboratorio de Farmacología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" y *Escuela de Matemáticas, Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 2 de octubre de 1986

Recibido: 19 de enero de 1988

ABSTRACT. A study is done in 10 patients with resistance to Chloroquine and Fansidar. A unique dose of 650 mg of Quinine is administered during 24 h, with repeated doses associated to Tetracycline and Pyrimethamine for 5 d. On the basis of this pharmacokinetic study of Quinine we determined that the attack dose should be doubled, and that there is some kind of positive synergism (about 7%) due to the association to other drugs. In addition a modification is introduced in the spectrofluorometric original technique for quantification of Quinine in serum.

RESUMEN. Se estudian 10 pacientes resistentes a los fármacos cloroquina y fansidar. Se les suministró una dosis única de 650 mg de quinina durante 24 h y dosis repetidas durante 5 d asociadas a la tetraciclina y pirimetamina. Basado en el estudio farmacocinético de la quinina se determinó que la dosis de ataque debe ser el doble de la descrita y que hay cierto sinergismo positivo (alrededor del 7%) (debido a la asociación a otros fármacos). Además, se modifica la técnica espectrofluorimétrica original para la cuantificación de quinina en suero.

INTRODUCCION

Desde la antigüedad la quinina ha sido uno de los fármacos más empleados en el tratamiento de la malaria.¹

En la actualidad este fármaco, ha sido, en cierta forma, retomado del arsenal terapéutico, debido a la resistencia que ofrecen algunas cepas de *Plasmodium falciparum* a los fármacos modernos como la cloroquina y el fansidar.

Sin embargo, hay cepas que también ofrecen resistencia a la quinina, lo que hace necesario asociarla a otros medicamentos, buscando el esquema terapéutico que sea óptimo frente al parásito resistente.

No obstante los esfuerzos realizados, los tratamientos empleados no son a veces los más convenientes, por lo que es necesario ajustar las dosis terapéuticas y con ello asegurar el mantenimiento de las concentraciones óptimas de quinina en sangre, lo que reduce las posibilidades de resistencia del parásito al fármaco y una definición más rápida en presencia de un caso de *Plasmodium falciparum* resistente.

El desarrollo de este estudio persigue los objetivos siguientes:

Administrar una dosis única (p.o.) que permita la predicción de las concentraciones séricas cuando se ingiera dosis múltiple en pacientes con *Plasmodium falciparum* resistentes a la cloroquina y el fansidar.

Calcular los parámetros farmacocinéticos de la quinina, después de la ingestión de la primera dosis,² durante 24 h.

Fundamentar y proponer una dosis de ataque por vía oral, al esquema terapéutico empleado.

En el equilibrio alcanzado a través de dosis múltiples, determinar la concentración mínima de quinina.

Dejar sentadas las bases para estudios de bioequivalencias. En caso de fármacos asociados, posible potenciación o inhibición del efecto farmacológico de la quinina, predicción de regímenes posológicos individuales, estudios endovenosos, etcétera.

Emplear y adaptar una técnica sensible y rápida para calcular las concentraciones de quinina en fluidos biológicos.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron 10 pacientes diagnosticados con Paludismo falciparum resistentes "in vivo" e "in vitro"^{3,4} a la cloroquina y fansidar de 20 a 40 años, exceptuando uno de 47 años y con un peso corporal entre 50 y 91 kg. A todos se les explicó las ventajas individuales y colectivas de este ensayo y se les solicitó su aprobación en la experiencia. Los pasos seguidos respetan la declaración de Helsinki sobre investigaciones biomédicas.⁵

A cada paciente se le administró una dosis oral de tabletas del lote: 4001-0, equivalentes a 650 mg de sulfato de quinina durante las primeras 24 h. Al inicio se les colocó un catéter No. 21 de teflón de 1,2 . 60 mm acoplado a una llave de 3 posiciones que permitió la colección de sangre (5 mL) según los intervalos siguientes: 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 16 y 24 h. Posteriormente se procedió a aplicarles el tratamiento completo: 650 mg de sulfato de quinina cada 8 h durante 5 d, 250 mg de tetraciclina cada 6 h durante 7 d y 25 mg de pirimetamina cada 12 h durante 3 d.

