

005633



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACIÓN  
FARMACOCINÉTICA DE  
 $\alpha$ -BIOF10 EN GANADO  
VACUNO

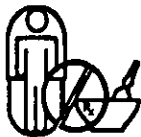
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN FARMACIA (BIOFARMACIA)**

P R E S E N T A

**Q.F.B. GUADALUPE VÉRTIZ SERRANO**



**Biofarmacia**

DIRECTOR: DRA. HELGI JUNG COOK

MEXICO, D.F.

277862

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**

**Dr. Froylán Ibarra Velarde**

**Vocal**

**M. en C. Edilberto Pérez Montoya**

**Secretario**

**Dr. Francisco Hernández Luis**

**Primer suplente**

**M. en C. Alicia Hernández Campos**

**Segundo suplente**

**M. en C. Vicente Hernández Abad**

**Sitio donde se desarrolló el tema:**

**Laboratorio de Biofarmacia del Departamento de Farmacia,  
División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México**

**En su fase de campo (muestreo): Centro Nacional de Investigaciones  
Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET) del INIFAP.**

**Trabajo financiado parcialmente por el proyecto K0004-SAGAR-CONACYT**

## AGRADECIMIENTOS

Dra. Helgi Jung Cook, directora de este trabajo: Su trayectoria y labor académica son un gran ejemplo y motivación para sus alumnos.

Dr. Rafael Castillo Bocanegra y M. en C. Alicia Hernández Campos, quienes diseñaron y sintetizaron el compuesto  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona, agradezco el tiempo invertido.

Dr. Froylán Ibarra Velarde: Gracias por su amabilidad, colaboración y paciencia durante la fase de muestreo del presente trabajo.

Agradezco al Dr. Francisco Hernández Luis por la revisión de esta tesis y por la ayuda brindada en este y otros proyectos.

Al M. en C. Vicente Hernández Abad y al M. en C. Edilberto Pérez Montoya, por la revisión y las contribuciones realizadas al presente trabajo de tesis.

Al Q. F. B. Raúl Morales Hurtado, por su colaboración en la preparación de la suspensión del  $\alpha$ BIOF10.

Al CONACYT por la beca otorgada durante la realización de la maestría.

Al CENID-PAVET del INIFAP por el apoyo otorgado en el desarrollo de este estudio.

## DEDICATORIAS

*Me encanta Dios. Es un viejo magnífico que no se toma en serio. A él le gusta jugar y juega, y a veces se le pasa la mano y nos rompe una pierna o nos aplasta definitivamente. Pero esto sucede porque es un poco cegatón y bastante torpe con las manos.*

*Nos ha enviado a algunos tipos excepcionales como Buda, o Cristo, o Mahoma, o mi tía Chofi, para que nos digan que nos portemos bien. Pero esto a él no le preocupa mucho: nos conoce. Sabe que el pez grande se traga al chico, que la lagartija grande se traga a la pequeña, que el hombre se traga al hombre. Y por eso inventó la muerte: para que la vida - no tú ni yo - la vida, sea para siempre.*

*Ahora los científicos salen con su teoría del Big Bang... Pero, ¿Qué importa si el universo se expande interminablemente o se contrae? Esto es asunto sólo para agencias de viajes.*

*A mi me encanta Dios. Ha puesto orden en las galaxias y distribuye bien el tránsito en el camino de las hormigas. Y es tan juguetón y travieso que el otro día descubrí que ha hecho - frente al ataque de los antibióticos - ¡bacterias mutantes!*

*Viejo sabio o niño explorador, cuando deja de jugar con sus soldaditos de plomo de carne y hueso, hace campos de flores o pinta el cielo de manera increíble.*

*Mueve una mano y hace el mar, y mueve la otra y hace el bosque. Y cuando pasa por encima de nosotros, quedan las nubes, pedazos de su aliento.*

*Fragmento del poema: Me encanta Dios. Jaime Sabines*

A mis padres y hermanos

*OCURRE QUE LA REALIDAD es superior a los sueños. En vez de pedir "déjame soñar", se debería decir: "déjame mirar".*

Al M. en C. Mario - KITT, quien tuvo la fortuna de conocer a una inigualable "usauria".

A la generación de la "mala suerte", en especial a Linda y por supuesto a Carlitos, quienes me han brindado su amistad y apoyo incondicional. ¡Gracias veracruzanos!

A Mario Ruiz, por hacerme sonreír.

Mi más sincero agradecimiento a Pilo, por abrirme la puerta vecina y escucharme en todo momento.

¿Qué hubiera sucedido sin la insistencia y motivación del Dr. José D. Méndez para la realización de mis estudios de posgrado? ¡Muchas gracias! Esta es sólo la mitad.

A Saly y Angélica, por compartir conmigo durante la realización de este trabajo.

Agradezco a la M. en C. Carmen Martha Elinos y a la Dra. Luz María Farías por su paciencia y amabilidad.

Q. F. B. Guadalupe Solís Chavarin: Tu fortaleza y amor a la vida nos alientan a seguir adelante.

# ÍNDICE

<b>Resumen</b>	V
<b>Introducción</b>	1
<b>1. Generalidades</b>	3
<b>1.1 Infecciones parasitarias</b>	4
<b>1.2 Fasciolosis</b>	5
1.2.1 Ciclo evolutivo	6
1.2.2 Formas clínicas de la enfermedad en los animales	7
1.2.3 Control	10
<b>1.3 Antihelmínticos bencimidazoles</b>	11
1.3.1 Mecanismo de acción	13
1.3.2 Metabolismo	14
<b>1.4 Triclabendazol</b>	19
1.4.1 Antecedentes y estructura química	19
1.4.2 Acción del triclabendazol contra los parásitos helmintos	20
1.4.3 Metabolismo	21
1.4.4 Mecanismo de acción	24
1.4.5 Eficacia	25
1.4.6 Parámetros farmacocinéticos de triclabendazol en bovinos	25
1.4.7 Efectos adversos	29
1.4.8 Efectos de la dieta	29
<b>1.5 <math>\alpha</math>-BIOF10 - Derivado de triclabendazol con actividad fasciolicida</b>	30
1.5.1 Propiedades químicas del compuesto $\alpha$ BIOF10	31
1.5.2 Eficacia fasciolicida del $\alpha$ BIOF10	32
1.5.3 Estudio farmacocinético en ovinos	34
1.5.4 Estudio preliminar en bovinos	34
<b>Hipótesis</b>	37
<b>Objetivos</b>	37
<b>2. Parte experimental</b>	38
<b>2.1 Método analítico para la cuantificación de <math>\alpha</math>BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino</b>	39
2.1.1 Reactivos y equipo	39
2.1.2 Condiciones cromatográficas	40
2.1.3 Preparación de soluciones	40
2.1.4 Curva de calibración	41
2.1.5 Procedimiento de extracción	41
<b>2.2 Validación</b>	45
<b>2.3 Estudio de farmacocinética en bovinos</b>	49
2.3.1 Estudio preliminar	49
2.3.2 Estudio de farmacocinética	50
<b>2.4 Obtención de los parámetros farmacocinéticos</b>	51



<b>3. Resultados y análisis</b>	52
<b>3.1 Validación del método analítico</b>	54
3.1.1 Selectividad	54
3.1.2 Linealidad	56
3.1.3 Exactitud y precisión	58
3.1.4 Límite de cuantificación (LDC) y límite de detección (LDD)	61
3.1.5 Estabilidad	61
<b>3.2 Estudio de farmacocinética en bovinos</b>	63
3.2.1 Estudio preliminar	63
3.2.2 Estudio farmacocinético	65
<b>4. Conclusiones</b>	73
<b>Apéndices</b>	76
A. Formulación de la suspensión de $\alpha$ BIOF10	77
B. Concentraciones plasmáticas individuales de $\alpha$ BIOF10-SO después de la administración por vía oral de una dosis de $\alpha$ BIOF10 de 12 mg/kg (n=7)	77
C. Concentraciones plasmáticas individuales del $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg de $\alpha$ BIOF10 (n=7)	78
D. Perfiles de concentración plasmática-tiempo de $\alpha$ BIOF10-SO y $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub>	79
E. Parámetros farmacocinéticos individuales de $\alpha$ BIOF10-SO después de la administración por vía oral de 12 mg/kg a 7 bovinos	81
F. Parámetros farmacocinéticos individuales de $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> después de la administración por vía oral de 12 mg/kg a 7 bovinos	82
<b>Glosario</b>	83
<b>Referencias</b>	91

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Medias aritméticas y rangos de cuentas de huevos, cuentas de parásitos y eficacias calculadas para seis fasciolicidas en ganado vacuno	26
<b>Tabla II.</b> Medio del porcentaje en la reducción de <i>F. hepatica</i> . Comparación entre tratamientos de cinco fasciolicidas y el control en ganado vacuno	27
<b>Tabla III.</b> Parámetros farmacocinéticos (medias $\pm$ DE) del sulfóxido de triclabendazol (TCBZ-SO) y sulfona de triclabendazol (TCBZ-SO <sub>2</sub> ) después de administrar una dosis única de triclabendazol: 12 y 24 mg/kg. de peso en bovinos	29
<b>Tabla IV.</b> Solubilidad del $\alpha$ BIOF10	32
<b>Tabla V.</b> Parámetros farmacocinéticos del $\alpha$ BIOF10 en ovinos	34
<b>Tabla VI.</b> Medio del porcentaje de reducción de huevos de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos infectados en forma natural y tratados con $\alpha$ BIOF10	35
<b>Tabla VII.</b> Valores de resolución del $\alpha$ BIOF10, sus metabolitos y el sulfóxido de albendazol	53
<b>Tabla VIII.</b> Parámetros obtenidos de la evaluación de la linealidad del método en plasma de bovino	56
<b>Tabla IX.</b> Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para sulfona del $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> )	59
<b>Tabla X.</b> Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para sulfóxido del $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO)	60
<b>Tabla XI.</b> Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para $\alpha$ BIOF10	60
<b>Tabla XII.</b> Estabilidad de las muestras plasmáticas a corto plazo	62
<b>Tabla XIII.</b> Estabilidad de las muestras a largo plazo	62
<b>Tabla XIV.</b> Concentraciones plasmáticas de $\alpha$ BIOF10-SO y $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg a un bovino	64
<b>Tabla XV.</b> Valores promedio de la concentración plasmática de $\alpha$ BIOF10-SO después de la administración vía oral de 12 mg/kg de $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos	66
<b>Tabla XVI.</b> Valores promedio de la concentración plasmática de $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> después de la administración vía oral de 12 mg/kg de $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos	67
<b>Tabla XVII.</b> Medio de los parámetros farmacocinéticos $\pm$ D. E. del $\alpha$ BIOF10-SO obtenidos después de la administración oral de 12 mg/Kg de $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos	69
<b>Tabla XVIII.</b> Medio de los parámetros farmacocinéticos $\pm$ D. E. del $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> obtenidos después de la administración oral de 12 mg/Kg de $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo evolutivo de <i>Fasciola hepatica</i>	8
<b>Figura 2.</b> Estructura química de antihelmínticos bencimidazoles	11
<b>Figura 3.</b> Estructura química y principales transformaciones metabólicas de antihelmínticos bencimidazoles y probencimidazoles	12
<b>Figura 4.</b> Posiciones de los sustituyentes primarios de los antihelmínticos bencimidazoles	16
<b>Figura 5.</b> Estructura del triclabendazol	20
<b>Figura 6.</b> Estructura de los principales metabolitos del triclabendazol	21
<b>Figura 7.</b> Rutas propuestas del metabolismo de TCBZ en ovinos	22
<b>Figura 8.</b> Estructura de los metabolitos secundarios del triclabendazol	23
<b>Figura 9.</b> Espectro de actividad y dosis recomendadas para bencimidazoles en ganado vacuno	28
<b>Figura 10.</b> Estructura del compuesto $\alpha$ BIOF10	30
<b>Figura 11.</b> Preparación de la curva de calibración de $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino	43
<b>Figura 12.</b> Esquema del procedimiento de extracción empleado para el $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino	44
<b>Figura 13.</b> Cromatogramas representativos	55
<b>Figura 14.</b> Linealidad del método analítico en plasma de bovino	57
<b>Figura 15.</b> Perfiles de concentración contra tiempo de los metabolitos sulfona y sulfóxido de $\alpha$ BIOF10 después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg a un bovino	64
<b>Figura 16.</b> Media $\pm$ D. E. de las concentraciones plasmáticas de $\alpha$ BIOF10 -SO y $\alpha$ BIOF10-SO <sub>2</sub> después de la administración por vía oral de 12 mg/kg de $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos	68

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron los parámetros farmacocinéticos de un nuevo agente fasciolicida en bovinos: 6-cloro-5-(2-naftiloxi)-2-metiltio-1H-bencimidazol ( $\alpha$ BIOF10), el cual ha demostrado ser efectivo tanto *in vitro* como *in vivo*.

Se administró por vía oral una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos y se tomaron muestras plasmáticas de la vena yugular de los animales a intervalos de tiempo estandarizados. Se determinaron las concentraciones plasmáticas del  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona utilizando un método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

Se encontró que el  $\alpha$ BIOF10 no pudo ser detectado en el plasma, lo que indica que sufrió un extenso metabolismo de primer paso.

La farmacocinética de los metabolitos sulfóxido y sulfona se describió de acuerdo a un Modelo Abierto de Un Compartimiento (MAUC). Las vidas medias de aparición obtenidas para el sulfóxido y la sulfona fueron de  $9.43 \pm 5.10$  horas y  $26.26 \pm 2.73$  horas, respectivamente; la vida media de eliminación del sulfóxido se calculó de  $25.82 \pm 2.35$  horas y para la sulfona de  $34.79 \pm 8.36$  horas.

El tiempo medio de residencia (TMR) del sulfóxido fue de  $56.45 \pm 2.40$  horas y de la sulfona fue de  $91.54 \pm 10.57$  horas, lo cual indica que estos metabolitos están presentes en el organismo por un tiempo prolongado.

---

## INTRODUCCIÓN

La fasciolosis, causada por *Fasciola hepatica* o *Fasciola gigantica*, es la enfermedad parasitaria responsable de grandes pérdidas económicas en la cría de ganado ovino y vacuno a nivel mundial. Estas pérdidas se deben a la disminución de la producción de carne, leche y lana, a los efectos adversos sobre la fertilidad de los animales y por último a la muerte de éstos <sup>1-5</sup>.

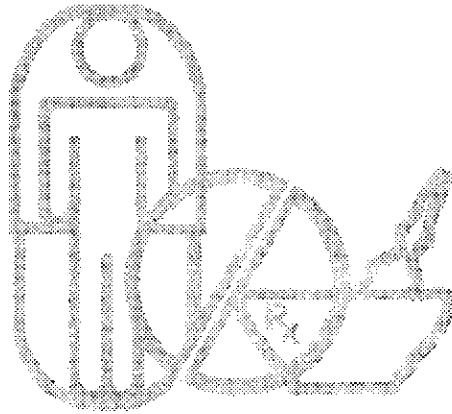
El control de la infección puede lograrse atacando a los caracoles del género *Limnaea*, hospederos intermediarios en el ciclo de reproducción del parásito y utilizando productos antihelmínticos en el tratamiento de los animales. El control de los caracoles es difícil y caro, por lo que la administración de antihelmínticos a los animales es el procedimiento de elección <sup>1,2</sup>.

La mayor parte de los fasciolicidas disponibles en el mercado son satisfactoriamente eficaces contra las formas adultas de *F. hepatica* y *F. gigantica*, pero son ineficaces o sólo parcialmente eficaces contra los estadios inmaduros de las fasciolas <sup>2,6</sup>, siendo el triclabendazol el único fármaco efectivo disponible contra estadios inmaduros y adultos <sup>1</sup>. En México este principio activo se importa de Suiza y es relativamente costoso.

Tomando en cuenta las características estructurales del triclabendazol, en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México se diseñó y sintetizó un nuevo

compuesto: 6 - cloro - 5(2 - naftiloxi) -2 - metiltio -1H -bencimidazol  $\alpha$ BIOF10), con el objeto de contar con una alternativa nacional para el tratamiento de la fasciolosis.

En las evaluaciones realizadas en ovinos <sup>7-9</sup> y bovinos <sup>10</sup>, el  $\alpha$ BIOF10 presentó actividad tanto contra las fasciolas maduras como las inmaduras, por lo que se consideró importante conocer la disposición de este fármaco en las diferentes especies animales.



---

# Biotarmacia

1.

# GENERALIDADES

## 1.1 INFECCIONES PARASITARIAS

Las infecciones parasitarias son un problema de salud a nivel mundial, esto es particularmente cierto para los países en desarrollo, donde estas enfermedades causan pérdidas económicas importantes. Este es el caso de la parasitosis producida por helmintos (helminthosis), la cual afecta a más de dos mil millones de personas en el mundo y su prevalencia está en aumento. En muchas regiones tropicales, es común la infección simultánea con más de un tipo de helmintos. Más aún como consecuencia de los viajes y de las migraciones humanas, estos parásitos pueden diseminarse en áreas geográficas previamente libres de estos organismos.

Los helmintos parásitos para el hombre son metazoarios que pertenecen a especies zoológicas muy diferentes que varían en su ciclo biológico, la estructura de su organismo, fisiología, evolución, hábitat dentro del hospedero humano y en susceptibilidad a la quimioterapia. Las formas inmaduras de estos parásitos son infecciosas para el hombre, donde evolucionan hacia formas adultas bien diferenciadas que se caracterizan por alcanzar un tamaño suficientemente grande como para ser observadas a simple vista <sup>11</sup>.

Los helmintos se clasifican de la siguiente manera:

1. **Nematelmintos.** Son helmintos redondos, siendo la clase principal la de los nematodos que comprenden los parásitos más importantes. Entre ellos se encuentra: *Trichinella spiralis*, causante de la triquinosis.
2. **Platelmintos.** Son helmintos planos y comprenden dos clases:



- ❖ Los cestodos, helmintos en forma de cinta y segmentados. Ejemplo: *Taenia saginata* y *Taenia solium*, causantes de la teniasis.
- ❖ Los trematodos, en forma de hoja y no segmentados. En esta clase se encuentra la *Fasciola hepatica* causante de la fasciolosis <sup>12</sup>.

En el caso de los animales, la fasciolosis es la helmintiasis responsable de grandes pérdidas económicas en la cría de ganado ovino y vacuno en todo el mundo.

A continuación se describe la etiología y el control de esta parasitosis en animales.

## 1.2 FASCIOSIS

La fasciolosis es una enfermedad común de ovinos, caprinos y bovinos en muchas partes del mundo. Las tasas de morbilidad y mortalidad varían de una región a otra <sup>4,13</sup>.

Las pérdidas ocasionadas por *Fasciola hepatica*, como las debidas a otras enfermedades crónicas, son difíciles de calcular. Las pérdidas se producen por la merma en el desarrollo de los animales, reducción en la producción de lana, leche y carne y por el decomiso parcial o total de hígados de los rastros cuando el parásito al alojarse en el hígado causa lesiones que hacen que éste se considere no apto para el consumo humano.

Muchas otras especies domésticas y silvestres se infectan por *F. hepatica*, entre ellas equinos, camélidos y herbívoros silvestres (búfalos, ciervos y gamos)<sup>2,14</sup>.

*Fasciola hepatica* y *F. gigantica* son trematodos de los conductos biliares de los herbívoros domésticos y silvestres, que en muchas ocasiones infectan al hombre. *F. hepatica* es un parásito aplanado, de unos 2.5 a 3 cm de largo y de 1.3 cm de ancho, de color parduzco y de forma parecida a una hoja de laurel. *F. hepatica* está distribuida en todo el mundo, mientras que *F. gigantica* se presenta en África, en varios países de Asia, así como en Hawai<sup>13</sup>.

### 1.2.1 Ciclo evolutivo

Los parásitos adultos ponen huevos no embrionados dentro del hospedero (animales herbívoros y el hombre), estos son llevados por la bilis al intestino y eliminados con las materias fecales. Para su maduración, los huevos deben de encontrar condiciones adecuadas de humedad y temperatura. En verano, la incubación es corta y el miracidio (larva) emerge del huevo al agua de estanques o sistemas de irrigación artificial en pocas semanas, mientras que con las temperaturas bajas del invierno en los climas templados la eclosión se produce después de varios meses. Los huevos son resistentes a los factores ambientales y pueden sobrevivir en las materias fecales por cerca de una año. Los miracidios, en cambio, son muy frágiles y deben de encontrar un hospedero apropiado en el término de ocho horas. Los hospederos intermediarios son caracoles anfibios de la familia Lymnaeidae. Al penetrar en el caracol, los miracidios se convierten en esporocistos y en unas tres semanas producen redias, que a su vez pueden originar redias hijas (segunda

generación de redias) o directamente cercarias. Si la temperatura es favorable, las cercarias comienzan a emerger de los caracoles en unas seis semanas. Los estadios larvales pueden sobrevivir a menos de 10°C por lo menos 100 días dentro del caracol sin completar su desarrollo, para reanudarlo cuando aumenta la temperatura.

