

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

Franciszek Główka, Michał Romański, Marta Karaźniewicz-Lada

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 jednokompartментowym, kinetyka zmian ilości leku wydalonego z moczem, pole powierzchni pod krzywą (*AUC*), klirens, stała szybkości eliminacji, biologiczny okres półtrwania ($t_{0,5}$).

WPROWADZENIE

Farmakokinetyka pokazuje relację pomiędzy podaniem leku, które obejmuje takie możliwe do modyfikacji parametry jak dawka, sposób dawkowania, częstość i droga podania, a stężeniem osiąganym w czasie. Farmakodynamika obejmuje zależność między stężeniem oraz pożądanymi i niepożądanymi efektami występującymi w czasie. Ujmując skrótowo, farmakokinetyka może być postrzegana jako to, jak organizm wpływa na lek, a farmakodynamika – jako to, jak lek oddziałuje na organizm.

Eliminacja leku z moczem

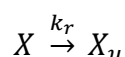
Leki są podawane różnymi drogami, głównie dożylnie, doustnie, domięśniowo, podskórnio, doodbytniczo, i ostatecznie są usuwane z organizmu. Leki mogą być eliminowane po ich chemicznej przemianie w metabolity z udziałem enzymów cytochromu P450 lub jako transformery na drodze nieenzymatycznej transformacji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



gdzie: 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 pierwszego 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:

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

gdzie X_0 to początkowa ilość leku w organizmie,

i otrzymujemy:

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

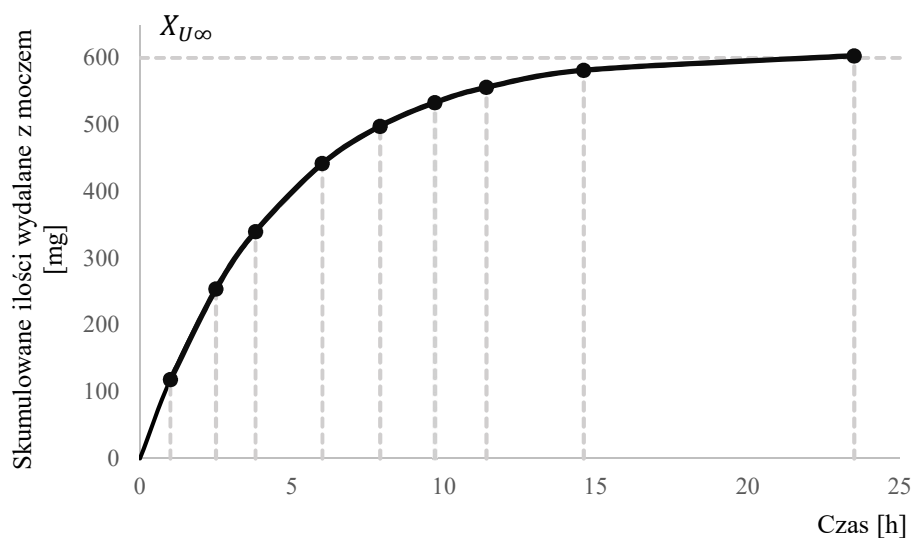
Ponieważ w tym przypadku niezmieniony lek jest wydalany wyłącznie przez nerki, można przyjąć, że $X_0 = X_{u\infty}$ oraz $k_r = k_e$, tzn. stała szybkości eliminacji k_e jest równa stałej szybkości eliminacji drogą nerkową. Otrzymujemy wówczas równanie:

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

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 skumulowaną ilość leku X_{u_t} wyeliminowaną w określonym czasie t , a $X_{u\infty}$ to ilość leku wyeliminowana z moczem po nieskończenie długim czasie. W praktyce czas ten jest ograniczony pobraniem ostatniej próbki moczu. Z równania tego wynika, że skumulowana ilość leku w moczu rośnie wykładniczo wraz z czasem, aż do osiągnięcia wartości granicznej $X_{u\infty}$. Przebieg zmian skumulowanych ilości leku w moczu po iniekcji dożylniej pokazano na rycinie 4.1.

