

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO /-

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"FARMACOCINETICA CLINICA DEL METRONIDAZOL"

T B S I S

QUE PARA OBIENER EL GRADO DE

MAESTRIA FARMACIA

(BIOFARMACIA)

PRESENTA:

LIC. EN FCIA. LIDIETTE FONSECA GONZALEZ

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. .F

1985.





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Se puso a punto un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de metronidazol en plasma. Se validó en los parámetros de precisión, exactitud, linealidad y especificidad. Con este método se realizó el estudio en niños bajo tratamiendo con metronidazol, determinándose parámetros farmacocinéticos con datos en el estado estacionario y con datos después del cese de la dosificación. Asimismo, se realizo un estudio en ancianos a los cuales se les administró metronidazol p.o. en dosis única de 500 mg. se determinaron los parámetros farmacocinéticos, ajustando los datos a un Modelo Abierto de Un Compartimien to en algunos casos y a un Modelo Abierto de Dos Compartimientos, en otros. Se encontró que existe una gran variación interindividual. Debido a ésto, probablemente, no se encontraron diferencias en la vida media de niños y ancianos.

ABSTRACT.

It has been implemented a method by High Performance Liquid Chromatography for the quantitative determination of metronidazole in human plasma. This method was validated for precision accuraty, linearity and specificity. The study was realized on children under treatment with metronidazol, obtaining pharmacokinetics parathe steady state and after last dosage. meters during The study was performed, also, on ancians, to whom was administered orally, a single dose (500 mg) of metronidazole. Pharmacokinetics parameters were obtained, fitting them to One-Compartment Model in some cases, and Two-Compartment Model in others. There were found no differences between half lives on

children and ancians, probably due to the great interindividual variations observed.

CONTENIDO

	Pāgina
Dedicatoria	i
Agradecimientos	रंग
Reconocimientos	iii
Resumen en Español	iv
Resumen en Ingles	v
Contenido	vi
Lista de apéndices	viii
CAPITULO	
I. Introducción	1
II. Generalidades sobre metronidazol	
2.1 Características generales y	
propiedades fisicoquímicas	3
2.2 Farmacología de Metronidazol	5
2.2.1 Propiedades antiinfectivas	5
2.2.2 Mecanismo de acción	14
2.2.3 Toxicidad	18
2.2.4 Farmacocinética	19
Farmacocinética clínica	36
2.3 Métodos de determinación de	
metronidazol en fluídos biológicos	42
III. Parte experimental	49

	Pāgina
3.1 Determinación de metronidazol e	en
plasma por CLAR	49
3.2 Estudio farmacocinético	55
IV. Resultados	61
4.1 Validación del método analítico	61
4.2.a Resultados de estudio en niño)S
bajo tratamiento con metronid	lazol 71
4.2.b Resultado del estudio farmaco	ocin <u>é</u>
tico realizado en ancianos	71
V. Discusión	
5.1 Método analítico	82
5.2 Estudio en niños	83
5.3 Estudio en ancianos	85
VI. Conclusiones	97
Apéndices	99

Lista de Apéndices

		Pāgina
Apéndice No. 1:	Fórmula utilizada para los cálculos.	99
Apéndice No. 2:	Datos individuales de concentración plasmática vs tiempo de los niños bajo tratamiento con metronidazol y sus respectivas gráficas.	107
Apéndice No. 3:	Datos individuales de concen- tración plasmática vs tiempo después de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol a vo- luntarios ancianos y sus res- pectivas gráficas.	120
Apéndice No. 4:	Cálculos individuales de regimenes de dosificación en ancianos.	134
Apéndice No. 5:	Ajuste de los regimenes de dofisicación en los niños bajo tratamiento con metronidazol.	153

I. INTRODUCCION.

vestigaciones orientadas al desarrollo de una serie de in vestigaciones orientadas al desarrollo de un fármaco con actividad tricomonicida (1). Como es usual en un centro de investigaciones con facilidades para probar fármacos, el metronidazol se investigó en diversas pruebas y se encontraron nuevas aplicaciones, como en el tratamiento de la amibiasis y la giardiasis (2), y veinte años después se demostró su eficacia en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias anaerobias (3).

Esta última propiedad ha sido la que le ha dado mayor auge a los estudios detallados de su farmacología clínica. Los estudios realizados "in vitro" indican que el metronidazol es efectivo en contra de los microorganismos anaerobios en una concentración de 6 mcg/ml⁽⁴⁾.

Se han reportado fallas terapéuticas con metronidazol⁽⁵⁾, asociadas en algunos casos con bajos niveles sanguíneos, probablemente debido a una baja absorción o a una eliminación o metabolismo rápido del fármaco.

Actualmente en México, el metronidazol en el fármaco de elección en el tratamiento de la amibiasis, además de utilizarse en el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos anaerobios y otros procedimientos (6); presentándose en muchos casos reacciones adversas que probablemente sean debidas al régimen de dosificación utilizado,

ya que no se realizan en los hospitales, estudios farmacocinéticos en pacientes bajo tratamiento con metronidazol, para establecer un régimen de dosificación adecuado al individuo.

Por otra parte, existen reportes en la literatura de que con la edad ocurren cambios en las funciones biológicas que pueden alterar los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos (7), lo cual afectará la concentración plasmática del fármaco y consecuentemente la intensidad del efecto farmacológico (8).

Sin embargo, es escasa la información sobre como puede cambiar la farmacocinética de metronidazol con la edad,
y tampoco se han realizado suficientes estudios en niños,
en los que también puede verse modificada la farmacocinéti
ca; Jager/Roman y colaboradores (9) reportan en tres grupos
de neonatos de diferente edad gestacional una relación inversa entre vida media de eliminación del metronidazol y
edad gestacional.

Cabe mencionar que de la población mexicana no existen reportes de esta naturaleza, por lo que este trabajo preten de determinar parámetros farmacocinéticos en dos diferentes grupos de edad: niños y ancianos. En base a estos parámetros, se propondrán diseños de regimenes de dosificación que mantengan concentraciones terapéuticas durante el tiem po deseado.

GENERALIDADES SOBRE EL METRONIDAZOL.

II.1 CARACTERISTICAS GENERALES Y PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

Nombres químicos y sinónimos del Metronidazol:

1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol; (2-metil-5-ni-troimidazol-1)-etanol; 1 H-imidazol-1-etanol-2-metil-5-ni-tro; 2-metil-5-nitro-1-imidazoletanol; 1-(beta-etilol)-2-metil-5-nitro-3-azopirrol.

Nombres comerciales más comunes:

Sanizol; Tricocet; Flagyl; Orvagil; Trichazol; Trivazol.

Formula condensada: C6H9N3O3.

Fórmula desarrollada:

Peso molecular: 171.16 g/mol.

pKa; 2.5

<u>Descripción</u>: El metronidazol se presenta como un polvo cristalino, de color blanco o crema; con ligero olor, sabor amargo y ligeramente salino, se oscurece a la luz, aún cuando es estable en contacto con el aire.

Solubilidad: Soluble a 20°C en 100 partes de agua, 200 partes de alcohol, 250 partes de cloroformo, soluble en ácidos diluídos en acetona caliente, ligeramente soluble

en éter (menos de 0.05 g/100 ml), poco soluble en dimetilformamida.

Punto de fusión: Alrededor de 160°C.

Pruebas de identificación: (10,11,12)

- a) El espectro de abosrción en infrarrojo en una dispersión de bromuro de potasio, muestra una absorbancia máxima similar a la que presenta el patrón de referencia U.S.P. del metronidazol. OH a 3200 cm⁻¹; para el radical metilo 10 1070 cm⁻¹; sustituciones en el anillo entre 800 y 1200 cm⁻¹ (10).
- b) El espectro de absorción en el visible se observa de 230 a 350 nm en una celda de 2 cm con una solución 0.001% p/v de HCl 0.1N. Se observa una absorbancia máxima a 277 nm, cuya extinción es de 0.76 (10).
- c) El espectro de absorción ultravioleta de una solución 11:50,000 de metronidazol disuelta en ácido sulfúrico y metanol (1:350), exhibe un máximo a 277 nm y otro a 240 nm con una $E_{\rm max}$ de 370 $^{(10)}$.
- d) El derivado picrato obtenido al disolver cerca de 150 mg de metronidazol en 10 ml de ácido sulfúrico diluído (1:350), adicionando 10 ml de trinitrofenil y dejar reposar por 30 minutos, lavar el precipitado obtenido con varias porciones de agua fría, utilizando succión y secando a 150°C por una hora, posee un punto de fusión en tre 148 y 152°C.

Pruebas de pureza:

- a) Contenido: contiene no menos de 99% o no más de 101% de $C_6H_0N_3O_3$, calculado en base seca.
- b) Pérdida al secado: cuando se seca a 105°C hasta tener un peso constante, no pierde más del 0.5% de su peso^(10,11).
- c) pH: el pH de una solución acuosa saturada es de 5.8 (12).
- d) Residuos a la ignición: no más de 0.1% utilizando 1.0 gramo para la prueba.
- e) Metales pesados: disolver el residuo obtenido de la prue ba de ignición en un ml de HCl, evaporar a sequedad y di solver en 50 ml de agua. Diluir 20 ml de esta solución en 25 ml de agua y seguir la prueba según el método general. El límite es 0.005% (10,11).
- f) Impureza: no debe tener más de 0.1% de cenizas de sulfatos (10,11).

II.2 FARMACOLOGIA DE METRONIDAZOL.

1. PROPIEDADES ANTIINFECTIVAS.

Desde su descubrimiento en Francia en 1959⁽¹⁾, el metronidazol llegó a ser el tratamiento de elección para la tricomoniasis. El uso mundiar de este fármaco ha crecido progresivamente y en la actualidad se han encontrado nuevas y útiles aplicaciones.

En la tabla No. I se observa la actividad tricomonicida.

TABLA No. I. Actividad tricomonicida del metronidazol (4).

 	
In vitro	CMI (mcg/ml)
T. vaginalis	6
T. foetus	6
In vivo (ratón)	DE ₅₀ (mg/Kg/p.o./dfa
T. vaginalis	6

CMI: concentración mínima inhibitoria.

DE₅₀: dosis efectiva 50%.

En la tabla No. II se reportan los estudios clínicos que se han realizado para probar la eficiencia del metronidazol en la tricomoniasis urogenital.

TABLA No. II. Eficiencia clínica del metronidazol.

Se muestran los resultados después
del primer tratamiento de la tricomoniasis urogenital (una sola dosis) (13).

DOSIS DE METRONIDAZOL	# DE PACIENTES	CURA	FALLA
250 mg/10d	500	90.4%	9,6%
	250 hombres	89.6%	10.4%
	250 mujeres	450	50

En la tabla III muestra el uso del metronidazol en regimenes de dosis múltiples (14,15).

Se puede observar que con los diferentes regimenes de dosificación empleados para el tratamiento de la tricomoniasis urogenital, la mayoría de los pacientes se curaron, aunque con algunos tratamientos, se presentó un porcentaje relativamente alto de efectos secundarios.

Otras de las acciones farmacológicas en las que se en contró que el metronidazol era efectivo, fue en contra de la amibiasis. En la tabla No. IV se presenta la actividad amebicida del metronidazol, en pruebas in vitro e in vivo.

En las siguientes tablas V y VI se presentan los resultados obtenidos en estudios clínicos, tanto en el tratamiento de la disentería amibiana, como en el tratamiento del abceso hepático amibiano, el cual es un problema de salu bastante grave en México (16).

TABLA No. III. Regimenes de dosis múltiples para el tratamiento de tricomoniasis urogenital (14,15).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
33	200	3	7	0	0	79	15	27	13	100
127	200	3	5	0	1	49	53	122	13	86
66	200	3	10	0	21	38	0	67	3	92
27	250	3	10	0	44	96	4	27	7	86
21	250	3	7	0	0	-	-	21	-	96
19	250	4	5	0	0	-	-	29	5	94
43	250	-	-	0		91	9	43	0	100
48	200	3	-	0	29	23	37	38	10	89
52	200	3	7	0	6	0	-	46	-	93
50	200	3	10	0	-	0	_	50	-	98
30	200	1	7	0	3	77	10	29	20	96
38	500	1	10	-	53	100	34	-	34	68
23	250	2	10	0	35	61	26	23	26	74

Las columnas son:

- 1. Número de pacientes tratados.
- posis en miligramos
- 3. Número de administraciones diarias
- 4. Duración del tratamiento (en días)
- 5. Vía de administración oral (0)
- Porciento de pacientes que presentaron efectos secundarios
- 7. Porcento de pacientes curados con un solo régimen
- Porciento de pacientes con tratamientos subsecuentes.
- Número de pacientes que terminaron el tratamiento.
- Porciento de pacientes en que el tratamiento no resultó efectivo.
- 11. Porciento de pacientes curados.

TABLA No. IV. Eficiencia del metronidazol como amebicida (4).

In vitro E. histolytica	CMI (mcg/ml)
In vivo	DE ₅₀ mg/Kg/p.o./día (4 días)
Amibiasis intestinal (rata)	ВО .
Amibiasis hepática (hamster)	26

TABLA No. V. Eficiencia del metronidazol en la disentería amibiana (16).

DISENTERIA AMIBIANA				
Régimen (Duración en días)	Número de pacientes	Exito (%)		
400 mg tid/10 d	20	55		
800 mg tid/10 d	30	93		
800 mg tid/10 d	50	92		
2.4 g (dosis única)/1	20	75		
2.4 g (dosis única)/3	50	90		
2.0 g (dosis única)/2	20	95		

Efiencia del metronidazol en la disentería amibiana $^{(17)}$.

TABLA No. VI. Eficiencia del metronidazol en el abceso hepático amibiano (17).

Régimen (duración en días)	No. de casos (no muertes)	Oura del abceso hepá- tico	Quistes de E. histolytica en heces
800 mg tid/5 d	53	53 (100%)	10 (19%)
400 mg tid/5 d	60	58 (97%)	1 (2%)
2 g/2 d	10	10 (100%)	4 (40%)

Para el tratamiento de la giardiasis, se han hecho es tudios con 31 pacientes, a los cuales se les administró metronidazol en una dosis de 2 gramos diarios por tres días, obteniendose un 87% de cura parasitológica en un tratamiento y del 94% en dos tratamientos (18).

Se ha demostrado que el metronidazol tiene poca o casi ninguna actividad sobre los microorganismos aerobios, como puede observarse en la tabla No. VII.

Mientras que si se observa la tabla No. VIII, se mues tra que la CMI son muy pequeñas, lo cual implica la mayor actividad que presenta este fármaco sobre bacterias anaerobias.

El metronidazol se ha tratado de usar también en el tratamiento del alcoholismo, por su efecto parecido al antabuse, pero no hay concordancia entre los resultados obtenidos por los diferentes investigadores. Ultimamente el

metronidazol se ha utilizado en la terapia del cáncer como radiosensibilizador de las células anóxicas, lo que permite una disminución de las radiaciones necesarias para eliminar células tumorales.

TABLA No. VII. Actividad del metronidazol sobre bacterias aerobias. (Se reporta concentración mínima inhibitoria (4).

Bacteria aerobia	Cultivo aerobio	Cultivo anaerobio
Staphylococcus aureus	1000	1000
Staphylococcus faecalis	1000	250
Streptococcus pneumoniae	1000	1000
Streptococcus pyogenes	500	1000
Escherichia coli	1000	1000
Klebsiella pneumoniae	250	250
Proteus mirabilis	1000	1000
Pseudomonas aeruginosa	1000	-
Salmonella typhimurium	1000	500

TABLA No. VIII. Actividad del metronidazol sobre bacterias anaerobias. (CMI es la concentración mínima inhibitoria (4).

Bacteria anaerobia	CMI (mcg/ml)
Bacteroides fragilis	0.6
Clostridium tetani	0.3
Clostridium welchii	1.25
Anaerobic coccus 9804	0.16
Fusobacterium polymorphum	0.06
Sphaerophorus necrophorus	0.25

Dosificación:

Trichomonas vaginalis: Para mujeres: 250 mg tres veces al día, vía oral. O bien 500 mg diarios vía vaginal durante diez días. En el hombre se recomiendan 250 mg dos veces al día, p.o., por diez días.

Infecciones intestinales y hepáticas con Entamoeba histolytica:
Adultos: 400-800 mg tres veces al día por 5 a 10 días.
Niños: 50 mg/Kg de peso/día, en dosis divididas y administrado durante 10 días.

Giardiasis:

Adultos: dosis oral única de 2 gramos.

Niños: 7 mg/Kg de peso tres veces al día.

Infecciones por organismos anaerobios: (septicemia, abceso cerebral, neumonía necrosante, sepsis puerperal, abcesos pélvicos, infecciones post-operativas).

Adultos: 400 mg tres veces al día, durante siete días. Niños: 7 mg/Kg de peso tres veces al día, durante siete días.

En la profilaxis y tratamiento de infecciones anaeróbicas puede administrarse una infusión intravenosa conteniendo 0.5% de metronidazol, en un tiempo de infusión de 20 minutos, a intervalos de ocho horas y sustituído por tratamiento oral tan pronto como sea posible. La dosis correspondiente para niños es 7.5 mg de metronidazol/Kg de peso cada ocho horas (19-22).

2. MECANISMO DE ACCION:

La actividad tricomonicida del metronidazol fue reportada en 1959 (21) y se reconoció rápidamente que este organismo es activo contra una amplia variedad de microorganismos anaerobios eucarióticos y orocarióticos (24-28).

El uso clínico del metronidazol en el tratamiento de la tricomoniasis humana comenzó en los años 60. Actualmen te, éste y algunos nitroimidazoles desarrollados más recien temente son usados en el tratamiento y prevención de infecciones causadas por diferentes anaerobios. A pesar de la vasta experiencia clínica con nitroimidazoles, aún no hay un entendimiento detallado de su modo de acción.

Los estudios en algunos laboratorios condujeron a dos principales hallazgos:

- 1) Se encontró que a concentraciones bajas (0.1-2.5 mcg/ml) de metronidazol la mayoría de los microorganismos afectados fueron microorganismos anaerobios o fotosintéticos. Aunque los nitroimidazoles pueden tener efectos inhibitorios sobre otros microorganismos, se necesitan concentraciones muy altas para observar tales efectos. Esto estableció el rango de organismos sensibles a los nitroimidazoles.
- 2) Se mostró que el metronidazol marcado con ¹⁴C es selectivamente acumulado por anaerobios sensibles, pero no por otros organismos o células. Así cualquier hipótesis sobre el modo de acción del metronidazol y otros nitro-

imidazoles tiene que explicar estas observaciones.

Se han formulado hipótesis basadas en estudios exper \underline{i} merales de la interacción de metronidazol con Clostridia y Trichomonas (29,30).

Una de ellas establece que el metronidazol, compuesto de peso molecular bajo, (P.M. 171), se encuentra no ionizado a pH fisiológico, por lo que puede atravesar fácilmente las membranas celulares; por lo tanto la concentración intracelular se aproxima rápidamente a la concentración extracelular. Los organismos sensibles contienen cier tos sistemas bioquímicos, que involucran proteínas transportadoras de electrones de bajo potencial redox, tipo ferredoxina o flavodoxina, capaces de reducir el grupo nitro del metronidazol. Esta reducción disminuye la concentración intracelular del fármaco inalterado, causando así un gradiente de concentración que aumenta la entrada de fárma co; además de que produce derivados que ejercen una acción dañina sobre la célula, por combinarse con ciertas macromoléculas biológicas e influir en ciertas funciones celulares. Tal reducción ocurre únicamente con organismos anaerobios y fotosintéticos, las células aerobias no fotosintéticas, no son marcadamente afectadas por el metronidazol.

Hay evidencia experimental de que la ferredoxina o proteínas similares transportadoras de electrones tienen un papel importante en el metabolismo de algunos microorganis-

mos anaerobios procarióticos (ej. Clostridium), que son sensibles al metronidazol (31,32). Aunque tales proteínas no estén aún directamente identificadas en los protozoarios eucarióticos sensibles (ej. Trichomonas y especies de Entamoeba), evidencia indirecta extensa sugiere su existencia.

Puesto que la reducción del metronidazol se considera un paso esencial para su actividad antimicrobiana, la cantidad de fármaco reducido por cualquier célula dependerá del suministró de electrones a la ferredoxina y de la cantidad de electrones removidos de la ferredoxina por otras reacciones competentes. La figura 1 muestra algunas de las reacciones, en las cuales la ferredoxina puede ser reducida u oxidada, incluyendo su interacción con el metronidazol (Paso F). De hecho, la evidencia experimental mues tra que todas las reacciones enlistadas en la figura 1 están conectadas con la reducción del metronidazol o tienen influencia sobre este proceso. Tales interacciones fueron demostradas directamente por observar la reducción del grupo nitro del compuesto o indirectamente, estudiando las reacciones biológicas, que se supone, dependen de la reduc ción del fármaco, p. ej. la entrada del metronidazol-14 c v la acción dañina del fármaco.

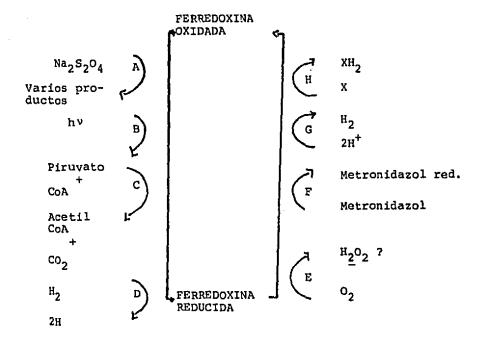


Figura 1. Alqunos procesos en los cuales la ferredoxina es reducida (A-D), o la ferredoxina reducida es oxidada (E-H).

- A Reducción química por ditionito de sodio.
- B Reducción fitoquímica en los cloroplastos.
- C Reducción enzimática por ferredoxina unida a deshidrogenasa piruvato.
- D Reducción enzimática por hidrogenasa.
- E Autooxidación.
- F Reducción guímica del metronidazol.
- G Oxidación enzimática por hidrogenasa.
- H Oxidación enzimática por diferentes enzimas acopladas a varios aceptores de electrones.

