

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE
CLORANFENICOL EN CAPSULAS DE
250 mg DEL COMERCIO NACIONAL**

TESIS MANCOMUNADA

**MARIA DE LA PAZ COLIN MIRANDA
ESMERALDA ZIRATE VERA**

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1983



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.

C O N T E N I D O

Capítulo I		pag. 1
	Introducción y Objetivo.	
Capítulo II		pag. 6
	Generalidades.	
Capítulo III		pag. 11
	Parte Experimental.	
	3.1 Antecedentes (Estudios "in vitro").	
	3.2 Selección de los Productos.	
	3.3 Estudios "in vivo".	
	3.3.1 Método Analítico.	
	3.3.2 Selección de los Animales de Experimentación.	
	3.3.3 Diseño Experimental.	
	3.3.4 Obtención de las Muestras Plasmáticas.	
	3.3.5 Determinación de las Concentraciones Plasmáticas de Cloranfenicol.	
	3.4 Estudios "in vitro".	
Capítulo IV		pag. 30
	Resultados	
	4.1 Estudios "in vivo".	
	4.4.1 Método Colorimétrico para Determinar Cloranfenicol.	

- 4.1.2 Reproducibilidad y Linealidad.
- 4.1.3 Bioequivalencia.
- 4.2 Estudios "in vitro".

Capítulo V

pag. 47

Análisis de Resultados y Discusión.

- 5.1 Estudios "in vivo".
 - 5.1.1 Método Colorimétrico para Determinar Cloranfenicol en Plasma.
 - 5.1.2 Niveles de Cloranfenicol en Plasma.
 - 5.1.3 Bioequivalencia.
- 5.2 Estudios "in vitro".

Capítulo VI

pag. 66

Conclusiones.

Capítulo VII

pag. 67

Bibliografía.

C A P I T U L O I

I N T R O D U C C I O N

Se ha demostrado que medicamentos farmacéuticamente equivalentes, pueden producir respuestas terapéuticas completamente distintas, es decir, la equivalencia química cuantitativa y calitativa de formas farmacéuticas similares no garantiza la misma eficacia terapéutica. Esto se debe principalmente a las características físicas y fisicoquímicas del fármaco y la forma farmacéutica (1).

Cuando se administra un medicamento por vía oral se ven involucradas algunas de las siguientes etapas, como determinantes de la respuesta terapéutica esperada:

- a) Liberación del principio activo
- b) Absorción del fármaco en el sitio de absorción
- c) Distribución en los diferentes tejidos
- d) Excreción del fármaco

Como el proceso de disolución antecede al proceso de absorción, el paso limitante puede ser la velocidad de liberación del fármaco a partir del medicamento, por lo tanto si alguna causa altera la velocidad de disolución, puede alterar también la velocidad de absorción del principio activo.

Debido a esto surgió la prueba de disolución, la cual ha -

alcanzado una gran importancia, debido a que es uno de los parámetros "in vitro" que puede predecir la liberación del principio activo de un medicamento dentro del organismo.

Es necesario que la prueba "in vitro" esté respaldada por estudios "in vivo", es decir, estudios de biodisponibilidad. La biodisponibilidad es el estudio de la cantidad del fármaco que se absorbe al torrente circulatorio y la velocidad con que este fenómeno sucede; de esta forma la biodisponibilidad es el parámetro de calidad que nos indica la eficacia terapéutica del medicamento (1).

Dos formas farmacéuticas se consideran químicamente equivalentes cuando contienen igual dosis del mismo fármaco. En cambio se denominan bioequivalentes aquellas formas farmacéuticas que, estadísticamente producen niveles plasmáticos iguales, cuando los medicamentos se administran bajo las mismas condiciones de experimentación (1).

Las preparaciones de fármacos que son escasamente solubles en agua, como es el caso del Cloranfenicol, pueden presentar diferencias considerables en sus velocidades de disolución y como consecuencia pueden también presentar, marcadas diferencias en la absorción (2).

Se ha estudiado el efecto del tamaño de partícula del Clo-

ranfenicol en absorción intestinal de conejos, encontrando una concentración menor y retardada cuando se administran medicamentos conteniendo el antibiótico con un tamaño de partícula grande, aunque la cantidad total de fármaco absorbida fué casi la misma en todos los casos (3).

Existen reportes en los cuales se demuestra que, medicamentos químicamente equivalentes para uso oral pueden ser diferentes de acuerdo a su cinética de disolución y/o sus características de absorción, propiedades fisicoquímicas del fármaco y excipientes como son tamaño y forma del cristal, etc. Bajo estas circunstancias Glazko y col. (3), consideraron interesante llevar a cabo un estudio de absorción en humanos, utilizando los niveles sanguíneos y la excreción urinaria, como medidas para evaluar las características de absorción de cuatro preparaciones orales de cloranfenicol químicamente equivalentes. El estudio reveló -- marcadas diferencias en las características de absorción de esas preparaciones, por lo que resultó evidente que en el hombre no se producirán niveles plasmáticos equivalentes.

Mercer y col. (4), realizaron también un estudio de biodisponibilidad con cinco productos de cloranfenicol, provenientes de cuatro diferentes fabricantes. Se administraron dosis múltiples de cloranfenicol a 24 perros "beagle" para comparar las concentraciones en la sangre obtenidas a partir de varias formas farmacéuticas, (cápsulas, solución oral y preparaciones intramus

culares). Los resultados indicaron que la biodisponibilidad de esas cuatro preparaciones varía considerablemente. La conclusión fué que en el hombre, la administración de estas cuatro preparaciones provocará concentraciones inequivalentes de cloranfenicol en el plasma.

En el Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, se llevó a cabo en 1974, un estudio de disponibilidad biológica de cloranfenicol (5). Se estudiaron los niveles sanguíneos de cloranfenicol de ocho diferentes marcas en 16 voluntarios sanos que recibieron una dosis única de un gramo por vía oral. Los niveles mayores se obtuvieron con una de las marcas, pero solamente en dos de ellas se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Con las ocho marcas se obtuvieron niveles superiores a los 10 mcg/ml, tanto a las dos como a las cuatro horas de ingerido el cloranfenicol. Se concluye que existen diferencias en la biodisponibilidad del cloranfenicol entre los niveles sanguíneos alcanzados por las ocho marcas.

Como un antecedente a esta tesis, se realizaron estudios de disolución en el equipo de la USP XX en doce productos pertenecientes al comercio nacional (6). Los resultados obtenidos sugieren que probablemente en nuestro país, algunas cápsulas de cloranfenicol presenten problemas de bioequivalencia y consecuentemente fallas de eficacia clínica. Por lo tanto, algunos de estos lotes que tienen baja disolución en las condiciones estudia-

das, se utilizarán en este trabajo de tesis en un estudio de bioequivalencia "in vivo", empleando niveles de concentración sanguínea que se obtienen al administrar los productos a un grupo de doce perros "beagle".

La hipótesis de trabajo de esta tesis es la siguiente: - "Los productos del mercado nacional, que se van a estudiar (cápsulas de Cloranfenicol de 250 mg), no deben tener diferencia estadísticamente significativa en la biodisponibilidad". La evaluación estadística se realizará por el análisis de varianza correspondiente al diseño de cuadrado latino.

Los objetivos del presente trabajo son:

a) Conocer la bioequivalencia del Cloranfenicol en cápsulas de 250 mg del comercio nacional, determinando la biodisponibilidad relativa del Cloranfenicol por medio de los niveles plasmáticos del fármaco en perros "beagles".

b) Comparar los estudios "in vivo" e "in vitro" tratando de encontrar una correlación con la cual se pueda conocer la biodisponibilidad de productos de Cloranfenicol sin que sea necesario efectuar la prueba de biodisponibilidad "in vivo". Por consiguiente determinar si las pruebas de disolución realizadas con anterioridad (6), son convenientes para predecir cuales productos van a presentar una biodisponibilidad inadecuada.

CAPÍTULO II

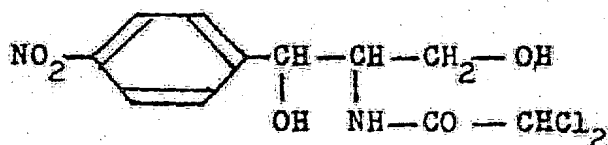
GENERALIDADES

El Cloranfenicol es un antibiótico producido por *Streptomyces venezuelae*, hongo aislado por Paul Burkholder en 1947 a partir de una muestra de suelo recolectada en Venezuela, y llevada a los laboratorios Parke-Davis de los Estados Unidos por Oliver Kamm (?). Su estructura es relativamente simple pero interesante, ya que son pocos los productos naturales con los grupos nitró aromático y halógeno en la misma molécula. Cuando la estructura química del Cloranfenicol se elucidó y confirmó por síntesis y estudios de difracción de rayos X; este se empezó a preparar por síntesis química, la cual en la actualidad, resulta un procedimiento relativamente sencillo y barato en comparación con la extracción a partir de la fermentación (7,19).

2.1 Nombre Químico, Sinónimos y Estructura Química.

Inicialmente esta sustancia se llamó Cloromicetina, debido a que contiene cloro en su molécula y a que se había obtenido de un actinomiceto. Su nombre químico es: D(-)treo-1-(p-nitrofenil)-2-dicloroacetamido-1,3-propanodiol. Aunque comúnmente se conoce con otros nombres: Quemisetina y Cloramex por ejemplo.

Fórmula Desarrollada:



Fórmula Condensada: $C_{11}H_{12}N_2O_5Cl_2$

Peso Molecular: 323.14.

Su molécula posee dos carbonos asimétricos, y como consecuencia existen cuatro posibles isómeros: D(-)treo, L(+eritro, L(+treo y D(-)eritro. Cada uno de ellos presenta diferencias en la actividad biológica, ya que esta es exclusiva del isómero -- D(-)treo (isómero natural), los demás son prácticamente inactivos (7, 20).

2.2 Propiedades Fisicoquímicas.

Apariencia: Presenta un aspecto de cristales finos en forma de agujas o escamas alargadas de color blanco grisáceo o amarillento, inodoro y de sabor muy amargo.

Solubilidad: Es ligeramente soluble en agua (2.5 mg/ml), muy soluble en metanol, etanol, acetona y acetato de etilo.