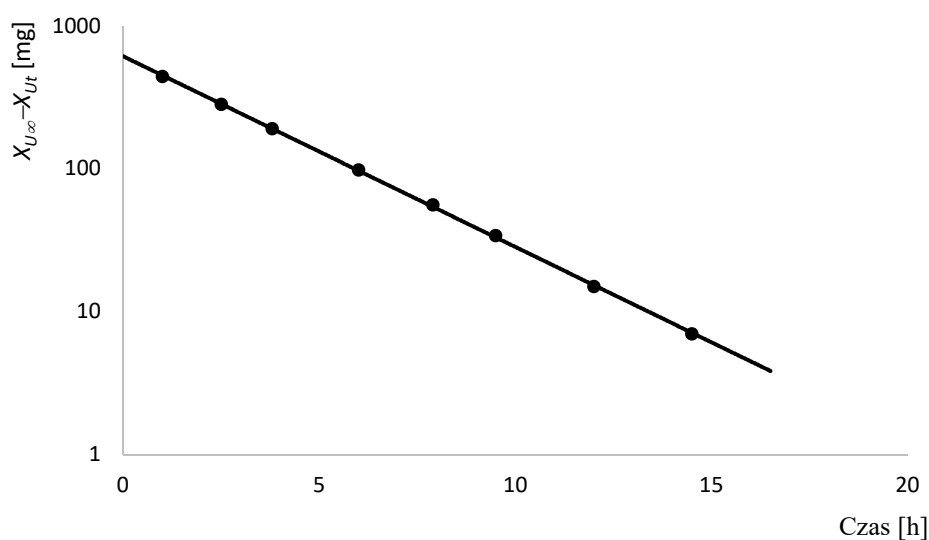


Rycina 4.1. Ilość leku eliminowanego z moczem po iniekcji dożylniej w modelu jednokompartamentowym jako funkcja czasu
(Źródło: opracowanie własne)

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

$$\ln(X_{u\infty} - X_{ut}) = \ln X_{u\infty} - k_e t \quad (4.5)$$

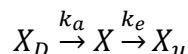
Równanie to dowodzi, że istnieje półlogarytmiczna liniowa zależność różnicy całkowitej ilości leku wydalonej z moczem w czasie t_∞ i ilości wydalonej w czasie t , a nie różnicy stężeń, od czasu. Graficzną postać równania przedstawiono na **rycinie 4.2**.



Rycina 4.2. Wykres w skali półlogarytmicznej przedstawiający ilość leku, która pozostała do wydalenia jako funkcja czasu. Nachylenie (a) wykresu w skali półlogarytmicznej wyraża stałą szybkości eliminacji, k_e
(Źródło: opracowanie własne)

Jednorazowe podanie pozanaczyniowe

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



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

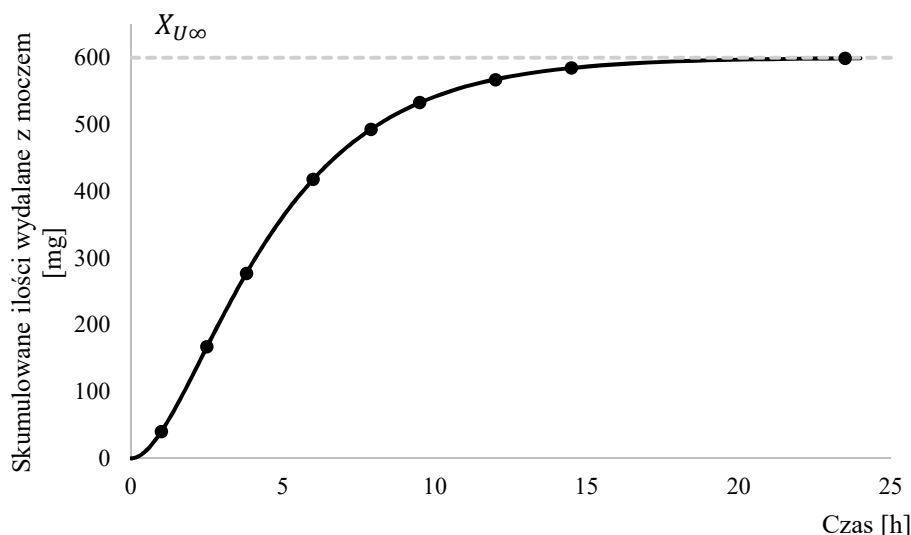
X – ilość leku w ustroju,

X_u – ilość leku wydalonego z moczem,

k_a – stała szybkości absorpcji pierwszego rzędu,

k_e – stała szybkości eliminacji pierwszego rzędu.