Las cercarias al abandonar el caracol, nadan activamente en el agua y se enquistan sobre la vegetación, donde se transforman en metacercarias, caracterizadas por su amplio margen de supervivencia en un ambiente húmedo y su escasa resistencia a la desecación. Los hospederos definitivos se infectan al ingerir plantas o agua con metacercarias. En el duodeno, las larvas se liberan de las envolturas, atraviesan la pared intestinal hasta la cavidad abdominal, perforan la cápsula de Glisson y a través del parénquima hepático llegan a los conductos biliares, donde maduran. El período prepatente (desde la infección hasta la aparición de huevos en las heces del hospedero) dura unos dos meses, pero no todas las fasciolas jóvenes alcanzan la madurez al mismo tiempo y el proceso de la maduración puede prolongarse por otros dos meses. El ciclo se reinicia con la oviposición. *F. hepatica* puede vivir en los canales biliares por varios años<sup>13</sup>. En la figura 1 se esquematiza el ciclo evolutivo de *Fasciola hepatica*, conforme a la descripción realizada.

### **1.2.2 Formas clínicas de la enfermedad en los animales**

Clínicamente se pueden distinguir dos formas de la enfermedad: la aguda y la crónica.

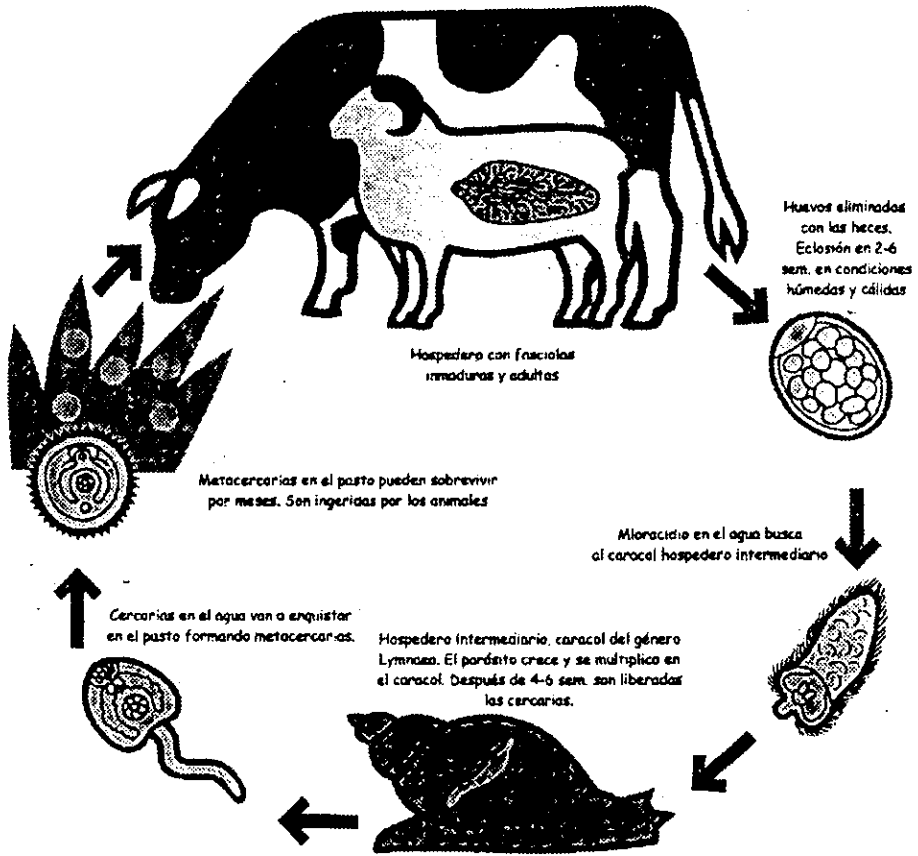


FIG. 1. Ciclo evolutivo de *Fasciola hepatica*

La *forma aguda* se presenta sobre todo en ovinos jóvenes y se debe a la ingestión de un gran número de metacercarias, con la consiguiente invasión repentina y la migración de una multitud de fasciolas jóvenes al parénquima hepático. Los parásitos migratorios causan hemorragias, hematomas y roturas del hígado, inflamación de la glándula, túneles y destrucción del tejido hepático. Los ovinos afectados pueden morir súbitamente sin

manifestaciones clínicas o pueden manifestar uno o dos días antes de la muerte: debilidad, inapetencia y dolor al tacto en la región hepática. En casos menos agudos, puede haber pérdida de peso y acumulación de líquido en el abdomen. También son frecuentes la eosinofilia, anemia, hipoalbuminemia y un alto nivel de transaminasa glutámica oxalacética en el suero <sup>13</sup>. Los bovinos rara vez sufren de fasciolosis aguda y, en consecuencia, no existe una necesidad clínica de fármacos fasciolicidas efectivos contra estadios parenquimales inmaduros de *F. hepatica*. Sin embargo, los estados inmaduros de este parásito pueden causar daño hepático, el cual resulta en una enfermedad subclínica y pérdidas asociadas con la producción <sup>4</sup>.

La *forma crónica* es de evolución lenta y se caracteriza por pérdida de peso, emaciación, edema submaxilar, anemia, debilidad, diarrea y ascitis. La sintomatología depende del número de parásitos. En los ovinos que albergan un número moderado de *Fasciola*, al principio se observa inapetencia, poco aumento de peso y anemia progresiva. El estado de los animales empeora en épocas de escasez de pastos y mejora cuando abundan, pero los animales no curan y la parasitosis tiene un efecto acumulativo a través de los años. En la sintomatología se incluyen colangitis, estasis biliar, destrucción y fibrosis de tejido hepático. La anemia y la eosinofilia son persistentes. Los bovinos resisten más que los ovinos y pueden soportar una mayor carga sin manifestaciones clínicas importantes. Los bovinos jóvenes son más susceptibles que los adultos <sup>13</sup>.

### 1.2.3 Control

El control de la infección animal consiste principalmente en la administración de fasciolicidas especialmente a ovinos y bovinos <sup>4,15</sup>, con el fin de reducir la eliminación de huevos del trematodo y para proteger la salud de los animales. Asimismo, pueden aplicarse medidas tendientes a reducir la población de moluscos que sirven de hospederos intermediarios <sup>1</sup>.

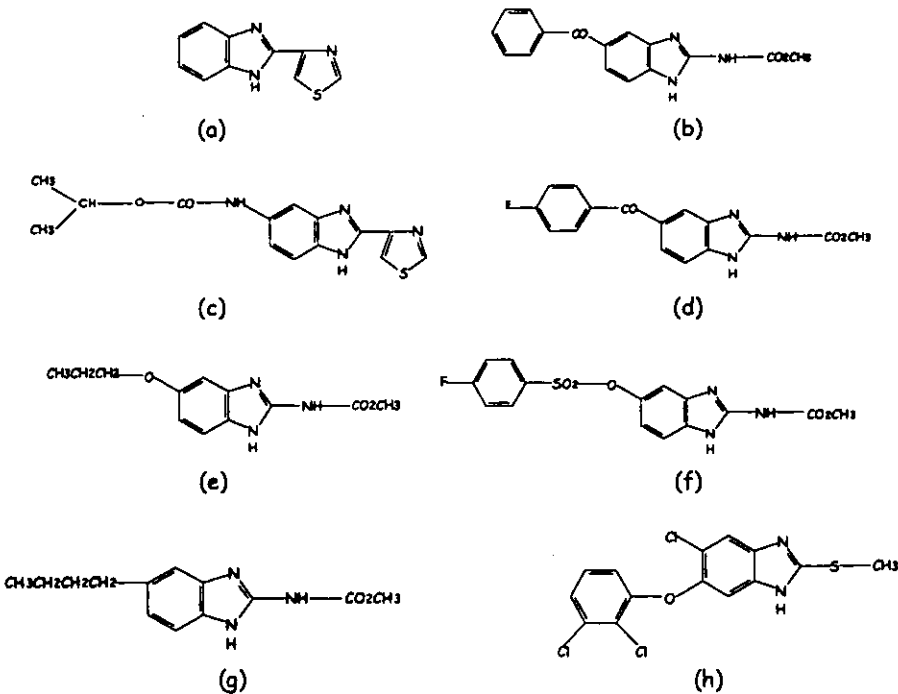
Dada la gran capacidad de reproducción y de recuperación que tienen los caracoles de la familia *Lymnaeidae*, los molusquicidas deben de aplicarse con periodicidad para mantener la población de caracoles en un nivel bajo <sup>13</sup>. Además, se requieren sistemas de drenaje y cercado de áreas. Esto hace el control de los caracoles difícil y caro, por lo que se prefiere la administración de fasciolicidas a los animales <sup>4</sup>.

Se dispone de un gran número de compuestos químicos activos contra *F. hepatica* (hexacloroetano, tetracloruro de carbono, bitional, oxiclozanida, nitroxinil y otros). Sin embargo, algunos de ellos no están exentos de efectos tóxicos o son poco activos contra fasciolas inmaduras <sup>2,6,13</sup>. Un derivado del bencimidazol, el triclabendazol, ha resultado ser muy eficaz tanto para las fasciolas adultas como inmaduras <sup>4</sup>.

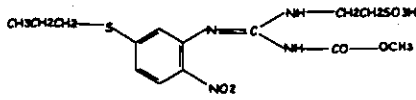
En el siguiente apartado se describen de manera general las características y mecanismo de acción de los bencimidazoles.

## 1.3 ANTIHELMÍNTICOS BENCIMIDAZOLES

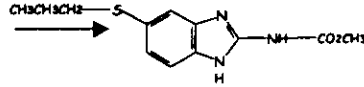
Los primeros bencimidazoles sintetizados fueron esencialmente nematocidas; posteriormente se descubrieron compuestos útiles contra los cestodos y los trematodos. Actualmente, también se cuenta con profármacos que al metabolizarse producen el compuesto activo, tal es el caso del febantel y el netobimin<sup>16</sup>. En la figura 2 se presenta la estructura química de algunos antihelmínticos bencimidazoles y en la figura 3 las transformaciones metabólicas de netobimin, febantel y tiofenato.



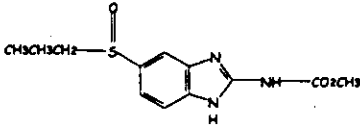
**FIG. 2.** Estructura química de bencimidazoles antihelmínticos. (a) Tiabendazol, (b) Mebendazol, (c) Cambendazol, (d) Flubendazol, (e) Oxibendazol, (f) Luxabendazol, (g) Parbendazol, (h) Triclabendazol.



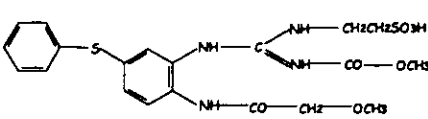
Netobimin



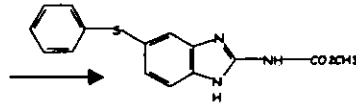
Albendazol



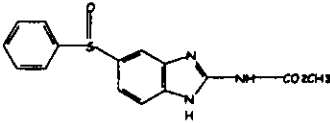
sulfóxido de albendazol



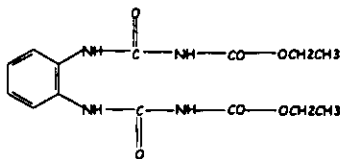
Febantel



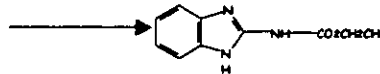
Fenbendazol



Oxfendazol



Tiofenato



Lobendazol

FIG.3. Estructura química y principales transformaciones metabólicas de bencimidazoles y probencimidazoles antihelmínticos.

A medida que se han sintetizado nuevos compuestos, los espectros de actividad de los antihelmínticos se han hecho más amplios.<sup>17</sup>



### 1.3.1 Mecanismo de acción

Los bencimidazoles presentan un mecanismo de acción similar. La discrepancia en cuanto a la eficacia de estos fármacos contra los distintos parásitos se debe probablemente a la diferencia en la biodisponibilidad de los mismos dentro del animal hospedero; siendo los más potentes aquellos que presentan las velocidades de absorción y eliminación más lentas.

Se ha postulado que el mecanismo de acción para este tipo de compuestos se lleva a cabo en diferentes etapas, las cuales se describen a continuación.

1. Los bencimidazoles se adhieren a las moléculas de tubulina inhibiendo la formación de los microtúbulos de la pared celular del parásito, bloqueando así la división celular.

La divergencia en cuanto a la sensibilidad del hospedero y de los parásitos a los efectos de los bencimidazoles, se ha explicado haciendo mención a las diferencias en la estructura de los microtúbulos en sus respectivas células. El número de protofilamentos en los microtúbulos de las células de los parásitos es diferente comparado con el de las células de los mamíferos. Las células de estos últimos contienen 13 protofilamentos en sus microtúbulos, en tanto que las células de los parásitos tienen 11, 12 y 14 protofilamentos. También las diferencias que se presentan en las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  de la proteína tubulina, las cuales polimerizan para formar los microtúbulos, contribuyen a este proceso <sup>16</sup>.

La ruptura del equilibrio tubulina-microtúbulo conduce a una cascada de cambios bioquímicos directos e indirectos <sup>18</sup>.

2. Dentro de las células del parásito, los bencimidazoles interfieren en el proceso metabólico alterando el sistema respiratorio (energía de síntesis) en la mitocondria. Los bencimidazoles ocasionan que en los parásitos nematodos se disminuya la producción de ácidos orgánicos oxidados como productos finales del metabolismo; acción que probablemente se lleva a cabo cuando estos fármacos interfieren con reacciones que involucran grupos semejantes a la purina.

3. Los bencimidazoles inhiben el consumo de glucosa, incrementan el uso de las reservas de glucógeno e interactúan con las enzimas metabólicas de los parásitos, causando un efecto letal al producirse una disminución de adenosin trifosfato (ATP). De esta manera se ve afectada la supervivencia de los parásitos dentro del hospedero <sup>16</sup>.

### **1.3.2 Metabolismo**

Los bencimidazoles antihelmínticos sufren un metabolismo extenso en los mamíferos después de ser administrados por vía oral. El compuesto precursor generalmente tiene una vida media corta y son sus metabolitos los que predominan en el plasma, los tejidos y en las excretas.

Los bencimidazoles poseen una limitada solubilidad en el agua y pequeñas diferencias en cuanto a su solubilidad tienen gran influencia en la absorción y por lo tanto en su eficacia.

Los metabolitos primarios generalmente se originan a partir de procesos de oxidación e hidrólisis, siendo éstos más solubles que su precursor. La conjugación también se lleva a cabo y en algunos casos los metabolitos conjugados llegan a ser los productos predominantes.

Los metabolitos bencimidazólicos se encuentran tanto en la orina como en las heces. A los metabolitos hallados en heces se les atribuye una absorción limitada, aunque la excreción biliar puede contribuir a que esto suceda.

Los perfiles de los metabolitos de los bencimidazoles se ajustan a patrones similares entre las diferentes especies de mamíferos, sin embargo el porcentaje de cada uno de ellos puede variar sustancialmente.

Estructuralmente, todos los bencimidazoles antihelmínticos contienen el núcleo bencimidazólico, pero difieren en la sustitución del carbón 2 (R1) y el carbón 5 (R2) como se muestra en la figura 4. Con algunas excepciones (tiabendazol, cambendazol, R1 = tiazol y triclabendazol R1= metililo), esta posición comúnmente es sustituida por el grupo carbamato (R1=  $-\text{NHCO}_2\text{CH}_3$ ). El metabolismo primario y la toxicidad de estos compuestos está generalmente controlada por el sustituyente de la posición R2 y por una variedad de reacciones de fase 1 que se observan en esta posición, que incluyen la hidroxilación (tiabendazol, parabendazol), S-oxidación (albendazol, febendazol) y reducción (mebendazol).

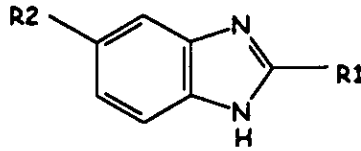


FIG. 4. Posiciones de los sustituyentes primarios de los antihelmínticos bencimidazoles

Aunque la descarboxilación hidrolítica del grupo carbamato para la formación de la amina es común, otras reacciones metabólicas que involucran al núcleo bencimidazólico pueden llevarse a cabo en cantidad limitada (ej. hidroxilación y N-metilación).

Hasta la fecha se han llevado a cabo numerosos estudios sobre el metabolismo y excreción de los bencimidazoles. Sin embargo, estos procesos son complejos; por lo que las vías y productos de éstos permanecen aún sin definirse claramente <sup>19</sup>.

A continuación se hace referencia a los reportes para albendazol en rumiantes, puesto que éste es uno de los bencimidazoles más estudiados que sufre oxidación.

El sitio principal de biotransformación de los bencimidazoles es principalmente la fracción microsomal del hígado. Este proceso conduce a la obtención de metabolitos más polares y con menor eficacia antihelmíntica. Sin embargo, la importancia de la biotransformación de estos compuestos

por los microorganismos del tracto gastrointestinal en los rumiantes ha sido poco considerada.

En estudios *in vitro* se ha encontrado que el albendazol se oxida a su sulfóxido (ABZSO) en los fluidos ruminal e ileal de ovejas y vacunos, y en menor proporción a sulfona (ABZSO<sub>2</sub>). Para los vacunos se ha reportado que el 30% del albendazol adicionado se transforma a sulfóxido y sólo el 3% a sulfona.

La oxidación del albendazol en fluidos gastrointestinales es mayor en bovinos que en ovinos, lo cual explica el alto cociente ABZSO<sub>2</sub>/ABZSO observado en plasma para los vacunos.

Por otro lado, también se ha encontrado, que el tracto gastrointestinal es el sitio principal de reducción de los diferentes fármacos sulfóxido. La reducción metabólica puede ser de primordial importancia para la eficacia antiparasitaria de los bencimidazoles tioéter (albendazol, fenbendazol). Aunque la fracción citosólica del hígado puede también estar involucrada, el tracto gastrointestinal es el sitio principal para la reducción del sulfóxido. De este modo, la alta eficacia antiparasitaria del ABZSO y el oxfenbendazol contra los parásitos gastrointestinales puede depender de la reducción bacteriana del sulfóxido al tioéter, el cual es farmacológicamente más activo

Los metabolitos del albendazol son intercambiados de manera reversible entre el plasma y los diferentes compartimentos gastrointestinales en un proceso de distribución mediado por un gradiente de pH.

En el hígado las reacciones de oxidación son catalizadas por dos sistemas enzimáticos, el responsable de la formación del sulfóxido es el flavin-monooxigenasa, mientras que el responsable de la oxidación a sulfona es el citocromo-monooxigenasa, este último involucra un proceso bifásico, lento e irreversible <sup>20, 23-26</sup>.

En estudios *in vitro*, en los que se han utilizado microsomas hepáticos de ovejas y vacunos, se ha encontrado que los microsomas de los primeros poseen una mayor capacidad para oxidar albendazol (ABZ) a su sulfóxido (ABZSO) que los últimos. Sin embargo, estas observaciones no correlacionan con las diferencias farmacocinéticas que se presentan *in vivo* en ambas especies. Esta divergencia probablemente se deba a las diferencias en el metabolismo gastrointestinal de los bencimidazoles tioéteres, como se mencionó anteriormente. La capacidad oxidativa de la microflora gastrointestinal de los vacunos es mayor que la de los ovinos, contrario a los resultados que se obtienen con microsomas hepáticos <sup>20-21</sup>.

## 1.4 TRICLABENDAZOL

### 1.4.1 Antecedentes y estructura química

En la quimioterapia de las infecciones producidas por *Fasciola hepatica* se han utilizado compuestos de eficacia relativamente pobre contra los estadios inmaduros patogénicos de este parásito; además estos compuestos producen toxicidad considerable al hospedero <sup>27, 28</sup>; por ejemplo, el tratamiento de ovinos con albendazol y cambendazol produce alopecia, estos compuestos además del oxfendazol y el febantel causan malformaciones congénitas cuando se administran durante la etapa temprana de gestación <sup>33</sup>.

Los fasciolidas disponibles pertenecen a los grupos químicos salicilanilida y nitrofenos sustituidos, los cuales se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas, lo que permite que el tiempo de contacto con los parásitos sea prolongado y se incremente su eficacia <sup>28</sup>.

El triclabendazol (1981): 2-metiltio-5(6)-cloro-6(5)-(2'-3'-dicloro) fenoxi-bencimidazol (TCBZ); "Fasinex" de Ciba-Geigy (figura 5), es un bencimidazol bien tolerado por el hospedero y posee una alta eficacia contra todos los estadios del parásito a dosis menores que las que comúnmente se administran de los otros fasciolidas <sup>16, 27</sup>.