3. TOXICIDAD:

En general el metronidazol a sosis terapéuticas no es tóxico (33), solo algunos pacientes pueden presentar efectos secundarios severos que hacen que la terapia deba ser descontinuada (33). Entre estas reacciones adversas que se pue den presentar están: náuseas, vómitos, cefalea, anorexia, diarrea, vértigo, aturdimiento, lengua sarrosa, bochorno, confusión, incoordinación, ataxia, parestesia, irritabilidad, depresión, insomnio, erupciones, eritematosas, urticaria, sequedad de boca, prurito vaginal o vulvar, disuria, cistitis, poliuria, incontinencia, disminución de la líbido, fiebre, dolor de articulaciones, proctitis, piuria, cambios en la concentración de albúmina.

Esta contra indicado su uso durante el primer trimestre del embarazo, ya que esta fármaco atraviesa la barrera placentaria, pero aún se desconoce alguna acción teratogénica ya que estudios reportados por diferentes investigadores (34,35) en mujeres embarazadas que fueron tratadas en diferentes etapas de la gestación con metronidazol en dosis orales de 600 mg diarios por 7 a 10 días durante una semana 6 500 mg diarios combinados con 500 mg vaginales por 10 días, no se encontraron evidencia de efectos teratogénicos producidos por el tratamiento; aunque el tamaño de la mues tra es, sin embargo limitado para poder excluir la posibilidad de tales efectos.

Se han realizado estudios en modelos animales para de

mostrar la dismorfogenicidad, tumorogenicidad, mutagenecidad del metronidazol y sus metabolitos (36,37), y se han encontrado resultados positivos en la inducción de mutaciones génicas sobre distintas especies.

Otra contraindicación se presenta en pacientes con discrasia sanguínea. Se recomienda realizar análisis clínicos antes y después del tratamiento, sobre todo cuando se requiere un segundo tratamiento (22).

Durante el tratamiento con metronidazol, debe eliminarse la ingestión de bebidas alcohólicas, pues de lo contrario, se puede presentar un efecto parecido àl del disulfiram, con dolores abdominales, vómito, náuseas y cefalea, ya que el metronidazol es un inhibidor débil de la alcohol deshidrogenasa (38).

En las madres lactantes, el metronidazol debe usarse con precaución, ya que se elimina por la lecha materna y se han encontrado datos de concentraciones y tiempos de vida media de eliminación en leche, muy similares a los encontrados en suero (39).

Se pueden presentar cuadros de moniliasis durante o después del tratamiento con metronidazol.

4. FARMACOCINETICA:

a) Absorción:

Se han reportado un gran número de estudios realizados por diferentes investigadores (40-46), en los cuales se ad-

ministraron dosis orales únicas de metronidazol a voluntarios femeninos y masculinos y se determinó la absorción del
fármaco, los datos se resumen en la tabla No. IX, en la
cual se puede observar que las concentraciones máximas en
suero, después de dosis de 250 y 500 mg, son aproximadamen
te de 5 y 10 mcg/ml: y el tiempo para alcanzar la concentracion
máxima varió entre 0.2-4.0 horas, con un valor promedio de aprox. 1.0 hora.

Al analizar las muestras plasmáticas obtenidas a las 8.0 horas que es el intervalo de dosificación utilizado clinicamente, se encontró que los niveles estaban entre 2.5 y 8.0 mcg/ml de acuerdo a las dosis administradas.

Hay reportes de fallas clínicas en el tratamiento con metronidazol, las cuales se han atribuído entre otras causas a irregularidades en la absorción (5,47).

Estudios en ratas indican que el metronidazol administrado oralmente, se absorbe rápidamente, principalmente en el estómago y el duodeno.

TABLA No. IX. Concentraciones séricas de metronidazol después de dosis orales (36).

Dosis (mg)	Suje- tos	Peso (Kg)	Conc. sérica máxima prom. (mcg/ml)	t _{max}	conc. sérica Prom. a 8.0 h (mcg/ml)	Método Analítico
200	7 F	55.8-88.0	5.54	0.5-2.0	2.42	യാ
250	10M	66-85	3.7	1.0	2.0	α
250	19M, 1F	63.4-95	4.72	1.0-2.0	2.6	CGL
500	10M	66-85	9.8	1.0	5.0	CCD
750	4M	5 9- 82	12.3	0.5-1.0	7.0	сс ъ
500	9F	46-59	13.1	0.33-3.0	7.0	CLAR
1000	10M	66-85	11.8	2.0	9.0	CLAR
2000	12F	-	40.0	1.0-2.0	-	CD
250	5M	64-90	6.2	0.25-1.25	2.6	BE
250	10M	65-85	3.7	1.0	1.0	BE
500	5M	64-90	11.5	0.25-4.0	4.9	BE
500	10M	66-85	8.0	1.0	5.0	BE
1000	10M	65-85	12.0	1.0	7.5	BE

Abreviaciones:

CCD: Cromatografía de capa delgada.

CGL: Cromatografía gas-líquido.

CLAR: Cromatografía de líquidos de alta resolución.

BE: Bioensayo.

F: Femeninos.

M: Masculinos.

b) Distribución.

En la tabla No. X se muestra la distribución que sufre el metronidazol en el organismo de la rata, a diferentes tiempos después de la administración de 10 mg/Kg de peso de fármaco marcado con 14 C $^{(48)}$.

TABLA No. X. Concentración de la reactividad en tejidos de ratas hembras Wister después de una dosis oral de 10 mg/Kg de 2-14C-metronidazol (48).

Tienno después de la administración		10 horas		24 horas	
Tejido	Conc. en tejido (mog/g)	Cociente respecto a a sangre	Conc. en tejido (mcg/g)	Cociente respecto a sangre	t1/2 (horas)
Sangre	6.36	1.0	0,21	1.0	3.2
Higado	11.0	1.7	1.06	5.1	4.0
Cerebro	5.5	0.4	0.28	1.3	3.0
Pulmones	6.04	1.0	0.56	2.7	3.0
Bazo	6.45	1.0	0.45	2.1	2.6
Corazón	5.48	0.9	0.08	0.4	2.8
Riñón	8.57	1.4	1.57	7.5	3.2
Organos Reproductivos Tracto g.i.	14.2	3.0	13,3	63.2	14.0
Piel	2.94	0.5	0.45	2,1	8.0

En ratones, se comprobó por autorradiografía que el metronidazol marcado administrado intravenosamente, se dig tribuye rápidamente a varios tejidos y dicha distribución cambia con el tiempo (5). A las 24 horas después de la administración, los niveles en hígado, glándula salival, tracto gastrointestinal, eran más altos que en sangre, pero a las 72 horas, solo en el hígado se mantenía con ni veles más altos.

En los humanos, los modelos farmacocinéticos demuestran que el metronidazol tiene un gran volumen aparente de distribución, lo cual se confirma por las concentraciones generalmente altas que se han encontrado del fármaco en los tejidos que se han podido examinar.

Reportes de varios investigadores (49-53) encontraron que el metronidazol ha sido detectado en concentraciones terapéuticas en: hueso, tejidos pélvicos, saliva y líquido seminal. En el líquido del oído medio infectado y del empiema se encontraron también niveles altos del fármaco (54,55).

La excelente respuesta de los aboesos hepáticos amibianos al tratamiento con metronidazol, sugiere que en estos stios se alcanzan concentraciones altas (36).

La capacidad del metronidazol para penetrar la barrera hematoencefálica de importancia terapéutica (56-63), como puede observarse en la tabla No. XI.

Como se mencionó anteriormente, el metronidazol atraviesa la barrera placentaria, por lo que se han detectado concentraciones en placenta hasta de 1.4 mcg/ml, cuando las concentraciones séricas maternas eran de 3.0 a 6.9 mcg/ml y las concentraciones encontradas en el embrión fueron hasta de 1.0 mcg/ml $^{(64)}$.

TABLA No. XI. Distribución de metronidazol en líquido cefalorraquídeo (LCR) y abcesos cerebrales (33).

Tejido	Concen- tración (mog/ml)	Conc. en suero (mcg/ml)	Dosis de Metronidazol	Condición clínica	Método Analítico
LCR	13.9 (2h)	15.4 (2h)	500mg c/12h p.o.	Meningitis	BE
	11.0 (8h)	8.3 (8h)			
LCR	6 - 11.7		2.5 g p.o	Normal	BE
LCR	16.8		400 mg c/8h i.v.	Abceso cerebral	BE
LCR	8,6		500 mgc/8h i.v.	Meningitis	
LCR	7.4-23.4		35 mg/Kg/d p.o. c/6h	Meningitis neonatal	BE
LCR	15 - 18		30 mg/Kg/d i.v.	Meningitis neonatal	CCT
LCR	56.7 (1h) 71.5 (4h)	81.5 (1h) 69.7 (4h)	80 mg/Kg/đ i.v.	Meningitis neonatal	CCT
Abceso cerebral	35		400 mg c/8h p.o.	Abceso cerebral	Polaro- grāfico
Abceso cerebral	24.5		600 mg c/8h i.v.	Abceso cerebral	Polaro- grāfico
Abceso cerebral	42		35 mg/Kg/d p.o.	Abceso cerebral	EE

EE = Bioensayo
CGL - Cromatografía gas-líquido
p.o. - vía oral.

El metronidazol pasa de bilis a duodeno, lo que hace probable que exista recirculación enterohepática (65).

En la tabla No. XII se presentan los resultados obtenidos por algunos investigadores en la determinación de la unión del metronidazol a las proteínas plasmáticas, por diferentes métodos. Como se puede observar la unión del metronidazol a las proteínas es en general bajo, en ningún caso mayor del 20%.

TABLA No. XII. Unión del metronidazol a las proteínas plasmáticas (33).

Concentración de metronidazol	Unión a proteínas	Método
1 mcg/ml	8.1	Diálisis al equilibrio
10 mcg/ml	11.2	
	20	Ultrafiltración
$1.6 - 40 \times 10^5 \text{mol/1}$	0.43 - 4.22	Ultrafiltración
8 mcg/ml	10 - 20	Diálisis

c) Metabolismo:

Las dos principales rutas metabólicas del metronidazol son la oxidación y la reducción. Aún cuando los meta bolitos que se han detectado poseen el grupo nitro intacto, esto no es indicio de que no se realice la reducción $^{(36)}$. Koch y colaboradores detectaron la formación de acetamida y N-(2-hidroxietil) ácido oxámico en concentraciones alrededor del 1 a 2% de la dosis administrada. Al formar químicamente por reducción el compuesto aminoimidazólico, se observó que este era muy inestable, lo cual puede ser la causa de que casi no se detecte en fluídos biológicos (36).

La ruta metabólica del metronidazol ha sido ampliamente estudiada en animales. En ratas a las que se les administró una dosis oral de 10 mg/Kg de peso de metronidazol-¹⁴C, se detectaron en la orina de 24 horas, 14 productos marcados que representan el 53% de la dosis administra da (66). Los productos principales fueron: metronidazol y sus conjugados glucurónido y sulfato, el ácido 2-metil-5-nitroimidazol-il-acético, 1-(2-hidroxietil)-2-hidroximetil-5-nitroimidazol y 1-(2-hidroxietil)-2-carboxil-5-nitroimidazol.

Los mismos metabolitos fueron detectados en la orina de 24 horas de ratones que recibieron una dosis oral de 50 mg/Kg de peso aunque en proporciones diferentes (67).

Los productos metabólicos de metronidazol identifica dos en fluídos biológicos humanos, son similares a los en contrados en animales.

Stambaugh y colaboradores (67) detectaron seis nitrocompuestos en la orina de pacientes con terapia de metronidazol (250 mg tres veces al día), para el tratamiento
de infecciones por <u>Trichomonas vaginalis</u>. Los principales
productos metabólicos detectados fueron: metronidazol v

su conjugado glucurónido en un 30-40%, el 1-(2-hidroxietil)
-2-hidroximetil-5-nitroimidazol en su forma libre y su conjugado glucurónido en un 40-50% y el análogo ácido 2-carboxílico, formado por la posterior oxidación del 2-hidroxime
til en un 8-12% y el análogo 1-ácido acético en un 15 1 20%.

Estos autores identificaron también en secreciones vaginales humanas, el 1-(2-hidroxietil)-2-hidroximetil-5-nitro imidazol, el fármaco inalterado y otro metabolito no identi ficado.

Existen pocos estudios sobre los metabolitos del metro nidazol presentes en sangre. En la tabla No XIII se observan los niveles de fármaco inalterado y fármaco total en plasma, después de la administración de una dosis oral dníca de 750 mg de metronidazol-14C a voluntarios sanos.

De los pocos estudios realizados en heces, Andre y collaboradores (68), reportaron que el fármaco es eliminado en las heces humanas principalmente en la forma del 1-(2-hidroxietil)-2-carboxil-5-nitroimidazol, el cual también posee actividad amebicida.

El metabolismo del metronidazol ocurre en el hígado y probablemente también en el colon. No se conoce la actividad biológica de los metabolitos, sin embargo, algunos autores mencionan que estos son inactivos. Las estructuras de los metabolitos del metronidazol y sus nombres químicos se muestran en el esquema No. 1 (68).

d) Eliminación.

En ratas la eliminación de compuestos radiomarcados, después de una dosis oral única de 10 mg/Kg de peso de metronidazol \cdot 2¹⁴C, fue principalmente en orina, excretándose en 4 días el 58% de la dosis ⁽⁶⁶⁾. La excreción fecal fué más lenta y el 24% de la dosis se eliminó en 4 días ⁽⁶⁶⁾.

TABLA No. XIII. Concentraciones plasmáticas de metronidazol y metabolitos después de la administración oral de 750 mg de metronidazol 2-¹⁴C a voluntarios humanos del sexo masculino (5).

Concentraciones	plas	smáticas	promedia	5
mcg equivalente	s de	metronio	lazol/ml	plasma

			
Tiempo después de la admón. (hs)	Productos totales del fármaco	Metron <i>idaz</i> ol	% metronidazol presente
0.33	3.82	1.04	27.2
0.5	10.90	5.38	49.4
1.0	14.94	11.92	79.8
2.0	13.89	10.72	77.2
3.0	13.83	9.29	67.2
4.0	13,36	9.03	67.6
6.0	11.89	7.68	64.6
8.0	10,89	6.88	63.0
24.0	4,90	1.68	34.3
48.0	1.46	0.26	17.8

En el hombre es la vía renal la principal ruta de eliminación (70). Después de una dosis oral única de metronidazol-14C a voluntarios sanos, 77% de la dosis fue excreta da en la orina y 14% en las heces en 5 días (40). Sin embargo, los reportes del porcentaje de fármaco inalterado que se excreta por orina son variables dependiendo del método analítico utilizado para su determinación.

ESQUEMA No. 1

- I. 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol.
- II. 1-(2-hidroxietil)-8-hidroximetil-5-nitroimidazol.
- III. Acido 2-metil-5-nitroimidazol-il-acético
 - IV. Glucurónido derivado de 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol.
 - V. Glucurónido derivado de 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5nitromidazol.
- VI. Acido 1-(2-hidroxieti1)-5-nitroimidazol-il-2-carboxílico.

Por ejemplo, cuando el metronidazol se determinó por polarografía, la eliminación urinaria promedio en 12 pacientes tratados con una dosis oral única de 200 mg de metronidazol fue del 36% de la dosis en 24 horas (5). Otros autores analizaron por bioensayo, muestras urinarias de voluntarios sanos a los cuales se les administraron dosis orales de 250 y 500 mg de metronidazol, encontrando una eliminación del 14.6% de la dosis en 24 horas y 17.4% en 48 horas (46). Al comparar estos resultados, con los obtenidos por el método químico, se concluyó que este determina además del metronidazol, los metabolitos biológicamente inactivos (46).

Utilizando el método de bioensayo, se observó que la concentración urinaria del metronidazol, 12 horas después de la administración fueron 35 mcg/ml para la dosis de 250 mg y 88 mcg/ml para la dosis de 500 mg, siendo la depuración renal de 10.2 ml/min/1.73 m 2 (46).

Welling (40) encontró que las constantes promedio de eliminación permanecen inalteradas después de la primera y la última dosis en el curso de un tratamiento. Esto indica que el fármaco no estimula, ni ihnibe su eliminación en regimenes de dosificación múltiple. La excreción del metronidazol también ocurre en pequeñas proporciones por vía biliar y digestiva, aunque esta es predominantemente renal.

Parámetros farmacocinéticos:

La farmacocinética de metronidazol en voluntarios sanos ha sido descrita usando ya sea modelo abierto de uno
o de dos compartimientos (40-44), lo cual se puede observar
en la tabla No. XIV.

La constante promedio de absorción oral (K_a) fué de 3.02 h, la vida media de eliminación para metronidazol inalterado basado en MAUC, varió de 6.21 a 9.99 horas, con un promedio de 8.2 horas. Aunque hay pocos datos publicados, el volumen de distribución de metronidazol parece ser bastante grande, con valores de 0.59 - 0.853 $1/Kg^{(33)}$.

TABLA No. XIV. Parámetros farmacocinéticos de metronidazol, derivados del modelo abierto de uno y dos compartimientos (33).

Dosis (mg)	Ruta de Admón.	Sujetos	Modelo Farmaco- cinético	K _a (h ⁻¹)	K _d (h ⁻¹)	t1/2 (h)	L	Vd 1/Kg	ABC (mcg/ml) (h)	Método Analí- tico
500	p.0	9F	MAUC	3,12	0.12	6.21	_	0.59	159	000
750	p.o	2M, 2F	MAUC	-	-	8.4	-			∞
46	i.v.	6M	MAUC	-	-	7.70	-	0.803	3 -	000
250	p.o	10M	MAUC MAUC	3,7	0.22	9.99	-	-	47.4	œ
500	p.o.	10M	MAUC	5.4	0.11	9.67	-	. =	113.5	യ
1000	p.o.	10M	MAUC MAUC	2.9	0.13	9.31	-	• •	214	œ
200	p.o.	7f	MAUC	3.12	0.12	6.21	-	-	-	∞
500	i.v.	9F	MAUC	-	-	7.3	3	6 0,63	151	CLAR

F = femeninos

M - masculinos

MAUC - Modelo abierto de un compartimiento

MADC - Modelo abierto de dos compartimientos

CCD - Cromatografía de capa delgada

CLAR - Cromatografía de líquidos de altaresolución

En un análisis farmacocinético detallado, usando un modelo abierto de dos compartimientos, Rabín y colaboradores (71), descubrieron una fase de distribución rápida y una

fase de eliminación (8) lenta, la vida media promedio para la fase de distribución fue 1.24 horas y para la fase de eliminación de 9.76 horas. El volumen aparente de distribución total fue de 1.02 1/Kg y el volumen del compartimiento central, representando la sangre y tejidos bien perfundidos, fue de 0.41 1/Kg.

En México, se realizó un estudio de farmacocinética de metronidazol en voluntarios sanos, tomando muestras plasmáticas y urinarias con dos tipos de administración: oral e intravenoso (72).

Para la administración oral, se obtuvieron datos promedio de tiempo de vida media de eliminación del metronidazol de 7.38 horas en muestras plasmáticas y de 7.78 horas en muestras urinarias.

Después de la administración intravenosa el tiempo de vida media de eliminación promedio obtenido a partir de muestras plasmáticas fue de 6.47 horas y para muestras urinarias fue de 9.03 horas.

El volumen de distribución promedio que se obtuvo fue de 35 litros y la depuración promedio fue de 30.79 ± 9.1 ml/min.

Farmacocinética clinica:

Neonatos:

En la tabla XV se muestran los resultados de un estudio sobre la administración de metronidazol intravenosamen te a tres grupos de neonatos de distinta edad gestacional, en el que se encontraron como eran de esperarse diferencias entre estos grupos, ya que debido a la presencia de sistemas enzimáticos inmaduros en los neonatos, se esperaría una acumulación del fármaco con las dosis usuales calculadas en base al peso corporal, ya que el metronidazol es metabolizado principalmente por mecanismos oxidativos y de conjugación (67).

TABLA XV. Administracion de metronidazol intravenosamente a tres grupos de neonatos (33).

Edad gestacional (semanas)	Tiempo de vida media <u>+</u> E.E.M. (horas)
Menores de 32	75.3 <u>+</u> 16.9
32 a 35	35.4 <u>+</u> 1.5
36 a 40	24.8 <u>+</u> 1.6

A partir de estos datos se observa una relación inversa entre edad gestacional y vida media. La depuración plas mática varió con la edad gestacional, pero el volumen de

distribución no parece dependiente de la edad del neonato. El metabolito hidroxilado no fue detectado en los neo
natos menores de 35 semanas, excepto en aquellos previamente expuestos a la betametasona en el útero (9).

Sin embargo, existe cierta evidencia clínica de que el uso del metronidazol en neonatos con infecciones anaeróbicas serias no está asociado con concentraciones altas o efectos colaterales. Khan y Nixon (73), reportaron el uso de metronidazol intravenoso, en el tratamiento de enterocolitis necrosante en infantes, a dosis de 7.5 mg/Kg de peso cada 8 horas. La concentración plasmática determinada polarográficamente, 30 minutos antes de la administración de la dosis varió entre 8.8 y 14.6 mcg/ml, y las concentraciones plasmáticas máximas, después de una dosis fueron de 12.8 a 34.0 mcg/ml. Las concentraciones plasmáticas se encuentran en el mismo intervalo que se esperaría encontrar en pacientes adultos a dosis equivalentes, por lo que se hace necesario efectuar estudios farmacocinéticos para confirmar estas observaciones tan limitadas.

Embarazo y lactancia:

Hay poca información sobre la farmacocinética de metronidazol durante el embarazo, debido a la necesidad de evitar en lo posible la administración de cualquier fárma co durante este período.

Un estudio $^{(70)}$, en el cual se comparó en detalle la

farmacocinética de metronidazol oral en mujeres embarazadas con tricomoniasis, con datos obtenidos en un estudio previo en mujeres no embarazadas, se encontró que los parámetros farmacocinéticos no difieren significativamente en tre los dos grupos, aunque las concentraciones plasmáticas fueron ligeramente más altas en las no embarazadas.

