

Ćwiczenie 4. Wyznaczanie stałej szybkości eliminacji i biologicznego okresu półtrwania salicylanów wydalonych z moczem po podaniu *per os* kwasu acetylosalicylowego

Cel ćwiczenia: obliczenie stałej szybkości eliminacji i biologicznego okresu półtrwania salicylanów na podstawie zmian ilości wyeliminowanych z moczem po doustnym podaniu kwasu acetylosalicylowego w tabletkach.

Wymagane zagadnienia: pojęcie kompartmentu, procesy kinetyki pierwszego rzędu w modelu jednokompartamentowym, kinetyka zmian ilości leku wydalonego z moczem, pole powierzchni pod krzywą (AUC), klirens, stała szybkości eliminacji, biologiczny okres półtrwania ($t_{0.5}$).

Wstęp

Farmakokinetyka pokazuje relację pomiędzy podaniem leku, które obejmuje takie możliwe do modyfikacji parametry jak dawka, sposób dawkowania, częstość i drogę podania, a stężeniem osiąganym w czasie.

Farmakodynamika obejmuje zależność między stężeniem oraz pożądanymi, jak i niepożądanymi efektami występującymi w czasie. Ujmując skrótowo, farmakokinetyka może być postrzegana jako to jak organizm wpływa na lek, a farmakodynamika jak lek oddziałuje na organizm.

Eliminacja leku z moczem

Leki są podawane różnymi drogami, głównie dożylnie, doustnie, domięśniowo, podskórnio, doodbytniczo i ostatecznie są usuwane z organizmu. Leki mogą być eliminowane po ich chemicznej przemianie w metabolity z udziałem enzymów cytochromu P450 lub jako transformery na drodze nieenzymatycznej transformacji leku np.: zależnej od pH krwi przemianie treosulfanu do epoksydów. Leki dobrze rozpuszczalne w wodzie, lecz słabo metabolizowane, należące do 3 klasy systemu BDDCS – *The Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System* (Pharm. Res., 2021) są wydalane głównie przez nerki z moczem w niezmienionej postaci. Do tej grupy należą antybiotyki aminoglikozydowe: gentamycyna, kanamycyna, tobramycyna, antybiotyki beta-laktamowe: ampicylina, amoksycylina, cefalosporyny, a także leki z innych grup leczniczych np. flukonazol, chlorotiazyd czy metformina. Eliminacja niektórych leków zachodzi na drodze ich wydzielenia

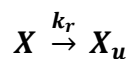
do żółci, wówczas może dochodzić do krążenia jelitowo-wątrobowego, które prowadzi do powtórnego zwiększenia stężenia leku w osoczu (piroksykam, ezetymib, kwas mykofenolowy).

Głównymi czynnikami wpływającymi na eliminację leku z moczem są: rozpuszczalność – lek lub jego metabolit(y) muszą być dobrze rozpuszczalne w wodzie, wiązanie z białkami krwi, gdyż wyłącznie lek wolny wydalany jest z moczem, oraz pH moczu uzależnione od diety i stanu chorobowego.

Wszystkie parametry farmakokinetyczne, z wyjątkiem objętości dystrybucji i klirensu, można obliczyć z pomiarów ilości leku wydalonego z moczem w postaci niezmienionej X_u . Do obliczeń używamy ilość leku a nie jego stężenie w moczu z uwagi na zmienną objętość tworzenia się moczu w czasie, podczas gdy objętość krwi jest względnie stała.