Los lotes de tabletas de tetraciclina y pirimetamina empleados fueron: 281087; 279067 y 2005 respectivamente, todos los medicamentos pertenecen a la Industria Farmacéutica Cubana. Durante el

tratamiento con dosis múltiples se procedió a tomar una muestra diaria junto a la gota gruesa durante 7 d. Todas las muestras fueron centrifugadas separándose el suero que se almacenó a -10 °C hasta su posterior análisis.

El método analítico empleado se basa en una modificación de la técnica espectrofluorimétrica de Cramer e Isakson⁸ que continúa empleándose por su rapidez y especificidad,⁹ aunque recientemente se han desarrollado métodos más específicos.^{10,11}

La modificación consistió en la sustitución del solvente de extracción: benceno por cloroformo, basados fundamentalmente en la escala de Hildebrand¹² de polaridades. Además, se calculó el rendimiento extractivo del cloroformo a muestras de suero tomadas a las 3 h y de orina a las 24 h del paciente con Historia Clínica (HC): 8615, se les corrió cromatografía¹³ en placa delgada en gel de sílice G-60, grosor 0,25 mm. El equipo empleado fue un espectrofluorímetro Turner, modelo 430, donde se determinó a una muestra de suero (del mismo paciente) las longitudes de onda de excitación que produjera una máxima emisión.

Todos los reactivos empleados fueron grado puro para análisis o grado espectrográfico.

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon según el programa Fármaco, confeccionado por el Departamento de Ecuaciones Diferenciales de la Facultad de Matemática y Cibernética de la Universidad de La Habana, basados en un modelo abierto bicompartimental,¹⁴ expresado por la ecuación siguiente:

$$C(t) = Ae^{-K_a t} + Be^{-K t}$$

donde:

C(t) Concentración a tiempo t

K Constante de excreción

K_a Constante de absorción

A y B interceptos con el eje de las ordenadas

donde se asumió el 100 % de biodisponibilidad para las tabletas orales de quinina

El programa se corrió en una computadora digital marca LTEL, serie 22, cubana.

RESULTADOS

Las concentraciones en suero de los 10 pacientes se determinaron después de haber ingerido éstos una dosis única de 650 mg de sulfato de quinina (Tabla I).

TABLA I
Concentraciones de quinina en suero

Paciente número	Historia Clínica	tiempo (h)										
		0,5	1	2	3	4	5	6	8	12	16	24
		concentración sérica de quinina (µ g/mL)										
1	8615	4,3	6,2	6,0	5,5	4,6	4,2	3,8	3,6	2,5	1,5	0,9
2	8587	1,4	2,9	4,9	4,0	4,1	3,8	4,2	3,4	1,8	1,4	0,6
3	8581	2,9	4,2	5,6	4,9	3,7	3,9	3,6	3,3	2,6	1,9	0,9
4	9070	3,1	4,7	6,6	6,1	5,3	5,1	4,2	3,9	2,5	1,3	0,9
5	9258	4,0	6,0	6,5	6,2	4,6	4,5	4,0	3,3	2,3	1,0	0,8
6	9314	0,2	0,6	4,5	5,0	5,5	5,6	4,8	4,6	3,3	3,0	1,8
7	9286	4,0	6,6	8,1	7,5	6,6	6,3	6,3	5,4	3,9	2,1	0,7
8	9271	0,2	3,3	6,6	5,5	5,2	5,0	4,6	4,6	4,0	2,9	0,6
9	9385	1,9	5,1	5,3	5,0	5,9	4,1	4,0	3,3	2,4	1,5	0,9
10	9829	0,4	1,3	3,2	3,8	3,6	3,6	2,3	2,4	1,9	1,4	-
Promedio		2,3	4,0	5,7	5,4	4,9	4,6	4,3	3,8	2,7	1,8	0,9
Desviación estándar		2,6	5,1	1,8	2,2	0,0	0,4	0,8	0,7	0,7	0,3	0,0

Los perfiles de la concentración de quinina en función del tiempo de los 5 primeros pacientes, así como el promedio total se pueden apreciar en la figura 1.

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon a través del programa Fármaco (Tabla II).