Estabilidad: Es muy estable, no lo afectan las oscilaciones del pH entre 2.0 y 9.0. Resiste la temperatura de ebullición del agua, la solución acuosa saturada (0.25%) se conserva a la temperatura del refrigerador durante meses, pero las soluciones más débiles se alteran días o semanas después de preparadas.

pH de la solución saturada: 4.5 - 7.5.

Punto de fusión: (149 - 153)°C.

Rotación Específica: Una solución de 50 mg/ml presenta una rotación específica de +18.5 - +21.5 a 20 °C y +17 - +20 a

25 °C (8).

2.3 Espectro en la Región del Ultravioleta.

El Cloranfenicol presenta en la región del ultravioleta un espectro de absorción característico: $\left\{ \begin{array}{l} 1\% \\ 1 \text{ cm} \end{array} \right. = 298 \text{ a } 278 \text{ nm (8)}.$

2.4 Propiedades Farmacocinéticas.

El Cloranfenicol se absorbe con rapidez en el tracto gastrointestinal; a los 30 minutos ya se encuentra una concentración elevada en el plasma y el máximo de absorción se alcanza en aproximadamente dos horas (3,5).

Su amplia y rápida distribución en los fluidos corporales permite que pase al líquido cefalorraquídeo alcanzando fácilmente concentraciones terapéuticas. El Cloranfenicol también se encuentra en la bilis, la leche y el semen. Atraviesa fácilmente el humor acuoso del ojo y la barrera placentaria, alcanza en el plasma fetal una concentración de 30 a 80% de la que se encuentra en la sangre de la madre (7).

2.5 Mecanismo de Acción.

El Cloranfenicol se puede considerar como un agente predominantemente bacteriostático. El decremento en el crecimiento bacteriano es función de la concentración del antibiótico, y la correlación se puede expresar como una curva de dosis-respuesta. Inicialmente se descubrió que el Cloranfenicol inhibía la síntesis

sis de enzimas inducidas y más tarde se concluyó que este efecto se podía generalizar como una inhibición de la síntesis de proteínas. Se encontró que la primera etapa de esta síntesis consistente en la activación de los aminoácidos, transcurría normalmente en presencia del antibiótico. Se observó también que la RNA-aminoaciltransferasa se acumulaba en las bacterias, debido a un bloqueo en la ruta metabólica. La conclusión fué que el Cloranfenicol inhibe la biosíntesis de proteínas, ya que compete con el RNA mensajero enlazándose a los ribosomas en las subunidades 50s, y como consecuencia la polimerización de aminoácidos a polipéptidos no puede llevarse a cabo. Esta inhibición es un efecto estereoespecífico de la molécula del antibiótico ya que no se observa con los isómeros restantes (19).

2.6 Propiedades Farmacológicas y Tóxicas.

Es altamente activo contra una amplia variedad de microorganismos gram-positivos y gram-negativos muchos de los cuales no eran afectados por los antibióticos importantes anteriores. Su acción antibacteriana lo ha hecho especialmente útil en enfermedades como la fiebre tifoidea y en la prevención de las infecciones postquirúrgicas. Es importante en las infecciones por rickettsias y microorganismos del grupo psitacosis-linfogranuloma venéreo (19).

El Cloranfenicol produce graves reacciones secundarias como las discrasias sanguíneas e incluso anemia aplástica con pan-

citopenia. En los lactantes, si se administra durante las dos primeras semanas de vida, suele causar el "síndrome gris de los niños" que puede ser mortal. Por esta razón el tratamiento con Cloranfenicol debe limitarse a las infecciones en las que, según las pruebas de sensibilidad, los agentes causantes sean muy susceptibles al mismo. Cuando se cuenta con otros antibióticos igualmente eficaces y menos tóxicos que el Cloranfenicol deben preferirse a este (7,20).

CAPITULO III
PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Antecedentes (Estudios "in vitro").

En un trabajo de tesis anterior al presente (6), se llevaron a cabo estudios "in vitro", para los cuales se emplearon cápsulas de Cloranfenicol Levógiro de 250 mg. Se estudiaron doce productos de seis laboratorios diferentes, 100 cápsulas por cada producto de un mismo lote.

En la tabla I se enlistan los productos farmacéuticos estudiados. A cada medicamento se le asignó una letra como clave para hacer más práctica su identificación.

Para poder llevar a cabo el estudio de disolución, fué esencial hacer previamente las pruebas básicas de calidad (variación de peso y contenido), con el objeto de determinar la equivalencia química de cada uno de los lotes. Las pruebas físicas de control de calidad fueron: peso promedio y variación de peso. -- Las analíticas: contenido y variación de contenido, determinados por el método espectrofotométrico y solamente contenido analizado por el método microbiológico. En la tabla II se presentan los resultados. Se realizaron pruebas de disolución en ácido clorhídrico 0.1 N y pH 1.2, utilizando dos métodos: canasta y propelas. El de canasta se hizo a 100 r.p.m. y el de propelas a 75, 50 y 25 r.p.m.; ver figuras 1, 2, 3 y 4 (perfiles de disolución).

TABLA I: MEDICAMENTOS DE CLORANFENICOL. A LOS QUE SE LES
REALIZO EL ESTUDIO DE DISOLUCION.

(cápsulas de 250 mg de Cloranfenicol.)

PRODUCTO	FABRICANTE
A	I
B	I
C	I
D	II
E	II
F	II
G	III
H	III
I	IV
J	IV
K	V
L	VI

TABLA II : RESULTADOS DE LAS DETERMINACIONES DE CONTROL DE CALIDAD DE LOS DOCE PRODUCTOS COMERCIALES.

PROD.	VARIACION				VARIACION DE		
	DE PESO		QUIM.	MICROB.	CONT. QUIMICO		
	n=10				n=3		
	X(mg)	%max	%min	mg/cap	mg/cap	X(mg)	S
A	351.0	2.14	1.96	265.5	246.6	268.5	0.42
B	343.6	1.98	2.59	268.1	272.6	261.1	0.33
C	356.9	2.17	1.78	272.5	276.9	272.4	0.56
D	346.9	5.70	6.60	254.9	254.4	252.8	2.92
E	285.4	1.60	1.6	253.5	271.1	258.8	2.42
F	354.6	0.71	0.67	257.7	268.9	258.4	1.02
G	436.6	0.94	1.17	258.0	264.8	258.0	0.60
H	426.2	1.07	0.98	259.7	268.9	259.6	0.66
I	285.7	3.30	2.04	252.3	257.9	253.0	0.64
J	280.0	3.27	3.33	247.5	245.6	248.0	0.55
K	370.1	0.91	0.62	249.6	260.6	250.6	0.95
L	296.0	4.09	3.41	251.6	246.0	250.9	1.05

X = PROMEDIO

S = DESVIACION ESTANDAR

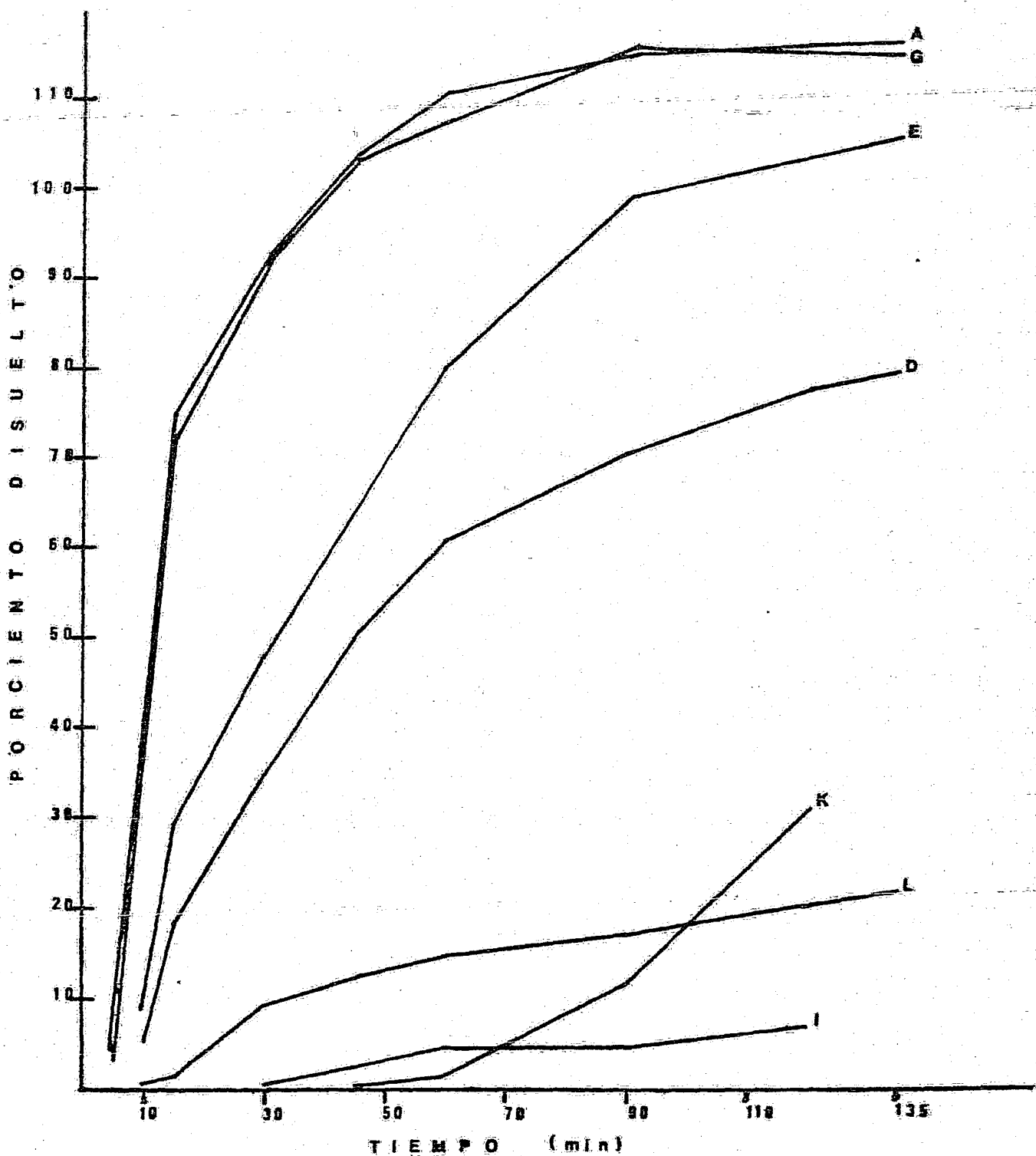


FIGURA 1

PERFIL DE DISOLUCION DE 7 PRODUCTOS COMERCIALES DE CLORAMFENICOL METODO DE CANASTILLAS A 100 R.P.M. EN ACIDO CLORHIDRICO pH=1.2.