Jednorazowe podanie dożylnie

Zmiany ilości leku eliminowanego do moczu ze stałą szybkości k można przedstawić schematem:



X – ilość leku w organizmie,

X_u – skumulowana ilość leku wydalona z moczem,

k_r – stała szybkości eliminacji leku drogą nerkową

Ograniczając rozważania do sytuacji, w której lek eliminowany jest wyłącznie w formie niezmienionej przez nerki wg zasad farmakokinetyki I rzędu, szybkość zaniku leku z ustroju równa się szybkości gromadzenia tego leku w moczu:

$$-\frac{dX}{dt} = \frac{dX_u}{dt} = k_r X \quad (4.1.)$$

Zamiast X można wstawić równanie monowykładnicze

$$X = X_0 \cdot e^{-k_e t}$$

i otrzymujemy:

$$-\frac{dX}{dt} = \frac{dX_u}{dt} = k_r X_0 \cdot e^{-k_e t} \quad (4.2)$$

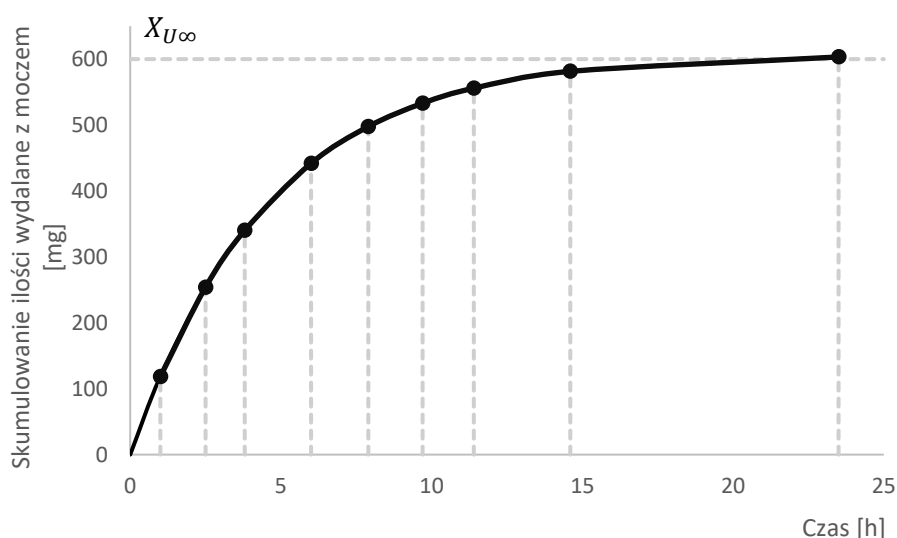
Ponieważ w tym przypadku niezmieniony lek jest wydalany wyłącznie przez nerki, można przyjąć, że $X_0 = X_{u\infty}$ oraz $k_r = k_e$, tzn. stała szybkości eliminacji k_e jest równa stałej szybkości eliminacji drogą nerkową. Otrzymujemy wówczas równanie:

$$\frac{dX_u}{dt} = k_e X_{u\infty} \cdot e^{-k_e t} \quad (4.3)$$

po scałkowaniu przez podstawienie (Farmacja Fizyczna. Ćwiczenia laboratoryjne dla studentów farmacji i analityki medycznej, 2016) otrzymujemy równanie 4.4, które jest rosnącą funkcją czasu:

$$X_{u_t} = X_{u_\infty}(1 - e^{-k_e t}) \quad (4.4)$$

Równanie wyraża ilość wyeliminowanego leku X_{u_t} w określonym czasie t , a X_{u_∞} to ilość leku wyeliminowana z moczem po nieskończone długim czasie. W praktyce czas ten jest ograniczony pobraniem ostatniej próbki moczu. Z równania tego wynika, że ilość leku w moczu rośnie wykładniczo wraz z czasem, aż do osiągnięcia wartości granicznej X_{u_∞} . Przebieg zmian skumulowanych ilości leku w moczu po iniekcji dożylniej pokazano na Ryc. 4.1.

