

La cinetica della nicotina nell'uomo

Sommario

1. Introduzione	2
2. Metodi analitici per la misura delle concentrazioni di nicotina.....	4
3. Parametri cinetici della nicotina	5
4. Eliminazione della nicotina	8
<i>4.1 Metabolismo</i>	<i>8</i>
<i>4.2 Eliminazione renale</i>	<i>9</i>
5. Distribuzione della nicotina.....	10
6. Assorbimento della nicotina.....	11
<i>6.1 Assorbimento della nicotina dal fumo di sigarette.....</i>	<i>11</i>
<i>6.2 Assorbimento di nicotina dal tabacco da fiuto (oral snuff), dalla gomma e dal tabacco da masticare.....</i>	<i>13</i>
<i>6.3 Assorbimento di nicotina dai cerotti transdermici.....</i>	<i>14</i>
<i>6.4 Assorbimento di nicotina dagli spray nasali</i>	<i>15</i>
<i>6.5 Assorbimento della nicotina da inalatori</i>	<i>17</i>
<i>6.6 Altre formulazioni</i>	<i>17</i>
7. Conclusioni	18
Bibliografia	18

La cinetica della nicotina nell'uomo

Renato Urso

Dipartimento di Farmacologia “ Giorgio Segre”, Università di Siena.

1. Introduzione

Nel 1560 Jean Nicot de Villemain, ambasciatore di Francia in Portogallo, inviò alla corte francese una pianta proveniente dalle Americhe che era consigliata per la cura del mal di stomaco e delle ulcere, per l'asma e per le malattie polmonari. Si trattava della pianta del tabacco e sembra che la Regina Madre Caterina De Medici, che soffriva di emicrania, ottenne grande giovamento dalle polveri ottenute frantumandone le foglie. In onore dell'ambasciatore, la pianta venne chiamata Herba Nicotiana e da questo nome derivò in seguito la denominazione di uno dei componenti più importanti del tabacco, la nicotina (1).

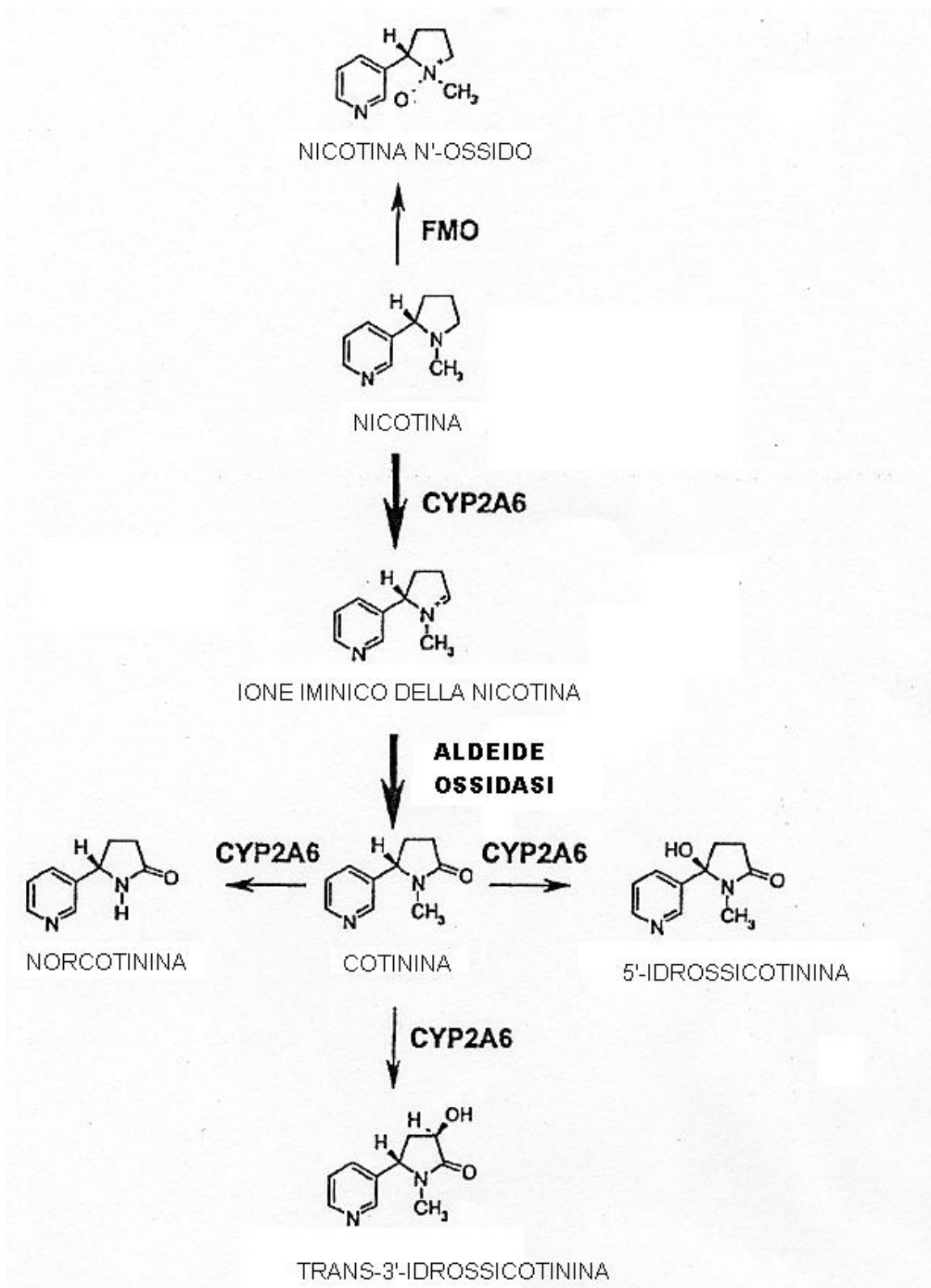
La nicotina è una ammina terziaria composta da un anello piridinico e un anello pirrolidinico. In figura 1 è riportata la struttura della nicotina e di alcuni suoi metaboliti che si formano nell'uomo. Esistono due stereoisomeri della nicotina: la (S)-nicotina, che lega i recettori nicotinici e che è presente nel tabacco, e la (R)-nicotina che è un agonista debole dei recettori colinergici. Durante la combustione del tabacco la nicotina racemizza in parte, fino al 10 % della nicotina presente, di conseguenza i fumatori sono esposti anche a piccole quantità dello stereoisomero (R) (2).

Particolare interesse ha suscitato negli ultimi anni lo studio di alcune proprietà farmacologiche della nicotina perché questa è la sostanza che più di altre presenti nel tabacco è responsabile degli effetti centrali e vascolari del fumo di sigaretta e della assuefazione al fumo. Per aiutare i forti fumatori a ridurre il consumo di sigarette, sono stati sviluppati diversi preparati farmaceutici a base di nicotina quali la gomma da masticare, i cerotti transdermici, gli spray e gli inalatori nasali, tuttavia non si deve dimenticare che la nicotina è stata presa in considerazione anche come agente terapeutico per la cura di diverse patologie quali la colite ulcerosa, la malattia di Parkinson e la malattia di Alzheimer (3).

Lo studio degli effetti della nicotina è complicato dal fatto che somministrazioni ripetute di questa sostanza provocano assuefazione e tolleranza ed è per questo motivo che la conoscenza delle caratteristiche cinetiche della nicotina può dare un significativo contributo alla comprensione dei suoi meccanismi di azione e delle sue potenzialità come agente terapeutico.

Figura 1

Struttura e metabolismo della nicotina nell'uomo.



2. Metodi analitici per la misura delle concentrazioni di nicotina

Nel corso degli anni sono stati messi a punto diversi metodi per la misura della nicotina e del suo principale metabolita, la cotinina. Questi includono metodiche specifiche e sensibili come quelle gas cromatografiche (GC), la gas cromatografia capillare (GCC), la cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) e la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS), e altre meno specifiche, come per esempio il saggio radioimmunologico (RIA) che però può dare reazioni crociate degli anticorpi con metaboliti o sostanze endogene (4, 5). Per motivi di specificità e sensibilità, la GCC, la GC-MS e l'HPLC sono le metodiche attualmente più usate negli studi di farmacocinetica che prevedono la misura dei livelli di nicotina e dei suoi metaboliti in campioni biologici.

Un metodo GCC (6) che può essere impiegato per la determinazione di nicotina e cotinina sia nel plasma che nelle urine, utilizza un detector azoto/fosforo. Il metodo prevede un singolo passaggio di estrazione liquido-liquido e raggiunge un limite di rivelazione di 0.5 ng/ml per la nicotina e di 3.8 ng/ml per la cotinina con una precisione (CV) del 9% ed una accuratezza compresa tra 88 e 100 % circa.