TABLA II
Parámetros farmacocinéticos

Caso número	B (µ g/mL)	Beta (h ⁻¹)	K _a (h ⁻¹)	t(máx.) (h)	C(máx.) (µ g/mL)	V (L)	t(1/2) (h)	Vd (L)	Cl _p
1	6,9	0,087	1,40	1,4	5,9	647	7,9	11,0	0,96
2	7,2	0,100	0,60	3,4	4,3	775	6,9	8,4	0,84
3	6,4	0,089	1,43	2,0	5,0	693	7,7	10,5	0,94
4	8,0	0,089	1,20	2,3	6,0	702	7,7	10,3	0,95
5	7,6	0,099	1,89	1,6	6,1	686	6,9	9,5	0,95
6	7,5	0,057	0,46	5,3	5,0	735	13,0	16,5	0,88
7	11,6	0,110	1,05	2,3	7,9	726	6,2	8,1	0,89
8	16,1	0,131	0,36	4,4	5,7	1022	5,3	4,8	0,64
9	7,1	0,087	1,15	2,4	5,3	703	7,9	10,5	0,92
10	5,1	0,049	0,38	6,1	3,3	746	14,0	17,0	0,87
X	8,3	0,089	1,1	3,1	6,0	746	8,3	10,7	0,88
DE	3,2	0,024	0,6	1,6	1,2	101	2,8	3,8	0,99

B constante (intercepto con el eje Y)

Beta constante de eliminación, durante la fase beta

K_a constante de velocidad de absorción

t(máx.) tiempo en alcanzar concentración máxima

C(máx.) concentración máxima alcanzada

V volumen

T 1/2 tiempo de vida medio

Vd volumen de distribución

Cl_p aclaramiento plasmático

X valores medios

DE desviación estándar

La concentración de quinina en suero que se obtiene en un paciente promedio a cualquier tiempo, puede ser calculada a partir de los parámetros: constante de absorción (K_a = 1,1), constante de eliminación Beta (Beta = 0,089) y concentración inicial (C₀ = 8,385).

$$C(t) = C_0 \left[\frac{K_a}{K_a - \text{Beta}} \right] \left[e^{-(\text{Beta})t} - e^{-K_a t} \right]$$

$$C(t) = 8,385 \left[\frac{1,1}{1,1 - 0,089} \right] e^{-0,089t} - e^{-1,1t} = 9,13 \left[e^{-0,089t} - e^{-1,1t} \right]$$

Esta ecuación permitió el cálculo teórico de los niveles en suero.

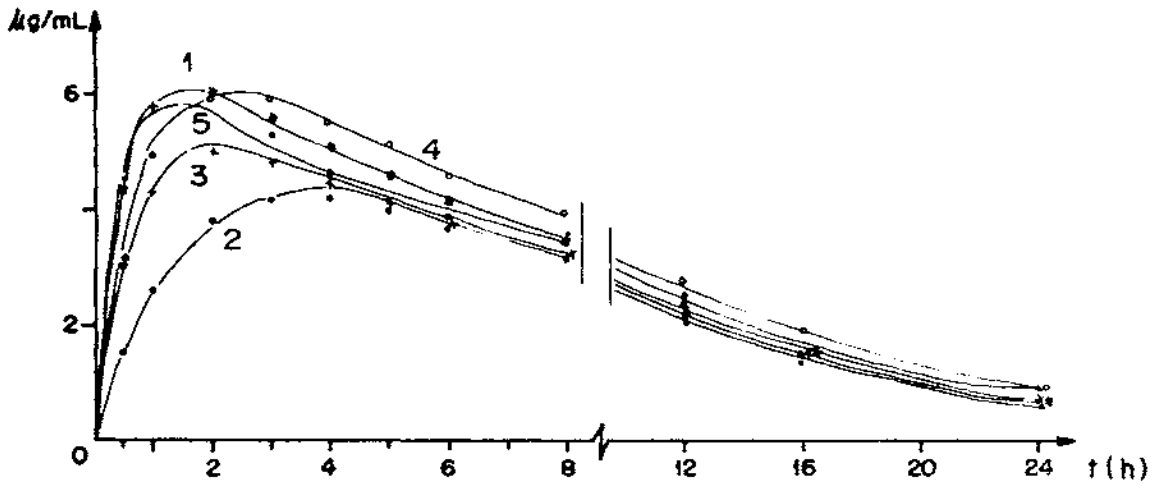


Fig. 1. Concentraciones de quinina en suero en los pacientes 1; 2; 3; 4 y 5 en función del tiempo (h)