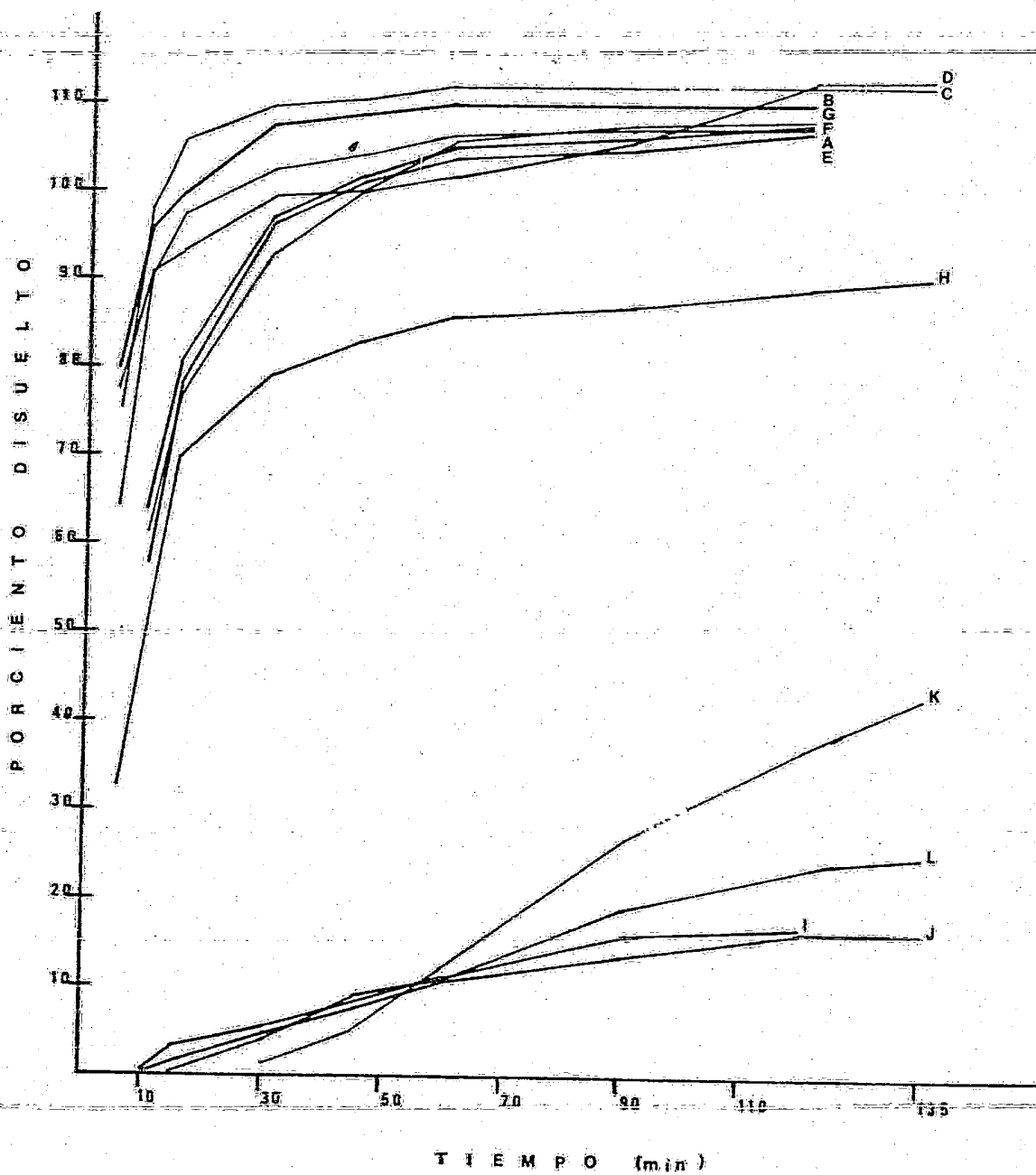


FIGURA 2
 PERFIL DE DISOLUCION DE 12 PRODUCTOS COMERCIALES DE CLORANFENICOL
 METODO DE PROPELAS A 75 R.F.M. EN ACIDO CLORIDRICO 0.1 P. H. L.

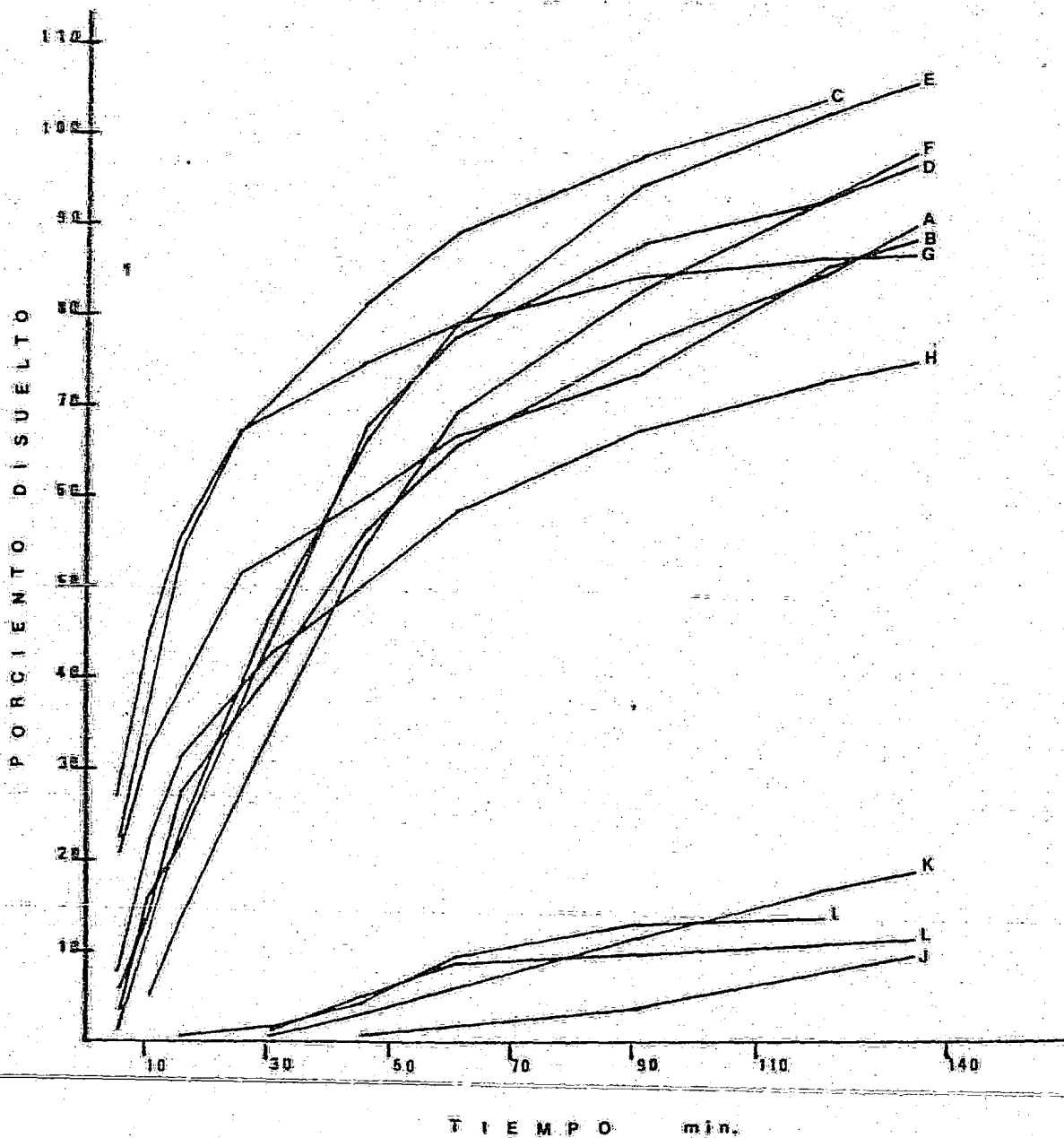


FIGURA 3

PERFIL DE DISOLUCION DE 12 PRODUCTOS COMERCIALES DE CLORANFENICOL
 EN UN VOLUMEN DE 100 ML. A 30 R.P.M. EN ACIDO CLORHIDRICO 0.1 N pH 1.2