A tres madres lactantes, que recibieron una dosis oral de 2 gramos, se les determinó la concentración de metronidazol en leche materna, por CGL. La concentración plasmática máxima promedio fue de 45.8 mcg/ml a las 2 horas, con vidas medias de eliminación en leche de 8.7 a 9.9 horas, muy similar a los datos obtenidos en plasma (39).

Se estima que un bebé podría consumir aproximadamente 25 mg de metronidazol en leche durante el intervalo de 48 horas, después de que la madre recibe una dosis de 2 gramos.

No existen en la literatura, reportes sobre la farma cocinética de metronidazol en ancianos.

Falla renal y efecto de la hemodiálisis:

Los estudios realizados en individuos con enfermedad renal demostraron que la vida media del metronidazol permaceció inalterada, con valores entre 6.4 y 7.2 horas (44). Sin embargo la vida media del metabolito hidroxilado cuyo valor es de 9.7 horas en voluntarios sanos, aumentó a 37 horas en pacientes con falla renal severa. La vida media

del metabolito ácido fue de 138 horas en pacientes con falla renal, sin embargo la vida media no puede ser calculada en voluntarios sanos, debido a sus concentraciones plás máticas tan bajas (44).

Inghan y colaboradores (70), reportaron concentraciones altas de metronidazol determinadas polarográficamente en pacientes con falla renal, los niveles fueron tres veces más grandes que los determinados por bioensayo, reflejando la acumulación de compuestos biológicamente menos activos, como los metabolitos hidroxilado y ácido.

Otros investigadores (33), usando un método de cromatografía de líquidos, determinaron concentraciones plasmáticas del metabolito hidroxilado entre 42 y 69 mcg/ml, comparadas con concentraciones de metronidazol entre 18 y 43 mcg/ml, con una dosis de 20 mg/Kg/día, en pacientes severamente urémicos. Estos datos confirman la eliminación más lenta del metabolito hidroxilado y su acumulación en pacientes con enfermedad renal.

La hemodiálisis remueve el metronidazol y el metabolito hidroxilado, reduciendo la vida media del primero a 2.6 horas y la del filtimo a 7.8 horas.

Se estudió el efecto de la diálisis peritoneal sobre la concentración plasmática de metronidazol (74), después de la administración intravenosa de 500 mg de metronidazol, obteniéndose una concentración plasmática máxima de 27 mg/ml y la concentración del metronidazol en el dializado fue un

40% de la concentración plasmática máxima.

4. Enfermedades gastrointestinales:

En pacientes con diferentes enfermedades gastrointes tinales, las concentraciones plasmáticas máximas que se alcanzan son similares a las de voluntarios sanos, aunque la velocidad de absorción es más lenta en este tipo de pacientes. Sin embargo, en pacientes con ileostomosis, Bergan y colaboradores (75), encontraron que éstos absorbían más rápidamente el metronidazol y alcanzaban niveles plasmáticos más altos que los voluntarios sanos.

5. Enfermedades hepáticas:

Se reportó un estudio (76), en el cual se comparó la farmacocinética de una dosis única de 500 mg de metronidazol en pacientes cirróticos y controles sanos. Lo que se observó fue una tendencia hacía una vida media de eliminación más larga y una área bajo la curva (ABC) mayor para el metronidazol en pacientes cirróticos, comparados con los voluntarios sanos.

También el área bajo la curva para el metabolito hidroxilado fue más pequeña en los cirróticos, reflejando un metabolismo oxidativo menor del metronidazol en estos pacientes.

En pacientes con enfermedades hepáticas, no se han establecido regimenes de dosificación múltiple, pero debe indicarse una reducción en la dosis, ya que se observa una

tendencia a eliminar más lentamente el metronidazol.

En general las propiedades farmacocinéticas del metronidazol complementan su actividad antimicrobiana, haciéndolo a éste un fármaco efectivo en el tratamiento de algunas infecciones anaerobias, con una concentración bactericida mínima de 6 mcg/ml.

La vida media larga del metronidazol de alrededor de 8 horas, se ha usado para aventajar en el tratamiento de tricomoniasis, donde una dosis única de 2 gramos produce niveles terapéuticos por 24 a 36 horas y ha demostrado ser tan efectivo como un tratamiento más prolongado (45).

Aunque el intervalo de dosificación usual para infecciones bacterianas es ocho horas, generalmente ocurre acumulación del metronidazol y después de dosis múltiples de 500 mg, se alcanzan concentraciones en el estado estacionario entre 15 y 25 mcg/ml. Estas concentraciones exceden la concentración mínima inhibitoria y la concentración bactericida mínima de la mayoría de las bacterias anaerobias clínicamente importantes (4). Un intervalo de dosificación de 12 horas produciría concentraciones de 5 a 20 mcg/ml, la cual sería terapéutica para la mayoría de las infecciones causadas por anaerobios altamente susceptibles.

La farmacocinética de metronidazol en neonatos y niños parece diferir de la de voluntarios sanos, por lo que es necesario modificar la dosis, pues la eliminación del fármaco es más lenta. En pacientes con enfermedad renal,

la bioactividad total se ve aumentada porque el metabolito hidroxilado tiene alrededor de un 30% de la bioactividad total del metronidazol contra bacterias anaerobias (77),
y este metabolito se encuentra aumentado en pacientes con
problemas renales.

II.3 METODOS DE DETERMINACION DE METRONIDAZOL EN FLUIDOS BIOLOGICOS.

Debido al progreso en los estudios clínicos y farmacocinéticos, es necesario el análisis del metronidazol y sus metabolitos en fluídos corporales para que todas las rutas de administración puedan ser evaluadas.

El método analítico que se elija debe cumplir con los requisitos de linealidad, repetibilidad, especificidad y exactitud, para que los parametros farmacocinéticos calculados sean confiables.

Para la cuantificación del metronidazol existen diferentes métodos, con sus ventajas y desventajas cada uno de ellos. Entre otros se encuentran el método polarográfico, espectrofotométrico, microbiológico, cromatografía de capa delgada, cromatografía de gas-líquido y cromatografía de líquidos de alta resolución.

Polarografía:

Esta técnica fue desarrollada por Kane en 1961⁽⁷⁸⁾.

Las muestras después de la saturación con bórax y la desoxigenación, son polarografiadas sobre el intervalo de -0.4 a -1.0 volts. El potencial de onda media del metro-

a granger dan er gegen gegen gegen met er han de dan de dan dan dan de gegen er 10 de gegen blev de gegen 10 d

nidazol se encuentra entre -0.6 y -0.7 volts, el punto en el cual el nitroimidazol es reducido causa un aumento en la corriente, la cual a su vez es medida en un selector Tast-polarográfico. La altura de la onda es directamente proporcional a la concentración de los nitroimidazoles pre sentes en la muestra y es independiente del pH en el inter valo de 1 a 10. La concentración es medida ya sea por com paración directa de una curva estándar de calibración o por estandarización interna. El límite de detección es de alrededor de 0.1 mcg/ml dependiendo de la muestra y del tipo de polarógrafo. La polarografía ofrece un método rápido, simple y sensible de estimar metronidazol sin interferencia de otros agentes antibacteríanos no relacionados. Sin embargo, éste mide no solamente la reducción del grupo nitro del metronidazol, sino también de cualquier metabolito 5-nitroimidazol, presente en la muestra y puede no proveer una verdadera expresión de la actividad antibacteriana.

Análisis microbiológicos:

Durante los últimos años se han desarrollado algunos métodos microbiológicos, los cuales emplean técnicas modificadas de difusión de agar. Se han utilizado varios microorganismos anaerobios, como <u>Clostridium sporogenes</u>, con una linealidad de 0.5 a 2.0 mcg/ml; <u>Clostridium perfringens</u>, con una linealidad desde 2.0 a 125 mcg/ml;

otros microorganismos utilizados son: Clostridium capitovale, Bacteroides fragilis y Trichomonas vaginalis (46,70,79).

El sembrado de las placas de agar es crítico y el mismo procedimiento debe seguirse en todos los análisis subsecuentes. Las placas se incuban anaeróbicamente a 37°C y se pueden leer después de una noche de incubación. El mayor riesgo de los procedimientos de bioensayo, es la presencia de otros agentes antibacterianos, a los cuales el microorganismo de prueba sea sensible, lo cual conducirá a resultados erróneos.

Cromatografía en capa delgada:

En esta técnica el metronidazol se extrae con cloroformo, se concentra y se inocula en una placa de gel de sílice, se desarrolla, presentándose el metronidazol como una mancha oscura, bajo luz ultravioleta a 254 nm. La densidad de las manchas se mide con un densitómetro (40).

Welling y Monro en 1972, encontraron que el procedimiento de cromatografía de capa delgada daba una recuperación promedio de muestras de suero del 62%. Además de que se pueden detectar también por esta técnica los metabolitos del metronidazol (66,80).

Análisis colorimétrico:

Los 5-nitroimidazoles N¹-sustituídos después de la hidrólisis alcalina liberan ácido nitroso, el cual reacciona con la sulfanilamida para formar una sal de diazo-

nio. Esta sal reacciona con un compuesto acoplante aromático (N-(1-naftil) etilendiamina) y forma el característico colorante, azo, el cromóforo de Bratton-Marshall, el cual se puede medir espectrofotométricamente. La concentración de 5-nitroimidazoles-N¹-sustituídos es proporcional a la absrobancia (47,66,81).

La recuperación total es alrededor del 70% en muestras de sangre y orina, y la sensibilidad es de 1-2 mcg/ml. Este procedimiento pierde especificidad, porque los compuestos azo de los 2-nitroimidazoles N¹-sustituídos y los metabolitos dan la misma reacción.

Cromatografía gas-líquido:

Esta es una técnica adecuada para cuantificar metronidazol en fluídos biológicos. Las muestras de sangre y
orina, después de la adición de NaOH para dar un pH de 14,
se extraen con un volumen igual de acetato de etilo y se
inyectan al cromatógrafo. Los cromatogramas no muestran
señales de interferencia y el metronidazol puede ser medido a una concentración mínima de 0.1 mcg/ml. La eficiencia de esta extracción a pH 14, es para suero del 76% y
para orina 85% (80).

El metabolito ácido puede también ser detectado, des pués de la diazometilación con metano, usando la misma columna, mientras que el metabolito alcohol tiene un tiempo de retención mayor (> a 10 minutos), con picos coleados que

hacen imposible su medición exacta.

Otros investigadores (47,82) han reportado métodos de cromatografía gas-líquido que son altamente sensibles y eg pecíficos para 5-nitroimidazoles, sin embargo estos requie ren extracciones largas y exactas. Los 5-nitroimidazoles son convertidos a trimetilsililderivados para disminuir el coleo de los picos. Un detector de ionización de flama permite medir concentraciones de 0.25 mcg/ml. La recuperación total del metronidazol del plasma es casi 100% y la reproducibilidad de la curva de calibración tiene un coeficiente de variación promedio del 4%.

Cromatografía de líquidos de alta resolución:

Recientemente se han desarrollado métodos que utilizan cromatografía de líquidos de alta resolución (83,87). Este método es en particular sensible, exacto, específico y es una técnica fácil de realizar y que ha proveído la mayoría de los datos recientes sobre los metabolitos del metronidazol. La recuperación de las muestras biológicas es cuantitativa. Las concentraciones mínimas reportadas por los diferentes autores son en plasma 50 ng/ml, 0.3 y 0.5 mcg/ml y en orina son de 2.5 y 0.5 mcg/ml. El coeficiente de variación va de 2.4 y 5.5%.

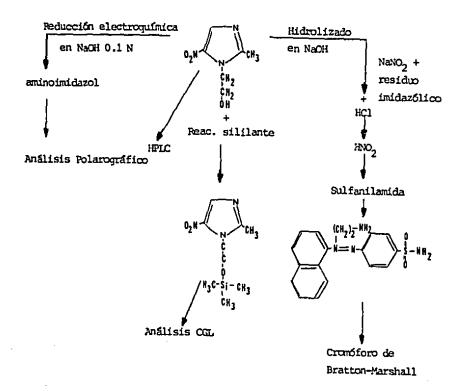
Los tiempos de retención reportados para metronidazol en muestras plasmáticas son de 5 y 9 minutos dependiendo de la fase móvil que se emplee. Para los metabolitos ácido e hidroxi son de 3 y 5 minutos respectivamente en mues-

tras séricas y de 5 y 8 minutos respectivamente en muestras urinarias. La cromatografía se realiza utilizando columnas de fase reversa; la composición de la fase móvil varía para cada método reportado y son: metanol, acetonitrilo y KH2PO4 0.005M (9pH 4) en la proporción 4:3:93 para muestras séricas y para muestras urinarias en la proporción de 2:1:97 v/v. Otras composiciones de fase móvil reportadas son: acetonitrilo 8% - buffer de fosfato 10⁻⁵M pH 4; acetonitrilo 15% - buffer de fosfato 0.01M (pH 5.5). La velocidad de flujo de la fase móvil es de 1 y 2 ml/minuto. La longitud de onda de detección reportada es de 320 y 324 nm.

En el esquema No. 2 se representan los métodos más comunes que han sido utilizados para la cuantificación del metronidazol en fluídos biológicos.

ESQUEMA No. 2

Métodos utilizados en la determinación de metronidazol en fluídos biológicos.



III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Determinación de metronidazol en plasma utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución.

3.1.1 Material y equipo:

Balanza analítica Metler, modelo H 54 AR.

Balanza granataria Ohaus, modelo Harvard trip.

Agitador Vortex, Thermoline Maxi-Mix, modelo M-16715.

Centrifuga Damon/IEC-Division modelo HN-SII.

Micropipeta Ependor de 100 mcl.

Repipeteador, modelo Repipet Dispenser and Dilutors, LI Lab. Industries.

Cromatógrafo de líquidos Perkin Elmer series 2.

Detector espectrofotométrico de longitud de onda variable, Perkin Elmer LC-75.

Estación de datos Perkin Elmer sigma 15.

Graficador Farrand FOCI, modelo 100.

3.1.2. Reactivos:

Metronidazol químicamente puro, obtenido de S.P.E.C.I.A. Paris, Francia, Lote # 648.

Ornidazol: pureza de 99.03%, obtenido de Laboratorios Atlantis, México, Lote # M-1150.

Hidróxido de sodio reactivo analítico. Técnica Química, S.A.

Fosfato de Potasio monobásico, reactivo analítico. Química JVC.

Carbonato de sodio reactivo analítico. Técnica Química, S.A. Bicarbonato de sodio reactivo analítico. Química JVS.

Eter R.A. J.T. Baker.

Cloruro de metileno R.A. Merck.

Acetona grado reactivo J.T. Baker.

Acetonitrilo HPLC Merck.

Metanol HPLC Merck.

Agua deionizada y filtrada para cromatografía de líquidos.

3.1.3 Preparación de soluciones:

Fosfato de potasio monobásico 0.2M.

Disolver 27.22 g de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) en agua y diluir a 1000 ml de agua deionizada.

Hidróxido de sodio 0.2M.

Pesar 8 g de NaOH, aforar a un libro con agua deionizada y hervida.

Buffer de fosfato de potasio monobásico pH 5.7.

Tomar 50 ml de la solución de fosfato de potasio monobásico 0.2 M, agregar 3 ml de hidróxido de sodio 0.2 M, aforar con aqua a 200 ml (pH 5.7).

Solución reguladora de carbonatos 0.1 M pH 9.

Se pesan 0.8401 gramos de bicarbonato de sodio y 0.0495 gramos de carbonato de sodio, aforar a 100 ml con agua destilada.

Mezcla de éter-cloruro de metileno (1.5:1).

En un matraz de 500 mililitros, se agregan 300 mililitros de éter y se afora a 500 mililitros con el cloruro de metileno.

Soluciones de metronidazol en metanol en concentraciones de 1000, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 mcg/ml.

Soluciones de metronidazol en plasma en concentraciones de 1000, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 mcg/ml. Soluciones de estándar interno en concentraciones de 300 y 3 mcg/ml, disuelto en acetonitrilo 12%-buffer de fosfato de potasio monobásico pH 5.7.

3.1.4 Preparación de las diluciones.

Curva estándar de metronidazol en metanol:
Se pesaron 10 mg de metronidazol en un matraz aforado de
10 ml, se aforó con metanol HPLC (1000 mcg/ml). Solución A.

De la solución A se tomó una alícuota de 1 ml, se colocó en un matraz de 100 ml y se aforó con metanol HPLC (10 mcg/ml) Solución B.

De la solución B se tomó una alícuota de 5 ml, se colocó en un matraz aforado de 10 ml y se aforó con metanol HPLC (5 mcg/ml) Solución C.

Se tomó una alícuota de 2.5 ml de la solución B, se colocó en un matraz aforado de 10 ml y se llevó a aforo con metanol HPLC (2.5 mcg/ml) Solución D.

De la solución D se tomó una alícuota de 5 ml, se colocó en un matraz aforado de 10 ml y se aforó con metanol HPLC (1.25 mcg/ml) Solución E.

De la solución E se tomó una alícuota de 5 ml, se colocó en un matraz aforado de 10 ml y se aforó con metanol HPLC (0.625 mcg/ml) Solución F.

Diluciones de la curva estándar de metronidazol en plasma

Pesar 10 mg de metronidazol y diluir a 10 ml con mezcla de acetonitrilo 12%-buffer de fosfato de potasio monobásico pH 5.7 (solución stock 1000 mcg/ml).

Dilución	Vol. Dilución met. + Vol. de plasma	Concentración (mcg/ml)
A	Solución Stock (1000 mcg/ml)	1000
В	30 mcl de soluc. A + 1 ml de plasma	30
С	25 mcl de soluc. A + 1 ml de plasma	25
D	20 mcl de soluc. A + 1 ml de plasma	20
E	15 mcl de soluc. A + 1 ml de plasma	15
F	10 mcl de soluc. A + 1 ml de plasma	10
G	0.5 ml de soluc. F + 0.5 ml de plasm	a 5
н	0.5 ml de soluc. G + 0.5 ml de plasm	a 2.5
I	0.5 ml de soluc. H + 0.5 ml de plasm	a 1.25
J	0.5 ml de soluc. I + 0.5 ml de plasma	a 0.625

Preparación del estándar interno:

Pesar 15 mg de estándar interno (ornidazol) y aforar a 50 ml con mezcla de acetonitrilo 12% - buffer de fosfato de potasio monobásico pH 5.7 (300 mcg/ml) Solución $\rm A_1$.

De la solución A_1 se tomaron 10 mcl y se colocaron en un matraz aforado de 10 ml y se llevó a aforo con la fase móvil. (3 mcg/ml) Solución B_1 .

3.1.5 Método de extracción:

Se efectuó la extracción del metronidazol en plasma de acuerdo al siguiente esquema.

Esquema No. 3

0.100 ml de plasma

0.5 ml de solución amortiguadora de carbonatos pH 9

0.100 ml de estándar interno

Extraer dos veces con éter-cloruro de metileno (1.5:1)

> Aqitar 3 minutos en Vortex Centrifugar 10 minutos a 1500 rpm.

Filtrar los extractos Evaporar a sequedad en baño de aqua a 37°C

Reconstituir el residuo con 50 mcgl de mezcla de acetonitrilo 12%-solución amortiguadora de fosfato pH 5.7

Análisis en cromatografía de líquidos

3.1.6 Condiciones cromatográficas:

Se utilizó una columna cromatográfica de acero, con

longitud de 25 cm y 0.26 cm de diámetro externo, empacada con Octadecilsilano, con un tamaño de partícula de 10 mi-

Fase móvil: Acetonitilo 12%-buffer de fosfato de potasio monobásico pH 5.7.

Velocidad de flujo: 0.9 ml/minuto.

Longitud de onda de detección: 320 nm.

Velocidad de la carta: 0.2 cm/minuto.

3.1.7 Evaluación del método analítico:

El método se evaluó en sus características de linealidad, repetibilidad, selectividad y exactitud.

Linealidad:

è

Con el fin de determinar si la relación entre concentración y relación de áreas era lineal, se elaboraron 4 curvas de calibración en plasma, en el intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml, de acuerdo al esquema 3 (sección 3.1.5).

Selectividad:

Esta se evaluó comparando los cromatogramas obtenidos por un plasma blanco sin fármaco, el metronidazol y el ornidazol (estándar interno), y el metabolito ácido del metro nidazol.

Repetibilidad:

La repetibilidad del método en un mismo día se probó preparando 4 curvas de calibración de metronidazol en plas ma en concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml, tratándolas

según el esquema 3 (Sección 3.1.5). También se validó la repetibilidad del método en diferentes días, analizando una curva de metronidazol en plasma, por día, en las mismas condiciones mencionadas anteriormente, durante 4 días.

4. Exactitud:

para evaluar la exactitud del método, se prepararon 4 curvas de calibración de metronidazol en metanol HPLC, en un intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml, y se compararon con los resultados obtenidos de las curvas de calibración en plasma.

11

3.2 Estudio farmacocinético.

3.2.1.a Estudio en niños. Se seleccionaron 6 niños de diferentes edades, que ingresaron al Hospital Pediátrico del DIF, sometidos a tratamiento con metronidazol. Las variables biológicas de dichos niños se encuentran en la tabla No. XVI, en la cual se puede notar que estos niños pueden dividirse en dos subgrupos de acuerdo a la edad, si se contara con un número mayor de pacientes, y su estado patológico, farmacoterapia concurrente, dosis y vía de administración del metronidazol se presentan en la tabla No. XVII.

1. Obtención de muestras sanguineas:

Las muestras sanguíneas fueron tomadas cuando se suponía que ya se debia haber alcanzado el estado estacionario. El tiempo de muestreo fue previo a la administración del fármaco y una hora después. En algunos niños, además de estos tiempos se tomaron muestras en la fase terminal, es decir la última dosis. Los tiempos de muestreo fueron: 15 minutos después de la dosis, hasta 12 horas después, como se específica en el Apéndice No. 2.

Se tomaron muestras sanguíneas de 3.0 ml, las cuales se colocaron en tubos previamente heparinizados, se centrifugaron, se separó el plasma y se congeló hasta su análisis.