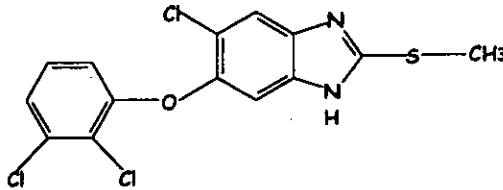


FIG. 5. Estructura del triclabendazol

El triclabendazol se diferencia de otros antihelmínticos bencimidazoles en que no contiene un grupo carbamato y en que tiene un anillo bencénico clorado<sup>27, 29</sup>. Este fármaco es relativamente inactivo contra nematodos y cestodos, parásitos que son típicamente sensibles a los bencimidazoles. El triclabendazol aunque posee una alta eficacia contra *Fasciola hepatica*, presenta una actividad pobre contra los otros trematodos, como son los pertenecientes a las familias *Schistosomatidae*, *Brachylaemidae* y *Paragonomidae*<sup>30, 31</sup>.

#### 1.4.2 Acción del triclabendazol contra los parásitos helmintos

El hecho de que el triclabendazol no tenga actividad nematicida, sugiere que éste actúa de manera diferente a los otros bencimidazoles antihelmínticos. Esto puede deberse a dos factores:

- ❖ Al reemplazo del grupo carbamato por el grupo metiltio y a la presencia de un anillo cloro-bencénico en su estructura.
- ❖ A que el fármaco ejerce su acción sobre la tubulina del parásito en un sitio de unión diferente al de los otros bencimidazoles<sup>27</sup>.



Con base en lo anterior, se ha postulado que *F. hepatica* posee un sitio de unión específico en el cual se puede acomodar la estructura de la molécula de triclabendazol<sup>30, 32</sup>.

### 1.4.3 Metabolismo

Después de administrarse el fármaco por vía oral a los diferentes animales en estudio: ovejas<sup>28, 33-36</sup>, cabras<sup>37-39</sup>, vacunos<sup>14, 40, 41</sup>, equinos<sup>42, 43</sup>, dromedarios<sup>44</sup> y búfalos<sup>14, 41, 45, 46</sup>, solamente se detectan en plasma los metabolitos sulfóxido de triclabendazol (TCBZ-SO) y sulfona de triclabendazol (TCBZ-SO<sub>2</sub>). La ausencia del fármaco precursor en el plasma indica que éste es totalmente removido de la sangre portal por el hígado (efecto de primer paso). Se ha encontrado que el metabolito sulfóxido es farmacológicamente activo<sup>28, 34, 37, 44, 47</sup>. En la figura 6 se presentan las estructuras de los metabolitos del triclabendazol.

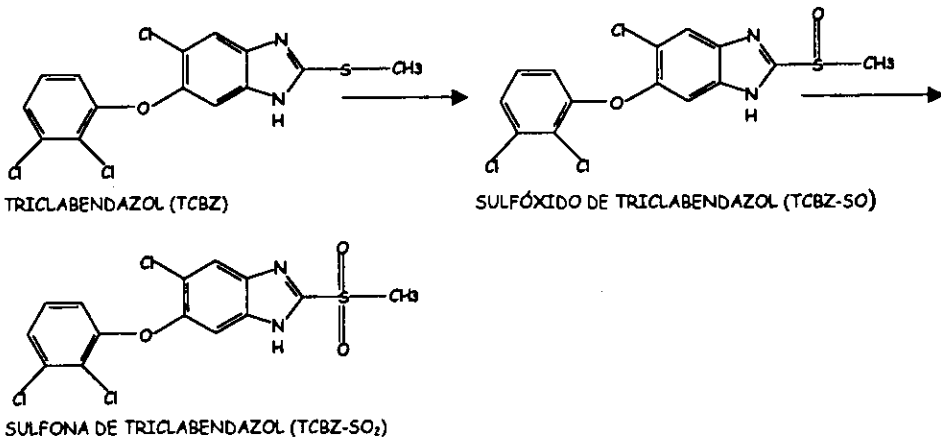


FIG. 6. Estructura de los principales metabolitos del triclabendazol

Para el caso de ovinos, se ha planteado que el metabolismo hepático de triclabendazol involucra la hidroxilación y la conjugación, además de la oxidación; las rutas metabólicas propuestas se presentan en la figura 7<sup>27,28</sup>. Este mecanismo pudiera presentarse de la misma forma en bovinos<sup>37</sup>.

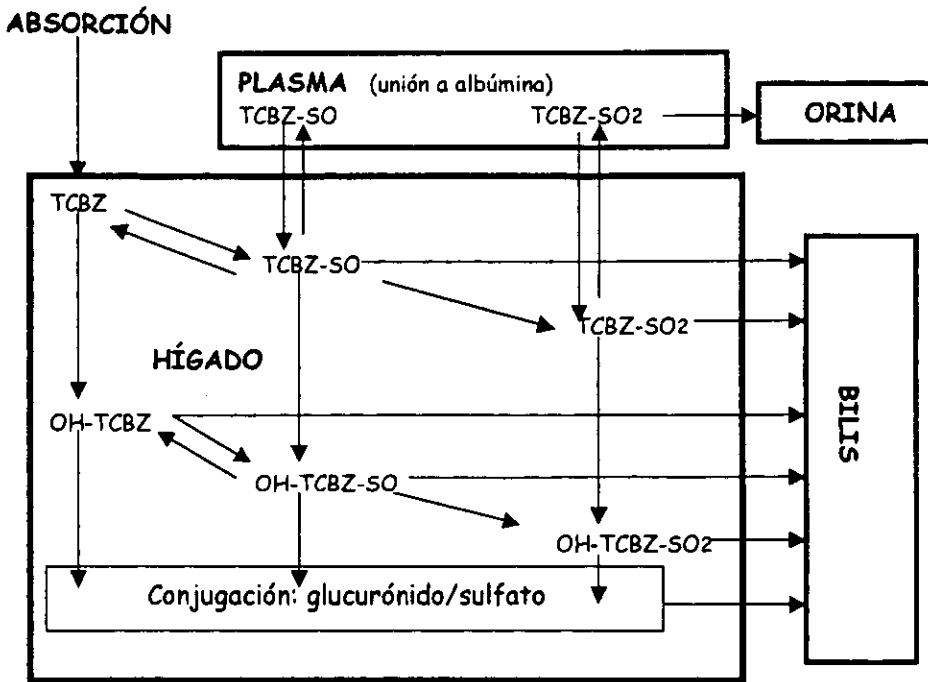


FIG. 7. Rutas propuestas del metabolismo de TCBZ en ovinos.

En la bilis de los ovinos, los principales metabolitos identificados son TCBZ-SO, TCBZ-SO<sub>2</sub> y los metabolitos hidroxí-triclabendazol (OH-TCBZ), hidroxí-sulfóxido de triclabendazol (OH-TCBZ-SO) e hidroxí-sulfona de triclabendazol (OH-TCBZ-SO<sub>2</sub>) (figuras 7 y 8)<sup>27</sup>. Éstos últimos se

encuentran en la bilis predominantemente conjugados como ésteres sulfato y son los que tienen contacto químico con la *Fasciola hepatica*<sup>20</sup>.

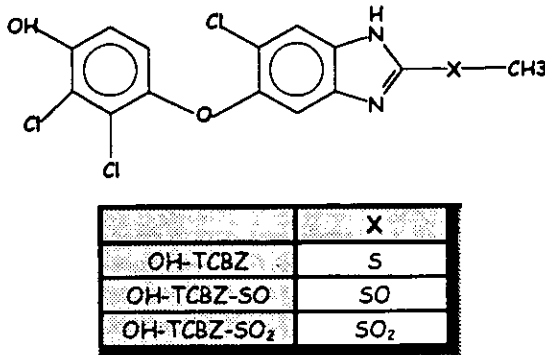


FIG. 8. Estructura de los metabolitos secundarios del triclabendazol<sup>2</sup>.

En ovinos las concentraciones plasmáticas máximas de sulfóxido y de sulfona, se encuentran por períodos largos de tiempo, hasta las 18 y 36 horas, respectivamente<sup>28, 44</sup>. La velocidad lenta de aparición se debe probablemente a que estos metabolitos se unen en un porcentaje muy alto a la albúmina (>99%)<sup>28, 34, 37</sup>. Ello explica también las vidas medias de eliminación prolongadas<sup>41, 42</sup>.

La afinidad por la albúmina es específica y mayor que la de otros bencimidazoles.<sup>28, 41</sup> La unión a proteínas constituye la forma más probable de presentación del fármaco al parásito<sup>28</sup>. Otros fasciolicidas como los salicilanilidas: rafxanida, closantel y oxiclozanida, también se unen extensamente a las proteínas plasmáticas<sup>32</sup>.

#### 1.4.4 Mecanismo de acción

En estudios *in vitro* se ha encontrado que, a concentraciones de 10 -25  $\mu\text{M}$ , el triclabendazol inhibe la motilidad de *F. hepatica* tanto inmadura como adulta <sup>27, 31</sup>.

Dentro del parásito el triclabendazol se acumula y estimula la formación de la glucosa derivada de acetato y la formación de propionato. Los niveles de adenosin-trifosfato no se ven alterados. Sin embargo, este compuesto afecta la función microtubular al inhibir la liberación de las enzimas proteolíticas de los parásitos inmaduros y adultos. El metabolito sulfóxido produce efectos similares <sup>31, 49</sup>.

El sulfóxido de triclabendazol afecta la función microtubular y la síntesis de proteínas del parásito. Este metabolito afecta la síntesis de proteínas del siguiente modo: retiene la heterocromatina en el núcleo celular, lo que ocasiona la desaparición del nucléolo y la reducción de la cubierta ribosomal sobre el retículo endoplasmático rugoso, lo cual conlleva al declive en la síntesis de RNA <sup>49</sup>. Este metabolito produce un efecto más potente sobre la actividad motora del parásito <sup>27</sup>, puesto que éste es más sensible al sulfóxido que al triclabendazol <sup>29-32</sup>.

En los estudios *in vivo*, se ha encontrado que el comportamiento hematófago de *F. hepatica* probablemente es el que determina el mecanismo de consumo de los metabolitos de triclabendazol (TCBZ-SO y TCBZ-SO<sub>2</sub>) <sup>28, 32</sup>.

### 1.4.5 Eficacia

El triclabendazol ha resultado ser eficaz en las diferentes especies animales en las cuales se ha estudiado: ovejas <sup>3-6, 17, 33-36, 39, 51-55</sup>, cabras <sup>37-39</sup>, ganado vacuno <sup>1-4, 38, 40, 41, 50-53, 56-58</sup>, búfalos <sup>14, 38, 41, 45, 46</sup>, cerdos, camellos, dromedarios <sup>44</sup>, caballos, ponis y asnos <sup>42</sup>. El fármaco es seguro y bien tolerado por todas las especies animales tratadas.

El triclabendazol presenta eficacia adecuada y consistente contra todas las edades del parásito. En la tabla I se muestran las eficacias calculadas para seis fasciolicidas incluyendo al triclabendazol en ganado vacuno y, en la tabla II, la comparación entre tratamientos utilizando triclabendazol y otros cuatro fasciolicidas. <sup>4</sup>

Como se ilustra en la figura 9, el triclabendazol a una dosis de 12 mg/kg es altamente efectivo contra todas las etapas de *Fasciola hepatica* en ganado vacuno. Este compuesto presenta un 100% de eficacia contra fasciolosis crónica y subaguda <sup>38</sup>, sin que se presenten efectos tóxicos <sup>1</sup>. Tratando al ganado durante la fase de infección se minimizan las pérdidas en peso corporal <sup>40</sup>.

### 1.4.6 Parámetros farmacocinéticos de triclabendazol en bovinos

Después de administrar a bovinos una dosis de 12 mg/kg de triclabendazol vía intraruminal, las concentraciones plasmáticas de los metabolitos sulfóxido y sulfona son mayores a las que se obtienen para otros bencimidazoles nematicidas administrados por la misma vía. Al administrar una dosis de

triclabendazol de 24 mg/kg, las concentraciones plasmáticas de los metabolitos incrementan de acuerdo con la dosis.

Tabla I. Medias aritméticas y rangos de cuentas de huevos, cuentas de parásitos y eficacias calculadas para seis fasciolicidas en ganado vacuno.

Tratamiento*	Dosis (mg/kg)	Tiempo del tratamiento (semanas después de infección)	Media de la cuenta de huevos en las heces (rango)	Número de parásitos recuperados (rango)	Reducción en la cuenta de huevos (%)	Reducción de parásitos (%)
Triclabendazol	12	6	0	2.6 (0-6)	100	97.8
Nitroxinil	10	6	8.2 (0-18)	65.4 (18-108)	77.2	45.4
Rafoxanida	7.5	6	15.8 (3-28)	101 (41-162)	57.3	15.7
Albendazol	15	6	19.2 (5-38)	117.6 (92-140)	48.1	1.8
Albendazol	15	12	17.6 (5-45)	79.2 (49-109)	52.4	33.9
Oxiclozanida	13	12	1.6 (0.5)	65.4 (9-101)	95.7	45.4
**Sin tratamiento			37 (3-78)	119.8 (100-165)		

\* Tratamiento para grupos de 5 bovinos

\*\* Grupo control de 6 bovinos

Triclabendazol, albendazol, oxiclozanida y rafoxanida administrados por vía oral

Nitroxinil administrado por vía subcutánea

Tabla II. Media del porcentaje en la reducción de *F. hepatica*. Comparación entre tratamientos de cinco fasciolicidas y el control en ganado vacuno.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo del tratamiento después de la infección (semanas)							
		1	2	4	6	8	10	12	
Triclabendazol	12				97.8				
Albendazol	15				1.8				33.9
Nitroxinil	10				45.4				
Oxiclozanida	13				-				45.4
Rafoxanida	7.5				15.7				
Triclabendazol	12	83.6							
Triclabendazol	12			98.3					
Triclabendazol	12		95.9	89.8	80.6				100
Triclabendazol	10		88.2		78.1				99.7♣
Nitroxinil	10		9.6		19.3				99.1
Rafoxanida	10		0		40.1				90.1♦
Triclabendazol	12	94.5	93.3	81.8	85.4	95.7	99.9♣	99.5♣	
Oxiclozanida	13				0	0	3.5	28.6	
Triclabendazol	12		92.1		92.6		99.8		
Clorsulon	7		16.7		50.8		99		
Triclabendazol	12		100						

♣ Tratamiento con 5 mg/kg de triclabendazol

♦ Tratamiento con 7.5 mg/kg de rafoxadina

♣ Tratamiento con 6 mg/kg de triclabendazol

Triclabendazol, albendazol, oxiclozanida y rafoxanida administrados por vía oral

Nitroxinil administrado por vía subcutánea

	P. residentes en pulmón	Nematodos gastrointestinales			P. en forma de cinta	Parásitos residentes en el hígado		
		Adultos	E. L. D.	L. I. D.		Adultos	6-12 sem.	< 6 sem.
ML		6.6 mg/Kg						
OXIBENDAZOL		10 mg/kg						
NETOBIMIN		7.5 mg/kg		20 mg/kg	7.5 mg/kg	20 mg/kg		
ALBENDAZOL		7.5 mg/kg					10 mg/kg	
ALBENDAZOL OX.		7.5 mg/kg						
FEBANTEL		7.5 mg/kg						
FENBENDAZOL		7.5 mg/kg						
OXFENDAZOL		4.5 mg/kg						
TIOFANATO		66 mg/kg		140 mg/kg				
TRICLABENDAZOL						12 mg/kg		

**FIG. 9.** Espectro de actividad y dosis recomendadas para bencimidazoles en ganado vacuno  
 P. - parásitos  
 E. L. D. - estadios larvales en desarrollo  
 L. I. D. - larvas impedidas en su desarrollo  
 sem. - - semanas

En la tabla III se presentan los parámetros farmacocinéticos de triclabendazol en ganado vacuno a dos diferentes dosis, 12 y 24 mg/kg, vía intraruminal <sup>41</sup>.

Por otro lado, no se han encontrado diferencias significativas en los parámetros cinéticos de los metabolitos sulfóxido y sulfona antes y después de la infección, por lo que se sugiere que el ajuste de dosis en casos de



fasciolosis no es necesario. Sólo se han encontrado alteraciones en cuanto a la farmacocinética cuando el daño hepático es severo <sup>37</sup>.

**Tabla III.** Parámetros farmacocinéticos (medias  $\pm$  DE) del sulfóxido de triclabendazol (TCBZ-SO) y sulfona de triclabendazol (TCBZ-SO<sub>2</sub>) después de administrar una dosis única de triclabendazol: 12 y 24 mg/kg. de peso en bovinos.

Dosis (mg/kg)	Metabolitos	C <sub>max</sub> (µg/mL)	T <sub>max</sub> (h)	ABC (µgh/mL)	t <sub>1/2</sub>
12	TCBZ-SO	9.64 $\pm$ 1.43	40.28 $\pm$ 2.11	704.50 $\pm$ 5.58	29.19 $\pm$ 1.44
	TCBZ-SO <sub>2</sub>	15.57 $\pm$ 0.55	119.62 $\pm$ 7.60	4664 $\pm$ 15.16	134.66 $\pm$ 4.02
24	TCBZ-SO	18.61 $\pm$ 2.05	41.97 $\pm$ 2.33	1936.90 $\pm$ 48.88	34.05 $\pm$ 2.27
	TCBZ-SO <sub>2</sub>	23.98 $\pm$ 2.32	93.56 $\pm$ 5.03	5178.70 $\pm$ 15.50	83.93 $\pm$ 2.23

C<sub>max</sub> - Concentración plasmática máxima

T<sub>max</sub> - Tiempo al que se alcanza la concentración plasmática máxima

ABC - Área bajo la curva

t<sub>1/2</sub> - Vida media de eliminación

#### 1.4.7 Efectos adversos del triclabendazol

El tratamiento de vacas lecheras con triclabendazol produce inflamación en la piel de la ubre. La explicación a este efecto permanece desconocida <sup>57</sup>.

#### 1.4.8 Efectos de la dieta

Las concentraciones plasmáticas de los metabolitos de triclabendazol se ven reducidas cuando los ovinos se alimentan de pasto en lugar de concentrados. Es decir, que la cinética del triclabendazol se ve afectada por la calidad del alimento <sup>35, 47, 48</sup>.

## 1.5 $\alpha$ BIOF10 - DERIVADO DE TRICLABENDAZOL CON ACTIVIDAD FASCIOLICIDA

La actividad fasciolicida del triclabendazol se debe al grupo metiltio y al anillo cloro-bencénico de su estructura <sup>16, 27, 28</sup> (Figura 5). Los sustituyentes en las posiciones 5 y 6 son importantes pero no esenciales, por lo que éstas pudieran ser ocupadas por grupos que tengan un comportamiento electrónico similar.

En el compuesto 6-cloro-5-(2-naftiloxi)-2-metiltio-1H-benzimidazol ( $\alpha$ BIOF10) (figura 10), se sustituyó el grupo 1,2-diclorofenoxi del triclabendazol por un equivalente isostérico, el grupo 1 naftiloxi. Este compuesto fue sintetizado por el departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México con el objetivo de contar con una alternativa nacional para el tratamiento de la fasciolosis.

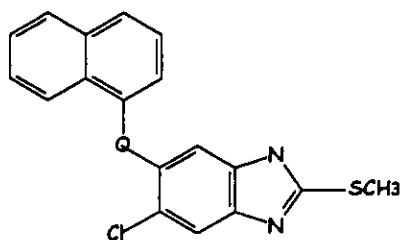


FIG. 10. Estructura del compuesto  $\alpha$ BIOF10.

Para realizar la evaluación química y farmacológica del compuesto  $\alpha$ BIOF10 se formó un equipo multidisciplinario integrado por las áreas de Química Farmacéutica, Biofarmacia y Tecnología Farmacéutica del departamento de Farmacia de la Facultad de Química, el departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, ambas facultades de la Universidad Nacional Autónoma de México; además del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

A continuación se presenta la información que se ha obtenido referente al  $\alpha$ -BIOF10 en los estudios previos a este trabajo.

#### 1.5.1 Propiedades químicas del compuesto $\alpha$ BIOF10

- ❖ Polvo blanco cristalino con ligero olor característico.
- ❖ Fórmula condensada:  $C_{18}H_{13}ClN_2OS$
- ❖ Peso molecular: 340.86 g/mol.
- ❖ Punto de fusión: 171-179 °C.
- ❖ pKa: 2.87<sup>9</sup>, compuesto con características de ácido débil.
- ❖ Coeficiente de partición aparente octanol/agua: 27.63 (log P = 1.44)<sup>9</sup>.

En la tabla IV se presenta la solubilidad del  $\alpha$ BIOF10 en diferentes pH y disolventes.

