

00559



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

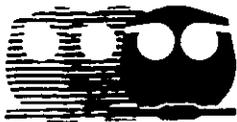
FACULTAD DE QUÍMICA

BIOEQUIVALENCIA DE PRODUCTOS COMERCIALES CONTENIENDO
CEFTRIAXONA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS (BIOFARMACIA)

P R E S E N T A :
Q.F.B. MIRELLE VANESSA GONZALEZ COVARRUBIAS



MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. Lilian Yepéz.
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Vocal: M en C. Marcela Hurtado
UAM-Xochimilco

Secretario: M en C. Inés Fuentes
Facultad de Química

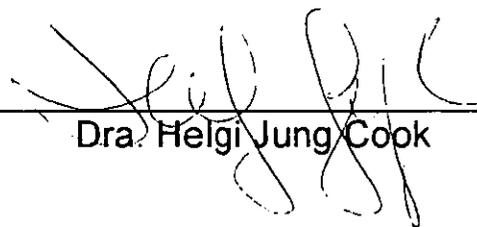
Primer Suplente: M en C. Luis García
Facultad de Química

Segundo Suplente: M en C. Lourdes Mayet
Facultad de Química

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

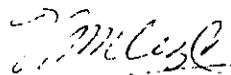
Facultad de Química UNAM, Edificio E Laboratorio de Biofarmacia
Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, Departamento:
Epidemiología Hospitalaria.

Asesor del Tema:



Dra. Helgi Jung Cook

Sustentante:



Q.F.B. M. Vanessa González Covarrubias

Agradecimientos:

© *Agradezco de una forma muy especial a la Dra Helgi Jung Cook por haber depositado su confianza en mi y darme la oportunidad de trabajar con ella, así mismo por todas sus enseñanzas, su tiempo, dedicación y por compartir su vasta experiencia y encausarme en el fascinante mundo de la biofarmacia, que ahora es el motivo de mi vida profesional, Mil gracias.*

© *Agradezco a la Dirección General de Estudios de Posgrado por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.*

© *Agradezco a los integrantes del jurado: Dra. Lilian Yepéz, M en C. Marcela Hurtado, M en C. Inés Fuentes, M en C. Luis García, M en C. Lourdes Mayet por su tiempo, sus valiosas sugerencias y recomendaciones para la culminación de esta investigación.*

© *Agradezco a M en C. Manuel Morales H por su ayuda desinteresada y cooperación en la parte experimental de este trabajo.*

© *Agradezco al personal del INNSZ y de ICT Mexicana: Dr. Ponce de León, Dra. Elizabeth García, Enf. Martha y Lety, Dr. Diaz y Dra. Nuño, por todo su apoyo durante la parte clínica del estudio.*

© *Agradezco a mis voluntarios: Raymundo, Héctor, Rafael, Alfonso, Roman, Alberto, Guillermo, Martín, Roberto, Miguel, Esteban, Gerardo y Armando por su cooperación y su amistad.*

Dedicatorias:

↻ A mí: Porque la decisión de haber estudiado una maestría aumentaron mis expectativas como profesionalista, por que el esfuerzo y la dedicación involucrados durante este trabajo me han demostrado que puedo llegar hasta el límite de mi imaginación.

↻ A mis padres Jaime y Lilia por su amor, apoyo e impulso para seguir estudiando y por darme un gran hogar. Los quiero mucho.

↻ A mis hermanos: Aletia, Jaime, Tania y Rodrigo porque conforman una gran parte de mi vida y por brindarme un ambiente familiar tan unido.

↻ A mis abuelos: Evangelina, Luis, Ausencio y Natividad por su ejemplo de lucha y entusiasmo por la vida.

↻ A mis amigos: Patty H., Hugo H., Ma Elena B., Kenneth R., Pilar L., Patty P., Beatriz D., Paula de G., Sonia T., Tere R., Laura A.G., Valeria C., porque con el paso del tiempo nuestra amistad nos ha permitido compartir nuestros éxitos y fracasos.

↻ A todos aquellos para quienes este logro es importante.

¡Gracias por todo!

RESUMEN

El presente trabajo es un estudio de bioequivalencia de ceftriaxona, una cefalosporina de tercera generación, en el cual se compara la cantidad y velocidad de fármaco absorbido en voluntarios, entre el producto innovador y el producto de prueba.

El diseño experimental utilizado fue un diseño de dos por dos, con dos secuencias y dos periodos. La técnica analítica empleado fue por cromatografía de líquidos de alta resolución. El método analítico se validó en plasma determinando: precisión, exactitud, linealidad, límite de cuantificación, límite de detección y tolerancia.

Se eligieron 14 voluntarios que recibieron una dosis única de 1 g de ceftriaxona. Se tomaron muestras sanguíneas hasta las 36 h.

Se determinaron los parámetros farmacocinéticos (ABC) 0-t, ABC 0-inf, Cp máxima, T máxima, Tiempo de vida media, Beta, Ke, Ka, alfa, Cl, y Vd., además de los parámetros calculados por momentos estadísticos: TMR, AUMC 0-t y AUMC 0-inf. Los resultados encontrados develaron que los parámetros farmacocinéticos en población mexicana son muy similares a los valores encontrados en otras poblaciones.

Los datos se ajustaron a un modelo abierto de dos compartimentos (MADC) lo cual coincide con lo reportado en otras publicaciones, obteniendo así las ecuaciones correspondientes para la predicción de concentraciones plasmáticas de fármaco.

La evaluación estadística de los parámetros farmacocinéticos determinantes de bioequivalencia, es decir ABC 0-t, ABC 0-inf y Cp max revelaron que el producto de prueba es bioequivalente al producto innovador.

INDICE

CAPÍTULO	PAG.
1. INTRODUCCCIÓN.....	1
2. OBJETIVO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	2
4. GENERALIDADES	
4.1 ESTRUCTURA Y MONOGRAFÍA.....	3
4.2 FARMACOLOGÍA.....	5
4.3 FARMACOCINÉTICA.....	21
4.4 EFECTOS ADVERSOS.....	31
4.5 ASPECTOS TEÓRICOS DE BIOEQUIVALENCIA.....	36
5. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	46
6. PARTE EXPERIMENTAL	
6.1 EQUIPOS Y ESTÁNDARES.....	48
6.2 SOLUCIONES EMPLEADAS.....	49
6.3 MÉTODO ANALÍTICO	
6.3.1 PROCESO DE EXTRACCIÓN	52
6.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	54
6.5 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.....	57
6.5.13 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	63
7. RESULTADOS	
7.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS.....	65
7.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	67
7.4 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.....	77
7.5 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.....	78
7.6 MODELAJE COMPARTIMENTAL.....	82
7.7 ANÁLISIS DE BIOEQUIVALENCIA.....	87
7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	93

7.9 DECISIÓN DE BIOEQUIVALENCIA.....	94
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS	
8.1 MÉTODO ANALÍTICO.....	95
8.1.2 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO.....	96
8.2 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.....	98
8.3 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	99
8.4 DECISIÓN DE BIOEQUIVALENCIA.....	103
9. CONCLUSIONES.....	104
10. BIBLIOGRAFÍA.....	105

APÉNDICES

I. Espectros de UV e IR.....	I
II. Protocolo del Estudio de Bioequivalencia.....	III
III. Carta de Consentimiento.....	V
IV. Gráficas de Cp. vs t individuales	VI
V. Parámetros Farmacocinéticos de diferentes cefalosporinas.....	XIX
VI. Curvas Patrón y Puntos de Control de Calidad	XX
VII. Concentraciones plasmáticas individuales... ..	XXII

INDICE DE TABLAS

1. Clasificación de Cefalosporinas	9
2. Avances de las cefalosporinas de tercera generación	10
3. Actividad antimicrobiana de la ceftriaxona	15
4. Actividad in vitro de la ceftriaxona	16
5. Actividad in vivo de la ceftriaxona	17
6. Actividad de la ceftriaxona en modelo de ratón	17
7. Parámetros farmacocinéticos de la ceftriaxona	25
8. Parámetros farmacocinéticos de diferentes cefalosporinas	25
9. Parámetros farmacocinéticos de cefalosporinas de segunda generación	30
10. Comparación entre ensayo microbiológico y análisis por HPLC	47
11. Preparación de la curva patrón de ceftriaxona	51
12. Preparación de los puntos de control de calidad	51
13. Tiempos de muestreo sanguíneo durante el estudio	61
14. Aleatorización de la asignación de medicamentos	61
15. Condiciones cromatográficas del método analítico	65
16. Linealidad del sistema	67

17. Linealidad del método	68
18. Precisión entre días	69
19. Precisión intradía	70
20. Porcentaje de recobro	70
21. Límite de Cuantificación	71
22. Estabilidad de la muestra sometida a ciclos de congelación/descongelación	72
23. Estabilidad de la muestra por cinco semanas	73
24. Hemólisis de la muestra	75
25. Concentraciones plasmáticas promedio	76
26. Parámetros farmacocinéticos promedio	78
27. Parámetros farmacocinéticos individuales	79
28. Criterio para ajustar a MADC	82
29. Microconstantes farmacocinéticas individuales del producto A	83
30. Microconstantes farmacocinéticas individuales del producto B	83
31. Predicción de concentraciones plasmáticas para el producto A	84
32. Predicción de concentraciones plasmáticas para el producto B	85
33. Resumen de los parámetros farmacocinéticos promedio	86
34. Parámetros de bioequivalencia para el producto A	87
35. Parámetros de bioequivalencia para el producto B	87
36. Análisis estadístico para el parámetro ABC 0-t	90
37. Análisis estadístico para el parámetro ABC 0-infinito	90
38. Análisis estadístico para el parámetro C _{pmax}	91
39. Intervalos de Confianza para la decisión de Bioequivalencia	92
40. Prueba de Anderson Hauck	92
41. Otros parámetros farmacocinéticos	93
42. Análisis estadístico no paramétrico	93
43. Decisión de bioequivalencia	94
44. Límites de aceptación de bioequivalencia	94
45. Resumen de microconstantes farmacocinéticas	102

Índice de Figuras

1. Estructura de la Ceftriaxona	3
2. Núcleo de las cefalosporinas	6
3. Ácido cefalosporánico	6
4. Extracción de ceftriaxona en plasma	53
5. Linealidad del sistema	66
6. Selectividad cromatográfica	67
7. Linealidad del método	69
8. Estabilidad de ceftriaxona sometida a ciclos de congelación	72
9. Estabilidad de ceftriaxona en 5 semanas	73
10. Cromatograma de la muestra hemolizada	75
11. Gráfica de concentraciones plasmáticas contra tiempo	77
12. Distribución normal de los datos de ABC 0-t	88
13. Distribución normal de los datos de ABC 0-infinito	89

INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

La ceftriaxona, es un antibiótico que pertenece al grupo de las cefalosporinas de tercera generación las cuales poseen gran actividad contra bacterias gram negativas, principalmente contra los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*.

La ventaja de las cefalosporinas sobre otros antibióticos es que la mayoría son resistentes a las β - lactamasas, lo que les confiere mayor espectro antimicrobiano. Las cefalosporinas son agentes bactericidas que interfieren en la síntesis de la pared celular.

La ceftriaxona es diferente del resto de las cefalosporinas por su tiempo de vida media, que es más larga (7-8 horas).

Evaluaciones farmacoeconómicas han demostrado que la ceftriaxona se utiliza con éxito en infecciones graves debido a sus propiedades farmacológicas, eficacia terapéutica, espectro antibacteriano y tolerancia clínica.

En México existen siete marcas comerciales disponibles que contienen ceftriaxona para administración intramuscular. A pesar de que este tipo de formas farmacéuticas no requiere de estudios de bioequivalencia para demostrar su igualdad terapéutica, se decidió realizar el presente estudio con el objeto de: 1) Conocer la farmacocinética de la ceftriaxona en población mexicana, 2) Demostrar la bioequivalencia de un producto comercial con respecto al producto innovador.

OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN

2. OBJETIVO

Determinar la bioequivalencia de ceftriaxona en solución inyectable vía intramuscular (i.m.) en dosis única de una formulación comercial, cefaxona (pisa), con la formulación del producto innovador rocephin (roche) y determinar los parámetros farmacocinéticos en población mexicana

3. JUSTIFICACIÓN

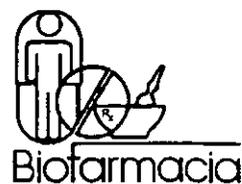
Los estudios de bioequivalencia siempre han tenido relevancia debido a la necesidad de establecer eficacia y seguridad terapéutica en los equivalentes farmacéuticos.

Para demostrar la intercambiabilidad de dos medicamentos se debe realizar un estudio de bioequivalencia, el cual determina la cantidad absorbida y velocidad de absorción del medicamento. Estos parámetros deben mostrar similitud dentro de ciertos criterios.

En México este tipo de estudios han tenido gran auge desde 1997 cuando se dio a conocer la apertura nacional al mercado de genéricos, en los que se requiere de pruebas documentadas para demostrar que el genérico intercambiable, ofrece al consumidor la misma eficacia y seguridad que los medicamentos de marca. Por lo que existe la responsabilidad de proveer al paciente la certeza para recuperar su salud de forma segura.

Aun cuando en México la Norma de Bioequivalencia (NOM SSA del 19 y 26 de marzo de 1998) especifica que no es necesario realizar estudios de bioequivalencia a productos parenterales en solución (ya que estos estudios determinan la velocidad y cantidad de fármaco absorbido y en medicamentos de administración parenteral, la etapa de absorción del medicamento al torrente sanguíneo queda excluida), algunos integrantes de las autoridades de salud están dudosos de ello.

GENERALIDADES



4. GENERALIDADES

4.1 MONOGRAFÍA DE LA CEFTRIAXONA

Fórmula Desarrollada

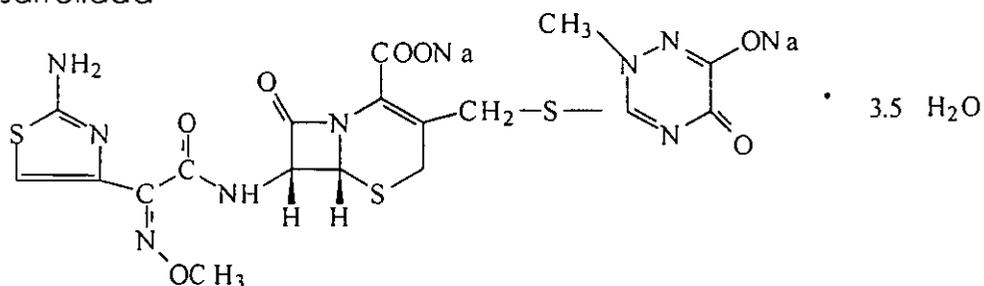


Fig. 1 Estructura de la ceftriaxona sal disódica hemiheptahidratada

- Fórmula Condensada: $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3 \frac{1}{2} H_2O$
- Peso Molecular: 662 g/mol
- Nombre en Latin: *Ceftriaxonum natricum*
- Nombre Químico: (Z)-{(6R,7R)-7-[2-(2-amino-1,3-tiazol-4-il)-2-(metoxiimino)acetamido]-8-oxo-3-[(2,5- dihidro-2metil-6-oxido-5-oxo-1,2,4-triazin -3-il tiometil]-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-N-2-carboxilato.
- Descripción: Polvo cristalino amarillento o casi blanco, ligeramente higroscópico.
- Propiedades Físicoquímicas: La sal es muy soluble en agua, ligeramente soluble en metanol y muy poco soluble en etanol. Tiene un punto de fusión mayor a 155°C. Su rotación específica es de $[\alpha]_D^{25} = -165^\circ$.
- pKa: La ceftriaxona presenta tres pKa's 3, 3.2, y 4.1 correspondientes al ácido carboxílico (COOH), al amino (NH₃⁺) y al enol (OH) respectivamente. Una solución al 10% en agua tiene un pH de 7.5 ± 0.5 (Merck Index).

- Dosis Letal Media (DL₅₀): Por vía intravenosa: en hombres 3000 mg/kg y en mujeres 2800 mg/kg, en ratas y ratones es de 2175mg/kg. Por vía oral la DL₅₀ es mayor a 10 000 mg/kg en cualquier especie (Merck Index).
- Espectro en el Ultravioleta: Presenta dos longitudes de onda máxima de absorción en el UV que son a: 242 y 272nm con un coeficiente de absorción molar de $\epsilon=32300$ y 29530 respectivamente (Ver Apéndice I). La cuantificación en el UV se lleva a cabo a 254, 242 y 272nm
- Identificación: Se lleva a cabo en el infrarrojo por comparación contra un estándar (Apéndice I). También se le identifica mediante cromatografía en capa fina.
- Forma Farmacéutica: La ceftriaxona se encuentra disponible a la venta en ampolletas para administración intravenosa e intramuscular.
- Fórmula:
 - Para Administración intramuscular
 - Ceftriaxona disódica.....1000mg
 - Ampolleta con solvente y lidocaína al 1%.....3.5ml
 - Para Administración intravenosa
 - Ceftriaxona.....1000mg
 - Solución Inyectable.....10ml
- MONOGRAFÍAS: La información monográfica para la cuantificación e identificación de la ceftriaxona se encuentra en:
 - USP XXIII (1996)
 - European Pharmacopoeia (1997)

4.2 FARMACOLOGÍA

4.2.1 CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas experimentaron un enorme desarrollo biosintético a partir de la caracterización de la molécula base. Este aumento en la proliferación de antibióticos beta lactámicos se debe a que la resistencia a los antibióticos que se usan actualmente crece constantemente, además de que se prefiere evitar los efectos tóxicos de otros antibióticos, como aminoglicósidos o cloranfenicol. Los avances en la química farmacéutica permiten que las nuevas cefalosporinas tengan un amplio espectro antibacteriano combinado con excelentes propiedades farmacocinéticas y mayor seguridad respecto a otros agentes. Lo anterior sugiere que estos fármacos puedan ser utilizados en muchas situaciones clínicas. Sin embargo, la forma en que estos antibióticos deben reemplazar a los anteriores no se ha establecido del todo. No se recomienda utilizar a las nuevas cefalosporinas para tratar infecciones que pueden ser erradicadas efectivamente con compuestos ya conocidos y más económicos.

Origen: El hongo *Cephalosporium acremonium*, fue la primera fuente de cefalosporinas, se aisló en 1948 por Brotzu (Remington Farmacia 1992), a partir de aguas del mar cercanas a una alcantarilla, en el medio de cultivo de este hongo se encontraron tres compuestos con propiedades antibióticas, a los que se les llamó Cefalosporina P, N y C.

No fue sino hasta 1964 que se introdujo la primera cefalosporina, en la clínica, la cefalotina. Gracias al aislamiento del núcleo activo de la cefalosporina C se obtuvo el ácido cefalosporánico y se le añadieron cadenas sintéticas originando así la producción semisintética de compuestos con mejor actividad antibacteriana que el compuesto original (Goodman y Gilman, 1994). Estos compuestos generalmente son resistentes a las β lactamasas. También se caracterizan por la presencia en su molécula de un núcleo 7-

aminocefalosporánico constituido a su vez por dos fracciones: un anillo beta-lactámico y un anillo dihidrotiazínico.

Desde la introducción de la cefalotina para uso clínico en los 60's, las cefalosporinas se convirtieron en un grupo de antibióticos de gran expansión. Actualmente existen 17 cefalosporinas y 4 antibióticos relacionados y varios derivados de las cefalosporinas serán aprobados en un futuro (Caprile, K, 1988).

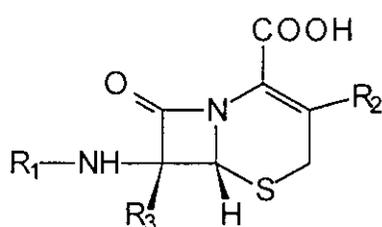


Fig. 2 Núcleo de las Cefalosporinas

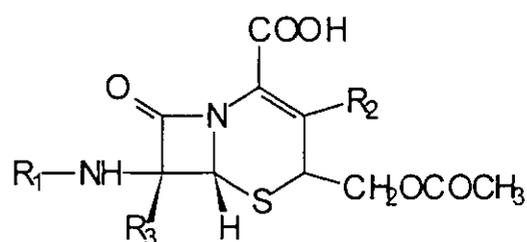


Fig. 3 Ácido cefalosporánico

Estructura Química - Actividad Biológica: Existen cefalosporinas semisintéticas cuyo núcleo proviene de la fermentación de *Cephalosporium acremonium* y sus cadenas activas de síntesis orgánica. Las cefalosporinas son agentes que contienen un anillo β lactámico que es necesario para la actividad antimicrobiana al igual que las penicilinas. Mientras las penicilinas derivan del ácido 6-amino penicilánico, las cefalosporinas derivan del ácido 7-amino cefalosporánico (7-ACA) figura 3o tienen un origen totalmente sintético como el moxolactam.

El 7-ACA está compuesto de un anillo dihidrotiazolidina el cual posee un átomo de azufre en la posición 1 que está fusionado a un anillo beta-lactámico y es indispensable para la actividad antibacteriana. Este y los átomos adyacentes tienen una configuración espacial similar a la de los peptidoglucanos que constituyen la pared celular bacteriana. El anillo dihidrotiazolidina le confiere una ventaja estérica al anillo beta lactámico

respecto a que le confiere mayor resistencia ante la acción de beta lactamasas extracromosomales.

Este núcleo ha sido modificado por diferentes cadenas laterales para crear la familia de las cefalosporinas.

Las modificaciones en R1 en la posición 7 del anillo beta-lactámico están asociadas con cambios en la actividad antibacteriana y en la estabilidad ante las β -lactamasas. Las sustituciones de R2 en la posición 3 del anillo dihidrotiazolidina afectan el metabolismo y las propiedades farmacocinéticas del fármaco y se ha visto también efecto en las reacciones adversas.

El carbono 7 en el núcleo de la cefalosporina es un centro asimétrico crítico, las sustituciones en este punto deben ser beta para que la molécula tenga actividad, la única excepción es la sustitución de un metoxilo en posición alfa lo cual aumenta la estabilidad por inactivación de las β -lactamasas.

Existen cefalosporinas que tienen un grupo carboxilpropilo en lugar de un metoxilo en la cadena aminotiazoloxiamino, este grupo ácido y voluminosos confiere gran actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Algunas cefalosporinas contienen un grupo aminotiazol, este grupo confiere excelente actividad y ventajas sobre otras cefalosporinas como mayor espectro antimicrobiano, entre ellas se encuentran: ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima, y cefmenoxima.

El grupo carboxílico en el anillo dihidrotiazolidina confiere estabilidad ante cefalosporinasas, (Harold. N., 1982)

La presencia de un grupo acetoximetil en la posición 3 origina compuestos metabólicamente inestables, por lo que estas cefalosporinas, tendrían un efecto de primer paso significativo si son administradas por vía oral, además de producir una serie de metabolitos con diferentes grados de actividad antibacteriana.

En contraste, las que poseen en esta posición un grupo carbamato esterificado, las hace más estables *in vivo*, este grupo también afecta la eliminación renal pues se eliminan preferentemente por filtración glomerular y no por secreción tubular como las demás cefalosporinas.

El anillo triazina de la ceftriaxona tiene un grupo ácido lo que mejora notablemente sus propiedades farmacocinéticas pues se une más a proteínas plasmáticas.

Para que una cefalosporina sea absorbida por vía oral es necesario que tenga un grupo pequeño y no polar en posición 3.

Tanto sustituyentes metilo como clorados causan un decremento en la actividad *in vitro*, contra *S. aureus*.

4.2.2 CLASIFICACIÓN DE LAS CEFALOSPORINAS:

Aunque se considera una asignación arbitraria se toma en cuenta su espectro antibacteriano demostrado *in vitro* para clasificarse en los siguientes tres grandes grupos. Ejemplos de cada uno de ellos los encontramos en la tabla 1:

- A. Cefalosporinas de Primera Generación: Son los agentes que se desarrollaron primero y tienen poca actividad contra bacterias gram negativas. Sin embargo son más activas contra bacterias gram positivas que las cefalosporinas de segunda y tercera generación. Entre este grupo se encuentran: cefalotina, cefazolina y cefapirina en uso parenteral. Para su administración por vía oral: cefalexina y cefadroxil. Finalmente la que se puede utilizar por vía parenteral y vía oral es la cefradina.
- B. Cefalosporinas de Segunda Generación: Además de mantener el espectro contra bacterias gram positivas este grupo tiene un espectro de actividad más amplio contra bacterias gram negativas debido a que resisten la acción β lactámica de éstas. Para uso parenteral se encuentran: cefamandol, cefuroxima, cefonicid y ceforanida. Mientras que el: cefaclor y cefuroxima se administran por vía oral.
- C. Las Cefalosporinas de Tercera Generación: poseen mayor actividad así como mayor espectro contra bacterias gram negativas, incluyendo microorganismos resistentes a las cefalosporinas de las primeras

generaciones. Presentan también mayor estabilidad ante β lactamasas, comprende principalmente a todos los organismos *Enterobacteriaceae* incluyendo especies resistentes a aminoglicósidos. Ej. Cefotaxima ceftazidima y CEFTRIAXONA (H Neu, 1982). Actualmente hay quienes consideran la existencia de una cuarta generación en la que se encuentran la cefquinona y cefepima. Sin embargo aun existe controversia con respecto a esta clasificación (Preston, 1982).

Los avances en espectro antimicrobiano entre las diferentes generaciones se encuentran ejemplificados en la tabla 2.

4.2.3 MECANISMO DE ACCIÓN

Existen tres posibles eventos para explicar la acción bactericida de las cefalosporinas

- a) La entrada de la molécula a través de la pared celular de la bacteria.
- b) Estabilidad ante beta lactamasas.
- c) Afinidad del fármaco a las enzimas involucradas en la síntesis de pared celular.

El mecanismo de acción antimicrobiana es el siguiente: En el citoplasma se sintetizan los precursores de la pared celular. Las unidades básicas recién formadas se unen en el citoplasma para formar largas cadenas de polímeros de peptidoglucanos (llamados nucléotidos de Park) los cuales se ensamblan en una porción preexistente de la pared celular bacteriana.

Los polímeros se unen por medio de unas proteínas llamadas proteínas de unión a penicilina (PBP). En esta etapa es donde intervienen las cefalosporinas, pues tienen similitud estructural con estas proteínas (PBP), por lo tanto las sustituyen y como consecuencia la síntesis de la pared es defectuosa, y por ello son más efectivas contra poblaciones bacterianas en crecimiento. (K. Caprile, 1988).

Tabla 1 Clasificación de las Cefalosporinas

Primera Generación	Segunda Generación	Tercera Generación
cefalotina	cefexitina	cefotaxima
cefapirina	cefamandol	ceftizoxima
cefaloridina	cefuroxima	ceftriaxona
cefalexina	cefotiam	cefmenoxima
cefradina	cefmetazol	ceftazidima
cefaclor		cefoperazina
cefadroxil		moxolactam
cefonacid		cefsulodina
ceforanide		

Tomado de Harold, N. Analysis of Internal Medicine 1982.

Tabla 2. Avances de las cefalosporinas de tercera generación sobre generaciones anteriores.

Microorganismo	Actividad Comparada
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sin avance
<i>S. aureus</i> (resistentes a meticilina)	Sin actividad
<i>S. epidermidis</i>	Sin avance
<i>S. epidermidis</i> (resistente a meticilina)	Sin actividad
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	Sin avance
<i>S. faecalis</i>	Sin actividad
<i>S. pneumoniae</i>	Sin avance
<i>Haemophilus influenzae</i>	Mejoría
<i>N. meningitidis</i>	Sin avance
<i>N. gonorrhoeae</i>	Mejoría
<i>E. coli</i>	Mejoría
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Mejoría
<i>Enterobacter cloacae</i>	Mejoría *
<i>Proteus mirabilis</i>	Mejoría
<i>P. vulgaris</i>	Mejoría
<i>Citrobacter freundii</i>	Mejoría
<i>Serratia marcescens</i>	Mejoría
<i>Providencia stuarti</i> , <i>P. rettgeri</i>	Mejoría
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mejoría*
<i>Clostridium pefringens</i> , <i>C. Difficile</i>	Sin avance
Estreptococos anaerobios	Sin avance

* Existen ya cepas resistentes

4.2.3 RESISTENCIA:

Los mecanismos de resistencia a las cefalosporinas en orden descendente de importancia incluyen:

1. Inactivación por beta-lactamasas.
2. Disminución en la permeabilidad de la pared celular bacteriana lo que impide que la cefalosporina alcance su sitio de unión es decir a las proteínas de unión a la membrana (PBPs).
3. Alteraciones en las PBPs que elude su unión a las cefalosporinas.

La primera generación de cefalosporinas es más susceptible a beta-lactamasas producidas por organismos gram negativos, a esto se debe su reducido espectro contra este grupo de microorganismos. La segunda y tercera generación de cefalosporinas fueron químicamente diseñadas para ser más estables ante la degradación por beta-lactamasas

Es preocupante el rápido desarrollo de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación que se supone son estables a las lactamasas, lo cual está siendo ocasionado por ciertos bacilos gram negativos como *Enterobacter sp.*, *Serratia*, y *Pseudomonas*. El mecanismo de resistencia implica la producción de grandes cantidades de lactamasas cromosomales que hidrolizan e inactivan a las cefalosporinas estas lactamasas son generadas, por cepas mutantes y por inducción enzimática causada por antibióticos beta lactámicos. En la mayoría de los casos ocurre una lenta hidrólisis del antibiótico.

Se espera que en las nuevas generaciones de cefalosporinas la probabilidad de que sean inactivadas por beta-lactamasas sea mínima y aumente su actividad intrínseca.

4.3.4 USOS:

Las cefalosporinas son antibióticos bactericidas con extenso espectro y amplio margen de seguridad. Son efectivos en una gran variedad de infecciones. Sin embargo las cefalosporinas de primera y segunda generación no son medicamentos de primera elección pues existen alternativas con la misma eficacia y con menor precio. Sin embargo la tercera generación de cefalosporinas son fármacos de elección para el tratamiento de infecciones causadas por bacilos gram negativos. Una limitante con estos compuestos es su alto costo el cual está justificado con menor toxicidad y mayor eficacia.

Las cefalosporinas de tercera generación son de utilidad en ciertos tipos de meningitis. Debido a la gran cantidad de fracasos terapéuticos con cloranfenicol y las dificultades asociadas con aminoglicósidos, esta tercera generación se ha convertido en el grupo de elección para casos de meningitis. La cefotaxima y el moxolactam han dado excelentes resultados en casos de meningitis causada por bacilos entéricos gram negativos (*E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus*), en estos casos también son útiles la ceftizoxima, la ceftriaxona y la ceftazidima pero la experiencia clínica es muy limitada. La ceftazidima es la cefalosporina de tercera generación más útil en meningitis causada por *Pseudomonas aeruginosa*. Generalmente se coadministra con algún aminoglicósido.

Actualmente las cefalosporinas de tercera generación como cefotaxima o ceftriaxona son los fármacos de elección para el tratamiento de meningitis causadas por *H. influenzae* o meningococos. La ceftriaxona y la cefotaxima tienen excelente actividad *in vitro* contra cualquiera de estos microorganismos causantes de meningitis y son igualmente efectivos que el tratamiento de ampicilina+cloranfenicol ofreciendo la ventaja de que solamente se requiere un antibiótico lo cual disminuye los problemas de toxicidad y la necesidad de monitoreo terapéutico. También son los fármacos de elección para

enfermedades pediátricas infecciosas como: celulitis facial, artritis séptica, osteomielitis, bacteremia, epiglotitis aguda y neumonía.

En ciertas enfermedades pediátricas se recomienda el uso de ceftriaxona o cefotaxima (que puede ser coadministrada con ampicilina) en lugar de un aminoglicósido por su alta eficacia, menor toxicidad y farmacocinética predecible, además de que son capaces de penetrar al líquido cefaloraquídeo. La cefotaxima también es utilizada en aquellos casos en los que no es posible monitorear las concentraciones de aminoglicósidos o cuando el paciente pediátrico tiene disfunción renal. Mientras que la ceftazidima es de primera elección en el tratamiento de niños con infección nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa*.