TABLA No. XVI. Variables biológicas de los niños hospitalizados que participaron en el estudio.

Paciente	Sexo	Edad	Peso (Kg)	Talla (m)	Area de Sup. Comporal
1	м	5a 7m	18	1.04	0.73
2	M	7m	3.975	0.59	0.24
3	M	3a 6m	10.5	0.81	0.48
4	F	3m	2,90	0.51	-
5	М	4m	2.72	0.53	0.19
6	M	3a 3m	15.0	0.90	- ,

M = masculino

a = años

F = femenino

m = meses

TABLA No. XVII. Datos patológicos y farmacoterapáuticos de los niños estudiados.

Paciente No.	Diagnóstico	Tratamiento	Vía de Admón. del Metronidazol	Dosis
1	Abceso hepático amibiano	Metronidazol Dehidroemetina	oral	180 mg c/8h
2	Desnutrición III, marasmática. Bronconeumonía bilateral. Prob. Sepsis Conjuntivitis	Amikacina Bactrim Gluconato de calcio. Isoproterrenol Complejo B Hierro Dextrán Metronidazol	Infusión i.v. en 30 minutos	10mg/Kg/dia (15mg c/8h)
3	Desnutrición III, Derrama pleural derecho. Prob. Tuberculo- sis pulmonar. Abcesos hepáticos múltiples	Cloranfenicol Dicloxacilina Amikacina Metronidazol Dehidrognetina Cloroquina	Infusión i.v. en 30 minutos	10mg/Kg/dla (35mg c/8h)
4	Colitis infecciosa Glardíasis Diarrea, Sepsis Desnutrición III	Amikacina Cloranfenicol Cimetidina Gluconato de calcio Metronidazol Yectofer	Infusión i.v. en 30 minutos	10mg/Kg/d 1 a (20mg c/8h)
5	Desnutrición III múxta. Diarrea crónica Yardiasis Conjuntivitis	Ketoconazol Fenobarbital Bactrim, Amikacina Hidrocortisona Gluconato de calcio Wetronidazol Vitamina K, Dopamin Complejo B		10mg/Kg/dfa (27mg c/8h)
6	Abceso hepático amibiano	<u>Metronidazol</u>	oral	10mg/Kg/dla (200mg c/8h)

3.2.1.b Estudio en ancianos. En el estudio participaron como voluntarios, previo consentimiento tanto de ellos como de su médico nueve ancianos, cinco de sexo masculino, cuatro de sexo femenino, cuyas edades oscilan entre 69 y 90 años, cuyas variables biológicas se presentan en la tabla No. XVIII.

Los voluntarios permanecieron en ayunas doce horas antes de la administración del medicamento, tomaron un desayuno ligero dos horas después y posteriormente no hubo restricción en la dieta. No se permitió la administración de otros medicamentos una semana antes ni durante el estudio, durante el cual los voluntarios estuvieron bajo estricta vigilancia médica.

Tratamiento:

A cada individuo se le administró una dosis oral finica de 500 mg de metronidazol (equivalente a una tableta).

Obtención de muestras sanguineas:

Para la obtención de muestras sanguíneas se canalizó la vena cefálica media, y se tomaron muestras sanguíneas de 3 ml antes de la administración del medicamento y posteriormente a las 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0 y 27.0 horas. Las muestras se colectaron en tubos heparinizados, se centrifugaron y se congelaron a -4°C hasta el momento de su análisis.

TABLA No. XVIII. Variables biológicas de los ancianos que participaron en el estudio.

Edad (años)	Peso (Kg)	Talla (m)
76	64.2	1.52
81	59.2	1.51
69	40.2	1.40
72	62.3	1.62
84	52,0	1.68
74	43.0	1.41
86	42.2	1.48
90	46.5	1.45
79	48.5	1.48

M = Masculino

F = Femenino

IV. RESULTADOS.

4.1 Validación del método analítico.

Bajo las condiciones cromatográficas que señala la selección 3.1.6, se obtuvo que la concentración mínima detectable después del tratamiento de las muestras plasmáticas, corresponde a 0.625 mcg de metronidazol por mililitro de plasma.

Linealidad:

La figura 2 muestra una curva típica promedio de metronidazol en plasma (línea continua) y en metanol HPLC, (línea descontinua) en la que se observa la linealidad del método en el intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml; las muestras plasmáticas se prepararon siguiendo los lineamientos del esquema 3 (Sección 3.1.5). Al aplicar el método de mínimos cuadrados, se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0.9958, una pendiente (m) de 0.37199 y un intercepto (i) de -0.000875 para las muestras plasmáticas, mientras que para la curva de metronidazol en metanol, el coeficiente de correlación (r) que se obtuvo fue de 0.9975, la pendiente (m) de 0.3839 y el intercepto (i) de 0.1046.

Debido a que se tomaron muestras plasmáticas en el estado estacionario, fue preciso validar la linealidad del método en un intervalo de concentraciones plasmáticas más altas (10, 15, 20, 25 y 30 mcg/ml). El procedimiento a seguir fue el mismo que el presentado en el esquema 3

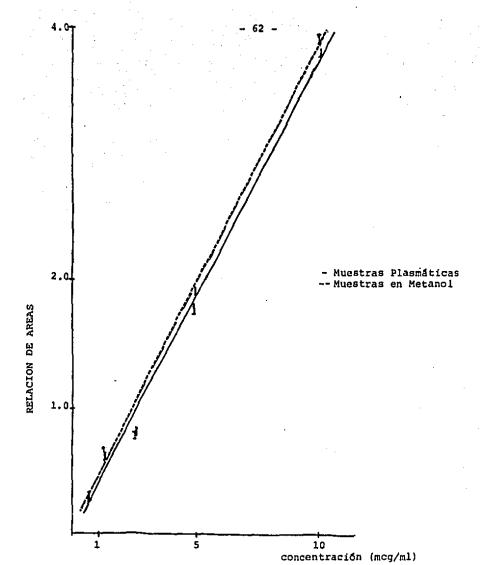


Figura 2. Gráfica promedio de relación de áreas (Metronidazol/estan dar) (± D.E.) con respecto a la concentración de Metronidazol.

Muestras plasmáticas

r = 0.9958 m = 0.37199 f = 0.000875

Muestras en metanol

r = 0.9975 m = 0.3839 f = 0.1046

(Sección 3.1.5).

En la figura 3 se presenta una curva típica en la que se observa linealidad. Al utilizar el método de mínimos cuadrados se obtiene un coeficiente de correlación (r) de 0.9927, una pendiente (m) de 0.3292 y un intercepto (i) de -1.0215.

Repetibilidad:

Para validar la repetibilidad del método en un mismo día, se prepararon 4 curvas de calibración de metronidazol en plasma en concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml y en concentraciones de 10.0 a 30.0 mcg/ml.

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas No. XIX y No. XX.

Con el fin de validar la repetibilidad del método en diferentes días, se analizó una curva de metronidazol en plasma cada día durante 4 días utilizando las mismas concentraciones y bajo las mismas condiciones mencionadas anteriormente.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla No. XXI.

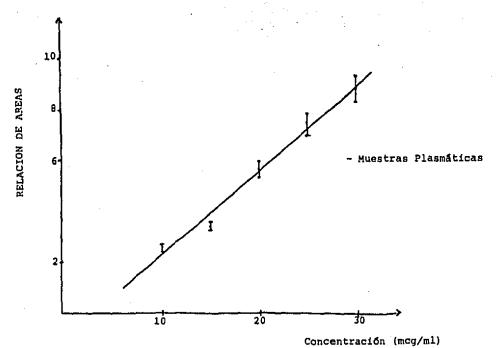


Figura 3. Gráfica promedio de relación de áreas (Metronidazol/estan dard) (+ D.E.) con respecto a la concentración de Metronidazol.

r = 0.9927 m = 0.3292 i = 1.0215

TABLA No. XIX. Promedio de los resultados obtenidos a partir de 4 curvas de calibración de metronidazol en plasma. (D.E.): desviación estándar.

Concentración de metronidazol (mcg/ml)		n de áreas dazol/est. (D.E.)	Coeficiente de variación (%)	
0.625	0.270	(0.0276)	10.205	
1.25	0.62	(0.050)	8.064	
2.5	0.77	(0.017)	2.249	
5.0	1.753	(0.006)	0.329	
10.0	3.79	(0.052)	1.371	
r = 0.9958	m = 0.37	7199	i=-0.000875	

TABLA No. XX. Promedio de los resultados obtenidos de 4 curvas de calibración de metronidazol en plasma (D.E.) = desviación estándar.

Concentración de metronidazol (mog/ml)		n de áreas dazol/est. (D.E.)	Coeficiente de variación (%)	
10	2.525	(0.159)	6.316	
15	3,425	(0.175)	5.105	
20	5.66	(0.348)	6.146	
25	7.47	(0.403)	5.392	
.30	8.73	(0.499)	5.723	
r = 0.9927	m=0.32	292	i=-1.0215	

TABLA No. XXI. Promedio de los resultados de 4 curvas de calibración de metronidazol en plasma, realizadas en días diferentes.

Concentración de metronidazol (mog/ml)		n de åreas lazol/est. (D.E.)	Coeficiente de variación (%)
0.625	0.245	(0.033)	13.53
1.25	0.50	(0.039)	7.83
2.5	0.93	(0.088)	9.49
5.0	1.92	(0.129)	6.74
10.0	3.88	(0.314)	8.09
r = 0.999	m = 0.38	377	i=- 0.0075

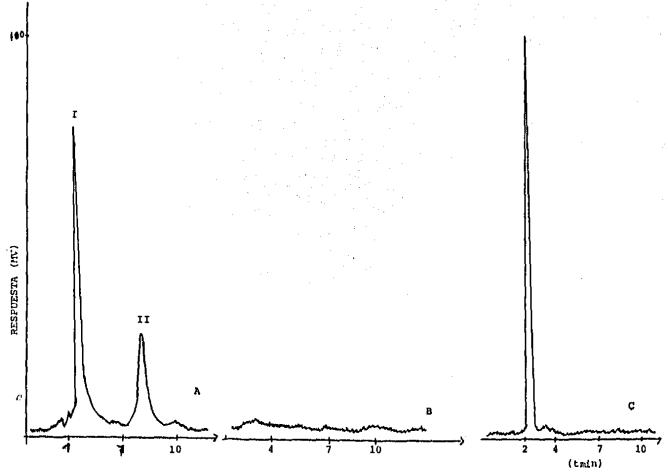
Selectividad:

En la figura 4 se presentan los cromatogramas típicos obtenidos al analizar muestras plasmáticas, observándose un tiempo de retención de 4 y 7 minutos para el metronidazol y el estándar interno (ornidazol) respectivamente. Ade más para probar la selectividad del método se inyectó el metabolito acido del metronidazol el cual presenta un tiem po de retención de 2 minutos aproximadamente como se puede observar en la misma figura, por lo que no interfiere en la cuantificación del metronidazol. Dado a que no se contaba con el otro metabolito (hidroxi), no fue posible determinar su tiempo de retención, pero por su polaridad es probable que tenga un tiempo de retención más corto, que el metronidazol, por lo que tampoco interferiría en la determinación. Asimismo se encontró que los componentes del plasma tampoco interfieren, ya que como se puede observar en la figura 4 el cromatograma del blanco de plasma no presenta ninguna señal.

 Determinación de la concentración real y porciento de extracción de metronidazol en plasma.

Se prepararon 4 curvas de calibración de metronidazol en metanol HPLC, en un intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml.

Los resultados se presentan en la tabla No. XXII y gráficamente en la figura 2.



''mra 4. Cromatogramas obtenidos; A=muestra plasmática con Metronidazol; B=blanco plasmático; C=meta_bolito ácido del Metronidazol. I = Metronidazol II = Ornidazol.

Con el fin de calcular el rendimiento en la extracción, se elaboró la tabla No. XXIII, en la cual se presentan los datos obtenidos en el tratamiento de muestras plasmáticas y en metanol.

5. Estabilidad:

Dado a que según datos reportados (88), el metronidazol presenta una buena estabilidad en plasma, se omitió el realizar dicha prueba.

TABLA No. XXII. Promedio de los resultados obtenidos a partir de 4 curvas estándar de metronidazol en metanol HPLC. (D.E.) = desviación estándar.

Concentración de metronidazol (mog/ml)		de áreas Dazol/est. (D.E.)	Coeficiente de variación (%)
0.625	0.277	(0.0222)	7.576
1.25	0.615	(0.0214)	4.302
2.5	0.818	(0.0275)	3.368
5.0	1.89	(0.0258)	1.366
10.0	3.89	(0.0258)	0.664
r = 0.9975	m = 0.38	339	i=- 0.1046

TABLA No. XXIII. Rendimiento en la extracción del metronidazol en plasma.

Concentración de metronidazol (mog/ml)	Relación de áreas muestas plasmáti- cas	Relación de áreas muestras evap.	Extracción (%)
0.625	0,270	0,277	97,47
1.25	0.62	0.615	100.81
2.5	0.77	0.818	94.13
5.0	1.753	1.891	98.75
10.0	3.79	3.89	97.43
Promedio: 96,518%	Desviación est	andar: 3,165	

4.2.A Resultados del estudio realizado en niños bajo tratamiento con metronidazol.

En el Apéndice No. 2, se presentan los datos individuales de concentración plasmática vs tiempo y sus respectivas gráficas, a partir de las cuales se calcularon los parámetros farmacocinéticos que se muestran en la tabla No. XXV. La forma en que fueron calculados dichos parámetros se explica en el apéndice No. 1 (89).

En el paciente No. 5, no se pudieron obtener los parámetros farmacocinéticos, debido a que las muestras plasmáticas que se tomaron fueron insuficientes.

En la tabla No. XXIV se presentan los datos de Cp_{max}^{EE} , Cp_{min}^{EE} y Cp prom.; los dos primeros son datos observados y el último se calculó según la fórmula (4) que se describe en el Apéndice No. 1 (8).

4.2.B Resultados del estudio farmacocinético realizado en ancianos.

En la tabla No. XXVI podemos observar los datos de concentración plasmática promedio vs tiempo de los cinco voluntarios del sexo masculino, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de metronidazol y su gráfica correspondiente en la figura 5. Asimismo, en la tabla No. XXVII se observan los datos promedio de concentración plasmática vs tiempo de tres voluntarios del sexo femenino y su correspondiente gráfica en la figura 6. La voluntaria No. 9 fue

TABLA No. XXIV. Datos obtenidos de los pacientes en el estado estacionario.

				
Paciente (No.)	DIA DE TRATAMIENTO	Comax EE (mcg/ml)	Cp min EE (mcg/ml)	Cp prom. (mcg/ml)
1	5	10.57	5.28	6.89
	6	7.03	3.81	5.20
	7	7.03	6.67	5.69
2	1	6.87	4.16	5.46
	2	29.72	5.92	10.19
	3	11.16	6.39	-
	8	9.57	5.88	-
3	1	5.0	1.50	_
	2	2.49	2.07	-
	8	3.73	1.13	-
4	3	26.04	14.07	-
•	4	21.74	16.09	20.92
	7	14.18	9.23	_
	11	14.83	4.46	
5	5	9.06	5.39	_
	9	5.39	2.64	-
6	1	6.46	3.06	3,15
	. 5	4.40	2,83	-
				

TABLA No. XXV. Parámetros farmacocinéticos obtenidos en los niños bajo tratamiento con metronidazol.

Pacien te No.	ABC (mcg/ml h)	K (h ² 1)	t1/2 abs (h)	Kel1 (h1)	t1/2 el (h)	V (1/kg	1)	K _d V _d (1∕h)
1	161.69	0.5242	1.32	0.1692	4.09	-	-	-
			:	× 0.1041	6.66x			
2	74.30	-	-	0.1062	6.53	-	2.073	0.2200
			:	x 0.08769	7.90x	0.8075	3.21	0.2815
3	-	-	- :	× 0.05806	11.94x	0.966	10.146	0.5890
4	-	-	- :	× 0.0648	10.68×	0.567	1.64	0.1064
6.	-	-	- :	× 0.0757	9.15x		-	-

[«] Parâmetros farmacocinéticos calculados a partir de datos en el estado estacionario.

excluída de esta tabla, ya que sus datos se ajustaron a modelo abierto de dos compartimientos (MADC), ver Apéndice
No. 3, en donde se pueden observar los datos individuales
de concentración plasmática vs tiempo después de la adminis
tración de una dosis oral de 500 mg de metronidazol.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos en ancianos se encuentran reportados de acuerdo al sexo en la tabla No. XXVIII y XXIX. Los valores reportados de $C_{\rm p}$ max y tmax se obtuvieron por observación directa de los datos, mientras que los demás parámetros son calculados de acuerdo a los lineamientos del Apéndice No. 1 $^{(90)}$.

para elegir el modelo farmacocinético al cual se ajus taran mejor los datos obtenidos, se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC), el cual se explica en el Apéndice No. 1⁽⁹¹⁾. El modelo seleccionado según este criterio, fue el modelo abierto de un compartimiento para todos los casos, excepto para la voluntaria No. 9, que presentó modelo abierto de dos compartimientos.

El ajuste del modelo para calcular parametros farmacocinéticos, se realizó utilizando el método de regresión lineal de mínimos cuadrados y los datos fueron ponderados por el inverso de la varianza (92).

TABLA No. XXVI. Datos de concentración plasmática vs tiempo después de la administración de una dosis oral de 500 mg de metronidazol a 5 ancianos del sexo masculino.

Tiempo (h)	Concentración plasmática x (mcg/ml)
0.25 0.50 0.75 1.0 1.5 2.0	$ \begin{array}{r} 1.394 & \pm & 0.895 \\ 2.74 & \pm & 2.248 \\ 2.872 & \pm & 1.639 \\ 3.708 & \pm & 2.315 \\ 6.324 & \pm & 4.222 \\ 7.014 & \pm & 2.436 \\ 7.418 & \pm & 2.579 \end{array} $
6.0 8.0 12.0	7.352 ± 2.232 6.392 ± 1.441 4.126 ± 1.322

x Promedio + Desviación estándar.

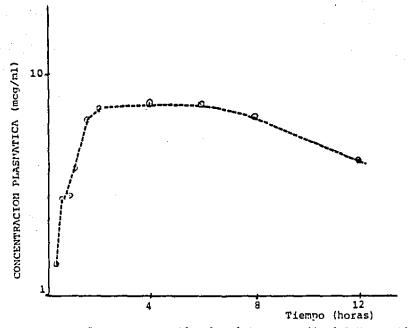


Figura 5. Concentración plasmática promedio del Metronidazol vs. tiempo, después de la administración de una dosis oral de 500mg de Metronidazol a cinco voluntarios del sexo masculino.

TABLA No. XXVII. Datos de concentración plasmática vs tiempo después de la administración de una dosis oral de 500 mg de metronidazol a 3 ancianos del sexo femenino.

Tiempo (h)	Concentración plasmática x (mcg/ml)					
0.25	2.283 <u>+</u> 2.001					
0.50	5.787 <u>+</u> 5.758					
0.75	8.83 <u>+</u> 6.366					
1.0	8.633 <u>+</u> 6.568					
1.5	9.44 <u>+</u> 2.45					
2.0	9.30 <u>+</u> 2.842					
3.0	8.647 <u>±</u> 3.719					
4.0	8.873 <u>+</u> 3.196					
6.0	8.183 <u>+</u> 2.55					
8.0	6.917 <u>+</u> 2.208					
12.0	4.657 <u>+</u> 0.682					
27.0	1.577 <u>+</u> 0.110					

x Promedio \pm Desviación estándar.

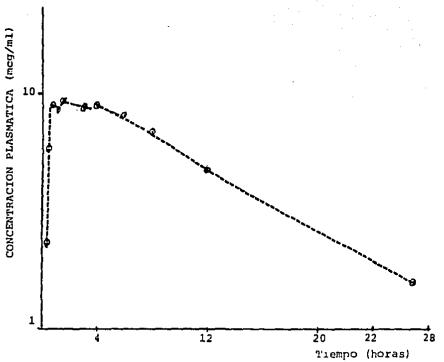


Figura 6. Concentración plasmática promedio del Metronidazol vs. tiempo, después de la administración de una dosis oral de 500mg de Metronidazol a 3 voluntarios del sexo femenino.

TABLA No. XXVIII. Parametros farmacocinéticos obtenidos en ancianos del sexo masculino, después de la administración de una dosis oral única de 500 mg de Metronidazol.

Oluntario	Cp max (mcg/m1)	t. max (h)	ABC t (mcg m1 ⁻¹ h)	ABC of (mcg ml -1h)	Ka (h ⁻¹)	t1/2 abs. (h)	K el (h ⁻¹)	£1/2 e1 (h)
1	10.81	3.0	72.03	99.59	0.8549	0.81	0.1299	5.33
2	7.27	6.0	58.96	76.63	0.4508	1.54	0.1591	4.36
3	9.18	2.0	65.75	103.96	1.1426	0.61	0.0827	8.38
4	9.74	4.0	81.35	162.90	0.2997	2.31	0.0695	9.97
5	13.35	1,5	69.71	144.17	0.6004	1.15	0.0885	7.83
x	10.07	3,3	69.56	117.45	0.7257	1.28	0.1059	7. 17
S.D.	2:24	1.79	8.25	35.17	0.4402	0.67	0.0373	2,29

TABLA No. XXIX. Parámetros farmacocinéticos obtenidos en ancianos del sexo femenino, después de la administración de una dosis oral única de 500 mg de Metronidazol.

Voluntario No.	Cp max (mcg/ml)	t. max	ABC.t (mog ml ⁻¹ h)	ABC to (mcg ml -1h)	Ka (h ⁻¹)	t1/2 abs.	K el (h ⁻¹)	t1/2 el (h)
6	9.75	4.0	113.24	130.56	0.8089	0.86	0.0859	8.07
7	16.10	1.0	157.26	175.27	3.4193	0.20	0.0872	7.95
8	9.98	2.0	121.41	142.56	1.1829	0.59	0.0695	9.98
	11.94	2,33	130.64	149.46	1,8038	0.55	0.0808	8.67
S.D.	3.60	1.53	23.42	23.14	1.4115	0.33	0.009	1.14

Cp max: Concentración plasmática máxima.

 t_{max} : Tiempo en el que se alcanza la Cp max.