Tabla IV. Solubilidad del  $\alpha$ BIOF10

Disolvente	Solubilidad (mg/mL)
Solución amortiguadora de fosfatos pH = 7.4	>0.00002
Solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.0	0.00047
Solución amortiguadora de fosfatos pH = 2.2	0.00380
Solución amortiguadora de fosfatos pH = 1.3	0.00620
NaOH 0.1 N	0.00032
HCl 0.1 N	0.010
Acetonitrilo	0.009
Acetona	0.038
Propilenglicol	0.041
Hexano	0.062
Metanol	0.100
Dimetil-sulfóxido	0.210

### 1.5.2 Eficacia fasciolicida

Siendo el compuesto  $\alpha$ BIOF10 de reciente síntesis, los estudios de eficacia fasciolicida se encuentran en la fase inicial. A continuación se hace referencia a los resultados obtenidos.

#### Eficacia fasciolicida *in vitro*

La eficacia *in vitro* se evaluó a las concentraciones de 0.37, 1.11, 3.33, 10 y 50 mg/L, utilizando metacercarias de *Fasciola hepatica* desenquistadas. La eficacia se determinó con base en la supervivencia después de cuatro días de exposición al compuesto. El compuesto alfa mostró una eficacia de 0%, 0%, 77.5%, 100% y 100% a cada una de las concentraciones respectivamente.

#### Eficacia fasciolicida en ovinos

En un primer estudio en ovinos se evaluó la eficacia del compuesto  $\alpha$ BIOF10 utilizando 3 grupos de 9 animales cada uno. Dos grupos fueron tratados con

10 y 15 mg/kg/vía oral del producto alfa respectivamente y un tercer grupo sirvió de control. Los resultados indicaron una eficacia de 80.6% para la dosis de 10 mg/Kg y 86.9% para la dosis de 15 mg/kg.

De estos primeros estudios se concluyó que el compuesto alfa, bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*, mostró una eficacia fasciolicida promisoriosa<sup>7</sup>.

En un segundo estudio se evaluó la actividad del compuesto  $\alpha$ BIOF10 contra fasciolas de 4 y 8 semanas de edad en ovinos. Se utilizaron 50 ovinos criollos, los cuales se infectaron oralmente con 200 metacercarias de *Fasciola hepatica*. Cuatro semanas después de la infección, todos los ovinos fueron reinfectados cada uno con otras 200 metacercarias. Ocho semanas después de la infección inicial, cuando todos los animales estaban infectados con los parásitos, éstos fueron divididos al azar en 5 grupos de 10 animales cada uno. Los grupos 1 al 4, fueron tratados oralmente con el compuesto a dosis de 10, 15, 22.2 y 30 mg/kg de peso corporal, respectivamente. El grupo 5 permaneció como testigo sin tratamiento. Dos días después del tratamiento, todos los ovinos fueron sacrificados con el fin de coleccionar y contar las fasciolas presentes en el hígado.

La eficacia se determinó como porcentaje de reducción de fasciolas en los grupos tratados, en comparación del testigo. Los resultados mostraron que a dosis de 10, 15, 22.2 y 30 mg/kg de peso vivo, el compuesto alfa removió fasciolas de 4 semanas de edad en un 82.2%, 87.2%, 90.8% y 94.3% y fasciolas de 8 semanas en 81.7%, 88.1%, 87.2% y 90.0%, respectivamente. La eficacia promedio para ambos estadios de 4 y 8 semanas fue de 82%, 87.6%,

89.2% y 92.4%, para las respectivas concentraciones. Se concluye que la eficacia fasciolicida conferida por el compuesto alfa a las dosis administradas, fue moderadamente aceptable, siendo la dosis de 15 mg/kg la idónea<sup>8</sup>.

### 1.5.3 Estudio farmacocinético en ovinos

Se realizó un estudio de farmacocinética en ovinos utilizando una dosis oral de 12 mg/kg. El  $\alpha$ BIOF10 no se detectó en ninguno de los tiempos de muestreo, lo cual indica que el compuesto  $\alpha$ BIOF10 es metabolizado completamente. La farmacocinética del metabolito sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) se describió de acuerdo al Modelo Abierto de Dos Compartimentos (MADC), mediante el cual se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos que se presentan en la tabla V<sup>9</sup>.

Tabla V. Parámetros farmacocinéticos del  $\alpha$ BIOF10 en ovinos.

Parámetro farmacocinético	medias
Vida media de absorción	6.17 hr.
Vida media de eliminación	18.95 hr.
C <sub>max</sub>	8.0 $\mu$ g/mL
T <sub>max</sub>	11.4 hr.
ABC	238.39 $\mu$ g*h/mL
Volumen de distribución	58.57 L
Depuración	68.76 mL/min.

### 1.5.4 Estudio preliminar en bovinos

Se evaluó la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en bovinos infectados en forma natural utilizando 40 animales divididos en 4 grupos de 10 animales cada uno. El grupo 1 se trató con 12 mg/kg del compuesto alfa, el grupo 2 con

12 mg/kg triclabendazol, el grupo 3 con 3.5 mg/kg de closantel y el grupo 4 permaneció sin tratamiento.

Se realizó la evaluación de reducción de cuenta de huevos a los 14 y 21 días de acuerdo con los parámetros de la Asociación Mundial para Avances en Parasitología Veterinaria (WAAVP, World Association for Advances in Veterinary Parasitology). En la tabla VI se muestran los resultados de reducción de huevos en bovinos.

Tabla VI. Media del porcentaje de reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en bovinos infectados en forma natural y tratados con  $\alpha$ BIOF10.

Compuesto	Tiempo de tratamiento después de la infección	
	14 días	21 días
$\alpha$ BIOF10	90.1 %	95.3 %
Triclabendazol	91.5 %	96.5 %
Closantel	82.1 %	92.1 %

De acuerdo a los resultados de la tabla VI, no hay diferencia significativa en eficacia para los tres compuestos estudiados ( $p > 0.05$ )<sup>10</sup>.

Con base en los estudios realizados, se considera que el  $\alpha$ BIOF10 puede ser una alternativa eficaz para el tratamiento de la fasciolosis, sin embargo, es necesario continuar con los estudios de farmacocinética en otras especies animales, además de la ovina.

En México la especie bovina es la más afectada por la fasciolosis. De acuerdo a las estadísticas, existen alrededor de 36 millones de bovinos, de los cuales el 50% se encuentra en áreas endémicas (áreas tropicales, subtropicales y en el antiplano). Cinco millones de bovinos están infectados, por lo que se requieren aproximadamente 10 millones de dosis de fasciolicida para su tratamiento. Debido al gran número de dosis requeridas el control de la fasciolosis en México resulta caro, de ahí el interés por contar con una alternativa nacional eficaz y barata para el control del problema.

Actualmente se están realizando varios estudios de evaluación del  $\alpha$ BIOF10 en ganado vacuno, si estos resultan satisfactorios, el empleo del  $\alpha$ BIOF10 disminuiría los costos de tratamiento de la fasciolosis.



---

## HIPÓTESIS

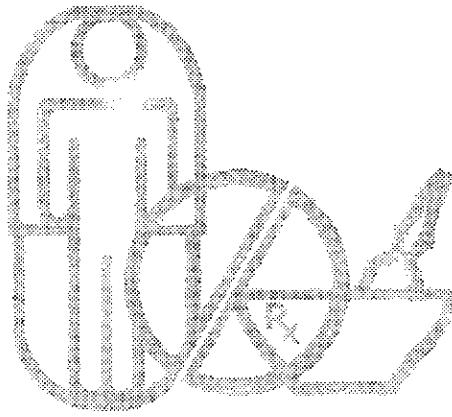
Los bencimidazoles antihelmínticos sufren un extenso metabolismo en los mamíferos después de ser administrados por vía oral; por lo que en el plasma de los bovinos se detectarán y cuantificarán los metabolitos del  $\alpha$ BIOF10 (sulfóxido y sulfona del  $\alpha$ BIOF10), que se forman por la S-oxidación del grupo metiltio presente en su molécula.

La oxidación de los bencimidazoles en bovinos es muy extensa, por lo que el área bajo la curva del metabolito sulfona será mayor que la del metabolito sulfóxido.

Dado a que el  $\alpha$ BIOF10 es un derivado del triclabendazol, al administrarse una dosis única de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 por vía oral a bovinos, las concentraciones del sulfóxido y de la sulfona se mantendrán por períodos de tiempo prolongados.

## OBJETIVOS

- ❖ Validar un método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución para cuantificar el  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona.
- ❖ Calcular los parámetros farmacocinéticos del sulfóxido y la sulfona del  $\alpha$ BIOF10 en bovinos utilizando datos plasmáticos.



---

**Biofarmacia**

2.  
**PARTE  
EXPERIMENTAL**

## **2.1 MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE $\alpha$ BIOF10 Y SUS METABOLITOS SULFÓXIDO Y SULFONA EN PLASMA DE BOVINO**

### **2.1.1 Reactivos y equipo**

#### **Reactivos**

- ❖ BIOF10, sulfóxido del  $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO), sulfona del  $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) y sulfóxido de albendazol (ALB-SO) sintetizados en el laboratorio 122 del Departamento de Farmacia de la División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM.
- ❖ Metanol grado cromatográfico, Mallinckrodt
- ❖ Acetonitrilo grado cromatográfico, Mallinckrodt
- ❖ Agua bidestilada y desionizada
- ❖ Metanol grado R. A., Baker
- ❖ Plasma de bovino donado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), plantel Cuernavaca, Morelos
- ❖ Balanza analítica Sartorius
- ❖ Baño de ultrasonido modelo MF, Mettler Electronics
- ❖ Baño de agua modelo Imperial IV, Lab-line
- ❖ Manifold para extracción en fase sólida
- ❖ Cartuchos Sep-Pak Vac 3cc (500mg), Waters

#### **Equipo**

Cromatógrafo de líquidos Shimadzu equipado con las siguientes unidades:

- ❖ Bomba LC- 10AT

- ❖ Automuestreador SIL-10A
- ❖ Detector SPD-10AV
- ❖ Controlador del sistema SCL-10A

### **2.1.2 Condiciones cromatográficas**

- ❖ Columna  $\mu$ Bondapak C18, 10 micras, 300 x 3.9 mm, Waters
- ❖ Fase móvil: Metanol, acetonitrilo y agua grado HPLC 40:25:35. La fase móvil se desgasificó en baño de ultrasonido y con vacío durante 15 minutos.
- ❖ Velocidad de flujo: 1.2 mL/min
- ❖ Temperatura: ambiente
- ❖ Presión aproximada: 152 kg/cm<sup>2</sup>
- ❖ Longitud de onda: 304nm
- ❖ Volumen de inyección: 20 $\mu$ L
- ❖ Tiempo de corrida: 21 minutos

### **2.1.3. Preparación de soluciones**

**Solución patrón de los estándares de referencia de  $\alpha$ BIOF10 y de sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>)**

Se transfirieron cuantitativamente 8mg de cada uno de los estándares de referencia de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) a un matraz volumétrico de 25mL y se disolvieron en metanol HPLC. El matraz se colocó en un baño de ultrasonido durante 10 minutos, posteriormente se dejó enfriar el contenido a temperatura ambiente y se llevó al aforo con el mismo disolvente. Se obtuvo una concentración de 320

$\mu\text{g/mL}$  para cada uno de los compuestos (solución patrón de  $\alpha\text{BIOF10}$  y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha\text{BIOF10-SO}$ ) y sulfona ( $\alpha\text{BIOF10-SO}_2$ )).

#### **Solución patrón de estándar interno**

En un matraz volumétrico de 50mL se colocaron 7.5 mg de sulfóxido de albendazol (ALB-SO) y se disolvieron en metanol HPLC. El matraz se colocó en un baño de ultrasonido durante 10 minutos, el contenido se dejó enfriar a temperatura ambiente y se llevó al aforo con el mismo disolvente. Se obtuvo una concentración de  $150\mu\text{g/mL}$  (solución patrón del estándar interno).

#### **2.1.4 Curva de calibración**

En un matraz volumétrico de 10mL se colocó una alícuota de 0.8mL de la solución patrón de  $\alpha\text{BIOF10}$  y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha\text{BIOF10-SO}$ ) y sulfona ( $\alpha\text{BIOF10-SO}_2$ ) y se llevó al aforo con plasma de bovino. La concentración que se obtuvo fue de  $25.6 \mu\text{g/mL}$  (estándar 1). A partir de esta solución se preparó la curva de calibración.

Las concentraciones utilizadas para preparar la curva patrón del  $\alpha\text{BIOF10}$  y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha\text{BIOF10-SO}$ ) y sulfona ( $\alpha\text{BIOF10-SO}_2$ ) fueron las siguientes: 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8,  $25.6 \mu\text{g/mL}$  (figura 11).

#### **2.1.5 Procedimiento de extracción**

El procedimiento utilizado fue el siguiente:

- ❖ En un tubo de ensaye se colocaron 3mL de plasma de bovino.
- ❖ Se adicionaron  $150\mu\text{L}$  de la solución patrón del estándar interno (sulfóxido de albendazol).

- ❖ El tubo se agitó por 30 segundos en un agitador tipo Vortex.
- ❖ El cartucho de extracción en fase sólida Sep Pak C18 se activó con 5 mL de metanol y 4 mL de agua HPLC.
- ❖ Se transfirió una alícuota de 2mL al cartucho de extracción Sep-Pak C18 activado.
- ❖ El cartucho se lavó con 20 mL de agua HPLC.
- ❖ Los compuestos  $\alpha$ BIOF10, sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) se eluyeron con 3 mL de metanol R. A.
- ❖ El tubo conteniendo el volumen de elución se colocó en un baño de agua a 40°C y se evaporó el contenido bajo una corriente de nitrógeno hasta sequedad.
- ❖ El residuo se reconstituyó con 0.5mL de metanol HPLC.
- ❖ Se inyectaron 20  $\mu$ L al cromatógrafo, utilizando las condiciones descritas en la sección 2.1.2.

En la figura 12 se presenta el esquema del procedimiento de extracción utilizado.

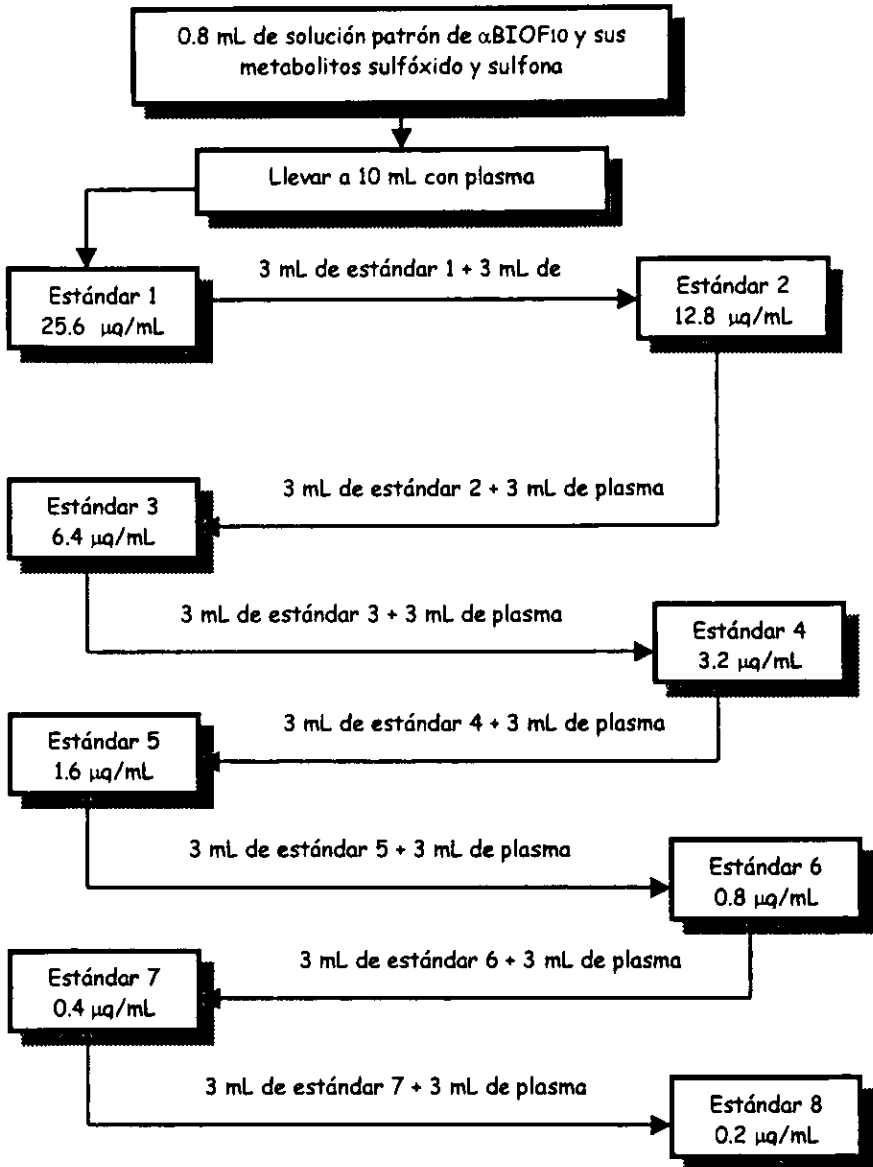


FIG 11. Preparación de la curva de calibración de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino.

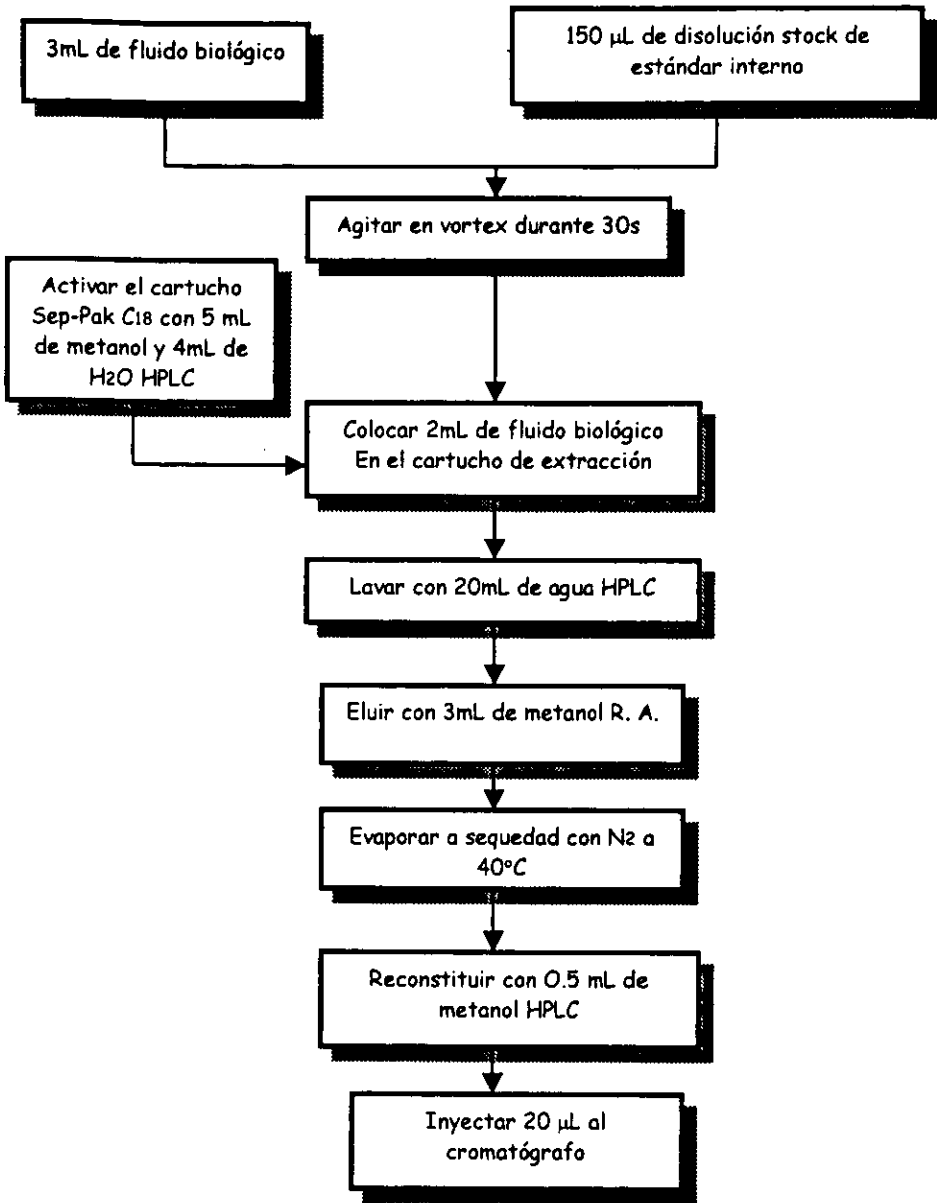


FIG. 12. Esquema del procedimiento de extracción empleado para el  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino



## 2.2 VALIDACIÓN

La validación del método analítico se realizó de acuerdo con las guías oficiales<sup>60-66</sup>. Se evaluaron los siguientes parámetros:

1. Selectividad
2. Linealidad
3. Precisión
4. Exactitud
5. Límite de cuantificación
6. Límite de detección
7. Estabilidad

### **Selectividad**

Este parámetro se determinó evaluando la no interferencia de los componentes del plasma bovino en la cuantificación de  $\alpha$ BIOF10, sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) y el estándar interno (sulfóxido de albendazol).

