

01674

27



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

FARMACOCINETICA SERICA EN PORCINOS
MEDICADOS CON UNA NUEVA MOLECULA DE LA
FAMILIA DE LAS CEFALONAS (CQ-M-EPCT)



29583

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCION Y SALUD ANIMAL**
PRESENTADO POR:
MVZ DINORAH VARGAS ESTRADA

TUTOR PRINCIPAL: LUIS OCAMPO CAMBEROS





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A mis padres por su ternura y cariño siempre brindados, por enseñarme a amar la vida, a luchar hasta obtener lo que nos proponemos, por su confianza y motivación.

A Ivan Juárez Rodríguez por su apoyo incondicional en las buenas y en las malas, por su amor y comprensión.

A todas mis mascotas que siempre me han brindado un remanzo de paz y tranquilidad y que han vertido sobre mí su alegría y cariño.

AGRADECIMIENTOS

Al Conacyt por el apoyo otorgado para lograr la realización de mi posgrado.

A laboratorios Aranda S.A. de C.V. por el apoyo que me brindaron para el financiamiento, las instalaciones y el fármaco que se estudio en este trabajo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por brindarme un espacio para lograr mi superación académica y profesional.

A los siete cerditos que colaboraron en este trabajo.

Al Doctor Héctor Sumano López por sus sabios consejos y recomendaciones en esta investigación.

A mi amiga Lilia Gutierrez Olvera por su tiempo y ayuda

Al Doctor Jaime Navarro por sus consejos

A mi jurado por sus críticas y consejos en la revisión de mi tesis

DR. CARLOS VAZQUEZ PELAES

DR. ABEL CIPRIAN CARRASCO

DRA. ADRIANA GANEM RONDERO.

En memoria del excelente Doctor Gerardo Iglesias Sahagún

RESUMEN

DINORAH VARGAS ESTRADA. Farmacocinética sérica en porcinos medicados con una nueva molécula de la familia de las cefalonas, (bajo la dirección del Dr. Luis Ocampo Camberos.

El uso indiscriminado de la antibioterapia para el control o eliminación de las enfermedades ha propiciado el desarrollo de fenómenos de resistencia bacteriana hacia estos medicamentos, lo que reduce o anula su eficacia convirtiendo las infecciones curables en severas que a menudo ponen en riesgo la integridad del hato o incluso pueden causar la muerte de la mayoría de los animales. Esta situación ha obligado a la industria farmacéutica a desarrollar nuevos medicamentos o a combinarlos para que al menos teóricamente puedan controlar a estos microorganismos. En México se ha patentado un nuevo grupo de antimicrobianos que basan su diseño en el acoplamiento de una fluoroquinolona con una cefalosporina, hecho de gran relevancia dado que en México no se desarrolla aún en los inicios del siglo XXI ningún antimicrobiano de actividad importante y con potencial de utilidad en la clínica cotidiana. Los requisitos para el desarrollo de fármacos antimicrobianos requieren entre muchas otras pruebas la realización de estudios de farmacocinética para definir los perfiles de su acción en cada una de las especies en las que potencialmente pueda ser utilizada. El objetivo del presente trabajo fue el de establecer la farmacocinética sérica de la nueva molécula de la familia de las cefalonas CQMEPCT en siete porcinos híbridos clínicamente sanos a través del método de HPLC implementado con lámpara de diodos, se aplicó el producto por tres diferentes vías, en dosis de 10 mg/kg. Los datos obtenidos se describieron estadísticamente por la prueba Kruskal-Wallis. El análisis del cromatograma mostró un tiempo de retención de la molécula de 7.6 minutos. En lo que respecta a los resultados obtenidos se encontró que esta cefalona tiene una media de eliminación muy rápida, su intervalo de dosificación es de 6 horas, el valor de C_{pmax} en este estudio fue de 2.2 ng/ml. El comportamiento de este fármaco es notable dado que en el corto tiempo que permanece en el organismo logra un volumen de distribución mucho mayor superior al de los beta-lactámicos (V_d área 1.69 l/kg), la biodisponibilidad para el preparado fue de casi 80%. Las cefalonas tienen la ventaja de actuar en contra de bacterias G+ y G- casi con igual potencia. En cuanto a la práctica clínica, la CQMEPCT tiene un enorme potencial, debido a que se requiere una dosis baja (DE 99% 3 mg/kg), tiene baja

toxicidad, depuración rápida, bajo índice de residuos en tejidos comestibles, una gran eficacia y baja presentación de resistencias incluyendo géneros como *Staphylococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Streptococcus sp.*, *Campylobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*

Palabras claves: Farmacocinética, cerdos, cefalona (CQMEPCT), HPLC

CONTENIDO

	Pag.
1.- Introducción.....	1
1. 1.- Importancia de la regulación en la investigación farmacológica.....	2
1.2.- Historia de la farmacia y su regulación en México.....	3
1.3.- Industria farmacéutica en México.....	4
1.4.- Proceso de desarrollo de nuevos fármacos.....	6
1.5.- Quinolonas y fluoroquinolonas.....	7
1.6.- Cefalosporinas.....	8
1.7.- Antecedentes del desarrollo de la nueva molécula CQMEPCT.....	8
1.7.1.- Estructura química.....	9
1.7.2.- Estabilidad.....	10
1.7.3.- Mecanismo de acción.....	10
1.7.4.- Potencia y espectro microbiológico de la cefalona.....	11
1.7.5. Toxicidad aguda.....	12
1.7.6.- Eficacia clínica.....	12
1.7.7.- Farmacocinética.....	13
1.7.8. Perspectiva del trabajo.....	15
2.- Hipótesis.....	16
3.- Objetivos generales.....	16
3.1.- Objetivos específicos.....	16
4.- Material y métodos.....	16
4.1.- Fase de campo.....	16
4.2.- Fase analítica de laboratorio.....	18
4.3 Análisis estadístico.....	22
5.- Resultados.....	24
6.- Discusión.....	26
7.- Citas bibliográficas.....	30
8.- Lista de Cuadros.....	A
9.- Lista de Figuras.....	C
10.- Lista de Anexos.....	D

8.- LISTA DE CUADROS

- 1- Principales Quinolonas y Fluoroquinolonas utilizadas en medicina veterinaria.
- 2- Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de las fluoroquinolonas de tercera generación.
- 3- Principales cefalosporinas utilizadas en medicina y su espectro bacteriano
- 4- Concentración mínima inhibitorias ($\mu\text{g/ml}$) de la cefalona requerida para el control de algunas especies bacterianas.
- 5- Espectro antimicrobiano que cubre la nueva molécula de la cefalona.
- 6- Características de los porcinos tratados con la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg administrado por 3 vías de administración (IM, IV y Oral).
- 7- Muestras sanguíneas realizados en las 3 fases que duró el tratamiento de los porcinos tratados con cefalosporina CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.
- 8- Curva de calibración de CQMEPCT en $\mu\text{g/kg}$ en suero de cerdo.
- 9- Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía IM obtenidas por HPLC.
- 10- Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía IV obtenidas por HPLC.
- 11- Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía Oral obtenidas por HPLC.
- 12- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.
- 13- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.
- 14- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía Oral en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.
- 15- Valores centrales y su dispersión de la concentración en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos a través de HPLC de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM a cerdos sanos.

- 16- Valores centrales y su dispersión de la concentración en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos a través de HPLC de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV a cerdos sanos.
- 17- Medias y error estándar de las variables farmacocinéticas de CQMEPCT administrado IV en dosis de 10 mg/kg en cerdos sanos.
- 18- Medias y error estándar de las variables farmacocinéticas de CQMEPCT administrado IM en dosis de 10 mg/kg en cerdos sanos.
- 19- Confiabilidad de los modelos utilizados en MicroMath Pk Analyst
- 20- Comparación de las Concentraciones mínimas inhibitorias (g / ml de la cefalona, fluoroquinolonas y cefalosporinas de 3^a. Generación.
- 21- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM en cerdos sanos obtenido a través de Uvvis en suero.
- 22- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV en cerdos sanos obtenido a través de Uvvis en suero.
- 23- Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía Oral en cerdos sanos obtenido a través de Uvvis en suero.

9.- LISTA DE FIGURAS

- 1- Costo de fabricación y de ventas de los productos farmacéuticos en México del año de 1994 a 1999.
- 2- Volumen producido y el costo de los productos farmacéuticos veterinarios en México a partir de 1994 hasta el año de 1999.
- 3- Fórmula Química de la cefalona CQMEPCA y CQMEPCT.
- 4- Tratamiento de la Cefalosporina C para dar lugar a la síntesis de la estructura molecular de las cefalonas.
- 5- Modelo compartamental utilizado en las concentraciones séricas a partir de la vía de administración IV.
- 6- Modelo compartamental utilizado en las concentraciones séricas a partir de la vía de administración IM.
- 7- Curva de calibración del suero de cerdo obtenido por HPLC adicionando concentraciones conocidas de la cefalona CQMEPCT
- 8- Esquematización de los cromatogramas de CQMEPCT en suero de porcino y del estándar en los que se muestra el tiempo de elusión y la presencia de enrofloxacin.
- 9- Concentración en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IM en cerdos sanos.
- 10- Concentración en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IV en cerdos sanos.
- 11- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IM mostrando la Desviación estándar.
- 12- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IV mostrando la Desviación estándar.
- 13- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IM marcando el área bajo la curva.
- 14- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IV marcando el área bajo la curva.

- 15- Gráfico de la Regresión por ecuación cuadrática (R^2 0.87) después de la aplicación endovenosa de CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.
- 16- Gráfico de la Regresión por ecuación cuadrática (R^2 0.89) después de la aplicación intramuscular de CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.
- 17- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT obtenido del análisis Uv-vis en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IM mostrando la Desviación error estándar.
- 18- Concentración promedio en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT obtenido del análisis Uv-vis en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IV mostrando la Desviación error estándar.

10.- LISTA DE ANEXOS

- 1- Certificado de análisis químico de la nueva molécula de la familia de las cefalonas CQMEPCT
- 2- Espectro encontrado en Uv-visible de la molécula de la cefalona CQMEPCT y sus precursores en suero de cerdos sanos, por medio de HPLC
- 3- Registro de CQMEPCT obtenido por medio de HPLC en suero de cerdos sanos administrado en dosis de 10 mg/kg por vía IM.
- 4- Registro de CQMEPCT obtenido por medio de HPLC en suero de cerdos sanos administrado en dosis de 10 mg/kg por vía IM.

FARMACOCINETICA SERICA EN PORCINOS MEDICADOS CON UNA NUEVA MOLECULA DE LA FAMILIA DE LAS CEFALONAS (CQ-M-EPCT)

1.-Introducción

Se reconoce en la farmacognosia que las principales fuentes de medicamentos y nuevas moléculas provienen del reino mineral, animal y sobre todo vegetal.³⁶ Sin embargo, en las últimas décadas se han desarrollado nuevas fuentes que han sustituido mayoritariamente a las mencionadas, tales como la biosintética, en la que se manipula el metabolismo original de plantas o bacterias para generar subproductos con efectos terapéuticos y las vías sintéticas que se basan en el diseño razonado de moléculas con base en el conocimiento del sitio en donde deben actuar.⁴³ Esta última metodología para la generación de nuevos fármacos es una de las más utilizadas por la industria farmacéutica. De esta manera se sintetizan desde antihistamínicos, anticonvulsivos, nuevos agentes quimioterapéuticos y antibacterianos.²⁰ El desarrollo de medicamentos a través de una vía sintética exclusiva se basa en el conocimiento de la actividad de otros medicamentos aislados de fuentes naturales o bien a través del conocimiento de los receptores donde debe actuar. Así, por ejemplo el índice STERIMOL permite acoplar grupos reactivos a receptores específicos una vez conocido éste último.⁴⁰ Así se han desarrollado numerosos derivados de las quinolonas y fluoroquinolonas hasta alcanzar la cifra de 350 derivados registrados para 1990.⁴³ Otro grupo que ha sido muy prolífico en la generación de derivados es el de las cefalosporinas. En 1957 se aísla la estructura del grupo beta-lactámico ligado al anillo cefalosporánico y a partir de precursores como el ácido 7 aminocefalosporánico (7-ACA) se generan una gran cantidad de derivados de este grupo de manera sintética.⁴⁶

En México se ha patentado un nuevo grupo de antimicrobianos que basan su diseño en el acoplamiento de una fluoroquinolona con una cefalosporina. Inicialmente se les denominó cefaloquinolonas y posteriormente cefalonas. Este grupo de medicamentos no son una mezcla física, ni se separan una vez dentro del organismo, actúan como una nueva entidad y por tanto dejan de ser fluoroquinolonas y cefalosporinas para constituirse en un grupo que tiene más actividad cefalosporánica que fluoroquinolónica, hecho de gran relevancia dado

que en México no se desarrolla aún en los inicios del Siglo XXI ningún antimicrobiano de actividad importante y con potencial de utilidad en la clínica cotidiana. Los requisitos para el desarrollo de fármacos antimicrobianos requieren entre muchas otras pruebas la realización de estudios de farmacocinética para definir los perfiles de su acción en cada una de las especies en las que potencialmente pueda ser utilizado.

Es importante destacar que a pesar del desarrollo científico experimentado en México, las moléculas del grupo de las cefalonas son potencialmente los primeros antimicrobianos que se pueden llegar a utilizar de manera comercial tanto en el ámbito de la medicina humana como en la medicina veterinaria. Por ésta razón, vale la pena presentar un bosquejo de su *status* actual y pasado del desarrollo de fármacos en el mundo y en México en particular.

1.1 Importancia de la regulación de la investigación clínica:

Como ya se mencionó, en los últimos 50 años, se han introducido cientos de fármacos con estructuras químicas pertenecientes a grupos hasta entonces desconocidos y se han mejorado algunos de los grupos ya existentes, lo cual ha hecho posible el tratamiento de enfermedades potencialmente letales. Una causa de este notable cambio ha sido el mejoramiento radical en los medios para desarrollar y probar nuevos fármacos. Este proceso se ha acelerado en forma importante por estímulos económicos evidentes que hacen a la Industria Farmacéutica una de las empresas más rentables. No obstante a la fecha en la mayoría de los países las pruebas de fármacos están reguladas por leyes y se controlan estrictamente por dependencias oficiales²⁰, tales como en México la Secretaría de Salud, o en E.U.A. la Food and Drug Administration (FDA)^A. Esta última se ha tomado en la actualidad como un modelo y parámetro para controlar la seguridad y confiabilidad de los fármacos en el resto del mundo e incluso sobre la farmacopea estadounidense (United States Pharmacopeia (USP)^{43,47}.

El desarrollo de un esquema extenso y detallado para el control regulatorio y ético sobre la comercialización de medicamentos se ha presentado en las naciones avanzadas en los últimos 30 años, ya que a través del tiempo la ética en la investigación clínica ha seguido caminos erráticos. Es así como, a raíz de los hechos ocurridos durante la

experimentación en seres humanos antes de la Segunda Guerra Mundial, se concibe, durante los juicios de Nüremberg para criminales de guerra en Alemania, un código que se denominó “Código de Nüremberg” (1949), que se refiere al respeto a la integridad física y autonomía de los individuos, y que fue el antecedente de la regulación de la experimentación médica y científica, que incluye la investigación clínica (en seres humanos) adoptada universalmente. otro hecho que contribuyó al desarrollo de una ética universal para la investigación clínica, fue marcado por el uso de la talidomida durante los años sesenta: un medicamento analgésico que produjo malformaciones severas (amelia, focomelia) en los niños nacidos de madres que lo consumieron durante su período de gestación y es así como nace el “Código de Helsinki” en Inglaterra, aprobado por la Asociación Médica Mundial (1964. con revisiones en Tokio, 1975; y Venecia, 1983), que fue el siguiente intento importante por regular éticamente, en forma aceptable para todos los seres humanos.^{17,22,28,36,39}

Además de los códigos éticos para la investigación clínica, también existen los principios legales, en México, pueden encontrarse en la Ley General de Salud (vigente a partir del 1º de julio de 1984)²⁴, en la sección denominada “Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud” (vigente a partir del 7 de enero de 1987). El objetivo es que el control regulatorio cuidadoso y extenso mejore el empleo seguro de los medicamentos y reduzca los riesgos inherentes a su uso.²⁸

De esta manera la comercialización y el empleo de medicamentos deben garantizar la seguridad de los sujetos, a partir de medicamentos que sean suficientemente efectivos para incidir en las enfermedades, a la vez que suficientemente inocuos para no producir patologías adicionales, lo cual deberá demostrarse a satisfacción en las investigaciones clínicas.

1.2 Historia de la farmacia y su regulación en México

México tiene una rica tradición en la utilización de elementos naturales para el tratamiento de diversas enfermedades. La diversidad de la flora y fauna del país permitieron en tiempos precolombinos desarrollar un notable acervo de remedios para múltiples enfermedades, la selección de los ingredientes, la búsqueda de los métodos de conservación y estabilización fueron las primeras demostraciones de actividad farmacéutica. No obstante los esfuerzos desplegados en este sentido, las épocas de diferencia en las condiciones

climáticas, las épocas de recolección y de los diferentes sistemas ideados para su preservación, no garantizaban uniformidad de acción, la conveniencia de registros y reglamentar la preparación de los medicamentos dio origen a la elaboración de libros que conteniendo los conceptos mas recientes de su época tendían a la uniformidad de los preparados farmacéuticos, es así como en 1532 se encuentra en México Fray Bernardino de Sahagún quien reúne los conocimientos de la medicina indígena, que hoy conocemos gracias a sus manuscritos “Historia General de las cosas de la Nueva España”³⁵, redactadas en Náhuatl y traducidas por él al castellano (Códice Florentino). Así también, 1552 Martín de la Cruz escribe en Náhuatl su opúsculo sobre las yerbas medicinales, traducido al latín por el indigena xochimilca Juan Badiano “Libellus de medicinalibus indorum herbis” (Códice Badiano) que reúne los principales medicamentos utilizados por los indígenas, que incluye el método de preparación así como sus indicaciones y usos. Sin embargo, por la influencia del desarrollo occidental esta riqueza ha sido relegada a comunidades indígenas y a proliferado la medicina denominada científico-racional característica de occidente.^{11,36}

Es hasta el año de 1821 que fue editado en México, por primera vez, el “Formulario Magistral y Memorial Farmacéutico” de Garcicourt, considerada esta obra como la primera Farmacopea Mexicana.

Por decreto del 28 de noviembre de 1928, el Gral. Plutarco Elías Calles, Presidente Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, de acuerdo con el artículo 177 del Código Sanitario en vigor, promulgó la farmacopea Nacional, aprobada por el Departamento de Salubridad Pública. Su uso fue obligatorio en toda la República. Esta Farmacopea vio la luz en 1930 y con ella se daba el paso definitivo para lograr la unificación de la farmacia en toda la Nación. Con la publicación de la Ley Federal de Metrología y Normalización en 1992, cuyo objetivo es regular la normatividad en el país, se sigue lo establecido en la NOM-001-SSA1-1993 “que instituye el procedimiento por el cual se revisará, actualizará y editará la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos” publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de junio de 1994.^{11,36}

1.3 Industria farmacéutica en México

La industria farmacéutica cumple con un papel estratégico como proveedor de medicamentos e insumos básicos en el campo de salud, en México la industria farmacéutica moderna se inició en los años cuarenta con la llegada de importantes empresas extranjeras,

principalmente de Alemania, interesadas en aprovechar un mercado doméstico en expansión. En 1943 se fundó en México la empresa Sintex, cuyo desarrollo en la explotación de la planta conocida como barbasco significó la ruptura del monopolio europeo y colocó entonces al país en la vanguardia mundial productiva y tecnológica por espacio de una década, y comenzó a operar en paralelo con los laboratorios extranjeros un importante número de empresas nacionales. Hacia finales de los setenta y durante principios de los ochenta, se desarrolló una política orientada a la construcción del mercado doméstico y a la sustitución de importaciones, lo que propició que las empresas mantuvieran un alto ritmo de crecimiento y actualización tecnológica. Con la apertura comercial y la desregulación económica, iniciadas en la segunda mitad de los ochenta, la industria farmacéutica registró cambios importantes. Se eliminaron casi todos los permisos de importación de medicamentos y de farmoquímicos; se abatieron los aranceles de importación de fracciones arancelarias relacionadas con la industria; se eliminaron las restricciones en las compras de medicamentos por el sector público y desaparecieron los criterios discriminatorios en contra de las entidades extranjeras.