ABCo: Area bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo, de tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo.

 ABC_0^{∞} : Area bajo la curva de concentración plasmática contra tra tiempo desde tiempo cero hasta infinito.

Ka: Contante de velocidad de absorción.

t1/2 abs: Tiempo de vida media de absorción.

Kel: Constante de velocidad de eliminación.

t1/2 el: Tiempo de vida media de eliminación.

V_d: Volumen de distribución.

K_dV_d: Depuración plasmática total.

Cp max EE: Concentración plasmátical máxima en el estado estacionario.

Cp min EE: Concentración plasmática minima en el estado estacionario.

Cp prom.: Concentración plasmática promedio en el estado estacionario.

V. DISCUSION.

1. Método Analítico.

El método de cromatografía de líquidos utilizado para la determinación de metronidazol en plasma fue el reportado por Landbeck (87), al cual se le hicieron algunas modificaciones. Este método presenta la ventaja de ser más sensible que el método de cromatografía de gase, de utilizar un volumen pequeño de plasma y efectuar un procedimiento de extracción mucho más sencillo y rápido, cualidades importantes que se requieren para desarrollar métodos analíticos en un laboratorio de Farmacocinética Clínica.

Entre las modificaciones realizadas al método se encuentran: la composición de la fase móvil, varió de una mezcla de 18% acetonítrilo-Buffer KH₂PO₄ a 12% de acetonítrilo, el pH del burfer de fosfatos y el estándar interno que se utilizó de 5.5 a 5.7 fue el ornidazol, en vez del tinidazol que era el reportado.

Landbeck Peporta la detección de metabolitos, en nues tro caso solo contábamos con el metabolito ácido, el cual al ser inyectado presentó un tiempo de retención de aproximadamente 2 minutos. En algunas muestras plasmáticas de los ancianos y de los niños en el estado estacionario, se presentaba una señal en los cromatogramas antes de que saliera la señal del metronidazol, la cual no se pudo identificar por no contar con los metabolitos correspondientes.

Sin embargo se puede decir que el método es suficientemente selectivo de acuerdo a Landbeck, para diferenciar entre el metronidazol y sus metabolitos. Por otro lado, al procesar las muestras plasmáticas de los niños bajo tratamiento con metronidazol, no se presentaba ninguna otra señal que pudiera interferir, a pesar de que la mayoría de los niños estaban recibiendo hasta seis medicamentos más además del metronidazol, lo cual indica que el procedimiento de extracción ayuda a ser más específico el método.

El método presentó una linealidad adecuada en un intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml y de 10.0 a 30.0 mcg/ml, lo cual fue corroborado al efectuar la prueba de χ^2 para la bondad del ajuste $^{(93)}$, que proporcionó un valor de χ^2 calculada de 0.0739, comparado con un valor de $\chi^2_{.95}$ de tablas de 9.488, para el intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml; mientras que para el intervalo de 10 a 30 mcg/ml, se obtiene un valor de χ^2 calculado de 0.1031, comparado con un valor de $\chi^2_{.95}$ (4 g.l.) en tablas de 9.488; lo cual implica que no hay diferentes significativas entre los valores observados y los ajustados por mínimos cuadrados.

Estudio en niños.

Durante el estudio farmacocinético realizado en niños, cabe mencionar que en ocasiones no fue posible colectar la muestra sanguínea a los tiempos indicados, lo cual ocasio-

nó que en algunos pacientes se pudiera obtener más información que en otros, como es el caso de los pacientes 1 y 2.

Todas las muestras fueron tomadas en el estado estacio nario, por lo cual en el caso de los que no se había muestreado durante la fase de eliminación, la constante fue calculada con datos en el estado estacionario, utilizando las ecuaciones 3 y 4 descritas en el Apéndice No. 1.

A partir de los datos de concentración plasmática máxima y mínima en el estado estacionario $(c_{max}^{EE} y c_{min}^{EE})$ (tabla No. XXIV), se puede observar que en la mayoría de los casos, las concentraciones alcanzadas están fuera del inter valo terapéutico establecido para metronidazol (6 y 20 mcq/ $m1^{(4)}$). En algunos casos, como en el paciente No. 3, la con centración plasmática máxima no alcanza el valor de la concentración mínima inhibitoria de 6 mcg/ml. En otros casos, como en los pacientes 2 y 4, la concentración plasmática se dispara a niveles más altos que la concentración plasmática máxima tolerada (20 mcg/ml), aunque después se empiezan a regularizar los niveles plasmáticos, estas variaciones se notan principalmente en los pacientes, los cuales además del metronidazol, están tomando otros medicamentos, por lo que una probable explicación a este fenómeno, serían posibles interacciones en los procesos de metabolismo o eliminación del metronidazol con algunos de los otros fármacos que están siendo administrados concomitantemente, aunque

hay pocos reportes de interacciones en la literatura.

3. Estudio en ancianos.

Por otra parte, en el estudio realizado en ancianos, la toma de muestras sanguíneas fue insuficiente, ya que el tiempo de muestreo en los voluntarios de sexo masculino fue de una y media veces el tiempo de vida media de eliminación y en cambio en los voluntarios de sexo femenino el tiempo fue de tres vidas medias, por lo que fue difícil elegir el modelo farmacocinético adecuado.

Para todos los voluntarios se eligió el modelo abierto de un compartimiento, excepto en el caso de la voluntaria No. 9, pero es necesario un tiempo de muestreo más adecuado o mejor aún una administración intravenosa que nos permita hacer una caracterización más adecuada del modelo far macocinético que el paciente puede presentar.

Las tablas Nos. XXVIII y XXIX, presentan los parámetros farmacocinéticos obtenidos, en los que se puede observar la gran variación interindividual, por ejemplo, en la constante de velocidad de absorción en los voluntarios masculinos se obtuvieron valores desde 0.299 h⁻¹ hasta 1.1426 h⁻¹ y en los voluntarios femeninos de 0.8089 h⁻¹ a 3.4193 h⁻¹, en cuanto al tiempo de vida media de eliminación, se presenta una variación de 4.36 a 9.97 horas en los voluntarios masculinos, mientras que las mujeres presentaron tiempos de vida media de eliminación de 7.95 a 9.98 horas.

Los datos del paciente No. 5, presentados en la figura 19 aparentemente muestran una circulación enterohepática, la cual es difícil de evaluar por falta de datos.

En general, al comparar los datos de vida media de eli minación de los voluntarios ancianos con los de las ancianas, parecería que hay una menor variación en la eliminación del metronidazol en las ancianas; para corroborar esta observación, se utilizó la prueba estadística de "t de Student" para comparar las vidas medias de eliminación, ya que $S_4/S_2 < 2.5^{(94)}$, y no se encontraron diferencias estadisticamente significativas, como puede observarse en la tabla No. XXX. Lo mismo ocurre con los parámetros de concentración plasmática máxima y Area bajo la curva, como pue de observarse en la misma tabla. Para los parámetros farmacocinéticos que describen la absorción, la variación interindividual es tan grande, que no se aplicó minguna prue ba estadística parámetrica, la constante de absorción se evaluó por el método de los residuos, que es el valor reportado en las tablas XXVIII y XXIX y por el método de Wagner-Nelson, aunque los resultados que se obtuvieron no fueron muy confiables debido a la falta de datos en la fase de absorción.

La fórmula para aplicar la prueba de t y para calcular los grados de libertad, se encuentran el Apéndice No.1⁽⁹⁴⁾.

TABLA No. XXX. Prueba de t para comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en los voluntarios ancianos (p<0.05).

Parámetro farmacocinético	Muestras a	tcalc.	^t 0.975	Diferencia
t _{1/2}	A - B	1,232	2.4469	N.S.
C max	A - B	0.8105	2.4469	N.S.
ABC	A - B	1.5511	2.4469	N.S.
	•			

A = Voluntarios ancianos de sexo femenino.

B = Voluntarios ancianos del sexo masculino.

 $t_{1/2}$ = Tiempo de vida media de eliminación.

 C_{D} max = Concentración plasmática máxima.

ABC = Area bajo la curva de cero a infinito.

N.S. = No significativa.

Debido a que la razón entre las desviaciones estándar de las muestras a comparar son menores a 2.5 (94), se utiliza también la prueba de t para comparar los datos de tiempo de vida media de eliminación entre ancianos y niños, con resultados obtenidos en la literatura en voluntarios sanos (33) y en voluntarios sanos en población mexicana (72). Los resultados se muestran en la tabla No. XXXI, de la cual se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas en la eliminación del metronidazol, entre estos grupos

de diferentes edades.

TABLA No. XXXI. Resultados de la prueba de t al comparar los tiempos de vida media de eliminación en diferentes poblaciones (p<0.05).

C - A B - D A - D		2.2010 2.2622	N.S.
B - D A - D	0.676	2 2622	
A - D		2.2022	N.S.
	0.3432	2.3060	N.S.
	2.1205	2.4469	N.S.
E - B	1.505	2.3060	N.S.
E - A	0.518	2.4469	N.S.
E - C	1.0976	2.2010	N.S.
E - D	2.2242	2.3060	พ.ร.

A = voluntarios ancianos del sexo femenino.

Cálculo de regimenes de dosificación en ancianos.

En base a los parámetros farmacocinéticos obtenidos

B = voluntarios ancianos del sexo masculino,

C = voluntarios sanos (datos reportados en la literatura).

D = voluntarios sanos de población mexicana.

E = niños bajo tratamiento con metronidazol en el estado estacionario.

se trataron de establecer regimenes de dosificación para cada uno de los ancianos, utilizando los métodos reportados por Schumacher y colaboradores (95,96), cuyas fórmulas se presentan en el Apéndice No. 1.

El método I o de super posición modificada produce estimados válidos cuando

la eliminación del fármaco ocurre por una cinética de primer orden. Este método permite la estimación de los valores de concentración plasmática máxima y mínima en el estado estacionario a partir de datos obtenidos de la administración de una dosis oral única.

El método II, que utiliza parámetros farmacocinéticos asume que el fármaco sigue modelo abierto de un compartimiento. Los parámetros necesarios para estimar los valores de concentración plasmática máxima y mínima en el estado estacionario se deben obtener de la porción terminal lineal de los datos de concentración plasmática vs tiempo obtenidos de una administración de una dosis única intra o extravascular. En el caso de una administración oral, se debe estimar el tiempo requerido para la absorción.

Los datos de C_{max}^{EE} y C_{min}^{EE} obtenidos por los métodos para los ancianos se presentan en la tabla No. XXXII.

Los regimenes de dosificación calculados para cada voluntarios empleando los diferentes métodos, se presentan en el Apéndice No. 4 y en forma resumida en la tabla No. XXXIII, en donde se puede observar que debido a la gran va-

TABLA No. XXXII. Valores individuales de concentración plasmática máxima y mínima en el estado estacionario, en los voluntarios ancianos calculados por los métodos de superposición modificada y el método que utili za parámetros farmacocinéticos.

Voluntario No.	c _{max}	(mcg/ml)	$\mathtt{c}_{\mathtt{min}}^{\mathtt{EE}}$		
	Método I	Método II	Método I	Método II	
1	18.29	10.409	7.564	8.032	
2	10.047	10.234	7.449	7.45	
3	14.602	25,498	10.816	10.155	
. 4	21.668	23.917	17.842	18.13	
5	27.93	23.75	15.23	15.28	
6	31.975	17.586	14.659	12.487	
7	29.13	26.535	15.848	15.754	
8	17.646	17.698	13,297	13.418	

Cmax = Concentración plasmática máxima en el estado estacionario.

Método I: Método de superposición modificada.

= Concentración plasmática mínima en el estado estacionario.

Método II: Método que utiliza parámetros farmacocinéticos.

DL = Dosis inicial.

Dm = Dosis de mantenimiento.

τ = Intervalo de dosificación.

(*) = Se tomó como base una $c_{\min}^{EE} = 6.0 \text{ mcg/ml}$.

Método I: Método de superposición modificada.

Método II: Método que emplea parámetros farmacocinéticos.

riación interindividual observada el régimen de dosificación debe ser individualizado.

En general, se observa que no existe un método para calcular el régimen de dosificación, que se pueda generalizar para todos los individuos, sino que se debe buscar el mejor para cada individuo de acuerdo a la conveniencia de poder ajustar las dosis y el intervalo de dosificación, de acuerdo a los datos que se obtengan, a la presentación de las formas farmacéuticas disponibles en el mercado, y tomar muy en cuenta los parámetros farmacocinéticos individuales, por lo que podríamos decir que el método II es más aplicable, ya que este sí toma en cuenta dichos parámetros.

Ajuste de regimenes de dosificación en niños.

Con los parámetros farmacocinéticos obtenidos en el estado estacionario de los niños bajo tratamiento con metronidazol, se calcularon las concentraciones plasmáticas máxima y mínima en el estado estacionario, que como se pue de observar en la tabla No. XXXIV, en la mayoría de los casos están fuera del intervalo terapéutico reportado.

De acuerdo a esto, se rediseñaron los regimenes de dosificación, los cuales se presentan en el Apéndice No. 5 y se resumen en la tabla No. XXXV. En los pacientes 1 y 6 se utilizó el méto do II, que utiliza parámetros farmacocinétidos (96) y en el caso de las administraciones por infusión intravenosa se rediseñaron los regimenes de dosificación utilizando las ecuaciones reportadas por Napal y colaboradores (89).

En el caso del paciente No. 1, en el cual por ser una administración oral se aplicó el método II, podemos observar que el método II-A y II-B nos proporcionan regimenes de dosificación que pueden ser aplicables clinicamente, mientras que el método II-C nos proporciona un régimen de dosificación poco aplicable, ya que las dosis que se deben administrar son muy pequeñas y a intervalos de dosificación muy cortos, lo cual podría ocasionar problemas con las presentaciones de las formas farmacéuticas disponibles y olvidos al ser tan frecuente la administración del medi-

TABLA No. XXXIV. Valores individuales de concentración plasmática máxima y minima en el estado estacionario, en los niños bajo tratamiento con metronidazol calculado por el método de parámetros farmacocinéticos o por el método de Napal.

Paciente No.	Méte	ođo II	Método de Napal		
	c _{max}	c _{min}	C _{max}	c _{min}	
1	15.948	11.38			
2	-	-	9.05	4.69	
3 .	-	-	9.15	5.92	
4 .		- .	29.56	18.17	
6	**	4.92	. .	-	

. Método II = Método que utiliza parámetros farmacocinéticos

 c_{\max}^{EE} = Concentración plasmática máxima en el estado estacionario.

 c_{\min}^{EE} = Concentración plasmática mínima en el estado estacionario.

TABLA No. XXXV. Ajuste de regimenes de dosificación en los niños bajo tratamiento con metronidazol.

Paciente No.	Método II-A			Método II-B		Método II-C		Método de Napal				
	DL (mg)	Dm (mg)	τ (h)	DL (mg)	Dm (mg)	τ (h)	DL (mg)	(mg)	(h)	DL (mg/Kg/d)	Dm (mg/Kg/đ)	(h
1	200	180	11	150	100	8	35	65	4		-	
2 .		-			-			-		66	35	14
3		-			-			-		20	13	8
4 .		-			_			-		33	18	18
6	500	200	8	500	250	8	600	300	8,6		-	

Método III = Método de superposición modificada.

Método II = Método que emplea parámetros farmacocinéticos

DL = Dosis inicial.

Dm = Dosis de mantenimiento.

τ = Intervalo de dosificación.

camento. En este caso, podríamos decir que el régimen de dosificación más adecuado sería el método II-B, administran do el medicamento cada ocho horas.

En el paciente No. 6, que también es una administración oral, se aplicó también el método II reportado en el Apendice No. 1. Podemos observar que los métodos II-A y II-B nos proporcionan los regimenes de dosificación más aplicables, el método II-C nos proporciona un método difícil de aplicar en la práctica clínica, ya que las dosis calculadas son difíciles de aproximar a una dosis disponible en una forma farmacéutica.

En el caso de los niños que están sometidos a un tratamiento por infusión intravenosa, podemos ver en el Apéndice No. 5, que todos los regimenes deben ser rediseñados
basados en los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de datos en el estado estacionario, administrando una
dosis inicial que eleve las concentraciones plasmáticas al
intervalo terapéutico requerido y continuar con una dosis
de mantenimiento cada intervalo de tiempo, pero no generalizar un régimen de dosificación para todos los niños basán
dose únicamente en el peso corporal como generalmente se
hace; y además en este caso debe tomarse muy en cuenta
que los niños estudiados en su gran mayoría presentaban una
desnutrición de 3er grado, por lo que su composición corporal está alterada y esto puede contribuír a un manejo farmacocinético diferente.

VI. CONCLUSIONES.

En lo que se refiere al método analítico empleado, con los resultados obtenidos se demuestra que el método es lineal en el intervalo de concentraciones de 0.625 a 10.0 mcg/ml y 10 a 30 mcg/ml, respectivamente; corroborado también por la prueba de χ^2 que demuestra que no hay diferencia significativa entre los valores observados y los valores ajustados por regresión lineal de mínimos cuadrados.

De la tabla No. XX, se puede concluir la precisión del método, cuya repetibilidad medida por el coeficiente de variación más alto, es del 10.0% en la concentración más baja (0.625 mcg/ml). Sin embargo, se prefirió realizar una curva estándar cada vez que se analizaran muestras problema, para evitar errores debido a la variación entre días que se pudiera presentar.

De acuerdo a los cromatogramas obtenidos (figura 4), se puede observar que el método es selectivo y por lo tanto existe la seguridad de estar cuantificando metronidazol inalterado.

El método es muy exacto, ya que se obtiene un 96.52% de rendimiento en la extracción de plasma.

En el estudio farmacocinético realizado en ancianos, se estableció por medio del criterio de información de Akaike (91), que el método farmacocinético seguido por el metronidazol es modelo abierto de un compartimiento, sin

embargo son necesarios más estudios utilizando una administración intravenosa para establecer un modelo definitivo.

Contrario a lo que se podría esperar, ya que los niños se encuentran en un grado severo de desnutrición y en condiciones patológicas graves, no existen diferencias significativas en la eliminación del metronidazol entre los niños, adultos sanos y ancianos; pero se nota una gran variación interindividual en el manejo farmacocinético del metronidazol, lo cual indica que los regimenes de dosificación deben individualizarse.

En base a los resultados obtenidos en la población de niños estudiada, en donde aparentemente algunas concentraciones se encuentran fuera del intervalo terapéutico, bajo el régimen de dosificación establecido, se recomienda continuar estudios orientados a correlacionar tales concentraciones plasmáticas con el efecto terapéutico, para de esta manera, obtener concentraciones terapéuticas características de la población mexicana que se estudie.

Se debe reconocer la limitación de parámetros farmacocinéticos poblacionales, derivados de estudios farmacocinéticos de dosis únicas en voluntarios sanos, para diseñar regimenes de dosificación aplicados a pacientes individuales con diferentes condiciones patológicas.

APENDICE No. 1

Fórmulas empleadas para los cálculos: Pruebas estadísticas.

1. Para corroborar la linealidad del método, se utilizó la prueba estadística de χ^2 la cual es calculada de la siguiente manera $^{(88)}$:

$$\chi^2 = E \frac{(0-E)^2}{F}$$
 -----(1)

Donde: 0 - valor observado.

t = valor teórico o esperado.

Para contrastar los parámetros farmacocinéticos se utilizó la prueba estadística de t, la cual se clacula mediante la siguiente fórmula (91):

$$t = \frac{\overline{x_1} - \overline{x_2}}{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$$
 (2)

Donde: $\bar{x} = media muestral$.

S = Desviación estándar

n = Número de datos.

g.1. =
$$n_1 + n_2 - 2$$
 ---- (3)

g.l. - grados de libertad.

Métodos para calcular parámetros farmacocinéticos. La concentración plasmática promedio se calcula conociendo el área bajo la curva de un intervalo de dosificación (8), por medio de la siguiente fórmula:

Donde: $ABC_0^{\tau} = Area bajo la curva en un intervalo de dosificación.$

τ = Intervalo de dosificación.

El área bajo la curva (ABC), se calcula por el método de los trapezoides. La constante de velocidad de absorción (K_a) por el método de los residuos. La cons-

tante de velocidad de eliminación (K_{el}) , por el método de mínimos cuadrados $^{(91)}$. La constante de velocidad de eliminación (K_{el}^{-N}) , obtenida a partir de datos de concentración plasmática en el estado estacionario, en el caso de la administración oral, se calculó por medio de la siguiente fórmula $^{(2)}$:

$$K_{el} = \frac{\ln (C_1/C_2)}{L}$$
 ---- (5)

Donde: C₁ = Concentración plasmática máxima en un intervalo de dosificación.

> C₂ = Concentración plasmática minima en un intervalo de dosificación.

t = Tiempo de dosificación.

Cuando los datos son obtenidos a partir de una administración por perfusión intravenosa, la constante de velocidad de eliminación se calcula por medio de la siguiente ecuación (89):

$$\kappa_{el} = \frac{\ln c_{max} - \ln c_{min}^2}{\tau - t_{p}}$$
 (6)

Donde: C_{max} = Concentración plasmática máxima. C_{min}^2 = Concentración plasmática mínima posterior a una dosis.

 τ = Intervalo de dosificación.

 t_p = Tiempo de perfusión en horas.

Los tiempos de vida media $(t_{1/2})$ se calculan dividiendo 0.693/K, donde K es la constante respectiva de ve-

locidad de absorción o de eliminación.

El volumen de distribución (V_d) , en el caso de los pacientes que tienen datos en la fase terminal y la administración del metronidazol fue por infusión intravenosa, el V_d se calculó extrapolando los datos de la fase terminal por medio de la siguiente fórmula:

$$v_{d} = \frac{D}{c_{p}^{\circ}} \qquad (7)$$

Donde: D= dosis administrada.

 C_{p}^{o} = Concentración plasmática extrapolada a tiem po cero.