Se analizó el plasma de 3 bovinos que se encontraban bajo condiciones controladas (régimen alimenticio y sin medicación) empleando el procedimiento de extracción y el método cromatográfico propuestos. Se determinó si se presentaban interferencias en la región cromatográfica de los analitos de interés.

**Linealidad**

A fin de determinar la linealidad del método se prepararon tres curvas de calibración de los compuestos de interés y se siguió el procedimiento de las secciones 2.1.4 y 2.1.5. A cada curva se le realizó un análisis por mínimos cuadrados, teniendo a la concentración como variable "X" y la respuesta (relación de altura del analito de interés respecto a la altura del estándar interno) como variable "Y".

*Criterio de aceptación:*

La evaluación de la función respuesta consistió en la verificación de la consistencia de las curvas generadas durante dos días y de que el coeficiente de correlación ( $r$ ) no fuera menor a 0.99.

**Precisión**

La precisión del método se determinó analizando la curva de calibración por triplicado durante dos días para determinar la precisión interdía y por triplicado en un sólo día para determinar la precisión intradía.

Se determinó el promedio ( $\bar{x}$ ), desviación estándar (D. E.) y coeficiente de variación (C. V.).

*Criterio de aceptación:*

El coeficiente de variación (C. V.) no debe de ser mayor a 15%, excepto para el límite de cuantificación (LDC), donde el coeficiente de variación no debe exceder el 20%

**Exactitud**

Este parámetro se evaluó como la prueba de eficiencia de extracción, la cual se realizó comparando el promedio (3 curvas = intradía y 6 curvas = interdía) de la respuesta (altura) de cada concentración obtenida para cada analito entre la respuesta (altura) del estándar interno en el plasma de bovino, contra la correspondiente en metanol. La relación se expresó en porcentaje de extracción.

*Criterio de aceptación:*

El porcentaje de recobro debe ser cercano al 100%, sin embargo son aceptables recobros de 50 -60%, siempre que éstos sean reproducibles en el rango de concentración bajo análisis.

**Límite de cuantificación (LDC)**

El límite de cuantificación se determinó analizando diluciones sucesivas de los analitos de interés a partir de la concentración de 0.2 µg/mL, utilizando el procedimiento propuesto.

*Criterio de aceptación:*

El pico del analito (respuesta) debe ser reproducible, el coeficiente de variación (C. V.) en cuanto a la precisión no debe de exceder al 20%

**Límite de detección (LDD)**

Este parámetro se determinó realizando diluciones sucesivas a partir de la concentración de 0.2 µg/mL para los compuestos de interés y analizándolas por el procedimiento propuesto,

***Criterio de aceptación:***

Se considera como límite de detección, la menor concentración que produce una respuesta que es 3 veces mayor al ruido de fondo o que puede distinguirse de una muestra libre del compuesto de interés.

**Estabilidad*****Estabilidad de las soluciones patrón***

La estabilidad de las solución patrón de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) y del estándar interno (sulfóxido de albendazol) se evaluó a largo plazo almacenando la solución a -20°C y analizándola a los 0.5, 1, 2 y 3 meses.

***Estabilidad de las muestras a corto plazo***

Se prepararon muestras en plasma de bovino de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) a las siguientes concentraciones: 0.2, 1.6, 12.8 y 25.6  $\mu$ g/mL. Se procesaron de acuerdo a la sección 2.1.5 a las 0, 3 y 6 horas después de haber sido descongeladas. La cuantificación se realizó comparando contra una curva de calibración preparada el mismo día.

***Estabilidad a largo plazo en condiciones de almacenamiento a -20°C***

Se prepararon muestras de plasma adicionadas de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) a las siguientes concentraciones: 0.2, 1.6, 12.8 y 25.6  $\mu$ g/mL, las cuales se almacenaron a -20 C. Se procesaron a los siguientes períodos de tiempo: 15,

30 y 45 días. Las respuestas obtenidas se compararon con las de una curva de calibración preparada el día del análisis.

### *Criterio de aceptación*

Las muestras se consideran estables si cumplen con los criterios de precisión y exactitud.

## **2.3 ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA EN BOVINOS**

### **2.3.1 Estudio preliminar**

Con el fin de determinar si el horario de muestreo propuesto era el adecuado para establecer el perfil farmacocinético del  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>), se llevó a cabo un estudio preliminar, en el cual a un bovino macho criollo de 214 kg se le administró vía oral una suspensión de  $\alpha$ BIOF10 al 7% (m/v). La formulación se desarrolló en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química, UNAM.

Este bovino se encontraba bajo un régimen alimenticio controlado (alfalfa achicalada y concentrado comercial) y sin medicación (por lo menos 1 mes antes del estudio).

El bovino recibió una dosis de 12 mg/kg de peso (esta dosis está de acuerdo con la estipulada para triclabendazol) y se mantuvo en ayuno 12 horas antes

de la administración de la suspensión de  $\alpha$ BIOF10 con administración de agua *ad libitum*. Después de transcurridas 4 horas posteriores a la administración de la suspensión se permitió la ingesta de alimento, se mantuvo una dieta controlada durante todo el estudio.

Se tomaron muestras sanguíneas de la vena yugular, las cuales se colectaron en tubos heparinizados a los siguientes tiempos: antes de la administración de la suspensión de  $\alpha$ BIOF10 (blanco), 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 36, 48, 72, 96 y 120 horas.

Las muestras se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 15 minutos. El plasma se transfirió a tubos limpios y etiquetados y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

### **2.3.2 Estudio de farmacocinética**

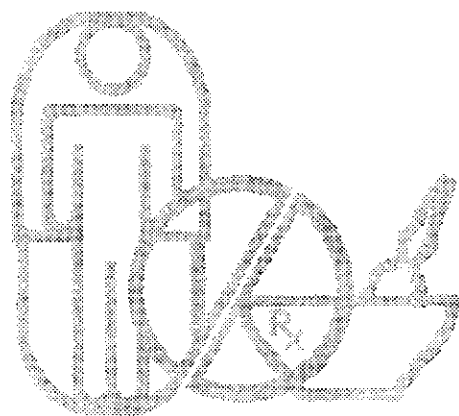
Se seleccionaron 7 bovinos: 3 machos y 4 hembras, entre 186 Kg y 254 Kg. de peso. Los animales se mantuvieron en ayuno durante 12 horas antes del estudio permitiéndoseles la ingestión de agua *ad libitum*. Transcurridas 4 horas después de la administración de la suspensión, se les permitió la ingestión de alimento, con base en una dieta controlada (alfalfa achicalada y concentrado comercial).

Conforme a los resultados obtenidos en el estudio preliminar, se realizaron modificaciones en el horario de muestreo, con la finalidad de incrementar los puntos para definir el perfil farmacocinético de los metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>).

Horario de muestreo: Antes de la administración de la suspensión (blanco), 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72, 96, 120, 128 y 144 horas

#### **2.4 OBTENCIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS**

Los parámetros farmacocinéticos se determinaron utilizando los programas JANA 3.0 y WINNONLIN.



**Biotarmacia**

**3.**

**RESULTADOS Y  
ANÁLISIS**



El método analítico utilizado para la cuantificación del  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos fue el reportado por Del Rivero et al <sup>59</sup>. Dado que en el estudio de Del Rivero, no era de interés cuantificar el metabolito sulfona del  $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>), éste no se incluyó en la validación del método analítico. En la presente investigación se tuvo como objetivo determinar la farmacocinética de este metabolito, por lo que fue necesario efectuar algunas modificaciones al método para su cuantificación junto con el  $\alpha$ BIOF10 y el metabolito sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO).

Las modificaciones que se realizaron fueron las siguientes: La fase móvil constituida por metanol, acetonitrilo y agua HPLC 40:30:30 se varió a 40:25:35. Así mismo, la velocidad de flujo se incrementó de 1 mL/min a 1.2 mL/min. Realizando estos cambios el tiempo de corrida fue de 21 minutos. En la tabla VII se presentan los valores de resolución obtenidos.

**Tabla VII.** Valores de resolución del  $\alpha$ BIOF10, sus metabolitos y el sulfóxido de albendazol

Par de compuestos	Resolución
Estándar interno - sulfona del $\alpha$ BIOF10	16.0
Sulfona - sulfóxido del $\alpha$ BIOF10	2.6
Sulfóxido del $\alpha$ BIOF10 - $\alpha$ BIOF10	8.8

### **3.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**

#### **3.1.1 Selectividad**

En la figura 13 se muestran los cromatogramas correspondientes a:

- a) Blanco de plasma de bovino
- b) Plasma de bovino adicionado de estándar interno
- c) Plasma de bovino adicionado de  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona.
- d) Muestra plasmática de bovino después de una administración de 12mg/kg de  $\alpha$ BIOF10.

Los tiempos de retención obtenidos fueron los siguientes:

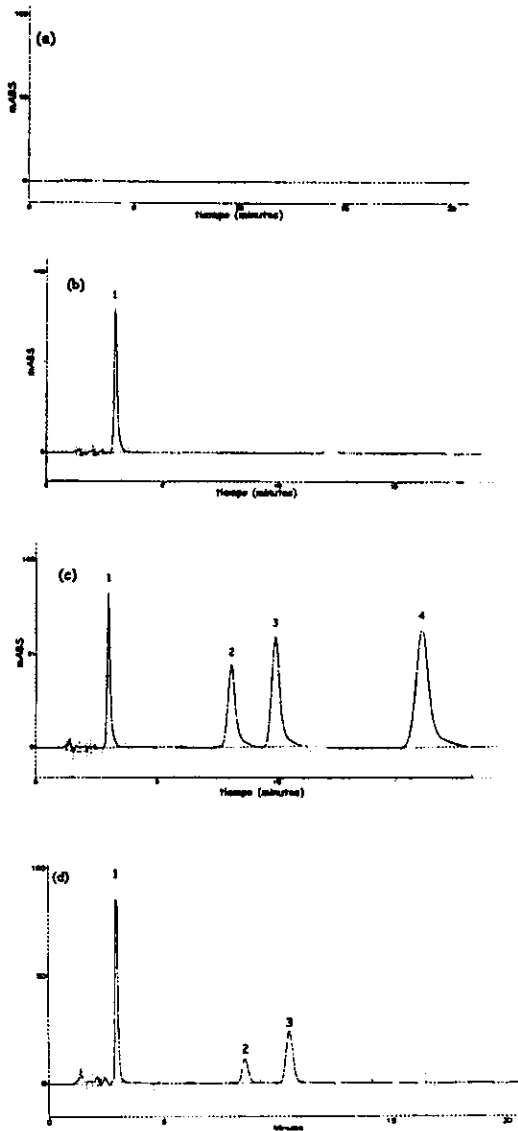
Sulfóxido de albendazol: 2.9min

Sulfona del  $\alpha$ BIOF10: 8.5min

Sulfóxido del  $\alpha$ BIOF10: 10.8min

$\alpha$ BIOF10: 18.3min

No se observaron interferencias de los compuestos endógenos del plasma de bovino en la región cromatográfica del  $\alpha$ BIOF10, ni en la de los metabolitos sulfóxido ( $\alpha$ BIOF10-SO) y sulfona ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>) y del estándar interno (sulfóxido de albendazol, ALB-SO), por lo que se consideró que el método analítico era selectivo para cuantificar estos analitos.



**FIG. 13.** Cromatogramas representativos. (a) Blanco de plasma, (b) Plasma adicionado de sulfóxido de albendazol (ALB-SO), (c) Plasma adicionada de: 1- estándar interno (sulfóxido de albendazol), 2- sulfona de  $\alpha$ BIOF10, 3- sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 y 4-  $\alpha$ BIOF10, (d) Muestra plasmática de bovino después de la administración de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10, las señales corresponden a: 1- estándar interno-sulfóxido de albendazol (ALB-SO), 2-sulfona de  $\alpha$ BIOF10, 3-sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 y 4- $\alpha$ BIOF10.

**3.1.2 Linealidad**

El método mostró ser lineal en el intervalo de 0.2 -25.6 µg/mL para los metabolitos sulfona del αBIOF10 (αBIOF10-SO<sub>2</sub>) y sulfóxido del αBIOF10 (αBIOF10-SO) y para el fármaco precursor αBIOF10, en plasma de bovino. Este rango se eligió de acuerdo a las concentraciones plasmáticas obtenidas en el estudio previo realizado en ovinos por Del Rivero <sup>59</sup>, sin embargo para la concentración más alta se consideró el doble de la concentración utilizada en el estudio de ovinos, puesto que en los estudios reportados para triclabendazol, las concentraciones plasmáticas de los metabolitos en éstos son menores que en vacunos. En la tabla VIII se presentan los parámetros de linealidad obtenidos para los analitos en estudio y en la figura 14 se presentan las gráficas individuales de cada uno de ellos.

**Tabla VIII.** Parámetros obtenidos de la evaluación de la linealidad del método en plasma de bovino.

	αBIOF10-SO <sub>2</sub>	αBIOF10-SO	αBIOF10
pendiente	0.0365	0.0877	0.0977
I. C.	0.0361 - 0.0369	0.0857 - 0.0898	0.0968 - 0.0985
intercepto	-0.0015 ± 0.001	-0.0133 ± 0.004	-0.0044 ± 0.002
Ecuación de la recta	-0.0015+0.0365(x)	-0.013+0.0877(x)	-0.0044+0.0977(x)
r	0.9997 +/- 0.0002	0.9995 +/- 0.0003	0.9999 +/- 2.66E-05
r <sup>2</sup>	0.9994	0.999	0.9997
n	6	6	6

I. C. intervalo de confianza  
r coeficiente de correlación

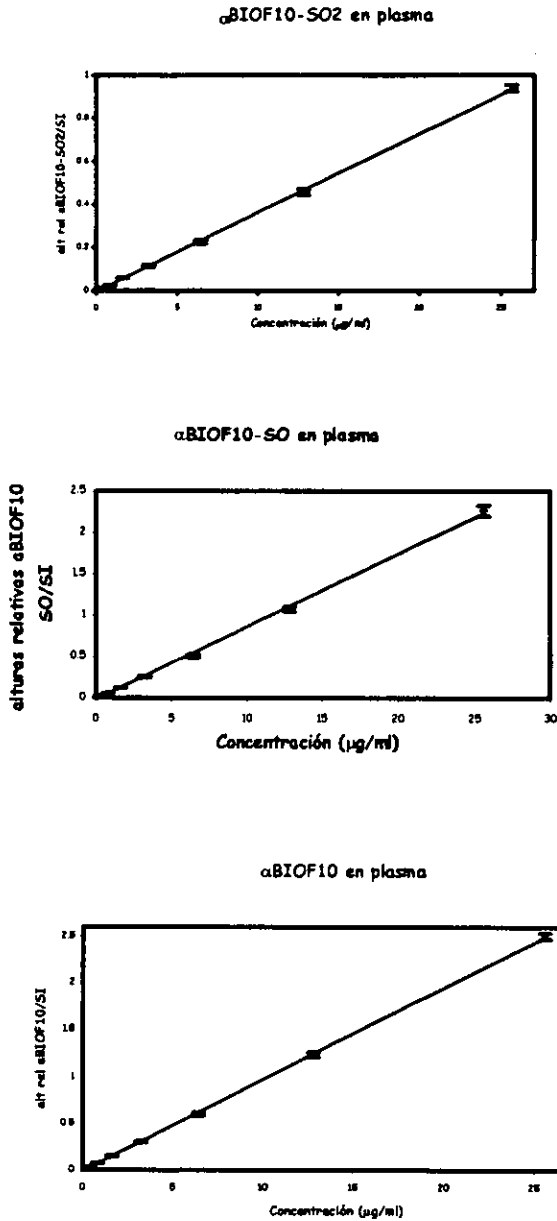


FIG. 14. Linealidad del método analítico para cuantificar  $\alpha$ -BIOF10-SO<sub>2</sub>,  $\alpha$ -BIOF10-SO y  $\alpha$ -BIOF10 en plasma de bovino

### 3.1.3 Exactitud y precisión

A continuación se presentan los resultados de precisión y exactitud del método en plasma de bovino para cada uno de los analitos estudiados.

Para el metabolito sulfona de  $\alpha$ BIOF10 los coeficientes de variación para la precisión intradía (repetibilidad intra día) estuvieron dentro del rango de 1.43% a 4.40%, y para la precisión interdía (repetibilidad interdía) de 1.60% a 5.60%. (tabla IX). La media del porcentaje de recuperación fue de 60%.

En el caso del metabolito sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 los coeficientes de variación obtenidos en la evaluación de la repetibilidad intra día estuvieron dentro del rango de 1.36% a 5.80%, y en la evaluación de la repetibilidad interdía se obtuvieron coeficientes de variación entre 2.42% y 4.66% (tabla X). La media del porcentaje de recuperación fue de 80%.

Para el fármaco precursor los coeficientes de variación en el caso de la repetibilidad intra día del método oscilaron entre 1.09% y 2.59%, y para la repetibilidad interdía fueron de 1.30% a 3.51% (tabla XI). La media del porcentaje de recuperación fue de 94%.

Con base en lo anterior se puede observar que el método analítico para cuantificar el compuesto  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos en plasma de bovino cumple con el criterio de aceptación para la precisión, ya que los coeficientes de variación obtenidos tanto para repetibilidad intra día como la repetibilidad interdía se encuentran por debajo del valor de 15%.

En lo que se refiere a la cantidad recuperada para cada uno de los analitos estudiados, la media del porcentaje de recobro del fármaco precursor  $\alpha$ BIOF10 estuvo cercana al 100%, por lo que se considera que cumple con el criterio de aceptación. A pesar de que las medias del porcentaje de recobro para los metabolitos sulfóxido y sulfona del  $\alpha$ BIOF10 fueron 79.71% y 60.01% respectivamente, el método se considera aceptable ya que se obtuvieron recobros reproducibles en el rango lineal para ambos metabolitos.

**Tabla IX. Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para sulfona del  $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>).**

Concentración teórica (µg/ml.)	Concentración experimental (µg/ml.) (media $\pm$ D.E.)	C. V. (%)	Recobro (%)
Precisión intradía n = 3			
0.2	0.11 $\pm$ 0.005	4.40	53.75
0.4	0.22 $\pm$ 0.008	3.86	54.50
0.8	0.45 $\pm$ 0.019	4.26	56.55
1.6	0.97 $\pm$ 0.029	3.01	60.73
3.2	1.86 $\pm$ 0.057	3.06	58.18
6.4	3.73 $\pm$ 0.084	2.25	58.23
12.8	7.82 $\pm$ 0.260	3.33	61.09
25.6	15.78 $\pm$ 0.225	1.43	61.66
Precisión interdía n = 6			
0.2	0.11 $\pm$ 0.006	5.60	55.94
0.4	0.23 $\pm$ 0.012	5.45	56.78
0.8	0.46 $\pm$ 0.021	4.62	58.06
1.6	0.99 $\pm$ 0.028	2.87	61.64
3.2	1.94 $\pm$ 0.094	4.82	60.59
6.4	3.79 $\pm$ 0.120	3.17	59.20
12.8	7.81 $\pm$ 0.251	3.21	61.05
25.6	15.92 $\pm$ 0.254	1.60	62.18

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

**Tabla X. Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para sulfóxido del  $\alpha$ BIOF10 ( $\alpha$ BIOF10-SO).**

Concentración teórica ( $\mu\text{g/mL}$ )	Concentración experimental ( $\mu\text{g/mL}$ ) (media $\pm$ D.E.)	C. V. (%)	Recobro (%)
Precisión intradía n = 3			
0.2	0.16 $\pm$ 0.009	5.80	77.91
0.4	0.32 $\pm$ 0.013	4.13	80.79
0.8	0.62 $\pm$ 0.014	2.25	77.60
1.6	1.27 $\pm$ 0.054	4.22	79.61
3.2	2.57 $\pm$ 0.041	1.60	80.25
6.4	5.10 $\pm$ 0.232	4.54	79.75
12.8	10.37 $\pm$ 0.182	1.76	81.02
25.6	20.24 $\pm$ 0.275	1.36	79.08
Precisión interdía n = 6			
0.2	0.15 $\pm$ 0.007	4.66	77.43
0.4	0.32 $\pm$ 0.012	3.69	79.39
0.8	0.62 $\pm$ 0.017	2.79	77.36
1.6	1.26 $\pm$ 0.043	3.45	78.61
3.2	2.59 $\pm$ 0.068	2.61	81.07
6.4	5.13 $\pm$ 0.210	4.09	80.12
12.8	10.56 $\pm$ 0.256	2.42	82.46
25.6	20.80 $\pm$ 0.622	2.99	81.24

D. E. Desviación estándar  
C. V. Coeficiente de variación

**Tabla XI. Exactitud y precisión del método en plasma de bovino para  $\alpha$ BIOF10.**

Concentración teórica ( $\mu\text{g/mL}$ )	Concentración experimental ( $\mu\text{g/mL}$ ) (media $\pm$ D.E.)	C. V. (%)	Recobro (%)
Precisión intradía n = 3			
0.2	0.19 $\pm$ 0.005	2.53	94.53
0.4	0.37 $\pm$ 0.007	1.93	92.83
0.8	0.75 $\pm$ 0.010	1.27	93.47
1.6	1.51 $\pm$ 0.039	2.59	94.46
3.2	3.00 $\pm$ 0.042	1.41	93.63
6.4	5.97 $\pm$ 0.106	1.77	93.24
12.8	12.07 $\pm$ 0.287	2.38	94.26
25.6	24.86 $\pm$ 0.270	1.09	97.10
Precisión interdía n = 6			
0.2	0.19 $\pm$ 0.007	3.51	92.91
0.4	0.37 $\pm$ 0.008	2.04	92.79
0.8	0.75 $\pm$ 0.023	3.05	93.46
1.6	1.52 $\pm$ 0.035	2.31	94.69
3.2	3.00 $\pm$ 0.053	1.75	93.92
6.4	5.98 $\pm$ 0.137	2.30	93.08
12.8	12.10 $\pm$ 0.203	1.68	94.88
25.6	24.90 $\pm$ 0.323	1.30	97.24

D. E. Desviación estándar  
C. V. Coeficiente de variación



### **3.1.4 Límite de cuantificación (LDC) y límite de detección (LDD)**

El límite de cuantificación para los compuestos  $\alpha$ BIOF10 y sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 fue de 25 ng/mL, para el metabolito sulfona de  $\alpha$ BIOF10 se estimó en 50 ng/mL.