En esta industria las grandes compañías internacionales tienen una posición dominante del mercado. En donde pocas empresas controlan los mercados nacionales. En la industria farmacéutica se encuentra un caso clásico de competencia ajena al precio, debido a la construcción de barreras a la entrada de mercados, con base en tecnología, diferenciación del producto, regulaciones sanitarias y financiamiento, el gasto en Investigación y desarrollo (IyD) se ha incrementado de entre 8 y 10% en los años setenta a 15% en los ochenta y a más de 15% en los años noventa.^B

Un punto de gran relevancia ha sido la caída en el ritmo de innovación, debido a dos factores: primero, la introducción de las más severas regulaciones a que han sido sometidos los nuevos medicamentos para su aprobación y comercialización, por parte de los organismos de control aumentando así el tiempo de duración de las tareas de investigación. Segundo, una creciente dificultad para investigar nuevos principios activos y los consecuentes cambios en los campos terapéuticos explorados por la industria y en la metodología utilizada en la investigación.

Estos dos factores provocan un incremento de costos (para el período de 1960 a 1980 se estima que el costo de una nueva droga se había elevado 20 veces; el costo de un

nuevo medicamento, a mediados de 1985, ascendía a 150 millones de dólares y, actualmente, varía entre 213 y 265 millones de dólares), de tiempo (antes de 1962 un programa típico de investigación requería de dos a tres años, actualmente se requiere como promedio 7 años) y de riesgo del trabajo científicotecnológico efectuado por las principales empresas.³⁸

Se ha estimado que en México el costo de fabricación de productos farmacéuticos en el año de 1999 tuvo un valor de producción de \$53,399,261 con un valor de ventas de \$46,325,120 (86.7%)(Figura 1). Por otro lado, en productos medicinales de uso veterinario el volumen producido para 1999 fue de 22,444 miles de piezas y el valor de ventas de \$1,868,501 miles de pesos (Figura 2). Es así como en 1998 en México el valor de las exportaciones de medicamentos fue de 389.13 millones de dolares, mientras que las importaciones fueron de 477.01 millones de dolares. ^C

1.4 Proceso de desarrollo de nuevos fármacos:

En los Estados Unidos de America, la FDA junto con el Centro de Investigación y evaluación de medicamentos (CDER) se aseguran de la efectividad e inocuidad de los fármacos para uso humano. Desde 1938 la regulación y control de nuevos fármacos en los E.U.A. han estado sujetos a la aprobación de la NDA (New Drug Application) para su comercialización.

Así, el proceso de desarrollo de fármacos nuevos consta de tres grandes etapas, la investigación preclínica, estudios clínicos y al final la revisión por parte de la NDA. En la investigación preclínica se realiza la síntesis y purificación del nuevo fármaco y se hacen las pruebas en animales, se utilizan dos o más especies a fin de conocer si el fármaco afecta a dos especies distintas. Con las pruebas en animales se puede estudiar cómo el fármaco se absorbe en la sangre, como es metabolizado en el organismo, la toxicidad del fármaco o de los metabolitos producto de su biotransformación, así como también su excreción.

B- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática INEGI, <http://dgcnesyp.inegi.gob.mx/cgi-win/bdi.exe05/16/00>

C-Cámara Nacional de la Industria Farmacéutica, <http://www.canifarma.org.mx> 05/04/00

Las pruebas en animales son de corta o de larga duración, la de corta duración se realiza de dos semanas a tres meses, dependiendo la sustancia a probar. La de larga duración dura de pocas semanas hasta varios años, éste tipo de prueba se realiza para saber si el nuevo fármaco causa cancer o defectos congénitos.

Durante la segunda parte del proceso de desarrollo de nuevos fármacos, es decir los estudios clínicos, estos constan de tres fases, la fase uno incluye la investigación de nuevos fármacos en el paciente al cual va dirigido el producto para determinar la farmacocinética y farmacodinamia, el número de individuos puede variar pero generalmente es de 20 a 80 individuos. La fase dos nos muestra la efectividad de los nuevos fármacos, sus indicaciones en pacientes con enfermedad o cierta condición, ayuda a determinar los efectos y riesgos asociados al fármaco en un corto tiempo utiliza desde un pequeño número de pacientes hasta varios cientos de individuos. La fase tres de los estudios clínicos son desarrollados en pruebas controladas y no controladas, provee bases adecuadas para extrapolar los resultados a la población general, en ésta fase se toman en cuenta los resultados de la fase uno y dos acerca de la efectividad y seguridad de los fármacos. Los estudios incluyen varios cientos de individuos.^{49,A}

No obstante para muchos laboratorios el costo que representa seguir toda la metodología ya descrita puede resultar incompatible con su persistencia en el mercado, por ello se recurre a la adopción de medicamentos que han resultado útiles en otra especie, sin llevar a cabo las pruebas necesarias para su aprobación en cuanto a seguridad y efectividad. En México a menudo ha ocurrido incluso en las quinolonas y fluoroquinolonas en virtud de que este grupo representa el rubro comercialmente más productivo de la industria farmacéutica veterinaria.⁴⁰

Posteriormente para regresar al objetivo del presente trabajo se mencionará acerca de la farmacodinamia y farmacocinética de las fluoroquinolonas y cefalosporinas componentes de las cefalonas.

1.5 Quinolonas y fluoroquinolonas

En 1960 Leshner crea la primera quinolona antibacteriana, el ácido nalidíxico bactericida a dosis terapéuticas por inducción de la producción de proteínas tóxicas por la misma bacteria que la hacen autodestruirse. En 1973 aparecen las primeras quinolonas muy limitadas en su efectividad, pero no es sino hasta 1978 que se inicia la era de las quinolonas

quimioterapéuticos útiles en tratamientos sistémicos, caracterizadas por presentar un amplio espectro de efectividad y tener propiedades farmacológicas que las hacen útiles para el tratamiento sistémico. Las fluoroquinolonas son bactericidas al inhibir una enzima que prepara al ADN para la transcripción, la ADN-girasa. De esta manera la quinolona interfiere con la síntesis del ADN al bloquear la reacción de superenrollamiento dependiente del ATP y catalizada por la girasa, enzima también necesaria para la integridad del ADN. Se clasifican en 3 generaciones.^{3,20,33,40,43,48} Su espectro, resistencia y clasificación se pueden consultar en los cuadros 1 y 2.

1.6 Cefalosporinas

A partir de su caracterización en 1945 las cefalosporinas han logrado un enorme desarrollo, pero es hasta 1964 que se introduce la primer cefalosporina dentro de la práctica médica, derivan del hongo *Cephalosporium acremonium* y se clasifican en 3 generaciones e incluso se considera la existencia de una cuarta generación, son bactericidas inhibiendo la síntesis del mucopéptido de la pared celular, dando lugar a esferoplastos que pierden su permeabilidad selectiva, se unen a varias enzimas denominadas proteínas ligadoras de cefalosporinas (PBP) tales como la carboxipeptidasa, transpeptidasa, endopeptidasa dentro de la pared y membranas celulares, adicionalmente los compuestos beta-lactámicos inhiben a una proteína ligada al genoma denominada ácido lipoteicoico que controla la acción de una enzima denominada autolisina que mantiene la destrucción constante de las unidades estructurales de la pared celular (nucleótidos de Park) dando lugar a la renovación permanente de esta estructura a través de la polimerización de nucleótidos de Park.^{23,43,46}

En el cuadro 3 se muestra la clasificación y espectro de las cefalosporinas.

1.7 Antecedentes del desarrollo de la nueva molécula CQMEPCT

Así pues tomando en consideración las bondades de ambos antimicrobianos, en la década de los noventa en México, los laboratorios Aranda S.A. de C.V., desarrollaron un novedoso grupo de antibacterianos, las cefalonas⁹, moléculas patentadas internacionalmente en 1998 y 1999. El concepto original para el desarrollo de la cefalona, fue el de crear un efecto doble, utilizando cefalosporinas y fluoroquinolonas para formar un híbrido. La idea fue atrevida, ya que en la literatura abundan datos acerca de la pérdida de actividad generado por las manipulaciones de dichas moléculas en sitios estratégicos.^{7,15}

La tarea no fue, ni es fácil, pues se deben obtener productos con una actividad antimicrobiana superior a la de sus partes componentes, para que el proyecto sea viable.

Los esfuerzos de investigación y desarrollo en este campo, se iniciaron en 1990, a partir de los grupos terapéuticos disponibles, más favorables y estudiando las diferentes posibilidades de mezclas físicas y sustitución de radicales en las diferentes posiciones de las moléculas individuales, el cambio del significado de R1, R2, R3, permitió sintetizar más de 2000 compuestos diferente, de acuerdo a la disponibilidad comercial de los intermedios, los productos cuyos estudios más avanzados son la CQMEPCA y la CQMEPCT. (Figura 3)

Después de múltiples consideraciones y tentativas de hibridación, se concluyó que la mejor expectativa, era la de realizar la unión de un grupo fluoroquinolínico con un derivado del ácido 7 - aminocefalosporánico (7 ACA), precursor sin actividad antimicrobiana, formando un grupo carboxamido con el 7 - amino del núcleo lactámico.

1.7.1 Estructura química

La cefalosporina C, tiene un anillo β -lactámico y un anillo adyacente de dihidrotiazina. El tratamiento ácido de la cefalosporina C, hidroliza el ácido 1-7 aminocefalosporánico (7 ACA). En sí el compuesto 7-ACA no tiene actividad biológica y se utiliza como materia prima para aumentar radicales en sitios específicos. Este mismo grupo se utilizó en la reacción de la cefalona. La idea inicial se basó en la sustitución de un anillo cefalosporánico (ácido 7- amino-3[[[(1,2,3-triazol-5-yl)-tio]metil]-cefalosporánico (7 ACA), en la posición 3 de un anillo 1 ciclopropilo 7-etil-piperazilino 6-fluoro-quinolínico, mediante la formación de un grupo carboxamido. (Figura 4)

El acoplamiento de un grupo β -lactámico en sustitución del carboxilo de la posición 3 del anillo quinolínico, formándose un radical carboxamido y un grupo amino del anillo β -lactámico, siendo perfectamente estable, y dando lugar a una molécula de potencia considerable. De esta reacción , se generaron múltiples opciones con mayor o menor actividad dependiendo de los precursores utilizados para su síntesis. En la estructura molecular de las cefalonas, hay cuatro grupos sustituyentes, dos en el núcleo fluoroquinolínico y dos en el grupo cefalosporánico, lo que da como resultado la posibilidad de sintetizar más de dos mil compuestos de los cuales, 128 se consideran como compuestos de investigación prioritaria en este campo.

Las moléculas que se seleccionaron, se sometieron a determinaciones fisicoquímicas humedad por Karl Fisher, punto de fusión, cromatografía por capa fina (TLC), espectrofotometría por infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN), espectrofotometría de masas^D. Así se comprueba y con certeza la existencia de la unión de las porciones quinolónica y cefalosporánica mediante el grupo carboxamido, la presencia del anillo beta-lactámico sin degradación y el peso molecular de los compuestos formados de acuerdo con la estructura diseñada.

1.7.2 Estabilidad

Es un antimicrobiano que en estado sólido es relativamente estable. La cefalona, en solución tiene un aspecto brillante de color amarillo con un pH de 9.63. Al igual que la mayoría de las cefalosporinas⁴⁷, la cefalona no presenta un comportamiento estable, por lo que se indica que, una vez reconstituida, se utilice en la siguiente hora para garantizar su pureza. Después de 96 horas a temperatura ambiente, la solución tiene apariencia turbia y de color amarillo ambar, esto se debe a la hidrólisis de la carboxamida de la cefalona^E. Si se requiere utilizar durante periodos prolongados, se recomienda su refrigeración.^F

1.7.3 Mecanismo de acción

Poco se sabe del modo de acción de la cefalona, y si existe o no relación con respecto a los componentes por separado. En un ensayo microbiológico, Jones y colaboradores¹⁸ sugirieron que era posible, que dicha molécula tuviera un mecanismo antibacteriano doble, esto es, que actuara tanto en el citoplasma bacteriano inhibiendo el desenrollamiento bacteriano del ADN como en la pared celular, a través de la inhibición de la polimerización de los nucleótidos de Park. Aún se investiga para determinar con exactitud la participación de estas vías del metabolismo bacteriano y quizá otras que pudiesen estar involucradas en el mecanismo de acción de esta nueva molécula.

Para conocer el mecanismo de acción de la cefalona, se determinó la relación entre la localización electroforética de la cefalona y sus precursores en comparación con el valor correspondiente al ADN bacteriano aislado, mediante la técnica reportada por Maniatis y Sambrook²⁶. No se detectó interacción de la cefalona a nivel del ADN, pero este estudio no

^D Dr. Gustavo García de la Mora, Departamento de Posgrado, facultad de Química, UNAM

^E QFB Lorena García Torres, Control de Calidad, Laboratorios Aranda, Querétaro, Qro.

^F Proporcionado por el Departamento de Control de Calidad de Laboratorios Aranda

puede descartar su participación a otros niveles del material nuclear, como la ADN girasa, polimerasas, etc. En otros estudios donde se analizó el papel de plásmidos que codifican resistencia a quinolonas, en la resistencia a la cefalona no se detectó efecto del plásmido *gyra-A*, por lo que se infirió que el efecto de este antimicrobiano difiere al de las cefalosporinas de primera generación, y que posiblemente, posea un mecanismo de acción diferente a los ahora conocidos, que incluyen a ambos efectos a nivel de la pared (o quizá de membrana) y a nivel citoplasmático, posiblemente en parte, mediado por un efecto sobre precursores de ADN.

Hasta el momento, las evidencias indican que la actividad antibacteriana de la CQ-M-EPCT persiste en bacterias resistentes a cefalosporinas y lo mismo sucede cuando hay resistencia para fluoroquinolonas, pero en contadas cepas de *Pseudomonas spp*, en las que se ha detectado resistencia tanto a cefalosporinas como a fluoroquinolonas se reduce la actividad de la cefalona.^G

1.7.4 Potencia y espectro microbiológico de la cefalona

Se le considera un agente bactericida de amplio espectro que tiene actividad *in vitro* contra bacterias Gram negativas, Gram positivas, presentando una acción muy importante contra bacterias extra-celulares e intra-celulares²⁷. Con relación a los resultados arrojados por pruebas comparativas de la molécula contra tres fluoroquinolonas y cefalosporinas con base a las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI'S) contra *Staphylococcus aureus* se dedujo que cefalona es:

31.7 veces más potente que la norfloxacin

31.7 veces más potente que la cefotaxima

15.8 veces más potente que la cefoperazona

7.9 veces más potente que la ciprofloxacina

1.9 veces más potente que la enrofloxacin

En el Cuadro 4 y 5 se muestra la concentración mínima inhibitoria y el espectro de la cefalona. El espectro antimicrobiano, se encuentra reflejado con gran precisión en la patente original, en los que se consideran a los microorganismos que se han estudiado hasta ahora, pero aún faltan algunos trabajos con *Actinobacillus spp*. Algunos enterococos y en particular *Staphylococcus spp* y cepas de *E. Coli* multiresistentes.

1.7.5 Toxicidad aguda

Se han realizado múltiples ensayos para determinar la LD 1 %, LD 50%, y el margen terapéutico en ratas y ratones. Los resultados reflejan una toxicidad baja; de 8.6 g/kg y 9.56 g/kg respectivamente, por vía intravenosa, y por vía oral fueron, la LD 50% de 7.8 g/kg y la LD 1% de 2 g/kg, a una dosis efectiva de 99% de 3 mg/kg.^H

Comparativamente con la toxicidad conocida de otros antimicrobianos utilizados rutinariamente (aminoglicósidos, cloranfenicol, rifampicina, etc.⁴³, la cefalona muestra notables ventajas. No obstante, aún resta llevar a cabo otras pruebas de toxicidad subaguda o subcrónico, mismas que deben incluir estudios de genotoxicidad.^I En diversos ensayos se ha detectado una actividad tóxica mínima o nula de estas moléculas por lo que las autoridades de la Secretaría de Salud de la República Mexicana han autorizado y aceptaron los resultados de toxicidad aguda y subcrónica de estos compuestos en cerdos.

1.7.6 Eficacia clínica

Se han realizado diversos estudios de carácter clínico, para conocer la eficacia de este nuevo grupo de medicamentos. Inicialmente, al conocer que la cefalona tenía un efecto bactericida notable, confirmado por los abundantes resultados de los CMI realizados²⁷, se confirmó, que a nivel tisular, se lograban concentraciones bactericidas en tejidos clave (pulmón), a través de observaciones en los bioensayos realizados en ratón, desafiados con *Pasteurella multocida tipo A* patógena, donde los animales tratados con la cefalona adquirieron un 100% de protección, confirmada por la ausencia de mortalidad.³²

Por otro lado, Santamaría³⁷ medicó vacas, a través de un preparado intramamario con cefalona para el tratamiento de la mastitis en vacas de primer parto. Sus resultados indican que la cefalona, manifiesta tan buena eficacia clínica para la resolución de procesos mamíticos moderadamente agudos como los otros preparados comerciales semejantes, adicionados con antiinflamatorios. En los cuadros de mastitis severamente aguda, la eficacia clínica de la cefalona, arrojó resultados estadísticos más favorables.

^G Hospital General de Zona del IMSS de Querétaro, Qro., estudio con más de 200 bacterias hospitalarias y laboratorio Clínico Especializado en Querétaro, Qro.

^H Dr. E. Lorenzana. Departamento de Farmacología. facultad de medicina UNAM

^I Bióloga Isabel Gracia M. Departamento de Química Inorgánica. Facultad de Química. UNAM

En otros ensayos realizados en perros con problemas infecciosos de vías respiratorias, con medicación oral de cefalona, se encontró una eficacia clínica cercana al 100%, con una mejoría aparente después de la primera dosificación oral^{41,42}.

En ensayos realizados en aves, con problemas de enfermedad crónica respiratoria complicada (ERCC), causada por *Mycoplasma gallisepticum*, se analizó la eficacia clínica de la cefalona en comparación con la enrofloxacin, considerando, las lesiones y las tasas de mortalidad. Se encontró que no hubo diferencia estadísticamente significativa, efecto que atribuyen al elevado número de aves utilizadas y a la notable eficacia de ambos fármacos^{29,31}.