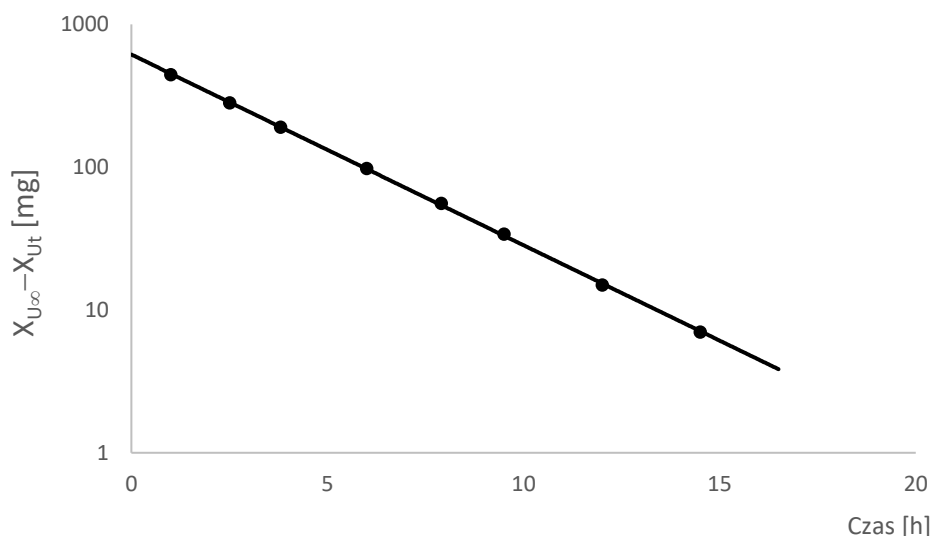


Ryc. 4.1. Ilość leku eliminowanego z moczem po iniekcji dożylniej w modelu jednokompartamentowym jako funkcja czasu (rysunek własny).

Po przekształceniu równania 4.4 uzyskuje się równanie liniowe służące do wyznaczenia stałej szybkości eliminacji k_e z nachylenia prostej:

$$\ln(X_{u_\infty} - X_{u_t}) = \ln X_{u_\infty} - k_e t \quad (4.5)$$

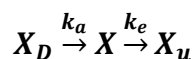
Równanie to dowodzi, że istnieje półlogarytmiczna liniowa zależność różnicy całkowitej ilości leku wydalonej z moczem w czasie t_∞ i ilości wydalonej w czasie t , a nie różnicy stężeń, od czasu. Graficzną postać równania przedstawiono na Ryc. 4.2.



Ryc. 4.2. Wykres w skali półlogarytmicznej przedstawia ilość leku, która pozostała do wydalenia jako funkcja czasu. Nachylenie (a) wykresu w skali półlogarytmicznej wyraża stałą szybkości eliminacji, k_e (rysunek własny).

Jednorazowe podanie pozanaczyniowe

Po podaniu pozanaczyniowym leku, np. podaniu doustnym, można przyjąć następujący otwarty model jednokompartментowy:



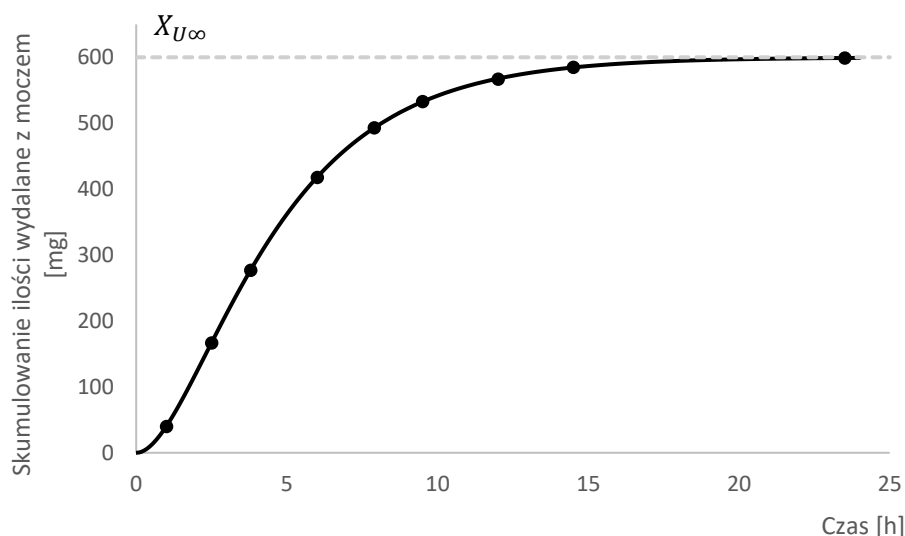
X_D – ilość leku w miejscu podania, np. żołądka, mięśniach itp.,