Graficzny obraz zmian skumulowanej ilości leku wydalonego z moczem po podaniu pozanaczyniowym przedstawiono na **rycynie 4.3**. W porównaniu z podaniem jednorazowej iniekcji dożylniej (bolus) (**rycina 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 wydalonego z moczem $X_{u\infty}$ będzie mniejsza niż podana dawka.



Rycina 4.3. Skumulowana ilość leku wydalonego z moczem jako funkcja czasu po podaniu pozanaczyniowym w modelu jednokompartментowym, opisana równaniem 4.6
(Źródło: opracowanie własne)

Skumulowaną ilość leku wydalonego z moczem po podaniu pozanaczyniowym 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 jednokompartментowym:

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

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 we krwi, w 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 – liniowa czy nieliniowa – jaką reprezentuje dany lek. 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 pierwszej klasy systemu BDDCS, 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 ok. 2 h. 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

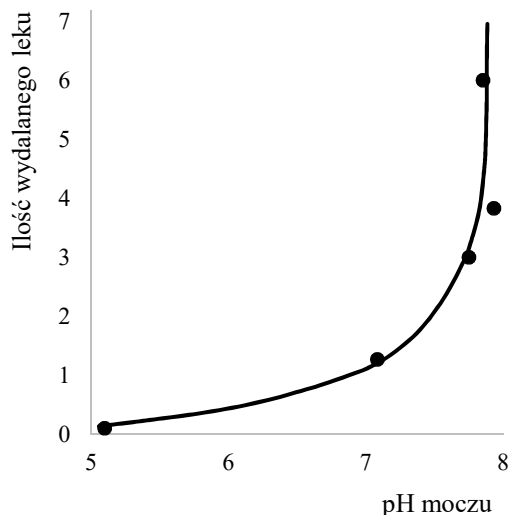
ASA wiąże się z białkami osocza dość słabo (60%), natomiast salicylany w znacznie większym stopniu (70–90%). Jednak przy wysokim stężeniu 120 mg/l salicylany wiążą się tylko w 33%. Salicylany powstałe z ASA ulegają szybkiej dystrybucji w organizmie człowieka. Przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego,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

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. Biologiczny okres półtrwania ASA wynosi 15–20 min, stąd po dawce 650 mg osocze jest oczyszczone z leku w ciągu 2 h. Zasadniczo ASA nie jest wydalany w niezmienionej postaci. Główny metabolit, kwas salicylowy, jest eliminowany w złożony sposób, wg zasad farmakokinetyki zarówno liniowej, jak i nieliniowej (model Michaelisa-Menten) przy wyższych stężeniach. Zasadniczą drogą eliminacji kwasu salicylowego jest sprzęganie z glicyną i wydalenie jako kwas salicylurowy oraz w postaci glukuronianów. Po podaniu ASA w dawkach 300–650 mg $t_{0,5}$ salicylanów wynosi ok. 3 h, a wraz ze zwiększeniem dawki $t_{0,5}$

wydłuża się nawet do 30 h, wskazując na nieliniową eliminację salicylanów.

Eliminacja kwasu salicylowego następuje przy udziale mechanizmów filtracji kłębuszkowej, aktywnej sekrecji kanalikowej w odcinku proksymalnym i biernej sekrecji kanalikowej. Jego klirens, podobnie jak klirens innych leków o charakterze kwasowym, jest w dużym stopniu zależny od pH moczu (**rycina 4.4**).



Rycina 4.4. Wpływ pH na ilość wydalonego leku o charakterze kwasowym
(Źródło: Hermann TW)

Przy zmianie pH moczu z 5 do 8 ilość zjonizowanego kwasu salicylowego (pK_a 3,0) zwiększa się z 2–3% dawki do 80%. Z kolei w przypadku leków o charakterze zasadowym alkalizacja moczu wywołuje cofnięcie dysocjacji i pojawienie się zwiększonej liczby cząsteczek niezdisocjowanych, co z kolei sprzyja wchłanianiu zwrotnemu. Przedstawione mechanizmy odgrywają istotną rolę zarówno w zapobieganiu zatruciom lekami, jak i w leczeniu tych zatruc. Alkalizacja 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.