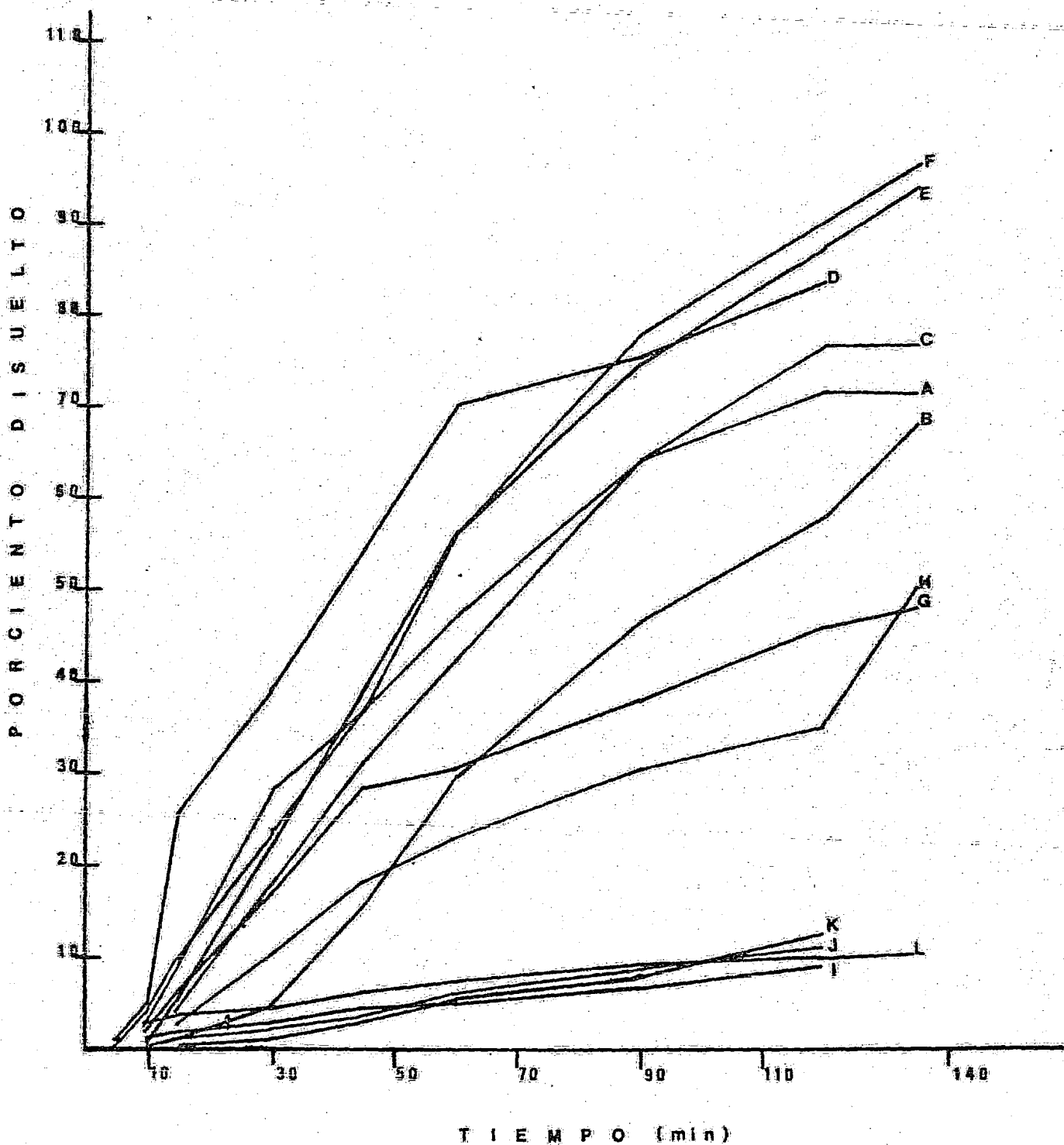


FIGURA 4
 PERFIL DE DISOLUCION DE 12 PRODUCTOS COMERCIALES DE CLORANFENICOL
 METODO DE PROPELAS A 25 R.P.M. EN ACIDO CLORHIDRICO 0.1 N pH 1.2

3.2 Selección de los Productos.

Se encontró que los doce productos comerciales de Cloranfenicol provenientes de siete fabricantes del mercado nacional, -- cumplen con los requerimientos que especifica el C.F.R. part. -- 455.110 (9), respecto a variación de peso y contenido. Por lo -- tanto se pueden considerar como productos química y farmacéutica -- mente equivalentes.

Sin embargo, al estudiar el perfil de disolución de es-- tos productos comerciales, se encontró una gran variación en el comportamiento de disolución de cada uno de ellos. Los productos con la clave I, J, K y L presentan una disolución muy pobre. Ver figuras 1, 2, 3, y 4.

Tomando en cuenta estos resultados, se seleccionaron tres medicamentos que poseían baja disolución y uno que presentó alta disolución (producto D), para realizarles el estudio de biodisponibilidad.

Es conveniente aclarar que inicialmente, se había planeado administrar como punto de comparación, una solución acuosa oral, pero esto no fué posible debido a los problemas que presenta el Cloranfenicol en cuanto a su baja solubilidad en agua e intenso sabor amargo.

3.3 Estudios "in vivo".

Analizando las gráficas de los perfiles de disolución, se desprende que algunos productos de Cloranfenicol (cápsulas), pueden presentar problemas de bioequivalencia y consecuentemente fallas de eficacia clínica. Con el objeto de verificar esto se llevaron a cabo estudios de bioequivalencia utilizando los datos de concentración plasmática, obtenidos a partir de doce perros a los cuales se les administraron los diversos productos.

3.3.1 Método Analítico.

Para cuantificar el Cloranfenicol en plasma se han empleado diferentes métodos, entre ellos los siguientes:

- a) Glazko, Wolf y Wesley. (10) Colorimétrico.
- b) Levine y Fischbach. (11) "
- c) Bessman y Stevens. (12) "
- d) Clarenburg y Rao. (13) Fluorométrico.

El método colorimétrico reportado por Bessman y Stevens, ha sido utilizado para estudios de bioequivalencia de Cloranfenicol (3) y con algunas modificaciones, se eligió por ser relativamente rápido.

El método está basado en la reducción del grupo nitro aromático del Cloranfenicol con cloruro estanoso; formación de la sal de diazonio utilizando nitrito de sodio; eliminación del exceso de ácido nitroso con sulfamato de amonio y finalmente una copulación con N-1-(naftiletildiamina); formándose así un com-

puesto colorido que presenta un máximo de absorción a 550 nm.

3.3.2 Selección de los Animales de Experimentación.

El Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP), colaboró con este estudio proporcionando doce perros "beagle" de raza pura, de ambos sexos, desparasitados, con edad entre uno y tres años y peso medio de diez Kg. Al iniciar el estudio, a cada perro se le asignó, para su identificación, un número progresivo del 1 al 12 que conservaron durante todo el estudio.

3.3.3 Diseño Experimental.

Se efectuó un estudio cruzado completo (Cuadrado Latino) - con cuatro grupos de tres perros cada uno. Los productos a probar y el de referencia se administraron de acuerdo a la tabla - III.

3.3.4 Obtención de las Muestras Plasmáticas.

El día del estudio los perros permanecieron en estado de ayuno desde la víspera, hasta el momento en que se tomaba la última muestra de sangre. La preparación de los doce animales se llevó a cabo mediante las siguientes operaciones:

- a) Transporte desde las jaulas hasta el lugar en donde se efectuó el estudio.
- b) Eliminación del pelo en la zona donde se encuentra la vena cubital.
- c) Introducción de un catéter del N° 17 y fijación del mismo.

TABLA III

DISEÑO DEL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CAPSULAS DE CLORANFENICOL

ESTUDIO CRUZADO COMPLETO (CUADRADO LATINO).

GRUPO	PERRO	9 III 82 ESTUDIO 1	16 III 82 ESTUDIO 2	23 III 82 ESTUDIO 3	30 III 82 ESTUDIO 4
I	1	REFERENCIA	I	J	K
	2				
	3				
II	4	I	J	K	REFERENCIA
	5				
	6				
III	7	J	K	REFERENCIA	I
	8				
	9				
IV	10	K	REFERENCIA	I	J
	11				
	12				

no con tela adhesiva.

d) Recolección de la primera muestra de 6 ml de sangre (muestra control).

Finalizado este procedimiento se administraron dos cápsulas de 250 mg cada una, de Cloranfenicol Levógiro a cada perro; de acuerdo al diseño experimental (tabla III). Durante la administración de los medicamentos fué necesaria la colaboración de tres personas, además de tomar ciertas precauciones para que las cápsulas no se deterioraran en el hocico del perro, colocándolas directamente en la laringe. Inmediatamente se introducía una cánula para administrar 50 ml de agua.

Las muestras de sangre de aproximadamente 6 ml se recolectaron en tubos previamente heparinizados y etiquetados, con el correspondiente N° de perro, día de estudio, tiempo de colección y muestra. La toma de muestras estuvo sujeta al siguiente horario:

HORA	N° DE MUESTRA
0	1
0.5	2
1.0	3
1.5	4
2.0	5
3.0	6
4.5	7

6.0	8
8.0	9

Posteriormente, estas muestras se centrifugaron y los plasmas se separaron y colocaron en otros tubos, los cuales se mantuvieron en congelación a -10°C hasta el momento de su análisis.

3.3.5 Determinación de las Concentraciones Plasmáticas de Cloranfenicol.

El análisis de las muestras plasmáticas se desarrolló según el método descrito en 3.3.1.

a) Instrumentos:

- Centrifuga Clínica "Dymac T.H."
- Balanza Analítica "Metler H54AR"
- Agitador "Vortex Thermolyne Mix"
- Espectrofotómetro "Varian 634"
- Baño de vapor "Thelco 186"

b) Reactivos:

- Solución de Hidróxido de Bario 0.3 M
- " " Sulfato de Zinc aprox. 5% P/V
- " " Acido Clorhídrico al 70%
- " " Cloruro Estanoso al 0.8% en Acido Clorhídrico al 70%
- " " Nitrito de Sodio al 5%
- Reactivo de Sulfamato al 0.75%: 0.75 g de Sulfamato de Amonio

y 27.6 g de Fosfato de Sodio Monohidratado.

- Solución de Clorhidrato de N-N-naftiletilén diamina al 1%.

- Solución Estándar de Cloranfenicol al 0.1%.

c) Preparación de Reactivos.

Solución de Hidróxido de Bario 0.3 M: se disolvieron 5.36 g de Hidróxido de Bario en 100 ml de agua previamente hervida, tomando la precaución de que la solución no estuviera en contacto con el aire en ningún momento. Se dejó reposar 24 horas y se filtró.

Solución de Sulfato de Zinc aproximadamente 5.5%: Se disolvieron 5.5 g en 100 ml. de agua hervida y se filtró. Se tomó una alícuota de 5 ml. de esta solución y se diluyó en 20 ml. de agua. Se tituló con la solución de Hidróxido de Bario 0.3 M utilizando fenolftaleína como indicador, el punto final se detectó mediante la coloración rosa permanente. La solución de Sulfato de Zinc se diluyó hasta que 5 ml. fueron neutralizados con 7.5 ml de la Solución de Hidróxido de Bario.

Solución de Acido Clorhídrico al 70% : 70 ml de Acido Clorhídrico concentrado se aforaron a 100 ml. con agua destilada.

Solución de Cloruro Estanoso al 0.8% : 0.8 g se llevaron a 100 ml. con Acido Clorhídrico al 70%. Esta solución se preparó - cada vez que se efectuó el análisis.

y 27.6 g de Fosfato de Sodio Monohidratado.

- Solución de Clorhidrato de N-N-naftiletilén diamina al 1%.

- Solución Estándar de Cloranfenicol al 0.1%.

c) Preparación de Reactivos.

Solución de Hidróxido de Bario 0.3 M: se disolvieron 5.36 g de Hidróxido de Bario en 100 ml de agua previamente hervida, tomando la precaución de que la solución no estuviera en contacto con el aire en ningún momento. Se dejó reposar 24 horas y se filtró.