Peyton et al. (7) hanno messo a punto un metodo GC-MS sensibile e specifico che è stato poi usato per misurare contemporaneamente le concentrazioni plasmatiche di nicotina, cotinina e mecamilamina. La mecamilamina è un antagonista della nicotina ed è stata testata in studi clinici controllati per il trattamento del tabagismo. Secondo questo metodo, i campioni di plasma sono sottoposti a quattro passaggi di estrazione con solventi organici per poi venire concentrati e analizzati in GC-MS. Il limite di sensibilità della metodica è di 2, 1 e 2 ng/ml per mecamilamina, nicotina e cotinina rispettivamente con una accuratezza intrasaggio superiore al 95 % per tutte e tre le sostanze. Un secondo metodo in GC-MS è stato messo a punto per la misura della nicotina e della cotinina nel plasma, nelle urine e nella saliva dell'uomo (8). I limiti di sensibilità vanno da 0.2 ng/ml nelle urine a 1 ng/ml nel plasma e nella saliva con un intervallo di linearità della curva di calibrazione che arriva fino a 10000 ng/ml e una precisione inferiore al 5 %. Con questo metodo è stato possibile misurare i livelli di nicotina e del suo metabolita anche in soggetti esposti a fumo passivo.

Recentemente è stato validato anche un metodo HPLC con detector UV, che può essere utilizzato per determinare nicotina e cotinina sia nel plasma che nel cervello e in altri tessuti in analisi di routine (9). In questo caso si utilizza una doppia estrazione sequenziale in fase solida su colonne di silice e octadecilsilano. I componenti vengono separati con una colonna a fase inversa (C18) utilizzando il fenilimidazolo come standard interno. Questo saggio raggiunge un limite di sensibilità di 8 ng/ml per la nicotina e di 13.6 ng/ml per la cotinina con una precisione intersaggio (CV) di 7 e 9% per nicotina e cotinina rispettivamente, e una variabilità intrasaggio di 3.9% sia per nicotina che cotinina.

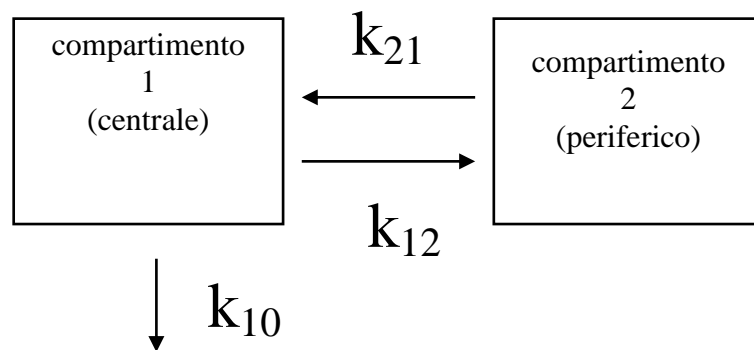
3. Parametri cinetici della nicotina

Per definire il modello cinetico più adatto a descrivere la distribuzione e l'eliminazione della nicotina, è conveniente somministrare la sostanza per via endovenosa, anche se questa è una via inusuale per la nicotina. In questo modo è possibile conoscere con esattezza la quantità di sostanza che effettivamente entra in circolo e quindi, usando le concentrazioni plasmatiche, è possibile calcolare sia la clearance che il volume di distribuzione.

Dopo somministrazione di nicotina e.v. nell'uomo, si può osservare una prima fase iniziale di caduta rapida dei livelli plasmatici, che è dovuta alla distribuzione della nicotina in diversi tessuti, seguita da una fase di scomparsa più lenta caratterizzata da una semivita di circa 2-3 ore. Il modello appropriato per descrivere questo profilo è un modello a due compartimenti la cui soluzione è una funzione biesponenziale (vedi figura 2).

Figura 2

Modello a due compartimenti con eliminazione dal compartimento centrale e funzione biesponenziale soluzione del modello.



Funzione biesponenziale

$$C_1 = \frac{Dose \cdot (k_{21} - \alpha)}{V_1 \cdot (\beta - \alpha)} \cdot e^{-\alpha \cdot t} + \frac{Dose \cdot (k_{21} - \beta)}{V_1 \cdot (\alpha - \beta)} \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

Con questo modello è stata descritta la cinetica plasmatica della nicotina in soggetti fumatori dopo infusione endovenosa continua per 0.5 ore (studio preliminare) e dopo infusione endovenosa continua per 3 ore (10).

Lo studio preliminare era stato disegnato per stimare i parametri cinetici e programmare la velocità di infusione necessaria per avere delle concentrazioni plasmatiche medie a steady state (s.s.) pari a 25 ng/ml, queste infatti sono le concentrazioni medie normalmente osservate in soggetti fumatori.

I valori medi dei parametri stimati dopo infusione endovenosa continua per 0.5 ore sono risultati i seguenti: $V_1 = 1.14 \text{ l/kg}$, $k_{12} = 0.023 \text{ min}^{-1}$, $k_{10} = 0.016 \text{ min}^{-1}$, $k_{21} = 0.013 \text{ min}^{-1}$, $\alpha = 0.048 \text{ min}^{-1}$ ($t_{1/2\alpha} = 14.43 \text{ min}$) and $\beta = 0.0044 \text{ min}^{-1}$ ($t_{1/2\beta} = 157 \text{ min}$), mentre i parametri medi stimati dopo

infusione per 3 ore sono riportati in tabella 1. Le differenze non sono rilevanti e sono probabilmente dovute agli effetti dei due protocolli sperimentali sulle stime dei parametri.

Tabella 1

Parametri cinetici della nicotina dopo infusione endovenosa continua per 3 ore: valori medi nella popolazione e errore standard (10).

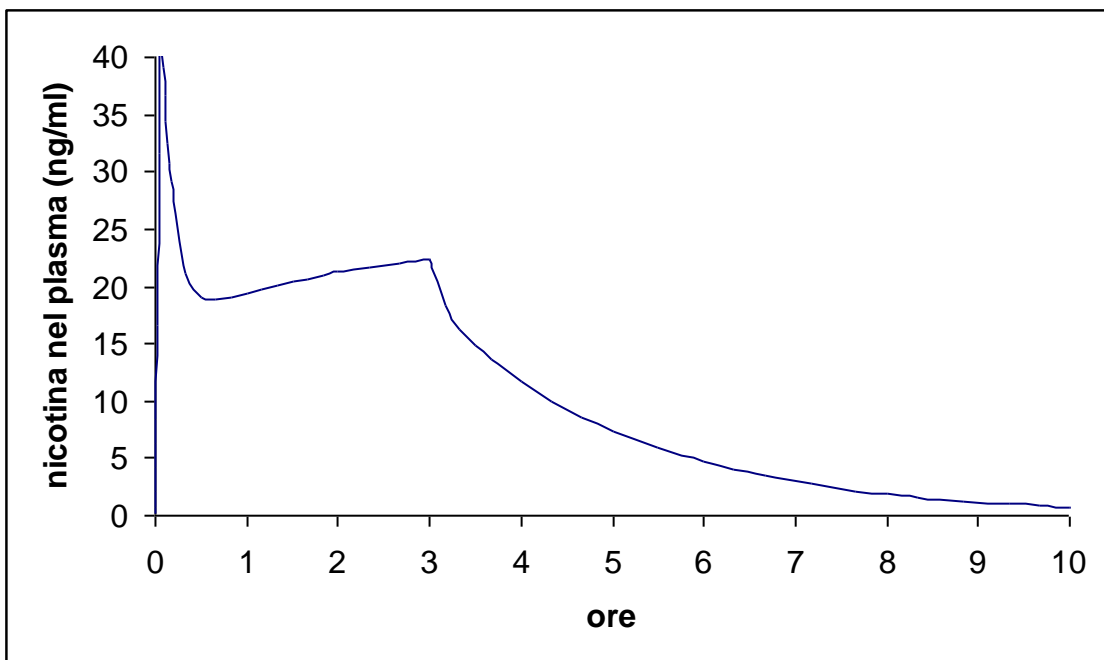
		Valore	Errore standard
k_{10}	1/min	0.026	0.001
k_{12}	1/min	0.0684	0.001
k_{21}	1/min	0.0363	0.0003
V_1	L/kg	0.867	0.032
CL	L/min/kg	0.021	0.0006
V_{ss}	L/kg	2.48	0.08
$t_{1/2 \alpha}$	min	5.66	0.06
$t_{1/2 \beta}$	min	98.6	3.4

In figura 3 è riportato il profilo plasmatico medio della nicotina dopo infusione endovenosa continua per 3 ore simulato utilizzando i parametri riportati in tabella 1. Con questa simulazione si possono interpolare con buona approssimazione i livelli medi di nicotina osservati nei 9 soggetti e nel grafico si vede che a 3 ore le concentrazioni di nicotina tendono a stabilizzarsi, mentre dopo la fine dell'infusione le concentrazioni calano fino a raggiungere valori che a 10 ore possono essere considerati trascurabili. La variabilità delle concentrazioni di nicotina osservate nei nove soggetti tra 2 e 3 ore è risultata ampia, infatti in questo intervallo di tempo i livelli oscillano tra 20 e 30 ng/ml.