En el caso de que sólo se tengan datos de concentración plasmática en el estado estacionario, el volumen de distribución se calculó de acuerdo a la fórmula reportada por Napal y colaboradores (89).

$$v_{d} = \frac{K_{o}}{K_{el}} = \frac{(1 - e^{-K_{el} \times t_{p}})}{(C_{max} - C_{min}^{1} \times e^{-K_{el} \times t_{p}})} ---- (8)$$

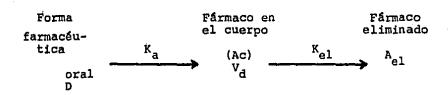
Donde: K_0 = Velocidad de perfusión en mcg/h = $\frac{Dosis}{t_p}$ C_{min}^1 = Concentración plasmática mínima anterior a la dosis.

4. Método para elegir el modelo farmacocinético.

El ajuste de los datos se hizo a modelo abierto de un compartimiento (MAUC), el cual se puede representar dia gramáticamente como se muestra en el esquema No. 4.

ESQUEMA No. 4

Representación del modelo abierto de un Compartimiento, administración oral



$$c_p = \frac{K_a FD}{V_d (K_a - K_d)}$$
 (e^{-K}el^t - e^{-K}a^t)

Ü

 K_a = constante de velocidad de absorción de primer orden. K_{el} = constante de velocidad de eliminación de primer orden. La selección del modelo farmacocinético se llevó a cabo aplicando el criterio de información de Akaike (AIC) (92), el cual utiliza las siguientes fórmulas:

$$R_e = \Sigma (C_p \text{ obs } - C_p \text{ calc.})^2$$
 ----- (9)

AIC = N ln
$$R_e$$
 - 2P ----- (10)

Donde: R = Residuales

C, obs = Concentración plasmática observada.

N = Número de datos.

P = Número de parámetros.

 Ecuaciones utilizadas para el cálculo de regimenes de dosificación en los niños tratados con metronidazol,

$$C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{K_{o} \times (1 - e^{-K_{el} \times t_{p}})}{K_{el} \times V_{d} \times (1 - e^{-K_{el} \times \tau})} --- (11)$$

$$C_{\min}^{EE} = C_{\max}^{EE} \times e^{-K} el^{-K} (\tau - t_p)$$
 ----- (12)

Donde: C_{max}^{EE} = Concentración plasmática máxima en el estado estacionario.

Los demás parámetros ya se definieron anteriormente.

Dosis inicial =
$$\frac{C_{\text{max}} \times V_{\text{d}} \times K_{\text{el}} \times t_{\text{p}}}{(1 - e^{-K} e^{1 \times t_{\text{p}}})}$$
 ---- (13)

Donde: C_{max} = Concentración máxima teórica.

Dosis de mantenimiento = Dosis inicial $x (1 - e^{-K}el^{-X-t})$ --- (14)

- Ecuaciones utilizadas para el cálculo de régiemens de dosificación en ancianos.
- I. <u>Método de superposició</u>n modificada (95):

$$\frac{C_{\min}^{EE}}{C_{\tau}} = \frac{C_{\tau}}{C_{\tau} - C_{2\tau}}$$

$$\frac{C_{\max}^{EE}}{C_{\max}} = \frac{C_{\min}^{EE}}{C_{\tau}} - \dots$$
(14)

Donde: C_{max}^{EE} y C_{min}^{EE} = Concentración plasmática máxima y mínima en el estado estacionario.

- C_T = La concentración de fármaco durante la administración de una dosis única, en el tiempo correspondiente al intervalo de dosificación comúnmente empleado.
- C_{2τ} = Concentración de fármaco que permanece después de la primera dosis a dos veces el intervalo de dosificación.
- C_{max} = Concentración plasmática máxima alcanzada por el fármaco durante la administración de una dosis única.

$$D_{1/D_{m}} = C_{min}^{EE} / C_{\tau} = C_{\tau} / (C_{\tau} - C_{2\tau})$$
 ----- (16)

Donde: $D_L = dosis$ inicial o de carga. $D_m = dosis$ de mantenimiento.

II. Método utilizando parámetros farmacocinéticos (96):
Este método supone que el fármaco sigue una cinética ajustada a modelo abierto de un compartimiento.

$$c_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{c_0 \, 10^{-0.3} \, t_{\text{a/t}_{1/2}}}{1 - 10^{-0.3} \, \tau/t_{1/2}} \quad ----- (17)$$

$$c_{\min}^{EE} = \frac{c_0 \cdot 10^{-0.3} \, \tau/t_{1/2}}{1 - 10^{-0.3} \, \tau/t_{1/2}} \qquad ----- (18)$$

Donde: C_O = Concentración plasmática a tiempo cero,
después de la primera dosis, extrapolado
de la proción terminal linear de la fase
de postabsorción de la gráfica de concentración plasmática vs tiempo.

 t_a = Tiempo requerido para la absorción de una dosis única. $t_a = 2 t_{max}$.

Método A: Dosis y
$$C_{\min}^{EE}$$
 fijas, τ y C_{\max}^{EE} variables
$$\tau = 3.32 t_{1/2} log (1 + C_{O/C_{\min}^{EE}}) ------ (19)$$

$$\frac{D_{L}}{Dm} = \frac{1}{1 - 10^{0.3\tau/t} 1/2} ----- (20)$$

$$\log (1 + c_0^2/c_{\min}^{EE} = \tau/3.32 t_{1/2}$$
 ----- (21)

$$\frac{C_0 2}{C_0} = \frac{D2}{D} \qquad (22)$$

Donde: D2 es la nueva dosis.

La dosis de carga se calcula empleando la ecuación(20).

Método C: τ Fijo = $t_{1/2}$, c_{min}^{EE} fijo, Dosis y c_{max}^{EE} variables.

$$\frac{C_{\min}}{C_{\Omega}} = \frac{D2}{D}$$
 (23)

 $D_{L} = 2 D_{2}$

Donde: D = dosis administrada para producir ese C_0 . C_{\min} = Concentración mínima terapéutica reportada.

APENDICE No. 2

TABLA No. XXXVI. Datos de concentración plasmática de Metronidazol en el estado estacionario del paciente No. 1.

Vía de administración: oral.

	mpo de estreo	T (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
4/VII/84	8.30	Previa	3.15
er	9.30	0.5	10.57
11 -	16.10	7.17	5.28
н	17.10	8.17	7.04
5/VII/84	8,25	23,42	4.42
N	9,25	24.42	7.03
Ħ	24.00	39.00	3.81
6/VII/84	1.15	40.15	4.34
н	8.25	47.32	6.67
н	9,35	48,49	7.03

TABLA No. XXXVII. Datos de concentración plasmática v.s.
tiempo de la fase termina, después de
dosis múltiples en el paciente No. 1.
Vía de administración: oral.

Tiempo (h)	Concentración plasmática (mcg/ml)
0.67	12.12
1.75	11.74
3.75	15.37
8.08	8.32
10.08	5.14
12.08	5.97
24.08	0.50

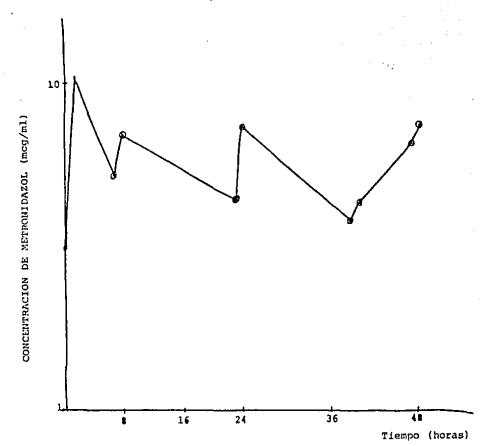


Figura 7. Paciente No. 1, concentraciones plasmáticas vs. tiempo obtenidos a partir de un régimen de dosificación para Metronidazol, administración oral en una dosis de 30mg/kg/día.

De la Tabla No. XXXVI.

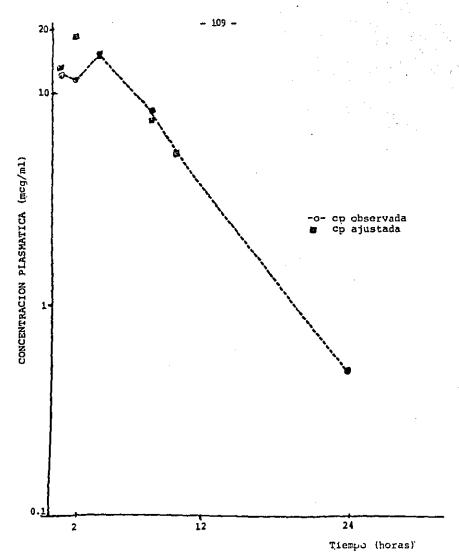


Figura 8. Paciente No. 1 concentración plasmática vs. tiempo obteni dos en la fase terminal de un régimen de dosificación - - para metronidazol, administración oral, dosis de 30mg/kg/día. De la Tabla No. XXXVII.

TABLA No. XXXVIII. Datos de concentración plasmática de Metronidazol en el estado estacionario del paciente No. 2.

Vía de administración: infusión intravenosa.

	npo de	(h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
18/VII/84	15.55	Previa	4.46
H	17.00	1.0	6.87
H	23.55	7.92	4.16
19/VII/84	1.15	8.88	8.03
n	8.40	16.3	5.92
H	10.20	17.97	29.72
n	17.10	24.80	26.11
20/VII/84	8.00	39.63	6.39
11	9.55	41.55	11.16
25/VII/84	8,20	135.97	5.88
**	11.05	138.72	9.57

TABLA No. XXXIX. Datos de concentración plasmática v.s. tiempo de la fase terminal, después de dosis múltiples en el paciente No. 2. Vía de administración: infusión intravenosa.

Tiempo (h)	Concentración plasmática (mcg/ml)
0.5	5.36
1.0	6.61
2.0	8.88
4.0	4.63
6.0	3.94
8.0	2.83
10.0	3.26
12.0	2.61
24.0	0.46

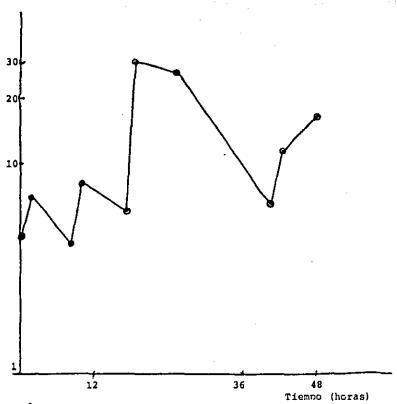


Figura 9.

Paciente No. 2 concentración plasmática vs. tiempo obtenidos a partir de un régimen de dosificación para Metronidazol administrado por infusión intravenosa en dosis de 10mg/kg/día.

De la Tabla No. XXXVIII.

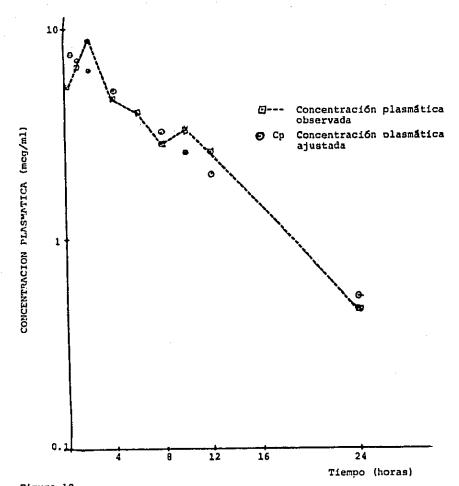


Figura 10,
Paciente No. 2 concentraciones plasmáticas vs. tiempo obtenidos en la fase terminal de un régimen de dosificación para Metronidazol ad ministrado por infusión intravenosa en una dosis de 10mg/kg/día.
De la Tabla No. XXXIX.

-सिक्षिक्षीक्षा है के सिक्ष के अब अब सिक्ष के सम्मिति हैं। सिक्ष कि सिक्ष के स्वाप के स्वाप के स्वाप के स्वाप क

TABLA No. XL. Datos de concentración plasmática de metronidazol en el estado estacionario, del paciente No. 3.

Vía de administración: infusión intravenosa.

	npo de streo	T (h)	Concentración plasmática (mcg/ml)
18/VII/84	15.50	Previa	0.91
· u	17.05	1.08	1.95
11	23.50	7.83	1.50
n	24.00	8.00	5.00
19/VII/84	15.40	23.67	2.07
n	17.05	25.09	5.49
20/VII/84	8,05	40.09	1.40
23/VII/84	9.00	113.01	3.41
25/VII/84	8.30	160.51	1.13
н	10.10	162.18	3.73
27/VII/84	7.55	207.93	1.87

TABLA No. XLI. Datos de concentración plasmática de metronidazol en el estado estacionario, del paciente No. 4. Vía de administración: infusión intravenosa.

	mpo de streo	T (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
9/VIII/84	15.50	Previa	11.58
11	17.05	1.08	18.66
19	23,55	7.91	14.07
10/VIII/84	1,05	9.08	26.04
H	8.30	16.50	16.09
te .	9.50	17.83	21.74
13/VIII/84	8.20	88.33	9.23
11	10.00	90.00	14.18
14/VIII/84	8.30	112.50	7.03
17/VIII/84	8.40	184.67	4.46
0	10.15	186.25	14.33

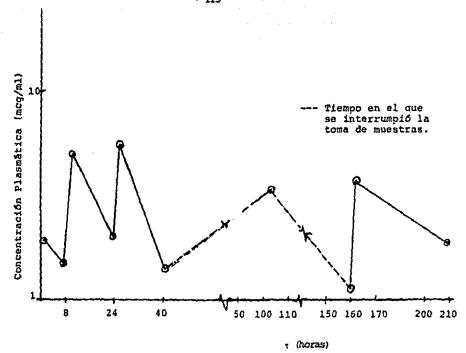


Figura No. 11. Paciente No. 3. Concentraciones plasmáticas vs tiempo, obtenidas a partir de un régimen de dosificación para metronidazol administrado por infusión intravenosa en una dosis de 10 mg/Kg/día. De la Tabla No. XL.

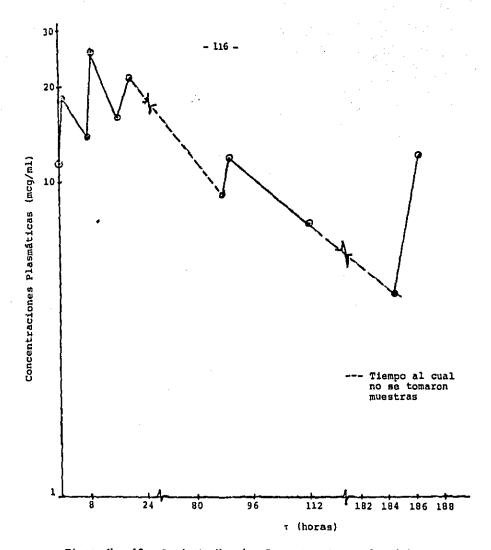


Figura No. 12. Paciente No. 4. Concentraciones plasmáticas vs tiempo obtenidas a partir de un régimen de dosificación, administrado por infusión intravenosa en una dosis de 10 mg/Kg/día. De la Tabla No. XLI.

The properties of the first file of the control of

TABLA No. XLII, Datos de concentración plasmática de metro nidazol en el estado estacionario del paciente No. 5

Vía de administración: infusión intravenosa.

	empo estreo	T (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
19/X/84	15.50	Previa	4.80
. 11	17.05	1.08	7.79
22/x/84	8.15	64.25	5.39
H	10.30	66.50	9.06
26/x/84	9.30	161.4	2.64
, m	12.40	164.67	5.39
31/x/84	8.40	280.67	0.26

TABLA No. XLIII. Datos de concentración plasmática de metronidazol en el estado estacionario, del paciente No. 6.

Vía de administración: oral.

	iempo uestreo	T (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
1/X/84	9,10	Previa	1.85
TÎ	10.20	0.83	3.39
#	15.55	6.41	3.06
Ħ	17.00	7.49	6.46
5/X/84	8.35	95.07	2.83
M	9.45	96.24	4.40

APENDICE No. 3

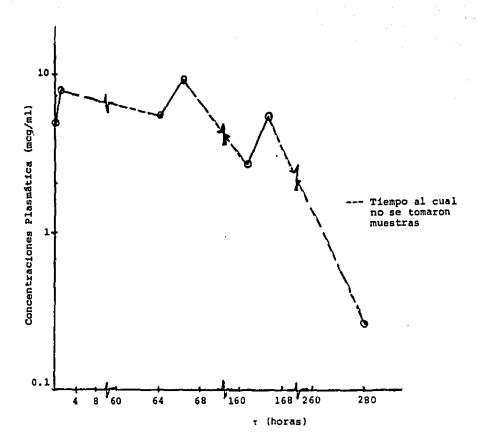


Figura No. 13. Paciente No. 5. Concentraciones plasmáticas vs tiempo obtenidas a partir de un régimen de dosificación para metronidazol administrado por infusión intravenosa, en dosis de 10 mg/Kg/día. De la Tabla No. XLII.

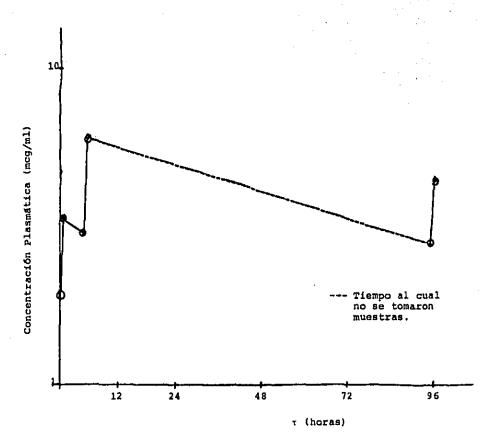


Figura No. 14. Paciente No. 6. Concentraciones plasmáticas vs tiempo, obtenidas a partir de un régimen de dosificación para metronidazol, administrado por vía oral en una dosis de 40 mg/Kg/día. De la Tabla No. XLIII.

TABLA No. XLIV. Datos de concentración plasmática vs. tiem po del voluntario No. 1, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	1.19	3.0	10.81
0.50	3.39	4.0	10.40
0.75	4,28	6.0	5.10
1.0	4.52	B.0	4.47
1.5	5.41	12.0	3.58
2.0	9.16		

TABLA No. XLV. Datos de concentración plasmática vs. tiem po del voluntario No. 2, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	1,40	4.0	7.01
0.50	1.71	6.0	7.27
0.75	1.68	8.0	5.39
1.0	1.11	12.0	2.81
1.5	3.82		
2.0	4.15		

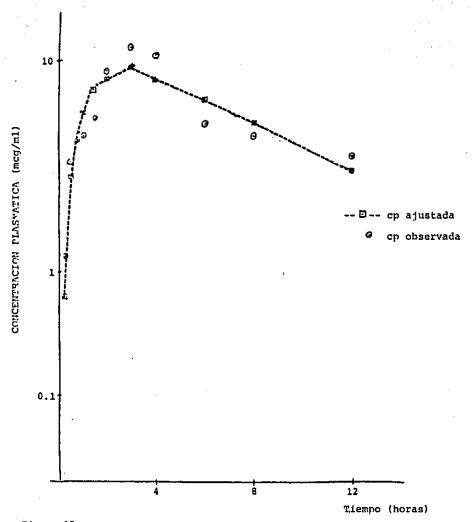
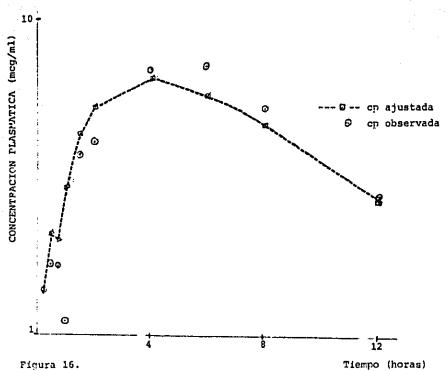


Figura 15.

Voluntario No. 1 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. XLIV.



Voluntario No. 2 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. XLV.

TABLA No. XLVI. Datos de concentración plasmática vs. tiem po del voluntario No. 3, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	0.88	2.0	9.18
0.50	1.33	4.0	5.27
0.75	2.64	6.0	5.23
1.0	5.49	8.0	6.80
1.5	6.56	12.0	3.16

TABLA No. XLVII. Datos de concentración plasmática vs. tiem po del voluntario No. 4, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	0.60	2,0	4.68
0.50	0.90	4.0	9.74
0.75	0.97	6.0	9.12
1.0	1.38	8.0	8.02
1.5	2.48	12.0	5.67

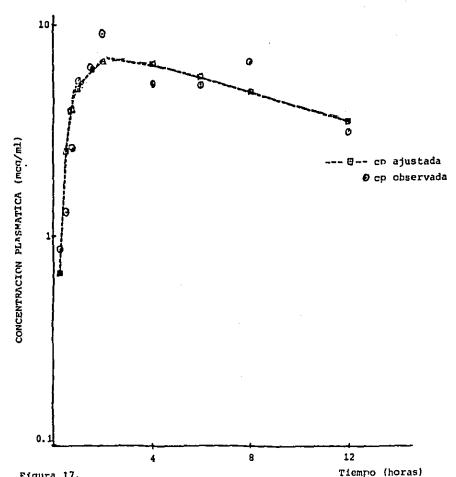


Figura 17. Tiempo (horas)

Voluntario No. 3 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. XLVI.

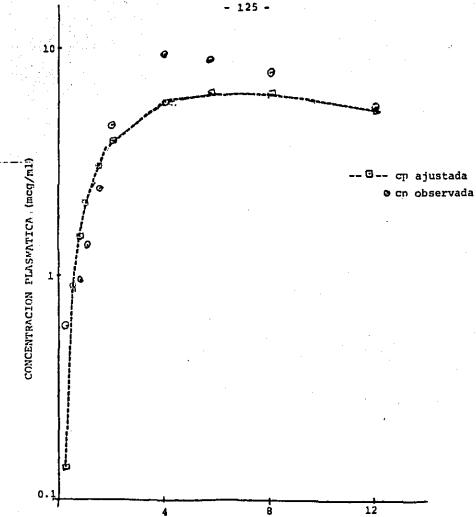


Figura 18. Voluntario No. 4 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. XLVII.