X – ilość leku w ustroju,

k_a – stała szybkości absorpcji pierwszego rzędu,

k_e – stała szybkości eliminacji pierwszego rzędu.

Graficzny obraz zmian ilości leku wydalonego z moczem po podaniu pozanaczyniowym przedstawiono na Ryc. 4.3. W porównaniu do podania jednorazowej iniekcji dożylniej (bolus) (Ryc. 4.1), ilość leku w moczu narasta stosunkowo wolno w początkowym czasie, co wynika z trwającego jeszcze wchłaniania leku do krwi z miejsca podania. Ponadto, po podaniu pozanaczyniowym biodostępność leku może być mniejsza niż 100%. Wówczas ilość leku wydalona z moczem $X_{u\infty}$ będzie mniejsza niż podana dawka.



Ryc. 4.3. Krzywa kumulacji ilości leku wydalanego z moczem w czasie po podaniu pozanaczyniowym, opisana równaniem 4.6, po podaniu pozanaczyniowym w modelu jednokompartamentowym, jako funkcja czasu.

Skumulowaną ilość leku wydalonego z moczem można obliczyć z równania 4.6:

$$X_{u_t} = X_{D_0} \left[1 + \frac{1}{k_a - k_e} (k_e \cdot e^{-k_a t} - k_a \cdot e^{-k_e t}) \right] \quad (4.6)$$

Po zlogarytmowaniu równania 4.6, zakładając szybkie wchłanianie leku ($k_a/k_e \geq 10$), można otrzymać równanie linii prostej 4.7, służące do wyznaczenia stałej szybkości eliminacji k_e w modelu jednokompartamentowym:

$$\ln(X_{u_\infty} - X_{u_t}) = \ln \frac{X_{u_\infty} \cdot k_a}{k_a - k_e} - k_e t \quad (4.7)$$

Stała szybkości obliczana jest z nachylenia prostej ($-a = k_e$). Biologiczny okres półtrwania dla eliminacji zachodzącej wg zasad farmakokinetyki pierwszego rzędu obliczany jest ze wzoru:

$$t_{0,5} = \frac{0,693}{k_e}$$

Biologiczny okres półtrwania ($t_{0,5}$) leku jest to czas (w godzinach, dniach) wymagany do zmniejszenia stężenia leku w krwi, osoczu lub surowicy krwi o połowę, po osiągnięciu równowagi, w końcowej fazie eliminacji leku. Czynniki wpływające na $t_{0,5}$ to: schorzenia, szczególnie nerek, wątroby, układu krążenia, czynniki genetyczne, wiek, płeć, rasa, a nawet pozycja człowieka (stojąca, siedząca), specyficzne cechy leku, farmakokinetyka jaką reprezentuje dany lek, liniowa czy nieliniowa. W przypadku farmakokinetyki nieliniowej $t_{0,5}$ zależy od dawki leku.

Kwas acetylosalicylowy, farmakokinetyka z elementami terapii monitorowanej

Kwas acetylosalicylowy (ASA) charakteryzuje się stosunkowo dużą rozpuszczalnością w wodzie (4,6 mg/ml w 25 °C) i intensywnym metabolizmem głównie do kwasu salicylowego, stąd zaliczany jest do 1 klasy systemu BDDCS – *Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System*, do którego zaliczane są leki o dużej rozpuszczalności w środowisku wodnym i wysokiej przenikalności przez błony biologiczne żywego organizmu.