Solución de Sulfato de Zinc aproximadamente 5.5%: Se disolvieron 5.5 g en 100 ml. de agua hervida y se filtró. Se tomó una alícuota de 5 ml. de esta solución y se diluyó en 20 ml. de agua. Se tituló con la solución de Hidróxido de Bario 0.3 M utilizando fenolftaleína como indicador, el punto final se detectó mediante la coloración rosa permanente. La solución de Sulfato de Zinc se diluyó hasta que 5 ml. fueron neutralizados con 7.5 ml de la Solución de Hidróxido de Bario.

Solución de Acido Clorhídrico al 70% : 70 ml de Acido Clorhídrico concentrado se aforaron a 100 ml. con agua destilada.

Solución de Cloruro Estanoso al 0.8% : 0.8 g se llevaron a 100 ml. con Acido Clorhídrico al 70%. Esta solución se preparó - cada vez que se efectuó el análisis.

Solución de Nitrito de Sodio al 5% : Se pesaron 2.5 g y se llevaron a 50 ml. Esta solución también se preparó diariamente, conservándola en refrigeración.

Reactivo de Sulfamato de Amonio: 0.75 g de Sulfamato de Amonio más 27.6 g de Fosfato Monobásico de Sodio Monohidratado se disolvieron y se aforaron con agua destilada a 100 ml.

Solución de Clorhidrato de N-N-naftiletiléndiamina al 1% : Se pesó un gramo de Clorhidrato de N-N-naftiletiléndiamina y se aforó con agua destilada a 100 ml. Esta solución se conservó siempre en frasco ámbar y en refrigeración.

Solución Estándar de Cloranfenicol al 0.1% : Se pesaron exactamente 100 mg de Cloranfenicol Levógiro, se disolvieron con un ml. de alcohol y se aforaron a 100 ml con agua destilada. Esta solución se mantuvo siempre en refrigeración.

d) Técnica de Análisis.

Se tomó una alícuota de un ml. de la muestra plasmática, se le adicionó un ml de solución de hidróxido de bario 0.3 M y un ml. de solución de sulfato de zinc aproximadamente al 5% y previamente titulados. Esta mezcla se dejó sedimentar y después de 5 minutos se centrifugó a 1000 r.p.m. durante 20 minutos. Del líquido sobrenadante se tomaron 2 ml medidos con pipeta volumétrica y se colocaron en tubos con tapón de rosca; se añadieron -

0.5 ml. de solución de cloruro estanoso al 0.8% y se sometió a un baño de vapor a 100 °C durante 30 minutos. Después de este tiempo se enfrió en baño de hielo hasta obtener una temperatura de 0 °C. Posteriormente se agregó 0.1 ml de solución de nitrito de sodio al 1%, y después de dos minutos un ml. del reactivo de sulfamato de amonio, agitando durante un minuto. Finalmente se agregó 0.1 ml del reactivo copulante (solución de clorhidrato de N-N-naftiletildiamina), se mezcló y pasados 90 minutos se determinó la absorbancia a 555 nm frente a un blanco.

e) Preparación de la Curva Patrón.

Para calcular las concentraciones de Cloranfenicol en el plasma de los perros, cada vez que se analizaron las muestras se preparó una curva patrón. Los valores de absorbancia se interpolaban en la curva y de esta manera se encontraban las concentraciones. Para hacer esta curva se pesaron exactamente 100 mg de Cloranfenicol Levógiro, se disolvieron con un ml. de alcohol y se aforó con agua destilada a 100 ml. Se obtuvo así una concentración de 1 mg/ml. Con una microjeringa "Hamilton" se tomaron alícuotas de 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20 y 30 mcl. de la solución de referencia y se adicionaron a un ml. de plasma, el análisis se llevó a cabo de acuerdo al método para determinar Cloranfenicol.

3.4 Estudios "in vitro".

Además de los estudios de disolución en el equipo 1 y 2 de la USP XX (6), se les hicieron a los cuatro productos estudiados

"in vivo" (I, J, K y D), dos determinaciones del tiempo de desintegración y velocidad de disolución en el aparato 3 de la USP XX - usando ácido clorhídrico 0.1 N a pH 1.2 como medio de disolución; con el objeto de comprobar si existía una correlación significativa con el estudio de bioequivalencia realizado en perros.

El aparato 1 de la USP XX está formado fundamentalmente de cuatro partes: un baño de vapor, un vaso de precipitados de 1000 ml. provisto de una cubierta con cuatro orificios, uno de los cuales se encuentra en el centro; un motor de velocidad variable y una canastilla cilíndrica de acero inoxidable. El baño de vapor deberá mantener la temperatura del medio de disolución a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. La flecha del motor se coloca en el orificio central de la cubierta del vaso, otro orificio se utiliza para insertar un termómetro y a través de los dos restantes, se retiran las muestras para analizar y se reemplaza el medio de disolución. El motor está provisto de un regulador de velocidad para variarla entre 25 y 150 r.p.m. Esta velocidad se mantiene durante la prueba y será la que se especifique en la monografía correspondiente, con una variación de $\pm 5\%$. El motor se suspende arriba del recipiente de tal manera que la canastilla se pueda bajar o subir. El movimiento de rotación de la canastilla debe ser suave y uniforme.

El aparato 2 emplea el mismo montaje que el 1. Excepto que el elemento agitador está constituido, por una aspa en forma de

paleta con una flecha, ambas metálicas e incluidas en una sola pieza, la cual es deseable que esté cubierta con un polímero fluorocarbonado. La tableta o cápsula se coloca en el fondo -- del vaso, antes de iniciar el movimiento de rotación, y para impedir que flote se le puede unir a un pequeño segmento de vidrio.

El aparato 3 está formado por un dispositivo cesta-gradilla, un vaso de precipitados de 1000 ml., un baño de vapor provisto de un termostato y un motor eléctrico con un regulador de velocidad. Este motor tiene la función de subir y bajar la cesta-gradilla dentro del medio de disolución, con una frecuencia entre 29 y 32 ciclos por minuto entre una distancia de 5.3 y 5.7 cm.. La cesta-gradilla está equipada con dos discos de plástico, con seis perforaciones, que están separados y sostenidos verticalmente por tubos de vidrio cuyos extremos están abiertos. En ambos discos se encuentra fijo mediante tornillos, un tamiz de alambre de acero inoxidable malla 40. El tamiz del disco superior debe estar de tal manera, que permita introducir las cápsulas o tabletas en los tubos y que evite que floten fuera de ellos durante la prueba.

a) Aparatos:

- Aparato de Desintegración "Kinet".
- Espectrofotómetro "Varian" modelo 632.
- Balanza Análítica "Metler" modelo H54AR.

b) Reactivos:

- Solución de Acido Clorhídrico 0.1 N y pH 1.2.
- Cloranfenicol Patrón de Referencia Secundario.

c) Método:

Se utilizó el aparato 3 de disolución de la USP XX, empleando 900 ml del medio de disolución y estabilizando la temperatura a 37°C. La cápsula se colocaba bajo un disco y mediante una jeringa provista de un filtro "millipore" se tomaban muestras de un ml. a los 2, 5, 7, 10, 12, 15, 20, 25, 30 y 60 minutos; restituyendo simultáneamente el volumen extraído. A cada muestra se le adicionaron 10 ml. del medio de disolución y se les determinó la absorbancia a 278 nm frente a un blanco.

d) Curva de Calibración.

Se preparó una curva de calibración para determinar la cantidad disuelta en cada tiempo. Se pesaron exactamente 100 mg de Cloranfenicol estándar secundario, se transvasaron cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 ml. Se disolvió y aforó con ácido clorhídrico 0.1 N, de esta solución se tomó una alícuota de diez ml., se llevó a un matraz de 100 ml y se aforó con ácido clorhídrico 0.1 N. A partir de esta solución se hicieron diluciones para obtener las concentraciones siguientes: 50, 25, 10, 5 y 2 mcg/ml y se determinaron las absorbancias de las soluciones a 278 nm, usando ácido clorhídrico 0.1 N como blanco.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 Estudios "in vivo".

4.1.1 Reproducibilidad y Linealidad del Método Analítico.

La reproducibilidad y linealidad se determinaron preparando seis curvas patrón en condiciones idénticas de operador, aparato y laboratorio, en diferentes días. La reproducibilidad se hizo con el objeto de conocer la variación del método utilizado. La linealidad se hizo con el fin de verificar la relación entre las concentraciones y sus correspondientes absorbancias determinadas espectrofotométricamente. Los resultados se ilustran en la tabla IV y la figura 5.

4.1.2 Bioequivalencia de Productos Comerciales de Cloranfenicol.

Los estudios "in vivo" se realizaron de acuerdo al diseño experimental, los datos de biodisponibilidad de los cuatro productos: I, J, K y D a partir de los niveles plasmáticos alcanzados después de la administración del producto en los animales de experimentación se encuentran en las tablas V, VI, VII y VIII y figuras 6, 7, 8 y 9. En la figura 10 se presentan las concentraciones promedio de los niveles de Cloranfenicol de los cuatro productos \pm un error estándar.

4.2 Estudios "in vitro".

TABLA IV: REPRODUCIBILIDAD DE LA DETERMINACION DE CLORANFENICOL EN PLASMA OBTENIDO EN DIFERENTES DIAS.