Recientemente, se han realizado ensayos de medicación a becerros, con una cefalona a manera de terapia metafiláctica para la reducción de enfermedades respiratorias del ganado bovino especializado en producción lechera, datos que ofrecieron un mejor resultado que los tratamientos convencionales^J, y similar al logrado con ceftiofur.³⁰

1.7.7 Farmacocinética

Para continuar con el proceso de desarrollo e investigación de la molécula de la cefalona, fue necesario realizar estudios *in vivo*, desafiando a la molécula, dado que en caso de encontrar efectos *in vitro* que no corresponden a lo observado *in vivo*, no es ajeno a la farmacología. Se medicaron Intra venoso con cefalona a ratones, que posteriormente se inocularon con *Pasteurella multocida*, se realizaron muestreos sanguíneos a diferentes tiempos para determinar la cinética de desaparición plasmática vs tiempo, mediante el método de Bennet *et al*⁶. Dicho ensayo mostró que a las 2 horas de sangrado, la media del halo de inhibición fue de una concentración plasmática equivalente a menos de 0.01 µg/ml.^K

Dado que la cefalona mostró en los ensayos *in vitro* una eficacia antibacteriana excepcional, y en virtud de los ensayos de desafío en ratones, así como la bioseguridad en ratones, se consideró como procedente llevar a cabo ensayos que definieran la farmacocinética del compuesto en perros. También mediante el análisis bacteriológico cuantitativo diseñado por Bennet *et al*⁶, Ovalle³² y Sumano⁴² encontraron que la relación

^J Información derivada de los archivos internos de los laboratorios Aranda, 1998

^K Premio Canifarma, 1995

entre concentración y tiempo de la cefalona se ajustó mejor a un modelo de 2 compartimientos, con un volumen de distribución aparente del compartimento central de 2.5 l / kg, y un volumen de distribución aparente en el estado estable notablemente elevado de 4.03 l/kg y una vida de eliminación de 2 horas. Se lograron concentraciones plasmáticas bactericidas por unas cuantas horas únicamente, pero las concentraciones tisulares se predijeron como muy elevadas durante un mínimo de 6 horas, especulando que un intervalo de dosificación de 8 horas sería eficaz en la mayoría de las infecciones bacterianas que cubren el espectro de este antibacteriano. En otro ensayo farmacocinético en perros con afecciones pulmonares bacterianas, medicadas con cefalona, Sumano y colaboradores, utilizando el mismo método de análisis bacteriológico-cuantitativo diseñado por Bennet *et al*⁶, encontraron que, de acuerdo con el rango de la constante de eliminación rápida se sugiere tener un intervalo de dosificación menor de 12 horas en estos casos clínicos.⁴¹

Los estudios de farmacocinética en pollos medicados por vía oral, sugieren una biodisponibilidad muy elevada del producto, notable desaparición rápida en sangre y con una vida media de tan solo 0.49 hr. Dada la cinética observada, se sugirió que era poco práctico establecer un solo intervalo de dosificación y al igual que muchas cefalosporinas de tercera generación o fluoroquinolonas modernas, la dosis y el intervalo de dosificación se ajustarán a cada caso clínico⁴⁵. Macouzet medicó a vacas Holstein lecheras con 2 diferentes dosis 10 mg/kg y 5 mg/kg vía IM e IV encontrando que la cefalona presenta una cinética de primer orden a las dosis utilizadas y una biodisponibilidad del 84%, una eliminación eficiente con vida media de 3.58 hrs. + 1.45 hrs. Lo que da en el extremo de las desviaciones 5 hrs., esto es, más de 4 días de periodo de retiro para carne (y 60 hrs. para leche) y una depuración de 0.63 ml/min/kg.²⁵ Considerando la gran actividad biológica *in vitro* de la cefalona contra múltiples bacterias, y su baja toxicidad en ratones, tanto por vía oral como parenteral, se ha considerado necesario realizar, el desarrollo de la farmacocinética de este compuesto en diferentes especies domésticas, con la finalidad que se consideran estos datos como precedentes para estudios equivalentes en seres humanos (clínico-farmacocinético), y el de contar con una opción antimicrobiana, innovadora en medicina veterinaria.³²

Es importante señalar que los ensayos anteriormente citados, los estudios farmacocinéticos, han sido realizados mediante la técnica microbiológica de Bennet *et al*⁶,

que solo detecta la fracción farmacológicamente activa y no está diseñado para contabilizar las fracciones sin actividad biológica, brindando así una visión parcial del destino de los antimicrobianos en el organismo.

Dentro del desarrollo de un medicamento, se requiere la elaboración de pruebas de farmacocinética en individuos sanos, a fin de conocer con exactitud el destino del medicamento en el organismo problema. De tal suerte, es necesario llevar a cabo estudios en este sentido en cada una de las especies a las que se les habrá de aplicar^{49,2}. En el caso del porcino, esto permitirá entre otras cosas establecer los tiempos de retiro de la carne⁴⁴, amén de que se obtendrá información de su distribución, intervalos de dosificación, concentración de la molécula en tejidos sanos y lesionados. Una vez establecida la farmacocinética, resulta procedente confirmarla en brotes, de campo, mediante pruebas controladas y estudios cinéticos en los animales enfermos.

1.7.8 Perspectiva del trabajo

Para que una compañía farmacéutica, pretenda comercializar un compuesto debe proporcionar a las instancias legales una técnica analítica, generalmente por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (siglas en inglés HPLC). Esto se hace con el fin de poder hacer un seguimiento de la incidencia de residuos y verificar otras pruebas cinéticas^{1,10}. En función de lo anterior, se propone en este ensayo llevar a cabo un estudio cinético en porcinos sanos para definir las variables cinéticas y la concentración plasmática de la cefalona a través de un método de determinación de HPLC.

2-Hipótesis

Las variables cinéticas de la cefalona CQ-M-EPCT se pueden describir mediante una farmacocinética compartamental utilizando el método analítico cualitativo-cuantitativo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en suero de porcinos sanos.

3-Objetivos generales

Establecer la farmacocinética sérica de una nueva molécula de la familia de las cefalonas CQ-M-EPCT en porcinos clínicamente sanos al aplicar el fármaco por vía oral, intramuscular e intravenosa en dosis de 10 mg/kg de peso.

3.1-Objetivos específicos

Implementación de la técnica de separación del estándar de la cefalona CQ-M-EPCT así como sus precursores, a través del método de HLPC acoplada con lámpara de diodos.

Determinación de la concentración de la CQ-M-EPCT mediante el método de HLPC y espectrometría UV-vis posterior a la administración endovenosa, intramuscular y oral a dosis de 10 mg/kg en porcinos clínicamente sanos.

Determinación de modelos compartamentales de la CQ-M-EPCT para calcular las variables farmacocinéticas.

Cálculo de las dosis y del intervalo de dosificación de la CQ-M-EPCT.

4- Material y métodos

4.1 Fase de campo

La fase experimental de campo se realizó durante los meses de septiembre-diciembre de 1999 en las instalaciones de la planta de laboratorios Aranda S.A. de C.V.¹ en San Martín de Porres No. 105 en el Fraccionamiento Industrial Carrillo Puerto, C.P. 76138 en la ciudad de Querétaro, Querétaro que se encuentra a una altitud de 1853 metros sobre el nivel del mar, a 20° 35' 36'' de latitud norte y a 100° 23' 06'' de longitud oeste. El clima de la región según Köppen es BS1 hw (w) (e) g que corresponde al clima semiseco semicálido con lluvias en verano y una precipitación pluvial media anual de 4.3 mm³. La temperatura media anual es de 18.8°C es extremoso con una variación de 7.2 a 14° C.^{12,19}

2-Hipótesis

Las variables cinéticas de la cefalona CQ-M-EPCT se pueden describir mediante una farmacocinética compartamental utilizando el método analítico cualitativo-cuantitativo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en suero de porcinos sanos.

3-Objetivos generales

Establecer la farmacocinética sérica de una nueva molécula de la familia de las cefalonas CQ-M-EPCT en porcinos clínicamente sanos al aplicar el fármaco por vía oral, intramuscular e intravenosa en dosis de 10 mg/kg de peso.

3.1-Objetivos específicos

Implementación de la técnica de separación del estandar de la cefalona CQ-M-EPCT así como sus precursores, a través del método de HLPC acoplada con lámpara de diodos.

Determinación de la concentración de la CQ-M-EPCT mediante el método de HLPC y espectrometría UV-vis posterior a la administración endovenosa, intramuscular y oral a dosis de 10 mg/kg en porcinos clínicamente sanos.

Determinación de modelos compartamentales de la CQ-M-EPCT para calcular las variables farmacocinéticas.

Cálculo de las dosis y del intervalo de dosificación de la CQ-M-EPCT.

4- Material y métodos

4.1 Fase de campo

La fase experimental de campo se realizó durante los meses de septiembre-diciembre de 1999 en las instalaciones de la planta de laboratorios Aranda S.A. de C.V.¹ en San Martín de Porres No. 105 en el Fraccionamiento Industrial Carrillo Puerto, C.P. 76138 en la ciudad de Querétaro, Querétaro que se encuentra a una altitud de 1853 metros sobre el nivel del mar, a 20° 35' 36'' de latitud norte y a 100° 23' 06'' de longitud oeste. El clima de la región según köppen es BS1 hw (w) (e) g que corresponde al clima semiseco semicálido con lluvias en verano y una precipitación pluvial media anual de 4.3 mm³. La temperatura media anual es de 18.8°C es extremoso con una variación de 7.2 a 14° C.^{12,19}

2-Hipótesis

Las variables cinéticas de la cefalona CQ-M-EPCT se pueden describir mediante una farmacocinética compartamental utilizando el método analítico cualitativo-cuantitativo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en suero de porcinos sanos.

3-Objetivos generales

Establecer la farmacocinética sérica de una nueva molécula de la familia de las cefalonas CQ-M-EPCT en porcinos clínicamente sanos al aplicar el fármaco por vía oral, intramuscular e intravenosa en dosis de 10 mg/kg de peso.

3.1-Objetivos específicos

Implementación de la técnica de separación del estandar de la cefalona CQ-M-EPCT así como sus precursores, a través del método de HLPC acoplada con lámpara de diodos.

Determinación de la concentración de la CQ-M-EPCT mediante el método de HLPC y espectrometría UV-vis posterior a la administración endovenosa, intramuscular y oral a dosis de 10 mg/kg en porcinos clínicamente sanos.

Determinación de modelos compartamentales de la CQ-M-EPCT para calcular las variables farmacocinéticas.

Cálculo de las dosis y del intervalo de dosificación de la CQ-M-EPCT.

4- Material y métodos

4.1 Fase de campo

La fase experimental de campo se realizó durante los meses de septiembre-diciembre de 1999 en las instalaciones de la planta de laboratorios Aranda S.A. de C.V.^L en San Martín de Porres No. 105 en el Fraccionamiento Industrial Carrillo Puerto, C.P. 76138 en la ciudad de Querétaro, Querétaro que se encuentra a una altitud de 1853 metros sobre el nivel del mar, a 20° 35' 36'' de latitud norte y a 100° 23' 06'' de longitud oeste. El clima de la región según köppen es BS1 hw (w) (e) g que corresponde al clima semiseco semicálido con lluvias en verano y una precipitación pluvial media anual de 4.3 mm³. La temperatura media anual es de 18.8°C es extremoso con una variación de 7.2 a 14° C.^{12,19}

El total de animales que participó en la prueba para la determinación de la farmacocinética en suero de la nueva molécula de cefalona CQ-M-EPCT fué un grupo de siete porcinos, clínicamente sanos (Cuadro 6) que se mantuvieron bajo las mismas condiciones de alimentación y alojamiento, para una prueba de muestras pareadas donde cada animal es el testigo de otras vías de administración (intramuscular, oral e intravenosa), para la aplicación del producto, de la siguiente forma:

FASE 1 Administración intramuscular de CQ-M-EPCT

FASE 2 Un mes después a los mismos cerdos se les aplicó el producto utilizando la vía oral

FASE 3 Un mes después a los mismos cerdos se les administró el producto por vía intravenosa.

Los animales se alojaron en un corral de madera de 10 m, con piso de tepetate y cama de viruta y bajo las mismas condiciones alimenticias, agua limpia y fresca y concentrado lechoncina (Purina) a libre acceso. Todos los porcinos recibieron a los 2 días de edad hierro Dextrán y no se les aplicó ninguna vacuna.

Los cerdos se pesaron en una báscula (marca Nuevo León 500 kg), con el fin de calcular la dosis correspondiente del fármaco. El producto que se utilizó es una nueva molécula (cefalona CQ-M-EPCT), cuya formulación es 350 mg de CQ-M-EPCT lote 1487 en polvo estéril inyectable y 7 ml de diluyente (hidróxido de sodio), (véase el certificado de análisis en el anexo 1). La CQ-M-EPCT se reconstituyó momentos previos a su aplicación agitando vigorosamente durante 3 o 4 minutos, hasta lograr su completa disolución.

Procedimiento para la aplicación del producto:

Fase 1 (vía intramuscular)

Se administró el producto directamente en el cuello del animal en el músculo que se encuentra un poco hacia un lado de la línea media dorsal, cuidando de no pinchar la región vertebral. Se utilizaron jeringas de plástico estéril y desechables de 5 ml y con aguja del calibre 20G y longitud de 32 mm, una por cada una de las muestras y porcinos. El área de aplicación se impregnó previamente con tintura de yodo y gasas estériles previa a la aplicación. La aguja entró en ángulo recto respecto al músculo, y se jaló un poco el émbolo de la jeringa para asegurarse que la aplicación del producto no fuera en un vaso sanguíneo, se inyectó el medicamento con una lenta depresión del émbolo.

Fase 2 (via oral)

Los porcinos después de alimentarlos se sujetaron con el lazatrompas y por medio de una sonda flexible de plástico se introdujo la cápsula del medicamento en la base de la lengua para asegurar la deglución de la misma. La cápsula es de gelatina de diámetro 0, sin recubrimiento de capa entérica que contenía CQ-M-EPCT lote 1487 en polvo no estéril dosificada una para cada cerdo y sin excipiente.

Fase 3 (vía intravenosa)

Se sujetó al animal con el lazatrompas y se administró en la vena yugular, aplicando muy lentamente el medicamento con jeringa de plástico estéril y desechable, con capacidad de 5 ml, y con previa antisepsia de la zona.⁵

Toma de muestras sanguíneas

Después de la aplicación del producto, se inició la toma de muestras sanguíneas a partir de la vena yugular por medio de jeringas de 5 ml desechables estériles utilizando una jeringa por cada muestra y por cada cerdo, se colectaron 5 ml de sangre que se vació en tubos de ensaye estériles sin aditivo. Previo a la administración del medicamento se sangraron 3 cerdos para utilizar éstas muestras como blanco. La toma de muestras se llevó a cabo en el orden que se muestra en el Cuadro 7.

Las muestras sanguíneas se refrigeraron y se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos el mismo día en que fueron tomadas y el suero obtenido se refrigeró hasta el momento de su análisis por HPLC (marca HP serie 1050 con detector de lámpara de deuterio cuyo poder de detección de la molécula de CQ-M-EPCT es de 40 ng/ml).

4.2 Fase analítica

Material

9 Matraz volumétrico de 10 ml.

9 pipetas volumétricas de 1 ml.

10 tubos para centrifuga de 10 ml.

1 pipeta volumétrica de 2 ml.

1 equipo de filtración.

4 jeringas.

4 filtros de nylon acrodisc 0.45 um.

4 viales

Reactivos

500 ml de agua HPLC.

500 ml de Acetonitrilo HPLC.

500 ml de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M, pH 3.5

100 ml de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M, pH 10.0

500 ml de metanol HPLC.

1 g de CQ-M-EPCT

10 g de ácido tricloroacético

acetonitrilo y agua.

Equipo de cromatografía.

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) marca Hewlet Packard serie 1050 con detector de lámpara de deuterio de arreglo de diodos 991 con 512 diodos de longitud de onda corta, Bomba cuaternaria e inyector automático. Un integrador HP3396 serie II, con columna de fase inversa columna μ Bondapak C18 125 A° 10 μ m de 3.9 X 150 mm HPLC Waters, el contenido de la columna es de Dimethyloctadecylsilyl bonded amorphous silica, agua.

1 columna μ Bondapak C18 125 A° 10 μ m, contiene Dimetil octanodecil bonded amorfus silica.

Condiciones para el HPLC:

Bomba: Gradiente: Buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M, pH 3.5 : Metanol (60:40)

Tiempo: 12 minutos.

Flujo: 1 ml/min.

Inyector: Volumen de inyección: 20 μ l.

Tiempo: 12 minutos.

Detector: Longitud de onda: 280 nm BW 32/ Ref. 450 BW 32

Tiempo: 12 minutos.

Integrador: ZERO = 0

ATT2 = 6

CHT SP = 0.5

AR RE = 10 000

THRSH = 4

PK WD = 0.04

Equipo de espectofotometría

Espectofotómetro UV-VISIBLE marca Varian modelo Cary 1E.

Condiciones del espectofotómetro :

Lámpara ultravioleta, 250nm a 350 nm

Umbral 0.0200

Balanza analítica, marca Sartorius analytic A 200S

Potenciómetro, marca Beckman 10 pH Meter

Centrífuga clínica

Procedimiento.

1. Estándar.

1- Se pesaron aproximadamente 10 mg de cefalona, disolviendola en 0.5 ml de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M . pH 10, y se agitó hasta su disolución completa.

2.-Se aforó a 10 ml en un matraz volumétrico con una mezcla de agua:acetonitrilo 1:1.

3.-Se tomó una alícuota de 1 ml y se adicionó a un segundo matraz de 10 ml y se aforó con una mezcla de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M, pH 3.5 : metanol 1:1.

4.-Se obtuvo una concentración final 0.1 mg/ml.

Para el HPLC:

1.-Se tomaron 2 ml de la muestra con una jeringa y se filtraron con el acrodisc de nylon adicionando a un vial de 2 ml.

2.-Se inyectó, las condiciones del HPLC fueron las mismas tanto para el estándar como para los blancos de sangre y para las muestras.

3.-Se determinaron la media del área y tiempo de retención de cefalona en base al estándar.

Para el espectrofotómetro:

1.-De la última solución (C=0.1 mg/ml), se tomó con una alícuota de 1 ml y se llevó a un matraz volumétrico de 10 ml, aforando con buffer fosfato de amonio 0.04 M, pH 3.5 : Metanol 1:1, para tener una concentración final de 0.01 mg/ml.

2.- Se tomó un volumen de 2 ml y se adicionó a una celda de 1.0 cm.

3.- Se determinó el perfil espectral (Scan). Anexo 2

2. *Blanco de sangre con CQ-M-EPCT (in vitro).*

1.- Se centrifugaron 5 ml de sangre (sangre natural sin *CQ-M-EPCT*) 10 minutos a 1500 rpm.

2.- Se separó el suero del paquete globular con ayuda de una pipeta pasteur y depositarlo en un tubo de ensaye.

3.- Se pesaron aproximadamente 10 mg de *CQ-M-EPCT* y se disolvió en un tubo graduado de 10 ml con 0.5 ml de trietilamina al 6% en metanol, se agitó hasta lograr la disolución completa.

4.- Posteriormente se adicionó una alícuota de 0.2 ml de suero y se agitó (pH 9)

3. *Muestras.*

1.- Se centrifugaron 5 ml de sangre 10 minutos a 1500 rpm.

2.- Se separó el suero del paquete globular con ayuda de una pipeta pasteur y se depositó en un tubo de ensaye.

Para el HPLC:

1.- Se tomaron 2 ml de la última solución (con una jeringa y se filtró con el acrodisc de nylon y se adicionó a un vial de 2 ml.

2.- Se inyectó 3 veces.

3.- Se determinó la media del área y tiempo de retención.

Espectro.

1.- Se tomaron 2 ml de la última solución y se adicionó a una celda de 1.0 cm.

2.- Se determinó en la región del ultravioleta-visible, el corte espectral de la muestra de sangre (blanco).

Las condiciones del espectro son las mismas que para el estándar, los blancos y las muestras.

Se calculó en HPLC:

ABC_{MTA} = Área bajo la curva de la muestra.

ABC_{STD} = Área bajo la curva del estándar.

C_{STD} = Concentración del estándar en mg/ml (0.01 mg/ml).

C_{MTA} = Concentración de la muestra en mg/ml (0.01 mg/ml).

*Espectro.

C_{STD} = Concentración del estándar en mg/ml (0.01 mg/ml).