Aplicando el principio de superposición¹⁵ de los niveles en suero para dosis múltiples se obtuvo que la concentración máxima en la primera dosis fue de 8,6 g/mL y para la n-ésima dosis de 13,3 g/mL.

De ahí que el cálculo de la dosis de ataque, será:

Dosis de ataque = $13,3 \text{ g/mL} / 6,6 \text{ g/mL} = 2$ (o sea dos veces la dosis inicial).

Los perfiles de quinina en suero y la dosis de ataque se obtienen del empleo del principio de superposición (Fig. 2).

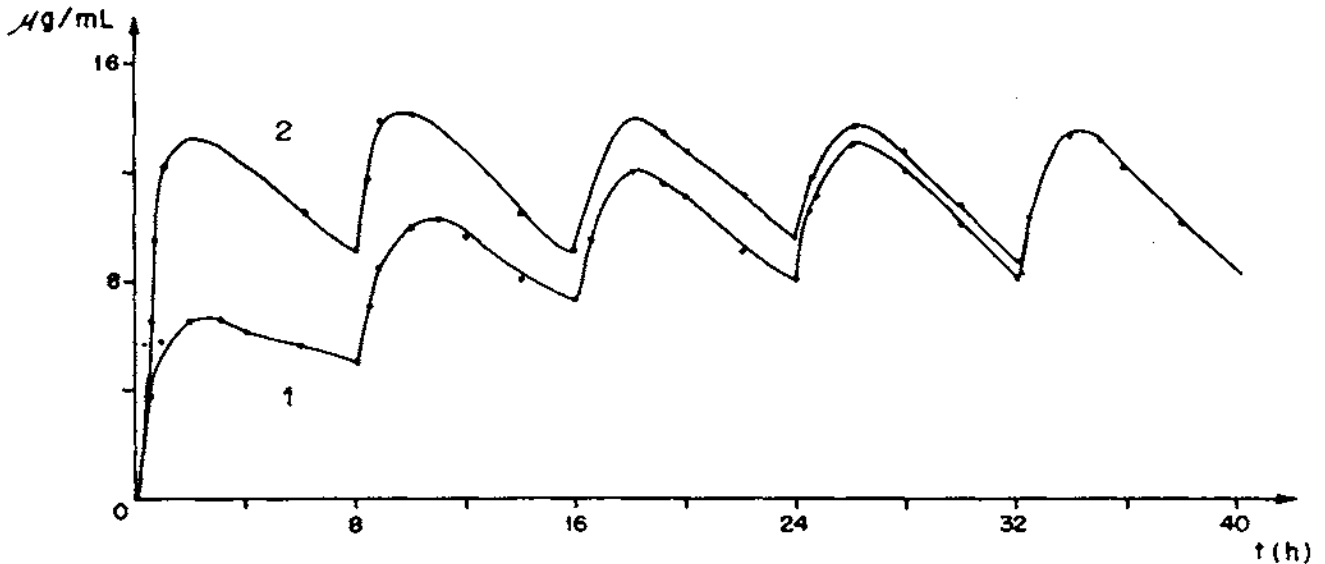


Fig. 2. Perfiles de quinina en suero, empleando el principio de superposición, sin dosis de ataque (1), con dosis de ataque (2)

El cálculo de la fluctuación de la dosis¹⁴ fue de un 38%. Después de alcanzar el equilibrio se tomaron muestras de suero cada 24 h, siempre antes de ingerir la dosis requerida de quinina. (Tabla III)

A partir de las concentraciones mínimas de quinina determinadas en el equilibrio y conociendo que la fluctuación de la dosis es de un 38%, se calcularon las concentraciones esperadas (Fig. 3).