TABLA No. XLVIII. Datos de concentración plasmática vs.
tiempo del voluntario No. 5, después de
la administración de una dosis oral de
500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	2.90	4.0	4.67
0.50	6.40	6.0	10.04
0.75	4.79	8.0	7.28
1.0	6.04	12.0	5.41
1.5	13.35		
2.0	7.90		

TABLA No. XLIX. Datos de concentración plasmática vs. tiempo del voluntario No. 6, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	1.36	3.0	4.78
0.50	1.30	4.0	9.75
0.75	2.40	6.0	9.15
1.0	3,75	8.0	5.57
1.5	7.22	12.0	4.01
2.0	6.18	24.0	1.69

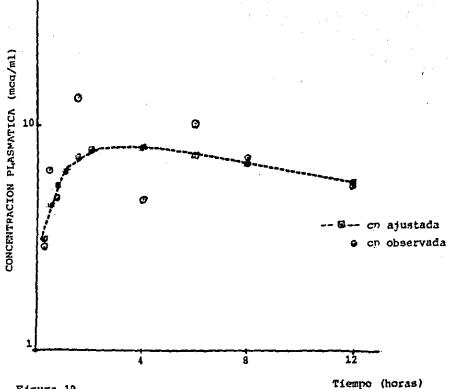
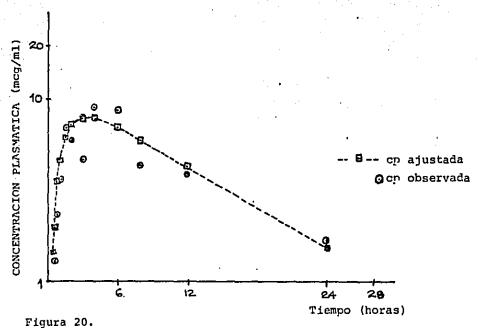


Figura 19

Voluntario No. 5 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administación oral de 500mg de Metronidazol.

De la Tabla No. XLVIII.



Voluntario No. 6 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. XLIX.

TABLA No. L. Datos de concentración plasmática vs. tiempo del voluntario No. 7, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	4,58	3.0	12.20
0.50	12,28	4.0	11.54
0.75	15.13	6.0	10.11
1.0	16.10	8.0	8.76
1.5	12.07	12.0	5.37
2.0	11.74	26.18	1.57

TABLA No. LT. Datos de concentración plasmática vs. tiempo del voluntario No. 8, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	0,91	3.0	8.96
0.50	3.78	4.0	5.33
0.75	9.96	6.0	5.29
1.0	6.05	8.0	7.52
1.5	9.03	12.0	4.59
2.0	9.98	27.0	1.47

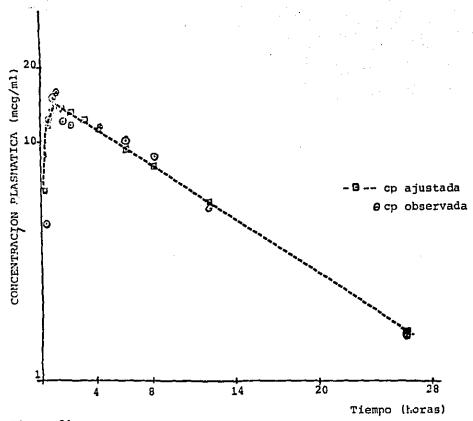
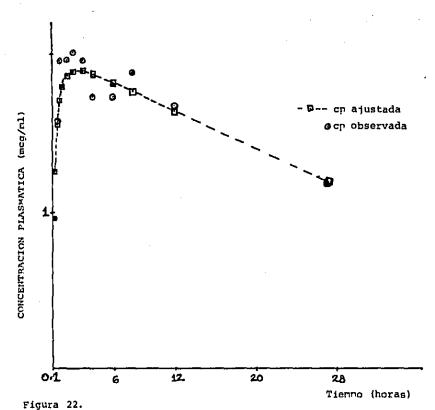


Figura 21 Voluntaria No.7 concentración plasmática vs. tiempo, después de una administración oral de 500mg de Metronidazol. De la Tabla No. L.



Voluntario No. B concentración plasmática vs. tiempo después de una administración oral de 500mg. de Metronidazol. pe la Tabla No. LI.

TABLA No. LII. Datos de concentración plasmática vs. tiempo del voluntario No. 9, después de la administración de una dosis oral de 500 mg de Metronidazol.

Tiempo (h)	Concentración Plasmática {mcg/ml}	Tiempo (h)	Concentración Plasmática (mcg/ml)
0.25	0.72	3.0	6.45
0.50	1.39	4.0	4.14
0.75	4.51	6.0	4.20
1.0	4.88	8.0	3.53
1.5	5.94	12.0	3.41
2.0	7.97	27.0	2.85

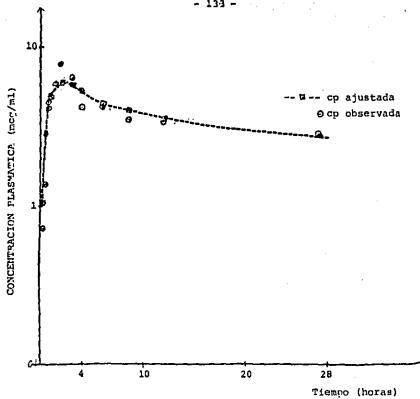


Figura 23.

Voluntario No. 9 concentración plasmática vs. tiempo después de una administración oral de 500ma. de Metronidazol.

De la Tabla No. LII.

APENDICE No. 4

Cálculo de regimenes de dosificación en ancianos.

Método I: de superposición modificada.

En este método no es necesario conocer los parámetros farmacocinéticos, como se describe en el Apéndice No. 1. Se supone que el fármaco sigue modelo abierto de un compartimiento.

Voluntario No. 1:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{\text{max}} = 10.81 \text{ mcg/ml.}$$

$$C_{-} = 4.47 \text{ mcg/ml}.$$

$$C_{2\tau} = 1.828 \text{ mcg/ml}$$

$$c_{\min}^{EE} = \frac{(4.47)}{4.47 - 1.828}$$
 4.47 = 7.564 mcg/ml.

$$c_{\min}^{EE} = \frac{(7.564)}{4.47}$$
 10.81 = 18.29

$$\frac{D_{L}}{D_{m}} = \frac{C_{min}^{EE}}{C} = \frac{C_{\tau}}{C_{\tau} - C_{2\tau}}$$

$$\frac{D_1}{500} = \frac{7.564}{4.47} = \frac{4.47}{4.47 - 1.828}$$

$$\frac{D_1}{500} = 1.69217$$

$$D_1 = 845.95 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establecería sería: Una dosis de carga o inicial de 750 mg (aproximando a la cantidad que se podría administrar, de acuerdo a las forma farmacéuticas disponibles en el mercado), seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 2:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol:

$$C_{max} = 7.27 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{\tau} = 5.39 \text{ mcg/ml}$
 $C_{2\tau} = 1.49 \text{ mcg/ml}$
 $\frac{C_{EE}}{5.39} = \frac{5.39}{5.39 - 1.49} = 7.449 \text{ mcg/ml}$
 $\frac{C_{EE}}{600} = \frac{7.449}{5.39} = 10.047 \text{ mcg/ml}$
 $\frac{D_1}{500} = \frac{7.449}{5.39}$
 $\frac{D_1}{5.39} = 691 \text{ mg}$

El régimen de dosificación que se establecería en este caso sería también:

Una dosis de carga o inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 3:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{max} = 9.18 \text{ mcg/ml}$$

TO PERCURPATION OF THE PROPERTY OF A PROPERTY OF A PROPERTY OF THE PROPERTY OF

$$C_{\tau} = 6.80 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{2\tau} = 2.525 \text{ mcg/ml}$
 $C_{min} = \frac{(6.80)}{6.80 - 2.525}$
 $C_{max}^{EE} = \frac{10.816}{6.80} = 14.6021 \text{ mcg/ml}$
 $C_{max}^{EE} = \frac{10.816}{6.80} = 795.29$

El régimen de dosificación establecido será de 750 mg como dosis inicial o de carga, seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 4:

 $D_{m} = 224.75 \text{ mg}$

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{\text{max}} = 9.74 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\tau} = 8.02 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{2\tau} = 4.415 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\text{min}}^{\text{EE}} = \frac{(8.02)}{8.02 - 4.41} \quad 8.02 = 17.841 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(17.842)}{8.02} \quad 9.74 = 21.668 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{500}{D_{\text{m}}} = \frac{8.02}{8.02 - 4.415}$$

En este caso con la dosis de 500 mg se están obtenien do concentraciones mínimas y máximas en el estado estacio-

nario muy altas, por 1º que se establece 500 mg como dosis inicial o de carga, seguida por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 0 horas.

Voluntario No. 5:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{\text{max}} = 13.35 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\tau} = 7.28 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{2\tau} = 3.80 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\frac{\text{EE}}{\text{min}}} = \frac{(7.28 \text{ })}{7.28 - 3.80} \quad 7.28 = 15.23 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(15.23)}{7.28} \quad 13.35 = 27.93 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{500}{D_{\text{m}}} = \frac{7.28}{7.28 - 3.80}$$

$$D_{m} = 239 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establecería sería una dosis de carga o inicial de 500 mg, seguida por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas, ya que con la dosis de 500 mg se producen concentraciones plasmáticas máxima y mínima en el estado estacionario demasiado altas.

Voluntario No. 6:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{max} = 9.75 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\tau} = 4.47 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{2\tau} = 3.107 \text{ mcg/ml}$
 $C_{min} = \frac{(4.47)}{4.47 - 3.107}$
 $C_{max}^{EE} = \frac{(14.659)}{4.47} 9.75 = 31.975 \text{ mcg/ml}$
 $C_{max}^{EE} = \frac{(14.659)}{4.47} = 152.46 \text{ mg}$

El régimen de dosificación que se establecería en este caso sería: una dosis de carga de 500 mg, aunque sería conveniente disminuirla, para que no se alcancen concentraciones tan altas, seguido por una dosis de mantenimiento de 150 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 7:

 $D_{m} = 276.37 \stackrel{=}{=} 250 \text{ mg}$

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{\text{max}} = 16.10 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\tau} = 8.76 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{2\tau} = 3.918 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\text{min}}^{\text{EE}} = \frac{(8.76}{8.76 - 3.918} 876 = 15.848 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(15.848)}{8.76} 16.10 = 29.13 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{500}{D_{\text{m}}} = \frac{15.848}{8.76} = 276.37 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que establece en este caso sería una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 8:

Resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{\text{max}} = 9.98 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{\tau} = 7.52 \text{ mcg/ml}$
 $C_{2\tau} = 3.267 \text{ mcg/ml}$
 $C_{\text{min}} = \frac{(7.52)}{7.52 - 3.267}$
 $C_{\text{min}}^{\text{EE}} = \frac{(13.297)}{7.52}$
 $C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(13.297)}{7.52}$
 $C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{13.297}{7.52}$

$$D_{\rm m} = 282.77 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido en este caso sería: Una dosis de carga de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas.

En la voluntaria No. 9, no se pudo aplicar este método, ya que el fármaco sigue modelo abierto de dos compartimientos.

Método II: Cálculo de régimenes de dosificación empleando parámetros farmacocinéticos.

Este método está limitado a que el fármaco siga una cinética que se ajuste a modelo abierto de un compartimiento (96).

Voluntario No. 1:

Dados obrenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$c_{o} = 14.6204 \text{ mcg/ml}$$
 $c_{max} = 3.0 \text{ horas}$
 $c_{max}^{EE} = \frac{c_{o}10^{-0.3t} \text{a/t}_{1/2}}{1-10^{-0.3\tau/t}1/2}$
 $c_{max} = 2 c_{max} = 6.0 \text{ horas}$
 $c_{max} = 2 c_{max} = \frac{c_{o}10^{-0.3\tau/t}1/2}{1-10^{-0.3\tau/t}1/2}$
 $c_{min} = \frac{c_{o}10^{-0.3\tau/t}1/2}{1-10^{-0.3\tau/t}1/2}$

$$c_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(14.6204) \ 10^{-0.3} \ (6/5.33)}{1 - 10^{-0.3} \ (8/5.33)} = 10.409 \ \text{mcg/ml}$$

$$c_{\min}^{\text{EE}} = \frac{(14.6204) \ 10^{-0.3} \ (8/5.33)}{1 - 10^{-0.3} \ (8/5.33)} = 8.032 \ \text{mcg/ml}$$

Método A: τ y C_{max}^{EE} variable, dosis fija = 500 mg y C_{min}^{EE} fija.

$$\tau = 3.32 t_{1/2} log (1 + C_{O/C_{min}}^{EE})$$

 $\tau = 3.32 \times 5.33 log (1 + 14.6204/6)$
 $\tau = 9.49 = 9.5 horas$

$$\frac{D_{L}}{D_{m}} = \frac{1}{1 - 10^{0 - .3\tau/t} 1/2}$$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (9.5/5.33)}$$

 $D_{T_{c}} = 706.62 \text{ mg}$

En este caso el régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 9.5 horas.

Método B: $\tau = 8 \text{ h}$, C_{\min}^{EE} fijos, dosis y C_{\max}^{EE} variables

$$log (1 + c_o^2/c_{min}^{EE}) = \tau/3.32 t_{1/2}$$

$$log (1 + C_0^2/6) = 8/3.32 \times 5.33$$

$$c_0^2 = 10.99 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{C_0^2}{C_0} = \frac{D_2}{D} = \frac{10.99}{14.6204} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 375.91$$

$$\frac{D_{L}}{375.91} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/5.33)}$$

$$p_1 = 582.43 = 500 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 500 mg, seguida por una dosis de mantenimiento de 375 mg cada 8 horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 5.33 \text{ h, } c_{\min}^{EE} \text{ fija.}$$

$$\frac{c_{\min}}{c_2} = \frac{b_2}{D} = \frac{6.0}{14,620} = \frac{b_2}{500}$$

$$D_2 = 205.19 = 250 \text{ mg}$$

$$D_1 = 2 D_m = 410.38 = 500 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación aproximado que se establecería sería una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada seis horas.

Voluntario No. 2:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_0 = 19.0234 \text{ meg/ml}$$

 $t_a = 6.0 \text{ horas}$

 $t_{1/2} = 4.36 \text{ horas}$

$$C_{\text{max}}^{\text{EE}} = \frac{(19.0234) \ 10^{-0.3} \ (6/4.36)}{1 - 10^{-.3} \ (8/4.36)} = 10.234 \ \text{mcg/ml}$$

$$c_{\min}^{\text{EE}} = \frac{(19.0234) \ 10^{-0.3} \ (8/4.36)}{1 - 10^{-0.3} \ (8/4.36)} = 7.45 \ \text{mcg/ml}$$

Método A: Dosis (500 mg) y c_{min}^{EE} fija, τ y c_{max}^{EE} variable.

$$\tau = 3.32 \times 4.36 \log (1 + 19.0234/6)$$

 $\tau = 8.98 = 9 \text{ horas}$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8.98/4.26)}$$

$$D_1 = 658.81 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 750 mg, seguida por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 9 horas.

$$log (1 + C_0^2) = \frac{8}{3.32 \times 4.36}$$

$$c_0^2 = 15.42 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{C_o^2}{C_o} = \frac{D_2}{D} = \frac{15.42}{19.0234} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 405.29 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$$

$$\frac{D_{L}}{405.29} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/4.36)}$$

$$D_1 = 564.11 = 500 \text{ mg}$$

Método C: (8 h), Cmin fijos, D y Cmax variables.

$$\frac{c_{\min}^{EE}}{c_o} = \frac{b_2}{D}$$

$$\frac{6.0}{19.0234} = \frac{D_2}{500}$$
 $D_2 = 157.70 \text{ mg}$

$$D_1 = 2. D_2 = 315.40 \text{ mg}$$

En este caso, se tiene que aproximar la dosis inicial de 250 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 125 mg cada 4 horas.

Voluntario No. 3:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{O} = 9.4822 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{max}^{EE} = 25.4978 \text{ mcg/ml}$

$$t_{max} = 2.0 \text{ horas}$$

$$t_a = 4.0 \text{ horas}$$

$$t_{1/2} = 8.38 \text{ horas}$$

$$C_{min}^{EE} = 10.1552 \text{ mcg/ml}$$

Método A: Dosis (500 mg), C_{min}^{EE} fijas, τ y C_{max}^{EE} variables.

$$\tau = 3.32 \times 8.38 \log (1 + \frac{9.4822}{6.0})$$

 $\tau = 11.45 - 11.5 \text{ horas}$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1 - 10^{-0.3} \frac{(11.45)}{8.38}}{1 - 10^{-0.3} \frac{(11.45)}{8.38}}$$

$$D_1 = 818.5 \text{ mg} = 750 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería: una do sis inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimien to de 500 mg cada 11.5 horas.

Método B:
$$\tau$$
 y C_{\min}^{EE} fijos, Dosis y C_{\max}^{EE} variables.
log $(1 + C_0^2) = \frac{8}{(3.32)}$ (8.38)

$$c_0^2 = 5.6319 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{D_{L}}{296.97} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/8.38)}$$

$$D_{\tau_{i}} = 615.02 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establece es una do sis inicial de 500 mg y una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 8.4 \text{ h, } c_{\min}^{EE}$$
 fijo.

$$\frac{6.0}{9.4822} = \frac{D_2}{500}$$
 $D_L = 2D_2 = 632.76 \text{ mg}$
 $D_L = 2D_2 = 632.76 \text{ mg}$

El régimen de dosificación establecido es una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas.

Voluntario No. 4:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$c_0 = 13.4283 \text{ mcg/ml}$$
 $c_{max}^{EE} = 23.917 \text{ mcg/ml}$ $t_a = 4.0 \text{ horas}$ $c_{max}^{EE} = 18.129 \text{ mcg/ml}$

Método A:
$$\tau = 3.32 \times 9.97 \log (1 + \frac{13.4283}{6.0})$$

$$\tau = 16.89 = 17 \text{ horas}$$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-03} \frac{(16.89)}{9.97}}$$

$$D_1 = 724.95 \text{ mg} \approx 750 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 17 horas.

Método B:
$$\tau$$
 y c_{min}^{EE} fijos, D y c_{max}^{EE} variable.
$$\log (1 + c_0^2) = \frac{8}{(3.32) (9.97)}$$

$$c_0^2 = 4.467 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{D_2}{500} = \frac{4.467}{13.42832}$$

$$D_2 = 166.34 \text{ mg}$$

$$\frac{D_{L}}{166.34} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/9.97)}$$

$$D_{T_1} = 390.91 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 375 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 125 mg cada ocho horas.

Métoco C:
$$\tau = t_{1/2} = 9.97 \text{ h, } c_{\min}^{EE} \text{ fijos.}$$

$$\frac{6}{13.4283} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 223.41 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

$$D_{L} = 2D_{2} = 446.82 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación sería: una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 10 horas.

Voluntario No. 5:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{o} = 15.66498 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{max}^{EE} = 23.75 \text{ mcg/ml}$ $t_{a} = 1.5 \text{ h}$ $t_{a} = 3.0 \text{ h}$

$$c_{\text{max}} = 13.35 \text{ mcg/ml}$$
 $c_{\text{min}}^{\text{EE}} = 15.28 \text{ mcg/ml}$ $t_{1/2} = 7.83 \text{ h}$

Método A: D y C_{\min}^{EE} fijas, τ y C_{\max}^{EE} variables.

$$t = (3.32) (7.83) \log (1 + 15.66498)$$

$$\tau = 14.45 = 14.5 \text{ horas}$$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (14.5/7.83)}$$

$$D_{r.} = 692.88 \text{ mg} = 750 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido sería una dosis inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 500 mg cada 14.5 horas.

Método B: τ y C_{min} fijos, D y C_{max} variables.

$$\log (1 + \frac{c_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32) (7.83)}$$

$$c_o^2 = 6.1869 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{D_2}{500} = \frac{6.1869}{15.66498}$$

$$D_2 = 197.48 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

$$\frac{D_{L}}{197.48} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/7.63)}$$

$$D_{L} = 390 \text{ mg} = 375 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido es de 375 mg co mo dosis inicial, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada ocho horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 7.83 \text{ h, } c_{min}^{EE} \text{ fija.}$$

$$\frac{6}{15.66498} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 191.51 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

 $D_T = 2 D_2 = 383 \text{ mg} = 375 \text{ mg}$

El régimen de dosificación establecido, sería una dosis inicial de 375 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada ocho horas.

Voluntario No. 6:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_o = 12.2794 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{max}^{EE} = 17.586 \text{ mcg/ml}$
 $t_a = 4 \text{ h}$
 $t_{1/2} = 8.07 \text{ h}$ $C_{min}^{EE} = 12.487 \text{ mcg/ml}$

Método A: Dosis y C_{\min}^{EE} fijas, τ y C_{\max}^{EE} variables.

$$\tau = (3.32) (8.07) \log (1 + \frac{12.2794}{6})$$

 $\tau = 12.96 = 13 \text{ horas}$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (12.96/8.07)}$$

$$D_{L} = 746 \text{ mg} = 750 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 750 mg, seguida por una dosis de mantenimien to de 500 mg cada 13 horas.

Método B:
$$\tau$$
 y C_{min}^{EE} fijos, D y C_{max}^{EE} .

$$\log (1 + \frac{C_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32) (8.07)}$$

$$C_0^2 = 5.9328 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{D_2}{500} = \frac{5.9328}{12.2794}$$

$$D_2 = 241.57 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

$$\frac{D_L}{241.57} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/8.07)}$$

 $D_{T_c} = 487.23 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimien to de 250 mg cada ocho horas.

$$\frac{\text{Método C:}}{6} = t_{1/2} = 8.07 \text{ h, } c_{\min}^{\text{EE}} \text{ fijos.}$$

$$\frac{6}{12.2794} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 244.31 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

$$D_{T} = 2 D_2 = 488.62 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación establecido será igual al anterior en el método B.