Figura 3

Simulazione della cinetica plasmatica della nicotina dopo infusione endovenosa continua. Lo scopo dello studio era quello di avere dei livelli di s.s. pari a 25 ng/ml e quindi la velocità di infusione necessaria per ottenere questi livelli è stata calcolata dal prodotto tra $C_{ss}=25$ ng/ml e la clearance ($CL = V_1 \times k_{10}$). Nello studio è stata data anche una dose di carico per raggiungere C_{ss} in tempi più brevi, tuttavia la stima della dose di carico non è risultata buona infatti i livelli ottenuti sono stati ampiamente sovrastimati (10).

Nella simulazione sono stati utilizzati i parametri riportati in tabella 1 ed è stata data una dose di carico seguita da una infusione continua con velocità pari a 530 ng/min/kg. I livelli riportati nel grafico interpolano bene i valori medi osservati nella popolazione di 9 soggetti fumatori fino a 6 ore dall'inizio dell'infusione.



4. Eliminazione della nicotina

La nicotina è in parte eliminata per via renale ed in parte è metabolizzata nel fegato e, in misura minore, nel polmone e nel cervello. I fumatori hanno in media una clearance totale minore dei non fumatori e comunque la variabilità di questo parametro nella popolazione è molto ampia.

Il principale metabolita della nicotina è la cotinina (70-80%), mentre una quota inferiore viene trasformata in nicotina N9-oxide (4 %). Diversi citocromi e la flavina monossigenasi sono responsabili del metabolismo della nicotina, tuttavia sembra che il citocromo CYP 2A6 sia l'enzima più importante che provoca la formazione di cotinina attraverso un metabolita intermedio. La cotinina è a sua volta in parte metabolizzata, e in parte escreta nelle urine. Sia la nicotina che la cotinina subiscono anche una glucuronazione. La cinetica plasmatica della cotinina è stata studiata anche indipendentemente dal suo precursore (11) e le stime dei suoi parametri cinetici nell'uomo sono riportate nella tabella 2.

Tabella 2

Parametri cinetici della cotinina nell'uomo

Parametro	Valore
Semivita	18 ore
Volume di distribuzione	88 litri
Clearance totale	72 ml/min
Clearance renale	12 ml/min
Clearance extrarenale	60 ml/min

La cotinina è stato il marker maggiormente utilizzato per misurare l'esposizione alla nicotina dei fumatori e dei non fumatori (fumo passivo), e questo sia perché la semivita del metabolita è molto più lunga della semivita del precursore, sia perché, essendo la nicotina e la cotinina metabolizzate probabilmente dallo stesso citocromo, esiste un'alta correlazione tra la clearance della cotinina e la clearance della nicotina che, a sua volta, è il parametro che meglio di altri è predittivo dei livelli plasmatici della nicotina (12).

4.1 Metabolismo

Nell'uomo, la nicotina viene principalmente metabolizzata nel fegato e in minore quantità nel polmone e nel cervello. Circa il 70-80% della dose viene C-ossidata dal citocromo P-450 a ione $\Delta^{1(5)}$ -iminico della nicotina che è ulteriormente metabolizzato a cotinina da una aldeide ossidasi citosolica. La nicotina è anche N-ossidata (4%) da una flavina monoossigenasi a nicotina N'-ossido (13, 14). Esiste una considerevole variabilità interindividuale nella velocità di metabolizzazione della nicotina a cotinina (15). La cotinina è successivamente convertita a diversi prodotti idrossilati come la *trans*-3'-idrossicotinina, che è il maggiore metabolita della nicotina trovato nelle urine (16) con una semivita di eliminazione di 6.2 ore (17), la 5'-idrossicotinina e norcotinina (vedi figura 1). Successivamente la nicotina, la cotinina e la *trans*-3'-idrossicotinina sono glucuronidate (18). La clearance della nicotina e della cotinina sono altamente correlate, con un coefficiente di correlazione di 0.9 (12), e questa osservazione ha indotto a supporre che nicotina e cotinina siano metabolizzate dagli stessi enzimi. Sebbene nicotina e cotinina siano entrambe metabolizzate dal

CYP2A6, la loro affinità per questo enzima è completamente diversa (19, 20) con la nicotina che mostra un'alta affinità e la cotinina una minore affinità per il CYP2A6. Studi effettuati in vitro con microsomi di fegato umano e P450 ricombinante, hanno dimostrato che il CYP2A6 è il più importante P450 per la C-ossidazione della nicotina (19, 21, 22), e che la clearance della nicotina è diminuita nei microsomi di fegato di individui eterozigoti per l'allele CYP2A6*2 (23). Comunque, anche altri P450 come il CYP2B6 possono catalizzare la C-ossidazione della nicotina, ma con una affinità più bassa (24). Questo è rilevante specialmente negli individui che presentano una ridotta attività dell'enzima CYP2A6. Il CYP2A6 è coinvolto anche nella successiva ossidazione della cotinina ad altri prodotti (20, 25), tuttavia l'importanza relativa dei diversi enzimi nel catalizzare queste reazioni non è stata ancora completamente chiarita. Uno studio in vivo ha ulteriormente evidenziato l'importanza del CYP2A6 nel metabolismo della nicotina; individui omozigoti per una delezione del gene CYP2A6 hanno mostrato solo il 15% dei livelli urinari di cotinina rispetto a individui che presentavano almeno un gene CYP2A6 attivo, dopo avere fumato lo stesso numero di sigarette (26). In precedenti studi era stato ipotizzato un rilevante contributo del CYP2D6 (debrisoquina idrossilasi) al metabolismo della nicotina in vivo, ma questo non è stato in seguito confermato (27) lasciando in dubbio il ruolo effettivo di questo enzima nel metabolismo della nicotina. A causa del sostanziale coinvolgimento del CYP2A6 nella eliminazione della nicotina, è stato proposto che il polimorfismo del CYP2A6 giochi un ruolo importante negli individui fumatori ed è stato anche suggerito che inibitori del CYP2A6 possano essere usati per il trattamento della dipendenza da tabacco (28).

Il metabolismo della nicotina è stato studiato anche nel neonato (17). Rispetto agli adulti, i neonati mostrano una prolungata eliminazione della nicotina, ma non della cotinina, della 3'-idrossicotinina o dei loro coniugati. Mentre negli adulti il CYP2A6 è il principale enzima responsabile del metabolismo della nicotina, gli enzimi coinvolti nel metabolismo nel neonato non sono stati ancora determinati. Se la nicotina fosse metabolizzata dal CYP2A6 nel neonato come nell'adulto, allora sembrerebbe che i neonati siano deficienti di CYP2A6 (o che abbiano una variante fetale di CYP2A6 con una alterata affinità per la nicotina), oppure che abbiano un volume di distribuzione maggiore. Nei neonati figli di fumatori la semivita della cotinina è la stessa degli adulti e si è pensato che sia possibile che i neonati utilizzino un altro enzima oltre il CYP2A6 per metabolizzare nicotina e cotinina. La presenza di derivati coniugati della nicotina dopo il primo giorno di vita e la semivita parallela dei coniugati e non coniugati, indica che i neonati di fumatori sono capaci di N-coniugazione e di O-coniugazione sebbene non siano stati determinati quali isoenzimi di coniugazione siano coinvolti (17).