El límite de detección para  $\alpha$ BIOF10 y el sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 determinado fue de 6.3 ng/mL y para el metabolito sulfona fue de 12.5 ng/mL.

### **3.1.5 Estabilidad**

La solución del compuesto alfa y sus metabolitos es estable hasta los 3 meses en que se realizó el estudio.

En las tablas XII y XIII se muestran los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad de las muestras plasmáticas a corto y largo plazo.

Los porcentajes de recobro se mantienen cercanos al valor medio que se obtuvo en la precisión, por lo que se consideró que las muestras fueron estables durante el periodo tiempo en que se les monitoreo. En este estudio se consideró un periodo de 45 días como el periodo máximo en que las muestras en estudio fueran analizadas, sin embargo, sería recomendable realizar un estudio posterior para establecer el tiempo real de estabilidad de las muestras plasmáticas.

Con base al cumplimiento de los parámetros de validación, se observa que el método cumplió con los requisitos para ser utilizado en el estudio de farmacocinética.

**Tabla XII. Estabilidad de las muestras plasmáticas a corto plazo**

Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )	horas			C. V. %
	0	3	6	
<b><math>\alpha\text{BIOF10-SO2}</math></b>				
0.2	59.6	57.8	55.4	3.0
1.6	58.4	59.5	56.2	2.4
12.8	59.3	58.0	57.7	1.2
25.6	61.8	60.5	59.8	1.4
<b><math>\alpha\text{BIOF10-SO}</math></b>				
0.2	79.6	80.2	77.3	1.6
1.6	81.5	81.7	78.5	1.8
12.8	80.1	79.9	78.1	1.1
25.6	82.4	81.5	79.7	1.4
<b><math>\alpha\text{BIOF10}</math></b>				
0.2	95.7	92.6	92.0	1.7
1.6	97.3	95.5	93.6	1.6
12.8	96.9	96.4	94.2	1.3
25.6	97.4	95.1	97.5	1.1

C. V. Coeficiente de variación

**Tabla XIII. Estabilidad de las muestras a largo plazo**

Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )	MESES				C. V. %
	0	0.5	1	1.5	
<b><math>\alpha\text{BIOF10-SO2}</math></b>					
0.2	59.6	58.9	57.7	54.4	3.5
1.6	61.3	61.0	58.9	56.6	3.2
12.8	60.9	58.2	58.8	57.6	2.1
25.6	62.0	61.2	60.2	59.0	1.8
<b><math>\alpha\text{BIOF10-SO}</math></b>					
0.2	81.8	81.4	80.1	77.1	2.3
1.6	82.6	82.2	81.1	78.8	1.8
12.8	82.7	82.5	81.2	79.6	1.5
25.6	83.1	81.9	81.4	80.0	1.4
<b><math>\alpha\text{BIOF10}</math></b>					
0.2	97.0	94.7	92.4	92.3	2.0
1.6	97.1	97.6	95.3	93.7	1.6
12.8	96.5	94.0	94.2	92.5	1.5
25.6	97.8	96.6	95.4	94.7	1.2

C. V. Coeficiente de variación

## **3.2 ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA EN BOVINOS**

El estudio farmacocinético en bovinos se realizó con la finalidad de conocer las concentraciones plasmáticas de los metabolitos sulfóxido y sulfona del  $\alpha$ BIOF10, el modelo farmacocinético al cual se ajustan los datos y los parámetros farmacocinéticos correspondientes.

A continuación se presentan los resultados obtenidos del estudio preliminar y del estudio farmacocinético en bovinos.

### **3. 2. 1 Estudio preliminar**

Al analizar las muestras, se encontró que el  $\alpha$ BIOF10 no pudo ser detectado en ninguno de los tiempos de muestreo, sin embargo tanto el sulfóxido como la sulfona del  $\alpha$ BIOF10 pudieron ser cuantificados. En la tabla XIV se presentan las concentraciones plasmáticas de sulfóxido y de sulfona del  $\alpha$ BIOF10 obtenidas después de la administración por vía oral de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a un bovino y en la figura 15 se muestran los perfiles de concentración plasmática contra tiempo de ambos metabolitos.

La ausencia del fármaco precursor en plasma indica que el  $\alpha$ BIOF10 sufrió metabolismo de primer paso. Se deduce que el  $\alpha$ BIOF10 fue oxidado formando los metabolitos sulfóxido y sulfona, de manera similar a lo que se observa con triclabendazol y otros bencimidazoles en diferentes especies animales <sup>14, 16, 28, 34-38, 41, 44-47</sup>.

Tabla XIV. Concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ BIOF10-SO y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg a un bovino.

Tiempo (h)	Sulfóxido Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Sulfona Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
0	0	0
0.5	0	0
1	0	0
2	0	0.175
4	0.059	0.215
6	0.078	0.311
8	0.128	0.498
12	0.349	1.287
24	3.978	5.643
30	5.813	5.538
36	7.419	5.007
48	9.862	2.633
72	11.370	1.612
96	5.472	0.743
120	4.042	0.508

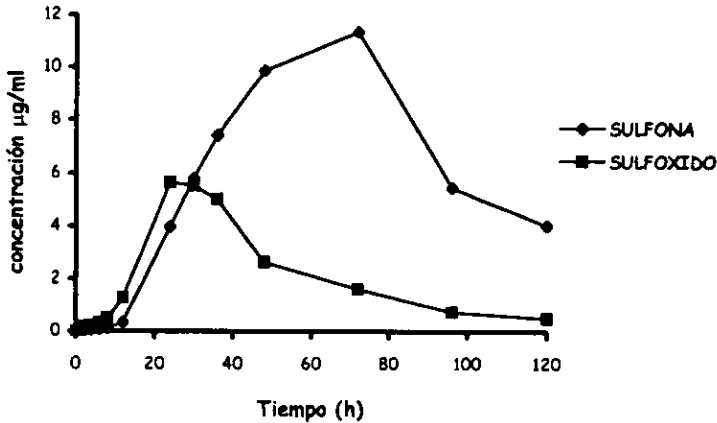


FIG. 15. Perfiles de concentración contra de tiempo de los metabolitos sulfona y sulfóxido de  $\alpha$ BIOF10 después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg a un bovino.

En lo que se refiere a los tiempos de muestreo, se eliminó el muestreo a la media hora después de la administración de la suspensión y se incluyeron los siguientes tiempos: 18, 42, 60, 128 y 144 horas, con la finalidad de definir mejor ambos perfiles.

### 3. 2. 2 Estudio farmacocinético

Al igual que en el estudio preliminar, el  $\alpha$ BIOF10 no pudo ser detectado en plasma, lo cual comprueba un extenso metabolismo de primer paso. Los valores promedio de las concentraciones plasmáticas de los metabolitos sulfóxido y sulfona obtenidos después de la administración de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 por vía oral a 7 bovinos se presentan en las tablas XV y XVI, en las que se observa una gran variabilidad interindividual en todos los tiempos de muestreo. En la figura 16 se presenta el perfil de concentración contra tiempo para los metabolitos sulfóxido y sulfona.

Se determinaron los parámetros farmacocinéticos de los metabolitos sulfona y sulfóxido utilizando tanto análisis compartimental como análisis modelo independiente. Para ambos metabolitos los datos se ajustaron al Modelo Abierto de Un Compartimiento (MAUC). En las tablas XVII y XVIII se muestran las medias de los parámetros farmacocinéticos obtenidas después de ajustar los datos de concentración-tiempo para los compuestos  $\alpha$ BIOF10-SO y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>, en las que se observa que por tratarse de metabolitos no se considera una vida media de absorción sino una vida media de aparición en la circulación ( $t \frac{1}{2} f$ ), la cual involucra varios procesos. Este parámetro hace referencia a la presencia de los metabolito en la circulación sistémica, ya que sólo una fracción de éstos es liberada del órgano donde se

metabolizan a la circulación y la fracción restante sufre metabolismo subsecuente <sup>23-25, 67</sup>. En el caso del metabolito sulfóxido, la vida media de aparición ( $t_{\frac{1}{2} f}$ ) tiene un valor de  $9.43 \pm 5.10$  horas y para el metabolito sulfona de  $26.26 \pm 2.73$  horas. El retardo en la aparición de la sulfona en la circulación sistémica puede deberse a su dependencia de la formación del sulfóxido y a que este proceso de oxidación se ha caracterizado como lento <sup>22-24</sup>.

Tabla XV. Valores promedio de la concentración plasmática de  $\alpha$ BIOF10-SO después de la administración vía oral de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos

Tiempo (h)	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) media $\pm$ D.E.	C. V. %
1	0.16 $\pm$ 0.01	4.6
2	0.15 $\pm$ 0.06	42.0
4	0.23 $\pm$ 0.03	12.5
6	0.37 $\pm$ 0.09	24.9
8	0.66 $\pm$ 0.20	30.1
12	1.17 $\pm$ 0.40	34.4
18	2.33 $\pm$ 0.81	34.8
24	3.78 $\pm$ 1.24	32.8
30	4.35 $\pm$ 0.99	22.9
36	4.60 $\pm$ 1.29	28.0
42	4.04 $\pm$ 0.93	22.9
48	3.03 $\pm$ 0.58	19.1
60	2.21 $\pm$ 0.29	13.0
72	1.57 $\pm$ 0.27	17.4
96	0.92 $\pm$ 0.18	19.8
120	0.50 $\pm$ 0.17	34.4
128	0.31 $\pm$ 0.04	11.8
144	0.23 $\pm$ 0.06	27.6

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

Tabla XVI. Valores promedio de la concentración plasmática de  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> después de la administración vía oral de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos.

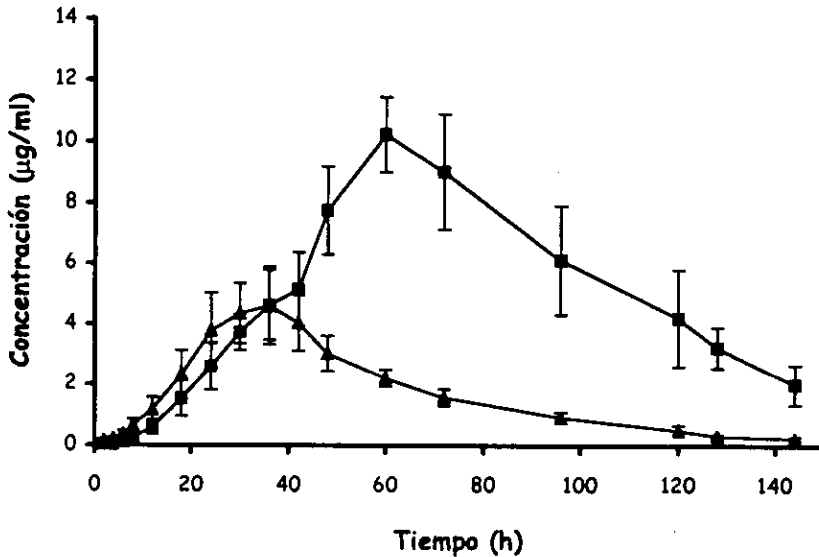
Tiempo (h)	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ ) media $\pm$ D.E.	C. V. %
1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0
2	0.02 $\pm$ 0.00	0.0
4	0.03 $\pm$ 0.00	0.0
6	0.11 $\pm$ 0.03	25.2
8	0.25 $\pm$ 0.07	28.6
12	0.60 $\pm$ 0.23	38.5
18	1.54 $\pm$ 0.58	37.6
24	2.59 $\pm$ 0.77	29.8
30	3.73 $\pm$ 0.60	16.2
36	4.63 $\pm$ 1.16	25.1
42	5.15 $\pm$ 1.21	23.6
48	7.75 $\pm$ 1.44	18.6
60	10.23 $\pm$ 1.22	11.9
72	9.02 $\pm$ 1.89	20.9
96	6.11 $\pm$ 1.81	29.6
120	4.20 $\pm$ 1.60	38.0
128	3.22 $\pm$ 0.67	20.9
144	1.99 $\pm$ 0.65	32.7

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

El tiempo requerido para alcanzar el equilibrio entre la velocidad de formación y la de eliminación ( $T_{\text{max met}}$ ) es de  $33.43 \pm 4.37$  horas para el metabolito sulfóxido y  $63.43 \pm 5.42$  horas para el metabolito sulfona. Los valores de las concentraciones en este punto fueron de  $5.01 \pm 1.02$  y  $10.19 \pm 1.90$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Como se observa el valor de  $T_{\text{max met}}$  para el metabolito  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> es dos veces mayor que el del metabolito  $\alpha$ BIOF10-SO. Lo cual está de acuerdo con los pasos secuenciales de la oxidación del  $\alpha$ BIOF10. Este comportamiento también puede deberse a que en los rumiantes los bencimidazoles se biotransforman en el rumen antes de

metabolizarse en el hígado, sin embargo, la biotransformación en el rumen está limitada a la primera oxidación, por lo que el metabolito sulfóxido se presenta antes que el metabolito sulfona que se genera casi en su totalidad en el hígado <sup>21-25, 68, 69</sup>.



**FIG. 16.** Media  $\pm$  desviación estándar (D. E.) de las concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ BIOF10-SO (- $\blacktriangle$ -) y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> (- $\blacksquare$ -) después de la administración por vía oral de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos



Tabla XVII. Media de los parámetros farmacocinéticos  $\pm$  D. E. del  $\alpha$ BIOF10-SO obtenidos después de la administración oral de 12 mg/Kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos.

Parámetro farmacocinético	Media $\pm$ D. E.	C. V. %
Kf ( $h^{-1}$ )	0.15 $\pm$ 0.19	125.9
$t_{\frac{1}{2}}$ f (h)	9.43 $\pm$ 5.10	54.1
T max met (hr)	33.43 $\pm$ 4.37	13.1
C max met ( $\mu$ g/mL)	5.01 $\pm$ 1.02	20.5
Ke ( $h^{-1}$ )	0.03 $\pm$ 0.0027	10.1
$t_{1/2}$ el (h)	25.82 $\pm$ 2.35	9.1
ABC 0-t ( $\mu$ g h/mL)	238.63 $\pm$ 42.58	17.8
ABC 0- $\infty$ ( $\mu$ g h/mL)	249.13 $\pm$ 43.13	17.3
ABCM 0-t ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /mL)	12184.94 $\pm$ 2089.01	17.1
ABCM 0- $\infty$ ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /mL)	14013.69 $\pm$ 2239.80	16.0
TMR 0-t (h)	51.18 $\pm$ 2.46	4.8
TMR 0- $\infty$ (h)	56.45 $\pm$ 2.40	4.3

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

Kf ( $h^{-1}$ ) Constante de aparición

$t_{\frac{1}{2}}$  f (h) Vida media de aparición

Tmax met (h) Tiempo máximo, tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima del metabolito

C max met ( $\mu$ g/mL) Concentración plasmática máxima del metabolito

Ke ( $h^{-1}$ ) Constante de eliminación

$t_{1/2}$  el (h) Vida media de eliminación

ABC 0-t ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 al tiempo t

ABC 0- $\infty$  ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 a infinito

ABCM 0-t ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 al tiempo t

ABCM 0- $\infty$  ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 a infinito

TMR 0-t (h) Tiempo medio de residencia de 0 al tiempo t

TMR 0- $\infty$  (h) Tiempo medio de residencia de 0 a infinito

Nota: Consultar glosario para definición de términos

Tabla XVIII. Media de los parámetros farmacocinéticos  $\pm$  D. E. del  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> obtenidos después de la administración oral de 12 mg/Kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos.

Parámetro farmacocinético	Media $\pm$ D. E.	C. V. %
Kf (h <sup>-1</sup> )	0.026 $\pm$ 0.003	11.7
t $\frac{1}{2}$ f (h)	26.26 $\pm$ 2.73	10.4
Tmax met (h)	63.43 $\pm$ 5.42	8.5
C max met ( $\mu$ g/mL)	10.19 $\pm$ 1.90	18.7
Ke (h <sup>-1</sup> )	0.02 $\pm$ 0.01	27.2
t $\frac{1}{2}$ el (h)	34.79 $\pm$ 8.36	24.0
ABC 0-t ( $\mu$ g h/mL)	735.44 $\pm$ 176.53	24.0
ABC 0- $\infty$ ( $\mu$ g h/mL)	855.89 $\pm$ 212.55	24.8
ABCM 0-t ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /mL)	55726.54 $\pm$ 16017.45	28.7
ABCM 0- $\infty$ ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /mL)	79950.31 $\pm$ 25405.92	31.8
TMR 0-t (h)	74.87 $\pm$ 5.38	7.2
TMR 0- $\infty$ (h)	91.54 $\pm$ 10.57	11.5

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

Kf (h<sup>-1</sup>) Constante de aparición

t $\frac{1}{2}$  f (h) Vida media de aparición

Tmax met (h) Tiempo máximo, tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima del metabolito

C max met ( $\mu$ g/mL) Concentración plasmática máxima del metabolito

Ke (h<sup>-1</sup>) Constante de eliminación

t $\frac{1}{2}$  el (h) Vida media de eliminación

ABC 0-t ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 al tiempo t

ABC 0- $\infty$  ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 a infinito

ABCM 0-t ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 al tiempo t

ABCM 0- $\infty$  ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 a infinito

TMR 0-t (h) Tiempo medio de residencia de 0 al tiempo t

TMR 0- $\infty$  (h) Tiempo medio de residencia de 0 a infinito

Nota: Consultar glosario para definición de términos

Las vidas medias de eliminación ( $t_{1/2}$  el) para  $\alpha$ BIOF10-SO y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> fueron de  $25.82 \pm 2.35$  y  $34.79 \pm 8.36$  horas, respectivamente. Los valores de las áreas bajo la curva de concentración contra tiempo (ABC 0- $\infty$ ) fueron  $249.13 \pm 43.13$   $\mu\text{g h/mL}$  para el sulfóxido y  $855.89 \pm 212.55$   $\mu\text{g h/mL}$  para la sulfona. El ABC representa la cantidad de metabolito presente que depende de las velocidades de formación y de eliminación<sup>67, 70, 71</sup>, y ya que el área bajo la curva del metabolito sulfona es 3.4 veces mayor que la del metabolito sulfóxido, se asume que gran parte del sulfóxido se metaboliza a sulfona.

Por último los valores de tiempo medio de residencia para  $\alpha$ BIOF10-SO y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> fueron  $56.45 \pm 2.40$  y  $91.54 \pm 10.57$  horas, respectivamente, lo cual indica que la sulfona tiene un mayor tiempo de permanencia en el organismo.

La amplia variabilidad interindividual que se observó probablemente se deba al metabolismo de cada sujeto<sup>72, 73</sup>.