Piśmiennictwo

1. Burton ME, Shaw LM, Schentag JJ, Evans WE (eds). Applied pharmacokinetics & pharmacodynamics. Principles of therapeutic drug monitoring. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia – Baltimore – New York 2006.
2. 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.
3. Hermann TW. Farmakokinetyka. Teoria i praktyka. PZWL, Warszawa 2002.
4. Ritschel WA, Kearns GL. Handbook of basic pharmacokinetics... including clinical applications. American Pharmacists Association, Washington 2004.
5. Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. McGraw Hill 2005.
6. Tozer TN, Rowland M. Introduction to pharmacokinetics and pharmacodynamics. The quantitative basis of drug therapy. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia – Baltimore – New York 2006.

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

Aparatura

Spektrofotometr Specol (Niemcy).

Wykonanie

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

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

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

Szczegółowa procedura zbierania próbek moczu

- Aby uzyskać wystarczającą ilość moczu w ciągu pierwszych godzin po podaniu leku, 1 h przed eksperymentem należy wypić 400 ml wody. Bezpośrednio przed podaniem leku wypróżnić całkowicie pęcherz moczowy. Zostawić 15 ml moczu do przygotowania krzywej wzorcowej i próbki ślepej.
- Tabletkę Polopiryny S popić 200 ml wody.
- Zbierać mocz przez 24 h od momentu zażycia leku. Dla każdej próbki zanotować czas oddania moczu oraz zmierzyć jego objętość.
- Przechowywać w zamrażalce przeznaczoną do analizy próbkę moczu (10–15 ml) po uprzednim jej opisanie.

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 *Oznaczanie salicylanów w moczu*. Uzyskane dane użyć do obliczenia stałej szybkości eliminacji i biologicznego okresu półtrwania salicylanów.

Roztwory

- Odczynnik Trindera: odważyć 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.
- Roztwór podstawowy salicylanu sodu: w kolbie miarowej o pojemności 250 ml rozpuścić 0,125 g salicylanu sodu w wodzie. Końcowe stężenie salicylanu wynosi 0,5 mg/ml.

Przygotowanie krzywej wzorcowej

- Po 0,5 ml moczu (bez salicylanów) przenieść do czterech probówek i dodać roztwór podstawowy salicylanu sodu o objętości odpowiednio: I – 0,04 ml, II – 0,16 ml, III – 0,3 ml i IV – 0,4 ml. Roztwory uzupełnić wodą do 1 ml, dodając kolejno 0,46 ml (I), 0,34 ml (II), 0,2 ml (III) i 0,1 ml (IV), i wymieszać. Następnie dodać po 5 ml odczynnika Trindera i ponownie wymieszać. Zmierzyć absorbancję przy długości fali $\lambda_{\text{max}} = 540 \text{ nm}$. Spektrofotometr wykalibrować uprzednio przy użyciu próbki ślepej.
- Próbkę ślepą przygotować poprzez zmieszanie 0,5 ml moczu (bez salicylanów) oraz 0,5 ml wody. Dodać 5 ml odczynnika Trindera i ponownie wymieszać.
- 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)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Salicylan sodu [0,5 mg/ml]	0	0,04	0,16	0,3	0,4
Woda	0,5	0,46	0,34	0,2	0,1
Odczynnik Trindera	5	5	5	5	5

Oznaczenie salicylanów w moczu

0,5 ml moczu zebranego po jednorazowej dawce 300 mg kwasu acetylosalicylowego rozcieńczyć w probówce z 0,5 ml wody i wymieszać. Dodać 5 ml odczynnika Trindera i ponownie wymieszać. Zmierzyć absorbancję przy długości fali $\lambda_{max} = 540$ nm i wyniki zapisać w protokole.

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

1. Obliczyć ilość salicylanów wydaloną z moczem w poszczególnych czasach w przeliczeniu na masę kwasu acetylosalicylowego X_{u_i} 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 ($N = 2$),

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} wydane 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 ($X_{u_{\infty}}$).
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 $X_{u_{\infty}}$ obliczyć procent dawki kwasu acetylosalicylowego wyeliminowany drogą nerkową w formie salicylanów (f_u): $f_u = \frac{X_{u_{\infty}}}{D} \cdot 100\%$.

6. Wyznaczyć k_e i $t_{0,5}$ salicylanów w programie TopFit wg 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 F7. Otwiera się strona DOSING TABLE. Za pomocą 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 wydalone 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.