C_{MTA} = Concentración de la muestra en mg/ml (0.01 mg/ml).

A_{STD} = Absorbancia del estándar.

A_{MTA} = Absorbancia de la muestra.

4.3 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se describen estadísticamente. Las variables farmacocinéticas de las vías de administración endovenosa e intramuscular se calcularon mediante análisis compartamental. ^{LL} Para los datos en la vía IV (modelo No. 1) se utilizó como Variable Independiente al Tiempo y como Variable Dependiente la Concentración y como Parámetros el Volumen, Dosis y K_{elim} .

Las Variables Calculadas fueron Vida media de eliminación (K_{elim}), Área bajo la curva (AUC), Área bajo la curva momento (AUMC), Tiempo de Residencia, Área bajo la curva del último tiempo, Área bajo la curva momento del último tiempo y Tiempo de Residencia del último tiempo, bajo la ecuación.

$$\text{Concentración (Tiempo)} = \frac{\text{Dosis}}{\text{Volumen}} e^{-K_{elim} * \text{Tiempo}}$$

Este modelo permitió calcular la proporción de eliminación (K_{elim}), y la relación Dosis - Volumen encontrado después de un número de mediciones de la concentración en el compartimento sobre un periodo de tiempo. (Figura 5)

Para la vía de administración IM se utilizó el modelo No. 5 que utilizó como Variable Independiente al Tiempo, como Variable Dependiente la Concentración y los Parámetros: calculados fueron Volumen, Dosis y $K_{absorción}$ y eliminación.

Las Variables Calculadas fueron Vida media de eliminación y absorción (K_{AE}), Tiempo de concentración máxima, Concentración máxima, Área bajo la curva (AUC), Área bajo la curva momento (AUMC), Tiempo de Residencia, Área bajo la curva del último tiempo, Área bajo la curva momento del último tiempo y Tiempo de Residencia del último tiempo.

Ecuación:

$$\text{Concentración (Tiempo)} = \frac{\text{Dosis} * K_{AE} * \text{Tiempo}}{e^{-K_{AE} * \text{Tiempo}}}$$

$$\text{Donde } K_{AE} = K_{AB} = K_{elim}$$

Este modelo permite calcular la proporción de absorción y eliminación, tomando las dos como igual en este caso (K_{AE}), y la relación Dosis - Volumen encontrado después de un número de mediciones de la concentración en el compartimento sobre un periodo de tiempo. (Figura 6)

Los datos obtenidos fueron analizados para detectar diferencias estadísticas se utilizó la prueba Kruskal-Wallis y Dunn Test^M debido a la distribución de los datos^N

Se graficaron los datos obtenidos de concentración - tiempo después de la aplicación de la CQMEPCT por las vías intramuscular y endovenosa, se analizaron dichas curvas con regresión para ver asociación de variables^{LL} encontrándose que la vía endovenosa se ajustó mejor a un modelo cuadrático., donde:

$$\text{Concentración} = 2.32 - t(0.13) + t * t * 0.00001887, \text{ encontrando una } R^2 = 0.87$$

(FIGURA 15)

Por su parte la vía intramuscular se ajustó a un modelo cúbico, con una $R^2 = 0.89$, donde:

$$\text{Concentración} : 2.54 + 0.02 * t + 0.00006113 * t^2 + 0.0000000604 * t^3 \text{ (FIGURA 16)}$$

^{LL} Micromath Scientific PK Analyst Statistics Software, Salt Lake City, Utha 1993

^MPrimer of biostatistic, Mc. Graw Hill, 1992. Versión 3.02

^NSAS

5- Resultados

5.1 Análisis de CQMEPCT por absorbancia (Uv Visible)

La determinación de cefalona CQMEPCT en suero total por absorbancia/UV visible se observa en el (Anexo 2). El análisis de las muestras de suero total por absorbancia es semicualitativo y cuantitativo, ya que los resultados que presenta la absorbancia corresponde a todo lo que se absorbe de suero a 279.0 nm y no específicamente CQMEPCT. El análisis por absorbancia de la cefalona se encontro en el corte espectral una absorbancia máxima a 279.0 nm. En el análisis de los precursores se encontro una absorbancia máxima a 278.33 nm para la enrofloxacin y para el precursor 7-ACA una absorbancia de 263.0 nm.

5.2 Análisis de la CQMEPCT por HPLC

El análisis del cromatograma mostró el pico del estándar de la cefalona CQMEPCT con un tiempo de retención de 7.6 minutos, mientras que los precursores de la molecula enrofloxacin y 7-ACA, con un tiempo de retención de 3.65 y 1.61 minutos respectivamente (Anexo 3). Para obtener la curva de recuperaci3n de la cefalona CQMEPCT se obtuvieron las areas bajo la curva de los picos cromatograficos de las muestras preparadas con el estándar en concentraciones que fluctuaron entre el rango (0.001-30 µg/ml) dentro del limite de sensibilidad de la prueba. Estos valores se refieren en el Cuadro 8 y la Figura 7. La confiabilidad de la linealidad de la gráfica de recuperaci3n fue de 97% como se muestra en los valores de la regresion en ella. Se estimó un error intraensayo del 5% y una tasa de recuperaci3n superior al 97%. En la Figura 8 se presenta un cromatograma típico en el que se destaca la prescencia del compuesto en estudio sin metabolitos a excepci3n de un bajo porcentaje de enrofloxacin (menor a 1.3%), que por la cantidad tan pequeña pudiera ser efecto de la pureza del producto y no de un metabolismo en el cerdo; en esta misma figura también se presenta la corrida correspondiente al estándar y el tiempo de elusi3n de la muestra problema.

Despues de la administracion IV, IM y Oral se tomaron muestras sanguíneas hasta las 8 horas en 7 porcinos sanos. La correlaci3n del análisis de las areas bajo la curva que se muestra en los Cuadros 9-11 con la curva de recuperaci3n (Figura 7) nos proporcionó las concentraciones séricas de CQMEPCT para el estudio en los Cuadros 12 – 14. En los cuadros 15 y 16 se presenta la Estadística Descriptiva de las curvas de concentraci3n serica

en tiempo y en las que destaca que no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes individuos, cuando se comparó una sola vía de administración. En las figuras 9 y 10 se presentan las relaciones individuales para las curvas de concentración. En las Figuras 11 y 12 se presentan las DE \pm y promedio para las mismas. En la Figura 13 y 14 se presentan los valores de la concentración serica en tiempo de manera comparativa marcando el area bajo la curva utilizando los valores de AUC y se calculó la biodisponibilidad de CQ de la vía IM (79.3%)(Cuadro 18) y una nula biodisponibilidad por la vía oral.

Los datos de las concentraciones sericas en el tiempo, se procesaron utilizando el programa de computo Micromath Scientific PK Analyst^{LL} se utilizaron varios modelos compartamentales y los que dieron una confiabilidad al 95% en todos los casos fueron el No. 1 por la vía IV y el No.5 para la vía IM (Figura 5 – 6), para la vía oral no se obtuvieron resultados pues no se encontró fármaco en el suero debido a la hidrólisis que sufrió en el estómago por no haberse protegido las cápsulas de administración con capa entérica (Anexo 4). En los Cuadros 17 –19 se presentan los datos estadísticos y de la confiabilidad de la prueba. Se detectaron diferencias estadísticas significativas en las variables farmacocinéticas de AUC, Concentración plasmática máxima y tiempo de estancia, al comparar los resultados obtenidos después de la administración IV e IM.

6- Discusión

El uso indiscriminado de la antibioterapia para el control o eliminación de las enfermedades ha propiciado el desarrollo de fenómenos de resistencia bacteriana hacia estos medicamentos ^{14, 16, 33, 34}, lo que reduce o anula su eficacia convirtiendo las infecciones curables en severas que a menudo ponen en riesgo la integridad del hato o incluso pueden causar la muerte de la mayoría de los animales. Esta situación ha obligado a la industria farmacéutica a desarrollar nuevos medicamentos o a combinarlos para que al menos teóricamente puedan controlar a estos microorganismos.

Es difícil citar moléculas antibacterianas diseñadas en el país, por lo que es posible especular que la escasa o nula producción de ideas en este campo se deba entre otras cosas, a que esta tarea requiere una investigación millonaria ya que una vez encontrada una molécula prospecto, viene el desarrollo farmacéutico (no menos caro) y de 6 a 10 años de investigación a veces bien calificada y de muy alto riesgo para lograr la síntesis y caracterización de una sustancia con potencial, en seguida se deben realizar estudios de farmacocinética en todas las especies en las que se pretenda usar el antimicrobiano y conjuntamente se experimentan los requisitos básicos de eficacia, calidad farmacéutica, inocuidad para los animales y para el medio ambiente, definiendo la peligrosidad y persistencia de residuos. El apego a estos requisitos en el mundo es cada vez más estricto esto puede explicar la poca generación de nuevos antibacterianos en el mundo. En este sentido, los estudios aquí realizados se pueden calificar de únicos en nuestro país y quizá en países de habla hispana y considerados como escasos en el mundo.

Es importante hacer énfasis que la cefalona es un fármaco del cual solo se tienen algunas citas internacionales generadas por investigadores nacionales preferentemente y citados en la introducción de este trabajo. Dado que existe una patente internacional que protege a la molécula y la serie de las cefalonas ⁰, la comunidad internacional no ha desarrollado métodos analíticos con los que se pueda comparar la metodología analítica utilizada en este trabajo. No obstante el hecho de que la tasa de recuperación del método utilizado es de aproximadamente 97 % y el error intraensayo fue calculado no mayor del

⁰ Under the Patent Cooperation Treaty, P.C.T., W.O., 95-23153

5 %, brindan al método utilizado una seguridad suficiente de que la extracción e identificación de la cefalona fue exitosa. Es importante, señalar que el método descrito se basa en las metodologías más comunes utilizadas para las cefalosporinas de 3^a generación, en particular la técnica de ceftiofur o ceftriaxona.^{23, 25}

Los estudios de farmacocinética que se llevaron a cabo como parte del desarrollo de los fármacos se realizan habitualmente en animales sanos para evitar las variaciones biológicas que de por sí tienden a ser importantes.^{4, 13, 20, 21, 43.} No obstante en algunos casos se recomienda la elaboración de cinéticas comparativas con animales enfermos, este aspecto se consideró poco probable para las cefalonas en virtud de su similitud con las cefalosporinas de 3^a generación, las cuales mantienen una cinética constante tanto en salud como en enfermedad.⁴⁸

En lo que respecta a los resultados obtenidos se encontró que esta cefalona tiene una media de eliminación muy rápida y de aplicarse a cerdos resultaría impracticable su intervalo de dosificación de cuando mucho 6 horas. Aunque este aspecto de la cefalona se puede resolver haciendo más lento el tiempo de absorción fenómeno (flip-flop), se reduciría el valor de C_{pmax} que en este estudio fue de 2.2 ng/ml. Se acepta que para medicamentos beta-lactámicos y para fluoroquinolonas (componentes de esta cefalona) es más importante tener una C_{pmax} elevada que una larga estancia. Posiblemente ambos puntos pudieran conciliarse elevando la dosis. De cualquier manera estos estudios revelan la necesidad de un mejor diseño farmacéutico específico para las cefalonas. El comportamiento de este fármaco es notable dado que en el corto tiempo que permanece en el organismo logra un volumen de distribución mucho mayor superior al de los beta-lactámicos (V_d área 1.69 l/kg), por ejemplo la cefotaxima tiene un V_d muy elevado para ser una cefalosporina alcanzando 0.3 l/kg.²³ La ceftriaxona presenta un V_d similar²³ Y las penicilinas tienen un V_d inferior a estos valores.⁸ Es posible que la existencia de la fracción fluoroquinolónica en la molécula haya contribuido a mejorar la distribución de la parte beta-lactámica ya que el V_d de las primeras puede llegar a 2 l/kg o más.²³

Aunque la biodisponibilidad para el preparado fue muy bien aplicado IM, (casi 80%), se deberán realizar estudios de persistencia de la cefalona en el sitio de aplicación para determinar si se puede mejorar la absorción y si existe o no fijación en los tejidos. Esto se

puede lograr con ajustes de pH al vehículo y quizá incluyendo a parte de la cefalona en ciclodextrinas.⁴³

Las cefalonas tienen la ventaja de actuar en contra de bacterias G+ y G- casi con igual potencia, sin embargo, dado el intervalo de dosificación descrito es posible que resulte más conveniente dirigir el uso de este medicamento a otra especie que se pueda manipular más fácilmente, quizá al hombre. Como se mencionó anteriormente los resultados obtenidos no indican necesariamente que la cefalona no deba utilizarse en cerdos pero, quizá su nicho terapéutico se encuentre en otra especie.

En cuanto a la descripción de los datos cinéticos obtenidos vale la pena destacar que a la 1.6 hrs. aproximadamente, se presenta un fenómeno que se ha descrito como de redistribución en función de la presentación de un doble pico en las concentraciones plasmáticas. En los textos de farmacología y farmacocinética se describe a esta forma de la concentración *versus* tiempo como indicativo de que el fármaco es captado en un compartimento y después liberado, habitualmente este en el hígado.^{13, 20, 43, 49} En particular en este ensayo la magnitud del segundo pico es apenas perceptible aunque constante en todos los animales y puede tomarse como indicativa de una débil captura por parte del hígado y por lo tanto una baja tasa de biotransformación. Se sabe que esta cefalona se puede recuperar tanto de leche como de orina en forma no biotransformada, activa microbiológicamente¹ En contraste, una regresión lineal de los datos sin considerar el modelo cinético del programa pk análisis, hace aparecer éste pico con un error del ensayo de una desviación poco o nada relevante.

Para resolver si una u otra perspectiva de lo sucedido es correcto se deberán realizar estudios en los que se haga un sangrado casi constante en tomo al momento problema, y hacer estudios de confrontación *in vitro* del sistema microsomal enzimático con la cefalona para detectar el grado de biodisponibilidad del fármaco.

En cuanto a lo que se refiere a la clínica, vale la pena señalar que la CQMEPCT tiene un enorme potencial, debido a que se requiere una dosis baja (DE 99% 3 mg/kg), tiene baja toxicidad, depuración rápida, bajo índice de residuos en tejidos comestibles, una gran eficacia y baja presentación de resistencias incluyendo géneros como *Staphylococcus spp*, *Proteus spp*, *Pseudomonas spp* y *Streptococcus spp*, *Campylobacter spp*, *Acinetobacter*

spp, y algunos anaerobios, superior a cefalosporinas y fluoroquinolonas de 3^a. Generación., además, con CMI's inferiores a los de dichos fármacos (Cuadro 20).

Como ya se mencionó la industria farmacéutica es una actividad intensiva en uso de conocimientos (ciencia y tecnología), intensiva en capital, de alto riesgo y elevados rendimientos, con una gran importancia por su impacto en el sector salud. Por lo tanto, es importante y necesario que en México, exista una mayor vinculación entre las universidades y la industria farmacéutica para apoyar los estudios de valoración biológica de especies de interés económico, dándole a los estudios de bioseguridad la importancia tan relevante que tiene en otros países, para la obtención de nuevos fármacos y medicamentos y, siendo este el caso de la cefalona CQ-M-EPCT de laboratorios Aranda se debe apoyar y colocar toda la confianza del sector médico mexicano para seguir con las pruebas en otras especies para que finalmente, se pueda llegar a la comercialización del producto, con el fin de no echar por tierra el esfuerzo del laboratorio y de investigadores nacionales que han logrado tan importante avance en la industria farmacéutica. Para apoyar esta idea se debe comentar que en México el mercado de medicamentos del sector público está formado fundamentalmente por productos genéricos y es surtido en su mayoría por laboratorios nacionales (83% del valor de ventas en 1996). Por su parte, el mercado privado se caracteriza por consumir medicamentos de marca y de alto valor; se abastece principalmente por subsidiarias internacionales (81 % del valor de las ventas en 1996) ³⁸ . Esta dependencia debe terminar y se debe confiar y consumir los productos que sean creados y producidos por la industria mexicana.

7-Citas bibliográficas:

1. Adamovics JA. Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals. Volume 49. New York: Marcel Dekker INC, 1990.
2. Adams R. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. USA: Iowa State University Press, 1995
3. Avila TS, Olguin BA, Ocampo CL, Sumano LH, Navarro HJ. Quinolonas aplicadas para el tratamiento de mastitis clínica. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatria, 1995. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Baggot J.D. distribution of antimicrobial agents in normal and diseases animals. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1980;10: 1085-1090
5. Battaglia RA, Mayrose VB. Técnicas de manejo para ganado y aves de corral. 1ª. Ed. México: Noriega Limusa, 1991
6. Bennet JB, Brodie JL, Benner EJ and Kirby WM. Simplified accurate method for antibiotic assay clinical specimens. Amer Soc of Microb. 1996:14 (170-177)
7. Bergan T. Quinolones In. Antimicrobial Annual 2. Amsterdam, Holland: Elsevier, 1987
8. Boison J.O., korsrud, G.O., MacNeil, J.D., Keng, L and Papich, M.G. Determination of penicillin G in bovine plasma by high-performance liquid chromatography after precolumn derivatization. Journal of Chromatography and Biomedical Applications, 1992,576; 315-320.
9. Corpi MA, Ocampo L, Azuara J, Sumano H: Desarrollo de una nueva generación de antimicrobianos (cefalona) de diseño nacional. Premio Canifarma Dr. Alfredo Tellez Girón Rode 1994-1995.vol 111. No. 3 pag. 24-25
10. Crargmill AL, Sundlof SF and Riviere JE. Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Therapeutics Drugs. Boca Raton (Florida): CRC press, 1994
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. volumen 7. México (DF):SSA, 1999
12. García ME. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen (adaptado a la República Mexicana). 3ª. Edición. México (DF): Instituto de Geografía UNAM, 1981.