Las cefalosporinas de tercera generación no deben emplearse solas en caso de meningitis neonatal pues ninguna es activa contra *Listeria monocytogenes*. Este grupo de antibióticos es muy efectivo contra *Neisseria gonorrhoeae*, incluyendo las cepas que son resistentes a penicilina (PPNG). En particular la ceftriaxona es muy efectiva en casos de gonorrea en adultos, incluyendo las infecciones en uretra, cérvix, ano rectal y faríngea. Actualmente es el fármaco de elección en estas infecciones, incluso en casos de resistencia a cepas resistentes a tetraciclina. A pesar de que las cefalosporinas son activas contra la sífilis, en la etapa de incubación no son activas contra *Chlamydia trichomatis* por lo que se recomienda una terapia concomitante con doxicilina. Una dosis de 250mg por vía intramuscular, es suficiente en el tratamiento de chancras causado por *Haemophilus ducrey*. Además la ceftriaxona por vía intravenosa es el fármaco de elección para el tratamiento de anomalías neurológicas, cardiovasculares y demás asociadas a la enfermedad de Lyme.

4.3 CEFTRIAXONA

La ceftriaxona es una cefalosporina que pertenece al grupo de la tercera generación. Se introdujo a principios de los 80's por laboratorios ROCHE; su nombre antes de salir al mercado era Ro 13-9904. En la tabla 3 a 6 se compara la actividad antibacteriana de la ceftriaxona con otras cefalosporinas.

Coadministración De Ceftriaxona Con Otros Fármacos: Algunos estudios han demostrado que al combinar la ceftriaxona en tobramicina o gentamicina, ampicacina o metilmicina contra infecciones causadas por *P. Aeruginosa* (incluso cepas resistentes a aminoglicósidos) se produce un sinergismo que va del 50 al 80% (Richards, 1984).

Existen algunos reportes de sinergismo entre ceftriaxona y ampicilina para el tratamiento de enfermedades causadas por *Neisseria meningitidis*, pero solo en un 10% de los casos. El beneficio de esta coadministración es del 5-10% para infecciones originadas por *E. coli*, de 8-26% cuando se trata de *B. Streptococci* y de 67 a 100% en casos de *Listeria monocytogenes*.

La ceftriaxona también muestra sinergismo cuando se coadministra con piperacilina en 100% de los casos contra *S. faecalis* y 67 a 100% de cepas de *E. coli* y estreptococos del grupo B.

Efectos Sobre La Flora Intestinal: Ya que la ceftriaxona se excreta en una proporción aproximada de 40% en bilis existe la posibilidad de que disminuya parte de la flora intestinal o colonicen microorganismos oportunistas que no son sensibles a la ceftriaxona. Se ha encontrado que este antibiótico disminuye la población de anaerobios favoreciendo una sobrepoblación de espreptococos del grupo D, levaduras bacteroides y clostridios en 24h este estado regresa a la normalidad después de la suspensión del medicamento. Las bacterias facultativas del intestino delgado y grueso son sensibles pero no exhiben problemas en crecimiento.

Tabla 3. Comparación de la actividad antibacteriana de la ceftriaxona con otras cefalosporinas MIC₉₀ mg/l

Microorganismo	CEFTRIAXONA	Cefotaxima	Ceftizoxima	Cefazolina	Moxolactam
Streptococcus grupo A	0.03	0.12	0.03	0.05	4
S. agalactiae	0.1	0.1	0.1		4
S. faecalis	>128	>128	>128	>128	>128
S. pneumoniae	0.25	0.12	0.12	0.1	2
S. aureus	4	2	2		32
S. epidermidis	8	8	8		16
H. influenzae	0.015	0.03	0.03	32	32
N. gonorrhoeae	0.008	0.015	0.015	8	0.06
N. meningitidis	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.06
Listeria monocytogenes	>128	>128	>128	>128	0.05
E. coli	0.25	0.025	0.25	>128	>128
K. pneumoniae	0.25	0.025	0.25	>128	0.25
E. aerogenes	0.2	0.2	0.2	>128	0.25
E. cloacae	8	8	8	>128	4
Citrobacter freundii	8	8	8	>128	8
C. diversus	0.5	0.5	0.25		0.5
S. marcescens	4	4	2	>128	4
P. mirabilis	0.05	0.1	0.1	16	0.2
M. morgani	0.05	2	0.5	>128	0.5
Providencia rettgeri	4	2	2	>12	2
Salmonella spp.	0.25	0.25	0.25	32	0.25
Shigella spp.	0.25	0.25	0.25	8	0.25
P. aeruginosa	64	64	64		32
Acinetobacter	>128	>64	>128	>128	>128
B. fragilis	64	64	32		16

MIC: Concentración mínima inhibitoria.

Tabla 4. Actividad Antibacteriana de la Ceftriaxona *In vitro*

Familia Enterobacteriaceae			
	MIC₅₀	Microorganismo	MIC₉₀
E. coli	0.17	E. agglomerans	0.06
K. pneumoniae	0.24	S. marcescens	0.70
Klebsiella. sp.	0.13	Serratia sp	0.20
E. cloacae	0.33	Proteus mirabilis	0.07
E. aerogenes	0.26	P. indol+	0.07
P. rengerii	0.01	C. diversus	0.08
P. stuartii	0.12	P. morganii	0.23
C. freundii	0.37	Salmonella sp.	0.08
Shigella sp.	0.02	Hafnia halvei	2.0
Gram negativos No-intestinales			
	MIC₅₀	Microorganismo	MIC₉₀
H. influenzae	0.004	P. aeruginosa	23
N. gonorrhoeae	0.003	Pseudomonas sp.	28
N. meningitidis	0.0008	Acinetobacter sp.	15
Gram Positivos			
	MIC₅₀	Microorganismo	MIC₉₀
Streptococcus pyogenes	0.014	S. aureus ^{oo}	58
S. agalactiae	0.047	S. coagulasa (-)*	4.4
S. pneumoniae	0.017	S. coagulasa (-) ^{oo}	>64
S. aureus*	2.2	Enterococos	94
Anaerobios y cocos			
	MIC₅₀	Microorganismo	MIC₉₀
Bacteroides fragilis	15.8	C. difficile	22
B. distasonis	>32	Fusobacterium nucleatum	0.5
B. melaninogenicus	1.0	Peptococcus	1.7
C. perfringens	0.5	Peptostreptococcus	1.7

* Sensibles a metilcilina ^{oo} resistentes a metilcilina

Tomado de R. Cleeland, 1984.

Tabla 5. Actividad antibacteriana de la ceftriaxona in vivo y comparación con otras cefalosporinas de 3° generación:

Microorganismo	PD 50 mg/kg		
	Ceftriaxona	Cefotaxima	Cefoperazona
E. coli	0.2	0.4	7.2
K. pneumoniae	0.04	0.09	0.4
E. clocae	2.2	6.3	24
E. aerogenes	1.9	2.2	4.7
Citrobacter sp.	0.3	0.8	0.9
Salmonella sp.	0.1	1.1	2.8
Proteus sp.	0.02	0.2	6.1
S. marcescens	1.9	3	13
P. aeruginosa	66	290	144
H. influenzae	<1	<1	<1
S. pyogenes	0.5	6.6	12
S. aureus	6.4	5.7	10
Streptococos Gpo B	0.2	0.2	--

PD50: dosis que protege al 50% de los animales

Tabla 6. Actividad *In vivo* en un modelo de neumonía en ratón:

Antibiótico	PD50 mg/kg
Ceftriaxona	0.88
Ampicilina	11
Cefotaxima	16
Cefamandol	79
Carbenicilina	84

4.3.1 USOS TERAPÉUTICOS

- Tratamiento de Infecciones del Tracto Urinario: Una administración diaria de ceftriaxona por vía intramuscular (2g) es suficiente para curar infecciones severas o complicadas del tracto urinario, en 78 de 100 casos es más efectiva que la cefotaxima, la cual se administra dos veces al día de 1 a 2g. El éxito terapéutico es mayor con ceftriaxona que con cefazolina. La proporción de

pacientes recuperados es mayor en casos de cistitis (78%) que en casos de pielonefritis (63%).

- Tratamiento de Infecciones del Tracto Respiratorio Inferior: Util en casos de neumonía causada por pneumococos, *E. coli*, y *K. pneumoniae*, pero no debe usarse en caso de neumonitis por estafilococos. Se ha visto que la administración de 2 g de ceftriaxona por vía intramuscular durante 4-20 días es suficiente para curar el 96% de las infecciones respiratorias. Cuando se coadministra con amoxicilina en infecciones pneumococcicas la efectividad es del 100%. La experiencia clínica indica que la administración de este antibiótico una o dos veces al día es útil para erradicar las siguientes infecciones clínicas: 100% de *S. pneumoniae*, 100% de *H. influenzae*, 75% de *E. coli*, 75% de *K. pneumoniae*, 100% de *P. mirabilis*, 100% de *S. aureus*, 43% de *P. aeruginosa* y 50% de *Serratia spp.*
- Tratamiento de Bacteremia/Septicemia: Una dosis de 1 a 2 g en adultos o 75 mg/kg en niños es efectiva para tratar bacteremias causadas por bacilos gram negativos o gram positivos aeróbicos.
- Infecciones causadas por *N. gonorrhoea*: El tratamiento con 0.125g de ceftriaxona favorece la recuperación del 93-98% de los pacientes con gonorrea cervical, anorectal o uretral. Si la dosis aumenta a 0.250g la probabilidad de éxito es del 100% en comparación con la espectinomicina cuya proporción de pacientes curados es del 50%.
- Oftalmia gonococcica neonatal: Una administración intramuscular de ceftriaxona seguida de una terapia local es una buena medida terapéutica para erradicar este tipo de infecciones, incluso en caso de cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de penicilinasas.
- Sífilis y Enfermedad de Chancras: Se han hecho estudios en los que al administrar una dosis de 125 mg de ceftriaxona (vía intramuscular) a un grupo de 27 pacientes en estado tardío de sífilis durante un periodo de 3 meses no se

detectó evidencia serológica de infección en 97% de los pacientes (Brodgen y Ward 1988).

- Infecciones en piel, hueso y articulaciones: Un tratamiento de 3 a 4g diarios de ceftriaxona es efectivo en caso de celulitis bacteriológica, úlceras supurativas en diabéticos (en pies), y abscesos de tejido suave, en un 88 al 100% de los casos. También se ha comprobado su eficacia en infecciones de la piel, y abscesos en pacientes pediátricos, en pacientes con quemaduras donde los microorganismos causantes son: *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *C. welchii* y *Proteus spp.* Estudios en pequeños grupos de pacientes con infecciones óseas y articulares han demostrado que una dosis al día de un tratamiento con ceftriaxona es capaz de curar la osteomielitis crónica.
- Infecciones Bacterianas Serias: En infecciones intra abdominales y genito urinarias causadas por *H. influenzae*, *E. coli*, *S. pneumoniae*, o *Klebsiella sp* la respuesta a un régimen de 2g diarios es de 96%.
- Meningitis Bacteriana: Los casos de meningitis, ya sea en niños o en adultos son causadas principalmente por *H. influenzae* y *S. pneumoniae*, en ellos el tratamiento con 1g diario de ceftriaxona es igualmente efectivo que la administración de ampicilina + cloranfenicol. En la mayoría de los casos, no hay crecimiento microbiano en cultivos de líquido cefalorraquídeo 24 a 48h después de la administración.
- Otras infecciones: La ceftriaxona también es eficaz en el tratamiento de infecciones como la endocarditis causada por estreptococos o *Haemophilus* en estos casos se recomienda una dosis de 2g de ceftriaxona durante 4 semanas (Reller y cols, 1987). Un estudio comparativo entre la administración diaria de 4g de ceftriaxona por 5 días contra 2.5g de cloranfenicol por 14 días mostró la misma eficacia contra fiebre tifoidea, con la diferencia de menor tiempo de tratamiento y reducción de la toxicidad utilizando ceftriaxona. La enfermedad de Lyme es en realidad un síndrome causado por *Borrelia burgdorferi* que tiene poco éxito en la terapéutica. En un estudio se

administraron 4g de ceftriaxona durante 14 días y se comparó su eficacia con relación a la encontrada con la administración de bencilpenicilina (24 megaunidades) durante 10 días, encontrándose que el 50% de los pacientes respondieron a la bencilpenicilina mientras que el 92% respondió al tratamiento con ceftriaxona.

- Profilaxis quirúrgica: Las infecciones adquiridas después de una cirugía son frecuentes y la probabilidad varía según el tipo de cirugía. La ceftriaxona demostró ser tan efectiva como la cefotaxima para prevenir infecciones postquirúrgicas como prostatectomía, histerectomía, cesárea o cirugía colorrectal, sin embargo, es posible administrar antibióticos menos costosos con la misma eficacia. En estudios realizados en pacientes sometidos a cirugía torácica se demostró que basta 1g de ceftriaxona para que los niveles plasmáticos se mantengan hasta por 12h por arriba de la concentración mínima inhibitoria de *S. aureus* (Reller y cols, 1987)

4.3 FARMACOCINÉTICA

Las propiedades farmacocinéticas de la ceftriaxona se han estudiado en administraciones intravenosas, intramusculares, intraperitoneales y subcutáneas, en dosis únicas o múltiples, tanto en voluntarios sanos como en pacientes, adultos y niños con y sin insuficiencia renal y/o hepática.

ABSORCIÓN:

Se ha observado que después de la administración de ceftriaxona por cualquiera de las vías mencionadas, el fármaco se absorbe adecuadamente y alcanza concentraciones por arriba de la MIC de la mayoría de los microorganismos.

Después de una administración intravenosa de 0.5 y 1g de ceftriaxona, se obtienen concentraciones plasmáticas máximas después de 30 minutos de 151 y 286 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Al aumentar la dosis, los niveles de fármaco libre aumentan desproporcionalmente en comparación a las concentraciones de fármaco total, por lo que para evitar cambios drásticos en los niveles de fármaco libre, se prefiere una administración única en lugar de pequeñas dosis en varios intervalos de tiempo (Brodgen y Ward, 1988).

En neonatos se administra una dosis de 50 mg por kg de peso obteniéndose niveles plasmáticos máximos de 124 a 108 mg/L después de 1 a 2 horas, con un promedio de 34 mg/L mientras que en niños mayores este promedio es de 15 mg/L.

Tras una administración intramuscular las concentraciones máximas se alcanzan generalmente en hora y media y el área bajo la curva es semejante a la presentada después de una administración intravenosa, lo que indica una biodisponibilidad similar entre las diferentes vías de administración.

Cuando la administración es por vía subcutánea se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas de 37 mg/L en 2h con una dosis de 0.5g en comparación con 84 mg/L alcanzada en 2h, tras una administración

intravenosa de la misma dosis. Sin embargo, el promedio de las concentraciones plasmáticas es de 6.5 y 6.6 respectivamente durante 24h, es decir que durante 24 h las concentraciones plasmáticas son diferentes, pero en promedio la biodisponibilidad subcutánea es del 96% comparada con la intravenosa.

La administración de varias dosis de 2 g cada 24 h produce un incremento solo del 8% en la concentración máxima, pero aumenta la penetración a tejidos aún mas que una administración de dos veces al día.

DISTRIBUCIÓN:

Volumen de Distribución: El volumen aparente de distribución de la ceftriaxona total (libre + unido a proteínas) varía entre 7.5 y 11.66 L. Se ha demostrado que el volumen de distribución del fármaco total en estado estacionario no cambia al aumentar la dosis y que la relación entre ceftriaxona en el cuerpo y ceftriaxona en plasma permanece inalterada.

UNIÓN A PROTEÍNAS:

La ceftriaxona es un fármaco que se une extensamente a proteínas. La capacidad de unión es saturable, los sitios de unión se saturan a dosis habituales por lo que la concentración de fármaco libre puede exceder el promedio de concentración normal.

La concentración de ceftriaxona tiene un comportamiento no lineal dependiente de la unión a proteínas. En experimentos de diálisis al equilibrio, la fracción libre de ceftriaxona es del 5% (es decir el 95% está unido a proteínas) a concentraciones plasmáticas de 70 mg/L, mientras que a concentraciones de 300 mg/L esta fracción aumenta a 16% y a 500mg/L el valor de fármaco libre es de 26.5%. Estos porcentajes presentan variaciones según el método empleado para determinar unión a proteínas (Fiset et. al, 1986).

Se han realizados estudios comparativos de unión a proteínas séricas incluyendo inmunoglobulina G (IgG) y albúmina sérica humana. Estas investigaciones revelan que la ceftriaxona se une en dos sitios a IgG. De estos sitios, uno tiene gran afinidad con un valor de k_a de $9.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ pero posee baja capacidad con respecto a la albúmina (0.03 mol de fármaco por mol de IgG en comparación a 1 mol de fármaco por 1 mol de albúmina). El otro sitio de unión tiene menor afinidad pero mayor capacidad que la albúmina.

De estos resultados se espera que a muy bajas concentraciones, la ceftriaxona se una preferentemente al sitio de unión más afín de la IgG y cuando este sitio se sature entonces se unirá a la albúmina y al 2° sitio de unión de la IgG, el de mayor capacidad.

En presencia de niveles normales de IgG y de albúmina, la unión de ceftriaxona a IgG es de mínima importancia, pero cuando la concentración de IgG aumenta considerablemente como en el caso de pacientes inmunodeprimidos, con trombocitopenia o con infecciones como citomegalovirus o hipogamaglobulinemia, la unión a la ceftriaxona puede ser relevante clínicamente y el efecto se puede ver acentuado en casos de hipoalbuminemia.

Con lo anterior es importante que los médicos estén conscientes de esta posible interacción que puede ser fácilmente corregida. En pacientes con altas concentraciones séricas de IgG la dosis de ceftriaxona puede dividirse cada 12h en lugar de cada 24, de esta forma se minimiza el tiempo de exposición a concentraciones subterapéuticas del medicamento (H. Sun, 1991).

PENETRACIÓN A TEJIDOS:

Las concentraciones de ceftriaxona necesarias para inhibir a la mayoría de los microorganismos gram negativos (2 mg/L) se alcanzan en prácticamente todos los tejidos y fluidos. Ello incluye al líquido cefalorraquídeo (inflamado y no-inflamado), esputo, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido ascítico, líquido

vesicular, lágrimas, bilis, vejiga, hueso, miometrio, endometrio, tejido de las trompas de falopio, mucosa y tejido bronquial, líquidos sinovial y prostático, además de tejido vítreo. La ceftriaxona también alcanza leche materna, (el área bajo la curva, (ABC) en leche, es aproximadamente el 4-5% del ABC encontrada en plasma). Después de 24h de administrada, la ceftriaxona excede la MIC₉₀ para la mayoría de los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*, *Hemophilus sp*, *Neissera sp*, *Salmonella sp*, y *C. diversus*.

La ceftriaxona es la primera cefalosporina parenteral que penetra eficazmente en fluido vítreo.

En bilis se encuentran concentraciones de 4700 mg/L después de la administración de 2g del fármaco dos veces al día, excediendo las encontradas en plasma.

ELIMINACIÓN:

La ceftriaxona se elimina inalterada por vía renal y hepática. De una dosis intravenosa de 0.5 a 3g se elimina del 45 al 60% en orina a las 24h. Después de una dosis única por vía subcutánea de 0.5g se elimina solo el 40% por orina.

La depuración total aumenta conforme aumenta la dosis, así a una dosis de 0.5g la depuración (Cl) es de 0.61 a 1.0 L/h y con 2g la Cl es de 1.18 a 1.29 L/h. A pesar de que la depuración renal de fármaco total varía con la dosis y el tiempo, no es así para la fracción de ceftriaxona libre.

La depuración renal del fármaco libre es de 9.6 L/h lo que excede ligeramente a la filtración glomerular, lo que indica que el mecanismo de eliminación renal es prácticamente solo por filtración glomerular (Stoeckel K, 1981).

Eliminación hepática: Conforme el peso molecular de un fármaco aumenta, una mayor proporción del medicamento aparecerá en bilis (Benet L, 1985). Con el desarrollo de las cefalosporinas de tercera generación se aumentó el peso molecular de estos antibióticos por lo cual se incrementó la

posibilidad de ser excretadas por bilis, aunque la ceftriaxona pertenece a los fármacos de bajo cociente de extracción hepático, el porcentaje de eliminación hepática de ceftriaxona puede variar entre 20-45% de la dosis, de este porcentaje, al menos el 11% de la dosis se elimina por bilis de forma inalterada, el resto puede encontrarse en heces, también de forma inalterada (Arvidsson A, 1982).

TIEMPO DE VIDA MEDIA:

El valor de tiempo de vida media promedio en voluntarios sanos oscila entre 6 y 9 horas. La ceftriaxona tiene una vida media mayor a cualquier otra cefalosporina, la cual es independiente de la vía de administración y de la dosis. El tiempo de vida media se ve ligeramente aumentado en pacientes con insuficiencia renal y en pacientes de más de 75 años (Hayton W, 1986).

En la tabla 7 se presentan los principales parámetros farmacocinéticos de la ceftriaxona de acuerdo a la ruta de administración y la dosis. En la tabla 8 se compara el tiempo de vida media de la ceftriaxona con el de otras cefalosporinas.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos de la ceftriaxona (B. Scully, 1984).

Parámetro	1g i.v	1 g i.m	0.5 g i.m
ABC mgh/L	1146.0	1193.0	670.0
t ½ h	7.6	8.3	8.3
Vd L	9.1	8.38	7.46
Cl total L/h	0.9	0.98	0.93
Cl renal L/h	0.36	0.32	0.32

Tabla 8. Comparación de los parámetros farmacocinéticos de algunas cefalosporinas

Fármaco	t ½ h	Cp máx mg/L	% recuperado en orina
Ceftriaxona	7.6	169	40
Cefamandol	0.8	72	80
Cefoxítina	0.8	84	85

Cefotaxima	1.1	42	55
Ceftizoxima	1.6	87	85
Ceftazidima	1.8	82	75
Cefoperazona	1.9	125	25
Moxolactam	2.1	62	75

Influencia de la edad:

La vida media de eliminación no varía significativamente entre grupos de pacientes de diferentes edades, con excepción de neonatos y pacientes geriátricos en los cuales la vida media es más larga.

El Volumen de distribución (Vd) no parece variar con la edad, aunque el Vd en estado estacionario (0.38 vs 0.14 L) y Vd beta (0.5 vs 0.16 L) es mayor en niños que en adultos (martin C, 1992).

En neonatos la dosis eliminada por vía renal es mayor que en adultos. La unión a proteínas es menor en niños que en adultos. Se ha notado un aumento significativo en la fracción de ceftriaxona libre en geriátricos. Las diferencias asociadas a la edad se deben a que en niños se administra una mayor cantidad de dosis por área superficial (m²). La depuración de fármaco libre tiene un notable decremento en neonatos (0.96 L/h/m²) y en adultos maduros mayores a 75 años (7.5 L/h/m²) comparada con la de adultos (10.32 L/h/m²) lo cual se debe a la falta de madurez o deficiencia en los mecanismos de eliminación del fármaco en neonatos (Caprile K, 1988).

Influencia de la enfermedad en la farmacocinética de la ceftriaxona

Se ha reportado que la farmacocinética de la ceftriaxona se ve ligeramente afectada en casos leves a moderados de insuficiencia renal, presentando un tiempo de vida media de eliminación de 10 a 15 h. En pacientes con insuficiencia renal grave la vida media puede aumentar significativamente hasta 50 h, por lo que solo estos pacientes requerirán un ajuste en la dosificación para evitar acumulación del fármaco. Cabe hacer

notar que someter al paciente a un proceso de hemodiálisis no aumentará la depuración de ceftriaxona.

Los pacientes con peritonitis eliminan gran cantidad del fármaco por el peritoneo sin embargo la depuración total no se ve afectada.

En pacientes con insuficiencia renal moderada y enfermedad hepática la vida media de la ceftriaxona no se ve afectada. El aumento en la fracción de fármaco libre, por esta enfermedad, contribuye a un aumento en la depuración total y un tiempo de vida media normal, con un aumento en el volumen de distribución. El tiempo de vida media no aumenta en un paciente cirrótico o ascítico que también padezca insuficiencia renal debido al gran decremento en la fracción de fármaco unido a proteínas (64%) (Rex N. Brodgen R, 1988).

Cabe mencionar que estadísticamente la dosis eliminada por orina, determinada por Cl_r para fármaco total es un parámetro altamente influenciado por la dosis, mientras que para fármaco libre la cinética es dosis independiente .

FARMACOCINÉTICA DOSIS DEPENDIENTE DE CEFTRIAXONA

En un estudio en el que se administraron diferentes dosis de ceftriaxona (0.15, 1.0, y 1.5 g) por vía intravenosa, se encontró que aún cuando la vida media no varía al administrar diferentes dosis, las gráficas de concentración plasmática vs tiempo no son superponibles. Así, un aumento de 10 veces la dosis, produce un aumento de 7.4 veces el área bajo la curva. Esto significa que el valor de ABC es dosis dependiente y como consiguiente los parámetros que derivan de este valor. El valor de depuración total va de 9.7 mL/min (dosis de 150mg) a 13 mL/min (dosis de 1.5g), mientras que el volumen de distribución (V_d área, $V_d\beta$) va de 7L a 8.6L. Los experimentos de diálisis al equilibrio para determinar la unión de la ceftriaxona a albúmina muestran que la unión a esta proteína es un fenómeno no-lineal, es decir depende de la dosis. En el rango de 0.5-300 mg/L la fracción libre de fármaco aumenta de 0.04 a 0.167, es decir la proteína se satura.

A diferencia del perfil de ABC de fármaco total, el ABC de 0 a infinito para el fármaco libre aumenta de forma proporcional con la dosis y como consecuencia, los parámetros que dependen del ABC libre como la depuración de fármaco libre (Cl_f), y el volumen de distribución $V_d\beta_f$ son constantes e independientes de la dosis.

El perfil de concentración vs tiempo de fármaco libre es dosis independiente así como los parámetros de depuración y V_d que derivan de este valor. Estos datos indican que el organismo trabaja con la concentración de ceftriaxona libre por lo tanto el fenómeno dosis-dependencia en los parámetros farmacocinéticos de fármaco total es un artefacto de la dosis dependencia a proteínas plasmáticas (Stoeckel K, 1981).

FARMACOCINÉTICA EN PACIENTES CON TRANSPLANTE DE HÍGADO:

En pacientes con transplante de hígado los parámetros farmacocinéticos de los pacientes son notablemente diferentes en relación con valores normales lo cual se observa en la tabla 9. La C_p máxima es comparable a los valores normales, sin embargo se mantienen concentraciones más altas por más tiempo. La depuración total disminuye con relación a los individuos sanos. Esta reducción puede deberse a una disminución en la función hepática.

El volumen de distribución para el fármaco total fue mayor en estos pacientes mientras que para ceftriaxona libre se dio lo contrario. Se encontró una correlación entre V_d de fármaco total y los niveles de bilirrubina, lo que puede indicar que hubo competencia entre la ceftriaxona y la bilirrubina por los sitios de unión a albúmina. La disminución en el V_d del fármaco libre puede ser el resultado de una disminución de la entrada de ceftriaxona a tejidos.

El tiempo de vida media fue significativamente mayor en este grupo de pacientes, en la tabla 9 se presentan los parámetros farmacocinéticos alterados durante esta enfermedad. El porcentaje de dosis eliminado en orina no fue diferente del reportado en pacientes normales, mientras que el porcentaje eliminado por bilis se vio disminuido. Al parecer, la excreción urinaria es mayor en pacientes con trasplante, que en individuos normales, lo que indica que los riñones juegan un papel compensatorio.

Dado lo anteriormente expuesto se ha encontrado que se requieren dosis menores para prevenir infecciones en pacientes con trasplante hepático (Toth A, 1991).

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos después de una dosis de 2g de ceftriaxona en pacientes con trasplante de hígado

Parámetro	Valor normal	Pacientes con trasplante
Cp máxima (mg/L)	257	318
Cp a 12 h (mg/L)	46	70
Cp a 24 h (mg/L)	15	48
Cl total (ml/h)	1190	806
TMR (h)	12.3	29.9
Ke (h ⁻¹)	0.158	0.053
T _{1/2} (h)	5.8	13.1
% excreción urinaria	42	47.2
% excreción biliar	40	1.35

4.4 EFECTOS ADVERSOS

Las cefalosporinas son medicamentos con amplio margen de seguridad cuyas reacciones secundarias se presentan con poca frecuencia, no son graves y algunas veces requieren suspensión del tratamiento. La incidencia de efectos adversos alcanza del 7 al 8% de los casos la mayoría de los cuales son leves o transitorios y solo al 1.75 – 0.6% de los pacientes se les retira el medicamento (Brodgen R, 1988).

Algunos efectos pueden deberse a las propiedades fisicoquímicas del fármaco, a la vía de administración y/o dosis, o bien pueden estar mediadas inmunológicamente, relacionadas con el tamaño de dosis o duración del tratamiento.

El efecto adverso más frecuente es la reacción local relacionada con la vía de administración que es la erupción cutánea. Los efectos secundarios son independientes de la edad y sexo, pero se ha observado mayor incidencia en pacientes geriátricos y pediátricos que en adultos, y los cuadros de diarrea se presentan con mayor frecuencia en mujeres que en hombres. A dosis mayores de 100 mg/kg diarios hay mayor probabilidad de desarrollar reacciones adversas.

CLASIFICACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS

a) Reacciones de Hipersensibilidad: Por lo general las cefalosporinas son bien toleradas. Las reacciones adversas por hipersensibilidad como erupciones cutáneas o dermatitis se presentan después de varios días de tratamiento. Las erupciones están acompañadas de fiebre y eosinofilia.

En raras ocasiones ocurre que estas reacciones están mediadas por anticuerpos IgE presentándose urticaria, broncoespasmo y anafilaxia. Cuando las reacciones son por inmunidad celular se presenta leucopenia, trombocitopenia y anemia, estos síntomas son raros y desaparecen al discontinuar el medicamento.

A pesar de que la estructura entre cefalosporinas y penicilinas es semejante, la frecuencia de hipersensibilidad cruzada es baja. Solo el 5% de pacientes con antecedentes alérgicos a penicilina presentan también alergia a las cefalosporinas, es decir se considera seguro administrar cefalosporinas a individuos con antecedentes de hipersensibilidad a penicilinas no mediados por IgE (ej. rash cutáneo maculopapular). Sin embargo, no se deben utilizar cefalosporinas en pacientes que alguna vez hayan presentado reacciones de hipersensibilidad inmediata (ej. urticaria, angioedema, broncoespasmo, o anafilaxis) a penicilinas pues las consecuencias serían graves (Prescott J, 1993).

b) Reacciones Hematológicas: Se ha reportado sangrado en pacientes geriátricos, débiles, mal nutridos o con insuficiencia renal grave. Ello se debe a que la cefalosporina tiene un grupo metiltiotetrazol que se ha asociado a casos de hipoprotrombinemia. La ceftriaxona puede provocar coagulopatía en pacientes hipoprotrombinémicos en los que el tiempo de protrombina esta prolongado, pero estos casos son raros y reversibles con la administración de la vitamina K (10 mg/semana en adultos) (J. Prescott, 1993)

c) Reacciones Gastrointestinales: En este grupo se incluyen: náusea, vómito, anorexia, diarrea. Rara vez se presenta colitis pseudomembranosa asociada a *C. difficile*.

d) Reacciones Renales: Las cefalosporinas pueden incrementar temporalmente los niveles de nitrógeno uréico en sangre (BUN) sin elevar los niveles de creatinina, la probabilidad aumenta en adultos mayores a 50 años y en niños menores a 3 años. Aun cuando las cefalosporinas se consideran nefrotóxicas, a dosis altas de ceftriaxona (> 3 g) se puede presentar necrosis tubular, nefritis intersticial, hematuria, y nefropatía tóxica (Brodgen R, 1988).

e) Reacciones Hepáticas: Se ha observado un incremento en los niveles de ciertas enzimas como fosfatasa alcalina, LDH (lipoproteína de baja densidad), aminotransferasas, gamaglutamiltransferasas, además de aumento en la bilirrubina, hepatomegalia y hepatitis. Cabe resaltar que los niveles retornan a su normalidad al suspender el tratamiento.

f) Reacciones Locales: Al ser administradas por vía intramuscular, se presenta dolor en el sitio de inyección, induración, sensibilidad y aumento en la temperatura. Se han encontrado abscesos estériles cuando accidentalmente la administración es subcutánea.

g) Reacciones Diversas: Las cefalosporinas en general son irritantes y pueden causar tromboflebitis en el sitio de administración si la administración es intravenosa. No se recomienda la administración intratecal pues estudios en animales demuestran efectos neurotóxicos como alucinaciones y convulsiones. En particular la ceftriaxona puede desplazar a la bilirrubina de sus sitios de unión con la albúmina, por lo que se sugiere especial atención cuando se administra a niños prematuros y en casos de ictericia.