4.2 Eliminazione renale

La clearance renale della nicotina varia tra il 2 e il 35 percento della clearance totale. È interessante notare che il pH delle urine influenza l'eliminazione renale a causa della ionizzazione della nicotina. Infatti la nicotina, che è una base debole, è non ionizzata a pH 7 e quindi parte della quota filtrata può essere facilmente riassorbita a livello del tubulo, mentre l'opposto accade a pH acido. La conseguenza è che si ha un aumento della clearance renale della nicotina quando le urine tendono ad essere acide. Si è osservato che in soggetti fumatori questo aumento può raggiungere valori percentuali molto elevati, infatti in uno studio controllato si è avuto un aumento della clearance renale del 208 % acidificando le urine fino a pH 4.5 rispetto ai controlli che avevano un pH medio pari a 5.6. Essendo solo parzialmente eliminata per via renale, l'effetto sulla clearance totale è risultato meno marcato (41%).

Al contrario, portando il pH delle urine a 6.7 si è osservato un calo della clearance renale (78%). Nello stesso studio si è osservato che i soggetti fumatori tendevano ad aumentare il consumo di sigarette in modo da compensare, almeno in parte, l'aumentata eliminazione di nicotina (29).

5. Distribuzione della nicotina

Nel sangue, che ha pH 7.4, circa il 69 % della nicotina è ionizzato e meno del 5 % è legato alle proteine plasmatiche (30). Si è visto sopra che il volume di distribuzione stimato dopo somministrazione e.v. è ampio ($V_{ss} = 180$ litri circa che equivale approssimativamente a 2.6 volte il peso di tutto il corpo) e questo significa che la nicotina si distribuisce bene in molti tessuti. Ovviamente non è facile avere accurate informazioni sulla distribuzione nell'uomo, tuttavia le concentrazioni tissutali di nicotina sono state misurate a s.s. dopo infusione continua endovenosa nel coniglio e si è visto che la milza, il fegato, il polmone e il cervello hanno un'alta affinità per la sostanza, mentre l'affinità per il tessuto adiposo è bassa. In tabella 3 sono riportati i rapporti tra le concentrazioni nei tessuti e nel sangue per diversi organi (31).

Tabella 3

Distribuzione della nicotina nel coniglio a s.s. dopo infusione endovenosa continua: rapporto tra le concentrazioni nei tessuti di alcuni organi e le concentrazioni plasmatiche.

Tessuto	Rapporto tessuto / sangue
Sangue	1.0
Cervello	3.0
Cuore	3.7
Muscolo	2.0
Tessuto adiposo	0.5
Rene	21.6
Fegato	3.7
Polmone	2.0
Tratto gastrointestinale	3.5

In altri studi sull'animale è stato dimostrato che il passaggio della nicotina dal sangue al cervello è anche molto rapido e che la distribuzione avviene già durante il primo passaggio del sangue attraverso questo organo (32, 33, 34).

La nicotina è secreta nella saliva (35) e si può quindi pensare che dalla saliva venga trasportata nello stomaco, dove rimarrebbe intrappolata nell'ambiente acido, per essere poi riassorbita a livello dell'intestino tenue.

La nicotina è presente nel latte materno di donne fumatrici (36, 37), passa liberamente la placenta ed è stata trovata nel liquido amniotico e nel sangue del cordone ombelicale dei neonati (38, 39, 40)

6. Assorbimento della nicotina

6.1 Assorbimento della nicotina dal fumo di sigarette

Quando si fuma una sigaretta la nicotina passa dal fumo alla bocca per poi essere veicolata nei polmoni attraverso le piccole particelle di tartaro che si formano durante la combustione del tabacco e, probabilmente, anche dal vapore che viene inalato (41)

Si è già visto che la nicotina è una base debole che ha un pKa pari a 8, di conseguenza non solo l'eliminazione renale, ma anche l'assorbimento della sostanza in diversi siti dell'organismo può dipendere dal pH dell'ambiente circostante. Il pH prodotto da una singola boccata di fumo da una sigaretta confezionata con tabacco "flue-cured" (il tabacco maggiormente usato in America) è acido e diminuisce progressivamente con le boccate successive da pH 6.0 a pH 5.5 (42). In queste condizioni la nicotina è ionizzata e quindi l'assorbimento nella bocca è molto limitato (43). Al contrario, il pH prodotto dal fumo di tabacco "air-cured", che è il tabacco delle pipe, dei sigari e di alcune sigarette europee, è più alcalino e progressivamente passa da pH 6.5 a pH 7.5 e oltre (42) e quindi la nicotina in queste condizioni può essere bene assorbita anche nella bocca (44, 45).

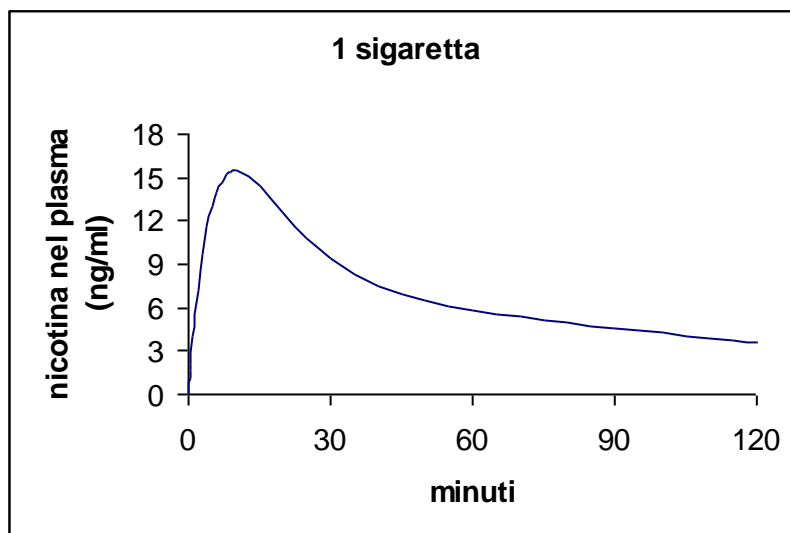
Una volta arrivata nelle vie respiratorie e negli alveoli, la nicotina viene rilasciata e passa rapidamente nel sangue arterioso che la distribuisce in tutto il corpo. L'assorbimento a livello polmonare è molto rapido non solo per l'ampia superficie degli alveoli, ma anche perché il pH che la nicotina trova in questo ambiente è circa 7.4 e questo facilita il passaggio attraverso le membrane. La quantità di nicotina che viene assorbita dal fumo attraverso i polmoni sembra comunque essere molto variabile, infatti, inalando nicotina marcata, si è visto che quattro soggetti fumatori assorbivano una quota pari a 82 - 92 % della nicotina presente nel fumo al contrario di un quinto soggetto fumatore che riusciva ad assorbire solo il 29 % e di altri 3 soggetti non fumatori che assorbivano circa il 30-66 % (46).

Si è detto che la velocità con cui la nicotina passa dal sangue arterioso al cervello è elevata (10 - 20 secondi), e considerando il fatto che durante il fumo di sigarette i livelli arteriosi di nicotina sono da due a sei volte maggiori dei livelli venosi, si ha che la nicotina raggiunge concentrazioni molto elevate nei tessuti cerebrali (47, 48). Dopo il picco, che si raggiunge in pochi minuti, le concentrazioni plasmatiche, e quindi anche quelle cerebrali che sono in rapido equilibrio con quelle plasmatiche, calano rapidamente sia perché, come si è visto, la nicotina si distribuisce in un volume più ampio, sia perché la sostanza è efficientemente eliminata dall'organismo.

In figura 4 sono riportate le concentrazioni plasmatiche di nicotina nell'uomo simulando con un modello farmacocinetico l'assorbimento della sostanza dal fumo di sigarette. Per la simulazione sono stati usati i parametri stimati dopo somministrazione endovenosa (tabella 1) e si è ipotizzato un assorbimento del prim'ordine con costante di assorbimento $k_a = 0.13$ 1/min e una dose pari a 30 μg . Questi valori sono stati aggiustati in modo da interpolare con buona approssimazione i livelli plasmatici medi di nicotina osservati in 10 soggetti fumatori dopo aver fumato circa una sigaretta per 9 minuti (49).