Wchłanianie

ASA stosunkowo szybko wchłania się z przewodu pokarmowego, częściowo już w żołądku, głównie zaś w górnym odcinku jelita cienkiego. Biodostępność ASA po podaniu *per os* wynosi 40 – 70%. Lek jest hydrolizowany w czasie absorpcji do kwasu salicylowego i ulega efektowi pierwszego przejścia, stąd obserwuje się dużą zmienność parametrów C_{max} i t_{max} (średnio 20 min). Farmakokinetyka powstałego kwasu salicylowego jest bardziej przewidywalna niż ASA, a jego t_{max} wynosi około 2 godz. Wchłanianie z czopków jest wolniejsze niż po podaniu doustnych postaci. Stopień wchłaniania salicylanów zależy od wartości pH w danym odcinku przewodu pokarmowego, jak również od rozdrobnienia preparatu i jego rozpuszczalności w wodzie.

Dystrybucja

ASA wiąże się z białkami osocza dość słabo (60%), natomiast salicylany w znacznie większym stopniu (70 – 90%). Jednak przy wysokim stężeniu 120 mg/l salicylany wiążą się tylko w 33%. Salicylany powstałe z ASA ulegają szybkiej dystrybucji w organizmie człowieka. Przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego, płynu stawowego i do mleka matki. W płynie stawowym chorych osiągają poziomy mniejsze o 50% i z dłuższym t_{max} w porównaniu do profilu zmian ich stężenia w osoczu. Objętość dystrybucji ASA wnosi 10 – 20 l i jest porównywalna z kwasem salicylowym.

Metabolizm i eliminacja

ASA ulega szybkiej przemianie do kwasu salicylowego w wyniku hydrolizy, w tym hydrolizy enzymatycznej przy udziale esteraz znajdujących się w ścianie jelita, w wątrobie, krwinkach czerwonych i surowicy. Czas $t_{0,5}$ ASA wynosi 15 – 20 min., stąd po dawce 650 mg osocze jest oczyszczone z leku w ciągu 2 godzin. Zasadniczo ASA nie jest wydalany w niezmienionej postaci. Główny metabolit, kwas salicylowy, jest eliminowany w złożony sposób, według zasad farmakokinetyki liniowej, jak i nieliniowej (model Michaelisa -Menten) przy wyższych stężeniach. Zasadniczą drogą eliminacji kwasu salicylowego jest sprzężanie z glicyną i wydalanie jako kwas salicylurowy oraz w postaci glukuronianów. Po podaniu ASA w dawkach

300 – 650 mg $t_{0,5}$ salicylanów wynosi około 3 godz., a wraz ze zwiększeniem dawki $t_{0,5}$ wydłuża się nawet do 30 godz. wskazując na nieliniową eliminację salicylanów.

Eliminacja kwasu salicylowego następuje przy udziale mechanizmów filtracji kłębuszkowej oraz aktywnej i biernej sekrecji kanalikowej. Jego klirens jest mocno zależny od pH moczu. Przy zmianie pH moczu z 5 do 8 ilość zjonizowanego kwasu salicylowego (pK_a 3,0) zwiększa się z 2 – 3% dawki do 80%. Alkaliczacja moczu po podaniu wodorowęglanu sodu może być zatem stosowana w przypadku zatrucia salicylanami. Z kolei przerwanie terapii z użyciem środków zobojętniających z grupy *antacida* może spowodować zwiększenie stężenia salicylanów w osoczu do toksycznego poziomu.

Literatura

1. Ritschel WA, Kearns GL. Handbook of basic pharmacokinetics... including clinical applications. APhA, Washington, D.C. 2004.
2. Shargel L, Wu-Pong S., Yu ABC. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. McGraw Hill 2005.
3. Tozer TN, Rowland M. Introduction to pharmacokinetics and pharmacodynamics. The Quantitative basis of drug therapy. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
4. Dressman JB, Nair A, Abrahamsson B, Barends DM, Groot DW, Kopp S, Langguth P, Polli JE, Shah VP, Zimmer M. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: Acetylsalicylic acid. J. Pharm. Sci 2012, 101, 2653-2667.