El riesgo de administración de cefalosporinas durante la gestación aun no se establece pero al igual que con las penicilinas no hay evidencia de teratogenicidad (Caprile K, 1988).

h) Sobredosis: Grandes dosis del medicamento pueden causar convulsiones en pacientes con insuficiencia renal, por lo que es recomendable reducir la dosis en estos casos (Kliver W, 1993).

i) Colonización Bacteriana: La ceftriaxona es capaz de eliminar parte de la flora intestinal normal tanto aerobia como anaerobia, rompiendo el equilibrio simbiótico intestinal aún más que otros antibióticos, por lo que en

neonatos y niños se ha observado una sobrepoblación con *Candida albicans*, pero raras veces se ha encontrado a *C. difficile* con casos de colitis pseudomembranosa (Caprile K, 1988).

j) Otros efectos adversos: glositis, candidiasis en boca y vagina, herpes labial, edema, agranulocitosis reversible, anemia hemolítica, leucotrombocitopenia y reacciones anafilácticas. Estos efectos se presentan rara vez (Brodgen R., 1988).

INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS:

- **Bebidas Alcohólicas:** Aun después de 72 horas de la administración de algunas cefalosporinas, se produce intolerancia a bebidas alcohólicas con reacciones semejantes a las presentadas con el disulfiram. La reacción empieza 30 minutos después de la ingestión de etanol y puede prolongarse desde 30 minutos hasta varias horas.
- **Aminoglicósidos:** Se ha observado que la posible nefrotoxicidad ocasionada por cefalosporinas se ve potenciada si se co-administra con aminoglicósidos.
- **Anticoagulantes orales:** Los efectos hipotrombinémicos se pueden incrementar al administrarse conjuntamente cefalosporinas y anticoagulantes orales, lo cual incluye a la heparina.
- **Bacteriostáticos:** Pueden interferir con la acción bactericida de las cefalosporinas particularmente en infecciones agudas por lo que es preferible evitar co-administrar agentes bacteriostáticos como el cloranfenicol.

INTERACCIONES CON PRUEBAS DE LABORATORIO

- Se pueden presentar reacciones falso-positivas de glucosa en orina con la solución de Benedict o Fehling. También es posible encontrar pruebas falso-positivas para proteinuria.
- Se presentan con frecuencia falsos positivos de niveles altos de colesterol.
- La reacción de Jaffé para determinar creatinina también tiene interferencias.

ANÁLISIS CLÍNICOS ANORMALES

- Las pruebas hematológicas anormales incluyen, trombocitosis, eosinofilia, leucopenia y trombocitopenia las cuales ocurren con una frecuencia del 14.4%.
- Se presentan valores anormales de las enzimas representativas de la función hepática.
- Los pacientes pediátricos menores a 10 años presentan con mayor frecuencia valores anormales en pruebas de laboratorio que cualquier otro tipo de pacientes.
- En neonatos con ictericia los niveles de bilirrubina libre y bilirrubina unida a eritrocitos se elevan significativamente. Lo anterior indica especial atención en pacientes neonatos con ictericia.

4.5 ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

Aspectos Teóricos

Los estudios de bioequivalencia han tenido gran auge en México en los últimos años, y más aún a partir de la emisión de la norma oficial mexicana (NOM) de emergencia emitida el 19 de marzo de 1998 (SSA 1998) complementada posteriormente por la NOM del 26 de marzo del mismo año que tiene como propósito establecer los medicamentos sujetos a bioequivalencia y los requisitos para operar como terceros autorizados para realizar pruebas de bioequivalencia. Sin embargo, en el documento denominado Requisitos para el Registro de Medicamentos en México ya se incluía una parte biofarmacéutica (SSA, 1990).

En el documento de 1998 se establecen las pruebas necesarias para acreditar la intercambiabilidad de medicamentos las cuales pueden ser: perfil de disolución o bioequivalencia tomando en cuenta su naturaleza, forma farmacéutica, uso terapéutico y farmacocinética.

La FDA en su suplemento de 1997 establece que dos productos son bioequivalentes con base a la regla del 20% aunque no la llama así, lo denomina como "bioequivalencia promedio". A diferencia de lo establecido por SSA, la FDA establece un intervalo de confianza entre 0.80 y 1.20 para datos crudos y 0.8 a 1.25 para datos con transformación logarítmica (USP XXIII)

Sin embargo, avances en estos estudios parecen indicar que en un futuro no bastará con determinar la bioequivalencia promedio sino que será necesario establecer la bioequivalencia intraindividual que permite asegurar que el paciente encontrará la misma efectividad en ambas formulaciones (Anderson y Hauck, 1990).

En general cada nación ha definido sus lineamientos para estudios de bioequivalencia tratando de armonizar internacionalmente pero tomando

en cuenta, según cada país, los fármacos de mayor empleo y legislación sanitaria.

En base a la NOM de marzo de 1998 se estableció que los medicamentos que deben someterse a pruebas de bioequivalencia son:

- Medicamentos sólidos orales con fármacos que requieran para su efecto terapéutico de una concentración estable y precisa, por tener un margen terapéutico estrecho.
- Los medicamentos empleados para enfermedades graves.
- Medicamentos de los cuales se tenga conocimiento, que tienen problemas de biodisponibilidad, es decir en casos de pobre absorción, efecto de primer paso significativo, eliminación presistémica, ventana de absorción y/o cinética no lineal.
- Los medicamentos que presenten propiedades fisicoquímicas adversas como baja solubilidad o inestabilidad.
- Los medicamentos que tengan forma farmacéutica de liberación modificada.
- Medicamentos que presenten una proporción elevada de excipientes respecto al principio activo.
- Medicamentos que sean de administración tópica para efecto sistémico, como supositorios, parches transdérmicos y geles de aplicación en mucosas.
- Combinaciones fijas de principios activos para acción sistémica.
- Medicamentos que sean de administración tópica de efecto no sistémico, cuya absorción sea riesgosa. El estudio de biodisponibilidad deberá demostrar su no-absorción.
- Antibióticos en presentación sólida con vía de administración oral, que previamente a la prueba de bioequivalencia deberán realizar, como parte de las pruebas de control de calidad, un estudio de concentración mínima inhibitoria (SSA, NOM 25/03/98).

Las pruebas de bioequivalencia constituyen el método más confiable hasta ahora para determinar si dos productos son equivalentes terapéuticos.

Para comprender lo que implica el término bioequivalencia es necesario definir primero el concepto de biodisponibilidad.

Biodisponibilidad: La definición de biodisponibilidad involucra dos conceptos uno estequiométrico que se refiere a la cantidad absorbida, eficiencia de absorción o disponibilidad sistémica, y el otro cinético o de velocidad de absorción, es decir, la biodisponibilidad de un medicamento comprende la cantidad absorbida y la velocidad con la cual un fármaco llega a circulación sistémica (Arancibia A, 1992).

Para medicamentos que se administran de forma crónica en regímenes de dosis múltiples, la cantidad de fármaco absorbida generalmente es mucho más crítica que la velocidad de absorción. En cambio en los fármacos que se emplean en una sola dosis, la velocidad de absorción suele ser de mucha importancia.

Aplicación de los estudios de biodisponibilidad:

- Estudios de bioequivalencia.
- Estudio y desarrollo de nuevas formulaciones.
- Estudio del efecto de la vía de administración.
- Estudio de nuevos regímenes de dosificación.
- Uniformidad de lote a lote.
- Evaluación de factores fisiológicos: edad, peso, enfermedad, alimentos, sexo, etc.
- Correlación: eficacia clínica y toxicidad.
- Factores farmacocinéticos y farmacogenéticos.

En algunos casos se ha visto que los estudios de bioequivalencia no siempre reflejan una equivalencia terapéutica, y que es necesario incluir en el protocolo medidas de la respuesta farmacológica con el objeto de confirmar la equivalencia (Arancibia A, 1992).

BIOEQUIVALENCIA:

Un estudio de bioequivalencia es un estudio de biodisponibilidad comparativa, en el que se compara la velocidad y la cantidad de fármaco que alcanza la circulación sistémica respecto a las dos formas farmacéuticas de las cuales una es el producto innovador y la otra el producto de prueba (Abdou H, 1989).

Esto quiere decir que los perfiles plasmáticos del fármaco después de la administración de los dos productos presentan una varianza estadísticamente controlada y dentro de los límites establecidos.

En un estudio de biodisponibilidad comparativo, no se prejuzga la cantidad de fármaco absorbido, ni la cinética de disponibilidad del principio activo. La comparación únicamente sirve para determinar la biodisponibilidad relativa del medicamento en estudio respecto al de referencia; es una búsqueda de una identidad en los resultados para justificar la posibilidad de intercambio sin riesgo para el paciente.

Productos que Requieren Estudios de Bioequivalencia según la FDA (H. Abdou H, 1989).

- Productos que no muestren efectos terapéuticos semejantes.
- Productos con un índice terapéutico estrecho.
- Cuando la falta de bioequivalencia signifique serios efectos adversos durante la terapéutica.
- Cuando factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco afecten la intercambiabilidad de medicamentos por ej. baja solubilidad en agua.
- Cuando estudios farmacocinéticos previos demuestren que el fármaco se absorbe muy poco por cualquier vía extravascular, si el medicamento sufre efecto del primer paso significativo, si el fármaco es

inestable en alguna porción del sitio de administración, cuando el medicamento tiene una cinética no lineal.

Bioequivalencia de Nuevos Productos

Se puede realizar estudios de bioequivalencia a fármacos nuevos. En el caso de administrar el medicamento por una vía extravascular y es necesario establecer la absorción según el sitio de administración. En estos estudios se utiliza como referencia una solución intravenosa del fármaco.

Bioequivalencia de Productos ya Existentes:

Desde 1962 en EUA se considera la posibilidad de que existan medicamentos con el mismo principio activo, es decir duplicadas del mismo ya sea en la misma o en diferente forma farmacéutica, para lo cual fue necesario realizarles estudios de bioequivalencia para determinar la fracción de la dosis absorbida de ambos medicamentos y determinar que entre ellos no existen diferencias estadísticamente significativas.

Para estos estudios se toma en cuenta que los sujetos se someterán a tratamiento con ambos medicamentos, que diferencias en la absorción pueden ser atribuidas a variaciones en la liberación del fármaco en fluidos biológicos y que si ambos productos tienen la misma velocidad de absorción aún cuando este involucrados procesos saturables no será necesario realizar estudios sobre ellos.

Se considera como producto de referencia al que salió primero al mercado.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño y análisis experimental están determinados por los parámetros a evaluar, el objetivo es identificar y aislar las fuentes de

variación para que las comparaciones de interés sean lo mas precisas posibles.

En estudios de bioequivalencia se utiliza principalmente dos tipos de diseño experimental: a) El de bloques completos al azar paralelo y b) De bloques completos al azar cruzado. El primero se utiliza pocas veces y principalmente cuando la vida media del fármaco es tan larga que sería muy prolongado el periodo de lavado así que cada grupo de voluntarios recibe diferente tratamiento (W. Westlake, 1973).

Se prefiere el diseño cruzado en donde los sujetos reciben todos los tratamientos pues el tamaño de muestra puede ser menor manteniendo una sensibilidad razonable. Se reduce el error experimental eliminando la variación interindividual, el voluntario funciona como su propio control. El periodo de lavado es crítico pues al existir aun residuos antes de la administración del segundo producto se acarrean efectos residuales entre un periodo y otro (Cárdenas H, 1996).

Fuentes de Variación en un Diseño Cruzado:

Variación No-Controlable: variación entre sujetos (intra e interindividual), diferencias de formulaciones, interacción sujeto formulación, fluctuación aleatoria

Variación Controlable: Efectos residuales (fármaco-metabolito, inducción /inhibición metabólica), factor tiempo: tiempos de muestreo y factores de almacenamiento, factores fisiológicos como alimentación o vaciamiento gástrico.

PARÁMETROS A DETERMINAR:

Para la determinación de la intercambiabilidad de un medicamento es necesario determinar y comparar los siguientes parámetros:

- Area Bajo la Curva (**ABC**).
- Concentración plasmática máxima (**Cp max**).

TAMAÑO DE LA MUESTRA

El número de sujetos requerido para un estudio de bioequivalencia debe ser estimado para el diseño establecido. La fórmula siguiente es la empleada para calcular este parámetro

$$n \geq 2(t_{\alpha/2} + t_{\beta})^2 \times \sigma^2 / \Delta^2$$

Δ = La diferencia mínima entre las formulaciones respecto a un parámetro farmacocinético que sea compatible con la seguridad y eficacia. La FDA recomienda $\Delta \pm 20\%$

α = La probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera. Probabilidad de cometer error tipo I.

$1-\beta$ = Probabilidad de detectar Δ si realmente existe (Poder de la prueba)

σ^2 = La varianza del error.

Como se puede notar para determinar el número de muestra es necesario que hayan antecedentes clínicos, para poder conocer σ^2 , la varianza del error. Existen algunas publicaciones donde se presenta información sobre el coeficiente de variación intrasujeto para algunos fármacos necesario para calcular el tamaño de la muestra (V. Steinijs, 1995).

En la actualidad existen varias fórmulas para determinar el tamaño de muestra, las cuales derivan del procedimiento de Schuirman, útiles para estudios de bioequivalencia con diseños cruzados de orden superior (K, Chen, 1998).

CRITERIOS PARA DESIGNAR BIOEQUIVALENCIA

Análisis estadístico

Para tomar la decisión de establecer si dos productos son bioequivalentes existen diferentes criterios. En un principio se utilizó la regla de decisión 75/75 según la cual "se consideran bioequivalentes dos productos si al menos en el 75% de los individuos la formulación problema presenta una biodisponibilidad relativa superior al 75% de la que presenta la formulación de referencia" sin embargo, este criterio no duró mucho pues no considera probabilidades e intervalos de confianza. Por ello se sustituye por la regla de decisión del 20% que acepta como bioequivalentes a formulaciones en las que los valores medios del área bajo la curva o Cp. max difieran menos de un 20%. Es decir que el cociente entre las medias debe estar comprendido entre 0.8 y 1.2 (Aranciba A, 1992).

Debido a que en los estudios de bioequivalencia no se espera conocer si la absorción del fármaco estudiado es idéntica a la de la formulación de referencia sino qué tanto difiere de ella, para evitar terapias inefectivas (la media de la formulación de prueba es menor a la de referencia), así como evitar problemas de toxicidad (la media del producto de prueba μ_p es mayor a la de referencia μ_r), se ha propuesto usar límites para la decisión de bioequivalencia. De aquí que μ_p y μ_r sean consideradas bioequivalentes si su cociente μ_p/μ_r se encuentra en el rango de $\pm 20\%$ de la formulación de referencia, es decir:

$$0.8 \leq \mu_p/\mu_r \leq 1.2$$

La técnica que considera el cálculo de estos límites es el uso de intervalos de confianza, los cuales pueden construirse de la manera clásica, o con la modificación de Westlake (Cárdenas H, 1996).

Intervalos de confianza clásicos:

$$\mu_r - t_{(1-\alpha, g|E)} (2s^2/n)^{1/2} - (Y_r - Y_p) \leq \mu_p \leq \mu_r + t_{(1-\alpha, g|E)} (2s^2/n)^{1/2} - (Y_r - Y_p)$$

Intervalos de confianza de Westlake:

El principal problema de los intervalos de confianza clásicos para μ_p es que en general no son simétricos alrededor de μ_r . Por eso Westlake propone el uso de intervalos simétricos (Westlake W, 1973).

$$\mu_r + k_2 (2s^2/n)^{1/2} - (Y_r - Y_p) \leq \mu_p \leq \mu_r + k_1 (2s^2/n)^{1/2} - (Y_r - Y_p)$$

Donde k_1 y k_2 son constantes de la tabla de la distribución t de student a un nivel de significancia α .

La Secretaría de Salud (SSA) en la NOM de Marzo de 1998: establece que para determinar a dos productos como intercambiables es necesario presentar la siguiente información:

- Área bajo la curva ABC, (del perfil Concentración vs tiempo).
- Concentración plasmática máxima.
- Análisis de Varianza (ANOVA) de ABC y C_p max.
- El valor de ABC 0-t en un intervalo de confianza del 90% deberá estar entre 0.80 y 1.25 cuando los datos tienen transformación logarítmica y entre 80 y 120% al trabajar con datos crudos.
- Para el caso de la concentración plasmática máxima hay mayor variabilidad y puede ser necesario un intervalo más amplio, el cual deberá ser justificado.
- Tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima, T_{max} , solo tiene sentido su evaluación estadística si puede sostenerse la existencia de una liberación rápida o de una acción rápida o la presencia de efectos adversos. El intervalo de confianza para este parámetro debe estar dentro de un intervalo determinado clínicamente.

PERSPECTIVAS A FUTURO

El punto crítico en la controversia biodisponibilidad/bioequivalencia es que la SSA y FDA no establecen la determinación de equivalencia terapéutica. Así como la SSA, la FDA define a la biodisponibilidad basada en el principio de absorción a través de la medición de niveles plasmáticos del medicamento, lo que considera que corresponde a las concentraciones de fármaco en el sitio de acción.

De aquí que las pruebas de bioequivalencia asuman que los niveles plasmáticos pueden predecir con precisión los efectos clínicos. Sin embargo esta relación es difícil de establecer cuantitativamente. La experiencia clínica demuestra que aunque existan diferencias significativas en la biodisponibilidad de dos productos no necesariamente tienen diferencias en su eficacia clínica. Por otro lado, medicamentos con biodisponibilidad equivalente pueden presentar diferencias terapéuticas importantes.

Lo anterior muestra la necesidad de encontrar mejores diseños de bioequivalencia así como interpretación y experimentación de estos estudios.

Además, es necesario desarrollar la metodología necesaria para demostrar equivalencia terapéutica midiendo los efectos farmacológicos y clínicos de forma precisa. Hasta la fecha esto presenta complicaciones éticas, económicas y metodológicas (Abdou H, 1989).

5. MÉTODOS ANALÍTICOS

Para Cuantificar Ceftriaxona en Fluidos Biológicos

Existen diferentes métodos para cuantificar ceftriaxona en fluidos biológicos. Los métodos más empleados son los que usan la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR/HPLC).

La ceftriaxona es una sal disódica, muy soluble en agua. Esta propiedad se aprovecha para mantenerla en solución acuosa ajustando el pH. Los métodos de extracción generalmente solo precipitan las proteínas de la muestra biológica con disolventes como acetonitrilo o metanol y sin mayor tratamiento se inyecta al sistema cromatográfico. A continuación se presentan algunos de ellos:

1983: V. Ascalone desarrolló un método analítico para la cuantificación de ceftriaxona, en plasma, orina y saliva. utilizó una técnica cromatográfica, en una columna de fase normal con grupos NH_2 unidos a la fase estacionaria, y una fase móvil con acetonitrilo, agua y carbonato de amonio en una proporción (70:10:4). La detección del compuesto se realizó por UV a una longitud de onda de 274nm, el tiempo de retención de la ceftriaxona en estas condiciones fue de 7.5 min. El proceso al que se sometieron las muestras biológicas fue relativamente simple: El plasma se diluyó con agua, se añadió acetonitrilo, se agitó y centrifugó, el sobrenadante se inyectó al sistema cromatográfico.

1984: D. Bowman determinó esta cefalosporina en diferentes fluidos biológicos, incluyendo líquido cefaloraquídeo, por cromatografía en fase reversa por pares de iones utilizando un modificador de fase para ácidos débiles, el hexadeciltrimetilamonio (HDTMA), con el fin de evitar el coleo cromatográfico producido por los grupos carboxilos de la molécula. Este método detecta al fármaco a 280nm. El método de extracción es muy similar al de V. Ascalone pero en este caso se utilizó una columna de fase reversa y la fase móvil cambió de proporción a 40% ACN, 60% de fase acuosa modificada con un amortiguador de fosfatos 50mM pH 7.0 más el reactivo de pares de iones (HDTM), la ceftriaxona

presentó un tiempo de retención de 7 min. Se demostró precisión, sensibilidad y exactitud.

1988: L. Hakim cuantificó dos cefalosporinas, la ceftriaxona y la cefotaxima. El método se desarrolló por cromatografía en fase reversa utilizando como eluente metanol y buffer de fosfatos en una proporción 23:77. El proceso de extracción se llevó a cabo con metanol, posteriormente se realizó una centrifugación e inyección del sobrenadante al cromatógrafo, la ceftriaxona tuvo un tiempo de retención de 7.6 min. Se detectó por espectroscopía UV a 254nm.

Junto con la determinación por HPLC, la determinación microbiológica de ceftriaxona ha sido la más utilizada. B. Scully et al en 1984 realizaron una comparación entre ambos métodos para determinar niveles plasmáticos de ceftriaxona y como se muestra en la tabla 10 no hay diferencias entre ambos métodos. Cabe mencionar que el bioensayo es más caro y requiere de más material y tiempo.

Tabla 10. Comparación de niveles plasmáticos de ceftriaxona por HPLC y por ensayo microbiológico. 1g Administración intramuscular.

Tiempo h	HPLC mg/L	Bioensayo mg/L
0.25	33	30
1	51	64
4	66	74
8	68	54
12	36	40
24	15	15

PARTE EXPERIMENTAL



6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 EQUIPO Y ESTÁNDARES UTILIZADOS

SUSTANCIAS DE REFERENCIA

- Ceftriaxona. Sigma, lote 87H0145. Potencia: 820 $\mu\text{g}/\text{mg}$
- Cefotaxima PISA, lote S-38. Potencia: 889 $\mu\text{g}/\text{mg}$

REACTIVOS

- Acetonitrilo HPLC Mallinckdrot
- Cloroformo HPLC Mallinckdrot
- Agua HPLC
- Fosfato de potasio monobásico, Mallinckdrot R.A.
- Fosfato de potasio dibásico trihidratado, Merck R.A.
- Hidróxido de potasio Mallinckdrot R.A.
- Tubos eppendorf de 2mL

EQUIPO

- Micro centrifuga SIGMA
- Vortex THERMOLYNE
- Micropipetas EPPENDORF
- Baño de ultrasonido COLE PARMER 8890
- Balanza analítica OHAUS AS200
- Potenciómetro CORNING MODELO 7

EQUIPO CROMATOGRÁFICO

- Bomba System Gold Beckman 116
- Autoinyector System Gold Beckman 507
- Detector UV-VIS System Gold Beckman 166
- Software System Gold Beckman Version 5.0

PRODUCTO INNOVADOR:

Rocephin, ROCHE. Ampolletas con 1g de ceftriaxona. Agua inyectable con lidocaína.

PRODUCTO EN ESTUDIO:

Cefaxona, PISA. Ampolletas con 1g de ceftriaxona. Agua inyectable con lidocaína.

6.2 SOLUCIONES UTILIZADAS

- **Solución de Hidróxido de Potasio (KOH) 4M.** Pesar 2.32g de KOH grado analítico y disolver en 50 mL de agua desionizada y aforar a 100ml con agua desionizada.
- **Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.3 0.25M:** Pesar 31.8107g de Fosfato monobásico de potasio R.A. y 15.0506g de fosfato dibásico de potasio. Disolver en 800 mL de agua desionizada. Ajustar el pH a 7.3 con hidróxido de potasio 4M. Aforar a 1L. Filtrar por membrana 0.45 μ m. Guardar en refrigeración a -4°C.
- **Fase Móvil:**
 - a. De la solución amortiguadora de fosfatos pH 7.3 0.25M tomar 100 mL y aforar a 1L con agua desionizada, de tal forma que se obtiene una solución 25mM.
 - b. A 100 mL de acetonitrilo HPLC se le añade 900 mL de la solución amortiguadora de fosfatos 25mM para obtener una proporción 10:90. Mezclar bien, filtrar por membrana de 0.45 μ m de nylon y degasificar en baño de ultrasonido por 15 minutos. La fase móvil se preparó cada día de trabajo.
- **Plasma:** Para la preparación de las curvas patrón y durante el desarrollo del método se utilizó plasma proveniente del banco de sangre del INNN, el cual se encontraba libre de pirógenos y certificado de VIH, hepatitis B, factor Rh y grupo sanguíneo. El plasma se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos antes de utilizarlo, el sobrante se almacenó a -20°C.
- **Solución Patrón de ceftriaxona:** pesar con exactitud 0.0026g (pureza 82%) de ceftriaxona, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 10mL disolver y llevar al aforo con plasma. Esta solución se preparó cada día de trabajo la concentración es de 200 μ g/.L.
- **Solución Patrón de cefotaxima**(estándar interno, pureza 88%). Pesar con exactitud 0.005g de cefotaxima, transferir a un matraz volumétrico de 10mL, disolver y llevar al aforo con plasma. Esta solución se prepara cada día de trabajo. La concentracin de esta solución es de 500 μ g/mL
- **Preparación de la curva patrón:** En la tabla 11 se presenta la preparación de la curva patrón y en la tabla 12 la preparación de las muestras de control de calidad empleadas en el estudio.

Tabla 11: Preparación de la curva patrón para cuantificar ceftriaxona.

SOLUCIÓN	ALICUOTA	AFORO	CONCENTRACIÓN
Patrón Ceftriaxona	2mL	5mL	80 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	1.25mL	5mL	50 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	250µL	5mL	10 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	125µL	5mL	5 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	62.5µL	5mL	2.5 µg/mL

- Preparación de las soluciones para puntos de control:**

Se prepararon tres muestras de control de calidad de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 12: Preparación de los puntos control para la cuantificación de ceftriaxona.

SOLUCIÓN	ALICUOTA	AFORO	CONCENTRACIÓN
Patrón Ceftriaxona	2mL	5mL	80 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	250µL	5mL	10 µg/mL
Patrón Ceftriaxona	62.5µL	5mL	2.5 µg/mL

6.3 MÉTODO ANALÍTICO

El método analítico utilizado para el presente estudio fue adaptado del que desarrolló Hakim en 1988.

Se utilizó una columna cromatográfica para fase reversa C18, 25 mm de largo por 4.6 mm de diámetro interno, marca Phenomenex Prodigy con tamaño de partícula de 5µm y de forma esférica, con alto porcentaje de carbono (endcapping) para evitar el coleo.

Las adaptaciones al método fueron las siguientes: a) se utilizó acetonitrilo para precipitar las proteínas del plasma en lugar de metanol, (pues éste degrada a la ceftriaxona), b) se utilizó acetonitrilo en la fase móvil en lugar de metanol, por compatibilidad con la muestra c) la proporción de fase orgánica disminuyó de 23% utilizado por Hakim a 10% ya que el acetonitrilo posee mayor fuerza de elución que el metanol.

Se incorporó al método un estándar interno con el fin de cuantificar la recuperación de la ceftriaxona, a partir de la matriz plasmática.

La longitud de onda utilizada fue, al igual que el método desarrollado por Hakim de 254nm y el tiempo de elución de la ceftriaxona fue de 5.9 minutos mientras que el del estándar interno fue de 15 min.

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

- **Columna:** Prodigy ODS 2 25 x 4.6mm
- **Precolumna:** cartucho C18
- **Longitud de onda:** 254 nm (UV)
- **Temperatura:** Ambiente
- **Tiempo de corrida:** 17 minutos
- **Tiempo de retención de la ceftriaxona:** 5.9 minutos
- **Velocidad de Flujo:** 0-7 min = 0.8 ml/min, 8-17 min = 1.2 ml/min
- **Volumen de inyección:** 30 μ l
- **Presión de la columna:** 200 MPa a 0.8 ml/min, 280 MPa a 1.2 ml/min
- **Fase móvil:** Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.3, 25 mM: Acetonitrilo (90:10 v/v)
- **Tiempo de retención de la cefotaxima:** 15 minutos

6.3.1 PROCESO DE EXTRACCIÓN DE CEFTRIAXONA EN PLASMA:

1. En un tubo eppendorff de 2ml colocar 200 μ L de cada concentración de la curva de calibración de ceftriaxona en plasma o de la muestra de cada voluntario.
2. Añadir 30 μ l de la solución stock de CEFOTAXIMA como estándar interno a una concentración de 500 μ g/ml.
3. Añadir 20 de Buffer de fosfatos 25mM pH 7.3. Mezclar en vortex.
4. Agregar 300 μ l de acetonitrilo, mezclar en vortex.
5. Centrifugar a 15000rpm por 5min.
6. Tomar el sobrenadante y transferir a otro tubo eppendorf.
7. Agregar 500 μ l de CHCl_3 mezclar en vortex por 30s y centrifugar a 15000rpm por 5min.
8. Inyectar al cromatógrafo 30 μ l de la fase acuosa

En la figura 4 se esquematiza el proceso utilizado:

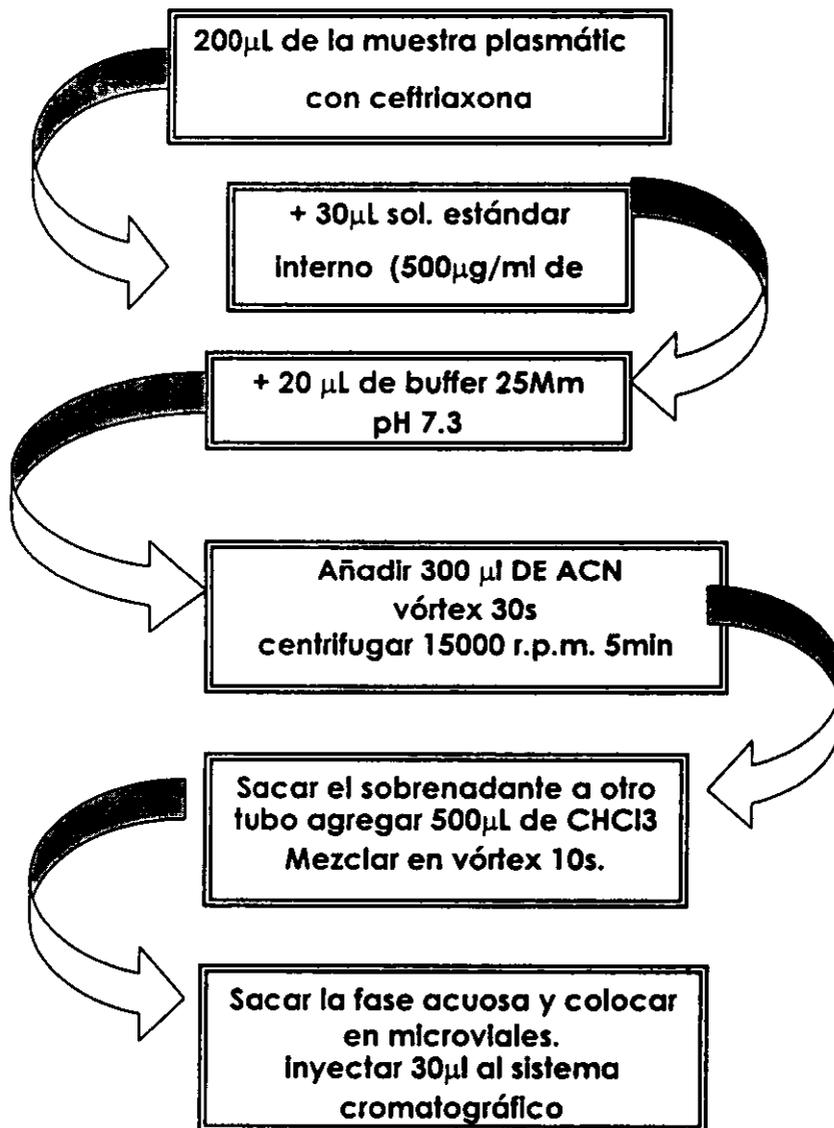


Figura 4: Preparación de muestras para la cuantificación de ceftriaxona en plasma.

6.4 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

6.4.1 Validación del Sistema: Se validó la linealidad y precisión del el sistema cromatográfico, Inyectando tres curvas de ceftriaxona en solución acuosa en el rango de concentración de 1 a 80 $\mu\text{g/ml}$, durante tres días consecutivos, se el promedio de las concentraciones obtenidas y su coeficiente de variación así como el coeficiente de correlación, la pendiente y la ordenada al origen.

6.4.2 Validación del método analítico: Los parámetros utilizados para la validación del método analítico fueron:

- Selectividad
- Especificidad
- Linealidad
- Precisión (Intradía e Interdía)
- Exactitud
- Porcentaje de Recobro
- Cantidad Mínima Cuantificable
- Cantidad Mínima Detectable
- Estabilidad
- Tolerancia

1. **Selectividad del método analítico:** Se evaluó inyectando una muestra de plasma y comparándola con una muestra de plasma añadida de ceftriaxona y el estándar interno. Se demostró que los compuestos endógenos del plasma no interfieren en la determinación de ceftriaxona.