Voluntario No. 7:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de 500 mg de metronidazol.

$$C_{o} = 15.81668 \text{ mcg/ml}$$
 $C_{max}^{EE} = 26.535 \text{ mcg/ml}$ $t_{a} = 2.0 \text{ h}$ $C_{min}^{EE} = 7.95 \text{ h}$ $C_{min}^{EE} = 15.754 \text{ mcg/ml}$

$$\tau = (3.32) (7.95) \log (1 + 15.81668)$$

$$\tau = 14.19 = 15 \text{ horas}$$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (14 79/7.95)}$$

$$D_{\tau} = 691 \text{ mg} = 750 \text{ mg}$$

$$\log (1 + \frac{c_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32) (7.95)}$$

$$c_0^2 = 6.057 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{D_2}{500} = \frac{6.057}{15.81668}$$

$$D_2 = 191.485 = 250 \text{ mg}$$

$$\frac{D_{L}}{191.485} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/7.95)}$$

$$D_{T_i} = 382.2 \text{ mg} = 375 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 375 mg, seguido por una dosis de mantenimien to de 250 mg cada 8 horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 7.95 \text{ h, c}_{min}^{EE}$$
 fijos.

$$\frac{6.0}{15.81668} = 500$$

$$D_2 = 189.67 \text{ mg} = 250 \text{ mg}$$

$$D_{L} = 2 D_{2} 379.35 mg = 375 mg$$

El régimen de dosificación sería igual al establecido en el método B.

Voluntario No. 8:

Datos obtenidos a partir de la administración de una dosis oral única de metronidazol.

$$c_o = 9.92565 \text{ mcg/ml}$$
 $c_{max}^{EE} = 17.698 \text{ mcg/ml}$ $t_a = 4.0 \text{ h}$ $c_{min}^{EE} = 13.418 \text{ mcg/ml}$

Método A: Dosis y CEE fijas.

$$\tau = (3.32) (9.98) \log (1 + \frac{9.92565}{6})$$
 $\tau = 14.09 \text{ h} = 14 \text{ horas}$
 D_{L}

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (14.09/9.98)}$$

 $D_{L} = 802.72 \text{ mg} = 750 \text{ mg}$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 750 mg, seguido por una dosis de mantenimien to de 500 mg cada 14 horas.

Método B:
$$\tau$$
 y C_{\min}^{EE} fijos.

$$\log (1 + \frac{C_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32)(9.98)}$$

$$C_0^2 = 4.462 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{4.462}{9.926} = \frac{D_2}{500}$$

$$\frac{D_L}{224.75} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3}(8/9.98)}$$

$$D_{T} = 528.58 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 500 mg, seguida por una dosis de mantenimien to de 250 mg cada 8 horas.

Método C: $\tau = t_{1/2} = 9.98 \text{ h, } c_{\min}^{EE}$ fijos.

$$\frac{6.0}{9.92565} = \frac{D_2}{500}$$

$$D_2 = 302.24 \text{ mg}$$

$$D_L = 2 D_2 = 604.49 mg$$

El régimen de dosificación que se establece es una dosis inicial de 625 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 10 horas.

APENDICE No. 5

Ajuste de regimenes de dosificación en los niños bajo tratamiento con metronidazol.

Paciente No. 1:

Datos obtenidos a partir de la fase de eliminación de un régimen de dosificación oral con dosis de 30 mg/Kg/d.

$$t_a = 6 h$$
 $t_{1/2} = 4.096 h$
 $C_{max}^{EE} = 15.948 mcg/ml$
 $C_{o} = 32.4881 mcg/ml$
 $C_{min}^{EE} = 11.38 mcg/ml$

$$\tau = (3.32) (4.096) \log (1 + \frac{32.4881}{6})$$

$$\tau = 10.98 h = 11 horas$$

$$\frac{D_{L}}{500} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (1098/4.096)}$$

$$\dot{D}_{T} = 213.51 \text{ mg} \approx 200 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación empleado sería una dosis inicial de 200 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 180 mg/d cada 11 horas.

Método B:
$$\tau$$
 y C_{\min}^{EE} fijos.

$$\log (1 + \frac{C_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32)(4.096)}$$

$$C_0^2 = 17.2515 \qquad \frac{17.2515}{32.4881} = \frac{D_2}{180}$$

$$\frac{D_L}{95.58} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/4.096)}$$

$$D_2 = 95.58 * 100 mg$$

$$D_{L} = 129.07 \text{ mg} = 150 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación sería una dosis inicial de 150 mg seguido por una dosis de mantenimiento de 200 mg cada 8 horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 4.096 \text{ h, } c_{\min}^{\text{EE}} \text{ fija.}$$

$$\frac{6.0}{32.4881} = \frac{D_2}{180}$$

$$D_2 = 33.24 \approx 35 \text{ mg}$$

$$D_{T_{c}} = 2 D_{2} = 66.48 \text{ mg} \approx 65 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación empleado sería una dosis inicial de 64 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 35 mg cada 4 horas.

Paciente No. 2:

Resultados obtenidos a partir de datos en la fase estacionaria, infusión intravenosa en dosis de 10 mg/Kg/día.

$$K_{el} = 0.08769 h^{-1}$$

$$t_{1/2} = 7.9 h$$

$$v_d = 3.214 1$$

$$C_{max}^{EE} = 9.05 \text{ mcg/ml}$$

$$C_{\min}^{EE} = 4.69 \text{ mcg/ml}$$

Estos valores fueron calculados de acuerdo a las ecua ciones presentadas en el Apéndice No. 1. Así como las dosis inicial y de mantenimiento.

Dosis inicial = 65.69 mg =
$$D_L$$

 $D_m = D_L$ (1 - $e^{-0.08769} \times 8$)
 $D_m = 35.12$ mg
 $T = \frac{1}{0.08769} - 1n = \frac{20}{6} + 0.5$
 $T = 14.23$ h = 14 horas

El régimen de dosificación sería 66 mg como dosis inicial, seguido por una dosis de mantenimiento de 35 mg cada 14 horas.

Paciente No. 3:

Resultados a partir de datos en la fase estacionaria, infusión intravenosa, en dosis de 10 mg/Kg/día.

$$K_{el} = 0.05806 \text{ h}^{-1}$$
 Dosis inicial = 19.60 mg/Kg/d $V_{d} = 10.146 \text{ l}$ Dosis de man- = 12.18 mg/Kg/d tenimiento $C_{max}^{EE} = 9.15 \text{ mcg/ml}$ $C_{min}^{EE} = 5.92 \text{ mcg/ml}$ $C_{min}^{EE} = 11.94 \text{ h}$

El régimen de dosificación recomendable sería una dosis inicial de 20 mg/Kg/d, seguido por una dosis de mantenimiento de 13 mg/Kg/d cada 8 horas.

Paciente No. 4:

Resultados obtenidos a partir de datos en la fase estacionaria, infusión intravenosa en dosis de 10 mg/Kg/d. $K_{al} = 0.06588 \ h^{-1}$ Dosis inicial = 33.42 mg/Kg/d

$$t_{1/2} = 10.68 \text{ h}$$
 $V_{d} = 1.644 \text{ l}$
 $C_{max}^{EE} = 29.56 \text{ mcg/ml}$

 $c_{min}^{EE} = 18.17 \text{ mcg/ml}$

El régimen de dosificación recomendable sería una dosis inicial de 33 mg/Kg/d, seguida por una dosis de mantenimiento de 18 mg/Kg/d a intervalos de dosificación de 8 horas.

tenimiento

Dosis de man = 18.53 mg/Kg/d

Paciente No. 6:

Resultados a partir de datos en el estado estacionario, administración oral en dosis de 40 mg/Kg/d.

$$K_{el} = 0.08075 h^{-1}$$
 $t_{1/2} = 8.58 h$
 $C_{o} = 3.9056 mcg/ml$
 $c_{min}^{EE} = 4.3190 mcg/ml$

En este caso, como en el paciente No. 1, por ser una administración oral se aplicó el método II reportado en el Apéndice No. 1.

Método A: Dosis y
$$C_{min}^{EE}$$
 fijas.
 $\tau = (3.32) (8.58) \log (1 + \frac{3.905}{7})$
 $\tau = 6.20 \text{ horas}$
 $\frac{D_L}{200} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (6.20/9.98)}$
 $D_{T_c} = 573.18 \text{ mg}$

El régimen de dosificación empleado sería una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 200 mg cada ocho horas.

Método B:
$$\tau y c_{min}^{EE}$$
 fijos.
 $log (1 + \frac{D_0^2}{6}) = \frac{8}{(3.32) (8.58)}$

$$c_0^2 = 5.4549 \text{ mcg/ml}$$

$$\frac{5.4549}{3.9056} = \frac{D_2}{200} \qquad \frac{D_L}{279.34} = \frac{1}{1 - 10^{-0.3} (8/8.58)}$$

$$D_2 = 279.34 \text{ mg} \qquad D_L = 531.93 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación empleado sería una dosis inicial de 500 mg, seguido por una dosis de mantenimiento de 250 mg cada 8 horas.

Método C:
$$\tau = t_{1/2} = 8.6 \text{ h, } C_{min}^{EE} \text{ fijos.}$$

$$\frac{6.0}{3.9056} = \frac{D_2}{200}$$

$$D_2 = 307.2 \text{ mg}$$

$$D_L = 2 D_2 = 614.50 \text{ mg}$$

El régimen de dosificación empleado en este caso es igual al que se recomienda en el método B.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Cozar, C. and L, Julou: Ann. Inst. Pasteur 96: 238-241 (1959).
- Cosar, C.; L, Julou and Gauter, P.: Presse Med. 69: 1969-1072 (1961).
- Chow, A.W.; Bendnory, D. and Guze, L.B.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Quebec, Canada; pp. 282-292 (1976).
- Georges, E.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Editor Sidney M. Finegold. Montreal, Quebec, Canada, pp. 3-11 (1976).
- 5. Kane, P.O.; Mc Fadzean, J.A.; et al.: Br. J. Bener. Dis. 37: 273-275 (1961).
- Higuera, B.F.; Higuera, R.F.; Hidalgo, L.H.; Hill, J.J.: Invest. Med. Int. 12: 17-21 (1985).
- 7. Ouslander, J.G.: Annals of Internal Medicine 95: 711-722 (1981).
- 8. Rowland, N. and Tozer, T.N.: Clinical Pharmacokinetics. Editorial Lea & Febiger, Philadelphia (1980).
- Jager-Roman, E.; Doyle, P.E.; et al: J. of Pediatrics
 100:
- 10. United States Pharmacopeia XX, Metronidazole, 530 (1980).
- 11. Britisth Pharmacopeia, Metronidazole (1973).

- 12. The Merck Index, 9th Ed. Merck and Col., Inc. EUA (1976).
- 13. Siboule, A.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Quebec, Canada. pp. 83-86 (1976).
- 14. Wilcon, R.: Br. J. Vener Dis. 36: 145 (1960).
- 15.. Nicol, C.S.; Barrow, J.: Br. J. yener: Dis. 6: 152
 (1960).
- 16. Pardo, G.A.: Arch. Inv. Med. Supll. 1: 335-336 (1971).
- 17. Adams, B.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Quebec, Canada. pp. 87-93 (1976).
- 18. Wright, J.G.; Tomkins, A.M.; Bryceson, A.D.M.: Metronidazole Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Canada. pp. 98-104 (1976).
- Landa, L.; Perches, A.: <u>Arch. Inv. Med. Supl 1. 421-426 (1971)</u>.
- Taylor, J.A.; Migliardi, J.H.: Antimicrob. Ag. Chem. 2: 267-270 (1970).
- 21. Griffin, F.M.: New England J. Med. 288: 1397 (1973).
- 22. The Pharmaceutical Codex, Eleventh Edition, The Pharmaceutical Press, London. 567-568 (1979).
 - Cosar, C. and Julou, L.: <u>Ann. Inst. Pasteur</u>. 96: 238– 241 (1959).

- 24. Tanowitz, H.B.; Wittner, M.: <u>Trans. Roy. Soc. Trop.</u>
 Med. Hyg. 67: 602-606 (1973).
- 25. Mandoul, R.; Dargelos, R.: Bull. Soc. Path. Exotique 54: 12-16, (1961).
- 26. Fuizi, M.; Czukás, Z.: <u>Kiserl Orvostud</u> 24: 233-236 (1972).
- 27. Fuizi, M.; Csukás, Z.: Zentr. Bakt, Parasitenk. I.
 Orig. 213: 258-262 (1970).
- 28. Tally, F.P.; Sutter, V.L.: Calif. Med. 117: 22-26 (1972).
- 29. Coombs, G.H.: J. Protozool. 20: 524-525 (1973).
- 30. Ings. R.M.J.; Mc Fadzean, J.A.: <u>Biochem. Pharmacol.</u> 23: 1421-1429 (1974).
- 31. Doelle, H.N.: Bacterial metabolism. 2nd Edit. Academic Press, New York (1975).
- 32. Mortenson, L.E.; Nakos, G.: Iron sulfur proteins, vol. 1 pp. 37-60, Editor W. Lovenberg. Academic Press, New York (1973).
- 33. Ralph, E.: Clinical Pharmacokinetics 8: 43-62 (1983).
- 34. Robinson, S.C. et al: An. J. Obstetr, Gynecol. 25: 273 (1965).
- 35. Morgan, I: <u>Int. J. Gynecol. Obstet</u>. 15: 501 (1978).

- 36. Koch, R.L.; Beaulieau Jr, B.B.; et al: Science 211: 398-400 (1981).
- 37. Roe, F.J.C.: J. of Antimicrobial Chemotherapy 3: 205-212 (1977).
- 38. Semer, J.M.; Friedland, P.; Baisberg, M. and Greenberg, M.: American J. of Psychiatry 123: 722-724 (1966).
- 39. Erickson, S.H.; Oppenheim, G.L. and Smith, G.H.:
 Obstetrics and Gynecology 57: 48-50 (1981).
- 40. Welling, P.G. and Monro, A.M.: Arzneimittel-Forschung 22: 2128-2132 (1972).
- 41. Bergan, T. and Arnold, E.: Chemotherapy 26: 231-241 (1980).
- 42. McGilveray, I.J.; Midha, K.K.; et al: J. of Clinical Pharmacology 16: 110-115 (1978).
- 43. Schwartz, D.E. and Jeunet, F.: Chemotherapy 22: 19-29 (1976).
- 44. Houghton, G.W.; Thorne, P.S.; Smith, J.; et al: Br. J. of Clin. Pharmacology 8: 337-341 (1979).
- 45. Wood, B.A. and Monro, A.M.: Br. J. of Vener. Dis. 48: 51-53 (1975).
- 46. Ralph, E.D.; Clarke, J.T.; Libke, R.D.; et al: Antimicrob. Agents and Chemotherapy 6: 691-696 (1974).
- 47. De Silva, J.A.F.; Munno, N.; Strojny, N.: J. of Pharma-ceutical Sci. 59: 201-210 (1970).

- 48. Templeton, R.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Quebec, Canada. pp. 28-49 (1976).
- 49. Rood, J.P. and Collier, J.: Proceedings of the Second International Symposium on Anaerobic Infections, Geneva. April 1979, The Royal Society of Medicine, pp. 45-57 (1979).
- 50. Elder, M.G. and Kane, J.L.: Proceedings of the Second International Symposium on Anaerobic Infections, Geneva. April 1979, The Royal Society of Medicine, pp. 45-47.

 (Academic Press, London/Grune and Straton, New York (1979).
- 51. Lykkegard-Nielsen, N. and Justesen, I.: Scandinavian J. of Gastroenterology 12: 1002-1008 (1977).
- 52. Lauger, J.; Mignon, H.; and Videau, D.: Revue de

 Stomatologie Et Chirurgie Maxillofacialle 74: 387-392
 (1973).
- 53. Gray, M.S.; Kane, P.O. and Squires, S.; <u>Br. J. of Vener</u>. Dis. 37: 278-279 (1961).
- 54. Jokipii, L.; Karma, P. and Jokipii, A.M.M.: Arch. of Otho-Rhinolaryngology 220: 167-174 (1978).
- 55. Douglas-Smith, B.J. and Wellingham, J.: <u>Br. Med. Journal</u>
 1: 1074-1076 (1976).
- 56. O'Grady, L.R. and Ralph, E.D.: Am. J. of Diseases in children 130: 871-873 (1976).

- 57. Jokipii, A.M.M.; Millyla, V.V.; et al: <u>J. of Antim.</u> Chem. 3: 239-245 (1977).
- 58. Inghan, H.R.; Selkan, J.B. and Roxby, C.M.: <u>J. of</u>
 Antim. Chem. 4 (Suppl. C) 63-69 (1978).
- 59. Bryan, C.S.; Huffman, L.J.; Del Bene, V.E.; et al: Southern Med. Journal 72: 494-497 (1979).
- 60. Berman, B.W.; King Jr, F.H.; et al: <u>J. of Pediatrics</u> 93: 793-795 (1978).
- 61. Feldman, W.E.: Am. J. of Dis. of children 130: 880-883 (1976).
- 62. Warner, J.F.; Perkins, R.L. and Cordero, L.: Arch. of Int. Med. 139: 167-169 (1979).
- 63. George, R.H. and Bint, A.J.: J. of Antim. Chem. 2: 101-102 (1977).
- 64. Amon, K.; Amon, I. and Muller, H.: Advances in antimicrobial and antineoplastic chemotherapy. Proc. VIIth International Congr. Chemother., 113-115. Editors Mc NeYzlar., M. Semonsky and S. Masak, University Park Press, Baltimore, London (1972).
- 65. La Russo, Nicholas, F.; Lindmerk, D.G.; Mekl6s, M.: Biochemical Pharmacology 27: 2247-2254 (1978).
- 66. Ings, R.M.J.; Mc Fadzean, J.A. and Ornerod, W.E.: Xenobiotica 5: 223-235 (1975).
- 67. Stambaugh, J.E.; Feo, L.G. and Manthei, R.W.: <u>J. of</u>

 <u>Pharmacol. and Exp. Therap.</u> 161, No. 2: 373-381 (1963).

- 68. André, J.L.; Pieri, F. and Abed, L.: Méd. Trop. 28: 483-487 (1969).
- Miklós, M.D.; Lindmarck, D.G.; Mc Lauglin, J.: Metronidazole: Proceedings of the International Metronidazole Conference, Montreal, Quebec, Canada, pp. 12-19 (1976).
- 70. Inghan, H.R.; Rich, G.E.; Selkon, J.B.; et al: J. of Antimicrob. Chemotherapy 1: 235-242 (1975).
- 71. Rabin, H.R.; Urtasun, R.C.; Partington, J.; et al:

 Current Treatment Reports 64: 1087-1095 (1980).
- 72. Rodríguez, J.M.: Tesis de Maestría (Biofarmacia), División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM (1984).
- 73. Khan, O.; Nixon, H.H.: Zeitschrift für kindechirurgie 25: 196-205 (1978).
- 74. Holten, E. and Smith-Erichsen, N.: Chemotherapy 27: 414-415 (1981),
- 75. Bergan, T.; Bjerke, P.E.M. and Fausa, O.: Chemotherapy 27: 233-238 (1981).
- 76. Daneshmen, T.K.; Homeida, M.; Kaye, C.M.; et al: <u>Gut</u> 23: 803-807 (1982).
- 77. Ralph, E.D. and Kirby, W.M.N.: J. of Infectious
 Diseases 132: 587-591 (1975).
- 78. Kane, P.O.: J. Polarographic Soc. 7: 58-62 (1961).

- 79. Levison, M.E.: Antimicrob. Agents and Chemotherapy 5: 466-468 (1974).
- 80. Ings, R.M.J.; Law, G.L. and Parnell, E.W.: Biochem. Pharmacol, 15: 515-519 (1966).
- Lau, E.P.K.; Yao, C.; Lewis, M. and Sentowski, B.L.:
 J. Pharm. Sci. 58: 55-57 (1969).
- Midha, K.K.; McGilveray, I.J. and Cooper, J.K.: Ann. Chromatogr. 87: 491-497 (1973).
- 83. Gulaid, A.; Houghton, G.W.; Lewellen, O.R.W.; et al: Br. J. of Clinical Pharmacology 6: 430-432 (1978).
- 84. Nilson-Ehle, I.; Ursing B., and Nilson-Ehle, P.:
 Antimicrob. Agents and Chemotherapy 19: 754-760 (1981).
- Wheeler, L.A.; De Meo, M. Halula, M.; et al: <u>Antimicrob</u>.
 Agents and Chemotherapy 19: 754-760 (1981).
- 86. Marques, R.A.; Sttaford, B.; Flynn, N.; Sadée, W.: J. of Chromatography 146: 163-166 (1978).
- 87. Landbeck, K. and Lindstrom, B.: J. of Chromatography 162: 117-121 (1979).
- 88. Rodríguez, J.M. Determinación de metronidazol en fluídos biológicos por cromatografía gas-líquido. Tesis profesional, Facultad de Química, UNAM, julio (1979).
- 89. Napal, V.; Asiron, M.; Alfaro, J.; et al: Revista de la Asociación Española de Farmacéuticos de Hospitales, VI, 2 103-116 (1982).

- 90. Gibaldi, M. and Perrier, D.: Pharmacokinetics and the Pharmaceutical Sciences, Marcel Dekker Inc., USA pp. 33-43 (1975).
- 91. Yamaoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T.: J. of Pharmacok. and Biopharmaceutics, Vol. 6, No. 2: 165-175 (1978).
- 92. Boxermbaum, H.G.; Riegelman, S.; Elashoff, R.M.: J. of Pharmacok. and Biopharmaceutics, Vol. 2, No. 1: 123-148 (1974).
- 93. Daniel, W. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud, Editorial Limusa, México (1982).
- 94. Bennett, R.W.; Popovich, N.G.: Am. J. Hosp. Pharm. 34: 712-723 (1977).
- 95. Schumacher, G.E.; Griener, J.C.: Sourcebook on clinical Pharmacy, 2nd Edition, vol. 35, 225-230 (1978).
- 96. Schumacher, G.E.: Sourcebook on Clinical Pharmacy, 2nd Edit. Vol. 29, 235-245 (1972).