Figura 4

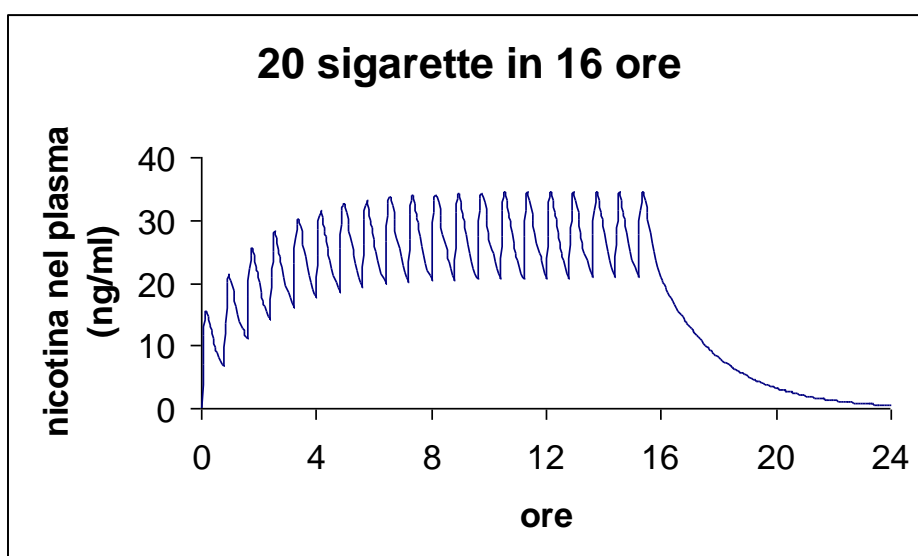
Livelli plasmatici di nicotina risultanti dal fumo di una sigaretta: la simulazione è stata effettuata ipotizzando che l'assorbimento segua una cinetica del primo ordine con costante $k_a = 0.13$ 1/min e una quota di nicotina assorbita pari a $30 \mu\text{g}$.



Essendo la semivita terminale pari a circa 2 ore, fumare più sigarette ad intervalli regolari non più lunghi di 6-8 ore provoca un accumulo significativo di nicotina nel plasma con livelli persistenti anche durante la notte. Utilizzando i parametri e il modello della simulazione precedente, sono stati predetti allora i livelli plasmatici di nicotina dopo il fumo di più sigarette nell'arco della giornata (20 sigarette in 16 ore ad intervalli esattamente uguali) e i risultati sono riportati in figura 5.

Figura 5

Simulazione dei livelli plasmatici di nicotina nell'uomo durante e dopo il fumo 20 sigarette in 16 ore ad intervalli esattamente uguali. I parametri farmacocinetici e il modello sono quelli usati per la simulazione di figura 4.



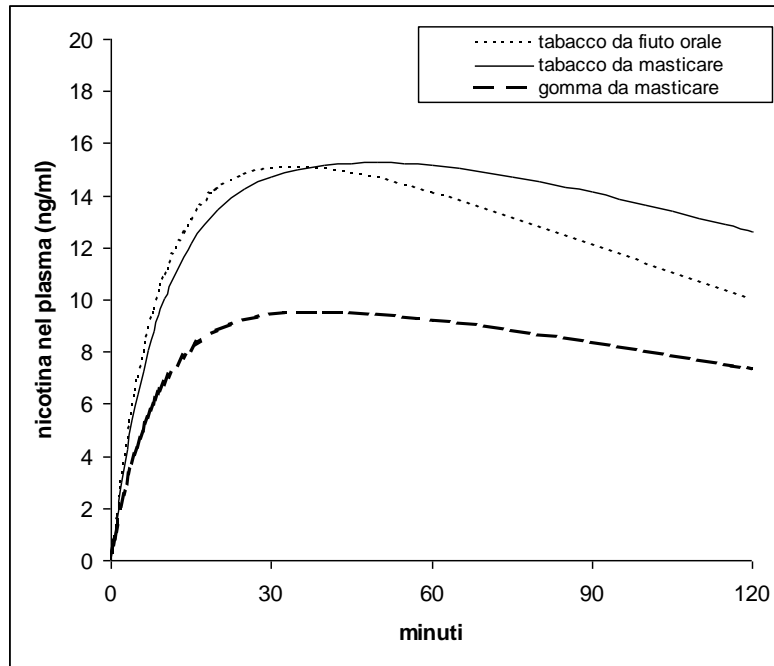
Normalmente le concentrazioni plasmatiche medie misurate in soggetti fumatori sono circa 20-40 ng/ml durante il giorno (50), tuttavia questi livelli possono variare molto tra fumatori sia per la grande variabilità di CL nella popolazione, sia perchè la stessa dose di nicotina assorbita può variare molto a seconda delle attitudini del fumatore. Infatti, oltre alla già menzionata variabilità tra marche di sigarette, si è osservato che lo stesso fumatore può regolare di volta in volta la quantità di nicotina assorbita variando la frequenza e i volumi di fumo ispirati (51, 52, 53) e questo comportamento tende probabilmente a mantenere le concentrazioni di nicotina ai livelli che risultano ottimali per quel soggetto.

6.2 Assorbimento di nicotina dal tabacco da fiuto (oral snuff), dalla gomma e dal tabacco da masticare

Nei soggetti che consumano gomma con nicotina o tabacco da masticare o da fiuto, la nicotina è assorbita attraverso la mucosa orale. Poiché la nicotina è continuamente assorbita durante la consumazione del prodotto, i livelli plasmatici tendono a crescere lentamente fino a raggiungere il picco che si ha dopo tra circa 30 - 45 minuti dall'inizio del consumo. Consumando tabacco da fiuto il picco è leggermente anticipato, ma comunque l'assorbimento è sempre più lento rispetto al fumo di sigaretta. In figura 6 sono riportati i livelli plasmatici di nicotina dopo consumo di tabacco da masticare (7.9 g), gomma da masticare contenente nicotina (2 pezzi da 2 mg) e tabacco da fiuto orale (2.5 g). Questi livelli sono stati ottenuti con delle simulazioni usando i parametri cinetici della nicotina riportati in tabella 1 e con l'aggiunta nel modello di un assorbimento del prim'ordine. Le velocità di assorbimento sono state aggiustate in modo che le concentrazioni simulate interpolino con buona approssimazione i livelli medi di nicotina osservati sperimentalmente in una popolazione di 10 soggetti dopo consumo di gomma e tabacco da masticare e tabacco da fiuto orale per 30 minuti (54). Si vede che i profili medi per i tre prodotti sono simili anche se i livelli dopo gomma da masticare sono quasi dimezzati rispetto agli altri. Si tenga presente che le dosi assorbite possono essere molto diverse a seconda del tipo di prodotto, infatti l'estrazione della nicotina in questi casi non è mai completa (per esempio si aggira intorno al 53 % e al 72 % per una gomma di 2 e di 4 mg rispettivamente), quindi la frazione che raggiunge il circolo sistemico è in genere molto inferiore alla quantità contenuta nel prodotto (55). Per questi motivi i livelli di nicotina che si possono osservare nel plasma di soggetti che fanno uso di questi prodotti sono in genere considerevolmente inferiori ai livelli osservati in soggetti fumatori (55, 56).

Figura 6

Simulazione dei livelli plasmatici di nicotina dopo consumo di tabacco da fiuto orale, tabacco da masticare e gomma da masticare. La simulazione è stata fatta utilizzando i parametri cinetici della nicotina (tabella 1) e un modello a due compartimenti con assorbimento del prim'ordine. Nel caso di tabacco e gomma da masticare si è imposto che la nicotina venisse assorbita con due velocità diverse, una più rapida e una più lenta, per avere un picco più piatto.



E' stato osservato infatti che i livelli medi di nicotina misurati in 50 soggetti mentre fumavano e, successivamente, mentre consumavano gomma da masticare contenente 2 o 4 mg di nicotina, passavano da 35.9 ng/ml a 23 ng/ml. Solo una piccola parte dei soggetti, e cioè quelli che consumavano fino a 14 - 24 pezzi di gomma da 4 mg di nicotina al giorno, aveva livelli plasmatici superiori a quelli osservati durante il fumo. Queste osservazioni hanno portato alla conclusione che il rispetto di semplici regole sul consumo di gomma da masticare da parte dei soggetti che masticando gomma intendono dismettere il fumo, dovrebbe essere sufficiente per evitare una eccessiva esposizione alla nicotina.

Le tavolette di gomma da masticare sono state approvate in USA fin dal 1984 e nel 1996 sono divenuti dei prodotti OTC.