2. **Especificidad del método analítico:** Se evaluó la interferencia de componentes que posiblemente contendría la muestra como cafeína, ácido acetil salicílico, acetaminofén, heparina, sulfanilamida y ácido oxálico. Los compuestos se adicionaron a una muestra plasmática conteniendo ceftriaxona a una concentración de 80 mg/L y los demás compuestos a 50 mg/L. Se demostró que el método analítico es capaz de cuantificar a la ceftriaxona sin interferencia de otros posibles componentes.

3. **Linealidad del método analítico:** La linealidad del método se determinó preparando tres curvas patrón con cinco puntos de concentración por tres días. Se graficó la relación de áreas de ceftriaxona/estándar interno contra la concentración de fármaco en un intervalo de 2.5-80 $\mu\text{g/mL}$. Para cada una de las curvas se determinó, el coeficiente de correlación [r], la pendiente [m], y la ordenada al origen [b].

4. **Precisión del método analítico:** La precisión se evaluó en dos partes: precisión intradía y precisión interdía. Para ello se prepararon tres curvas patrón, cada día, por tres días a todas las concentraciones de la curva de calibración y se analizó por triplicado en un solo día para la precisión intradía y también por triplicado durante tres días para la precisión interdía.
 - a) **Precisión intradía:** Se calculó el promedio, la desviación estándar [σ] y la desviación estándar relativa (DER) de todas las muestras analizadas ese día.

b) Precisión interdía: Se calculó el promedio, la desviación estándar $[\sigma]$ y la desviación estándar relativa (DER) de la concentración de todas las muestras analizadas en los tres días.

- 5. Porcentaje de Recobro:** El recobro de ceftriaxona en muestras plasmáticas se evaluó en todos los niveles de concentración de la curva de calibración comparando con los valores obtenidos en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.3 (25mM). El experimento se realizó por triplicado.
- 6. Límite de Cuantificación:** Se determinó analizando por triplicado diluciones sucesivas de la concentración más baja del intervalo (80-2.5 $\mu\text{g/ml}$). Se consideró como la concentración mínima cuantificable aquella que se detecte con precisión y exactitud dentro de los límites para fluidos biológicos: $\pm 20\%$.
- 7. Límite de Detección:** La señal del ruido se multiplicó por tres y la concentración correspondiente se consideró como el límite de detección. Este valor se corroboró haciendo diluciones sucesivas y la concentración que ya no se distinguía del ruido fue similar a la obtenida anteriormente.
- 8. Estabilidad:** Se determinó la estabilidad de la muestra en a) condiciones de congelación a -20°C . Para ello se prepararon muestras en de cada uno de los puntos de la curva de calibración por triplicado, se analizaron el día de la preparación y hasta que cumplieron con un periodo de cinco semanas. b) Se determinó la estabilidad de la muestra sometida a cinco ciclos de congelación descongelación de -20°C a temperatura ambiente, también por triplicado.

9. Tolerancia: Para demostrar la tolerancia del método se realizaron algunas variaciones al método para evaluar su influencia en la determinación de ceftriaxona. Las variables fueron las siguientes:

- Cambio en la proporción de la fase móvil: del 10 al 15% de ACN.
- Cambio en el flujo de la fase móvil de 0.8 a 1.5.
- Cambio de pH: El pH de trabajo osciló entre 6.0 y 7.4.
- Hemólisis de la Muestra: Previendo la hemólisis de la muestra durante el estudio se investigó si el método analítico se vería influenciado por los compuestos de la hemólisis.

6.5 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA

PROTOCOLO DEL ESTUDIO

6.5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL:

El estudio se realizó de acuerdo a un diseño aleatorizado cruzado de dos periodos, dos secuencias. En un principio la aleatorización fue balanceada en bloques de 7 sujetos cada uno, sin embargo un voluntario del primer bloque se retiró antes de iniciar el estudio.

6.5.2 FASE CLÍNICA:

El estudio se llevó a cabo en la Unidad Metabólica del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (3° piso de la Torre Redonda).

6.5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Voluntarios de sexo masculino con edades entre 18 y 40 años, de nacionalidad mexicana.
- Sujetos en buen estado de salud según datos de biometría hemática, química sanguínea, función renal, función hepática.
- Sujetos con peso corporal dentro de los parámetros considerados normales con una variación máxima de $\pm 10\%$ según su complejión y estatura.
- Los voluntarios deben presentar signos vitales normales.

6.5.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Voluntarios con insuficiencia renal y hepática..
- Coadministración de cualquier otro medicamento aún bajo supervisión médica.

- Voluntarios que en la historia clínica hubiesen manifestado haber presentado alguna vez reacción alérgica a compuestos beta lactámicos.
- Sujetos que durante el estudio requieran algún medicamento
- Sujetos que por alguna razón fueran hospitalizados en las ocho semanas anteriores al estudio o que sufrieron una enfermedad clínicamente importante en las cuatro semanas anteriores al estudio.
- Sujetos tratados con algún medicamento experimental en las cuatro semanas anteriores al estudio.
- Sujetos que hubieran tomado medicamentos (excepto aspirina) durante los 14 días o 5 tiempos de vida media (lo que sea más prolongado) antes de iniciar el estudio, o cualquier producto que no requiera receta médica en los tres días previos al estudio, o que hubieran sido tratados en los tres meses anteriores al estudio con cualquier medicamento de toxicidad potencial conocida.
- Sujetos que hubieran tomado hipnóticos, sedantes, antihistamínicos y otros fármacos inductores enzimáticos durante los 15 días anteriores al estudio.
- Sujetos que ingirieron cafeína o alcohol en las 48 horas antes del estudio.
- Sujetos que hubieran donado o perdido 450ml o más de sangre en los dos meses previos al estudio.
- Sujetos con antecedentes de fármaco-dependencia o alcoholismo.

6.5.5 INFORME DE CONSENTIMIENTO

Cada voluntario fue informado sobre la naturaleza y objetivo del estudio, así como de los efectos secundarios de la ceftriaxona y las indicaciones a seguir durante la realización del estudio. En el apéndice III, se encuentra una copia de las hojas de consentimiento que firmaron los voluntarios y la información proporcionada a los mismos.

El estudio se llevó a cabo siguiendo los lineamientos de la Convención de Helsinki y fue sometido para su aprobación al comité de ética del hospital.

6.5.6 ANÁLISIS CLÍNICOS REALIZADOS

Para evaluar si el sujeto estaba en condiciones de salud adecuadas se realizaron los siguientes estudios:

1. Química Sanguínea: glucosa, nitrógeno uréico, urea, creatinina.
2. Función Hepática: bilirrubina total, bilirrubina directa e indirecta, fosfatasa alcalina, proteínas totales, albúmina sérica, globulinas.
3. Examen General de Orina: color, aspecto, densidad, pH, proteínas glucosa, cuerpos cetónicos, bilirrubina, sangre, nitritos, urobilinógeno, leucocitos, eritrocitos y células epiteliales.
4. Placa torácica.
5. Electrocardiograma.
6. Exploración física y antecedentes patológicos y hereditarios.

6.5.7 ASIGNACIÓN DE LOS MEDICAMENTOS

A los productos bajo estudio se les eliminaron las etiquetas que definían su nombre comercial con el fin de que el estudio fuera ciego. A cada voluntario se le asignó un medicamento al azar para cada período.

PRODUCTO DE REFERENCIA (B)**NOMBRE:** ROCEPHIN, CEFTRIAXONA 1000 mg**PRESENTACIÓN:** Solución inyectable con lidocaína**LABORATORIO:** ROCHE**No. DE LOTE:** 9802503**FECHA DE CADUCIDAD:** 11 FEB 00**PRODUCTO DE PRUEBA: (A)****NOMBRE:** CEFAXONA 1000 mg**PRESENTACIÓN:** Solución inyectable con lidocaína**LABORATORIO:** PISA**No. DE LOTE:** 018394**FECHA DE CADUCIDAD:** 29-I-00**6.5.8 TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

Antes de administrar el medicamento se tomo una muestra plasmática a la que se denominó tiempo 0 para utilizar como blanco durante el análisis de muestras. El medicamento fue administrado en la parte superior derecha del glúteo.

Se colectaron muestras de 7ml de sangre en tubos heparinizados, las cuales se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 10 minutos. El plasma se transfirió a tubos de vidrio sin aditivos y previamente etiquetados. Cada muestra se dividió en dos y se mantuvieron en congelación hasta el momento de su análisis.

La toma de muestras fue a los tiempos: presentados en la tabla 13.

Tabla 13. Tiempos de muestreo.

TIEMPO	Tiempo de muestreo	Hora programada
1	0	7:15am
TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN		7:30am
2	15min	7:45am
3	30min	8:00am
4	45min	8:15am
5	1h	8:30am
6	1.5h	9:00am
7	2h	9:30am
8	2.5h	10:00am
9	3h	10:30am
10	3.5h	11:00am
11	4h	11:30am
12	6h	13:30pm
13	8h	15:30pm
14	12h	19:30pm
15	24h	7:30am del 2º día
16	36h	7:30pm del 3º día

Se dejó una semana de lavado entre la administración de ambas formulaciones para permitir la eliminación del fármaco administrado durante el primer periodo.

El estudio fue doble ciego ya que durante el estudio ni los médicos, ni el analista, ni los voluntarios, conocían la identidad de los productos en la siguiente tabla se muestra la asignación al azar de los medicamentos.

Tabla 14. Asignación al azar de los medicamentos en estudio.

Subgrupo	Voluntario	Periodo I	Periodo II
1	2,7,9,10,11,13,14	Administración del producto A	Administración del producto B
2	1,3,4,5,6,8,12	Administración del producto B	Administración del producto A

6.5.9 ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTOS Y BEBIDAS

Los sujetos se internaron en el INNSZ desde el día anterior al estudio a las 20:00 h. Los voluntarios se abstuvieron de ingerir alimentos y bebidas desde su llegada al hospital.

La ingestión de agua fue ad libitum. El desayuno se proporcionó 3h después de la administración del medicamento, la comida 7 h después y la cena 12 h después. (Los alimentos consistieron en menús estándares incluyendo los cuatro grupos principales de alimentos, no se incluyó café o té).

6.5.10 ANÁLISIS QUÍMICO

Una vez concluido la fase clínica se analizaron todas las muestras de un sujeto en el mismo día de acuerdo a los lineamientos descritos en la NOM 177SSA-1999. El análisis de las muestras se llevó a cabo al terminar el estudio clínico.

6.5.10.1 Curvas Patrón: Cada día de análisis se incluyó una curva patrón con cinco puntos en el intervalo de 2.5 a 80 $\mu\text{g/ml}$. También se procesaron blancos de plasma para evaluar las posibles interferencias de compuestos biológicos.

De la curva patrón se determinó la pendiente [m], el coeficiente de correlación [r] y la ordenada al origen [b].

6.5.10.2 Puntos Control: Cada día de análisis se incluyó un grupo de puntos de control de calidad preparados a tres niveles de concentración dentro del intervalo de trabajo (alto, medio y bajo). Se insertaron por duplicado y entre las muestras a analizar (cada siete muestras). Los niveles de concentración utilizados fueron (80,50 y 2.5 $\mu\text{g/ml}$).

Las respuestas de los puntos de control de calidad se utilizaron como criterio para la aceptación o rechazo de un día de análisis. Este criterio establece que no más de dos puntos control deben caer fuera del intervalo de $\pm 15\%$ del valor verdadero.

6.5.11 ACTIVIDAD FÍSICA Y POSTURA:

Durante el estudio los voluntarios permanecieron sentados, recostados y en algunas ocasiones caminaban y no se les permitió actividad física extenuante.

6.5.12 REACCIONES ADVERSAS

Los médicos responsables, investigadores y enfermeras permanecieron todo el tiempo con los voluntarios con el fin de registrar cualquier tipo de reacción adversa debida al medicamento.

6.5.13 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos además de los necesarios para determinar bioequivalencia empleando los programas BIOPAK, JANA y PCNONLIN:

- Tiempo de Vida media $t_{1/2}$ (BIOPAK).
- Tiempo Medio de Residencia TMR (EXCEL).
- Constante de eliminación, (k_e).
- Constante de Absorción, (k_a JANA).
- Depuración (EXCEL).
- Volumen de Distribución (JANA).
- AUMC 0-t y 0-inf (BIOPAK).
- Microconstantes del Modelaje compartimental (PCNONLIN).

6.5.14 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS PARA DETERMINAR BIOEQUIVALENCIA

- Área Bajo la Curva hasta el último tiempo de muestreo (ABC 0-t).
- Área Bajo la Curva hasta infinito (ABC 0- inf).
- Concentración plasmática máxima (Cp max).
- Intervalos de confianza clásico y de Westlake para cada parámetro.
- Prueba de Anderson Hauck
- Poder de la Prueba
- ANOVA evaluando los efectos de secuencia.
- T de student para los principales parámetros farmacocinéticos

RESULTADOS



7. RESULTADOS

7.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS FINALES

Las condiciones finales utilizadas en el presente estudio, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 15. Condiciones cromatográficas finales

Columna	Prodigy ODS 2 25 x 4.6mm
Precolumna	C18
Longitud de onda	254 nm (UV)
Temperatura	Ambiente
Tiempo de corrida	17 minutos
Tiempo de retención de la ceftriaxona	5.9 minutos
Velocidad de Flujo	0-7min = 0.8mL/min 8-17min = 1.2mL/min
Volumen de inyección	30 μ l
Presión de la columna	200 MPa a 0.8 mL/min, 280 MPa a 1.2mL/min
Fase móvil	Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.3, 25mM: Acetonitrilo (90:10 v/v)
Tiempo de retención de la cefotaxima	15 min.

7.2. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

7.2.1 Linealidad y precisión del sistema: En la Tabla 16 se presentan los valores de precisión del sistema en base al coeficiente de variación (%CV) y los resultados de los parámetros de linealidad del sistema y precisión del mismo. En la figura 5 se observa gráficamente la linealidad del sistema.

Tabla 16 Determinación de la linealidad y precisión del sistema

Conc mg/L	Respuesta área ceftriaxona/área estándar interno			Promedio	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3		
1	0.8200	0.84336	0.86277	0.840204	2.5410
5	4.54800	4.62191	4.6512	4.59397	0.8732
10	10.05441	10.2501	10.2227	10.1757	1.0416
40	40.4876	41.2617	41.25240	41.0006	1.0835
60	60.2269	61.0980	60.8698	60.8698	0.9274
80	81.6693	83.1231	83.0363	83.0363	0.9274
Parámetro	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	% CV
r	0.999939	0.999912	0.999799	0.99989	0.007428
b	-0.34799	-0.341544	-0.339950	-0.343160	1.24053
m	1.019868	1.036977	1.048383	1.03513	1.38660

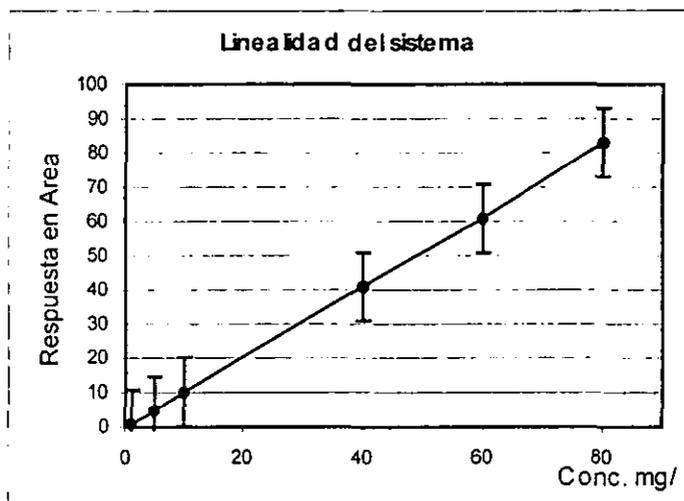


Fig 5 Linealidad del sistema analítico, para la cuantificación de ceftriaxona por cromatografía de líquidos, sol. amortiguadora pH 7.3 / ACN 90:10

7.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

7.3.1 SELECTIVIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO: En la figura 6 se puede observar que los componentes endógenos del plasma no interfieren en la cuantificación de ceftriaxona en plasma.

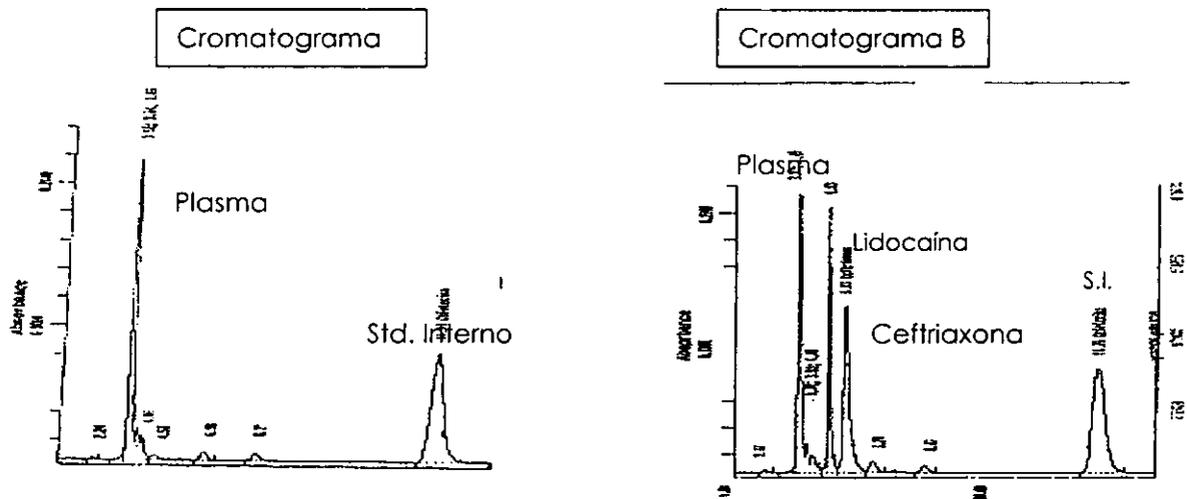


Fig. 6 Selectividad del método analítico. En A se muestra un blanco de plasma. En B se observa una muestra de plasma adicionada de ceftriaxona.

7.3.2 ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

El método analítico fue capaz de cuantificar a la ceftriaxona sin interferencia de otros posibles componentes como: Cafeína, Ácido acetil salicílico, Acetaminofen, Heparina (anticoagulante), Sulfanilamida, Ácido oxálico (anticoagulante).

7.3.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

En la figura 7 se presenta la linealidad del método analítico, mientras que en la tabla 17 se presentan los parámetros obtenidos.

Tabla 17: Datos de la determinación de linealidad del método analítico.

DIA (3 curvas x día)	r	m	b
1	0.99959	0.59130	-0.1991
2	0.99978	0.65562	-0.13515
3	0.99916	0.64384	-0.18964
Promedio	0.99951	0.6302	-0.1846
Desv Estándar	0.00031	0.0342	-0.0175
%CV	0.0317	5.4335	-9.487

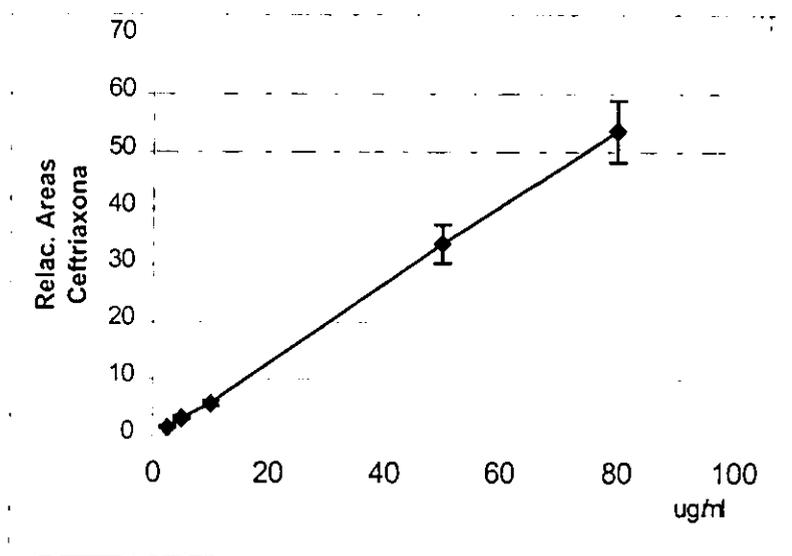


Fig. 7 Linealidad promedio del método analítico para cuantificar ceftriaxona en plasma, (relación de áreas en mA).

7.3.4 PRECISIÓN: INTER E INTRADÍA.

En la tabla 18 se observa el coeficiente de variación promedio en cada uno de los valores de concentración el cual va desde 0.7634 hasta 9.139.

Tabla 18. Precisión intradía

Conc. $\mu\text{g/ml}$	Promedio de la Respuesta*	σ	CV %
2.5	1.8678	0.0066	0.7634
5	2.7238	0.7340	2.691
10	5.9244	0.3980	6.7818
50	27.913	3.0253	4.001
80	46.4505	0.9169	9.139

* Relación de áreas, medido en unidades de absorbancia UA.

En la tabla 19 el CV% va desde 2.39 a 10.48% en el rango de concentraciones evaluadas.

Tabla 19. Precisión interdía (Repetibilidad).

Conc. µg/ml	Promedio de la Respuesta	D.E.	CV %
2.5	1.7508	0.1055	6.03
5	3.0576	0.3204	10.48
10	6.0831	0.1453	2.39
50	31.6511	3.5037	11.07
80	49.124	4.2050	8.56

7.3.5 PORCIENTO DE RECOBRO.

En la tabla 20, se muestra el porcentaje de recobro de ceftriaxona en plasma, El cual varió de 86.67% a 94.64% (promedio 89.405%).

Tabla 20. Porcentaje de Recobro Absoluto de CEFTRIAXONA en plasma

Conc. µg/ml	Porcentaje extraído			Promedio %	% CV
2.5	96.72	87.53	82.91	89.05	8.0
5	76.36	93.7	92.6	87.55	11.08
10	91.4	86.37	82.24	86.67	2.91
50	87.60	96.85	98.68	94.37	6.29
80	88.26	93.99	85.94	89.39	4.58
Promedio	88.06	91.68	88.47	89.40	3.34
% de Recobro Promedio: 89.405%					

7.3.6 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

En la tabla 21 se muestran los resultados de la concentración mínima cuantificable, la cual fue de 1.25 mg/L

Tabla 21. Límite de cuantificación para CEFTRIAXONA

Conc. mg/L	Relación de Areas			Promedio	% cv
2.5	1.73982	1.7849	1.76567	1.7634	1.2827
2.0	1.37375	1.35169	1.33851	1.35464	1.3143
1.75	1.16119	1.09544	1.09505	1.11722	3.8658
1.5	1.0058	0.93499	0.95031	0.96370	5.4455
1.25	0.81647	0.77051	0.85930	0.81542	3.4070
1.0	0.38779	0.53818	0.58471	0.50353	20.440

7.3.7. LÍMITE DE DETECCIÓN:

La señal del ruido es de $0.00073 \text{ AU} \times 3 = 0.0029 \text{ AU}$, lo cual corresponde a una concentración (por regresión lineal) de $0.045197 \mu\text{g/mL}$.

La señal de la última dilución de ceftriaxona que ya no se diferencia del ruido es de 0.015 mg/ml lo cual multiplicado por tres da una concentración mínima detectable de $0.0450 \mu\text{g/ml}$. Por lo que en ambos métodos el resultado fue semejante.

7.3.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA EN SOLUCIÓN

Los resultados de estabilidad en solución de ceftriaxona a una concentración de 60 mg/L mostraron que:

- La muestra en solución a -20°C tiene un 98.285% de recobro después de 17h.
- La muestra en solución a temperatura ambiente tiene un 91.0898% de recobro después de 17h.

7.3.9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA EN PLASMA

En la tabla 22 se muestran los resultados de estabilidad de ceftriaxona sometida a ciclos de congelación descongelación. En la figura 8 se observan gráficamente estos resultados.

En la tabla 23 se presenta los resultados de estabilidad sin someter a la muestra a ciclos de congelación descongelación. Lo anterior se esquematiza en la figura 9.

Tabla 22. Estabilidad de la ceftriaxona en plasma sometida a ciclos de descongelación/congelación.

Conc. mg/L	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
80	97.00%	74.32%	69.23%	60.05%	50.66%
10	88.50%	75.02%	74.76%	69.01%	68.48%
2.5	97.77%	56.89%	52.89%	49.52%	50.09%

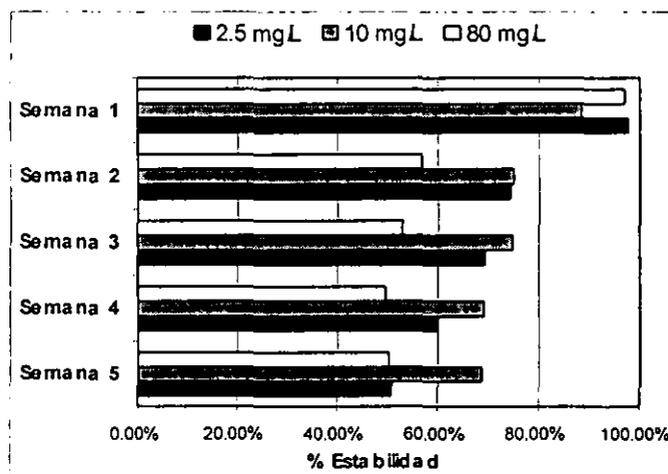
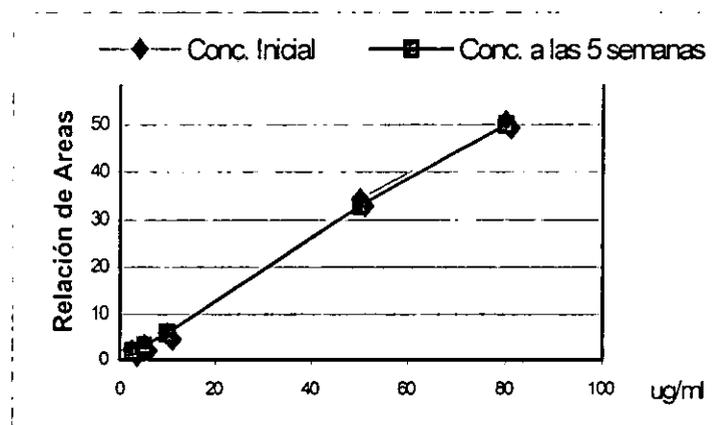


Fig. 8 Estabilidad de la ceftriaxona sometida a ciclos de congelación/descongelación.

Tabla 23. Estabilidad de la ceftriaxona después de 5 semanas sin ser sometidas a ciclos de congelación descongelación.

Conc. mg/L	Análisis inicial	Cinco semanas después	Estabilidad
2.5	2.19247	2.00159	91.129
5	3.36625	3.21893	95.622
10	5.86513	5.90122	100.787
50	34.24536	33.0015	96.366
80	50.5864	49.8993	98.641

Fig. 9. Gráfica de la estabilidad de Ceftriaxona por cinco semanas a -20°C

7.3.10 TOLERANCIA DEL MÉTODO

- *Cambio de Fase Móvil:* La proporción de fase móvil utilizada fue de 90% solución amortiguadora de fosfatos 25mM y 10% de acetonitrilo (ACN). Al modificar la proporción a 85% Buffer 15% ACN el tiempo de retención de la ceftriaxona disminuyó 2.5 minutos \pm 0.5 minutos. Lo cual podría causar interferencias con el plasma.
- *Cambio de Columna:* Durante la cuantificación de muestras, se realizó un cambio de columna lo cual provocó aumento de 1.5 minutos en el tiempo de retención, de todos los componentes de la muestra.
- *Longitud de onda:* Se eligió una longitud de onda (λ ,nm) de 254 nm pues aunque la ceftriaxona tiene otras λ máximas (Apéndice I), a 254 nm el

- *Longitud de onda:* Se eligió una longitud de onda (λ ,nm) de 254 nm pues aunque la ceftriaxona tiene otras λ máximas (Apéndice I), a 254 nm el sistema obtuvo mejor coeficiente de regresión lineal. Además al utilizar las λ de máxima absorción del compuesto es tanta la absorbancia que el detector se satura.
- *Cambio de Flujo de la Fase Móvil:* Cuando se modificó el flujo de la fase móvil de 0.8 a 0.9 ml/min se observó un cambio en el tiempo de retención de 1 minuto máximo, y un consecuente aumento de presión al final de la corrida de 240 a más de 300mPa.
- *Cambio de pH:* Al pH de trabajo (7.3) la Ceftriaxona se encuentra un 99.99% en su forma no ionizada. Al cambiar el pH a 6.9-7.0 se observó un ensanchamiento del pico. Al acidificar el pH a 6.6 el pico se parte en dos sin ofrecer resolución alguna
- *Hemólisis de la Muestra:* Previendo la hemólisis de alguna muestra durante el estudio, se investigó si la hemólisis interfería en el método analítico. En la figura 10 se muestran los cromatogramas de muestra no hemolizada y una hemolizada, se observa que los picos pertenecientes al plasma hemolizado son más numerosos que los del plasma no hemolizado. La tabla 24 muestra los datos de respuesta comparando ambos tipos de muestras.

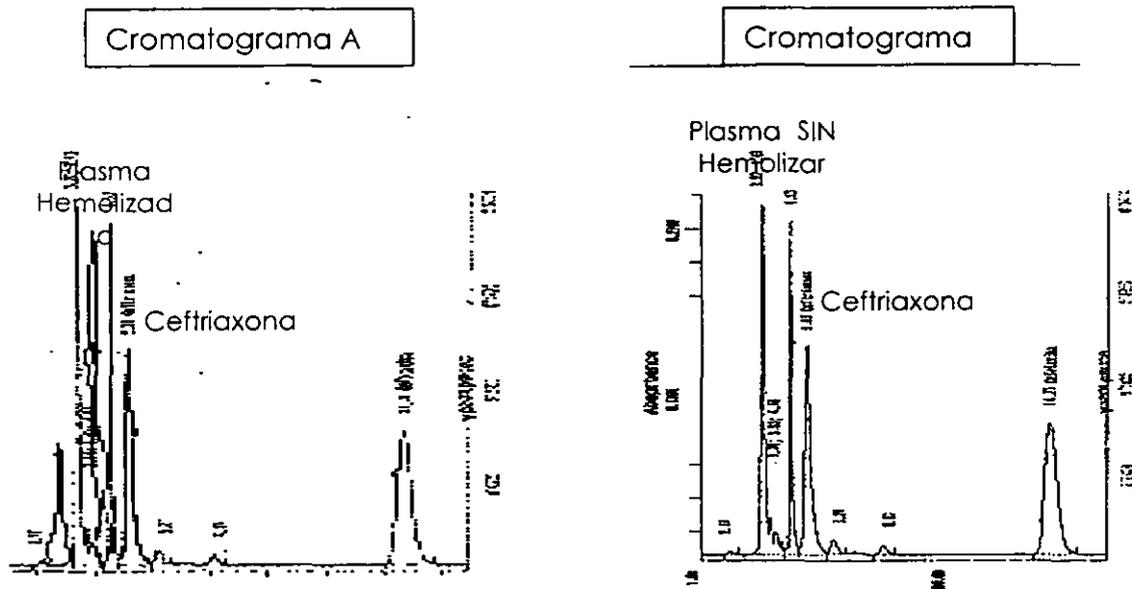


Fig. 10 El cromatograma A representa una muestra hemolizada y el B una muestra sin hemolizar.

Tabla 24 Tolerancia del método frente a muestras hemolizadas

Conc $\mu\text{g/mL}$	Area muestra hemolizada	Area de la muestra sin hemólisis	DER %
2.5	2.25488	1.86952	13.20
10	7.03901	8.12641	10.14
80	65.54259	67.11998	1.68

7.4 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA

En la tabla 25 se presentan los valores promedio de las concentraciones de ambos productos a cada tiempo de muestreo y en la figuras 11 se observa la gráfica correspondiente.