Las concentraciones máximas reales conocidas, se comparan con las concentraciones máximas teóricas calculadas a partir del principio de superposición, se encontró que el máximo es de alrededor de un 7% por encima del teórico. También se muestra la evaluación de la parasitemia promedio por día (Fig. 4).

TABLA III

Concentraciones séricas de quinina (dosis múltiples)

Caso número	tiempo (h)						
	48	72	96	120	144	168	192
	concentración sérica de quinina (u g/mL)						
1	5,6	8,4	4,4	7,4	8,2	1,4	0,2
2	7,1	7,4	6,3	6,6	5,5	0,6	0,2
3	7,8	9,2	9,2	8,9	7,5	1,6	0,2
4	9,3	8,2	8,4	8,9	7,9	2,5	0,8
5	6,8	-	-	-	8,4	2,6	1,2
6	9,7	10,0	8,4	9,4	9,6	6,8	7,4
7	9	-	9,1	7,9	8,3	-	-
8	11,3	13,2	12,2	13,4	9,1	-	-
9	6,1	8,7	6,1	8,3	7,2	5,5	7,4
10	8,0	7,0	8,0	7,9	8,9	2,3	0,5
Promedio	8,0	9,0	8,7	8,0	-	-	-

Estudio analítico

Se le determinó el rendimiento extractivo del fármaco en cloroformo porque éste posee polaridad similar a la del benceno¹² a concentraciones de quinina de 5 y 10 mg/L mezcladas con suero fresco. Se le aplicó el método extractivo a una muestra de un paciente con Historia Clínica 8615, se determinó espectrofluorimétricamente la longitud de onda máxima de emisión¹⁶ además de la posible interferencia de los fármacos tetraciclina y pirimetamina asociados en la terapia, a la longitud de onda de excitación y emisión de la quinina, 350 y 450 nm respectivamente (Tabla IV).

Se determinó la curva de calibración de quinina en suero y se realizaron 10 determinaciones de emisión a las concentraciones de 0; 2,5; 5; 7,5 y 10 mg/L, se obtuvo una buena linealidad (coeficiente de correlación R = 0,98) y el coeficiente de variación máximo fue de 7,7 % para la concentración de 7,5 g/L.

La cromatografía de capa delgada sobre las muestras de suero y de orina del paciente con H.C. 8615 tomadas a las 3 y 24 respectivamente empleando el revelador de iodo platinado.

DISCUSION

A los resultados de las determinaciones de las concentraciones séricas de quinina, se le aplicó el programa Fármaco los que mostraron una baja desviación estándar.