Conc. mcg/ml	Absorbancias					
	Días					
	1	2	3	4	5	6
2.5	0.022	0.018	0.022	0.018	0.018	0.020
5.0	0.038	0.030	0.034	0.040	0.030	0.034
7.5	0.056	0.054	0.054	0.058	0.042	0.050
10.0	0.073	0.072	0.074	0.070	0.072	0.080
15.0	0.110	0.110	0.102	0.124	0.100	0.105
20.0	0.150	0.135	0.144	0.154	0.140	0.150
30.0	0.220	0.210	0.215	0.250	0.210	0.210

Conc. mcg/ml	\bar{X}	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
2.5	0.020	0.002	10.00
5.0	0.034	0.004	11.90
7.5	0.052	0.006	10.90
10.0	0.073	0.003	4.70
15.0	0.108	0.009	7.95
20.0	0.145	0.007	4.90
30.0	0.219	0.016	7.13

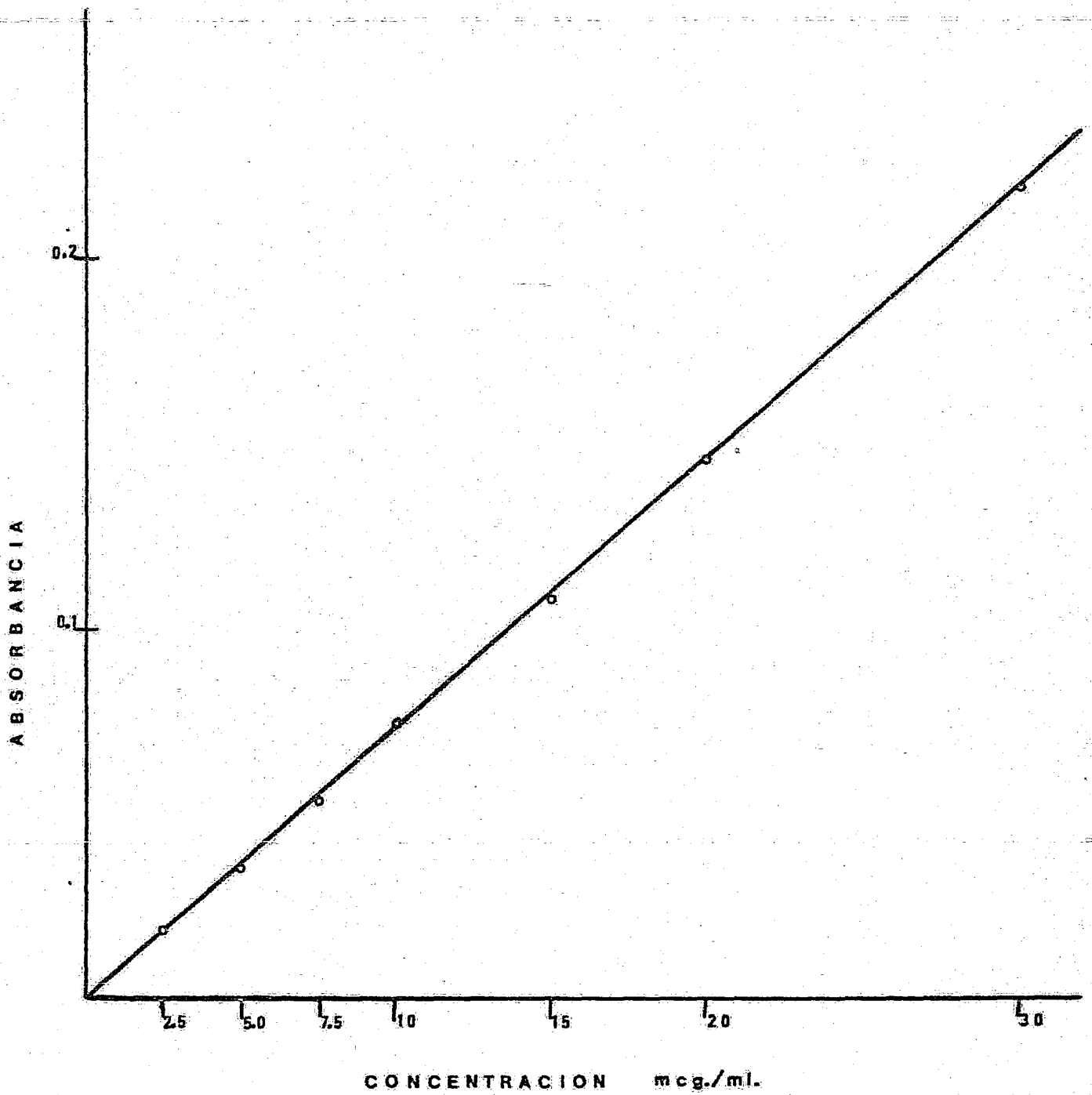


FIGURA 5

CURVA DE CALIBRACION DE CLORANFENICOL EN PLASMA
METODO COLORIMETRICO DE BESSMAN - STEVENS

TABLA V: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO D (PRODUCTO DE REFERENCIA). (mcg/ml)

PERRO	1	2	3	4	5	6	7	8
Hrs.								
0.5	26.3	0.0	0.0	19.4	0.1	1.9	1.3	7.0
1.0	40.0	8.3	5.3	39.2	7.2	8.9	11.9	26.7
1.5	45.3	13.9	22.0	48.9	21.2	9.8	14.3	30.7
2.0	53.2	18.5	25.2	30.0	22.2	18.9	18.5	38.5
3.0	43.0	19.7	45.5	14.6	22.0	13.3	23.6	33.9
4.5	32.0	15.5	33.8	13.5	17.7	11.3	18.7	18.8
6.0	17.0	10.7	21.5	5.8	10.4	9.0	15.0	6.2
8.0	6.5	7.2	12.0	2.2	5.0	3.2	10.3	2.6
PERRO	9	10	11	12	\bar{X}	S	S/ \bar{X}	
Hrs.								
0.5	7.3	3.6	14.0	1.3	6.85	8.65	2.50	
1.0	15.7	16.4	20.3	30.0	19.16	12.22	3.53	
1.5	18.3	22.5	21.8	36.0	24.56	10.91	3.15	
2.0	19.6	27.8	23.4	38.5	27.86	10.68	3.09	
3.0	21.5	28.0	20.8	40.2	27.18	10.96	3.17	
4.5	20.2	21.1	13.4	24.6	19.92	7.12	2.06	
6.0	13.8	13.6	7.5	14.8	12.09	4.67	1.35	
8.0	5.3	5.9	3.4	4.4	5.68	3.05	0.88	

FABLA VI : NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO I . (mcg/ml)

PERRO	1	2	3	4	5	6	7	8
Hrs.								
0.5	6.6	9.0	2.3	0.2	1.5	2.5	0.0	0.1
1.0	10.4	15.4	4.4	0.9	16.6	7.4	0.0	15.7
1.5	23.8	17.4	10.3	3.8	42.5	10.5	0.9	25.4
2.0	41.5	20.5	19.6	23.1	38.5	15.4	5.9	31.5
3.0	44.9	23.0	20.5	25.1	30.8	16.2	16.6	31.4
4.5	21.4	23.1	21.7	27.5	16.0	25.4	17.6	13.5
6.0	20.4	11.1	23.1	18.5	7.5	15.4	24.0	7.3
8.0	10.8	6.6	16.0	5.9	4.3	9.5	15.4	1.7
PERRO	9	10	11	12	\bar{X}	S	S/ \bar{X}	
Hrs.								
0.5	10.3	29.5	9.6	0.0	5.96	8.42	2.43	
1.0	26.2	43.7	27.8	2.9	14.28	13.04	3.77	
1.5	35.6	40.6	29.1	31.6	22.63	14.05	4.06	
2.0	32.5	35.9	29.6	42.7	27.82	11.33	3.27	
3.0	21.6	28.1	21.3	45.2	27.06	9.30	2.80	
4.5	13.6	17.2	10.4	29.1	20.53	6.81	1.97	
6.0	7.8	10.9	6.3	17.0	14.08	6.43	1.86	
8.0	4.7	6.3	4.6	8.0	6.98	4.72	1.37	

TABLE VII: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE
LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO J (mcg/ml).

PERRO	1	2	3	4	5	6	7	8
Hrs.								
0.5	16.7	0.0	2.0	1.3	1.9	20.2	0.0	0.0
1.0	32.4	0.0	18.6	11.3	4.0	26.6	0.0	12.2
1.5	45.3	14.9	33.0	12.3	27.4	28.9	3.5	23.9
2.0	45.9	35.1	38.6	19.8	45.2	31.5	8.2	27.5
3.0	40.8	33.0	34.0	34.5	36.1	28.9	14.5	28.2
4.5	24.0	21.9	20.7	27.0	20.7	20.1	15.6	14.5
6.0	18.0	14.8	14.4	16.1	9.9	16.2	9.4	6.2
8.0	7.4	7.5	10.4	11.2	4.2	12.3	3.3	2.1
PERRO	9	10	11	12	\bar{X}	S	S/ \bar{X}	
Hrs.								
0.5	0.0	3.2	12.9	2.4	5.05	7.21	2.09	
1.0	0.0	6.6	17.4	8.3	11.45	10.61	3.07	
1.5	0.7	22.2	20.7	12.8	20.47	12.59	3.64	
2.0	6.5	25.8	34.6	18.0	28.06	13.01	3.76	
3.0	12.1	26.0	11.0	19.5	26.55	10.04	2.90	
4.5	10.9	28.8	6.3	36.4	20.58	8.16	2.36	
6.0	9.5	10.6	3.7	29.3	13.18	6.67	1.93	
8.0	0.0	8.4	1.8	9.4	6.5	4.09	1.18	

TABLA VIII: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO K (mcg/ml).

PERROS	1	2	3	4	5	6	7	8
Hrs.								
0.5	13.5	3.2	4.1	0.0	18.5	13.1	0.0	1.2
1.0	29.8	11.6	6.9	0.0	35.8	21.6	2.6	19.6
1.5	35.4	25.6	8.6	0.0	38.9	24.2	5.6	31.5
2.0	36.2	36.2	17.2	1.1	38.4	24.9	6.7	38.8
3.0	43.2	37.9	16.2	11.6	37.1	23.4	12.7	38.3
4.5	37.4	24.6	26.5	21.0	22.8	12.5	14.8	24.9
6.0	21.0	12.5	22.6	34.3	9.9	8.6	18.3	13.5
8.0	14.4	7.8	15.2	34.3	5.0	3.6	30.0	5.3
PERROS	9	10	11	12	\bar{X}	S	$\frac{s}{\bar{X}}$	
Hrs.								
0.5	1.6	2.0	0.0	0.0	4.77	6.46	1.87	
1.0	31.3	6.0	5.0	0.0	14.18	12.92	3.73	
1.5	40.3	20.3	9.9	0.0	20.03	14.85	4.29	
2.0	41.0	24.6	17.7	0.0	23.57	15.07	4.36	
3.0	33.1	25.7	26.4	2.4	25.71	12.78	3.67	
4.5	21.8	23.6	20.9	13.3	22.01	6.71	1.94	
6.0	11.3	17.3	18.8	17.5	17.30	6.99	2.02	
8.0	6.5	11.7	12.7	0.3	12.23	10.34	3.0	