6.3 Assorbimento di nicotina dai cerotti transdermici

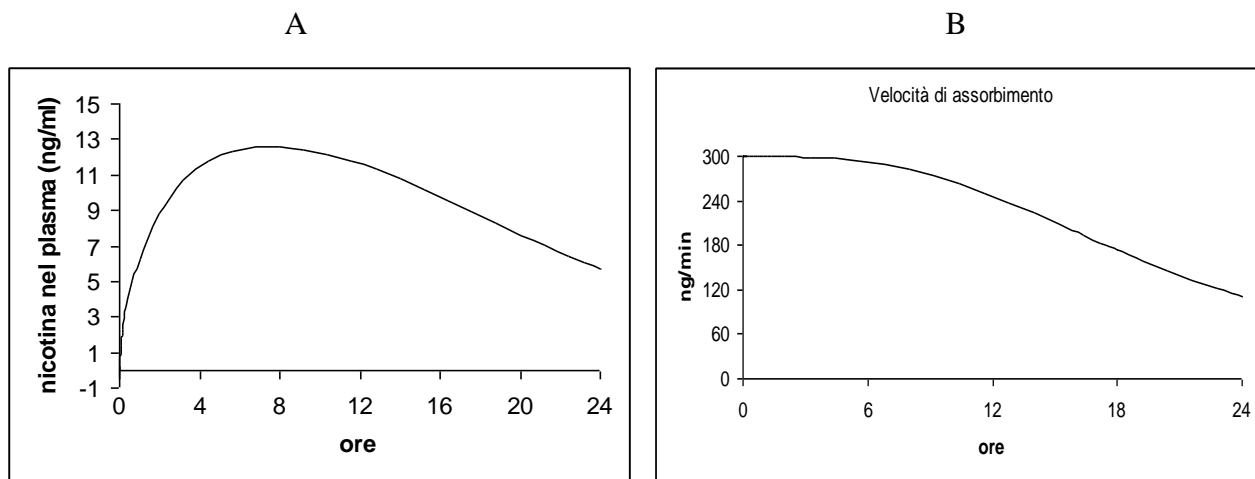
Cerotti che rilasciano lentamente la nicotina sono stati sviluppati e messi in commercio da diverse case farmaceutiche e in USA la FDA ha approvato l'uso di questi dispositivi nel 1991.

Applicando il cerotto, la nicotina entra in circolo per via transdermica e, a seconda del tipo di cerotto e delle abitudini del soggetto che lo usa, questi sistemi possono rilasciare da 15 a 22 mg di sostanza al giorno (57). La variabilità dei livelli plasmatici risultanti è quindi alta e le concentrazioni di nicotina che si possono osservare durante l'arco della giornata sono comunque inferiori a quelle osservate nei forti fumatori (57, 58).

Dopo applicazione di un singolo cerotto, la nicotina è assorbita gradualmente e le concentrazioni nel plasma aumentano lentamente per 6-10 ore, rimangono quasi costanti per altre 7-8 ore a livelli compresi tra 10 e 15 ng/ml e infine calano nelle 6 ore finali. Questo andamento dovrebbe mimare approssimativamente i livelli plasmatici medi di nicotina osservati durante tutto l'arco della giornata in soggetti fumatori (vedi simulazione di figura 5). In figura 7-A sono riportati i livelli medi di nicotina nel plasma dopo applicazione di un cerotto transdermico. Le concentrazioni sono state ottenute come in precedenza, imponendo però che la velocità di assorbimento non fosse costante, ma che avesse un andamento temporale come riportato in figura 7-B.

Figura 7

A) livelli plasmatici di nicotina, B) andamento nel tempo della velocità di assorbimento di nicotina



E' bene ricordare che l'assorbimento transdermico può essere influenzato non solo dal tipo di cerotto, ma anche dal flusso di sangue cutaneo, quindi è possibile che vasocostrizione o vasodilatazione causati da farmaci vaso attivi, da esercizio fisico o da cambiamenti nella temperatura della pelle possano influire sull'assorbimento della nicotina da questi dispositivi (57).

6.4 Assorbimento di nicotina dagli spray nasali

Gli spray nasali, approvati in USA nel 1996, rilasciano circa 1 mg di nicotina (0.5 mg per ogni narice), ma solo una parte viene assorbita (dal 20 al 50 % per alcuni prodotti oppure 53 ± 16 % per altri come il nicotrol) (59). L'assorbimento è rapido e i livelli plasmatici di picco si hanno dopo meno di 5 minuti dalla somministrazione (60). La variabilità della dose totale assorbita è comunque circa 5-6 volte maggiore della variabilità osservata dopo il fumo di sigarette o l'applicazione di cerotti (61). Come osservato dopo il fumo di sigarette, le concentrazioni arteriose di nicotina sono maggiori delle concentrazioni venose (circa 2-3 volte), anche se, nonostante la rapidità dell'assorbimento, i livelli sono inferiori a quelli osservati nei fumatori (62).

In tabella 4 sono riportate le concentrazioni plasmatiche minime di s.s. osservate dopo somministrazione di 1, 2 o 3 mg di nicotina via spray nasale ogni ora, mentre in tabella 5 sono riportate le concentrazioni medie nell'intervallo di dose (C_{av}), i valori di picco (C_{max}) e i tempi di picco (T_{max}) dopo somministrazione di 1 mg ogni ora per 10 ore.

Tabella 4

Concentrazioni plasmatiche minime di s.s. osservate dopo somministrazione di 1,2 o 3 mg di nicotina via spray nasale ogni ora per 11 ore. Le concentrazioni sono state misurate dopo l'ultima somministrazione in 16 soggetti fumatori (8 maschi e 8 femmine) (63).

	Concentrazione minima \pm d.s.	Intervallo
1 mg (ng/ml)	6 \pm 3	1.7-12
2 mg (ng/ml)	14 \pm 6	1.5-24
3 mg (ng/ml)	18 \pm 10	1.2-35

Tabella 5

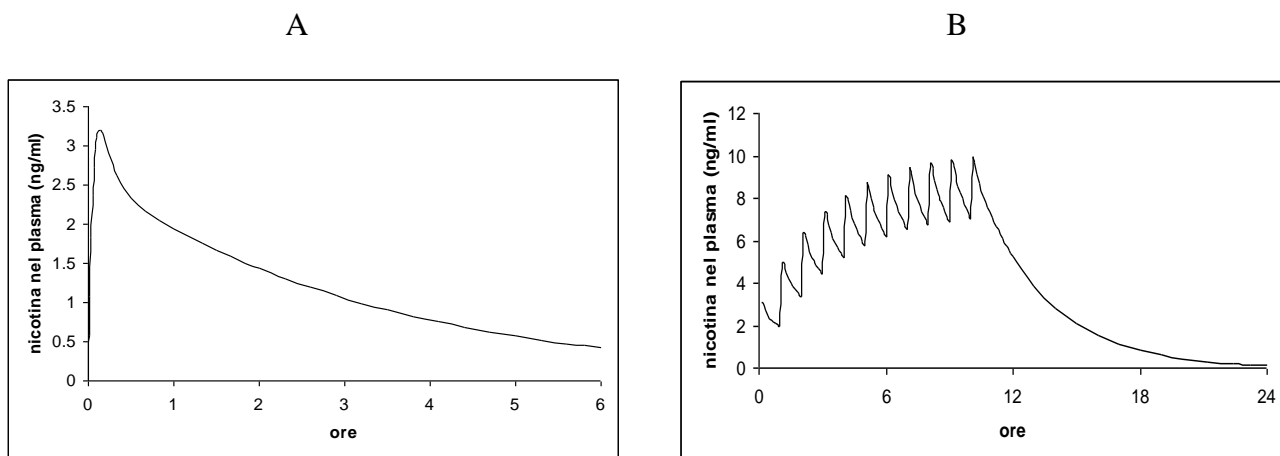
Parametri di nicotina (\pm sd) a ss dopo somministrazione di spray nasale nicotrol 1 mg ogni ora per 10 ore (medie di 16 soggetti): C_{av} = concentrazione media nell'intervallo di dose, C_{max} = concentrazione di picco, T_{max} = tempo di picco (63).

	Media \pm d.s.	Intervallo
C_{av} ng/ml	8 \pm 3	2.5-12
C_{max} ng/ml	9 \pm 3	3.1-14
T_{max} min	13 \pm 5	10-20

Le concentrazioni plasmatiche di nicotina dopo somministrazione di 1 mg di sostanza per spray nasale in 18 soggetti (8 femmine e 10 maschi) sono state anche descritte da un modello a due compartimenti con assorbimento del prim'ordine. In questo modo i seguenti parametri cinetici sono stati stimati: costante di assorbimento (K_a) = 14.4 \pm 7.3 1/hr, costante di eliminazione (K_e) = 0.60 \pm 0.53 1/hr, costanti di distribuzione tra i due compartimenti (K_{12}) = 4.84 \pm 2.57 1/hr e (K_{21}) = 4.35 \pm 2.30 1/hr, volume apparente di distribuzione (V/F) = 2.73 \pm 0.82 L/kg (61). In figura 8 sono riportate le simulazioni dei livelli plasmatici di nicotina ottenute utilizzando il modello e i parametri sopra riportati.