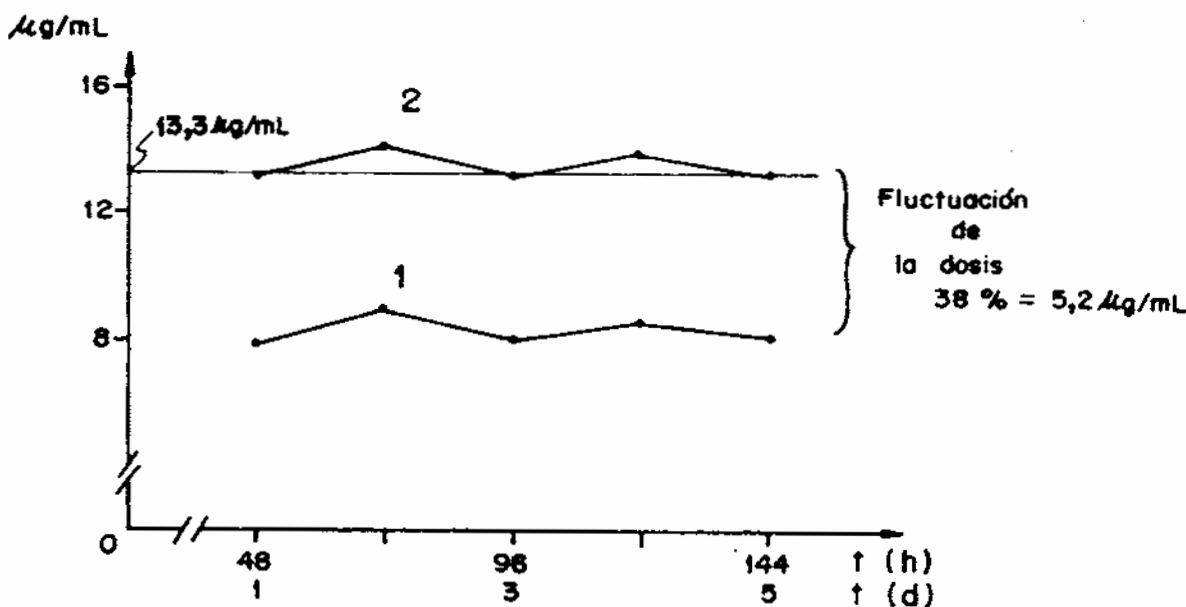


Fig. 3. Concentraciones mínimas de quinina determinadas en el equilibrio con dosis múltiples (1) y de las concentraciones esperadas máximas debido a la fluctuación de la dosis (2)

Los resultados obtenidos coinciden con los de la literatura consultada¹⁷ por lo que se procedió a aplicar el método de superposición de los niveles séricos basado en las constantes calculadas.

Con el empleo de éste se determinaron el valor exacto de la dosis de ataque y de los niveles que con ella se obtendrían lo que se hizo evidente que con el empleo de esta dosis, un paciente medio pasadas 3 h puede alcanzar el nivel máximo de quinina, mientras que en el esquema tradicional necesitaría 34 h. No es objetivo de este trabajo, conocer hasta que punto es significativa la dosis de ataque, pero lo que sí está claro, que el nivel deseado con dosis múltiples (avalado por la experiencia del Departamento Clínico del IPK) es posible alcanzarlo en un corto plazo.

Los cálculos de los niveles séricos determinados después de aplicarles dosis múltiples, muestran algunas variaciones que pue-

den ser aspectos intrínsecos a los pacientes o extrínsecos, sin embargo, cuando se determinan los promedios, se nota cierta uniformidad del valor mínimo calculado, lo cual hace pensar en una compensación de estos factores.

Por último se presenta un gráfico sobre la evolución de la parasitemia y la concentración real de quinina alcanzada con dosis múltiples (cálculo basado en el nivel mínimo y el (%) de fluctuación de la dosis) en función del tiempo.

En él, se puede apreciar que la concentración real de quinina es de un 7 % mayor que la esperada, por tanto, el buen efecto terapéutico que se encontró en la asociación de los tres fármacos puede no ser sólo debido a la acción quimioterapéutica individual, sino también a una sinergia aditiva, o sea, a un aumento de la concentración de quinina debido a la presencia de estos fármacos.