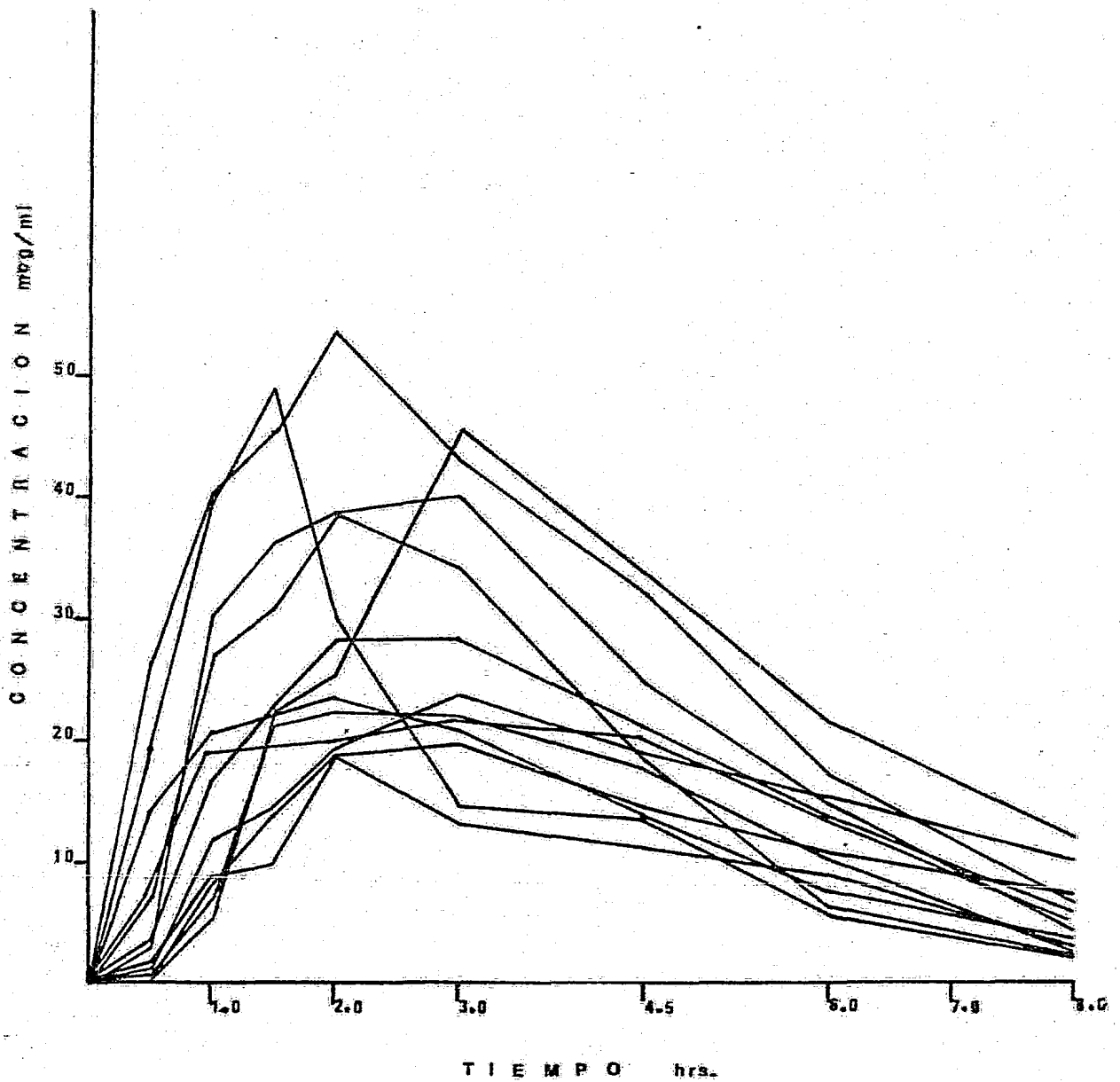


FIGURA 6

NIVELES ALCANZADOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION A DOCE PERROS BEAGLE DEL PROYECTO D (PRODUCTO DE ALTA DISOLUCION).

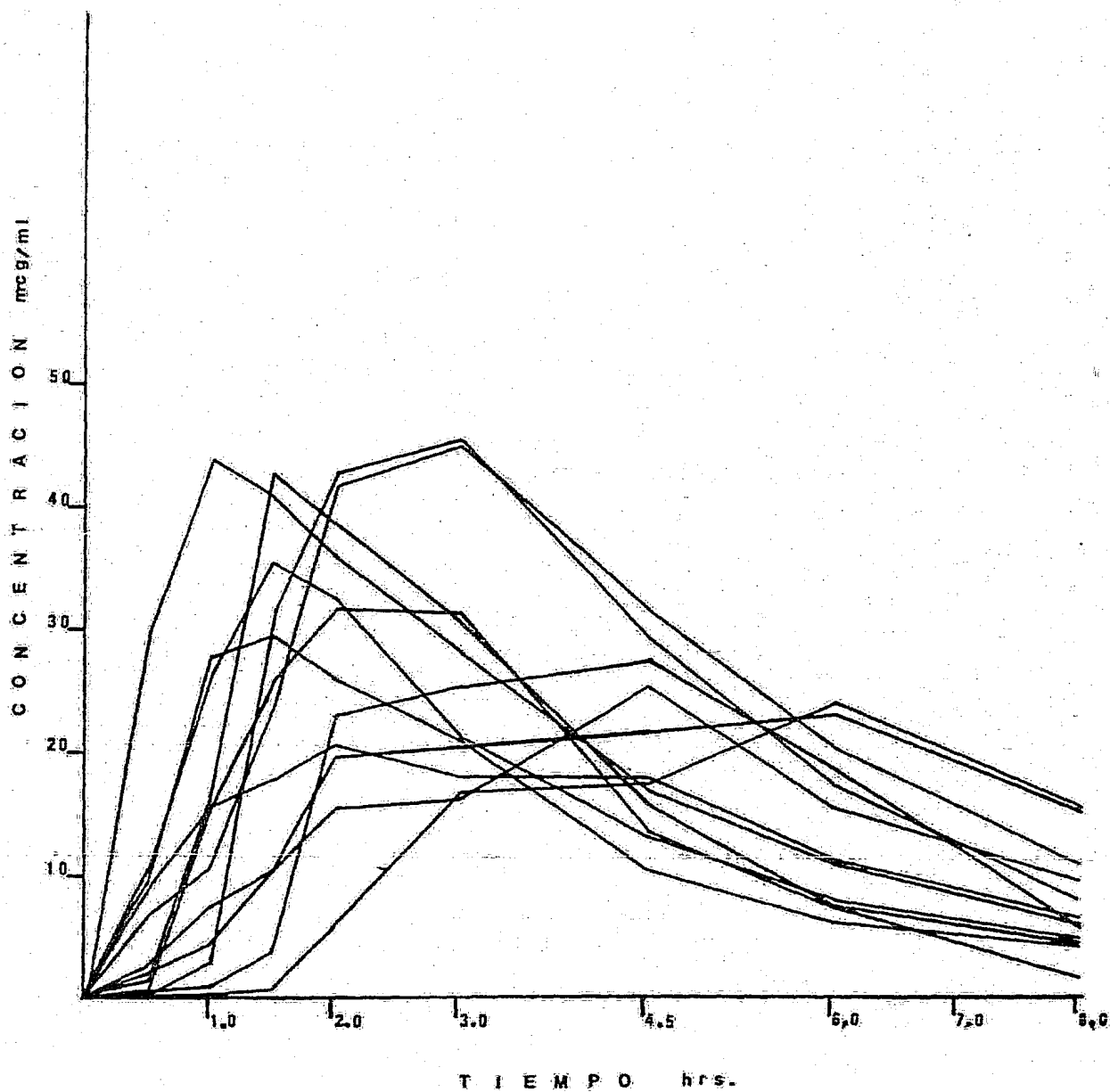


FIGURA 7

NIVELES ALCANZADOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION A

12 PERROS BEAGLE DEL PRODUCTO I

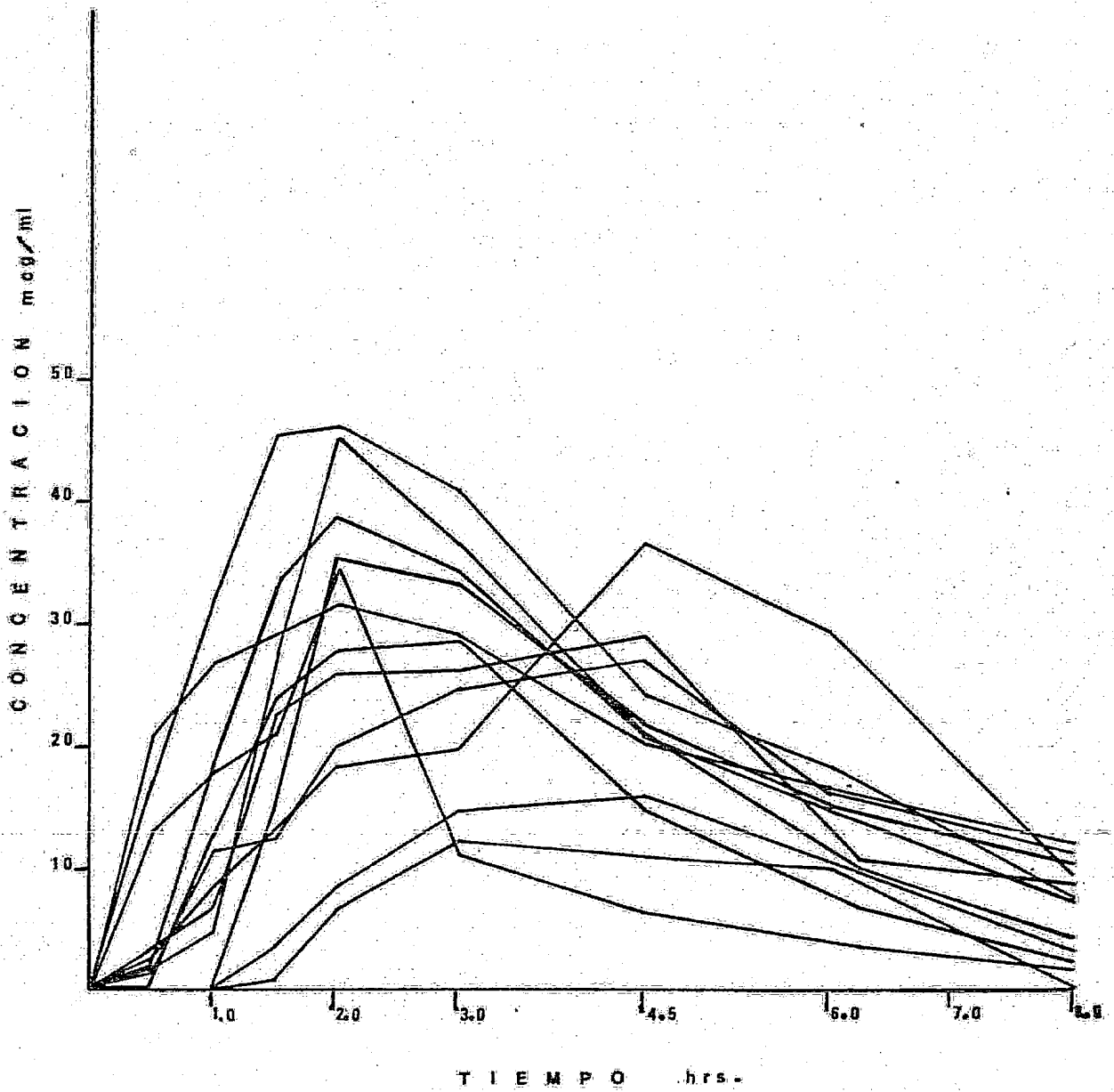


FIGURA 8

NIVELES ALCANZADOS DE CLORAMFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION A