13. Goodman G.T., Rall T.W., Nies A.S., Taylor P. Las bases terapéuticas de la farmacología, 8^a. Ed., México, Panamericana, 1990.
14. Gutierrez O.L. Variaciones farmacocinéticas de la enrofloxacin en pollos de engorda mediante diferentes estrategias de dosificación (Tesis de Maestría), México (D.F.);Fac.de Med. Vet. Y Zoot. UNAM, 1999.
15. Ho A, Hiral K, Inove M, Koga H, Suzues S, Irikure T, Misahushi S. The in vitro antibacterial activity of AM-715 a new nalidixic acid analogue. *Antimic Agents Chem*, 1980;17:103-108.
16. Hunter J.E.B., corkill J.E.,McLennan A.G. Fletcher J.N., Hart C.A. Plasmid encoden β -lactamases resistant to inhibition by clavulanic acid produced by calf faecal coliforms, *Research in Veterinary Science*, 1993,55,367-370.
17. Improving the Ethical Review Process. *Int. J. of Pharm. Med.* 1997; 11 (3): 119
18. Johnson D, Erwin M and Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of novel cephalosporin-fluoroquinolone dual action compounds (DAC), CQEPCT M-397 and CQEPTM (414). In American society for Microbiology Proceeding of the 36th.Intercience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1996. September 15-18. New Orleans (Louisiana) 1996:128
19. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario estadístico del estado de Querétaro. 1996. México (DF): INEGI, 1996
20. Katzung BG. *Farmacología básica y clínica*. 4^a. ed. México. (DF): Manual Moderno, 1991
21. Keller F. Czooek Zelinier D and Giehi M. Relationship between pharmacokinetic half-life and pharmacodynamic half-life in effect time modeling. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1998, vol. 36 No. 3. 168-175.
22. Levine RJ. *Ethics and Regulation of Clinical Research*. 2^a. ed. EUA: Yale University Press, 1988
23. Marzo A., dalBo L. Chromatography as an analytical tool for selected antibiotic classes: a reappraisal adressed to pharmacokinetic applications. *Journal of Chromatography A*. 812(1998), 17-34.
24. *Ley General de Salud*. México (DF): Porrúa, 1993

25. Macouzet GS. Ocampo L, Sumano H Farmacocinética de la cefalona CQMEPCA en vacas, una nueva serie de antimicrobianos. *Vet Mex* 2000 Vol.31 (4) pag. 287-290.
26. Maniatis EK and Sambrook J. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. And ed. NY: Cold Spring Harbor Press, 1989
27. Méndez LA. Evaluación de la potencia y determinación del espectro antibacteriano de una cefaquinolona de desarrollo nacional. (Tesis de licenciatura). México (DF): Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM, 1996
28. Novoa HG. Etica y reglamentación de la investigación clínica de medicamentos en México: *Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas*. 1999; 30(2): 32-34
29. Ocampo CL. Desarrollo de una cefaquinolona CQ de fabricación nacional para la clínica del pollo de engorda. XXVIII Congreso Nacional de Microbiología; 1997; Culiacán (Sinaloa). México 1997.
30. Ocampo CL, Sumano LH. Uso de un nuevo antibacteriano, la CQ-M- EPCA, para el tratamiento sistémico de la mastitis clínica. *Memorias del Congreso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la leche*. 1998 23-37 Marzo. Mérida (Yucatán), 1998
31. Ocampo CL, Sumano LH. Eficiencia antibacteriana in vitro y en brote de campo de ERC de la cefaquinolona, XXI Convención Nacional ANECA. 1996. Mayo Cancún (Quintana Roo), 1996
32. Ovalle AI. Farmacocinética de la cefalona (CQEPCA) en perros. (Tesis de licenciatura). México (DF): FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA. UNAM, 1996
33. Pérez-Martínez J.A. Las quinolonas: Estructura química, mecanismos de acción bactericida y perfil de farmacología clínica. *Vet. Mex*. XXIII 1, 1992 57-66
34. Petrosino J., Cantu C., III and Palzkill T. β lactamases; protein evolution in real time. Copyright Elsevier Science Ltd 1998.
35. Sahagún B. *Historia General de las cosas de la Nueva España*. México (DF). Editorial Porrúa colección "Sepan cuantos..." 300, 1985
36. Sannedecker G. *History of Pharmacy*. 4^a.ed. USA: J.B.Lippincott company, 1976
37. Santamaría JA. Eficacia clínica de un preparado intramamario a base de una cefaquinolona experimental (CQEPCA-600 M) para el tratamiento de mastitis bovina. (Tesis de licenciatura). México (DF): Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM, 1997

38. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Industria Farmacéutica en México. México (DF): SECOFI, 2000
39. Spilker B. Guide to Clinical Trials. Raven Press, 1991
40. Sumano LH. Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. Vet Mex 1993; 24 (2) :83-92
41. Sumano LH, Mateos G, Hevia del Puerto C, Ocampo CL. Pharmacokinetics, tolerance and clinical efficacy of the cephaquinolone, CQEPCA-663, in dogs affected with various respiratory bacterial infections, Israel Journal of Veterinary Medicine. 1998; vol 53 (2) :64-67.
42. Sumano LH, Ocampo CL. Actividad Antimicrobiana, farmacocinética y eficacia clínica de una cefaloquinolona (CQ) en problemas respiratorios bacterianos en perros, XXVIII Congreso Nacional de Microbiología; 1997. Culiacán (Sinaloa) , 1997
43. Sumano LH, Ocampo CL. Farmacología Veterinaria. 2ª. Edición. México (DF): Mc.Graw Hill, 1997
44. Sumano H, Ocampo L . Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos en productos de origen animal. Vet Mex. 1995; 26 (3)
45. Sumano H, Ocampo L and Corpy MA. Antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy in poultry of a new cephalosporin-fluoroquinolone (CQ) molecule. Journal of Applied Animal Research. 1998; 13: 169-178
46. Thomson TD, Quay JF, Webber JA. Cephalosporin group of antimicrobial drugs. JAVMA. 1984; 185 (10)
47. United States Pharmacopeia Drug Information for the Health Care Professional. Vol 1. 15th edition. USA: 1997
48. Vancutsem, P., M. Babish J. G and Schwark, W.S. The fluoroquinolone antimicrobial: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. Cornell Veterinarian, 1990,80.173-186.
49. Welling G. Pharmacokinetics. New York: Marcel Dekker INC, 1988.

CUADRO 1.

Principales Quinolonas y Fluoroquinolonas utilizadas en medicina veterinaria.⁴³

FARMACO	ESPECTRO	RESISTENCIA	GENERACION
Acido nalidíxico	G-	<i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Serratia marcescens</i>	1ª
Acido pipemídico	G- No se usa en veterinaria		1ª
Acido oxolínico	Intermedio con predominio de G-	Induce resistencia rápidamente	1ª
Flumequina	<i>E. coli</i> , especies de <i>Salmonella</i> , de <i>Pasteurella</i> , de <i>Pseudomonas</i> , de <i>Shigella</i> , especies de <i>Haemophilus</i> , <i>Staphylococcus</i> , especies de <i>Chlamydia</i> , de <i>Ureaphuma</i> especies de <i>Mycobacterium</i> , y de <i>Ureaplasma</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Borrelia anserica</i> , <i>Legionella</i> , <i>Campylobacter</i> ,	No tiene efecto sobre micoplasma	2ª
Ciprofloxacina	G- especies de <i>Salmonella</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> (in vitro), especies de <i>Micoplasma</i> , (in vitro), <i>Haemophilus parasuis</i> (in vitro), <i>H. paragallinarum</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>P. Multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> .	Cierto grado de resistencia por algunos <i>Streptococcus</i>	2ª
Norfloxacin	Especies de <i>Chlamidia</i> de <i>Mycobacterium</i> , de <i>Pseudomonas</i> , especies de <i>Haemophilus</i> , de <i>Streptococcus</i> , de <i>Staphylococcus</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Micoplasma</i> (in vitro)	Cierto grado de resistencia por <i>Streptococcus</i>	2ª
Enrofloxacin	G+, G- Especies de <i>Chlamidia</i> , de <i>Pseudomonas</i> , especies de <i>Haemophilus</i> , de <i>Streptococcus</i> (96%) <i>Mycoplasma gallisepticum</i> , especies de <i>Mycoplasma</i> , <i>Salmonella arizona</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Campylobacter coli</i> , <i>C. Jejuni</i> , Especies de <i>Ureaplasma</i> , de <i>Legionella</i> , de <i>Brucella</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>	Menor actividad contra <i>Streptococcus</i> , <i>Nocardia spp</i> y casi nula para anaerobios	3ª
Danofloxacin	G- Especies de <i>Chlamidia</i> , <i>Mycoplasma</i> , de <i>Mycobacterium</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Ureaplasma</i> , de <i>Legionella</i> , de <i>Rickettsia</i> , <i>Coxiella quinetti</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , su actividad es menor contra <i>Streptococcus</i> y <i>Nocardia</i> y casi nula contra anaerobios.		3ª
Sarafloxacin	especies de <i>Mycoplasma</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Hemophilus</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Salmonella</i>		3ª

CUADRO 2

Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de las fluoroquinolonas de tercera generación⁴³

BACTERIA	CMI $\mu\text{g/ml}$
<i>Escherichia coli</i>	0.06
Especies de <i>Klebsiella</i>	0.06
Especies de <i>Salmonella</i>	0.03
Especies de <i>Proteus</i>	0.25
<i>Serratia marcescens</i>	0.12
Especies de <i>Citrobacter</i>	0.25
Especies de <i>Yersinia</i>	0.01
Especies de <i>Campylobacter</i>	0.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.75
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0.50
<i>Moraxella bovis</i>	0.03
Especies de <i>Hemophilus</i>	0.02
<i>Pasteurella multocida</i>	0.008
<i>P. haemolytica</i>	0.06
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.20
<i>Treponema hyodysenteriae</i>	4.00
<i>Bacillus cereus</i>	0.25
Especies de <i>Staphylococcus</i>	0.12
Especies de <i>Streptococcus</i>	0.75
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	0.75
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.75
Especies de <i>Erysipelothrix</i>	0.06
Especies de <i>Mycoplasma</i>	0.25
Especies de <i>Actinobacillus</i>	0.03
Especies de <i>Bacteroides</i>	1.60
<i>Clostridium perfringens</i>	0.50

CUADRO 3.

Principales Cefalosporinas utilizadas en medicina y su espectro bacteriano.⁴³

CLASIFICACION	ESPECTRO
<p>1ª. Generación</p> <p>Cefadrina Cefadroxil Cefalexina Cefaloglicina Cefacetril Cefapirina Cefazolina Cefalotina Cefradina Cefaloridina</p>	<p>Son las de mayor actividad contra G+, casi todas las especies de <i>Corynebacterium</i>, <i>Streptococcus B-hemolíticos</i>, <i>S. Bovis</i>, (cefalotina, cefapirina) y especies de <i>Staphylococcus</i>, como <i>epidermis</i>, <i>aureus</i>, <i>intermedius</i> (cefalexina, cefadroxil)</p> <p>G- (poca actividad) <i>E. Coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Hemophilus influenzae</i>, <i>Haemophilus equigenitalis</i>, <i>Proteus mirabilis</i>, especies de <i>Actinobacillus</i>, <i>Pasteurella</i> y <i>Salmonella</i></p> <p>RESISTENCIA algunas especies de <i>Actinobacter</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Proteus</i>, <i>Pseudomonas</i>, <i>Corynebacterium</i></p> <p>muchas bacterias anaerobias son sensibles. <i>Bacteroides fragilis</i>, <i>Rhodococcus equi</i>, <i>Streptococcus. Faecalis</i>, <i>S. Faecium</i>, algunas especies de <i>Staphylococcus</i>, de <i>Serratia</i>.</p>
<p>2ª. Generación</p> <p>Cefaclor Cefamandol Cefonicid Ceforanida Cefoxitina Cefuroxima Cefmetazol Cefotetán Cefprozi</p>	<p>Igual o menor eficacia que las de la Generación contra G+ como <i>Staphylococcus</i>, <i>epidermis</i>, y <i>S. aureus</i>, Mas eficaces que las de las de la generación contra G-, <i>E. coli</i>, especies de <i>Bacteroides fragilis</i> (cefoxitina, cefotetan),</p> <p>Especies de <i>Enterococcus</i> y <i>Pseudomonas</i> son resistentes</p> <p>El uso de estos antibióticos se reserva para infecciones resistentes a las cefalosporinas de la 1ª. Generación.</p>
<p>3ª. Generación</p> <p>Cefmonoxima Cefoperazona Cefotaxima Cefsulodina Ceftazidima Ceftizoxima Ceftriaxona Cefxima Cefpodoxima</p>	<p>Son las más eficaces contra G- resistentes y menos eficaces contra G+ Son las más eficaces contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Cefsulodina tiene espectro reducido</p>
<p>Nueva generación</p> <p>Ceftiofur</p>	<p>Es de mayor espectro contra G+ <i>Streptococcus</i> y tiene menor actividad contra <i>Pseudomonas</i> que otras de 3ª. Generación, es activa contra cepas productoras de B-lactamasas y anaerobios como <i>fusobacterium necrophorum</i>, <i>bacteroides melaninogenicus</i>.</p>
<p>4ª. Generación</p> <p>Cefepima Cefquinoma</p>	<p>Acción contra G+ y G- como especies de <i>Pasteurella</i>, de <i>Salmonella</i>, de <i>Streptococcus</i>, <i>Corynebacterium</i>, <i>Hemophilus</i>, <i>Actinomyces pyogenes</i>, <i>Bacillus</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Proteus</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>

CUADRO 4.

Concentración Mínima Inhibitoria (µg / ml) de la cefalona requerida para el control de algunas especies bacterianas. ²⁷

BACTERIA	CMI (µg / ml)
<i>Salmonella enteritidis</i> 65ATCC056	0.031
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-6538-P	0.063
<i>Escherichia coli</i> ATCC-10536	0.063
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC-10791	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC-25619	0.5

CUADRO 5.

Espectro antimicrobiano que cubre la nueva molécula cefalona. ²⁷

Gram negativos	Bacterias asociadas con gastroenteritis	Cocos Gram positivos	Pseudomonaceas	Otras
<i>Citrobacter</i> sp	<i>Aeromonas hidrophila</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>P. aeuroginosa</i>	<i>Alcalignes</i> sp
<i>C. diversus</i>	<i>Campylobacter fetus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>Flavobacterium</i> sp
<i>C. freusdii</i>	<i>Sub jejuni</i>	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>P. fluorescens</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>S. coagulasa negativos</i>		<i>Micoplasma</i> spp
<i>Escherichia coli</i>	enterotoxigénica	<i>S. aureus</i>		
<i>Enterobacter</i> sp	<i>E. hermanii</i>	<i>S. aureus</i> meticilino		
<i>E. aerogenes</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	resistente		
<i>E. agglomerans</i>	<i>Salmonella</i> sp	<i>S. aureus</i> meticilino		
<i>E. cloacae</i>	<i>S. typhi</i>	sensible		
<i>Hafnia</i> sp	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. epidermidis</i>		
<i>Klebsiella</i> sp	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>S. saprophyticus</i>		
<i>K. oxytoca</i>	<i>Shigella</i> sp	<i>Streptococcus</i> grupos B,		
<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. boydii</i>	D y G		
<i>Morganella morganii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. viridans</i>		
<i>Proteus</i> sp (indol positivos)	<i>S. flexneri</i>			
	<i>S. sonnei</i>			

CUADRO 6

Características de los porcinos tratados con la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por tres vías de administración (intramuscular, endovenoso y oral).

IDENTIFICACION	EDAD (MESES)	RAZA	SEXO	PESO (Kg)
1	4	CY	M	40
2	4	CY	M	36
3	4	CY	H	34
4	2	CY	M	24
5	2	CY	M	20
6	2	CY	M	20
7	2	CD	M	19

CY – craza York-Shire cD – craza Durok H – hembra M – macho

CUADRO 7

Muestreos sanguíneos realizados en las 3 fases que duró el tratamiento de los porcinos Tratados con cefalosporina CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.

TIEMPO (minutos)	MUESTRA FASE I (administración intramuscular)
0	X (antes de la administración del producto)
10	A
45	B
90	C
180	D
360	E

TIEMPO (minutos)	MUESTRA FASE I (administración oral)
0	X (antes de la administración del producto)
20	A
45	B
60	C
75	D
90	E
180	F
360	G

TIEMPO (minutos)	MUESTRA FASE I (administración endovenosa)
0	X (antes de la administración del producto)
15	A
30	B
45	C
60	D
75	E
90	F
120	G

CUADRO 8

Concentraciones de CQMEPCT en µg/ml de la curva de calibración en suero de cerdo, así como sus áreas bajo la curva	
Concentración en µg/ml	Area bajo la curva
0.001	0.000133
0.01	0.000199
1	0.000975
5	0.001231
10	0.003622
13	0.004223
15	0.006361
20	0.008641
30	0.009891

CUADRO 9

Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía IM obtenidas por HPLC							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.16	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.3	5.9004	5.3640	6.5560	4.7084	4.7680	10.1320	8.3440
0.5	13.1120	8.9400	10.7280	11.3240	7.7480	11.3240	12.8736
0.75	18.4760	14.6020	11.8604	17.2840	17.3436	16.0920	13.7676
1.5	6.4964	6.9136	8.3440	7.1520	6.5560	7.7480	5.9600
3	3.5164	2.9800	2.9800	3.9336	3.5164	4.8276	4.1720
6	0.2980	0.1192	0.1788	0.2980	0.2980	0.3576	0.3934
8	0.0179	0.0060	0.0298	0.0238	0.0119	0.0179	0.0119

CUADRO 10

Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía IV obtenidas por HPLC							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.25	43.5080	32.6608	32.2436	35.7540	42.4352	40.5280	29.2040
0.5	29.2040	18.8336	29.8000	17.9396	24.4956	21.4560	24.4360
0.75	11.1452	11.8008	10.9068	12.5756	13.4696	11.2048	11.8604
1	11.3240	10.7280	9.4764	9.4764	13.2908	12.6948	11.2644
1.25	6.9136	6.8182	7.1520	6.7348	6.5560	7.1520	6.8540
1.5	14.8404	15.5556	15.4960	9.4764	14.7808	16.0920	14.9000
2	4.1720	4.1124	5.2448	5.3640	4.1720	4.7680	3.7548
4	0.2980	0.3218	0.3695	0.3755	0.3576	0.2920	0.4291
8	0.0179	0.0238	0.0298	0.0179	0.0179	0.0238	0.0238

CUADRO 11

Area bajo la curva de las muestras de suero de los cerdos tratados con cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg administrado por vía Oral obtenidas por HPLC							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.33	4.1124	3.4568	6.2580	2.7416	5.9600	10.0724	3.0396
0.75							
1							
1.25							
1.5							
3							
6							
8							

CUADRO 12

Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.16	0	0	0	0	0	0	0
0.3	0.99	0.9	1.1	0.79	0.8	1.7	1.4
0.5	2.2	1.5	1.8	1.9	1.3	1.9	2.16
0.75	3.1	2.45	1.99	2.9	2.91	2.7	2.31
1.5	1.09	1.16	1.4	1.2	1.1	1.3	1
3	0.59	0.5	0.5	0.66	0.59	0.81	0.7
6	0.05	0.02	0.03	0.05	0.05	0.06	0.066
8	0.003	0.001	0.005	0.004	0.002	0.003	0.002

CUADRO 13

Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.25	7.3	5.48	5	5.999	7.12	6.8	4.9
0.5	4.9	3.16	5.41	3.01	4.11	3.6	4.1
0.75	1.87	1.98	1.83	2.11	2.26	1.88	1.99
1	1.9	1.8	1.59	1.59	2.23	2.13	1.89
1.25	1.16	1.144	1.2	1.13	1.1	1.2	1.15
1.5	2.49	2.61	2.6	1.59	2.48	2.7	2.5
2	0.7	0.69	0.88	0.9	0.7	0.8	0.63
4	0.05	0.054	0.062	0.063	0.06	0.049	0.072
8	0.003	0.004	0.005	0.003	0.003	0.004	0.004

CUADRO 14

Concentración en $\mu\text{g/ml}$ de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía oral en cerdos sanos obtenido a través de HPLC en suero.							
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7
0.33	0.69	0.58	1.05	0.46	1	1.69	0.51
0.75	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca
1	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca	enro+taca
1.25							
1.5							
3							
6							
8							

CUADRO 15

Valores centrales y su diferenciación de la concentración en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos a través de HPLC de una cefalona (COMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM a cerdos sanos.

TIEMPO (hrs)	MEDIA	MEDIANA	DE +/-
0.16	0.000	0	0.000
0.3	1.097	0.99	0.339
0.5	1.823	1.9	0.328
0.75	2.623	2.7	0.392
1.5	1.179	1.16	0.136
3	0.621	0.59	0.112
6	0.047	0.05	0.016
8	0.003	0.003	0.001

CUADRO 16

Valores centrales y su diferenciación de la concentración en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos a través de HPLC de una cefalona (COMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV a cerdos sanos.