Tabla 25 Concentraciones plasmáticas promedio obtenidas después de la administración de las dos formulaciones de ceftriaxona

TIEMPO h	PRODUCTO A	PRODUCTO B
	Conc. mg/L	Conc. mg/L
0	0	0
0.25	21.1145±35.0867	25.12716±35.3435
0.5	40.7372±46.9278	49.2274±35.4897
0.75	49.5027±30.4679	60.7882±35.3066
1	66.9248±37.8688	73.1759±41.0520
1.5	75.1576±31.2108	79.2060±30.9959
2	75.6498±26.4603	81.4091±31.3904
2.5	80.1268±33.7868	82.7386±23.7078
3	75.1527±22.99062	75.5603±26.0786
3.5	72.9333±19.37645	73.33611±21.8815
4	67.7481±15.3783	71.2830±21.5532
6	61.8264±16.7367	56.7142±19.3989
8	47.4944±13.2728	45.0855±13.8639
12	30.9069±11.4451	27.7860±10.7571
24	9.8756±3.7769	6.17571±3.5323

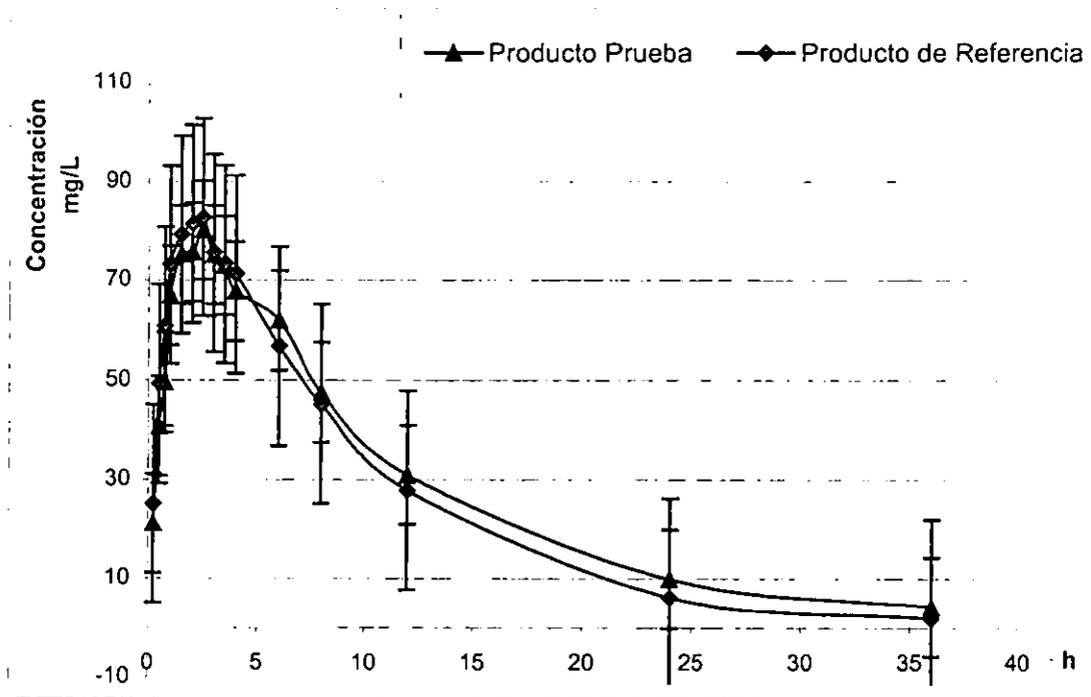


Fig 11. Gráfica promedio de los niveles plasmáticos de ceftriaxona, datos crudos \pm desviación estándar.

Las concentraciones individuales así como las curvas de cada voluntario se encuentran en los apéndices VII y IV respectivamente.

7.5 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

En la tabla 26 se presentan los parámetros farmacocinéticos promedio obtenidos para las dos formulaciones. El análisis estadístico correspondiente se encuentra en las tablas 36 a 42.

Tabla 26. Parámetros Farmacocinéticos obtenidos después de la administración de ceftriaxona de ambas formulaciones.

PARÁMETRO	PRODUCTO B	PRODUCTO A
ABC 0- t mg h/L	1069.31 ±25.06	1044.50±25.06
ABC 0- inf mg h/L	1106.73±35.53	1085.30±27.31
Cp max. mg/L	90.17±3.54	94.44±3.54
T max h	1.934±0.231	2.196±0.2311
T ½ h	8.6751±1.296	8.6714±1.1399
Ke h ⁻¹	0.079884±0.016	0.07991±0.017
AUMC 0-t mg h/L	10628±244.81	9938.62±244.81
AUMC 0-inf mg h/L	14606.2±1317.2	11829.8±1012.6
TMR h	11.55±2.149	10.98±2.462

La tabla 27 muestra los parámetros farmacocinéticos anteriores para cada voluntario.

Tabla 27 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS INDIVIDUALES (obtenidos por BIOPAK).

Vol.	Producto	Periodo	Secuencia	ABC 0-t mg/h/L	Cp. max.mg/L	T.max.h
1	A	2	BA	1913.3300	179.1223	0.5
1	B	1	BA	1913.3322	177.0336	1.0
2	A	1	AB	850.5916	71.4045	3.0
2	B	2	AB	800.7402	54.7981	1.5
3	A	2	BA	934.1665	70.5075	2.5
3	B	1	BA	1115.8880	73.9598	2.5
4	A	2	BA	1017.0790	77.4593	2.5
4	B	1	BA	1092.2900	83.5520	2.5
5	A	2	BA	1342.6026	120.3809	2.5
5	B	1	BA	1201.9079	102.6894	2.0
7	A	1	AB	1033.0419	111.9926	2.5
7	B	2	AB	978.5589	93.8340	1.5
8	A	2	BA	917.1941	69.2130	1.0
8	B	1	BA	972.2013	98.9192	2.5
9	A	1	AB	703.6513	57.4468	2.5
9	B	2	AB	888.1883	73.1859	2.5
10	A	1	AB	1362.6367	95.8742	3.5
10	B	2	AB	1313.3345	86.6206	1.0
11	A	1	AB	920.3269	95.9280	2.5
11	B	2	AB	870.4870	87.4501	2.5
12	A	2	BA	1037.3981	130.4973	1.5
12	B	1	BA	1003.7300	107.1599	2.0
13	A	1	AB	595.3644	48.1409	3.5
13	B	2	AB	622.009	56.5321	1.0
14	A	1	AB	1004.0693	91.4309	1.0
14	B	2	AB	872.8017	59.4347	2.5

...continuación

Vol.	Producto	Periodo	Secuencia	ABC 0-infmg/h/L	Ke h ⁻¹	T 1/2.h
1	A	2	BA	1732.91	0.1573	6.50
1	B	1	BA	1963.45	0.1324	6.60
2	A	1	AB	889.47	0.1377	9.88
2	B	2	AB	872.05	0.0768	7.07
3	A	2	BA	950.52	0.1634	7.26
3	B	1	BA	1190.41	0.0660	8.02
4	A	2	BA	1051.31	0.1208	7.54
4	B	1	BA	1127.31	0.124	7.23
5	A	2	BA	1417.33	0.0717	7.57
5	B	1	BA	1273.02	0.0895	10.59
7	A	1	AB	1057.65	0.1530	6.93
7	B	2	AB	1003.13	0.1463	6.66
8	A	2	BA	959.42	0.1260	8.02
8	B	1	BA	1040.76	0.0719	7.60
9	A	1	AB	738.72	0.0958	7.46
9	B	2	AB	914.23	0.107	6.11
10	A	1	AB	1486.48	0.0636	8.17
10	B	2	AB	1610.93	0.0736	7.99
11	A	1	AB	952.14	0.2275	8.06
11	B	2	AB	890.27	0.0940	7.24
12	A	2	BA	1098.26	0.1980	5.27
12	B	1	BA	1085.63	0.0940	6.50
13	A	1	AB	730.29	0.1151	6.09
13	B	2	AB	644.45	0.1004	7.33
14	A	1	AB	1020.70	0.1536	6.09
14	B	2	AB	913.00	0.0938	7.39

...continuación

Vol.	Producto	Periodo	Secuencia	AUMC 0-t mgh/L	AUMC0-inf mgh/L	TMR h
1	A	2	BA	15647.69	17311.80	8.17
1	B	1	BA	17180.27	19363.27	9.82
2	A	1	AB	8865.64	9480.22	9.97
2	B	2	AB	11162.32	14658.25	16.80
3	A	2	BA	9570.35	16244.16	17.08
3	B	1	BA	8881.34	12432.30	10.44
4	A	2	BA	11593.47	12793.07	12.168
4	B	1	BA	10077.83	11250.23	9.98
5	A	2	BA	13116.87	17348.25	12.15
5	B	1	BA	12788.65	16143.47	12.68
7	A	1	AB	8567.19	8866.95	8.38
7	B	2	AB	9620.04	9913.74	9.88
8	A	2	BA	9269.33	11388.35	11.86
8	B	1	BA	9260.05	12682.14	12.85
9	A	1	AB	6904.90	8301.36	11.23
9	B	2	AB	9117.91	10298.91	11.26
10	A	1	AB	13859.01	20263.74	13.63
10	B	2	AB	14404.72	18731.61	13.09
11	A	1	AB	7907.72	8614.59	9.05
11	B	2	AB	8706.70	9965.44	11.19
12	A	2	BA	8971.12	10263.58	9.34
12	B	1	BA	8452.64	8693.75	8.01
13	A	1	AB	5973.53	7226.64	9.89
13	B	2	AB	7164.29	8195.65	12.72
14	A	1	AB	9088.07	9965.37	9.72
14	B	2	AB	9172.48	11048.41	12.10

7.6 MODELAJE COMPARTIMENTAL

El ajuste de los datos por modelos compartimentales se realizó mediante el programa PCNONLIN complementado con el programa Jana.

El análisis de los datos revela que éstos se ajustan con un mayor coeficiente de correlación y criterio de AIC (tabla 28), al modelo abierto de dos compartimentos. Los datos de cada voluntario y de cada producto están en la tabla 29 y 30.

Tabla 28 Criterio de ajuste de los datos para un Modelo abierto de dos compartimentos

	Coeficiente de Correlación		Criterio de AIC	
	Referencia	Prueba	Referencia	Prueba
MAUC	0.9854	0.9849	167	154
MADC	0.9957	0.9984	110	94

MADC= Modelo abierto de dos compartimentos, MAUC= Modelo abierto de un compartimento

7.6.1 MICROCONSTANTES GENERADAS DEL PROGRAMA JANA PARA EL AJUSTE A UN MODELO ABIERTO DE DOS COMPARTIMENTOS (MADC).

Producto A (Prueba)

Tabla 29 Parámetros farmacocinéticos individuales del ajuste a MADC

Vol	B	C	A	beta	alfa	k01	k21	k12	k10
1	189.53	333.2	143.67	0.0955	3.51	3.026	2.03772	1.40327	0.16449
2	14.403	57.09	98.71	0.0288	0.1758	0.7322	0.04751	0.05053	0.10655
3	101.62	513.31	411.68	0.09971	1.137	1.0942	0.30506	0.56001	0.37162
4	109.33	133.37	128.4	0.08952	1.86	1.695	0.90374	0.86153	0.18424
5	46.94	119.79	72.82	0.0833	0.0755	5.49	0.08024	0.00018	0.07837
7	33.72	144.51	110.79	0.0613	0.19155	1.763	0.09169	0.03309	0.12805
8	81.48	142.7	418.94	0.07711	2.311	2.298	0.44083	1.54303	0.40423
9	36.72	209.07	172.36	0.0693	0.2852	0.5007	0.10721	0.06294	0.18433
10	14.88	104.14	89.25	0.05388	0.0601	0.69508	0.05476	8.61E-05	0.05912
11	36.26	235.89	199.63	0.05543	0.3107	0.7371	0.09466	0.08954	0.18191
12	42.44	127.82	85.37	0.10587	0.1146	2.5956	0.10876	0.00015	0.11154
13	19.67	58.31	38.63	0.08847	0.0735	0.673	0.08341	0.00060	0.07795
14	88.2215	166.92	78.7	0.0915	0.5086	1.5658	0.31194	0.13897	0.14918
Promedio	62.79	180.4707	157.61	0.07991	0.8164	1.103	0.10781	0.00915	0.1693

Producto B (Referencia)

Tabla 30 Parámetros farmacocinéticos individuales del ajuste a MADC

Vol	B	A	C	beta	alfa	k01	k21	k12	k10
1	108.52	71.22	179.44	0.0923	1.2070	2.1130	0.7653	0.3884	0.1456
2	5.28	51.806	113.12	0.0560	0.0500	0.9090	0.0554		0.0505
3	109.813			0.0827		0.5985			0.3086
4	78.35	30.74	109.09	0.0834	0.1378	0.8035	0.1225	0.0049	0.0938
5	71.523	154.588	226.11	0.0648	0.4240	0.8740	0.1784	0.1564	0.1540
7	99.561	43.84	143.4	0.0960	1.5521	2.6913	1.1069	0.4065	0.1346
8	31.183	170.611	201.79	0.0536	0.2381	0.7001	0.0821	0.0542	0.1554
9	81.089			0.0913		0.8126			0.1698
10	69.52	22.73	92.36	0.0599	0.0330	2.1104	0.0396	0.0034	0.0499
11	5.8215	129.066	134.88	0.0086	0.1548	0.8020	0.0149	0.0592	0.0893
12	100.77	97.8709	198.64	0.0984	0.6950	1.3730	0.4011	0.2218	0.1705
13	64.09			0.0890		1.8150			0.0825
14	70.152	8.8744	79.02	0.0885	0.0405	1.5658	0.0459	0.0050	0.0781
Promedio	68.89	108.00	147.785	0.07988	0.4639	1.1017	0.1204	0.0015	0.1292

7.6.2 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS POR PCNONLIN PARA EL AJUSTE A UN MODELO ABIERTO DE DOS COMPARTIMIENTOS

A continuación se muestra la ecuación a la que se ajusta la ceftriaxona para la predicción de concentraciones plasmáticas del medicamento de prueba.

En la tabla 31 se presenta los parámetros farmacocinéticos generados por el programa PCNONLIN para el ajuste a MADC para la formulación de prueba.

PRODUCTO DE PRUEBA

$$C_p = 157.61 \text{ EXP}(-0.8164*t) + 62.79 \text{ EXP}(-0.0768*t) - 180.47 \text{ EXP}(-1.103*t)$$

Tabla 31 Parámetros Farmacocinéticos del Producto de Prueba

Voluntario	Alfa	Beta	Vd L	Cl ml/min.	Vd beta L
1	2.1699	0.094088	9.6815	0.522649	5.5548
2	0.2912	0.0499995	8.8588	1.1756523	23.5132
3	1.0707	0.100195	8.9454	1.070473	10.6839
4	0.108174	0.017264	9.7293	0.9832078	56.9513
5	1.8314	0.056466	5.4887	0.744822	13.1906
7	0.59577	0.091314	8.7622	0.9680149	10.6009
8	0.1198	0.082349	12.3967	1.097461	13.3269
9	0.3172	0.031536	6.4534	1.4211585	45.0646
10	0.0882	0.044729	7.9700	0.7338713	16.4070
11	0.5522	0.072576	4.9829	1.0865704	14.9714
12	0.1284	0.115891	7.9546	0.9639547	8.3177
13	0.1119	0.012341	15.9200	1.6796436	136.1027
14	0.8112	0.100706	9.1520	0.9959472	9.8896
PROMEDIO	0.6304649	0.0668811	10.0031	1.0159587	15.1905
Desv. Std.	0.6470638	0.0326222	2.7544095	0.2833466	34.5849

La siguiente ecuación es el ajuste matemático de la formulación de referencia para la predicción de concentraciones plasmáticas.

En la tabla 32 se presentan los parámetros farmacocinéticos generados por el programa PCNONLIN para el ajuste a MADC para el producto innovador. En la tabla 33 se presenta el resumen de los parámetros farmacocinéticos para ambas formulaciones.

PRODUCTO DE REFERENCIA

$$C_p = 108.00 \text{ EXP}(-0.4639 * t) + 68.89 \text{ EXP}(-0.07421 * t) - 147.78 \text{ EXP}(-1.1017 * t)$$

Tabla 32 Parámetros Farmacocinéticos del Producto de Referencia

Voluntario	Alfa	Beta	Vd L	Cl ml/min.	Vd beta L
1	0.09308	0.093085	19.0730	0.5226484	5.614743441
2	0.06759	0.04713	16.4756	1.2488445	26.49786774
3	0.38961	0.08203	7.6932	0.8961473	10.92462859
4	2.32143	0.069211	10.0649	0.9155078	13.22777862
5	0.46309	0.063767	10.5479	0.8320105	13.04766581
7	7.306744	0.094864	7.6311	1.0219109	10.77237829
8	0.45107	0.066339	9.9679	1.0285936	15.50511108
9	2.15733	0.073956	19.0325	1.1258874	15.22374631
10	0.065214	0.007053	10.4481	0.7614206	107.956989
11	0.15748	0.005898	8.8160	1.1487822	194.7748785
12	1.04939	0.101134	5.7239	0.9962839	9.851126834
13	0.73914	0.072742	17.1760	1.6076938	22.10131395
14	0.48456	0.075743	9.4560	1.1457356	15.12662059
PROMEDIO	1.2112098	0.0656117	9.6299	1.1324387	35.43268067
Desv. Std.	1.8984727	0.0287138	4.4301945	0.252631	52.52952257

RESUMEN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS OBTENIDOS DEL AJUSTE COMPARTIMENTAL.

Tabla 33 Parámetros farmacocinéticos promedio de ambas formulaciones.

Parámetro	Producto A	Producto B
Vd L	10.003	9.6290
Cl L/H	1.0159	1.1324
K abs	1.103	1.1017
Vd β L	15.19	35.43
A	180.47	108.00
B	62.79	68.89
Beta h ⁻¹	0.0768	0.0742
Alfa h ⁻¹	0.8164	0.4639

7.7. ANALISIS DE BIOEQUIVALENCIA

7.7.1 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DETERMINANTES DE BIOEQUIVALENCIA

En las tablas 34 y 35 se muestran los valores de los parámetros farmacocinéticos (ABC_{0-t}), ABC_{0-inf} y Cp max, determinantes de bioequivalencia.

Tabla 34 Parámetros de Bioequivalencia de los dos productos comerciales conteniendo ceftriaxona. Datos crudos.

PARÁMETRO	PRODUCTO B	PRODUCTO A
ABC 0- t mg h/L	1069.31±25.06	1044.50±25.06
ABC 0- inf mg h/L	1106.73±35.53	1085.30±27.31
Cp max. mg/L	90.17±3.542	94.44±3.542

Tabla 35 Parámetros de Bioequivalencia de los dos productos comerciales conteniendo ceftriaxona. Datos con transformación Ln.

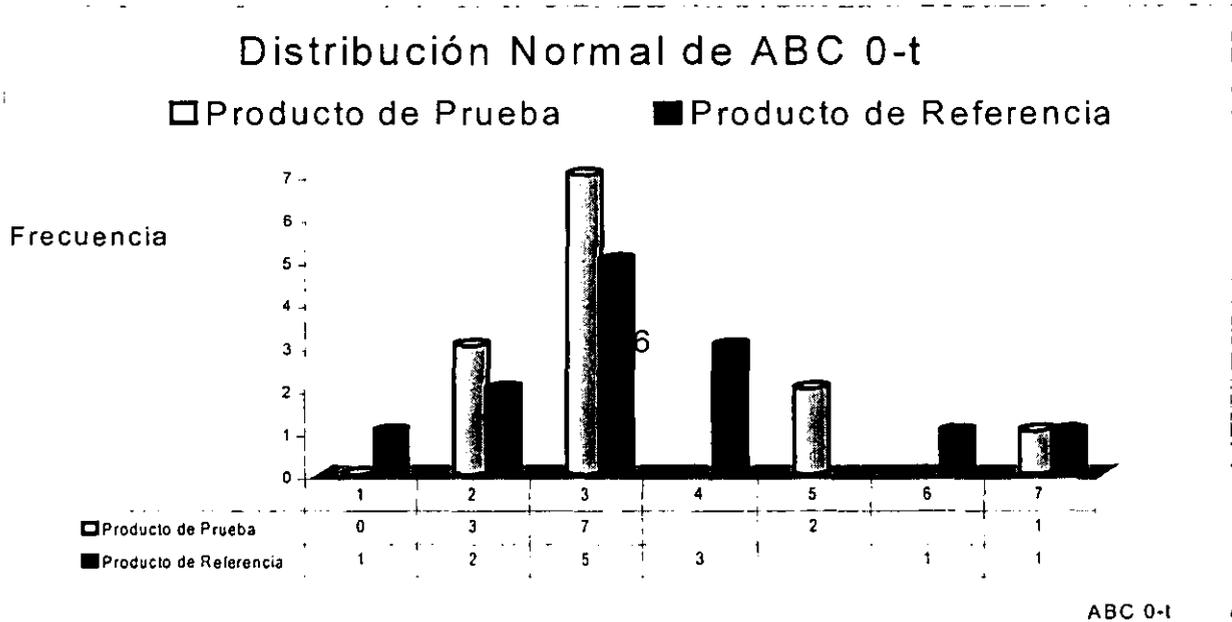
PARÁMETRO	PRODUCTO B	PRODUCTO A
ABC 0- t mg h/L	6.94311±0.0256	6.91663±0.0256
ABC 0- inf mg h/L	6.96225±0.02818	6.95417±0.02166
Cp max. mg/L	4.45217±0.0456	4.4823±0.0456

A continuación las figuras 12 y 13 muestran la distribución de los datos, tomando como ejemplo el Area Bajo la curva.

7.7.2 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE LOS VALORES DE ABC 0-t

ABC 0-t

Parámetro	Producto A	Producto B
Mediana	1004.06	1004.06
Media	1042.74	1045.72
Desv. Std.	307.63	332.08



Eje X	1	2	3	4	5	6	7
ABC 0-t	500	700	900	1100	1300	1500	1700

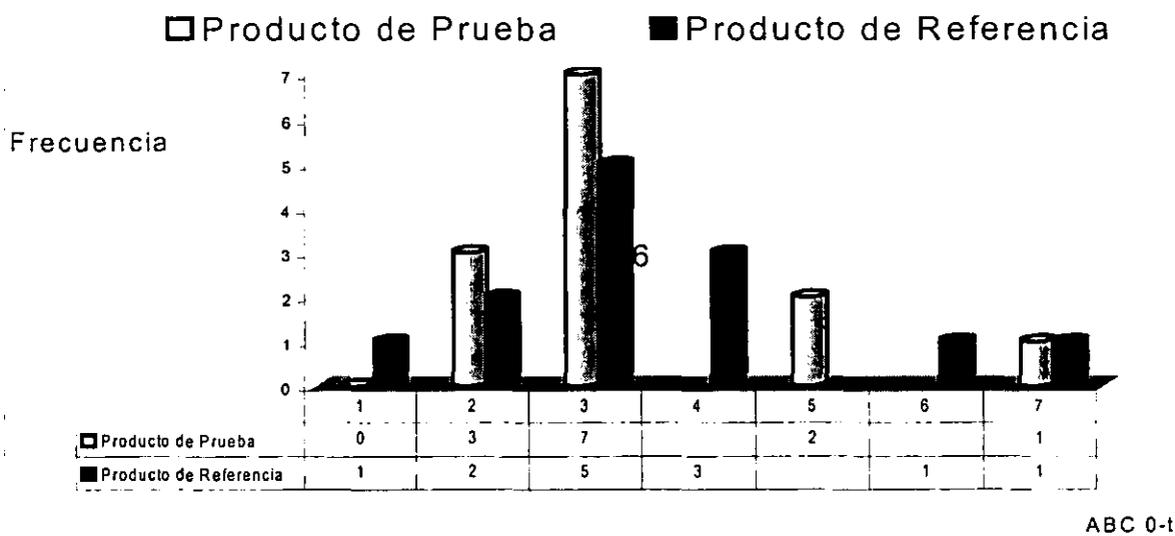
Fig. 12 Distribución de Frecuencias del ABC 0-t.

7.7.3 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE LOS VALORES DE ABC 0-inf

ABC 0-inf

Parámetro	Producto A	Producto B
Mediana	1024.71	1040.7639
Media	1086.09442	1103.74333
Desv. Std.	296.283237	326.572698

Distribución Normal de ABC 0-t



Eje X	1	2	3	4	5	6	7
ABC 0-t	500	700	900	1100	1300	1500	1700

Fig. 13 Distribución de Frecuencias del ABC 0-inf.

7.7.4 RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA POR BIOPAK

Las tablas 36 a 38 se presentan los resultados del análisis de varianza para los parámetros de ABC 0-t, ABC 0-inf y Cp max.

AREA BAJO LA CURVA 0-t

Tabla 36. Análisis estadístico del ABC 0-t. Datos crudos y con transformación Ln

FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	459939.86	1	56.65	0.0001
Vol(Secuencia)	1568334.85	11	17.56	0.0001
Periodo	4324.42	1	0.5326	0.4807
Producto	3976.68	1	0.4898	0.4985
FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	0.4040207	1	47.67	0.0001
Vol(Secuencia)	1.1454610	11	12.28	0.0001
Periodo	0.0010324	1	0.1218	0.7336
Producto	0.0045321	1	0.5348	0.4799

AREA BAJO LA CURVA 0-inf.

Tabla 37. Análisis estadístico del ABC 0-inf. Datos crudos y con transformación logarítmica

FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	279133.04	1	28.94	0.0007
Vol(Secuencia)	1879767.12	11	17.72	0.0002
Periodo	13324.62	1	1.382	0.2736
Producto	2204.01	1	0.2285	0.6454
FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	0.2404028	1	39.6346	0.0002
Vol(Secuencia)	1.2652511	11	18.9635	0.0002
Periodo	0.0117521	1	1.9375	0.2014
Producto	0.0003136	1	0.0517	0.8258

CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA MÁXIMA Cp. max

Tabla 38. Análisis estadístico del Cp. max. Datos crudos y con transformación logarítmica

FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	5996.86	1	36.98	0.0001
Vol(Secuencia)	19615.23	11	10.99	0.0002
Periodo	101.99	1	0.6291	0.4445
Producto	118.18	1	0.7289	0.4114
FUENTE DE VARIACIÓN	SS	G.L.	F	Prob.
Secuencia	0.6421113	1	23.89	0.0005
Vol(Secuencia)	1.9266153	11	6.5168	0.0021
Periodo	0.0171002	1	0.6363	0.4419
Producto	0.0058743	1	0.2186	0.6493

En la tabla 39 se presentan los intervalos de confianza clásicos y de Westlake al 90% para los parámetros de bioequivalencia para los datos crudos y con transformación logarítmica respectivamente. En la tabla 40 se muestran los resultados de la prueba de Anderson Hauck (poder de la prueba) para datos crudos y con transformación logarítmica.

Tabla 39 Intervalos de confianza utilizando los datos crudos después de la administración de las dos formulaciones con ceftriaxona. Para datos crudos y con transformación logarítmica.

Parámetro	$\mu_{\text{prueba}}/\mu_{\text{referenci}}$ a	I.C. Clásico	I.C. Westlake	Límites
ABC 0-t	0.9768	91.7253- 103.6347	92.9728- 107.0272	80-120%
ABC 0-inf.	0.9804	90.5304- 105.5973	91.8361- 108.1639	80-120%
Cp. max	1.0474	94.7638- 114.7219	87.4968- 112.5032	80-120%
Parámetro	$\mu_{\text{prueba}}/\mu_{\text{referenci}}$ a	I.C. Clásico	I.C. Westlake	Límites
ABC 0-t	0.9962	91.2527- 103.9323	92.4727- 107.5273	80-125%
ABC 0-inf.	0.9988	92.8483- 105.9753	93.3298- 106.6702	80-125%
Cp. max	1.0068	91.7870- 115.7200	86.8961- 113.1039	80-125%

Tabla 40 Resultados de la Prueba de A.H, utilizando datos crudos y con transformación a logarítmica

Parámetro	Anderson Hauck	Límite	Poder de la Prueba
ABC 0-t	0.0001	<0.05	0.9986
ABC 0-inf	0.0007	<0.05	0.9850
Cp. max.	0.0090	<0.05	0.9053
Parámetro	Anderson Hauck	Límite	Poder de la Prueba
ABC 0-t	0.0000	<0.05	0.9989
ABC 0-inf	0.0002	<0.05	0.9980
Cp. max.	0.0177	<0.05	0.8829

7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla: 41 Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos obtenidos por BIOPAK. Al 90% de confianza. Datos crudos y con transformación Ln.

Parámetro	IC Clásico	IC Westlake	A.Hauck	Poder
ABC 0- t	91.72-103.63	92.97-107.02	0.0001	0.9986
ABC 0- inf	90.53-105.59	91.83-108.16	0.0007	0.9850
Cp max.	94.76-114.72	87.49-112.50	0.0090	0.9053
T max	83.18-143.89	62.74-137.25	0.3180	0.168
AUMC 0-t	87.65-99.35	89.06-110.93	0.0008	0.9988
AUMC 0-inf	59.83-102.14	65.04-134.95	0.4619	0.3010
Parámetro	IC Clásico	IC Westlake	A.Hauck	Poder
ABC 0- t	91.25-103.93	92.47-107.52	0.0000	0.9989
ABC 0- inf	92.84-105.97	93.32-106.67	0.0002	0.9980
Cp max.	91.78-115.72	86.89-113.10	0.0177	0.8829
T max	76.88-146.64	63.12-136.87	0.1834	0.1816
AUMC 0-t	87.29-99.85	88.71-111.28	0.0008	0.9984
AUMC 0-inf	75.22-100.90	77.96-122.03	0.1539	0.6917

7.8.1 Análisis Estadístico No Paramétrico (T student alfa de dos colas $\alpha = 0.025$)

Tabla 42 Análisis por T de student para los otros parámetros farmacocinéticos

Parámetro	Comparación de las medias de los productos
ABC 0- t	No hay diferencia significativa
ABC 0- inf	No hay diferencia significativa
Cp max.	No hay diferencia significativa
T max	No hay diferencia significativa
T ½	No hay diferencia significativa
Ke	No hay diferencia significativa
AUMC 0-t	No hay diferencia significativa
AUMC 0-inf	No hay diferencia significativa
TMR	No hay diferencia significativa

7.9 DECISIÓN DE BIOEQUIVALENCIA

En las tablas 43 y 44 se muestra la decisión de bioequivalencia del producto de prueba en base al análisis estadístico anterior.

Tabla 43 Tabla de decisión de bioequivalencia

Parámetro	Estimación Puntual $\mu_{\text{prueba}}/\mu_{\text{referencia}}$	I.C. clásico y Westlake, 90%	Decisión de Bioequivalencia
ABC 0-t	97.67%	91.7253-103.6347 92.9728-107.0272	Bioequivalente
ABC0-inf	98.04%	90.5304-105.5973 91.8361-108.1639	Bioequivalente
Cp máxima	104.74%	94.7638-114.7219 87.4968-112.5032	Bioequivalente

Tabla 44 Aceptación de la bioequivalencia de acuerdo a los límites establecidos.

Parámetro	IC clásico	IC Westlake	A. H.	Poder	Decisión
ABC 0-t	cumple	cumple	cumple	cumple	Bioequivalente
ABC 0-inf	cumple	cumple	cumple	cumple	Bioequivalente
Cp max	cumple	cumple	cumple	cumple	Bioequivalente

ANÁLISIS DE RESULTADOS



8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CEFTRIAXONA EN PLASMA

8.1.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA:

Los resultados obtenidos muestran que existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la respuesta en áreas de ceftriaxona en un rango de 1 a 100 $\mu\text{g/mL}$, con un coeficiente de regresión lineal de 0.9999.

El coeficiente de variación (%CV) para la pendiente y la ordenada al origen siempre fue menor a 2% por lo que el sistema se consideró preciso.

8.1.2 OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:

De acuerdo a las referencias bibliográficas y desarrollo del presente método, las condiciones óptimas para la cuantificación de ceftriaxona son las mencionadas en la tabla 15, las cuales permiten la adecuada resolución del compuesto de interés, con un tiempo de corrida de 17 min. La ceftriaxona presenta un tiempo de retención de 5.9 minutos mientras que para el estándar interno es de 15 minutos (Fig 6).

El método mostró que es capaz de discernir entre los compuestos de la matriz biológica y la ceftriaxona. Con lo anterior se demostró la selectividad del método .

Tomando en cuenta la posibilidad de que los voluntarios hubieran estado expuestos a medicamentos o sustancias de uso común como ácido acetil salicílico, acetaminofén, cafeína, sulfanilamida, anticoagulantes como la heparina o el ácido oxálico se consideró necesario evaluar si estos compuestos interferían en el análisis encontrándose que no interfieren en la cuantificación, con esto el método demostró ser específico.

Linealidad: Tomando en cuenta las concentraciones plasmáticas reportadas en la literatura después de una administración de 1000mg de ceftriaxona, se eligió un rango de concentración entre 2.5 y 80 $\mu\text{g/mL}$. El método fue lineal en el rango especificado con un coeficiente de regresión lineal de 0.999, como se observa en la fig. 7.