Część doświadczalna

Po doustnym podaniu ochotnikowi dwóch tabletek Polopiryny S zawierającej 300 mg kwasu acetylosalicylowego (ASA) każda próbka moczu musi być zebrana.

Należy zanotować:

- czas oddania moczu,
- objętość moczu,
- próbki moczu do analizy (10 ml) należy zabrać ze sobą na zajęcia.

Ze względów bioetycznych studenci otrzymują próbki moczu z salicylanami zebrane według poniższej procedury.

Szczegółowa procedura zbierania próbek moczu

1. W celu uzyskania wystarczającej ilości moczu w ciągu pierwszych godzin po podaniu leku należy wypić 400 ml wody na jedną godzinę przed eksperymentem. Bezpośrednio przed podaniem leku wypróżnić całkowicie pęcherz moczowy. Zostawić 15 ml moczu do przygotowania krzywej wzorcowej i próbki ślepej.
2. Tabletki Polopiryny S popić 200 ml wody.
3. Zbierać mocz przez 24 godziny od momentu zażycia leku. Dla każdej próbki zanotować czas oddania moczu oraz zmierzyć jego objętość.
4. Próbkę moczu do analizy (10 – 15 ml) przechowywać w zamrażarce po uprzednim jej opisaniu.

Uwaga! Bardzo ważne jest, aby wszystkie próbki moczu zostały zebrane. Jeśli nawet jedna zostanie pominięta, cały eksperyment traci ważność.

Absorbancję salicylanów po derywatyzacji odczynnikiem Trindera zmierzyć zgodnie z procedurą opisaną w sekcji *Oznaczenie salicylanów w moczu*. Uzyskane dane użyć do obliczenia stałej szybkości eliminacji i biologicznego okresu półtrwania salicylanów.

Aparatura

Spektrofotometr Specol (Niemcy).

Roztwory

1. Odczynnik Trindera: Odważkę 40 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ rozpuścić w 850 ml wody, następnie dodać 120 ml 1 mol/l HCl.
2. Roztwór podstawowy salicylanu sodu: W kolbie miarowej o pojemności 250 ml rozpuścić 0,5 g salicylan sodu w wodzie. Końcowe stężenie salicylanu wynosi 2 mg/ml.

Przygotowanie krzywej wzorcowej

- Po 1 ml moczu (bez salicylanów) przenieść do czterech probówek i dodać roztwór podstawowy salicylanu sodu o objętości odpowiednio: I – 0,25 ml; II – 0,50 ml; III – 0,75 ml i IV – 1,0 ml. Roztwory uzupełnić wodą do 5 ml, dodając kolejno 3,75 ml (I), 3,5 ml (II); 3,25 ml (III) i 3,0 ml (IV) i wymieszać. Pobrać po 1 ml każdego z roztworów do nowej probówki i dodać po 5 ml odczynnika Trindera. Zmierzyć absorbancję przy długości fali $\lambda_{\max} = 540$ nm.
- Próbkę ślepa przygotować poprzez zmieszanie 1 ml moczu (bez salicylanów) oraz 4 ml wody. Wymieszać. Pobrać 1 ml roztworu do nowej probówki i dodać 5 ml odczynnika Trindera.
- W programie Excel przygotować wykres krzywej wzorcowej przedstawiający zależność absorbancji jako funkcji stężenia salicylanów; $A=f(C)$. Wyznaczyć parametry prostej typu $y = ax$. Wyniki zapisać w protokole.