TIEMPO (hrs)	MEDIA	MEDIANA	DE +/-
0.25	6.144	5.999	0.937
0.5	3.983	4.1	0.783
0.75	1.989	1.98	0.152
1	1.876	1.89	0.245
1.25	1.155	1.15	0.036
1.5	2.424	2.5	0.377
2	0.757	0.7	0.104
4	0.059	0.06	0.008
8	0.004	0.004	0.001

CUADRO 17

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES FARMACOCINETICAS DE CQMEPCT ADMINISTRADO IV EN DOSIS DE 10 mg/kg EN CERDOS SANOS				
VARIABLES	X	±EE	mediana	rango
Vida 1/2 de eliminación (h)	0.51	0.08	0.55	(0.36 - 0.93)
Concentración máxima (µg / L) *	7.96	0.77	7.80	(7.69 - 12)
Area bajo la curva (AUC) (mg . h / L) *	5.92	0.80	6.05	(5.34 - 10.3)
Area bajo la curva momento (AUCM) (mg . h / L)	4.44	0.64	4.25	(3.3 - 8.66)
Tiempo de estancia (h) *	0.74	0.10	0.75	(0.56 - 1.3)
AUC trapezoidal del último T (mg . h / L)	5.88	0.63	5.80	(5.7 - 9.9)
AUC del último T (mg . h / L)	5.92	0.68	5.91	(5.34 - 9.5)
AUCM del último T (mg . h / L)	4.40	0.46	4.33	(4.09 - 6.9)
Tiempo de estancia del último T (h)	0.74	0.06	0.75	(0.74 - 1.1)
AUC trapezoidal del último T (mg . h / L)	5.92	0.70	5.84	(5.79 - 9.9)
Vd (área) (L / Kg)	1.69	0.72	1.32	(1.22-1.72)
Volúmen de distribución del estado estable Vdss (L / Kg)	1.01	0.69	1.24	(1.01-1.28)
Depuración sistémica Cls (ml/min/kg)	1.34	0.70	1.84	(1.14-1.69)

(L)

MicroMath PkAnalyst Statistic Report, (modelo #1)

CUADRO 18

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES FARMACOCINETICAS DE CQMEPCT ADMINISTRADO IM EN DOSIS DE 10 mg/kg EN CERDOS SANOS				
VARIABLES	X	±EE	mediana	rango
Vida 1/2 de eliminación y absorción (h)	0.59	0.06	0.53	(0.42 - 0.85)
Tiempo máximo (hrs)	0.85	0.07	0.77	(0.6-1.2)
Concentración máxima (µg / mL) *	2.02	0.18	2.10	(1.09 - 2.53)
Area bajo la curva (AUC) (mg . h / L) *	4.70	0.33	4.76	(2.9 - 5.42)
Area bajo la curva momento (AUCM) (mg . h / L)	8.09	0.46	8.14	(6.19 - 9.79)
Tiempo de estancia (h) *	1.71	0.15	1.54	(1.21 - 2.3)
AUC trapezoidal del último T (mg . h / L)	4.89	0.58	4.26	(3.02 - 7.9)
AUC del último T (mg . h / L)	4.71	0.28	4.76	(3.6 - 5.4)
AUCM del último T (mg . h / L)	8.06	0.62	8.34	(6.01-10.01)
Tiempo de estancia del último T (h)	1.71	0.14	1.54	(1.21 - 2.1)
AUC trapezoidal del último T (mg . h / L)	4.89	0.45	4.80	(4.01 - 5.8)
Biodisponibilidad del fármaco	79.3	0.45	80.3	(77.4-83.8)

(L)

MicroMath PkAnalyst Statistic Report, (modelo #5)

CUADRO 19

Confiabilidad de los modelos utilizados en MicroMath Pk Analyst (L)

pka análisis (L)	IV	IM
	modelo 1	modelo 5
±DE	0.7	0.55
R cuadrada	0.95	0.95
Análisis residual	0.1	-0.32
Kurtosis	1.91	0.03
Sesgo	-2.81	0.03

* Diferencia estadística significativa (P < 0.05)

CUADRO 21

Concentración en µg/ml de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IM en cerdos sanos obtenido a travez de UV-vis en suero.

TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7	MEDIA	EE{+/-}
0.16	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000
0.3	2.7	2.6	3.9	2.6	2.7	3.2	5	3.243	0.340
0.5	7.4	5.43	5.86	6.1	5.1	6.45	7.17	6.216	0.280
0.75	10.61	8.44	8.45	9.87	9.87	8.5	8.44	9.169	0.350
1.5	5	4.1	5.17	4.6	3.97	5.22	3.1	1.451	0.290
3	2.1	1.36	2	2.18	1.12	2.66	2.4	1.974	0.210
6	0.9	0.3	0.5	0.81	0.82	0.86	0.88	0.724	0.090
8	0.24	0.2	0.3	0.33	0.2	0.22	0.22	0.244	0.020

CUADRO 22

Concentración en µg/ml de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía IV en cerdos sanos obtenido a travez de UV-vis en suero.

TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7	MEDIA	EE{+/-}
0.25	20.1	18.54	18.89	19.42	20.1	20	18.6	19.379	0.270
0.5	16.2	16.5	17.62	15.46	15	15.68	15.2	15.951	0.340
0.75	8.23	8.46	8.21	8.85	10.12	8.26	8.45	8.654	0.260
1	6.34	6.25	5.4	6.1	8	7.99	6.35	6.633	0.370
1.25	5.1	4	4.52	4	4.3	4.33	3.8	4.293	0.160
1.5	7.12	8.33	8.84	6.15	8.15	7.8	8.23	7.803	0.340
2	2.25	2.1	2.88	2.44	2.66	2.27	2.17	2.396	0.110
4	0.4	0.41	0.43	0.49	0.4	0.43	0.5	0.437	0.020
8	0.2	0.21	0.2	0.22	0.21	0.2	0.22	0.209	0.000

CUADRO 23

Concentración en µg/ml de una cefalona (CQMEPCT) en dosis de 10 mg/kg aplicada por vía oral en cerdos sanos obtenido a travez de UV-vis en suero.

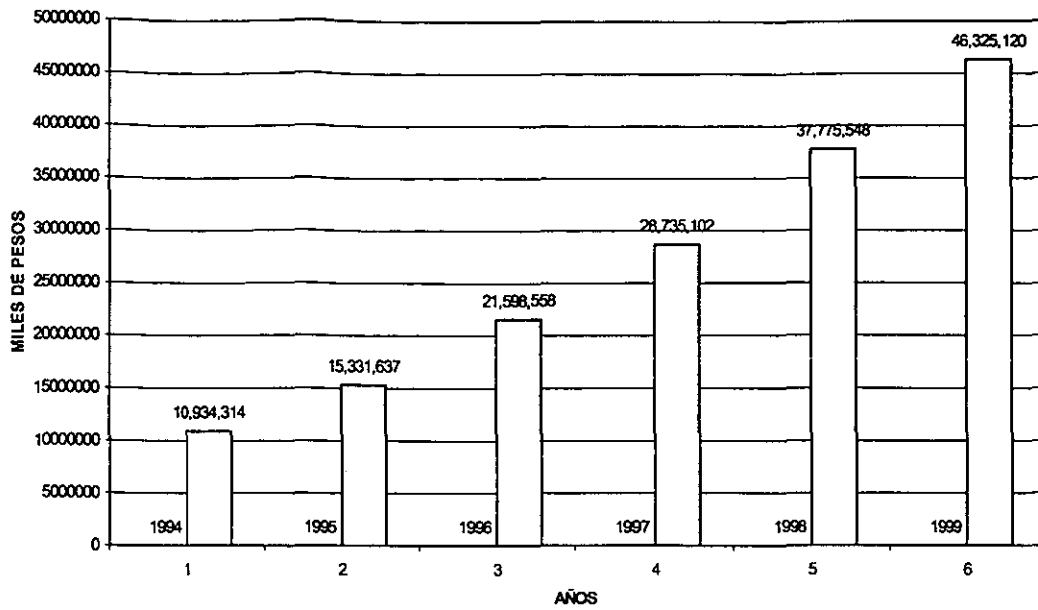
TIEMPO (hrs)	porcino 1	porcino 2	porcino 3	porcino 4	porcino 5	porcino 6	porcino 7	MEDIA	EE{+/-}
0.33	2.21	1.98	3.11	2.01	2.99	3.59	1.91	2.543	0.250
0.75									
1									
1.25									
1.5									
3									
6									
8									

Cuadro 20

Concentraciones Mínimas Inhibitorias ($\mu\text{g/ml}$) de la cefalona, fluoroquinolonas y cefalosporinas de 3^a generación.²⁷

BACTERIA	CEFALO NA	FLUOROQUI NOLONA 3 ^a Generación.	ENROFLO XACINA	NORFLOXA CINA	CIPROFLO XACINA	CEFOTAXI MA	CEFOPER AZONA
<i>Salmonella enteritidis</i> 65ATCC056	0.031	0.03	0.063	0.25	0.25	1.0	4.0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-6538-P	0.063	0.12	2.0	0.5	0.25	1.0	0.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC-10536	0.063	0.06	.5	0.25	0.063	1.0	4.0
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC-10791	0.5	0.75	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC-25619	0.5	0.75	0.5	1.0	1.0	2.0	4.0

VALOR DE VENTAS DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS EN MEXICO



VALOR DE FABRICACIÓN DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS EN MEXICO

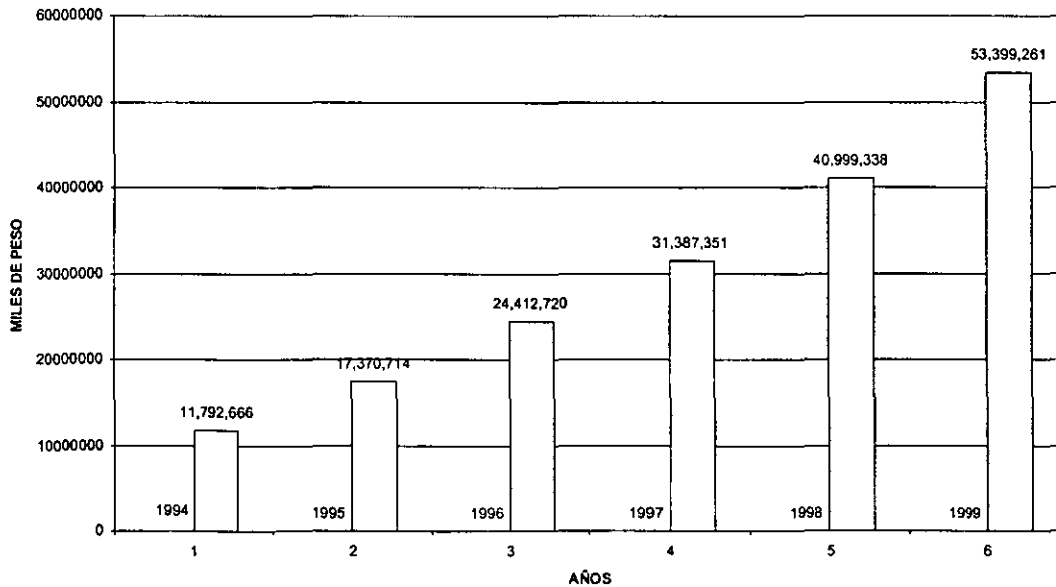
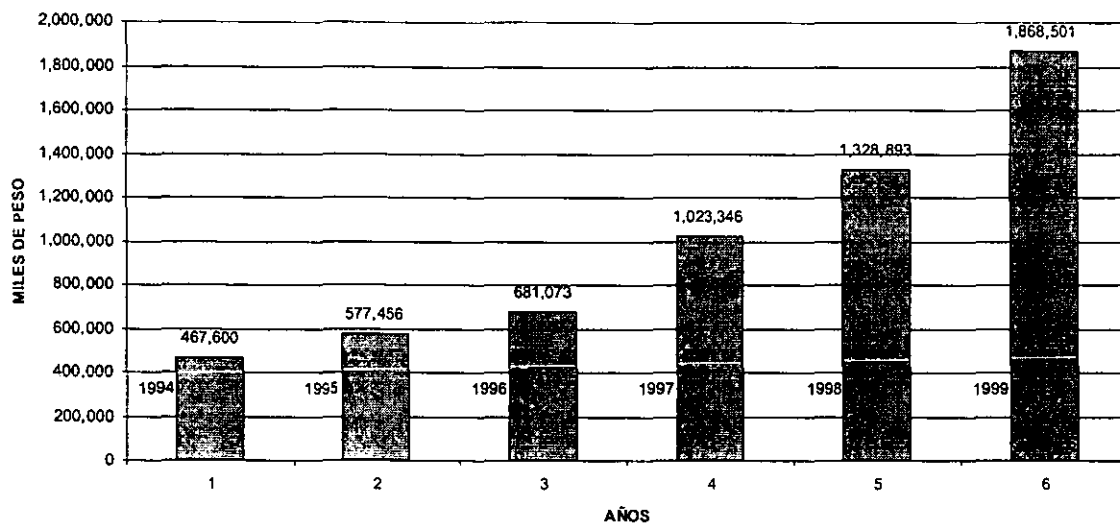


Figura 1. Costo de fabricación y de ventas de los productos farmacéuticos en México de 1994 a 1999 ^{5,15}

VALOR DE LOS PRODUCTOS FARMACEUTICOS VETERINARIOS EN MEXICO



VOLUMEN DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS VETERINARIOS

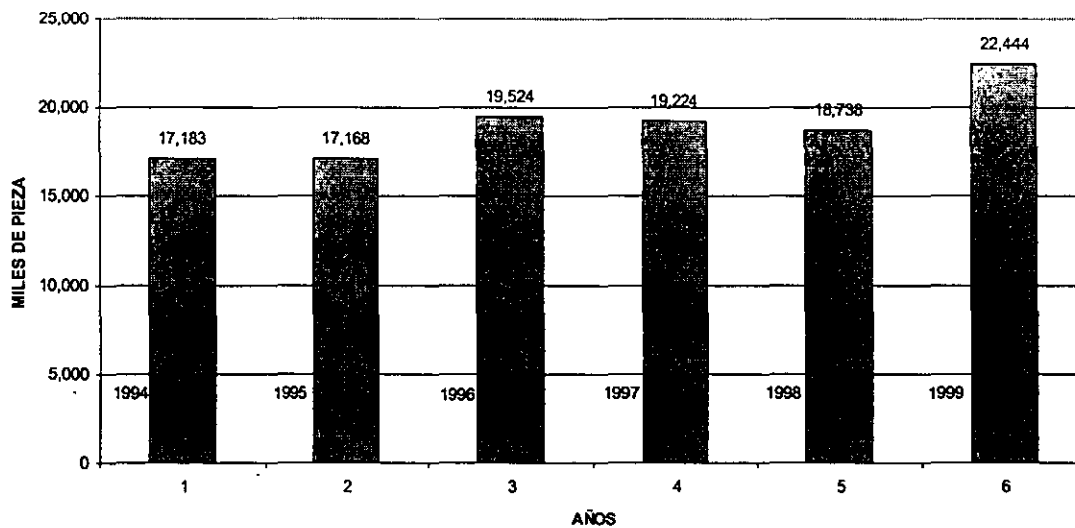
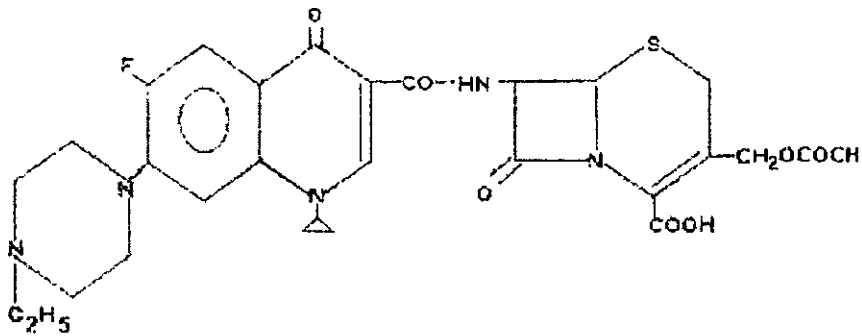


Figura 2. Volúmen producido y el costo de los Productos farmacéuticos veterinarios en México a partir de 1994 hasta el año de 1999. ^{5,15}

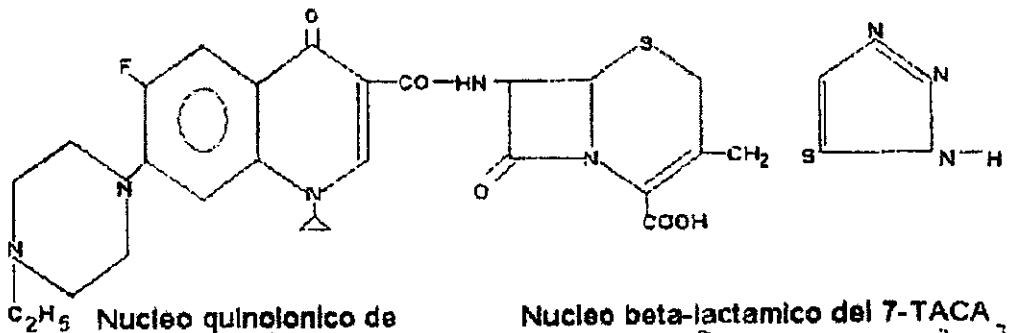
CQM-EPCA



Núcleo quinolónico de
enrofloxacin

Núcleo beta-lactámico del 7-TACA
(ácido 7-amino-cefalosporánico)

CQM-EPCT

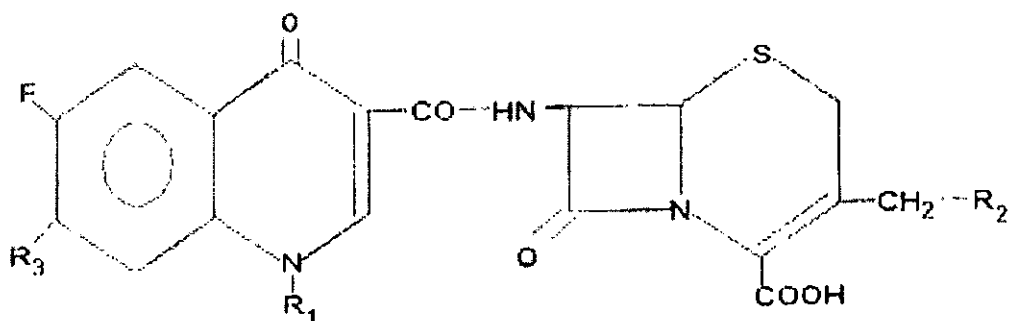
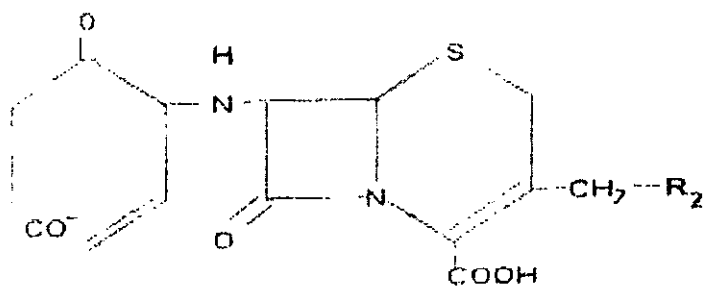


Núcleo quinolónico de
enrofloxacin

Núcleo beta-lactámico del 7-TACA
(ácido 7-amino-3 [(1,2,3-triazol-5-yl)-+10]metil]
-cefalosporánico)

FIGURA 3 Fórmula química de las cefalonas CQMEPCA y CQMEPCT.

Cefalosporina C



Nucleo quinolonico

Nucleo cefalosporanico

FIGURA 4 Tratamiento de la Cefalosporina C para dar lugar a la síntesis de la estructura molecular de las cefalonas.