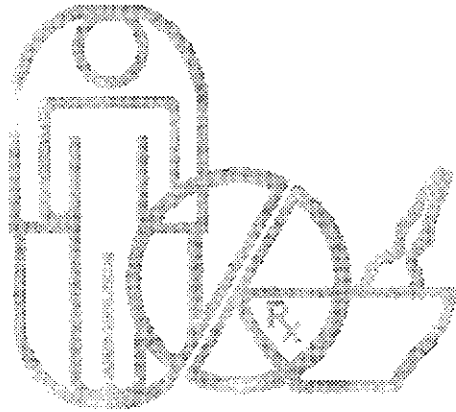
De los resultados del presente estudio se presume que el  $\alpha$ BIOF10 se metaboliza de forma similar al triclabendazol<sup>14, 16, 27, 28, 34-38, 41, 44-47</sup>, por lo que de acuerdo a las aseveraciones realizadas para triclabendazol, se cree que la actividad fasciolicida del fármaco  $\alpha$ BIOF10 se debe al metabolito sulfóxido.

Por otra parte, para poder caracterizar de manera completa la cinética de los metabolitos estudiados se requeriría administrarlos por vía intravenosa, lo cual por la naturaleza de los compuestos sería difícil. Si se lograra

caracterizar la cinética de estos metabolitos se tendría conocimiento de parámetros tales como el volumen de distribución y la depuración <sup>71</sup>, con los cuales se tendría una aproximación de donde se distribuye el fármaco y la velocidad con que éste es eliminado del organismo de los animales en estudio.

Con esta información además de establecerse la cinética del metabolismo del fármaco en cuestión, se podría explicar el efecto del metabolismo en la administración oral y la influencia de la vía de administración en la depuración del  $\alpha$ BIOF10.

Por último, de acuerdo a los resultados preliminares de eficacia fasciolicida en bovinos <sup>10</sup> y al tiempo prolongado en que se mantienen las concentraciones plasmáticas del sulfóxido del  $\alpha$ BIOF10, se sugiere que con una dosis única de 12 mg/kg del  $\alpha$ BIOF10 puede lograrse el control de la parasitosis.



---

# Biotarmacia

4.

# CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

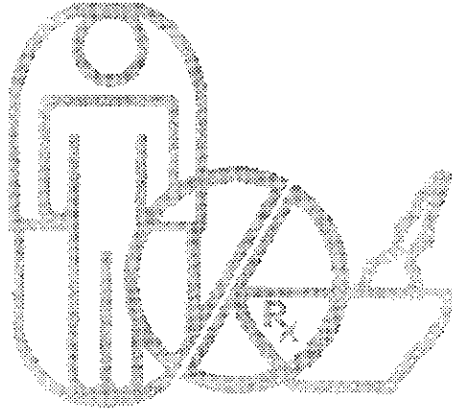
- El método analítico para la cuantificación del  $\alpha$ BIOF10 y sus metabolitos sulfóxido y sulfona en plasma de bovino cumplió satisfactoriamente con los criterios de: especificidad, linealidad, precisión y exactitud en el intervalo de concentración de 0.2 a 25.6  $\mu\text{g/mL}$ . Las muestras plasmáticas fueron estables bajo las condiciones de almacenamiento hasta 1.5 meses a  $-20^\circ\text{C}$ .
- Del estudio farmacocinético de  $\alpha$ BIOF10 en bovinos se encontró que el fármaco es metabolizado en su totalidad a los metabolitos sulfóxido y sulfona y se presume que la actividad fasciolicida se debe al metabolito sulfóxido.
- La farmacocinética de ambos metabolitos se describió de acuerdo a un Modelo Abierto de Un Compartimiento (MAUC). Las vidas medias de aparición obtenidas para los metabolitos sulfóxido y sulfona fueron de  $9.43 \pm 5.10$  horas y  $26.26 \pm 2.73$  horas, respectivamente; la vida media de eliminación del metabolito sulfóxido se calculó de  $25.82 \pm 2.35$  horas y de  $34.79 \pm 8.36$  horas para el metabolito sulfona.
- El  $T_{\text{max met}}$  de la sulfona ( $63.43 \pm 5.42$  horas) fue mayor que el correspondiente del sulfóxido ( $33.43 \pm 4.37$  horas), lo cual está de acuerdo con los pasos secuenciales de la oxidación del  $\alpha$ BIOF10.

- En lo que se refiere al área bajo la curva (ABC 0-∞), la sulfona presenta un ABC mayor ( $855.89 \pm 212.55 \mu\text{g h/mL}$ ) que la del sulfóxido ( $249.13 \pm 43.13 \mu\text{g h/mL}$ ), lo cual podría deberse a la gran capacidad oxidativa en los microsomas hepáticos de los bovinos.
- Se obtuvo un tiempo medio de residencia de  $56.45 \pm 2.40$  horas para el caso del sulfóxido y de  $91.54 \pm 10.57$  horas para la sulfona, lo que ilustra el tiempo prolongado en que los metabolitos están presentes en el organismo.

**Recomendaciones:**

- Puesto que es necesario contar con mayor información para definir la cinética de los metabolitos sulfóxido y sulfona, sería recomendable realizar estudios de farmacocinética en los que se administren estos metabolitos, para determinar el mejor modelo que explique la farmacocinética del  $\alpha$ BIOF10 después de ser administrado por vía oral.
- Así mismo, sería conveniente llevar a cabo un estudio de unión a proteínas, para corroborar si las vidas medias de eliminación prolongadas se deben a este factor, como en el caso de triclabendazol.

La información obtenida en la presente investigación sugiere que este fármaco constituye una alternativa viable en el tratamiento de la fasciolosis en ganado vacuno.



Biotarmacia

# APÉNDICES



## APÉNDICE A

Formulación de la suspensión de  $\alpha$ BIOF10:

Pectina	0.50 g
Carboximetilcelulosa de densidad media	2.50 g
Carboximetilcelulosa de alta densidad	0.85 g
$\alpha$ BIOF10	7.00 g
Excipiente c.b.p.	100 ml

La formulación tiene una concentración final de 7% (m/v)

## APÉNDICE B

Concentraciones plasmáticas individuales de  $\alpha$ BIOF10-50 después de la administración por vía oral de una dosis de  $\alpha$ BIOF10 de 12 mg/kg (n=7).

Concentración plasmática ( $\mu$ g/ml)										
bovino										
Tiempo	1	2	3	4	5	6	7	media	D. E.	C.V.
1	0	0.157	0.169	0	0.152	0	0	0.16	0.01	4.6
2	0.163	0.170	0.198	0.200	0.163	0.164	0.000	0.15	0.06	42.0
4	0.191	0.223	0.264	0.263	0.189	0.247	0.228	0.23	0.03	12.5
6	0.255	0.416	0.308	0.366	0.310	0.563	0.398	0.37	0.09	24.9
8	0.406	0.660	0.464	0.801	0.473	0.924	0.879	0.66	0.20	30.1
12	0.763	0.831	0.866	1.204	1.033	1.916	1.610	1.17	0.40	34.4
18	1.265	1.333	P	2.657	2.208	3.299	3.188	2.33	0.81	34.8
24	2.392	2.199	5.613	3.918	3.579	5.432	3.347	3.78	1.24	32.8
30	4.160	2.923	3.308	4.370	4.491	6.164	5.019	4.35	0.99	22.9
36	3.148	4.410	2.584	4.856	4.811	6.514	5.868	4.60	1.29	28.0
42	2.699	3.198	2.458	4.644	4.483	3.760	5.454	4.04	0.93	22.9
48	2.200	3.062	2.263	3.785	3.061	3.123	3.735	3.03	0.58	19.1
60	1.757	2.390	P	1.909	2.521	2.481	2.879	2.21	0.29	13.0
72	1.320	1.320	1.320	1.496	1.679	1.800	2.089	1.57	0.27	17.4
96	1.091	0.601	0.841	0.972	0.871	1.204	0.830	0.92	0.18	19.8
120	0.461	0.352	0.363	0.786	0.513	0.677	0.354	0.50	0.17	34.4
128	0.276	0.291	P	0.368	0.351	P	0.271	0.31	0.04	11.8
144	0.152	0.243	P	0.226	P	0.342	0.193	0.23	0.06	27.6

p- muestra perdida

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

APÉNDICE C

Concentraciones plasmáticas individuales del  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> después de la administración por vía oral de una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 (n=7).

Concentración plasmática ( $\mu$ g/ml) bovino										
Tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	7	medio	D. E.	C.V.
1	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
2	0	0	0.158	0	0	0	0	0.02	0.0	0.0
4	0	0	0.235	0	0	0	0	0.03	0.0	0.0
6	0.076	0.115	0.093	0.107	0.111	0.175	0.114	0.11	0.03	25.2
8	0.162	0.211	0.205	0.303	0.203	0.380	0.309	0.25	0.07	28.6
12	0.355	0.442	0.345	0.622	0.570	0.981	0.875	0.60	0.23	38.5
18	0.628	1.061	P	1.762	1.435	1.946	2.388	1.54	0.58	37.6
24	1.197	1.922	3.743	2.695	2.714	3.249	2.624	2.59	0.77	29.8
30	3.178	3.025	4.235	3.168	4.332	4.621	3.550	3.73	0.60	16.2
36	2.733	3.266	4.667	4.650	5.074	6.155	5.839	4.63	1.16	25.1
42	3.837	3.402	5.128	6.094	5.648	5.042	6.860	5.15	1.21	23.6
48	5.819	6.972	5.996	8.374	10.049	8.074	8.941	7.75	1.44	18.6
60	9.584	8.637	P	9.456	11.099	12.377	10.765	10.23	1.22	11.9
72	7.196	7.196	7.196	8.278	11.217	10.135	11.907	9.02	1.89	20.9
96	4.605	5.352	3.548	5.954	7.674	6.216	9.419	6.11	1.81	29.6
120	3.400	3.425	1.426	5.449	5.589	5.578	5.900	4.20	1.60	38.0
128	2.206	2.466	P	3.822	3.561	P	4.024	3.22	0.67	20.9
144	1.339	1.452	P	2.525	P	2.992	1.647	1.99	0.65	32.7

P- muestra perdida

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

APÉNDICE D

Perfiles concentración plasmática-tiempo de  $\alpha$ BIOF10-SO y  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub>

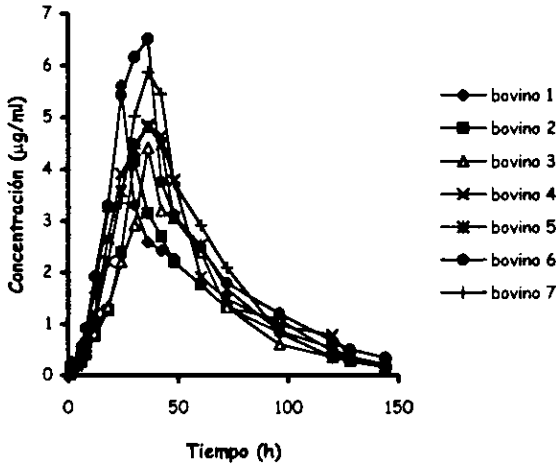


FIG. D1 Perfil de concentración plasmática-tiempo de  $\alpha$ BIOF10-SO después de la administración de una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10 a 7 bovinos.

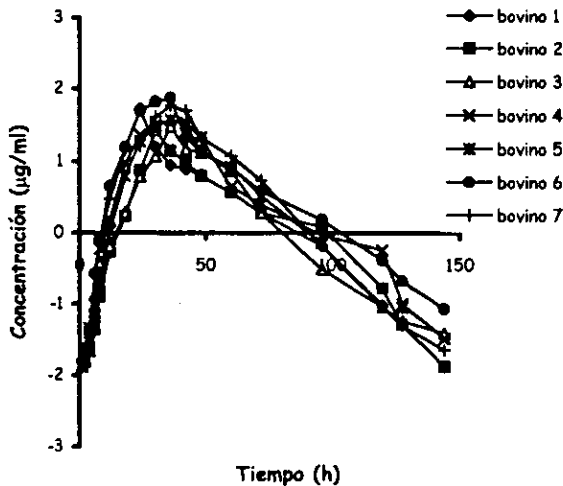


FIG. D2 Perfil Ln concentración plasmática-tiempo de  $\alpha$ BIOF10-SO en 7 bovinos después de la administración de una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10.

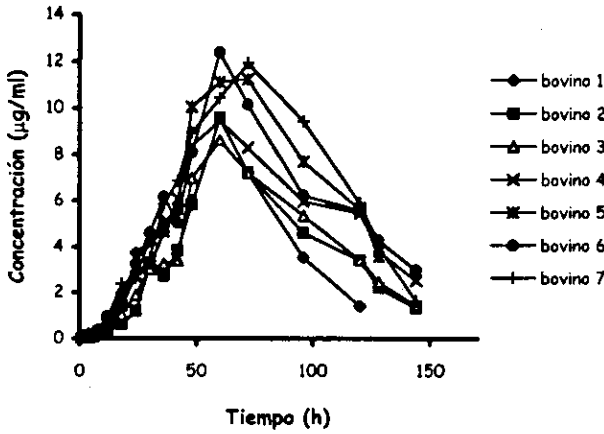


FIG. D3 Perfil de concentración plasmática-tiempo de  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> en 7 bovinos después de la administración de una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10

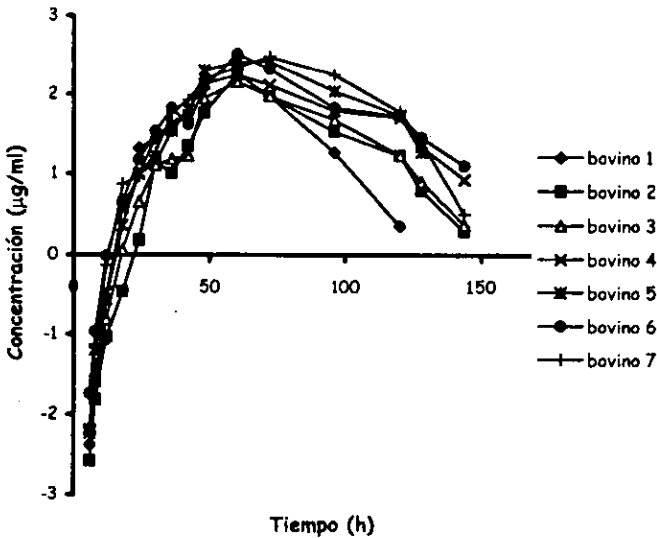


FIG. D4 Perfil Ln concentración plasmática-tiempo de  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> en 7 bovinos después de la administración de una dosis de 12 mg/kg de  $\alpha$ BIOF10.

APÉNDICE E

Parámetros farmacocinéticos individuales de  $\alpha$ BIOF10-50 después de la administración por vía oral de 12 mg/kg a 7 bovinos.

bovino							
Parámetro farmacocinético	1	2	3	4	5	6	7
K f (h <sup>-1</sup> )	0.038	0.089	0.609	0.085	0.060	0.117	0.053
t $\frac{1}{2}$ f (h)	18.333	7.810	1.138	8.193	11.522	5.926	13.096
T max met (h)	30.000	36.000	24.000	36.000	36.000	36.000	36.000
C max met (µg/ml)	4.160	3.220	5.613	4.856	4.811	6.514	5.868
Ke (h <sup>-1</sup> )	0.026	0.027	0.025	0.026	0.029	0.024	0.033
t1/2 el (h)	26.516	25.700	27.902	26.740	24.250	28.589	21.034
AUC 0-t (µg h/ml)	190.886	190.551	200.505	258.680	243.438	304.759	281.593
AUC 0-∞ (µg h/ml)	198.592	198.007	216.396	269.197	255.618	319.208	286.859
AUMC (µg h <sup>2</sup> /ml)	10574.569	10103.014	9442.483	13478.116	12183.869	15531.932	13980.564
AUMC 0-∞ (µg h <sup>2</sup> /ml)	11979.195	11453.068	11989.008	15398.278	14169.094	18208.611	14898.591
MRT 0-t (h)	55.397	53.020	47.094	52.103	50.049	50.965	49.648
MRT 0-∞ (h)	60.320	57.842	55.403	57.201	55.431	57.043	51.937

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

Kf (h<sup>-1</sup>) Constante de aparición

t $\frac{1}{2}$  f (h) Vida media de aparición

Tmax met (h) Tiempo máximo, tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima del metabolito

C max met (µg/mL) Concentración plasmática máxima del metabolito

Ke (h<sup>-1</sup>) Constante de eliminación

t1/2 el (h) Vida media de eliminación

ABC 0-t (µg h/mL) Área bajo la curva de 0 al tiempo t

ABC 0-∞ (µg h/mL) Área bajo la curva de 0 a infinito

ABCM 0-t (µg h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 al tiempo t

ABCM 0-∞ (µg h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 a infinito

TMR 0-t (h) Tiempo medio de residencia de 0 al tiempo t

TMR 0-∞ (h) Tiempo medio de residencia de 0 a infinito

Nota: Consultar glosario para definición de términos

APÉNDICE F

Parámetros farmacocinéticos individuales de  $\alpha$ BIOF10-SO<sub>2</sub> después de la administración por vía oral de 12 mg/kg a 7 bovinos.

bovino							
Parámetro farmacocinético	1	2	3	4	5	6	7
K f (h <sup>-1</sup> )	0.027	0.026	0.029	0.024	0.024	0.025	0.033
t $\frac{1}{2}$ f (h)	26.070	26.887	24.253	28.928	28.802	28.144	20.729
T max met (h)	60.000	60.000	72.000	60.000	72.000	60.000	60.000
C max met ( $\mu$ g/ml)	9.584	8.637	7.196	9.456	11.217	12.377	12.875
Ke (h <sup>-1</sup> )	0.022	0.020	0.034	0.014	0.021	0.016	0.022
t1/2 el (h)	31.714	34.483	20.555	48.669	33.520	43.224	31.349
AUC 0-t ( $\mu$ g h/ml)	570.976	599.678	488.264	748.594	816.449	929.479	994.650
AUC 0- $\infty$ ( $\mu$ g h/ml)	643.147	687.484	532.016	960.644	994.225	1065.048	1108.638
AUMC ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /ml)	43205.436	45456.663	30967.670	57849.207	58676.559	75337.791	78592.470
AUMC 0- $\infty$ ( $\mu$ g h <sup>2</sup> /ml)	56900.208	62469.018	37515.377	103273.431	90029.072	106567.262	102897.798
MRT 0-t (h)	75.669	75.802	63.424	77.277	71.868	81.054	79.015
MRT 0- $\infty$ (h)	88.471	90.866	70.515	107.504	90.552	100.059	92.815

D. E. Desviación estándar

C. V. Coeficiente de variación

Kf (h<sup>-1</sup>) Constante de aparición

t $\frac{1}{2}$  f (h) Vida media de aparición

Tmax met (h) Tiempo máximo, tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima del metabolito

C max met ( $\mu$ g/mL) Concentración plasmática máxima del metabolito

Ke (h<sup>-1</sup>) Constante de eliminación

t1/2 el (h) Vida media de eliminación

ABC 0-t ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 al tiempo t

ABC 0- $\infty$  ( $\mu$ g h/mL) Área bajo la curva de 0 a infinito

ABCM 0-t ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 al tiempo t

ABCM 0- $\infty$  ( $\mu$ g h<sup>2</sup>/mL) Área bajo la curva del primer momento de 0 a infinito

TMR 0-t (h) Tiempo medio de residencia de 0 al tiempo t

TMR 0- $\infty$  (h) Tiempo medio de residencia de 0 a infinito

Nota: Consultar glosario para definición de términos



# GLOSARIO

**Área bajo la curva (ABC).** Es el producto de la concentración plasmática por el tiempo, a partir del perfil de concentración plasmática del fármaco en función del tiempo. En farmacocinética lineal, el ABC es proporcional a la dosis que llega a la circulación sistémica <sup>74</sup>.

**Área bajo la curva del primer momento estadístico (ABCM).** Es el área bajo la curva del producto del tiempo por la concentración plasmática, la cual se conoce como el primer momento <sup>67</sup>.

**Biodisponibilidad.** A la proporción de fármaco que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que se requiere para hacerlo <sup>66</sup>.

**Compartimiento.** En farmacocinética se entiende como un espacio anatómico o fisiológico, real o artificial, en el cual el fármaco presenta un comportamiento cinético uniforme <sup>75</sup>.

**Concentración plasmática (Cp).** Cantidad de sustancia por unidad de volumen del plasma. <sup>75</sup>.

**Concentración plasmática máxima (Cp max).** Es la concentración plasmática (de fármaco) que se observa tras una incorporación de primer orden. La Cp max es una función de la fracción de dosis que entra al organismo, del volumen aparente de distribución y de las constantes de velocidad de absorción y de eliminación de primer orden aparente <sup>74</sup>.