Precisión: El método fue preciso (inter e intradía) en todo el rango de concentraciones con un coeficiente de variación siempre menor al 12%.

Porcentaje de Recobro: El promedio de extracción en todo el rango de concentración fue de 89.4% con coeficiente de variación máximo de 11.08% (tabla 21) con lo cual establecemos que el método de extracción de ceftriaxona en plasma es adecuado para su cuantificación.

Límite de Cuantificación: La tabla 21 muestra que la última concentración cuantificable con precisión y exactitud, es decir con coeficiente de variación menor al 15% es de 1.23 $\mu\text{g/ml}$.

Límite de Detección: De las diluciones sucesivas realizadas para determinar el límite de cuantificación se encontró que la señal que ya no se diferencia del ruido multiplicada por tres corresponde a 45.179ng/mL.

Estabilidad de la Muestra: En la tabla 22 y la figura 8 se observa que la ceftriaxona no mantiene una estabilidad adecuada al someterse a ciclos de descongelación/congelación cada 8 días por 5 semanas, pues la concentración de la muestra disminuye progresivamente hasta un 50% .

De acuerdo con los datos de la tabla 23 se encontró que si la muestra en cualquier concentración del rango seleccionado se congela y se mantiene así por 5 semanas la estabilidad promedio es de 96.5%.

Por lo mencionado anteriormente las muestras clínicas se mantuvieron a -20°C y se analizaron antes de 5 semanas.

En la figura 9 se observan gráficamente estos resultados, la concentración de ceftriaxona no varió significativamente después de un periodo de congelación por 5 semanas.

Tolerancia del Método: El cambio en la proporción en la fase móvil afecta notablemente el tiempo de retención de la ceftriaxona. Así por ejemplo, al aumentar la cantidad de acetonitrilo de 10 al 15% el tiempo de retención disminuye hasta 2.5 minutos y al aumentar la proporción de fase acuosa de 90 a 95% el tiempo de retención aumenta en 2 minutos hasta aproximadamente 8.5 minutos.

El aumento en la velocidad de flujo de 0.8 a 0.9 ml/min disminuye el tiempo de retención en un minuto lo que provoca que el compuesto de interés tenga poca resolución de los compuestos del plasma.

Previendo la presencia de muestras hemolizadas se decidió evaluar si los productos de la hemólisis interferían en la cuantificación del analito. La figura 10 muestra que los picos del plasma de la muestra hemolizada aumentan pero no interfiere con el tiempo de retención de la ceftriaxona. Al final del proceso de extracción de una muestra hemolizada se observa ligeramente más amarilla que una muestra de plasma sin hemolizar.

En la tabla 24 se puede observar que la variación entre el área de las muestras hemolizadas respecto a las no hemolizadas corresponde a una variación que cae dentro de los parámetros de validación para la cuantificación de muestras en fluidos biológicos. Por lo anterior se consideró que la hemólisis de la muestra no afectaba la determinación analítica de la ceftriaxona.

En base a los parámetros anteriormente demostrados, se consideró que el método analítico cumplía con los criterios necesarios para ser utilizado en el estudio de bioequivalencia.

El método es relativamente sencillo y rápido y es posible analizar 80 muestras diarias. En el presente trabajo se analizaron 46 muestras diarias lo

cual corresponde a las muestras de un voluntario (ambos periodos) por día, la curva de calibración y las muestras de control de calidad.

8.2 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA:

Diseño estadístico: Se eligieron 14 voluntarios sanos asignados en dos periodos y dos secuencias tomando en cuenta que en la norma de emergencia de la SSA se requerían de 12 voluntarios como mínimo.

En la figura 11 se observa que el perfil de concentración plasmática (C_p mg/L) contra tiempo (t , h) del producto de referencia es semejante al obtenido con el producto de prueba. El valor encontrado de C_p max fue de 94.44 ± 3.54 para el producto de prueba y de 90.17 ± 3.54 para el producto de referencia. En la literatura se encontró que después de una administración intramuscular de 1000mg de ceftriaxona la C_p máxima es de 80.2 ± 13.1 mg/L, por lo que los valores encontrados en población mexicana son semejantes a los publicados en otras poblaciones.

Estimación de la Bioequivalencia: Para determinar si los productos eran bioequivalentes se calcularon los parámetros farmacocinéticos: Área bajo la curva de cero al último tiempo de muestreo y al infinito (ABC 0-y, ABC0-inf), y la concentración plasmática máxima C_{pmax} utilizando del programa Biopak y se compararon para ambas formulaciones. Lo anterior puede observarse en la tabla 26.

a) Intervalo de Hipótesis: Se llevó a cabo mediante una t de student de dos colas o la prueba de Anderson Hauck. En la prueba de Anderson Hauck se acepta la bioequivalencia cuando se tiene un valor muy pequeño para la probabilidad (p) ($p < 0.05$) se encontró que tanto para datos crudos como para datos transformados los parámetros farmacocinéticos determinantes de para demostrar bioequivalencia tienen un valor de 0.0001-0.0000 para ABC 0-t, 0.0007-0.0002 para ABC 0-inf y de 0.0090-0.0177 para C_p máxima, por lo que el criterio establecido por

Anderson y Hauck se cumple para determinar bioequivalencia. Los resultados se observa en la tabla 40.

c) Intervalos de Confianza: Para determinar la bioequivalencia de los productos se emplearon los intervalos de confianza clásico y de Westlake, éste último considera un intervalo simétrico entre los límites de la bioequivalencia y el valor obtenido . La tabla 39 muestra los intervalos de confianza para los parámetros de ABC 0-t, ABC 0-inf y Cp máxima en los que se observa que caen dentro de los límites aceptados por las legislaciones actuales 80-120% para datos crudos y 80-125% para datos transformados. Al calcular la relación entre el ABC0-t, ABC 0-inf y Cp max del producto de referencia y el producto de prueba los resultados fueron 0.9768, 0.9804 y 1.074 respectivamente lo cual corrobora que ambos productos son semejantes en la velocidad y cantidad de fármaco absorbida. Los resultados se observan en la tabla 43.

d) Poder de la Prueba: El poder de la prueba indica la confiabilidad del análisis estadístico, conforme su valor se acerca a uno la confiabilidad es mayor. Para los parámetros que determinan bioequivalencia, se encontró que el valor del poder de la prueba tuvo siempre un valor cercano a uno, tabla 40.

Con base a lo anterior se encontró que el producto de prueba fue bioequivalente con respecto al innovador.

8.3 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO:

Las curvas promedio de Cp contra tiempo muestran que en los voluntarios 1,2,3,5,8,9,10,11,12,y 13 existen aumentos y disminuciones en los niveles de concentración, lo cual se aprecia gráficamente, en la fase de absorción (Apéndice IV), por ejemplo el valor fue desde 76.21 mg/L a los

45 minutos, de 74.41, a los 60 minutos la concentración subió a 86.74. Estos altibajos en concentración plasmática pudieron deberse a una circulación enterohepática, como menciona Arvidsson (1982), la ceftriaxona se elimina en un 40 a 60% por vía biliar y una menor proporción se encuentra en heces en forma inalterada. Podríamos suponer que durante la eliminación biliar se secretaría la bilis con la ceftriaxona (que llegó a la bilis para ser eliminada) al intestino creando así la posibilidad de que el medicamento fuera reabsorbido en el tracto gastrointestinal y pasara a circulación sistémica nuevamente, provocando el aumento de la concentración observada en las gráficas.

Otra hipótesis es que ya que la administración del medicamento es por vía intramuscular, el músculo sirviera de reservorio del medicamento, y dependiendo de la forma y lugar de aplicación el fármaco se liberaría con mayor o menor velocidad, cabe resaltar algunos voluntarios presentaron induración en el sitio de la administración y otros no, además en teoría la toma de muestra sería por la vena del brazo, sin embargo los voluntarios aun cuando fueron cateterizados presentaron problemas durante los tiempos de muestreo, hubo necesidad de cambiar de brazo o tomar muestra de la vena de la mano. Lo anterior pudo afectar en los niveles encontrados de fármaco.

Los valores de ABC_{0-t} y ABC_{0-inf} , T_{max} y $C_p \max$ concuerdan con los datos descritos previamente en la literatura (Scully B, 1984).

8.3.1 Análisis por Momentos Estadísticos: En la bibliografía consultada no se encontraron parámetros calculados por momentos estadísticos para la ceftriaxona. El tiempo medio de residencia (TMR) fue de 11.55 ± 2.14 y 10.97 ± 2.4 (tabla 27), para el producto de referencia y de prueba respectivamente. El análisis estadístico de comparación de medias por t de

student mostró que no existen diferencias significativas en el TMR entre los dos productos.

8.3.2 Modelaje Compartimental: Los datos individuales de C_p se analizaron con los programas JANA y PCNONLIN. En base a los datos generados de coeficiente de correlación, normalidad de los datos y criterio de Akaik, la ceftriaxona se ajustó en la mayoría de los casos a un modelo abierto de dos compartimentos (MADC). En el caso del producto de referencia los datos de tres sujetos que solo se ajustaron a un modelo abierto de un compartimento (MAUC).

El análisis farmacocinético reveló que la constante beta y la constante de eliminación k_{10} son diferentes entre sí, lo cual corrobora que el mejor ajuste matemático de los datos es al modelo abierto de dos compartimentos.

A partir de las constantes del ajuste que se encuentran en las tablas 29 y 30, se encontró que las ecuaciones generadas para predecir concentraciones plasmáticas en población mexicana fueron las siguientes. Para el producto innovador: $C_p = 108.00 \text{ EXP} (-0.4639 * t) + 68.89 \text{ EXP} (-0.07421 * t) - 147.78 \text{ EXP} (-1.1017 * t)$ y para el producto de prueba: $C_p = 157.61 \text{ EXP} (-0.8164 * t) + 62.79 \text{ EXP} (-0.0768 * t) - 180.47 \text{ EXP} (-1.103 * t)$

El Volumen de distribución encontrado (V_d) fue de 15.19 y 15.12 L (tabla 33), semejante al reportado por Mc Namara en 1982, el cual es de 12.7L.

La depuración sistémica Cl_s calculada es de 1.016 ± 0.28 y 1.132 ± 0.25 L/h para el producto de prueba y el de referencia respectivamente estos valores son también análogos a los encontrados en otros estudios (Stoeckel K, 1981, Brodgen W, 1988 y Scully B, 1984).

La constante de absorción k_{01} resultó de 1.103 h^{-1} y 1.107 h^{-1} para la formulación de prueba e innovadora respectivamente (tablas 31 y 32). El producto tiene una velocidad de absorción rápida y un tiempo de vida

media larga, 8.6 h lo cual favorece que el medicamento alcance concentraciones plasmáticas mayores a las concentraciones mínimas inhibitorias (tabla 3) para la mayoría de los microorganismos hasta las 36h. Una prueba de t de student muestra que no hay diferencias significativas entre las dos formulaciones (tabla 42), para esta constante.

El tiempo de vida media es de 8.6714 ± 1.1399 h para el producto de prueba y 8.6751 ± 1.296 h para el producto innovador, ambos valores están dentro de los encontrados en otras investigaciones. Scully B en 1984 reporta que el valor de tiempo de vida media puede ir desde 5.4 hasta 9h.

La constante de eliminación beta es de 0.07991 ± 0.0173 h⁻¹ para el producto de prueba y 0.07988 ± 0.0160 h⁻¹ para el producto de referencia, mientras que la constante de eliminación k10 es de 0.1693 y 0.1292 para el producto de prueba y el innovador respectivamente. Estos parámetros fueron comparables con los reportados en la literatura (tabla 33).

El promedio de las microconstantes del modelaje compartimental k21, k12, k01, k10, α y β son muy semejantes entre ambas formulaciones (con excepción de k12) como se muestra en la tabla 45. Sin embargo existe gran variabilidad interindividual al observar los valores individuales presentados en las tablas 29 y 30.

Tabla 45. Promedio de las microconstantes del ajuste a un modelo abierto de dos compartimentos.

Producto	K01 h ⁻¹	K10 h ⁻¹	K21 h ⁻¹	K12 h ⁻¹	α h ⁻¹	β h ⁻¹
Prueba	1.03	0.1061	0.1078	0.0091	0.4639	0.07991
Innovador	1.107	0.1138	0.1203	0.0010	0.8164	0.07988

8.4 DECISIÓN DE BIOEQUIVALENCIA

Como se puede observar en las figuras 12 y 13 la distribución de los datos es normal empleando las áreas bajo la curva lo cual es fundamental para realizar el presente análisis estadístico. Sin embargo los valores de la media y la mediana no son exactamente iguales, este sesgo puede deberse a la variabilidad interindividual que se comprueba con el análisis de varianza del Biopak TM en los valores de la F de Fisher (tablas 36 a 38).

En la tabla 39 se observa que los parámetros de ABC 0-t, ABC 0-inf y Cp máxima se encontraron en el intervalo de confianza de 80 a 120% lo que indica que el producto de prueba y tiene la misma velocidad y cantidad de fármaco absorbida. Lo anterior demuestra la bioequivalencia del producto de prueba con respecto al de referencia.

CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

Se optimizó un método analítico para la cuantificación de ceftriaxona en plasma. El método fue lineal, selectivo, específico, sensible, exacto y repetible. Asimismo la extracción del analito de interés en la matriz biológica fue eficiente, por lo que cumplió con las características para ser utilizado en el estudio de bioequivalencia.

La evaluación farmacocinética reveló que los parámetros obtenidos en población mexicana son comparables con los reportados por otros países, a pesar de las diferencias entre razas como fisiológicas o alimenticias, entre otras.

Es posible que la ceftriaxona sufra recirculación enterohepática de acuerdo con los perfiles de concentración plasmática contra tiempo, o bien que el músculo sea un reservorio para la liberación del medicamento, la cual tiene altibajos dependiendo del sitio de administración o de la forma de aplicación del mismo.

El producto de prueba fue bioequivalente al producto innovador.

BIBLIOGRAFIA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aarons L., Toon S., Validation Assay Methodology used in Pharmacokinetic Studies, *Journal of Pharmacological Methods* 17, 337-3346, 1986.
2. Aniwa N. Power Analyses of Moment Analysis Parameter in Bioequivalence Tests. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 78, 12, 1020-1024, 1989.
3. Abdou H. Disolution Bioavailability and bioequivalence. Pennsylvania Mack Publishing Co. 1989.
4. Anderson S., Hauck W., Consideration of Individual Bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics. and Biopharmaceutics.* 18, 3, 259-273, 1990.
5. Analytical Abstracts. CD Facultad de Química, UNAM.
6. Arancibia A. Biodisponibilidad de Medicamentos. Simposio Internacional I Universidad de Chile 1992.
7. Ardivissov A., Ceftriaxone: renal and biliary excretion and effect on the colon microflora. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 10, 207-215, 1982.
8. Ascalone V., Determination of ceftriaxone a novel cephalosporin in plasma, urine and saliva by HPLC on a NH₂ bonded-phase column. *Journal of Chromatography.* 273, 357-366, 1983.
9. Blanchard J. Evaluation of the relative efficacy of various techniques for deproteinizing plasma samples prior to HPLC analysis. *Journal of Chromatography.* 226, 455-460, 1981.
10. Bowman D. Reversed-phase HPLC method to determine ceftriaxone in biological fluids. *Journal of Chromatography.* 309, 209-213, 1984.
11. Bowmer M. Single dose Ceftriaxone for Chancroid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 31, 1, 67-69, 1987.
12. Braggio S. A strategy for validation of bioanalytical methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 14, 375-388, 1996.

13. Bressole F. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods, Applications to pharmacokinetics. *Journal of Chromatography*. 686, 3-10, 1996.
14. British Pharmacopoeia 1993. Vol I, II. London HSMO United Kingdom 1993.
15. Brodgen N., Ward A. CEFTRIAXONE, A reappraisal of its antibacterial activity and pharmacokinetic properties, and update on its therapeutic use with particular reference to once daily administration. *Drugs*, 35, 604-645, 1988.
16. Calderón J. Aplicación clínica de antibióticos y quimioterápicos. 17ª edición, ROCHE, México 1997.
17. Caprile K. The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 11, 1-32, 1988.
18. Cárdenas H. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. UAM, Xochimilco, México 1996.
19. Clarke A.M. Ro 13-9904 and GR 20263, two new cephalosporins with broad-spectrum activity: an *in vitro* comparison with other beta-lactam antibiotics. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 7, 515-520, 1981.
20. Cleeland R. Antimicrobial activity of Ceftriaxone: A review. *The American Journal of Medicine*. 19, 3-11, 1984.
21. Collier Ann. Comparative Study of Ceftriaxone and Streptomycin in the treatment of uncomplicated gonorrhea in women. *The American Journal of Medicine*. 19, 68-72, 1984.
22. Chau P. In Vitro susceptibility of *Salmonella* to various antimicrobial agents. Including a new cephalosporin, Ro 13-9904. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 19, 1 8-10, 1981.
23. Cheng H. Drug Redistribution and mean residence transit time concepts for nonlinear pharmacokinetic systems, *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 12, 73-79, 1991.
24. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM, edición 43, México 1997.

25. Draft BIOEQUIVALENCE GUIDELINE FDA, MD. Jan. 15 1996.
26. Doganay M. Antimicrobial Susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Antibiotics*, 112, 23-27. 1992.
27. Eickhoff T. Comparative In Vitro studies of Ro 13-9904, a new cephalosporine derivative. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 19, 3, 435-442, 1981.
28. Espinosa C. Estudio de Biodisponibilidad / Bioequivalencia de tabletas de tartrato de metoprolol. Tesis, Biofarmacia, Facultad de Química 1995, UNAM.
29. European Pharmacopoeia 3^o edition 1997, Strasbourg Concil of Europe 1997.
30. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 6^a edición, México 1995.
31. Frantz May, Iodometric and Spectrophotometric assays for cephadrine after hydrolysis with a beta-lactamase. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 65, 6, 887-891, 1976.
32. Gail L, Ion paired reversed-phase high -performance liquid chromatography assay for determination of ceftriaxone in human plasma and urine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78, 11, 968-970, 1989.
33. Gerrundet Von O. use of Pharmacokinetics when dealing with the drug residue problem in food producing animals. *Deutsche tierärztliche wochenschrift*. 5, 241-284, 1989.
34. Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 8^o edición, Edt. Médica Panamericana, Argentina 1991.
35. Grannheman R. A very precise HPLC procedure for the determination of cefenoxime, a new antibiotic, in plasma. *Journal of Chromatography*. 229, 149-157, 1982.
36. Hakim L. HPLC assay of cefotaxime, desacetylcefotaxime, and ceftriaxone in rat plasma. *Journal of Chromatography*. 424, 111-117, 1988.
37. Harold N. The new beta-lactamase-stable cephalosporins, *Annals of Internal Medicine*, 97, 408-419, 1982.

38. Hayton W. Biliary Excretion and Pharmacokinetics of Ceftriaxone after Cholecystectomy. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 30, 445-451, 1986.
39. Hewlett Packard Good laboratory practice and current good manufacturing practice, Germany 1994.
40. HPLC in pharmaceutical analysis Edt. CRC USA 1991.
41. Hu P, Beta-lactam antibiotics: their physicochemical properties and biological activities in relation to structure, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60, 4, 503-527, 1971.
42. Hunter H. Comparative study of ceftriaxone and streptomycin for the treatment of uncomplicated gonorrhea in men. *The Lancet* 67-70, 1983.
43. International Pharmaceutical Abstracts (I Ph A) CD, Facultad de Química, UNAM.
44. Jungbluth G. Ion Paired Phase Reversed-phase HPLC assay for determination of Ceftriaxone in Human Plasma and Urine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 78, 11, 968-970, 1989.
45. Karnes H. Validation of Bioanalytical Methods. *Pharmaceutical Research*. 8, 4, 421-426, 1991.
46. Lopes A. Comparative in vitro activity of three cephalosporins against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Research in Veterinary Sciences*, 51, 339-340, 1991.
47. Martin C. Pharmacokinetics and tissue penetration of a single dose of Ceftriaxone (1000 mg intravenously) for antibiotic prophylaxis in thoracic surgery. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 36, 12, 2804-2807, 1992.
48. McNamara P. Pharmacokinetics of Ceftriaxone following intravenous administration of a 3g dose. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 22, 71-75, 1982.
49. Montgomery D. Probabilidad y Estadística aplicadas a la Ingeniería, Mc Graw Hill, México 1996.
50. Neu H. The new beta-lactamase stable cephalosporin. *Annals of Internal Medicine*, 97, 408-419, 1982.

51. Norma Oficial Mexicana Acuerdo por el que se relacionan las especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al catálogo de medicamentos genéricos intercambiables. Jueves 19 de Marzo de 1998. Diario Oficial.
52. Norma Oficial Mexicana Convocatoria a las personas interesadas en operar como terceros autorizados para realizar pruebas de intercambiabilidad de medicamentos. . Jueves 26 de Marzo de 1998. Diario Oficial.
53. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSAI-1998: Pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse terceros autorizados que realicen las pruebas. Viernes 7 de mayo de 1999.
54. Oldfield N. Quantitation of Ceftetrame in Human Plasma and Urine by HPLC. Journal of Chromatography. 422, 135-143, 1987.
55. Pérez M. Bioequivalencia de tabletas conteniendo clorhidrato de ambroxol Tesis, Biofarmacia, Facultad de Química UNAM, 1995.
56. Poretz. Symposium on Ceftriaxone, a new cephalosporine 1275-1331, Summer 1990.
57. Prado F. Introducción a la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución. UAM, Xochimilco, México 1996.
58. Prescott Journal of Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine 2^o edition State Univerity Press, USA 1993.
59. Quattrochi O. Introducción a la HPLC, Aplicación teoría y Práctica, Artes Gráficas Farro, Argentina, 1992.
60. Remington Farmacia, 17^o edición Edt. Médica Panamericana, Argentina 1992.
61. Rowland M. Clinical Pharmacokinetics, concepts and applications 3^o edition, Williams and Wilkins 1995 USA.
62. Schuirmann D., A comparison of the two One-Sided tests Procedure and the Power Approach for Assesing the Equivalence of Average Bioavailability. Journal of Pharmacokinetics. and Biopharmaceutics, 15, 6, 657-680, 1987.

63. Scully B. Pharmacokinetics of Ceftriaxone after intravenous and intramuscular injection. *The American Journal of Medicine*, 19, 112-116, 1984.
64. Sherman J. Ceftriaxone treatment of multidrug-resistant Salmonella Osteomyelitis. *The American Journal of Medicine*. 33, 80-83, 1984.
65. Steinjans V. Reference tables for the intrasubject coefficient of variation in bioequivalence studies. *Int. Journal of Clinical Pharmacology, and Therapeutics*. 33, 8, 427-430, 1995.
66. Stoeckel K. Effects of concentration-dependent plasma protein binding on ceftriaxone kinetics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 29, 5, 650-657, 1981.
67. Stoeckel K. Single dose ceftriaxone kinetics in liver insufficiency. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 36, 4, 500-509, 1984.
68. Sun H. Characteristics of Ceftriaxone binding to Immunoglobulin G and potential clinical significance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35, 11, 2232-2237, 1991.
69. The Merck Index An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Susan budavari, 12^o edition, Merck & Co., Inc., USA, 1990.
70. The Pharmacopoeia of the United States of America XXIII United States Convention. Inc. USA, 1995.
71. Toth A. Pharmacokinetics of ceftriaxone in liver-transplant recipients. *Journal of Clinical. Pharmacology*, 31, 722-728, 1991.
72. Walters Kluver Dru Facts and Comparisons St. Louis, 1993 edition. USA.
73. Westlake W. Use of Statistical Methods in evaluation of In Vivo Performance of Dosage Forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62, 10, 1579-1588, 1973.
74. Westlake W. Use of Confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61, 8, 1340-1341, 1972.
75. Wieling J. Rational experimental desing for bioanalytical methods validation. *Journal of Chromatography*, 730, 381-394, 1996.

76. Yamana Tsukinaka, Comparative stability of cephalosporines in aqueous solution: Kinetics and mechanisms of degradation, Journal of Pharmaceutical Sciences, 65, 11, 1563-1573, 1976.

77. Búsqueda electrónica:

<http://www.ich.validation1996>.

<http://www.ssa.gob.mx>

<http://www.ceftriaxone/kinetics>

<http://www.roche.com>

<http://www.statistics/applied>

<http://www.antibiotics>

<http://www.bioequivalence>

http://www.pharminfo.com/drg_mnu.html

<http://www.chem.ox.ac.uk/om/chemical-database/c/ceftriaxone.html>

APÉNDICES

APÉNDICE I

ESPECTRO DE INFRARROJO DE LA CEFTRIAXONA

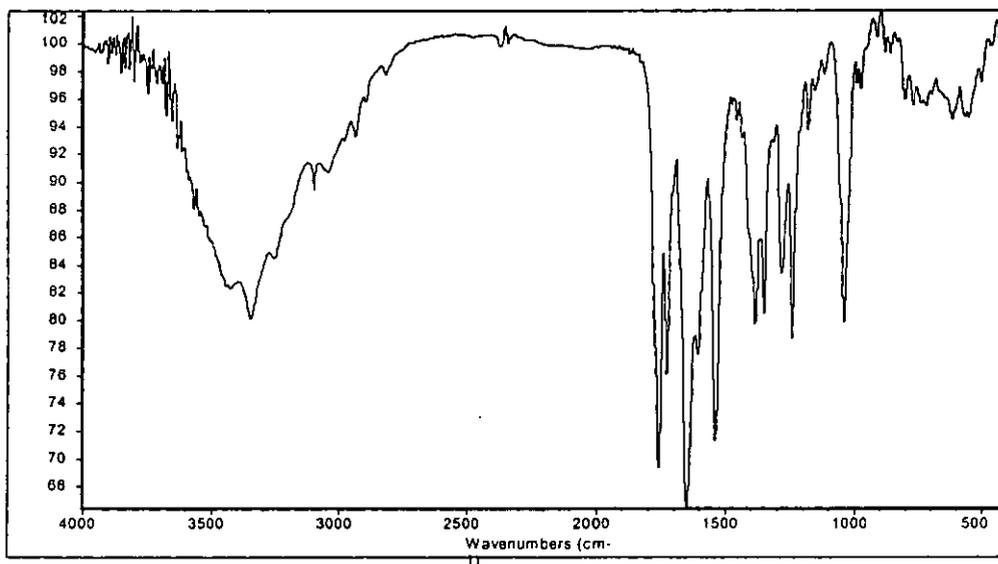


Fig I.1 Espectro de Infrarrojo de la ceftriaxona

ESPECTRO DE ULTRAVIOLETA DE LA CEFTRIAXONA

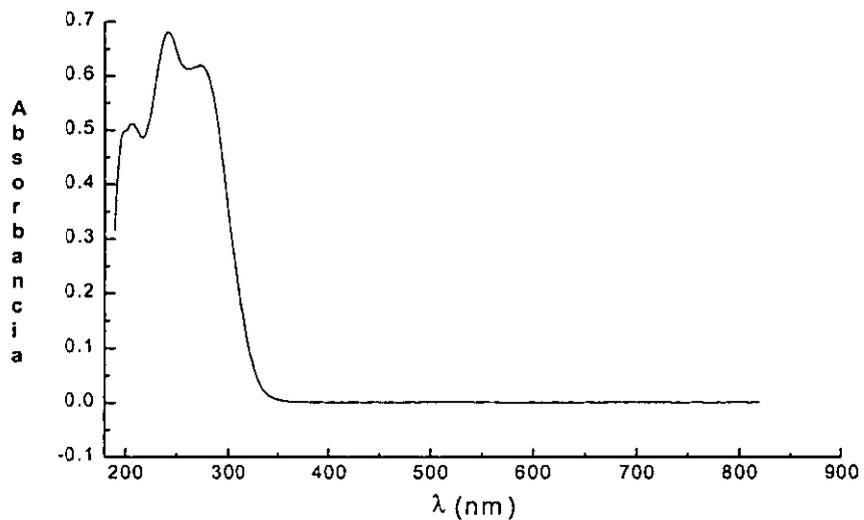


Fig. I.2 Espectro de UV de la ceftriaxona

ESPECTRO DE INFRARROJO DE LA CEFOTAXIMA

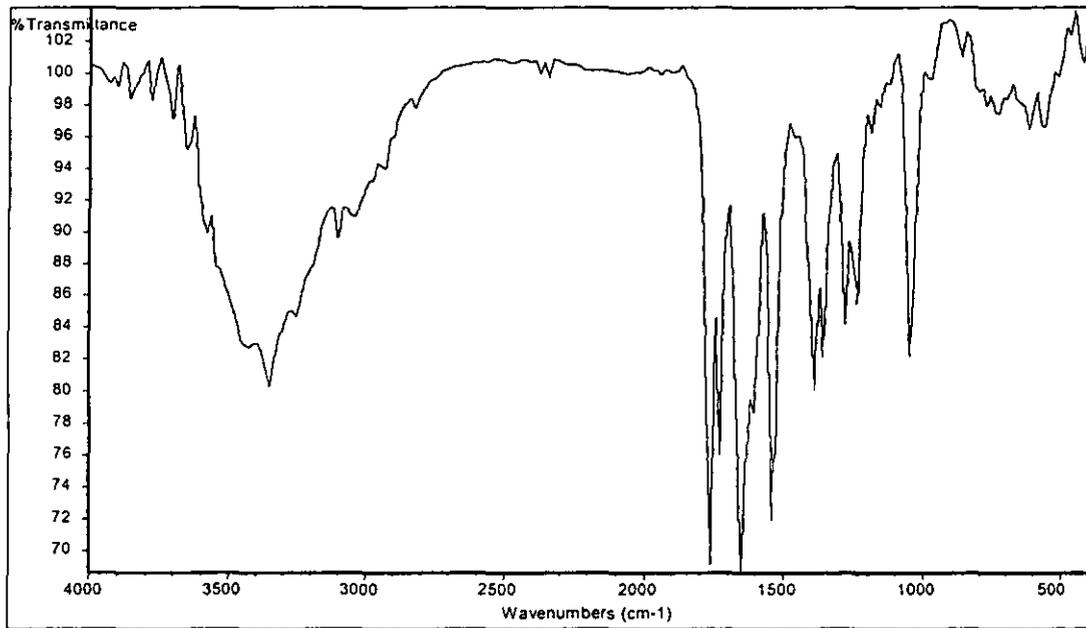


Fig. I.2 Espectro de IR de la cefotaxima

ESPECTRO DE ULTRAVIOLETA DE LA CEFOTAXIMA

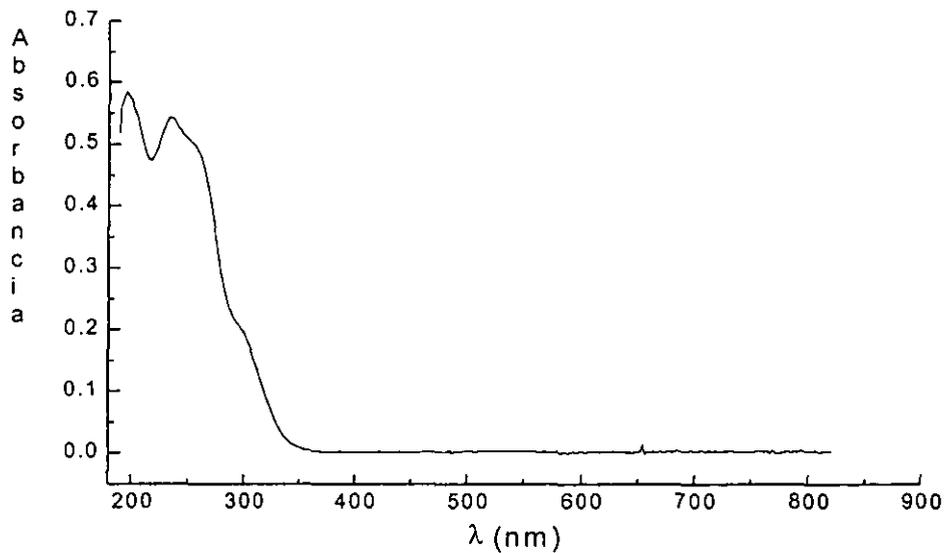


Fig. I.2 Espectro de UV de la cefotaxima

APÉNDICE II**PROTOCOLO DEL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA**
ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE PRODUCTOS COMERCIALES CONTENIENDO
CEFTRIAXONA SÓDICA VIA INTRAMUSCULAR**PROPÓSITO**

Este es un estudio de investigación. El objetivo es conocer la biodisponibilidad de dos productos conteniendo ceftriaxona sódica, es decir, conocer qué cantidad de cada uno de estos medicamentos llega a sangre después de haberlo administrado por vía intramuscular.