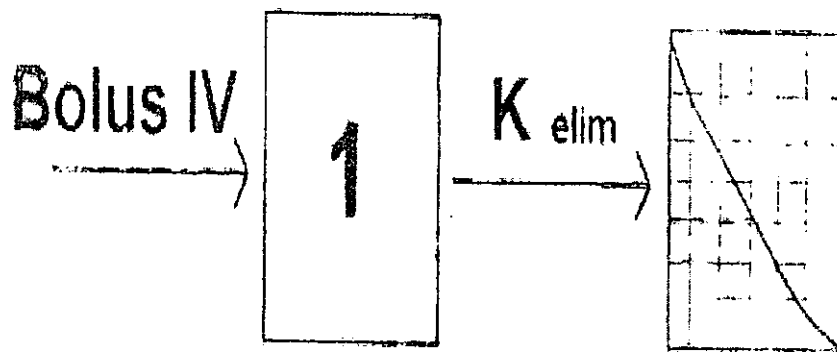


FIGURA 5. Modelo compartamental No. 1 utilizado en las concentraciones séricas a partir de la vía de administración IV

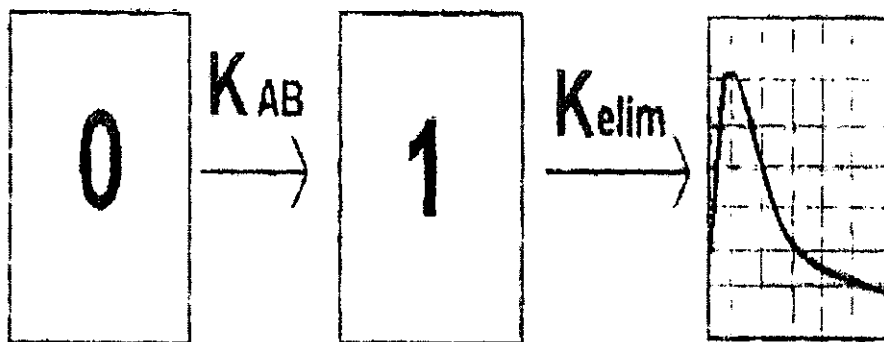


FIGURA 6. Modelo compartamental No. 5 utilizado en las concentraciones séricas a partir de la vía de administración IM

Linear Fit for Data1_B on linearized scales.
 $yscale(Y) = A + B * xscale(X)$
 where scale() is the current axis scale function.

Parameter	Value	Error
A	2.45011E-4	3.93349E-4
B	3.51639E-4	2.76607E-5

R	SD	N	P
0.97902	800726E-4 9	<0.0001	

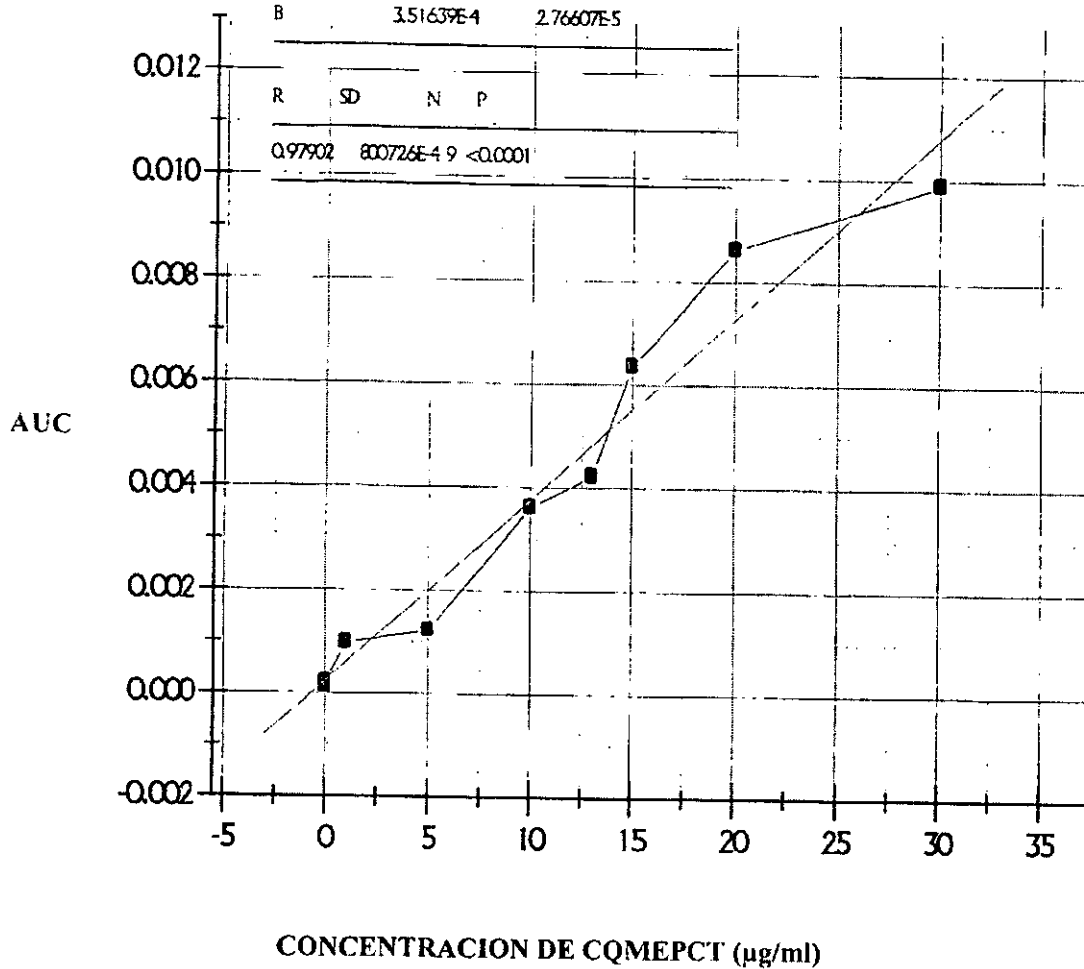


FIGURA 7 Curva de calibración del suero de cerdo adicionando concentraciones conocidas de la cefalona CQMEPCT

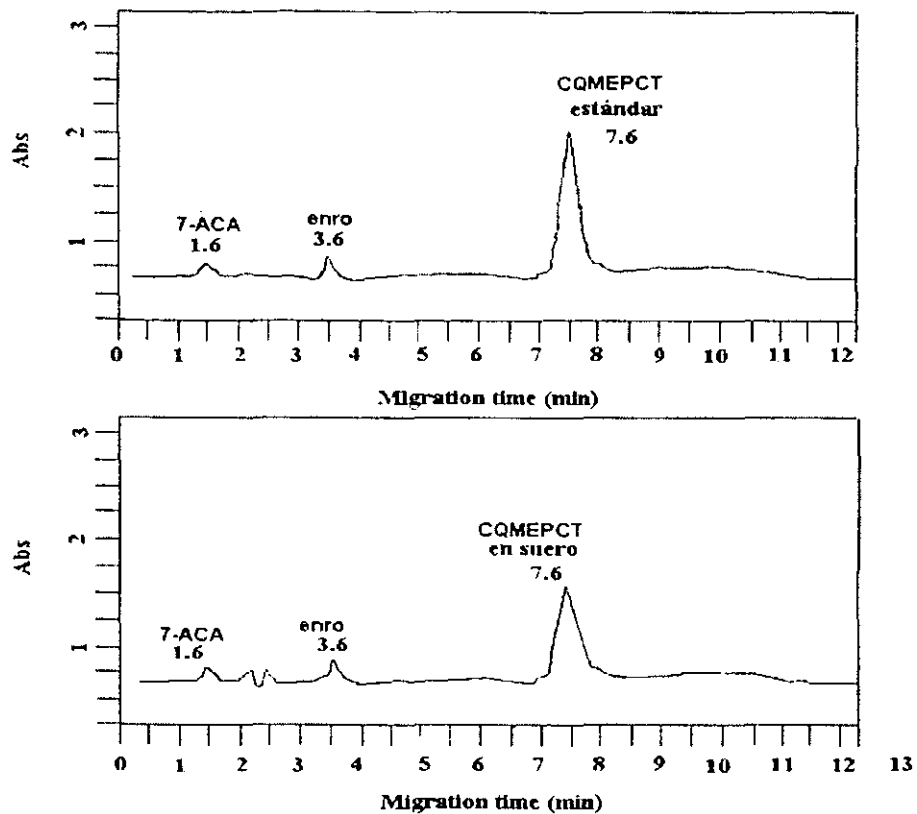


FIGURA 8 Esquematización de los cromatogramas de CQMEPCT en suero de porcino y del estándar en los que se muestra el tiempo de elusión y la presencia de enrofloxacin.

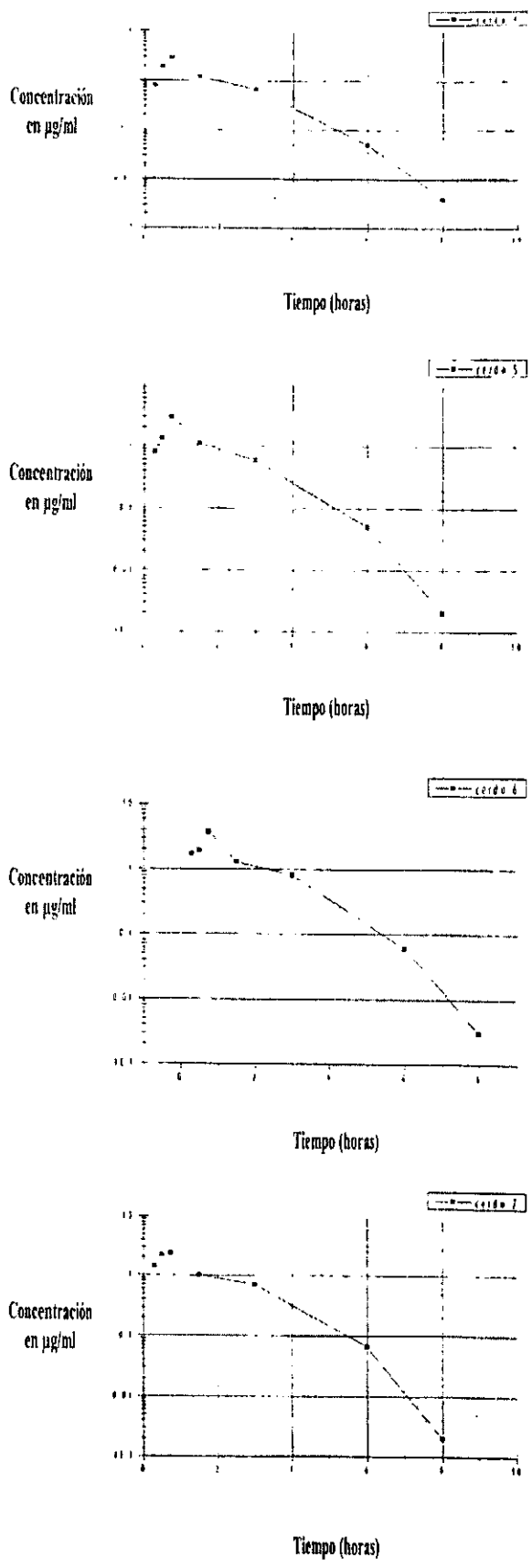
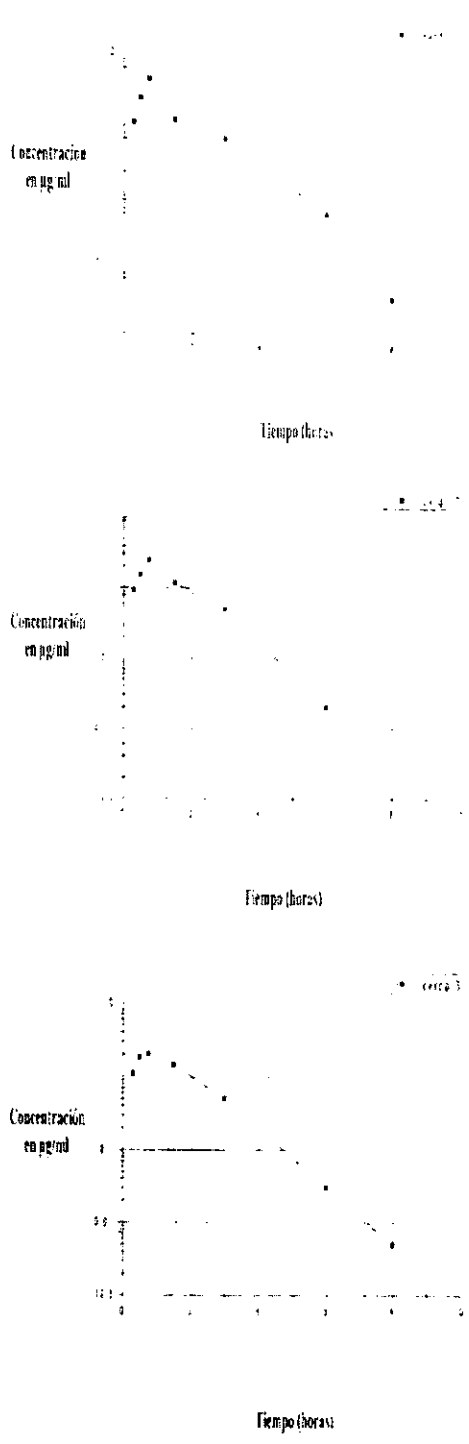


FIGURA 9 Concentración en µg/ml de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IM en cerdos.

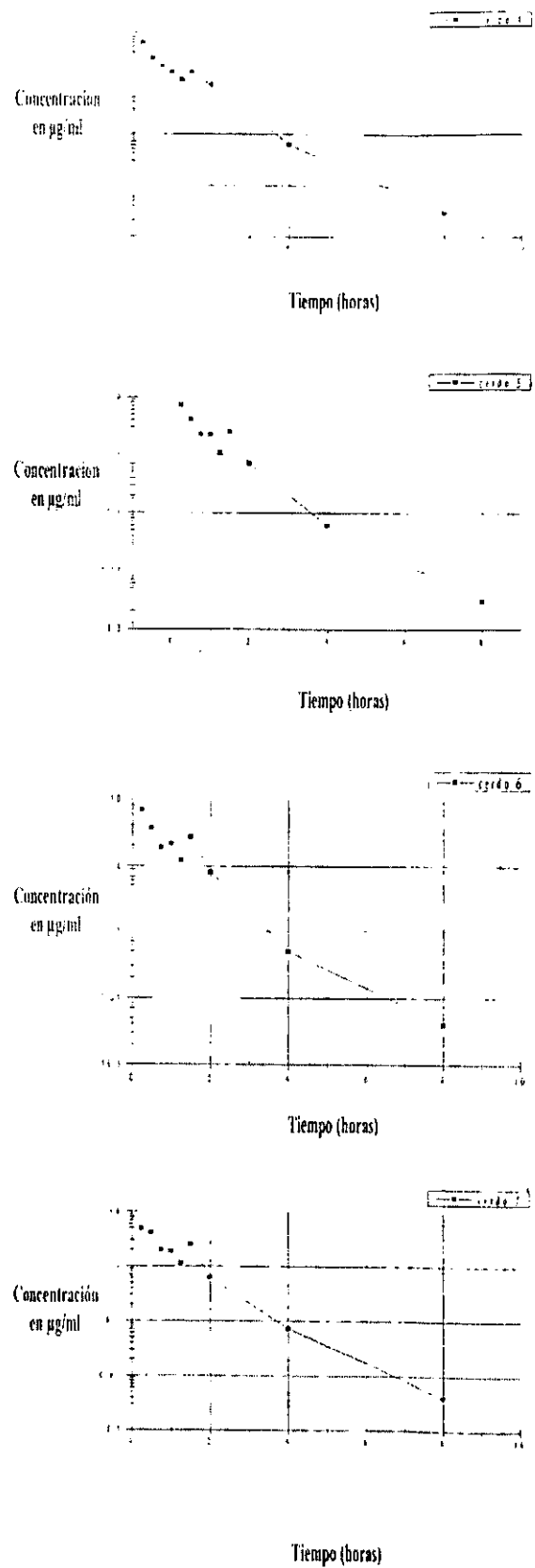
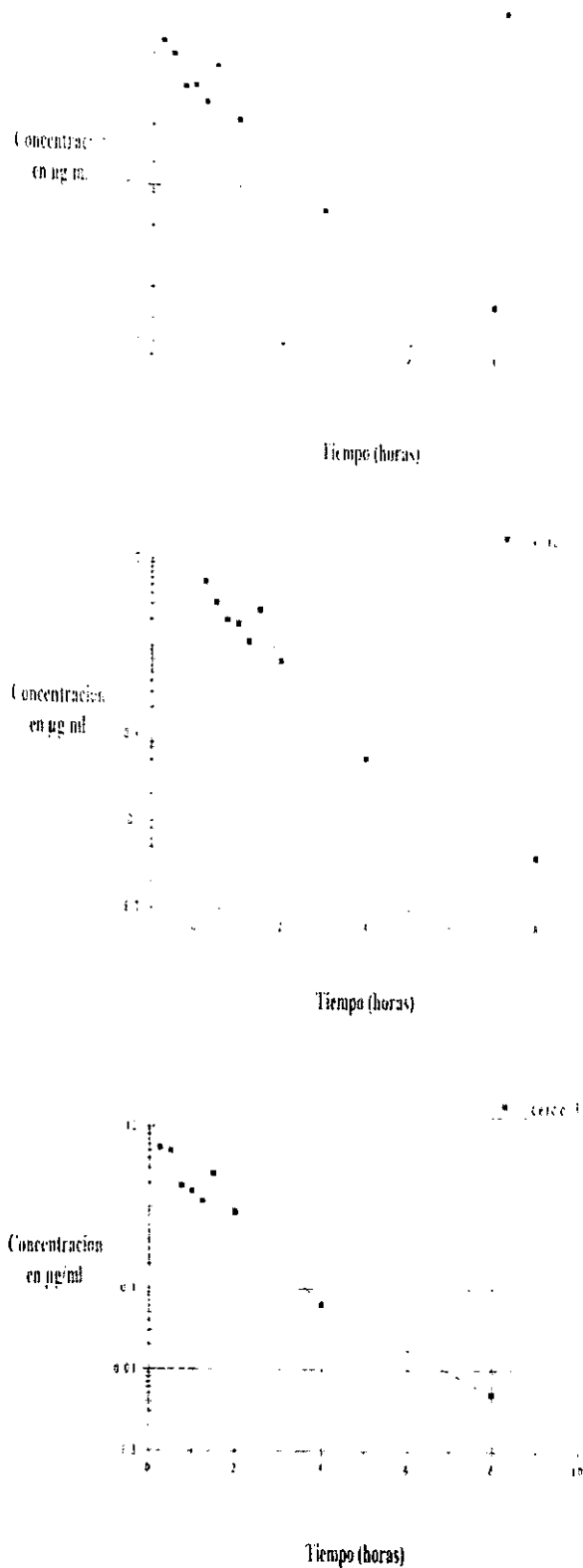
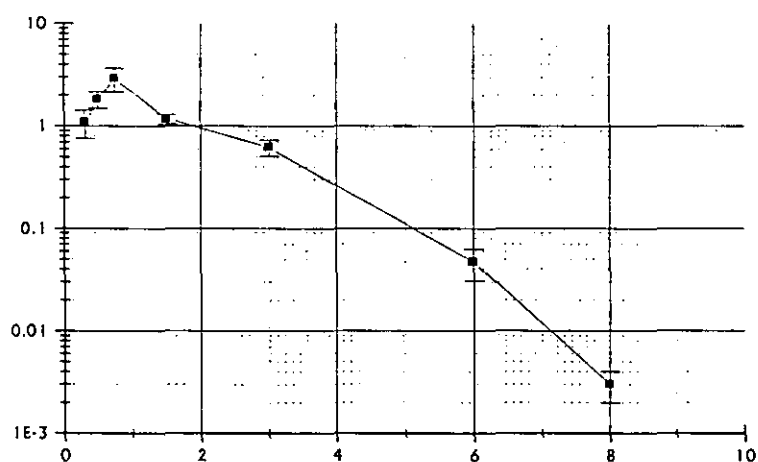


Figura 10 Concentración en µg/ml de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg / kg inoculada por vía IV en cerdos

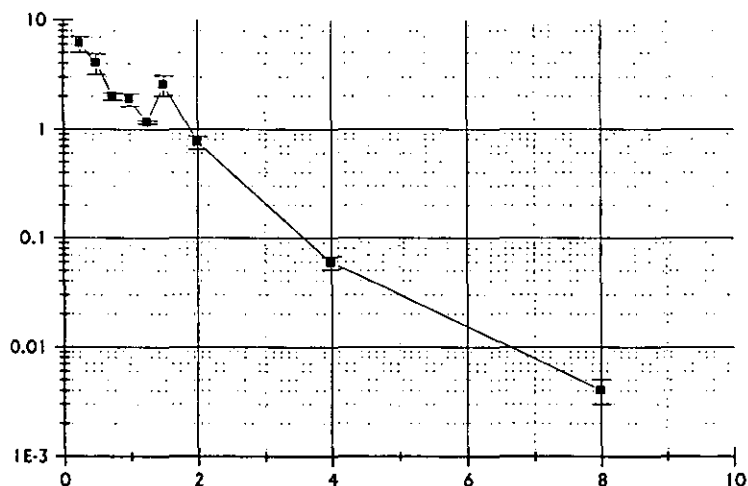
Concentración
En $\mu\text{g/ml}$



Tiempo (horas)

FIGURA 11 Concentración promedio en $\mu\text{g/ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IM mostrando la $\pm\text{DE}$.