Figura 8

Livelli plasmatici di nicotina dopo somministrazione di sostanza per spray nasale: A dopo dose singola di 1 mg, B = dopo 1 mg ogni ora per 11 volte. Simulazione ottenuta utilizzando un modello a due compartimenti con assorbimento del prim'ordine e i parametri riportati nel testo.



6.5 Assorbimento della nicotina da inalatori

Per aiutare i fumatori a ridurre il consumo di sigarette sono stati ideati anche particolari inalatori di nicotina e fin dal 1997 è stata approvata la loro commercializzazione in USA.

Questi inalatori consentono di iniettare in bocca vapori contenenti nicotina. In questo modo la sostanza viene assorbita direttamente attraverso la mucosa orale e in parte nella gola, mentre meno del 5 % della dose rilasciata arriva fino alle basse vie respiratorie.

La quantità di nicotina assorbita dopo circa 80 inalazioni profonde in 20 minuti è circa 4 mg (63) e le concentrazioni plasmatiche di picco si osservano dopo circa 15 minuti dall'inalazione ($C_{max} = 6$ ng/ml dopo una singola inalazione di Nicotrol Inhaler) perché il passaggio della sostanza attraverso la mucosa orale è relativamente lento e questo impedisce il raggiungimento delle alte concentrazioni arteriose che si hanno durante il fumo di sigaretta. Le concentrazioni plasmatiche di nicotina osservate in soggetti che fanno liberamente uso di inalazioni sono comprese tra 6 e 8 ng/ml e sono quindi circa un terzo delle concentrazioni osservate in soggetti fumatori (63).

6.6 Altre formulazioni

Per la cura di soggetti non fumatori che soffrono di colite ulcerativa è stata sviluppata e proposta anche una formulazione orale di nicotina. Si tratta di capsule contenenti 3 mg di nicotina che permettono un lento rilascio della sostanza nel colon per 6 ore circa. La cinetica plasmatica della nicotina e della cotinina è stata studiata in 12 soggetti non fumatori dopo somministrazione di 2 o 5 capsule (6 o 15 mg) per via orale. Il picco delle concentrazioni plasmatiche di nicotina è stato raggiunto a circa 7 ore dalla somministrazione con valori medi pari a 2.2 e 5 ng/ml dopo 6 e 15 mg rispettivamente. Il picco della cotinina è stato osservato dopo circa 9 – 10 ore con livelli pari a 37 e

94.4 ng/ml per le due dosi in ordine crescente. Le semivite della fase terminale sono risultate simili alle semivite osservate dopo altre vie di somministrazione infatti per la nicotina è stato stimato un valore medio di $t_{1/2}$ pari a 4.3 ore , mentre per la cotinina un valore medio pari a 16.8 ore. (64).

7. Conclusioni

La farmacocinetica della nicotina è stata studiata nell'uomo in diverse condizioni sperimentali e per diversi motivi. In alcuni studi lo scopo era quello di evidenziare possibili relazioni tra i livelli della sostanza e gli effetti osservati (farmacocinetica-farmacodinamica), in altri studi si voleva più semplicemente misurare l'esposizione dell'organismo alla sostanza per vedere l'influenza della via di somministrazione sui livelli plasmatici e confrontare le velocità dell'assorbimento di nicotina da diverse formulazioni, in altri ancora lo scopo era quello di studiare il metabolismo della sostanza e la sua variabilità nella popolazione. Tutte queste informazioni servono a caratterizzare la farmacocinetica della nicotina che, unitamente alla farmacodinamica, costituisce uno strumento indispensabile per valutare correttamente non solo gli effetti e le potenzialità di questa sostanza, ma anche il suo ruolo in fenomeni quali la tolleranza, l'assuefazione e la dipendenza dal fumo di sigaretta e dal tabacco più in generale.

Bibliografia

1 –Gene Borio,

The history of tobacco, page written and donated to History Net by Gene Borio ©1997, the Tobacco BBS 212-982-4645. WebPage: <http://www.tobacco.org>

2 - Pool, W.F., Godin, C.S., Crooks, P.A.

Nicotine racemization during cigarette smoking.

Toxicologist 5:232, 1985.

3 - Shoshana Zevin, Steven G. Gourlay, Neal L. Benowitz,

Clinical Pharmacology of Nicotine

Clinics in Dermatology, 1998;16:557–564

4 - Gritz E.R., Baer-Weiss V., Benowitz N. L., Van Vunakis H., Jarvik M.E. (1981) Plasma nicotine and cotinine concentrations in habitual smokeless tobacco users. *Clinical Pharmacology and therapeutics* 30 (2):201-209.

5 - Biber A., Scherer G., Hoepfner I., Adlkofer F., Heller W. D., Haddow J. E., Knight G. J. (1987). Determination of nicotine and cotinine in human serum and urine. An interlaboratory study. *Toxicology Letters* 35: 45-52.

6 - Molander L., Hansson A., Lunell E., Alaintalo L., Hoffmann M., Larsson R. (2000) Pharmacokinetics of nicotine in kidney failure. *Clin Pharmacol Ther* 68: 250-60.

7 - Peyton J III, Wu S., Yu L., Benowitz N. L. (2000) Simultaneous determination of mecamylamine, nicotine, and cotinine in plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 23: 653-661.

- 8 – Shin H S, Kim Z G, Shin Y Z, Jee S H, (2002) Sensitive and simple method for the determination of nicotine and cotinine in human urine, plasma and saliva by gaschromatodraphy-mass spectrometry, *J Chromatogr. B* 76C:177-183.
- 9 - Dawson Jr R., Messina S. M., Stokes C., Salyani S., Alcalay N., de Fiebre N. C., de Fiebre C. M. (2002) Solid-phase extraction and HPLC assay of nicotine and cotinine in plasma and brain. *Toxicology Methods*, 12 (1): 45-58.
- 10 - Karin Fattinger, Davide Verotta and Neal L. Benowitz
Pharmacodynamics of Acute Tolerance to Multiple Nicotinic Effects in Humans,
J. Pharmacol. Exp. Ther., Vol. 281, Issue 3, 1238-1246, 1997
- 11 - Benowitz, N.L., Kuyt, F., Jacob, P., Jones, R.T., Osman, A. Cotinine disposition and effects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 309:139-142, 1998).
- 12 - Shoshana Zevin , Peyton Jacob III , Pierangelo Geppetti , Neal L. Benowitz
Clinical pharmacology of oral cotinine
Drug and Alcohol Dependence 60 (2000) 13–18
- 13 - Benowitz NL., Jacob PI., Fong I., et al. (1994a). Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *J Pharmacol Exp Ther*, 268:296-303.
- 14 - Benowitz NI, Jacob III P. (1994b) Metabolism of nicotine to cotinine studied by a dual stable isotope method. *Clin Pharmacol Ther*, 56: 483-93.
- 15 - Benowitz NI, Jacob III P., Jones RT, Rosenberg J.(1982). Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man. *J Pharmacol Exp Ther*, 221:368-372.
- 16 - Neurath GB., Dunger M., Orth D. et al.(1987). *Trans-3'-hydroxi-cotinine* as a main metabolite in urine of smokers. *Int Arch Occup Environ Health* 59:199-201.
- 17 - Dempsey D, Peyton J III, Benowitz N (2000) Nicotine metabolism end elimination kinetics in newborns. *Clin Pharmacol Ther* 67: 458-465.
- 18 - Benowitz NI, Jacob III P. (1997) Individual differences in nicotine kinetics and metabolism in human. *NIDA Res Monogr*, 173: 48-64.
- 19 - Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM (1997) A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 1608-1614.
- 20 - Nakajima M, Yamamoto T., Numoya K, Yokoi T et al (1996a). Characterization of CYP2A6 involved in 3'-idroxylation of cotinine in human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 277: 1010-1015.
- 21 - Cashman JR, Park SB, Yang ZC, Wrighton SA, Jacob P, Benowita NL (1992) Metabolism of nicotine by human liver microsomes: Stereoselective formation of trans-nicotine N²-oxide. *Chem Res Toxicol* 5: 639-646.
- 22 - Nakajima M, Yamamoto T., Numoya K, Yokoi T et al (1996b) Role of human cytochrome P4502A6 in C-oxidation of nicotina. *Drug Metab Dispos* 24: 1212-1217.