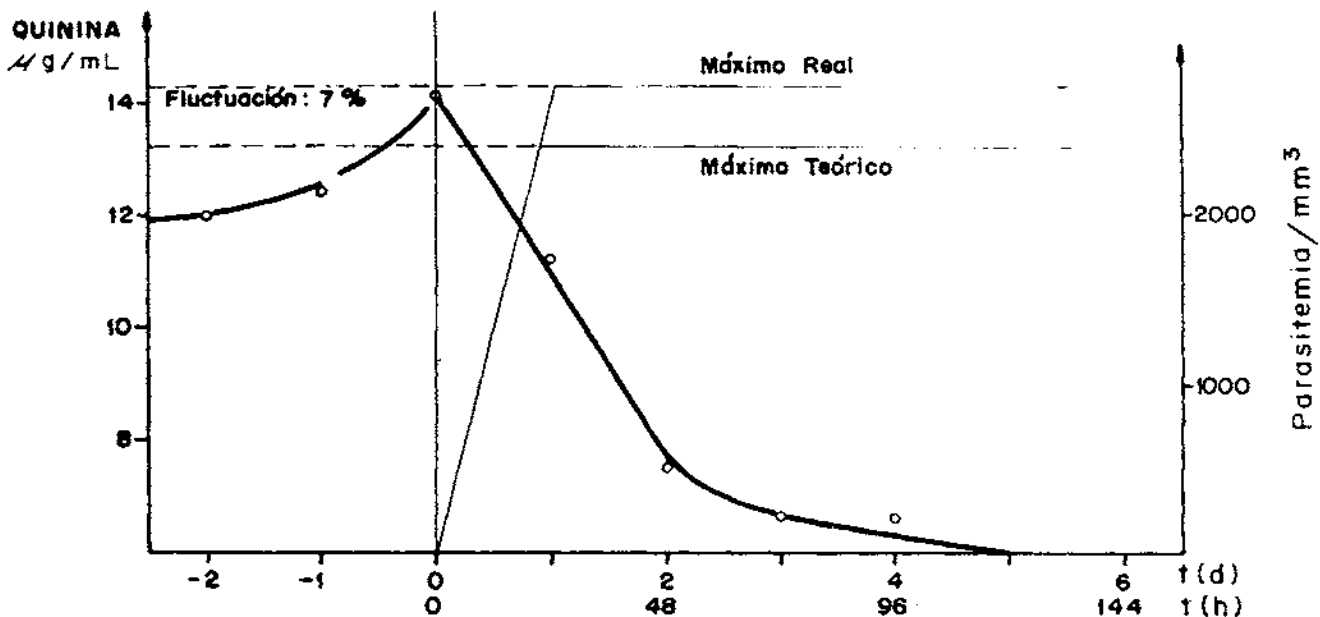


Fig. 4. Concentraciones máximas de quinina teórica y real. Parasitemia en función del tiempo.

TABLA IV
Resultados del estudio analítico

Rendimiento

Determinaciones número	Concentración estándar (µg/ml.)	Concentración calculada (%)	%
5	3,3	3,2	97,8
5	6,6	6,5	99,2

Lectura espectrofluorimétrica

Polaridad	Solvente de extracción	Excitación máx.(nm)	Emisión máx.(nm)
9,2	benceno ⁸	350	450
9,1	cloroformo	350	450

Fluorescencia

Determinaciones número	Estándares	Concentración (µg/mL)	Emisión
4	tetraciclina	4	0
4	pirimetamina	1	0

La técnica modificada en el laboratorio se sometió a diferentes pruebas, pero sin dudas las de cierta especificidad son las de cromatografía de placa delgada y la de espectrofluorimetría. Estos dos métodos están asociados y se emplean mundialmente cuando no se poseen equipos costosos como el espectrómetro de masas. La cromatografía de placa delgada evidenció cualitativamente en las muestras de suero y orina que no se extrajeron metabolitos de quinina lo que demostró la especificidad del cloroformo en la extracción, según la sensibilidad de la técnica empleada, también el análisis espectrofluorimétrico corroboró estos resultados, al determinarse que las longitudes de onda de excitación y emisión coinciden con las de quinina. Por todas las experiencias anteriores unidas a un alto porcentaje de extracción, se considera el método con una alta confiabilidad de ser bueno; además de la ventaja de emplear un solvente orgánico mucho menos tóxico que el benceno.

En la quimioterapia aplicada al paciente se asocian la tetraciclina y la pirimetamina. Se procedió a la comprobación de una posible interferencia de ellas en la determinación de quinina, ya que la literatura¹⁸ recoge métodos capaces de hacer fluorescer las tetraciclinas, sin embargo en la experiencia realizada bajo las condiciones de experimentación planteadas (quinina en medio de ácido sulfúrico, la longitud de onda de excitación, la longitud de onda de emisión, etc.) estos fármacos no interfieren en el análisis.

CONCLUSIONES

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos a través del programa Fármaco, permitió el cálculo de la dosis de ataque y la predicción de niveles séricos con gran rapidez.

Este estudio propone un óptimo régimen de dosificación con rigurosidad científica para otros pacientes que se diagnostiquen con *P. falciparum* resistente, donde el éxito de la quimioterapia es de vital importancia.

Las condiciones empleadas en este trabajo deja sentadas las bases para estudios en el laboratorio de: bioequivalencias, optimización de vías de administración, potenciación e inhibición a fármacos asociados, predicción de niveles séricos basados en un régimen de dosificación por paciente, monitoreos, etcétera.

El método espectrofluorimétrico modificado posee una incuestionable especificidad y además la ventaja con respecto al original, de que su manipulación sea menos riesgosa.