Tabela 4.1. Przygotowanie krzywej wzorcowej salicylanów w moczu

Roztwór [mL]	Próbka ślepa	I	II	III	IV
Mocz (bez salicylanów)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Salicylan sodu [2 mg/ml]	0	0,25	0,5	0,75	1,0
Woda	4,0	3,75	3,5	3,25	3,0

Oznaczenie salicylanów w moczu

- 1 ml moczu zebranego po jednorazowej dawce 600 mg kwasu acetylosalicylowego rozcieńczyć 4 ml wody i wymieszać. 1 ml uzyskanego roztworu przenieść do nowej probówki, dodać 5 ml odczynnika Trindera i wymieszać. Zmierzyć absorbancję przy długości fali $\lambda_{\max} = 540$ nm i wyniki zapisać w protokole.

Obliczenie skumulowanej ilości salicylanów wydalonych z moczem w przeliczeniu na kwas acetylosalicylowy oraz wyznaczenie parametrów farmakokinetycznych

1. Obliczyć skumulowaną ilość salicylanów wydaloną z moczem w poszczególnych czasach w przeliczeniu na masę kwasu acetylosalicylowego (X_u) zgodnie ze wzorem:

$$X_{u_i} = \frac{A_i}{a} \cdot N \cdot V_i \cdot 1,125$$

gdzie:

A_i – absorbancja próbki

a – współczynnik kierunkowy krzywej wzorcowej

N – rozcieńczenie próbki ($N = 5$)

V_i – objętość moczu oddanego w danym czasie

1,125 – współczynnik równy stosunkowi mas molowych kwasu acetylosalicylowego (180,16 g/mol) i salicylanu sodu (160,11 g/mol).

Sumaryczną (kumulowaną) ilość kwasu acetylosalicylowego X_{u_t} wydaloną jako salicylan sodu w kolejnych n próbkach moczu oblicza się sumując ilości X_{u_i} wydalone do danego czasu t :

$$X_{u_t} = \sum_{i=1}^n X_{u_i}$$

Wszystkie wyniki obliczeń wpisać do protokołu.

2. Sporządzić wykres zależności $X_{u_t} = f(t)$ w programie Excel. Ustalić graniczną wartość skumulowanej ilości salicylanów w moczu w przeliczeniu na kwas acetylosalicylowy (X_{u_∞}).
3. Obliczyć wartości $\ln(X_{u_\infty} - X_{u_t})$ dla poszczególnych czasów t .
4. Sporządzić wykres zależności $\ln(X_{u_\infty} - X_{u_t}) = f(t)$, wykorzystując arkusz programu Excel. Na podstawie równania uzyskanej prostej, analogicznego do równania 4.7, obliczyć stałą szybkości eliminacji k_e salicylanów tworzących się z kwasu acetylosalicylowego. Następnie obliczyć biologiczny okres półtrwania salicylanów.
5. Na podstawie wartości X_{u_∞} obliczyć ułamek dawki kwasu acetylosalicylowego wyeliminowany drogą nerkową w formie niezmienionej (f_u): $f_u = X_{u_\infty}/D$.
6. Wyznaczyć k_e i $t_{0,5}$ salicylanów w programie TopFit według podanej niżej instrukcji.
7. Porównać wyniki wyznaczone za pomocą programów Excel i TopFit.

Instrukcja obsługi programu TopFit

1. Uruchomić program TopFit. Otwiera się strona MENU SELECTION a na niej MAIN MENU, z którego należy wybrać opcję 4 – EDIT HEADER. Otwiera się strona HEADER, którą należy opisać, zmieniając okienka tabulatorem, a następnie wcisnąć klawisz F1 (Save).
2. Z MAIN MENU wybrać opcję 5 – EDIT DATA.