- 23 - Inoue K., Yamazaki H, Shimada T (2000). CYP2A6 genetic polymorphisms and liver microsomal cumarin and nicotine oxidation activities in Japanese and Caucasians . Arch Toxicol 73:532-539.
- 24 - Yamazaki H., Inoue K., Hashimoto M., Shimada T (1999) Roles of CYP2A6 and CYP2B6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. Arch Toxicol 72: 65-70.
- 25 - Murphy SE., Jhonson LM, Pullo DA. (1999). Characterization of multiple products of cytochrome P450 2A6-catalyzed cotinine metabolism. Chem Res Toxicol 12: 639-645.
- 26 - Kitawa K., Kumgita N., Katoh T., Yang M., Kawamoto T (1999) the significance of the homozygous CYP2A6 deletion on nicotine metabolism: A new genotyping method of CYP2A6 using a single PCR-RFLP. Biochem Biophys Res Commun 262: 146-151.
- 27 – Benowitz Nj, Jacob III P, Perez-Stable E, (1996) CYP2D6 phenotype and the metabolism of nicotine and cotinine pharmacogenetics, 6:239-242.
- 28 - Sellers EM., Kaplan HL., Tyndale RF (2000). Inhibition of cytochrome P450 2A6 increases nicotine's oral bioavailability and decreases smoking. Clin Pharmacol Ther 68:35-43.
- 29 - NL Benowitz and P Jacob
Nicotine renal excretion rate influences nicotine intake during cigarette smoking
Volume 234, Issue 1, pp. 153-155, 07/01/1985
- 30 - Benowitz, N.L., Jacob, P., Jones, R.T., Rosenberg, J.
Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man.
Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 221(2):368-372, 1982.
- 31 - Benowitz, N.L.
Human pharmacology of nicotine.
In: Cappell, H.D. et al. (eds.) Research Advances in Alcohol and Drug Problems, Volume 9. New York: Plenum Press, 1986
- 32 - Schmitterlow, C.G., Hansson, E., Andersson, G., Applegren, L.E., Hoffmann, P.C.
Distribution of nicotine in the central nervous system.
Annals of the New York Academy of Science 142:2-14, 1967.
- 33 – Stalhandske, T.
Effects of increased liver metabolism of nicotine on its uptake, elimination and toxicity in mice.
Acta Physiologica Scandinavica 80(2):222-234, October 1970.
- 34 – Maziere, M., Comar, D., Marzano, C., Berger, G.
Nicotine-11 C: Synthesis and distribution kinetics in animals.
European Journal of Nuclear Medicine 1:255-258, 1976.
- 35 - Russell, M.A.H., Feyerabend, C.
Cigarette smoking: A dependence on high-nicotine boli.
Drug Metabolism Reviews 8(1):29-57, 1978.
- 36 - Petrakis, N.L., Gruenke, L.D., Beelen, T.C., Castagnoli, N., Craig, J.C.

Nicotine in breast fluid of nonlactating women.
Science 199(4326):303-305, January 20, 1978.

37 – Hill, P., Wynder, E.L.
Nicotine and cotinine in breast fluid.
Cancer Letters 6:251-254, 1979.

38 - Hibberd, A.R., O'Connor, V., Gorrod, J.W.
Detection of nicotine, nicotine-1'-N-oxide and cotinine in maternal and foetal body fluids.
In: Gorrod, J.W. (ed.) Biological Oxidation of Nitrogen. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1978, pp. 353-361.

39 – Luck, W., Hansen, R., Steldinger, R., Nau, H.
Nicotine and cotinine -Two pharmacologically active substances as parameters for the strain on fetuses and babies of mothers who smoke.
Journal of Perinatal Medicine 10(52):107-108, 1982.

40 - Van Vunakis, H., Langone, J.J., Milunsky, A.
Nicotine and cotinine in the amniotic fluid of smokers in the second trimester of pregnancy.
American Journal of Obstetrics and Gynecology 120(1):64-66, September 1974.

41 - Eudy, L.W., Thome, F.A., Heavner, D.L., Green, C.R., Ingebrethsen, B.J.
Studies on the Vapor Particulate-Phase Distribution of Environmental Nicotine by Selected Trapping and Detection Methods.
Paper presented at the 79th Tobacco Chemists' Research Conference, Montreal, October 2-5, 1985.

42 - Brunnemann, K.D., Hoffmann, D.
The pH of tobacco smoke.
Food and Cosmetics Toxicology 12(1):115-124, February 1974.

43 - Gori, G.B., Benowitz, N.L., Lynch, C.J.
Mouth versus deep airways absorption of nicotine in cigarette smokers.
Pharmacology Biochemistry and Behavior 25(6):1181-1184, December 1986.

44 - Armitage, A.K., Dollery, C.T., Houseman, T.H., Kohner, E.M., Lewis, P.J., Turner, D.M.
Absorption of nicotine from small cigars.
Clinical Pharmacology and Therapeutics 23(2):143-150, February 1978.

45 - Russell, M.A.H., Raw, M., Jarvis, M.J.
Clinical use of nicotine chewing gum.
British Medical Journal 280(6231):1599-1602, June 28, 1980.

46 - Armitage, A.K., Dollery, C.T., George, C.F., Houseman, T.H., Lewis, P.J., Turner, D.M.
Absorption and metabolism of nicotine from cigarettes.
British Medical Journal 4(5992):313-316, November 8, 1975.

47 - Gourlay SG, Benowitz NL.
Arteriovenous differences in plasma concentrations of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine na-sal spray, and intravenous nicotine.

Clin Pharmacol Ther 1997;62:453– 63.

48 - Henningfield JE, Stapleton JM, Benowitz NL, et al.
Higher levels of nicotine in arterial than in venous blood after cigarette smoking.
Drug Alcohol Depend 1993;33:23–9.

49 - Benowitz NL, Porchet H, Sheiner L, et al.
Nicotine absorption and cardiovascular effects with smokeless tobacco use: comparison with
cigarettes and nicotine gum.
Clin Pharmacol Ther 1988;44:23– 8.

50 - Benowitz NL, Kuyt F, Jacob III P.
Circadian blood nicotine concentrations during cigarette smoking.
Clin Pharmacol Ther 1982;32:758 –64.

51 - Benowitz NL, Zevin S, Jacob III P.
Sources of variability in nicotine and cotinine levels with use of nicotine nasal spray, transdermal
nicotine, and cigarette smoking.
Br J Clin Pharmacol 1997;43:259 –67.

52 - Benowitz NL, Jacob III P, Jones RT, Rosenberg J.
Inter-individual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man.
J Pharmacol Exp Ther 1982;221: 368–72.

53 - Herning RI, Jones RT, Benowitz NL, et al.
How a cigarette is smoked determines blood nicotine levels.
Clin Pharmacol Ther 1983;33:84 –90.

54 – Benowitz NL, Porchet H, Sheiner L, et al., Nicotine absorption and cardiovascular effects with
smokeless tobacco use: comparison with cigarettes and nicotine gum. Clin Pharmacol Ther 1988;
44: 23-8.

55 – Benowitz N. L., Jacob P. I., Savanapridi C., Determinants of nicotine intake while chewing
nicotine polacrilex gum, Clin Pharmacol Ther 1987; 41: 467-73.

56 - M. E. McNabb
Chewing nicotine gum for 3 months: what happens to plasma nicotine levels?
Canadian Medical Association Journal, Vol 131, Issue 6 589-592

57 - Benowitz NL.
Clinical pharmacology of transdermal nicotine.
Eur J Pharm Biopharm 1995;4:168 –74.

58 - Benowitz NL, Zevin S, Jacob III P.
Sources of variability in nicotine and cotinine levels with use of nicotine nasal spray, transdermal
nicotine, and cigarette smoking.
Br J Clin Pharmacol 1997;43:259 –67.

59. Benowitz NL, Kuyt F, Jacob III P. Circadian blood nicotine
concentrations during cigarette smoking. Clin Pharmacol
Ther 1982;32:758 –64.

60. Benowitz NL. Drug therapy: Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *N Engl J Med* 1988;319:1318–30.

61. Benowitz NL, Zevin S, Jacob III P. Sources of variability in nicotine and cotinine levels with use of nicotine nasal spray, transdermal nicotine, and cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* 1997;43:259–67.

62. Gourlay SG, Benowitz NL. Arteriovenous differences in plasma concentrations of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62:453–63.

63 - <http://www.nicotrol.com/index.asp>

64 - Green, Evans, Rhodes, Thomas, Ranshaw, Feyerabend & Russell
An oral formulation of nicotine for release and absorption in the colon:
its development and pharmacokinetics.

British Journal of Clinical Pharmacology, Volume 48 Issue 4 Page 485 - October 1999