CLASE DE COMPUESTO

Antibiótico beta-lactámico, del grupo de las Cefalosporinas de Tercera Generación.

USOS:

La ceftriaxona sódica es eficaz en el tratamiento de las infecciones bacterianas severas, en organismos grampositivos, enterobacterias, anaerobios y pseudomonas en adultos y niños.

RIESGOS

Las reacciones adversas son raras y generalmente desaparecen al suspender el tratamiento e incluyen: Cefalea, vértigo, entre las manifestaciones gastrointestinales más comunes están: diarrea, náusea, dolor abdominal y flatulencia.

REQUISITOS

1. Ser un sujeto sano de 18 a 40 años
2. Aprobar el examen físico y pruebas de laboratorio clínico además del electrocardiograma.
3. Tener un peso corporal \pm 10% del peso ideal.
4. Cumplir con el reglamento indicado
5. No debe:

- Haber tomado ningún medicamento de investigación al menos 30 días antes del estudio
- Haber tomado algún medicamento 8 días previos al mismo
- Tomar algún otro medicamento durante el estudio
- Haber donado sangre 60 días antes del inicio del estudio
- Haber estado hospitalizado dentro de las 8 semanas anteriores al estudio
- Consumir alcohol o cafeína 48 h antes del estudio

PROCEDIMIENTO

1. Participación de 12/14 voluntarios sanos clínicamente. Ajustados a los requisitos previamente mencionados.
2. Los voluntarios deberán hospitalizarse desde la noche anterior al estudio, al Instituto Nacional de Nutrición INNSZ.
3. A los voluntarios recibirán una dosis única de ceftriaxona por vía intramuscular. El estudio constara de dos fases: En la fase I al sujeto se le administra una dosis única de uno de los productos al azar. Después de 1 semana, en la fase II se les administra el otro producto.
4. A las 7:30 a.m. se administra el medicamento por vía intramuscular dejando un lapso de 3 minutos entre voluntarios. Se toman muestras a los siguientes tiempos: 0, 15min, 30 min., 45 min., 1h, 1.5h, 2h, 2.5h, 3h, 3.5h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h y 36h.
5. A las 4h de iniciado el estudio los voluntarios recibirán su desayuno y 8-10 después la comida. Finalmente 12-14h después de administrado el medicamento recibirán a cena.
6. Se permite beber agua al gusto.
7. Todas las muestras serán colocadas en tubos heparinizados. El plasma se separara por centrifugación a 3000 r.p.m. por 10 minutos. El plasma se mantendrá en congelación -20°C hasta su análisis.

APÉNDICE III

CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA CADA VOLUNTARIO
(Se proporcionó además una copia del protocolo)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE PRODUCTOS COMERCIALES
CONTENIENDO CEFTRIAXONA SODICA

NOMBRE: _____
FECHA DE NACIMIENTO _____
EDAD _____ SEXO _____
DIRECCION _____
TELEFONO _____

Por medio de la presente, declaro que he sido invitado a participar en el proyecto de investigación: ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA PARA CEFTRIAXONA. Se me ha explicado que el objetivo del estudio es determinar la equivalencia terapéutica entre una formulación nacional y el producto innovador de soluciones inyectables que contienen CEFTRIAXONA como principio activo. Así como los procedimientos que van a emplearse y el propósito de cada uno de ellos.

He sido informado de los posibles efectos adversos que se presentan con la CEFTRIAXONA. Que recibiré el día del estudio.

Entiendo que tengo libertad para retirar mi consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio. Por lo anterior y en forma voluntaria y en pleno uso de mis facultades **acepto participar como voluntario y consiento sujetarme a los procedimientos de la investigación.**

Mediante la firma de este consentimiento estoy autorizando que se de a conocer mi historia clínica a las autoridades de salud, al patrocinador y a las comisiones de ética de investigación del hospital cuando se requiera.

Nombre y firma del voluntario _____
Número de identificación del voluntario _____
Nombre y firma del testigo _____
Relación del testigo con el voluntario _____
Nombre y firma del investigador _____
Nombre y firma del médico responsable _____
Lugar y Fecha _____

APÉNDICE IV.

Gráficas de concentración contra tiempo y ln de la concentración vs tiempo para cada voluntario

VOLUNTARIO 1

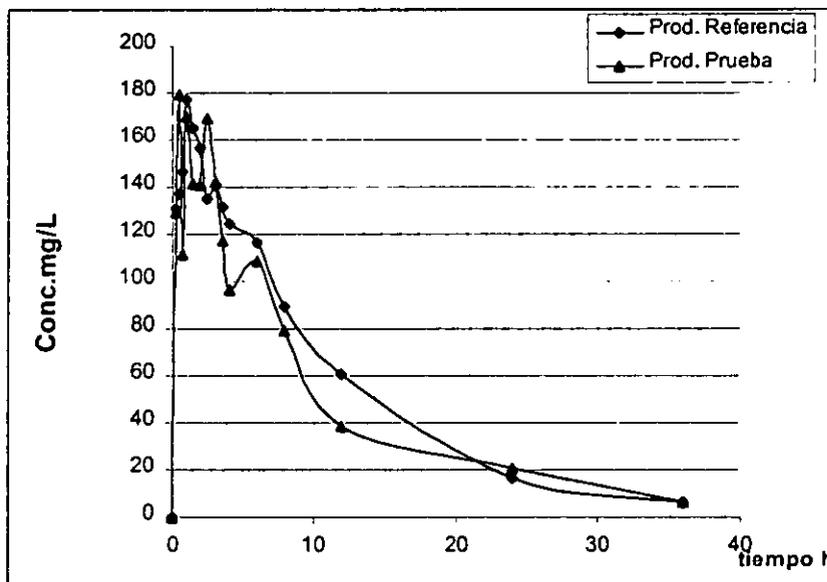


Fig. IV.1 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 1, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

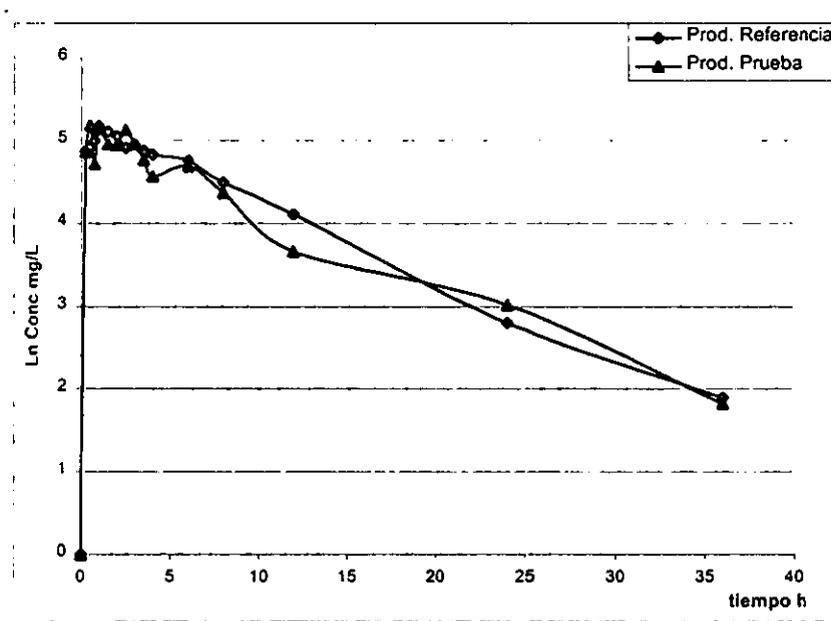


Fig. IV.2 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 1, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 2

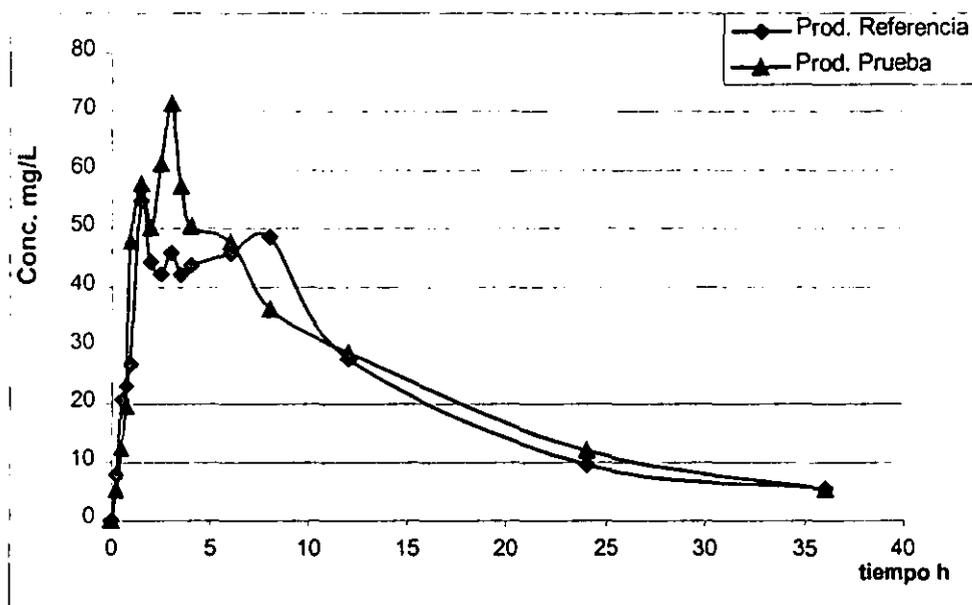


Fig. IV.3 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 2 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

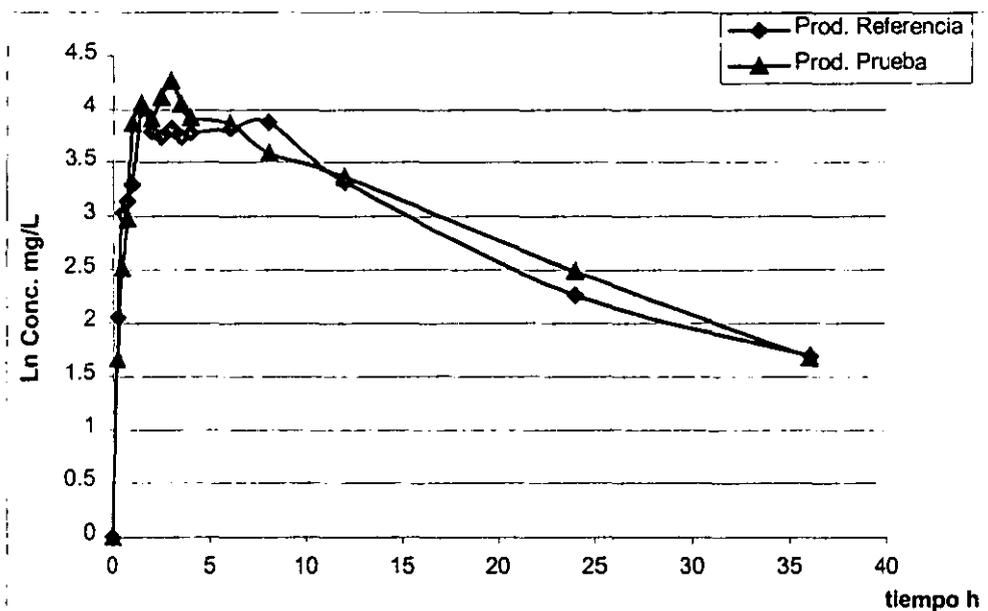


Fig. IV.4 Gráfica de Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 2, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 3

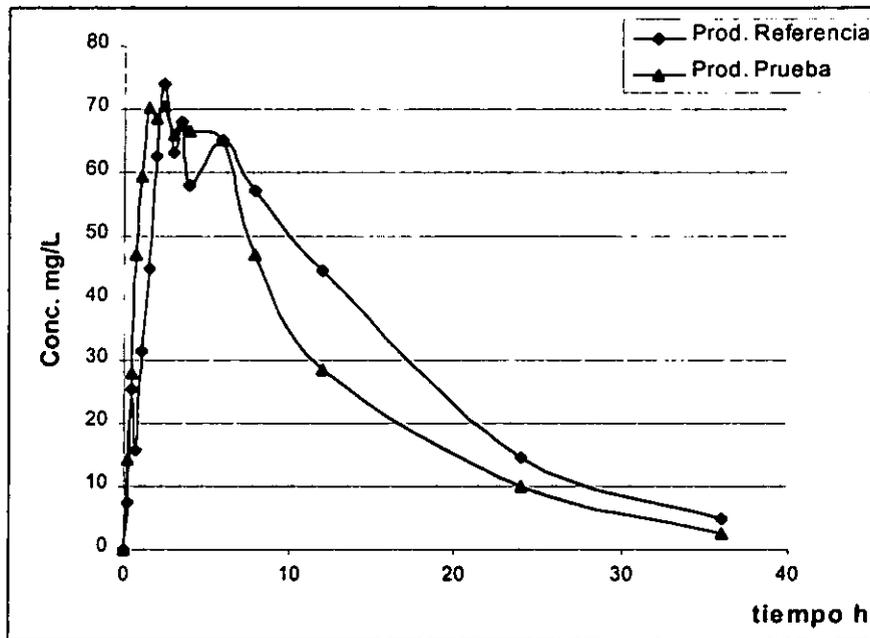


Fig. IV.5 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 3 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

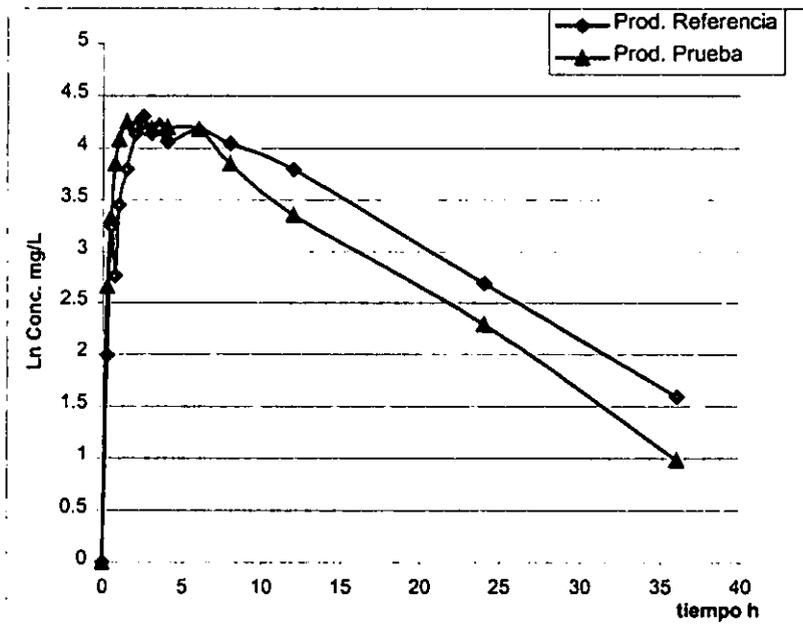


Fig. IV.6 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 3 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 4

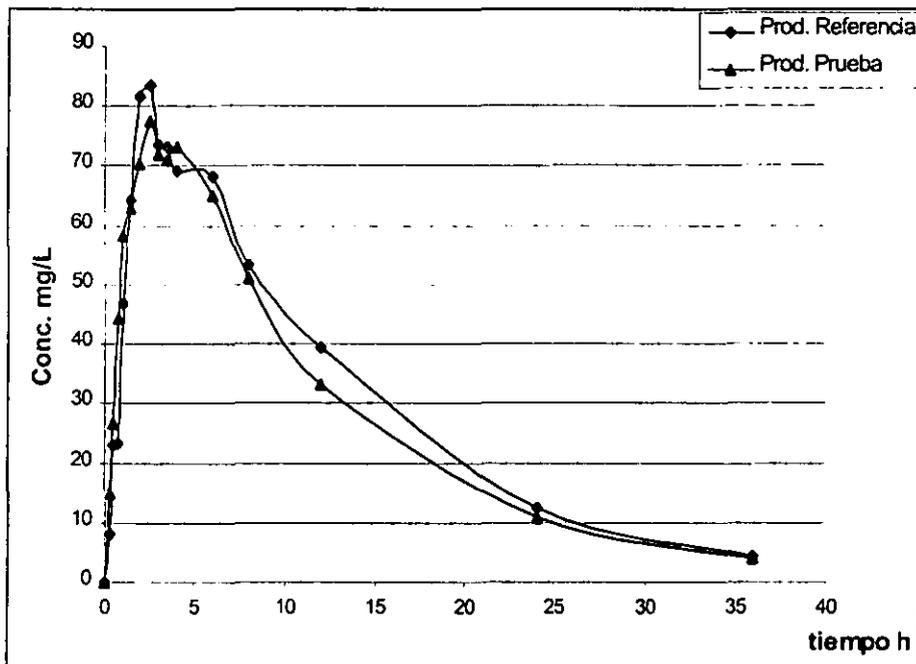


Fig. IV.7 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 4 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

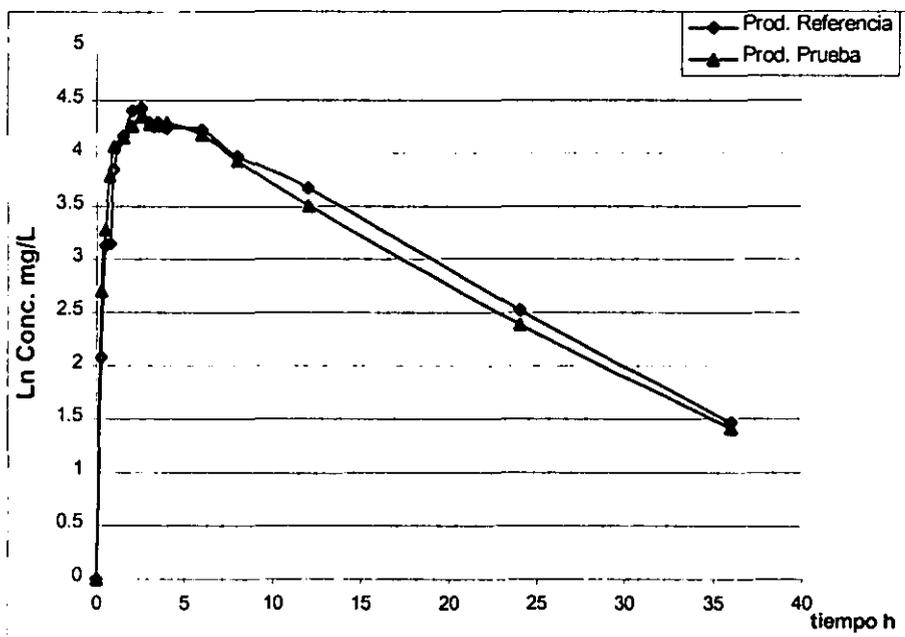


Fig. V.8 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 4 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 5

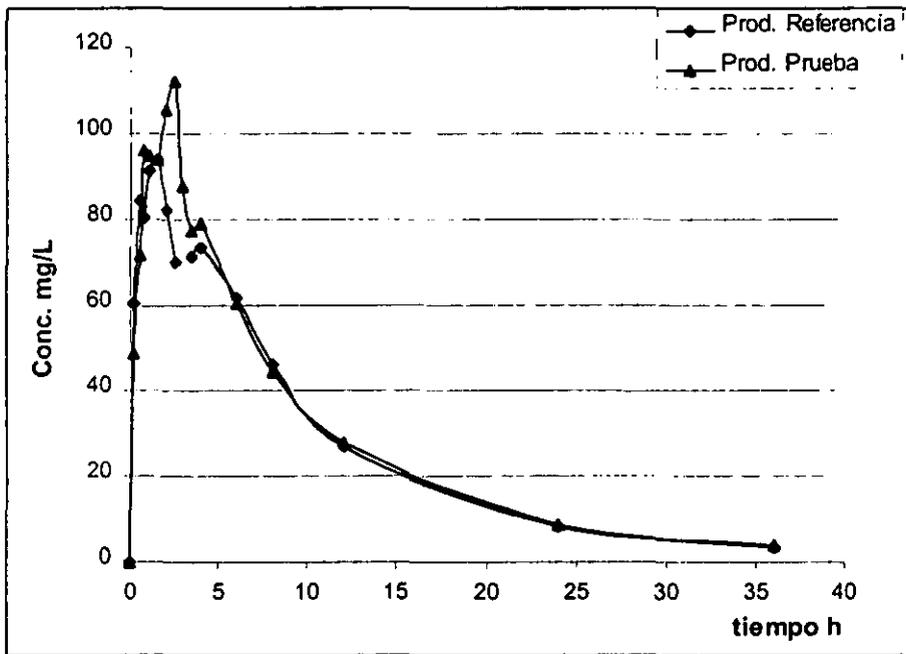


Fig. IV.9. Gráfica de la Cp vs tiempo del voluntario 5, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

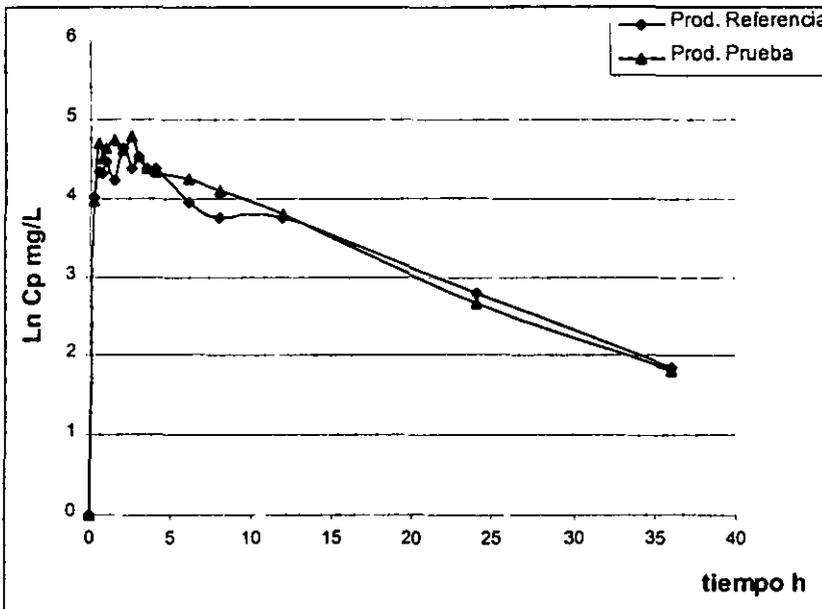


Fig. IV.10 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 5, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 7

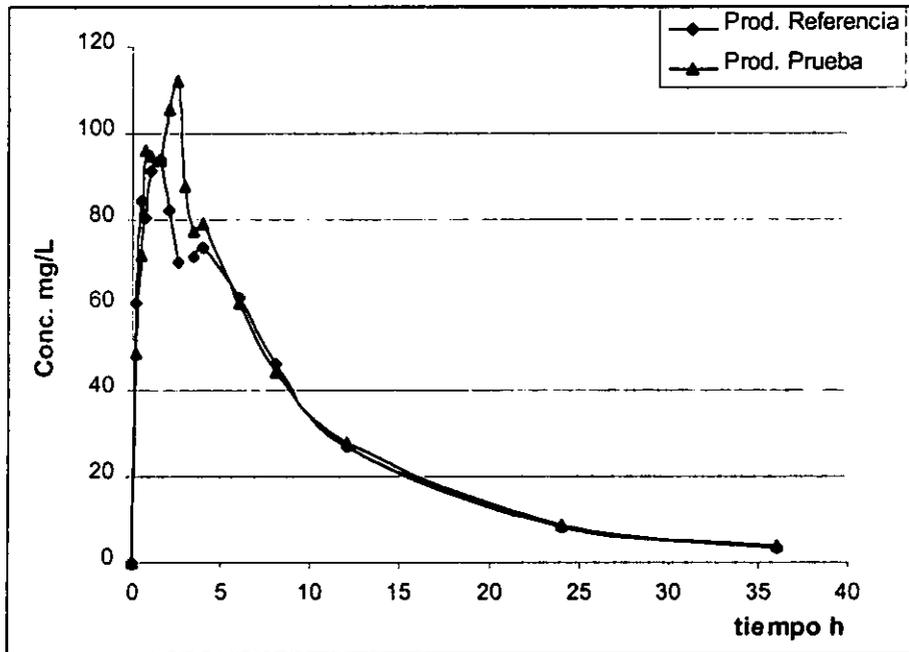


Fig. IV.11 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 7, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

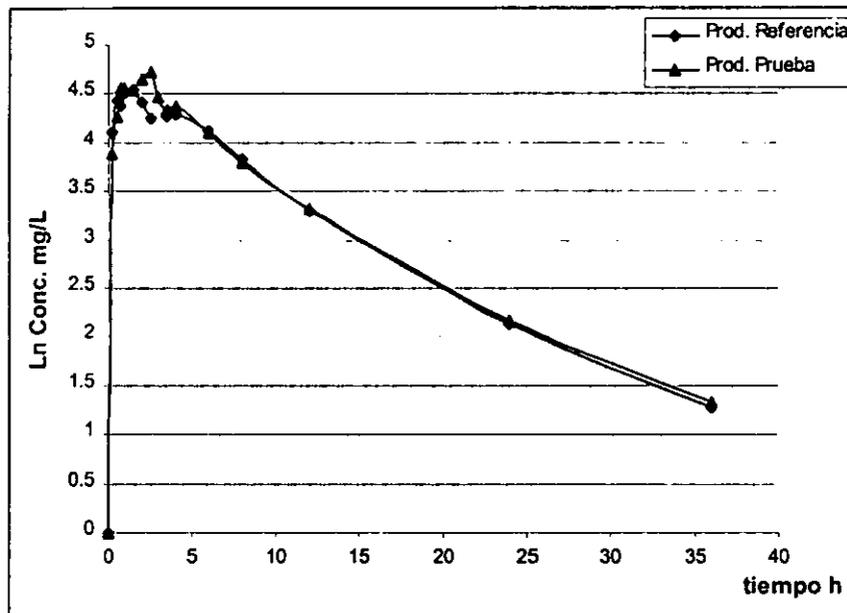


Fig. IV.12 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 7, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 8

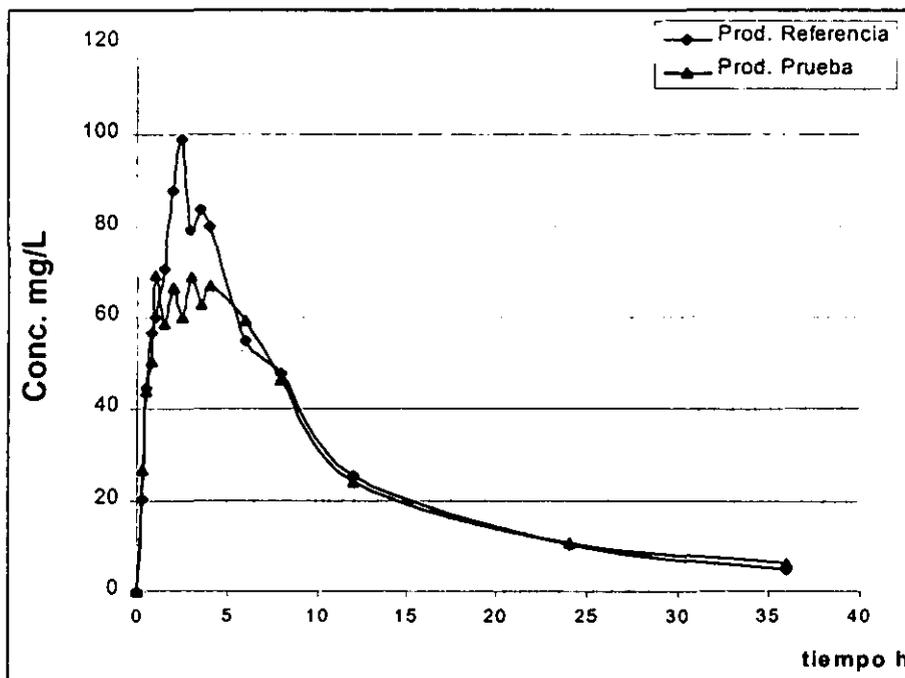


Fig. IV.13 Gráfica de la Cp vs tiempo del voluntario 8, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

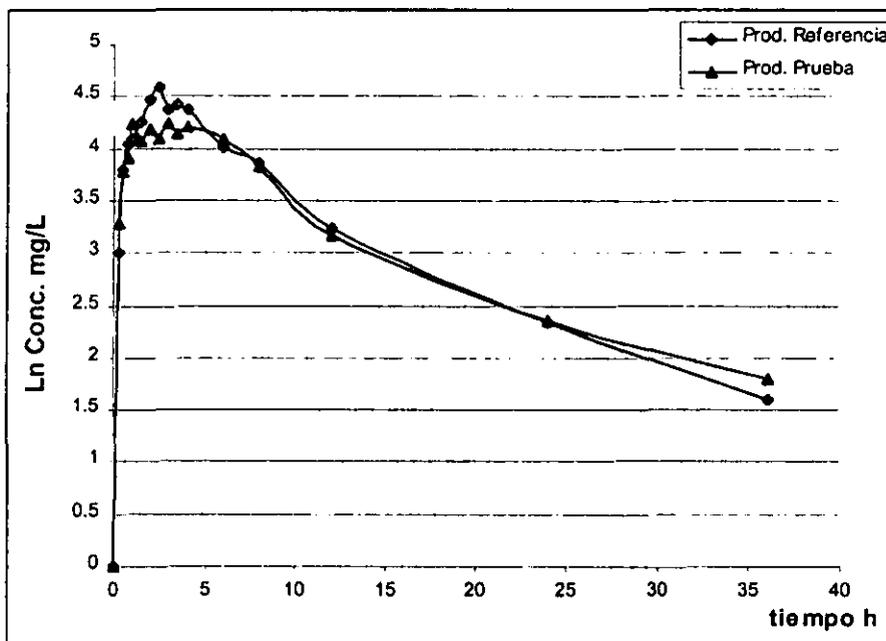


Fig. IV.14 gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 8 después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 9

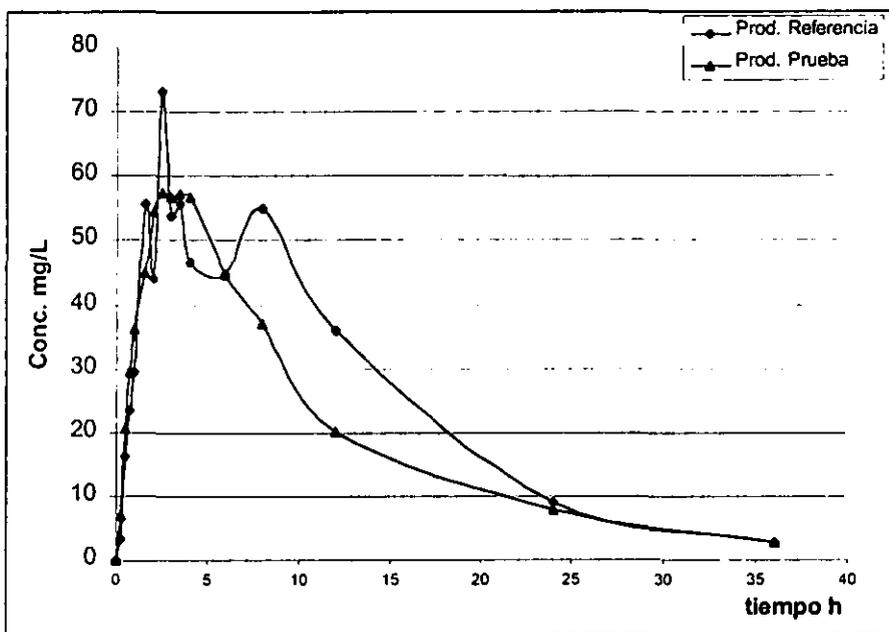


Fig. IV.5 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 9, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