3. Otwiera się strona FORMULATION DATA. Po wciśnięciu klawisza spacji wybiera się sposób podania leku: wybrać Absorption (Tablet).
4. Wcisnąć klawisz F4. Otwiera się strona DOSING TABLE. Przy pomocy spacji należy rozwinąć listę jednostek czasu i podanej dawki i sprawdzić, czy wartości są zgodne z danymi z analizowanego przykładu. W tabeli należy wpisać czas $t = 0$ i podaną dawkę leku a następnie zatwierdzić klawiszem F1.
5. Wcisnąć klawisz F8. Otwiera się strona DATA SETS, na której jako matrycę należy ustawić „urine”; jako jednostkę mg/none. Wcisnąć klawisz F8.
6. Do tabeli należy wpisać czasy pobrania próbek moczu i skumulowane ilości salicylanów wydalane z moczem przeliczone na masę ASA.
7. Wciskając trzykrotnie F1, wrócić do MAIN MENU.
8. Z MAIN MENU wybrać opcję 8 – ENTER METHODS MENU, a z METHODS MENU opcję 2 – STANDARD COMPARTMENT MODELS.
9. Z SELECT DISPOSITION MODEL należy wybrać opcję 1 – ONE COMPARTMENT.
10. Ze STANDARD COMPARTMENT MODELS należy wybrać opcję 1 – SELECT DATA SETS.
11. Na stronie LIST SELECTION należy zaznaczyć myszą ► z lewej strony wyświetlonej pozycji. Wcisnąć F1.
12. Ze STANDARD COMPARTMENT MODEL wybrać opcję 6 – START ITERATION.
13. Na stronie RESULTS MENU wybrać opcję 2 – VIEW GRAPHICS. Przeanalizować przebieg wykresu z asystentem.
14. Po naciśnięciu F10 na ekranie ponownie pojawia się RESULTS MENU, z którego należy wybrać opcję 1 – VIEW RESULTS.
15. Otwiera się strona LIST SELECTION. Wcisnąć F1. Przeanalizować parametry farmakokinetyczne z asystentem. Wartości k_e i $t_{0,5}$ wpisać do protokołu.
16. Wciskając F10, wrócić do MAIN MENU. Wybrać opcję 0 – Exit TopFit.

PROTOKÓŁ 4

Imię i nazwisko:..... Data:.....

Wyznaczanie stałej szybkości eliminacji i biologicznego okresu półtrwania salicylanów wydalonych z moczem po podaniu *per os* kwasu acetylosalicylowego

Cel ćwiczenia:

.....

.....

1. Krzywa wzorcowa salicylanów w moczu

Nominalne stężenie salicylanu sodu [mg/ml]				
Absorbancja				

Równanie krzywej wzorowej $A = f(C)$ typu $y = ax$:

Współczynnik korelacji (r):

2. Wyniki analizy salicylanów wydalonych z moczem

Czas t_0 doustnego zażycia kwasu acetylosalicylowego (godzina:minuta):

Nr	Godzina zebrania próbki	Czas jaki upłynął od t_0 [h]	Objętość moczu [ml]	Absorbancja [AU]	Ilość leku [mg] $X_{u_t} = \frac{A_i}{a} \cdot N \cdot V_i \cdot 1.1$	$X_{u_\infty} - X_{u_t}$ [mg]	$\ln(X_{u_\infty} - X_{u_t})$
1							
2							
3							
4							
5							
6							
...							
...							

X_{u_i} – ilość leku wydalona w danym czasie, X_{u_t} – skumulowana ilość leku w moczu, X_{u_∞} – graniczna skumulowana ilość leku w moczu (dla ostatniego czasu zbiórki).

Równanie: $\ln(X_{U_\infty} - X_{U_t}) = f(t)$

$$\ln(X_{U_\infty} - X_{U_t}) = \ln\left(X_{U_\infty} \cdot \frac{k_a}{k_a - k_e}\right) - k_e \cdot t$$

Współczynnik korelacji (r):

Ułamek dawki ASA wydany drogą nerkową:

3. Parametry farmakokinetyczne obliczone dwiema metodami

Parametr	Jednostka	Program Excel lub kalkulator	Program TopFit
k_e			
$t_{0,5}$			

Wnioski:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....