Concentración
En $\mu\text{g/ml}$



Tiempo (horas)

FIGURA 12 Concentración promedio en $\mu\text{g/ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IV mostrando la $\pm\text{DE}$.

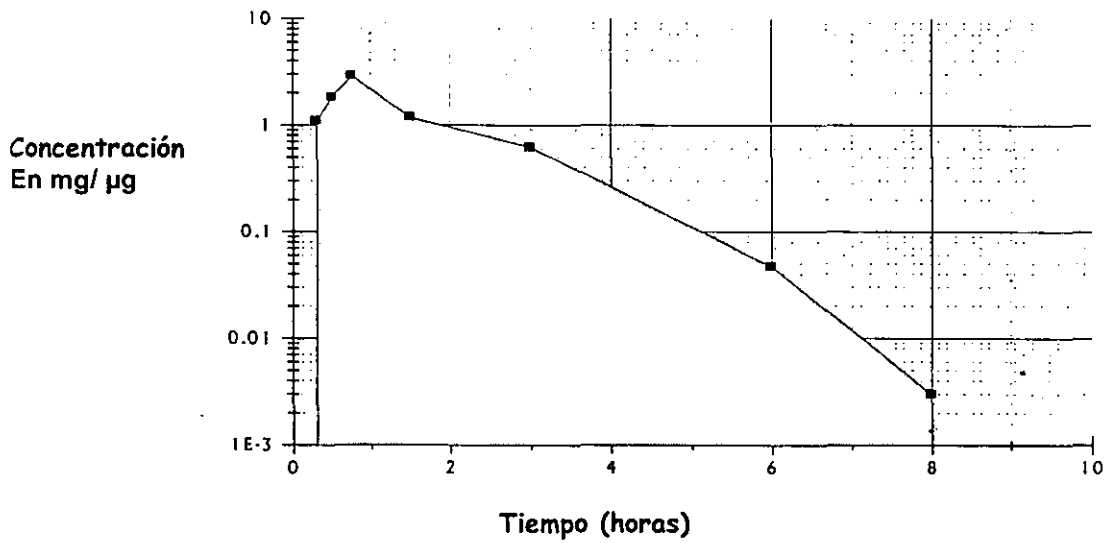


FIGURA 13 Concentración promedio en $\mu\text{g}/\text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IM marcando el área bajo la curva.

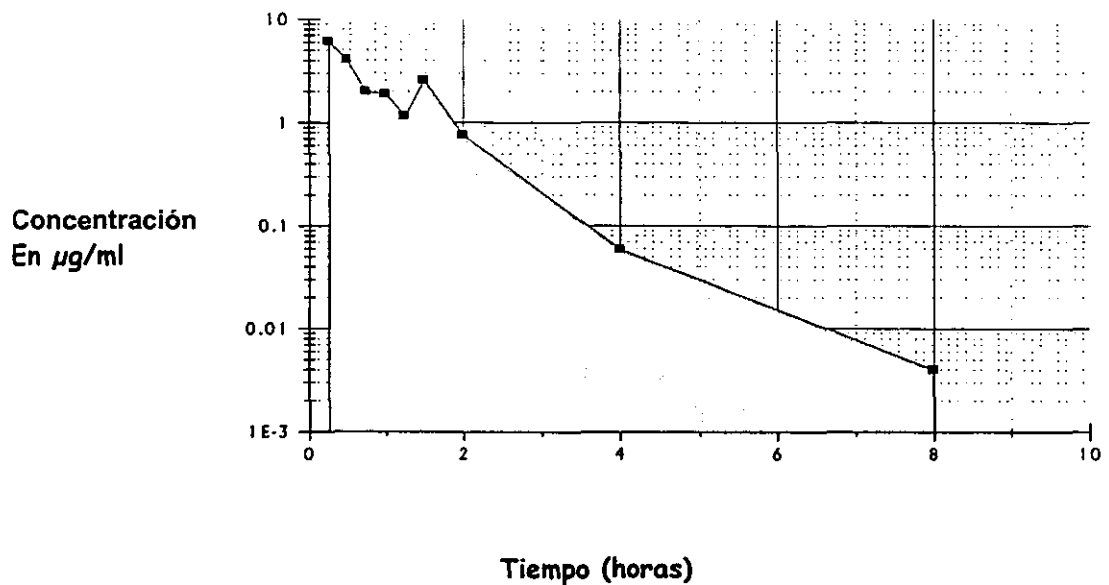


FIGURA 14 Concentración promedio en $\mu\text{g}/\text{ml}$ de la cefalona CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IV marcando el área bajo la curva.

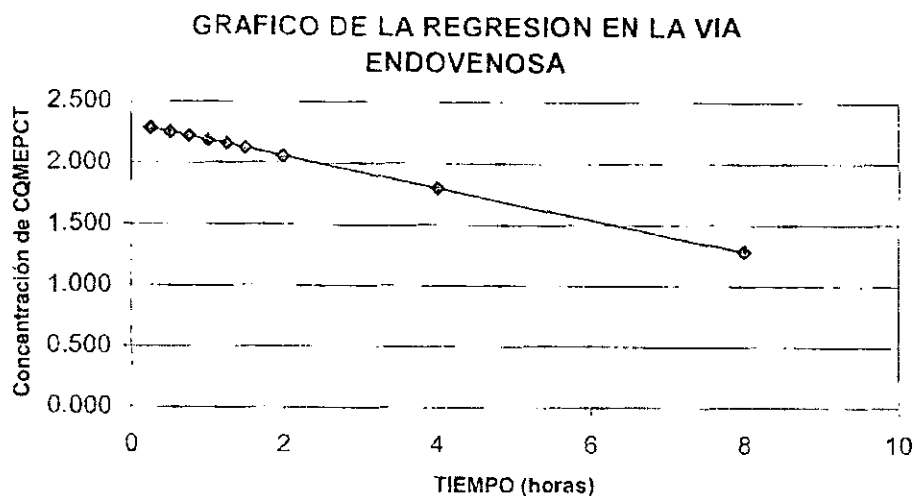


Figura 15. Gráfico de la Regresión por ecuación cuadrática ($R^2 0.87$) después de la aplicación endovenosa de CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.

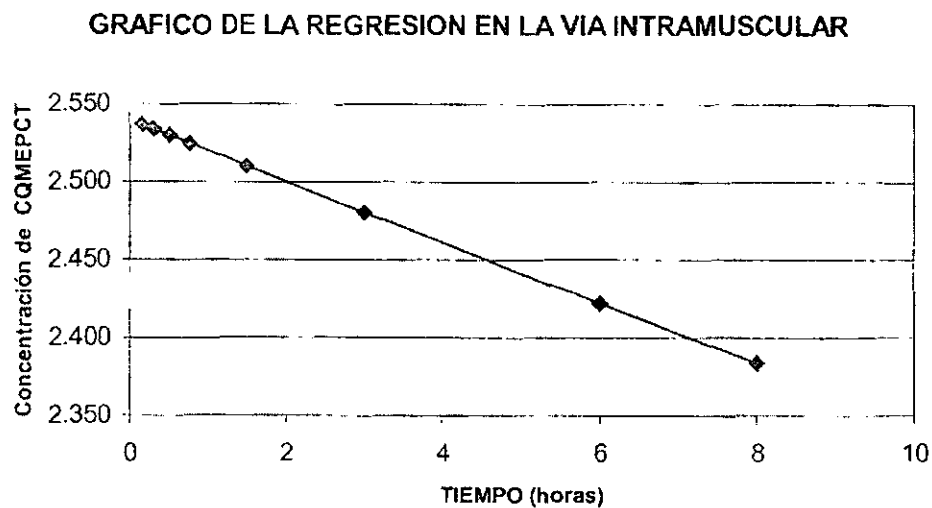


Figura 16. Gráfico de la Regresión por ecuación cúbica ($R^2 0.89$) después de la aplicación intramuscular de CQMEPCT en dosis de 10 mg/kg.

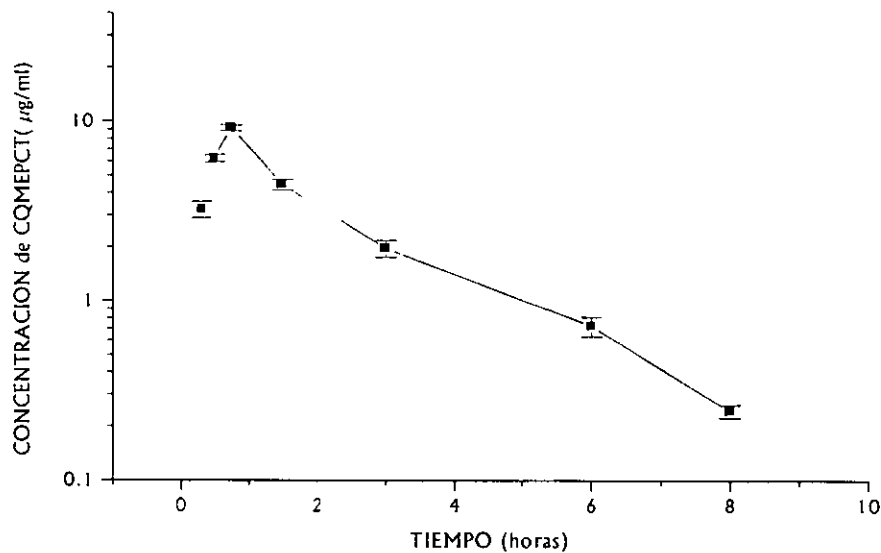


FIGURA 17. Concentración promedio en $\mu\text{g/ml}$ de la cefalona CQMEPCT obtenido del análisis UV-vis en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IM mostrando el \pm EE.

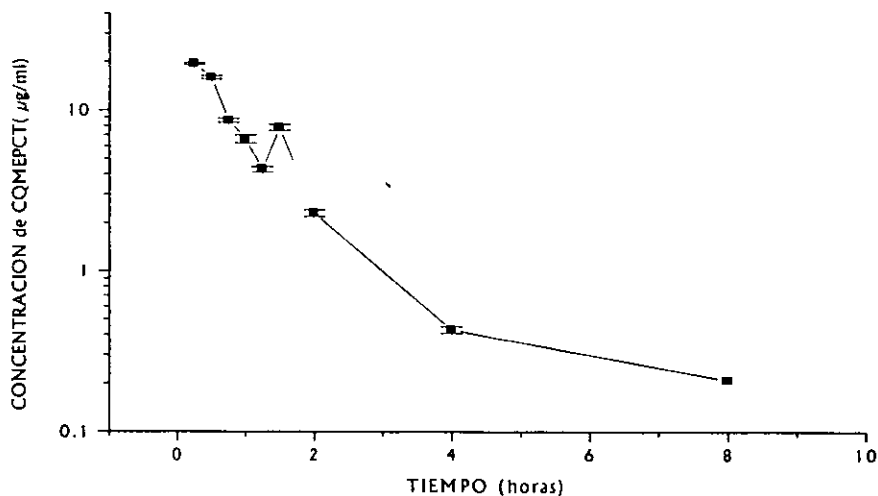


FIGURA 18. Concentración promedio en $\mu\text{g/ml}$ de la cefalona CQMEPCT obtenido del análisis UV-vis en dosis de 10 mg/kg inoculada por vía IV mostrando el \pm EE.



26 de Julio de 2005

MATERIAL : C₁ - IMPCT
NO. LOTE : 1405

DEPARTAMENTO DE SINTESIS
NO. FOLIO : 00305

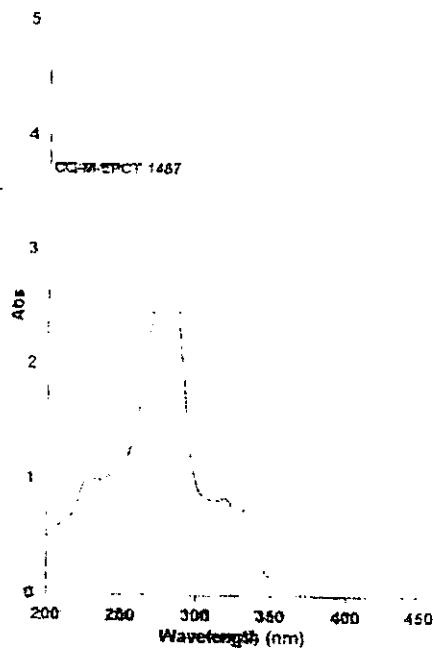
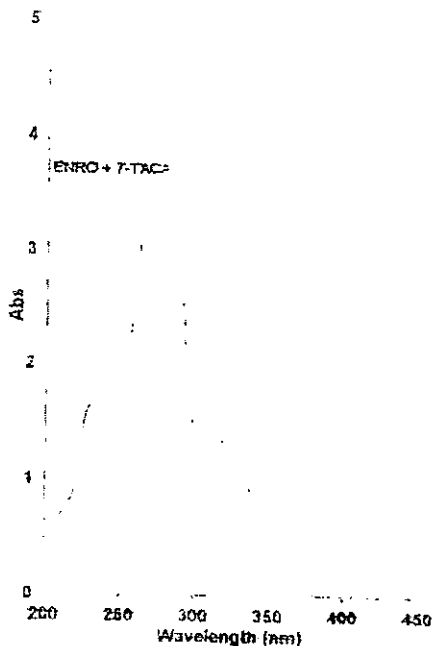
DESCRIPCION	RESULTADOS
Descripción:	Polvo fino de color amarillo homogéneo sin partículas extrañas.
Solubilidad:	Soluble en soluciones alcalinas a pH 10.0 de trietanolamina, NaOH, NH ₄ OH. Insoluble en agua y cloroformo.
Punto de Fusión:	197.5°C (descompone)
Humedad (K.F.)	1.64 %
Ensayo (NPLC)	1.6 % impureza de Enrofloxacin. 25.4 % contenido de "PCT".
Identificación (I.A. 1015)	(con la estándar de Enrofloxacin) 279.00 nm

ANALISTA
Q.F.B. LINA LAURA ROMA MUÑOZ.

Lina Laura Roma Muñoz

Laboratorio Aranda S.A. de C.V.
Instrument Serial Number EL 97313184

Anexo 2



Scan Report Jue 04 Nov 09:33:11 AM 1999

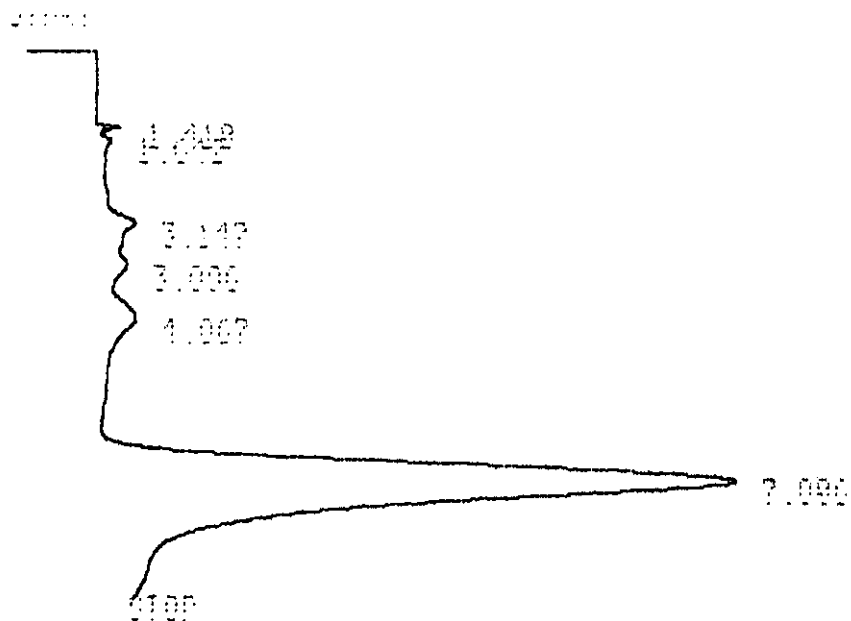
Batch:
Software version: 01.00(6)
Operator: GFB, LINA LAURA NAVA MUÑOZ.

Instrument Parameters

Instrument	97313184
Instrument Version	7.00
Start (nm)	450.000
Stop (nm)	200.000
Y Mode	Absorbance
Mode	Scan
UV-Vis Scan Rate (nm/min)	0.500
UV-Vis Integration Time (sec)	1.000
UV-Vis Step (nm)	0.100
UV-Vis Wavelength (nm)	200.000
UV-Vis Energy	1.000

**ESPECTRO ENCONTRADO EN UV-VISIBLE DE LA MOLECULA DE LA CEFALONA
CQMEPCT Y SUS PRECURSORES EN SUERO DE CERDO SANO, POR MEDIO DE HPLC.**

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**



RUN# 4 NOV 4, 1999 09:31:47

ORIGIN

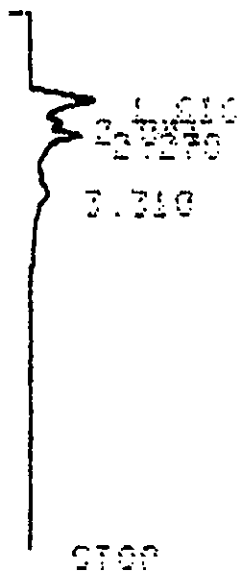
RT	AREA	TYPE	WIDTH	ORIGIN
1.118	24642	UV	.874	.20727
1.042	40306	UV	.224	.50371
3.147	204741	UV	.560	3.55564
3.006	285307	UV	.512	2.47703
4.067	400500	UV	.910	5.65289
7.096	7247616	PD	.842	87.43251

TOTAL AREA=6200702

MUL FACTOR=1.8888E+00

**REGISTRO DE CQMEPCT OBTENIDO POR HPLC EN SUERO DE CERDO SANO
ADMINISTRADO EN DOSIS DE 10 mg/kg. POR VIA INTRAMUSCULAR.**

NOV 5, 1999 00:37:22



NOV 5, 1999 00:37:22

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.310	273000	UU	.270	30.09057
3.641	114300	UU	.107	11.19080
12.270	204124	UU	.207	20.79977
13.310	233112	UU	.075	23.49500

L AREA=1931701
 FACTOR=1.00000E+00

REGISTRO DE CQMEPCT OBTENIDO POR HPLC EN SUERO DE CERDO SANO
 ADMINISTRADO EN DOSIS DE 10 mg/kg. POR VIA ORAL.