**Constante de aparición (Kf).** Se refiere a la velocidad de aparición del metabolito en la circulación sistémica. En ocasiones, un metabolito formado dentro de un órgano sufre un metabolismo subsecuente, por lo que sólo una fracción del metabolito formado es liberado del órgano a la circulación sistémica. Este proceso se conoce como metabolismo secuencial durante el paso a través de un órgano. Por simplicidad, sólo se hace referencia al metabolito que llega a la circulación sistémica <sup>67</sup>.

**Constante de velocidad (k).** Parámetro farmacocinético que gobierna la velocidad de transferencia de un fármaco por unidad de tiempo <sup>75</sup>.

**Curva de calibración.** Al conjunto de concentraciones que describen el rango en el cual se cuantifica el compuesto a analizar <sup>66</sup>.

**Depuración o aclaramiento (Cl).** Es la medida en la que un volumen dado de un fluido orgánico (generalmente sangre), queda libre, depurado del fármaco que contiene, por unidad de tiempo.

Esta extracción o remoción del principio activo contenido en el fluido fisiológico, se efectúa por medio de los procesos de biotransformación y/o de excreción de la referida molécula.

La depuración de un principio activo puede ser referida a un órgano particular como puede ser: la depuración hepática por biotransformación; la depuración renal por excreción del fármaco en el fluido urinario; la depuración pulmonar por biotransformación en este tejido y/o por su excreción en el aliento, etc. Asimismo, la suma de la depuración realizada por cada uno de los órganos o de los tejidos

corporales, se denomina "depuración corporal total" o depuración sistémica <sup>74,75</sup>.

**Estabilidad de la muestra.** A la propiedad del compuesto por analizar, de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis <sup>66</sup>.

**Fármaco libre.** Generalmente se refiere a la porción de fármaco que no se encuentra unido a las proteínas plasmáticas; sin embargo, también involucra al fármaco que no se une a alguna otra proteína tisular y que por lo tanto, se encuentra en solución. Entre sus características principales destacan la de ser el responsable de la actividad farmacológica, cruzar barreras biológicas, filtrarse en el glomérulo renal y de sufrir los procesos de biotransformación y eliminación <sup>75</sup>.

**Fármaco unido.** Es la porción de fármaco que se encuentra fijo, de forma temporal, a macromoléculas tisulares, habitualmente a las proteínas plasmáticas y tisulares. Algunas de sus características principales son: carecer de actividad farmacológica, no poder filtrarse en el glomérulo, no cruzar las barreras biológicas, no biotransformarse, estar almacenada, etc. <sup>75</sup>.

**Farmacocinética.** Disciplina científica que estudia la evolución cronológica de los fenómenos que rigen la evolución (perfil) *in vivo* de los principios activos (absorción, distribución, biotransformación, excreción) y de las respuestas biológicas correspondientes (farmacológica, biológica,

terapéutica, tóxica). El análisis matemático de los datos experimentales y la elaboración de modelos son parte de los estudios farmacocinéticos <sup>74</sup>.

**Fracción biodisponible.** Porción de la dosis de un principio activo administrado que llega de forma inalterada a la circulación sistémica <sup>75</sup>.

**Linealidad.** Capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra <sup>66</sup>.

**Límite de detección.** Mínima concentración de un compuesto en una muestra el cual puede ser detectado, pero no necesariamente cuantificado, bajo las condiciones de operación establecidas <sup>66</sup>.

**Límite de cuantificación.** Concentración más baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo con la precisión y exactitud establecidas en el método <sup>66</sup>.

**Métodos modelo-independientes para análisis farmacocinético.** El curso temporal de la concentración plasmática de un fármaco, puede ser relacionado a una curva de distribución de frecuencia estadística. Los primeros tres momentos (cero a segundo) que caracterizan este tipo de curvas, se definen como: área bajo la curva (ABC), tiempo medio de residencia (TMR) y varianza del tiempo medio de residencia (VTMR) <sup>74</sup>.

**Modelo.** Aproximación teórica a lo real, por medio de la cual los postulados y suposiciones conceptuales pueden ser aplicadas a la realidad. Intento de sistematización y descripción de lo real, en función del presupuesto teórico. Son estructuras simplificadas o conocidas que se emplean para investigar la naturaleza de los fenómenos científicos <sup>76</sup>.

**Modelos compartimentales lineales.** El método más corrientemente utilizado para la caracterización farmacocinética de un fármaco consiste en representar al organismo como un sistema de compartimientos, aun cuando, frecuentemente, estos compartimientos no tengan realidad anatómica o fisiológica manifiesta <sup>74</sup>.

El modelo sería, en realidad, la ecuación o serie de ecuaciones susceptibles de describir el sistema propuesto <sup>77</sup>.

**Precisión.** Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto <sup>66</sup>.

**Profármaco.** Sustancia farmacodinámicamente inactiva en la que un metabolito (de la misma) es responsable de la actividad terapéutica observada después de su administración <sup>75</sup>.

**Rango.** Intervalo de un método analítico definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles superior e inferior del compuesto, en el cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal <sup>66</sup>.

**Régimen de dosificación.** Horario sistematizado para la administración de la dosis de los fármacos <sup>77</sup>.

**Repetibilidad.** Precisión de un método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones <sup>66</sup>.

**Selectividad.** Capacidad de un método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra <sup>66</sup>.

**Sustancia de referencia.** Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas, físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con las sustancias en evaluación <sup>66</sup>.

**Tiempo máximo (t<sub>max</sub>).** Tiempo en el que, tras una entrada de primer orden, se observará un máximo en la concentración plasmática del fármaco <sup>74</sup>.

**Tiempo medio de residencia (TMR).** En el modelaje farmacocinético con momentos estadísticos, el TMR se define como el tiempo que en promedio, le toma a las moléculas de fármaco, transitar a través del organismo desde el momento de su aplicación hasta su excreción <sup>78</sup>.

**Validación.** Evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado <sup>66</sup>.

**Vida media de eliminación ( $t_{1/2}$  el).** Es el tiempo que toma a la concentración plasmática, así como a la cantidad de fármaco en el organismo, disminuir a la mitad <sup>67</sup>.

**Volumen de distribución (Vd).** Constante de proporcionalidad que relaciona la concentración de fármaco en sangre o plasma con la cantidad total de fármaco en el cuerpo. Usualmente no tiene un significado fisiológico directo y no se refiere a un volumen real <sup>74</sup>.



# REFERENCIAS

1. Craig, T. M.; Huey, R. L. (1984) Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fasciola magna* in naturally infected calves. *J. of Vet. Res.* 45: 1644 - 1645.
2. Eckert, J.; Schneider, G.; Wolff, K. (1984) FASINEX (Triclabendazole) - a new fasciolicide. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 91: 349 - 356.
3. Le Jambre, L. (1993) Molecular variation in trichostrongylid nematodes from sheep and cattle. *Acta Tropica* 53: 331 - 343.
4. Richards, R. J.; Bowen, F. L.; Essenwein, F.; Steiger, R. F.; Büscher, G. (1990) The efficacy of triclabendazole and other anthelmintics against *Fasciola hepatica* in controlled studies in cattle. *Veterinary Record* 126: 213 - 216.
5. Turner, K.; Armour, J.; Richards, R. J. (1984) Anthelmintic efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Record* 144: 41 - 42.
6. Boray, J. C.; Crowffod, P. D.; Strong, M. B.; Allison, J. R.; Schellenbaum, M.; Von Orelli, M.; Sarasin, G. (1983) Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Veterinary Record* 113: 315 - 317.
7. Ibarra, F.; García, E.; Fernández, M.; Vera, Y.; Castillo, R.; Hernández, A. (1997) Eficacia fasciolicida de dos compuestos de síntesis química *in vitro* e *in vivo* en ovinos. *Vet. Méx.* 28(4): 291-296.
8. Ibarra, F.; Vera, Y.; Hernández, A.; Castillo, R. (1997) Eficacia fasciolicida del compuesto "alfa" contra estadios juveniles y adultos en ovinos. *Vet. Méx.* 28(4): 297-301.
9. Del Rivero, L. M. Farmacocinética del  $\alpha$ BIOF10 en borregos. (1998) Tesis Maestría. Facultad de Química, Estudios de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México.



10. Ibarra, F. (1999) Reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en bovinos infectados en forma natural. Datos no publicados.
11. Goodman, G.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor P. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Panamericana. Octava edición. México, 1991, pp 598-601
12. Litter, M. Farmacología, experimental y clínica. 7a edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, 1991, pp. 1715-1716.
13. Acha, P. N.; Szyfres, B .Fascioliasis en: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. Publicación científica 503, Segunda edición. Organización Panamericana de la Salud, Washington, D. C., Estados Unidos de América, 1986, pp. 689 - 696.
14. Sanyal, P. K. (1994) Pharmacokinetic behavior of febendazole in buffalo and cattle. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 17: 1 - 4.
15. Fawcett, A. R. (1990) A study of a restricted program of strategic dosing against *Fasciola hepatica* with triclabendazole. *Veterinary Record* 127: 492 - 493.
16. Mckellar, Q. A.; Scott, E. W. (1990) The benzimidazole anthelmintic agents - a review' *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 13, 223 - 247.
17. Dorchies, P.; Lahitte, M. (1983) Study on activity of triclabendazole (DC1) against *Fasciola hepatica* in lambs. *Revue Med. Vet.* 134(4): 231 - 234.
18. McCracken, R. O.; Stillwell W. H. (1991) A possible biochemical mode of action for benzimidazole anthelmintics. *Int. J. Parasitol.* 21: 99 - 104.
19. Gottschall, D. W.; Theodorides, V. J.; Wang, R. (1990) The metabolism of bencimidazole anthelmintics. *Parasitology Today* 6(4): 115-124.
20. Lanusse, C. E.; Nare, B.; Prichard, R. K. (1993) Comparative sulphoxidation of albendazole by sheep and cattle liver microsomes

- and the inhibitory effect of methimazole. *Xenobiotica* 23(3): 285 - 295.
21. Lanusse, C. E.; Nare, B.; Gascon, L. H.; Prichard, R. K. (1992) Metabolism of albendazole and albendazole sulphoxide by ruminal and intestinal fluids of sheep and cattle. *Xenobiotica* 23(4): 419 - 426.
22. Hennessy, D. (1993) Pharmacokinetic disposition of benzimidazole drugs in the ruminant gastrointestinal tract. *Parasitology Today* (9): 329 - 333.
23. Lanusse, C. E.; Gascon, L. H.; Prichard, R. K. (1993) Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16: 38 - 47.
24. Benoit, E.; Besse, S.; Delatour, P. (1992). Effect of repeated doses of albendazole on enantiomerism of its sulphoxide metabolite in goats. *Am. J. Vet. Res.* 53(9): 1663-1665.
25. Montesissa, C.; Anfossi, P.; Vant Klooster, G.; Mengelers, M. (1996) The use of cultured hepatocytes from goats and cattle to investigate xenobiotic oxidative metabolism. *Vet. Res. Commun.* 23: 449 - 460.
26. Galtier, P.; Delatour, P. (1986) *In vitro* sulphoxidation of albendazole by ovine liver microsomes: Assay and frequency of various xenobiotics. *Am. J. Vet. Res.* 47(2): 447 - 450.
27. Bennet, J. L.; Köhler P. (1987) *Fasciola hepatica*: Action *in vitro* of triclabendazole on immature and adult stages. *Exp. Parasitol.* 63: 49 - 57.
28. Hennessy, D. R.; Lacey, E.; Steel, J. W.; Prichard, R. K. (1987) The kinetics of triclabendazole disposition in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 10: 64-72.
29. Stitt, A. W.; Fairweather I. (1993) *Fasciola hepatica*: tegumental surface changes in adult and juvenile flukes treatment *in vitro* with

- the sulphoxide metabolite of triclabendazole (Fasinex). *Parasitol. Res.* 79: 529 -536.
30. Stitt, A. W.; Fairweather, I. (1994) The effect of the sulphoxide metabolite of triclabendazole ("Fasinex") on the tegument of mature and immature stages of the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Parasitology* 108: 555 - 567.
31. Stitt, A. W.; Fairweather, I. (1996) *Fasciola hepatica*: disruption of the vitelline cells *in vitro* by the sulphoxide metabolite of triclabendazole. *Parasitol. Res.* 82: 333 - 339.
32. Coles, G. C. (1986) Anthelmintic activity of triclabendazole. *J. Helminthology* 60: 210 - 212.
33. Ferre, I.; Giráldez, F. J.; Álvarez-Bujidos, M. L.; Mantecón, A. R. (1997) Influence of barley supplement on plasma concentration of triclabendazole metabolites in sheep. *Veterinary Record* 141: 549 - 551.
34. Mohammed Ali, N. A. K.; Bogan, J. A.; Marriner, S. E.; Richards, R. J. (1990) Pharmacokinetics of triclabendazole alone or in combination with febendazole in sheep. *J. Vet. Therap.* 9: 442 - 445.
35. Taylor, S. M.; Mallon, T. R.; Blanchflower, J.; Kennedy, D. G.; Hewitt, S. A. (1994) Effects of dietary variations on plasma concentrations oral flukicides in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16: 48 - 54.
36. Essenwein, F. (1984) Triclabendazole a new anthelmintic for the treatment of immature and mature *Fasciola gigantica* and *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Clinician*, feb/march.
37. Kinabo, L. D. B.; Bogan, J. A. (1988) Pharmacokinetics and efficacy of triclabendazole in goats with induced fascioliasis. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 11: 254 - 259.

38. Misra, S. C.; Swain, G.; Panda, D. N.; Das Mohapatra, N. B. (1987) Efficacy of Fasinex (Ciba-Geigy) against fascioliasis in cattle, buffaloes and goats. *Indian Vet. J.* 64: 701 - 704.
39. Wolff, K.; Eckert, J.; Schneider, G.; Lutz, H. (1983) Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goats. *Veterinary Parasitology* 13: 145 - 150.
40. Fuhui, S.; Bangfa, L.; Chengui, Q.; Ming, L.; Mingbao, F.; Jiliang, M.; Wei, S.; Siwen, W.; Xueliang, J. (1989) The efficacy of triclabendazole (Fasinex) against immature and adult *Fasciola hepatica* in experimentally infected cattle. *Veterinary Parasitology*, 33: 117 - 124.
41. Sanyal, P. K. (1995). Kinetic disposition of triclabendazole in buffalo compared to cattle. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18: 370 - 374.
42. Kinabo, L. B. D.; Bogan, J. A. (1989) Disposition of triclabendazole in horses, ponies and donkeys. *Equine Vet. J.* 21(4): 305 - 307.
43. Rubilar, I.; Cabreira, A.; Giacaman, I. (1988) Treatment of *Fasciola hepatica* infection in horses with triclabendazole. *Veterinary Record* 123: 320 - 321.
44. Oukessou, M.; Toutain, P. L.; Galtier, P.; Alvinerie, M. (1991) Étude pharmacocinétique comparée du triclabendazole chez le mouton et le dromadaire. *Revue. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.* 44(4): 447 - 452.
45. Sanyal, P. K.; Gupta, S. C. (1996) Efficacy and pharmacokinetics of triclabendazole in buffalo with induced fasciolosis. *Veterinary Parasitology* 63: 75 - 82.
46. Sanyal, P. K.; Gupta, S. C. (1996) The efficacy and pharmacokinetics of long-term low-level intraruminal administration of triclabendazole in buffalo with induced fasciolosis. *Vet. Res. Commun.* 20: 461 - 468.

47. Oukessou, M.; Souhaili, Z. (1998) The effect of feed quality on the kinetic disposition of orally administered triclabendazole in sheep. *Vet. Res. Commun.* 22: 257 - 263.
48. Sánchez, S. F.; Alvarez, L. I.; Lanusse, C. E. (1996) Nutritional condition affects the disposition kinetics of albendazole in cattle. *Xenobiotica*, 26(3): 307 - 320.
49. Stitt, A. W.; Fairweather, I.; Mackender, R. O. (1995) The effect of triclabendazole ("Fasinex") on protein synthesis by the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Int. J. Parasitol.* 25(4): 421 - 429.
50. Boray, J. C.; Jackson, R.; Strong, M. B. (1985) Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. *N. Z. Vet. J.* 33: 182 - 185.
51. Büscher, G.; Bowen, E. I.; Strong, M. B.; Allison, J. R.; Richards, R. J. (1987) Extension of the prevalent period of *Fasciola hepatica* in infected animals following treatment with triclabendazole. *Veterinary Record* 120: 460 -461.
52. Güralp, N.; Tinar, R. (1984) Trematodiasis in Turkey: comparative efficacy of triclabendazole and noclofolan against natural infections of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in sheep. *Journal of Helminthology* 58: 113 - 116.
53. Owen, I. L. (1987) A field trial with triclabendazole for the control of fascioliasis. *Aust. Vet. J.* 64(2): 156 -159.
54. Rapic, D.; Dzakula, N.; Cankovic, M.; Stojcevic, D. (1984) Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in naturally infected sheep. *Veterinarski Archiv.* 54(1): 13 -18.
55. Smeal, M. G.; Hall, C. A. The activity of triclabendazole against immature and adult *Fasciola hepatica* infections in sheep. *Aust. Vet. J.* 60: 329 - 331.

56. Lecuyer, B.; Bordas, Ch.; Marchand, C.; Nguyen, H. N.; Sourd, Ch. (1985) Investigation of the fasciolicide activity of triclabendazole in cattle in Nièvre, France. *Bull. Soc. Vét. Prac. Fran.* 69(8): 507 - 513.
57. Martin, P. A. J.; Davies, R. H.; Mayberry, C. (1993) Skin inflammation following triclabendazole treatment of dairy cows. *Veterinary Record* 133: 300.
58. Ropic, N.; Dzakula, N.; Sakar, D.; Richards, R. J. (1988) Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxynil and rafoxanide against immature and mature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. *Veterinary Record* 122: 59-62.
59. Del Rivero, L. M.; Jung, H.; Castillo, R.; Hernández-Campos, A. (1998) High-performance liquid chromatographic assay for a new fasciolicide agent,  $\alpha$ BIOF10, in biological fluids. *J. Chromatography B* 712: 237-241.
60. Bressolle, F.; Bromet-Petit, M.; Audran, M. (1996) Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods. Applications to pharmacokinetics. *Journal of Chromatography B*, 686: 3 -10.
61. Lang, J. R.; Bolton, S. (1991) A comprehensive method validation strategy for bioanalytical applications. *J. Pharm. Bio. Anal.* 9(5): 357-361
62. Shah, V. P.; Midha, K. K.; Dighe, S.; McGilveray, I. J.; Skelly, J. P.; Yacobi, A.; Layloff, T.; Viswanathan, C. T.; Cook, C. E.; McDowall, R. D.; Pittman, K. E.; Spector, S. (1992) Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetics Studies. *J. Pharm. Sci.* 81(3): 309 -312.
63. United States Pharmacopoeia XXIII. *The United States Pharmacopoeial Convention*, Rockville, Md. 1994: pp. 1929.
64. Validation of Analytical Procedures. International Conference of Harmonization of Technical Requirements for the Registration of

- Pharmaceuticals for Human Use. Food and Drug Administration. USA, October 1993.
65. Bioanalytical Methods Validation. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. U.S.A, 1998, pp. 1-13.
66. Secretaría de Salud (1999) Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1- Diario Oficial. México, 1998, pp 44-67.
67. Rowland, M.; Tozer T. N. Clinical Pharmacokinetics. Third edition. Williams & Wilkins. U. S. A., 1994, pp. 367-393, 478-489.
68. Lanusse, C. E.; Gascon, L. H.; Prichard R. K. (1993) Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 16(1): 38-47.
69. Lanusse, C. E.; Nare, B.; Gascon, L. H.; Prichard, R. K. (1992) Bioconversion of netobimin pro-drug by gastrointestinal fluids of ruminants. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 17(2): 121-8.
70. Pang, K. S. (1985) A Review of Metabolic Kinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 13(6): 633-663.
71. Houston, J. B. (1982) Drug Metabolite Kinetics. *Pharm. Ther.* 15: 521 - 552.
72. Baggot, J. D. (1992) Clinical Pharmacokinetics in Veterinary Medicine, *Clin. Pharmacokin.* 22(4): 254-273.
73. Steel, J. W.; Henessy, D. R. (1999) Influence of ruminal bypass on the pharmacokinetics and efficacy of benzimidazole anthelmintics in sheep. *Int. J. Parasitol.* 29: 305-314.
74. Gibaldi, M.; Perrier D. Pharmacokinetics. Second edition. Merce Dekker, Inc. New York, 1982.

75. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina regional de la OMS. Glosario de términos especializados para la evaluación de medicamentos. 1990
76. Kotz, S.; Johnson, N. Encyclopedia of Statistical Sciences. John Willey and Sons. 1982
77. Wagner, G. J. Farmacocinética clínica. Reverté. Barcelona. 1983
78. Riegelman, S. (1980) The application of statistical moment theory to the evaluation of *in vivo* dissolution time and absorption time. *J. Pharm. Biopharm.* 8(5): 509-534.