RECONOCIMIENTOS

Se agradece la colaboración prestada por todos los médicos y enfermeras del Departamento Clínico del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", que de hecho son coautores del presente trabajo, así como a todas las personas que de una forma u otra brindaron su colaboración.

BIBLIOGRAFIA

1. Tropical Disease Research. Seventh programme report, 1984.
2. White N.J. Clinical Pharmacokinetics, 10, 192, 1985.
3. Rieckmank F.H. Boletín, WHO, 45, 167, 1971.
4. Rieckmank F.H. Lancet, 1, 23, 1978.
5. Schapira A. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 78, 362, 1984.
6. WHO. Reportes Técnicos, Serie No. 549, 73, 1973.
7. Crónica de la OMS, 30, 395, 1976.
8. Cramer A. and Isaksom A. Scan. I. Clin. invest. ii, 553, 1963.
9. White N.Y. Br. J. Clin. Pharmac. Ther., 14, 580, 1977.
10. Edstein N., Stace J. and Shann F. J. of Chromatography, 278, 445, 1983.
11. Furner R.L., Brown G.B. and Scott J. Journal of Analytical Toxicology, 5, 275, 1981.
12. The High Pressure Liquid Chromatographic, Application book, Hewlett Packard, 1, 1984.
13. Cromatografía en papel y en capa delgada, serie química, No. 16, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, México, 1975.
14. Wagner J. Farmacocinética Clínica, Editorial Reverté, S.A. 1981.
15. Krüger T. Pharmacokinetics and Dosage concentration relationship in physico-chemical aspects of drug action, 7, 63, Pergamon Press, New York, 1965.
16. RAO C.H. Espectroscopia Ultravioleta y Visible, 23-42, Editorial Alambra S.A., 1970.
17. Wall A.P. Clin. Pharmac. Ther., 14, 580, 1973.
18. Kurt W.K. Analytical Chemistry, 33, 7, 1961.

CONFERENCIA NACIONAL SOBRE ATEROSCLEROSIS

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

7 al 9 de diciembre de 1989

Ciudad de La Habana, Cuba

EL CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (CNIC) se complace en anunciar la celebración de la Conferencia Nacional sobre Aterosclerosis que tendrá lugar en sus instalaciones del 7 al 9 de diciembre de 1989.

Durante la Conferencia se reunirán delegados de diferentes países por lo que se espera que sirva para estrechar los lazos de amistad, fomentar nuevas relaciones entre los participantes y promover el desarrollo de las investigaciones en este campo.

El principal objetivo de la Conferencia es promover y facilitar el más amplio intercambio científico entre los participantes. El momento y el lugar, así como muchas otras oportunidades especialmente seleccionadas por el Comité Organizador, permitirán sin lugar a dudas, que todos los delegados puedan obtener el máximo aprovechamiento del evento en un período de tiempo relativamente corto.

Temáticas

- Etiopatogenia
- Bases moleculares
- Diagnóstico, tratamiento y prevención
- Factores de riesgo

Programa

El programa científico constará de conferencias impartidas por destacadas personalidades, simposios y presentaciones de carteles (posters).

Conjuntamente con estas actividades, funcionará una EXPOSICION CIENTIFICO-COMERCIAL, en la que participarán diversas firmas que mostrarán tecnologías avanzadas, así como novedosos equipos y productos.

Preparación de los carteles

Se dispondrá de una superficie de 1,50 m de ancho y 1,20 de alto.

Conferencias

Se dispondrá de 30 min para la impartición y discusión de las conferencias.

Envío de resúmenes

Los resúmenes deberán presentar (en este orden): título, autores, instituciones a que pertenecen y texto (no más de 250 palabras) y deberán estar en poder del Comité Organizador a más tardar el 2 de octubre. Una vez aprobados serán publicados en el libro de resúmenes del evento. Se ruega a los autores enviarlos escritos en Inglés y Español lo que facilitará su edición posterior.

A todos los autores interesados se les agradecerá entregar en el momento de la acreditación su trabajo en forma de comunicación corta de no más de 5 cuartillas, las que deberán incluir tablas, figuras y bibliografía, con el objetivo de facilitar la edición de las Memorias del evento. (Continúa en la página 35)