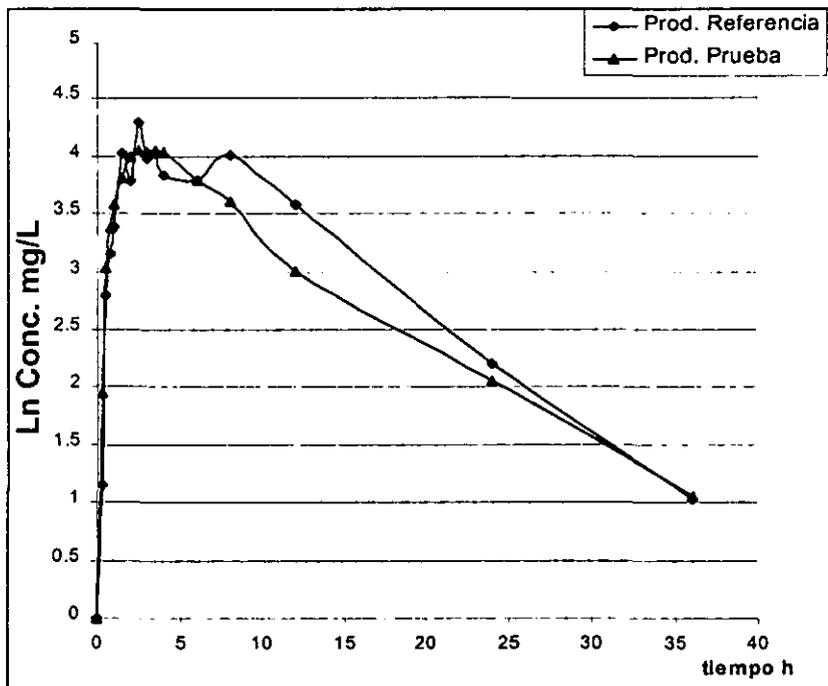


Fig. IV.16 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 9, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 10

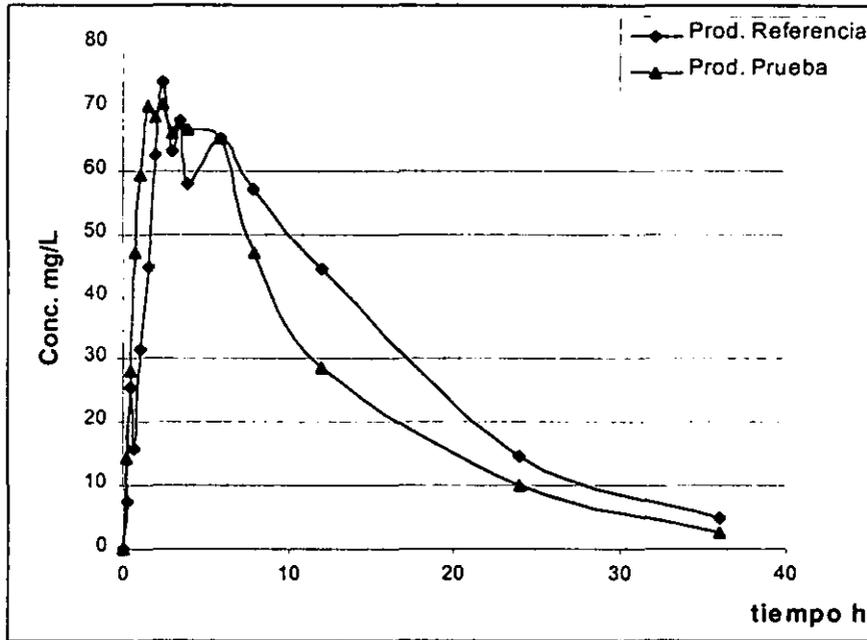


Fig. IV.17 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 10, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

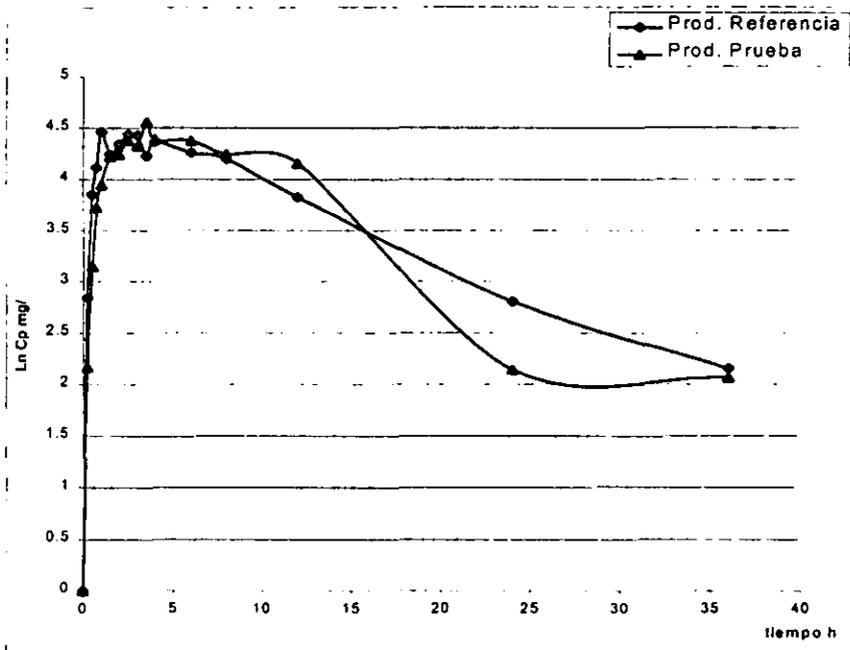


Fig. IV.18 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 10, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 11

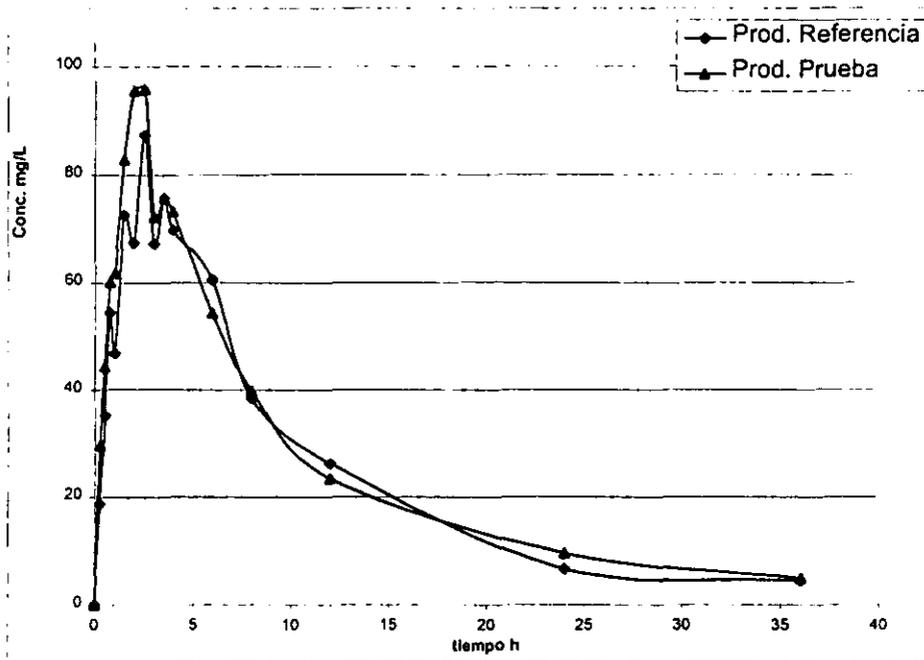


Fig. IV.19 gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 11, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

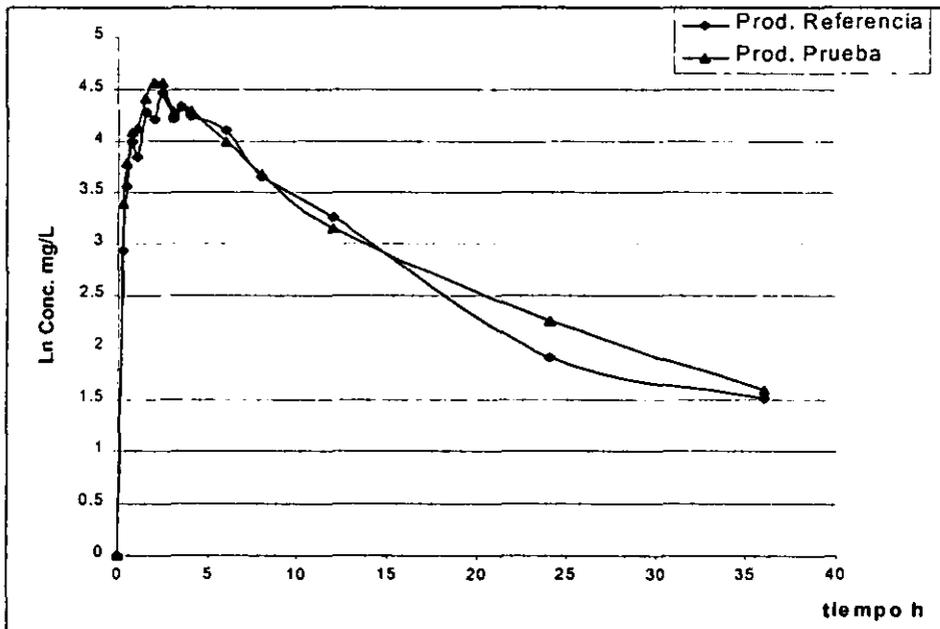


Fig. IV.20 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 11, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 12

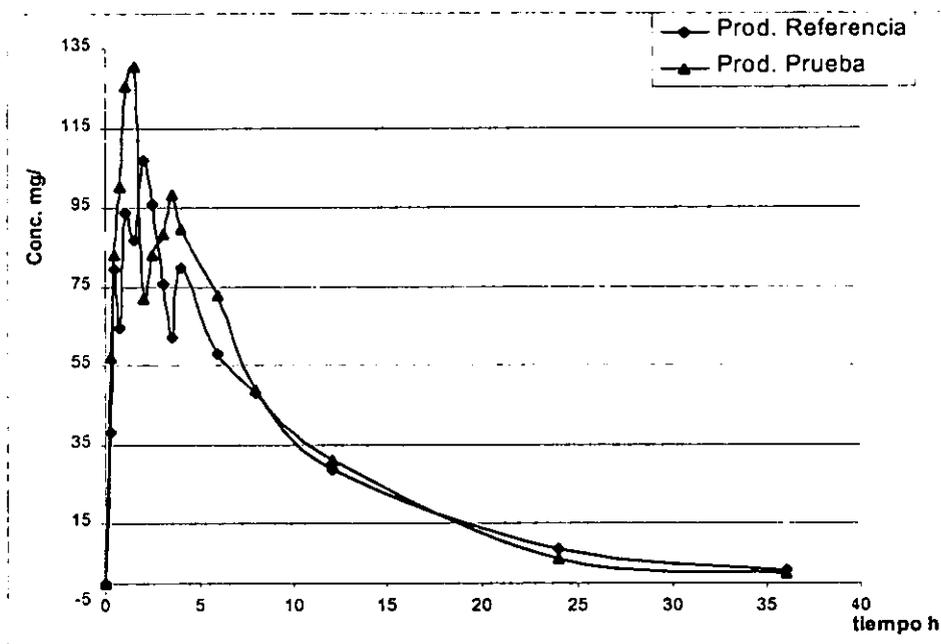


Fig. IV.21 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 12, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

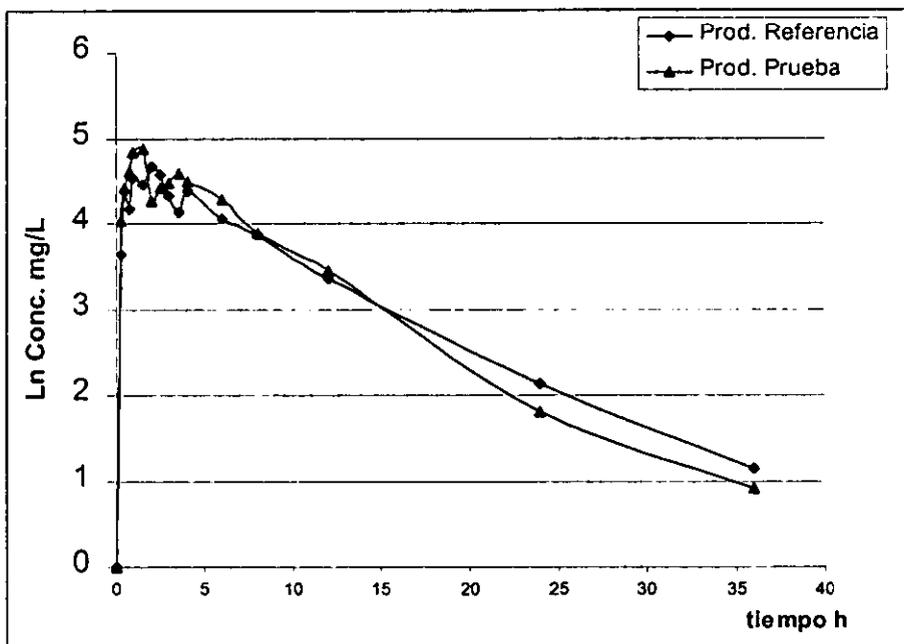


Fig. IV.22 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 12, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 13

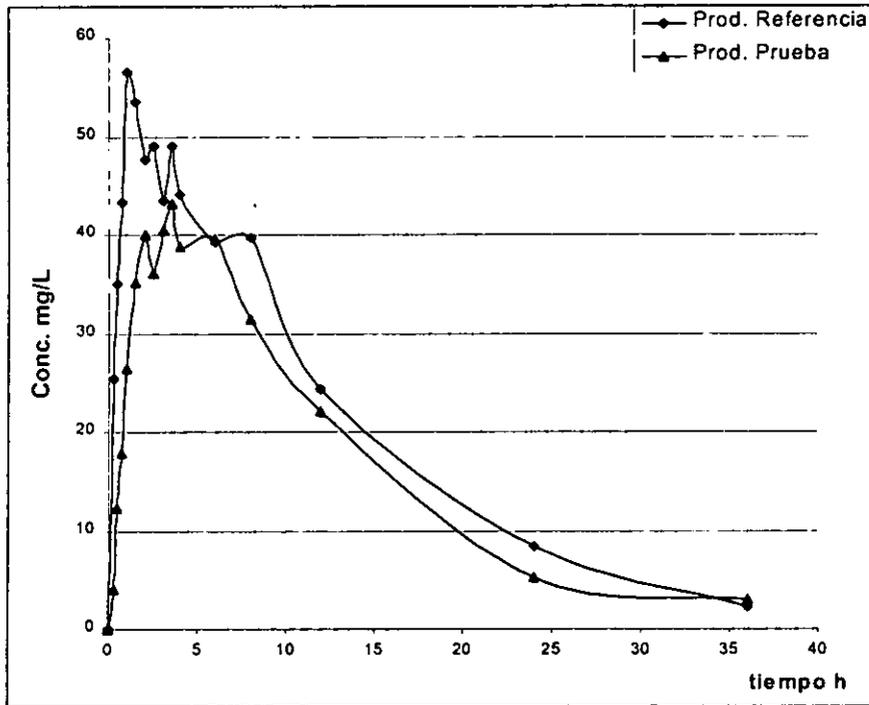


Fig. IV.23 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 13, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

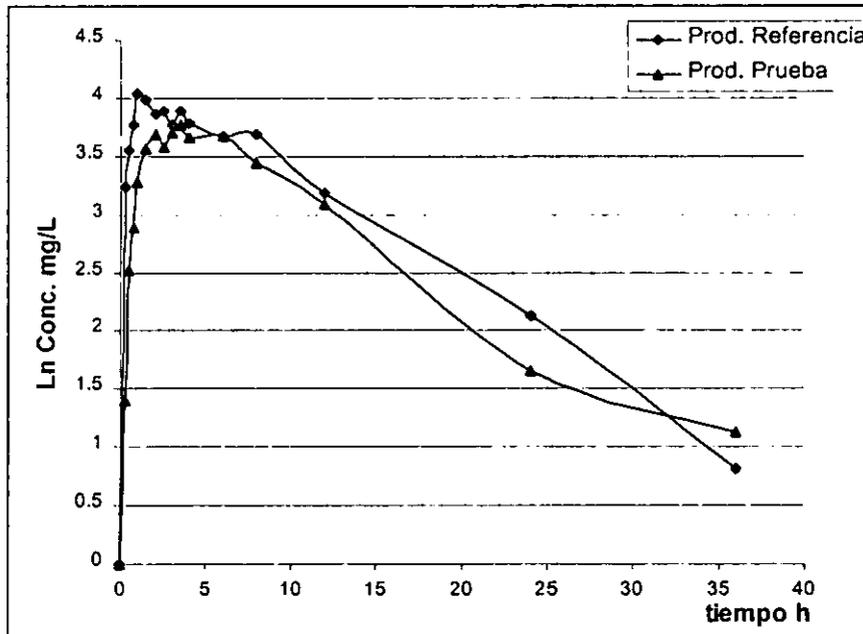


Fig. IV.24 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 13, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

VOLUNTARIO 14

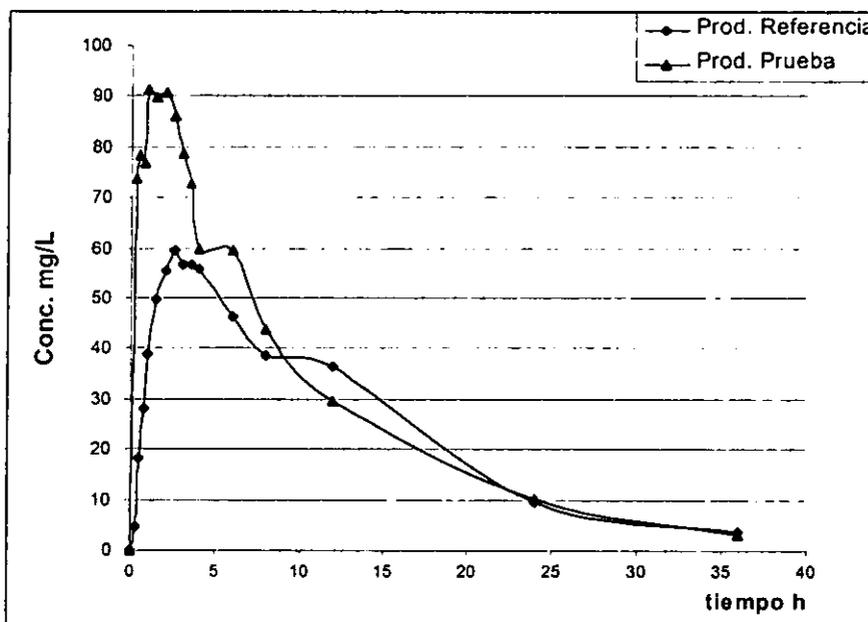


Fig. IV.25 Gráfica de la Cp vs tiempo para el voluntario 14, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

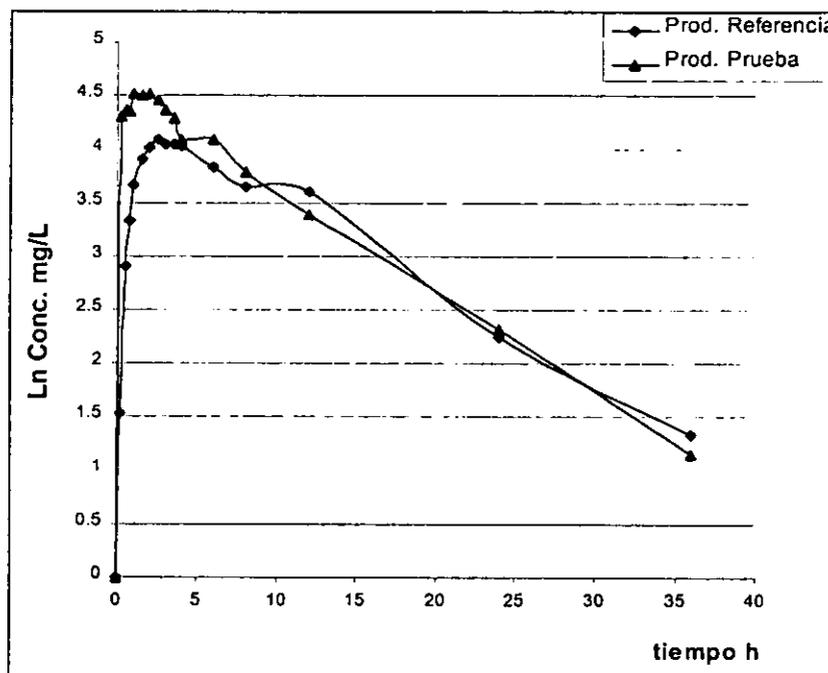


Fig. IV.26 Gráfica del Ln de la Cp vs tiempo para el voluntario 14, después de la administración de las dos formulaciones de CEFTRIAXONA.

APÉNDICE V

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ALGUNAS CEFALOSPORINAS

FÁRMACO	%EXCRECIÓN URINARIA	DEPURACIÓN CI ml/minkg	Vd L/kg	T ½
<i>Cefaclor</i>	52±17	6.1±1.5 ↑niño	0.36 ↑niño	0.67±0.33 ↑uremia
<i>Cefalexina</i>	91±18	4.3±1.1 ↓uremia	0.26±0.03	0.90±0.18 ↑uremia
<i>Cefalotina</i>	52	6.7±1.7 ↓uremia	0.26 ↑niño	0.57±0.32 ↑uremia
<i>Cefamandol</i>	96±3	2.8±1.0 ↓uremia	0.16±0.05	0.78±0.1 ↑uremia
<i>Cefazolina</i>	80±16	0.95±0.17	0.12 ↑uremia	1.8±0.4 ↑uremia
<i>Cefoperazona</i>	29±4	1.2±0.1 ↓hepatitis	0.09 ↑cirrosis	2.1±0.3 ↑cirrosis
<i>Ceforanida</i>	84±3	CI=0.26CIr+0.07	0.14±0.04	2.6±0.5 ↑uremia
<i>Cefotaxima</i>	50±5	3.7±0.6 ↓uremia	0.23 ↑cirrosis	1.1±0.3 ↑cirrosis
<i>Cefotetan</i>	61±1	0.42±0.05 ↓uremia	0.13±0.02	3.5±1.1 ↑uremia
<i>Cefoxitina</i>	78	CI=3.3CIr+0.19	0.31 ↑neonato	0.65±0.09 ↑uremia
<i>Cefradina</i>	96±10	5.1±1.2 ↓uremia	0.25±0.01	0.77±0.3 ↑uremia
<i>Ceftazidima</i>	84±4	CI=1.05CIr+0.12	0.23± ↑ancianos	1.6±0.1 ↑uremia
<i>Ceftizoxima</i>	93±8	CI=1.1CIr+0.07	0.36±0.19	1.8±0.7 ↑uremia
<i>Ceftriaxona</i>	46±7 ↑niños	0.24±0.06 ↓uremia ↑cirrosis	0.16±0.03 ↑cirrosis	7.3±1.6 ↑uremia
<i>Cefuroxima</i>	96±10	CI=0.94CIr+0.28	0.19±0.04	1.7±0.6 ↑uremia

APÉNDICE VI

CURVAS PATRÓN Y PUNTOS DE CONTROL DE CALIDAD DURANTE EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Tabla VI.1 Parámetros evaluados para las curvas de calibración.

Resultados Promedio			
Parámetros			
	m	r	b
Numero de datos	15	15	15
Promedio	1.5435692	0.998481733	0.237941867
σ	0.121029496	0.001543137	1.103121934
%CV	8.0714	0.1543	4.6369

Tabla VI.2 Resultados del análisis de los puntos control

Resultados Promedio			
	Conc. Alta	Conc. Media	Conc. Baja
No. de datos	30	30	30
Lim. Superior	57.9953	34.5355	1.8289
Valor medio	50.4306992	30.0309208	1.7173
Lim. Inferior	42.8661	25.5263	1.5247
%CV	5.08199203	10.8967502	13.03530766

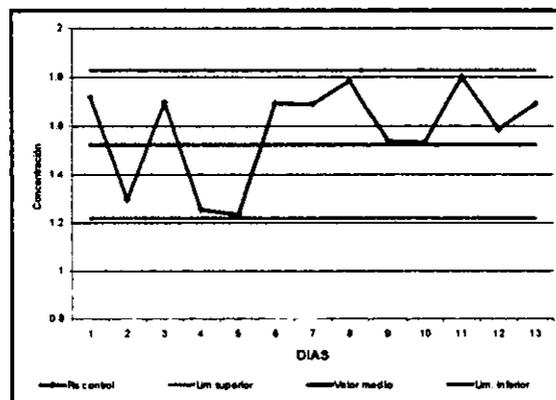


Fig. VI.1 Gráfica de los puntos control perteneciente a la concentración baja.

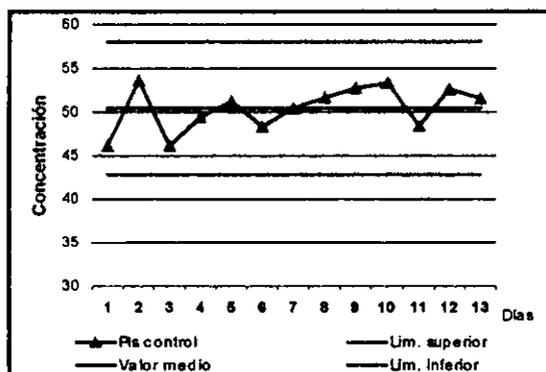


Fig. VI.2 Gráfica de los puntos de control pertenecientes a la concentración media.

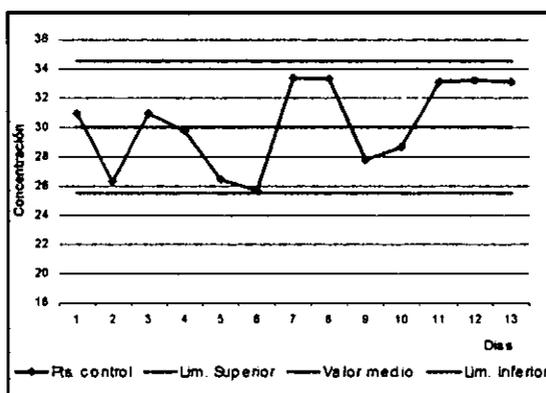


Fig. VI.3 Gráfica de los puntos control correspondiente a la concentración alta.

APÉNDICE VII

Concentraciones plasmáticas individuales para cada formulación después de la administración de ceftriaxona.

Voluntario 1			Voluntario 2		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. $\mu\text{g/mL}$	Conc. $\mu\text{g/mL}$	TIEMPO	Conc. $\mu\text{g/mL}$	Conc. $\mu\text{g/mL}$
0.25	76.97654	130.39478	0.25	7.81323	5.29343
0.5	80.87672	137.0348	0.5	20.66243	12.4257
0.75	86.55204	146.69697	0.75	23.1341	19.63198
1	104.371	177.03358	1	26.94054	47.88274
1.5	97.18913	164.80652	1.5	54.79813	57.63612
2	92.42316	156.6925	2	44.33063	50.15101
2.5	79.85017	135.28711	2.5	42.21019	61.12469
3	82.92308	140.51871	3	45.93305	71.40455
3.5	77.42075	131.15104	3.5	42.07604	57.20103
4	73.3711	124.25655	4	43.74036	50.38366
6	68.6181	116.16462	6	45.82995	47.76986
8	52.74908	89.14776	8	48.56466	36.27324
12	36.1132	60.82534	12	27.7698	28.89738
24	10.06229	16.47392	24	9.66756	11.9924
36	4.28241	6.63373	36	5.47702	5.35204

Voluntario 3		
	Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. $\mu\text{g/mL}$	Conc. $\mu\text{g/mL}$
0.25	7.3215	14.2086
0.5	25.63654	28.05274
0.75	15.78938	47.04132
1	31.45856	59.32487
1.5	44.65238	70.1928
2	62.48537	68.44417
2.5	73.95985	70.50752
3	63.16696	65.95384
3.5	68.06796	67.70611
4	58.00714	66.4652
6	65.08725	65.07809
8	57.03595	46.94003
12	44.47258	28.66872
24	14.7202	9.89594
36	4.92065	2.67217

Voluntario 4			Voluntario 5		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL	TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL
0.25	7.95141	14.8709	0.25	55.38824	53.36729
0.5	22.87031	26.58492	0.5	76.21306	109.9602
0.75	23.22955	44.31456	0.75	74.41802	91.41352
1	46.72283	58.37987	1	86.74969	103.47091
1.5	64.32235	63.03087	1.5	67.85791	114.60532
2	81.48299	70.59967	2	102.68942	100.92352
2.5	83.55196	77.45933	2.5	79.67405	120.38095
3	73.41881	72.00338	3	92.75993	93.13838
3.5	73.11668	71.16705	3.5	80.32575	79.60505
4	69.30011	73.16636	4	79.97005	76.62988
6	68.22899	65.19401	6	51.5841	70.19335
8	53.24401	51.19754	8	43.13066	60.8116
12	39.32299	33.19588	12	42.548	44.86907
24	12.48932	10.8991	24	16.26806	14.31322
36	4.34131	4.13652	36	6.36407	6.07821

Voluntario 7			Voluntario 8		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL	TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL
0.25	60.61976	48.80672	0.25	20.23961	26.74924
0.5	84.20235	71.72176	0.5	44.52084	43.96586
0.75	80.25595	96.03908	0.75	56.70234	50.24929
1	91.0875	94.99146	1	59.87973	69.21298
1.5	93.83399	93.95512	1.5	70.63277	58.65506
2	82.13584	105.77941	2	87.63697	66.56056
2.5	70.16634	111.99261	2.5	98.91917	60.03971
3	M	88.01584	3	79.29835	69.00117
3.5	71.29358	77.35797	3.5	83.78536	62.67323
4	73.45331	79.26269	4	79.77041	66.70583
6	61.85907	60.39852	6	54.98474	59.45628
8	46.17018	44.47888	8	47.62198	46.20795
12	27.12695	27.87437	12	25.28012	23.96308
24	8.45281	8.81945	24	10.4073	10.61945
36	3.59484	3.76455	36	4.92832	6.07942

Voluntario 9			Voluntario 10		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL	TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL
0.25	3.16385	7.04071	0.25	17.07883	8.7153
0.5	16.34025	20.69876	0.5	47.04385	23.24703
0.75	23.34849	29.51655	0.75	61.3565	41.46495
1	29.42905	36.15404	1	86.62063	51.7363
1.5	55.61929	44.9973	1.5	69.78496	68.41737
2	44.12063	54.536	2	77.23467	69.74448
2.5	73.18595	57.44682	2.5	84.71476	80.23227
3	53.87846	56.88389	3	84.21175	75.88472
3.5	55.69191	57.37727	3.5	68.4949	95.87425
4	46.61224	56.81442	4	78.87726	80.64104
6	44.65495	44.80384	6	70.61802	79.40145
8	54.90289	36.98828	8	66.64883	69.91227
12	35.96262	20.26734	12	45.92253	63.82314
24	9.04006	7.84454	24	16.53802	8.54894
36	2.78670	2.88253	36	8.60765	7.88148

Voluntario 11			Voluntario 12		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL	TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL
0.25	18.74263	29.66837	0.25	38.10825	56.99400
0.5	35.27406	44.41933	0.5	79.60374	83.04817
0.75	54.41879	60.0999	0.75	64.43867	100.30556
1	46.82981	61.86034	1	93.73858	125.49335
1.5	72.6208	82.93507	1.5	86.70912	130.49729
2	67.44524	95.68082	2	107.15991	71.94386
2.5	87.45007	95.928	2.5	96.02514	83.06391
3	67.27892	72.26597	3	75.80829	88.32764
3.5	75.81374	75.83838	3.5	62.00525	98.51226
4	69.78312	73.26049	4	79.82385	89.57108
6	60.54256	54.39345	6	57.9124	72.66094
8	38.41346	39.89701	8	47.98317	48.90151
12	26.23945	23.44478	12	28.59405	31.24573
24	6.67168	9.58826	24	8.49048	6.11533
36	4.49900	4.93121	36	3.16570	2.50072

Voluntario 13			Voluntario 14		
	Producto B	Producto A		Producto B	Producto A
TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL	TIEMPO	Conc. µg/mL	Conc. µg/mL
0.25	16.91093	4.03253	0.25	25.37451	4.03253
0.5	23.38962	12.36557	0.5	35.01986	12.36557
0.75	28.91761	17.89154	0.75	43.24983	17.89154
1	37.83916	26.51895	1	56.53207	26.51895
1.5	35.77825	35.1214	1.5	53.46382	35.1214
2	31.92508	39.97051	2	47.7273	39.97051
2.5	32.84146	36.02607	2.5	49.09159	36.02607
3	29.08943	40.45469	3	43.50563	40.45469
3.5	32.81732	43.14093	3.5	49.05565	43.14093
4	29.43339	38.72594	4	44.01771	38.72594
6	26.24754	39.56941	6	39.27468	39.56941
8	26.55417	31.4348	8	39.73118	31.4348
12	16.18428	22.04263	12	24.29269	22.04263
24	5.52910	5.24191	24	8.42945	5.24191
36	1.38045	3.06600	36	2.25302	3.06600