12 FERROS BEAGLE DEL PRODUCTO J

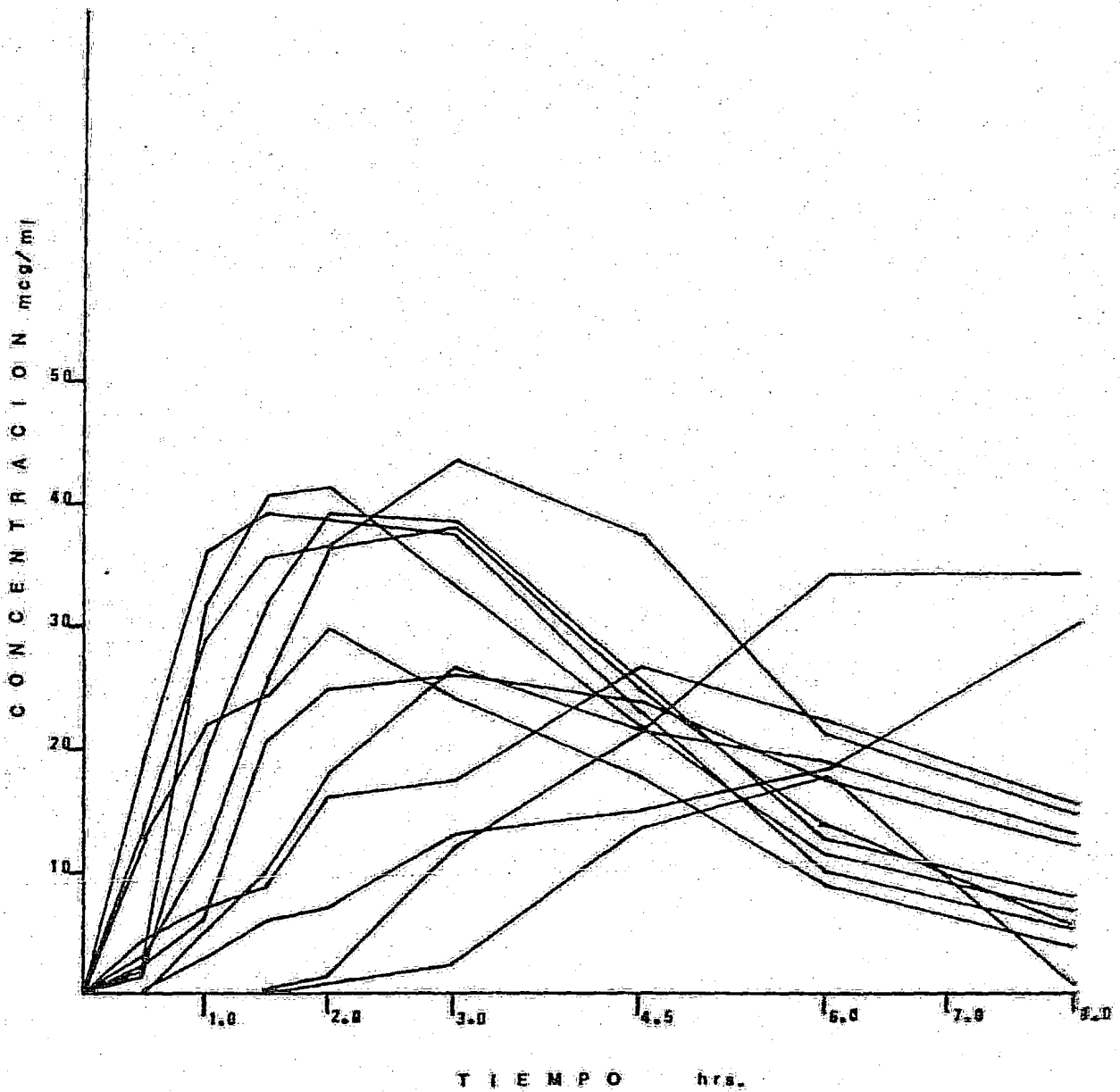


FIGURA 9

NIVELES ALCANZADOS DE CLORANFENICOL DESPUES DE LA ADMINISTRACION A

12 PERROS BEAGLE DEL PRODUCTO K

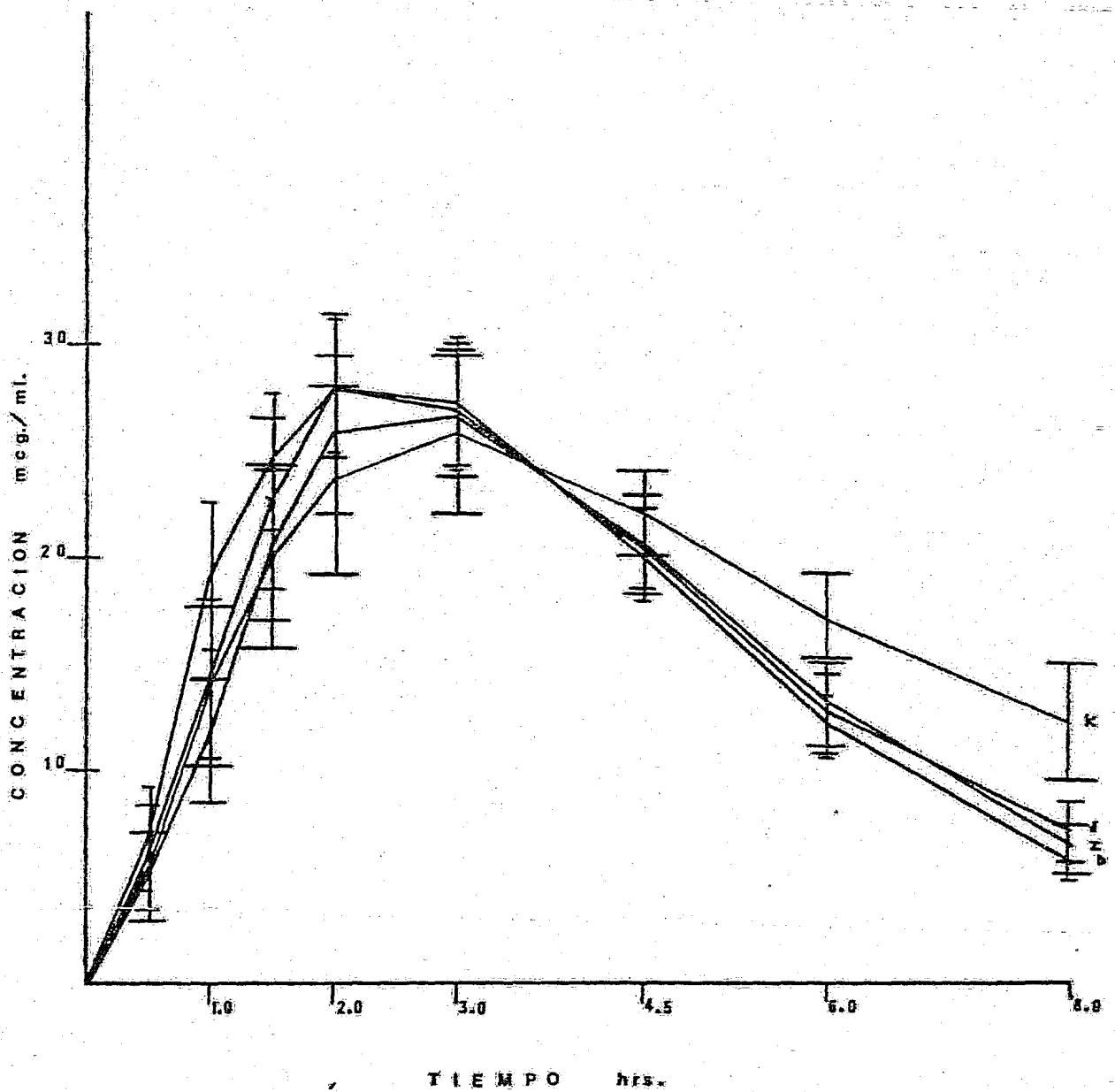


FIGURA 10

NIVELES PROMEDIO DE CLORANFENICOL \pm UN ERROR ESTANDAR DESPUES
DE LA ADMINISTRACION DE LOS 4 PRODUCTOS

4.2 Estudios "in vitro".

Los resultados de los estudios de disolución y tiempo de desintegración de los productos de Cloranfenicol utilizados en el estudio de bioequivalencia se presentan en la siguiente tabla:

TABLA IX: RESULTADOS DEL TIEMPO DE DESINTEGRACION DE LOS CUATRO PRODUCTOS DE CLORANFENICOL.

Producto	Tiempo de Desintegración
D	1) 4 min. 2) 4 min., 10 seg.
I	1) 7 min., 30 seg. 2) 6 min., 45 seg.
J	1) 11 min., 20 seg. 2) 9 min., 25 seg.
K	1) 9 min., 55 seg. 2) 9 min., 10 seg.

TABLA X: RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN DEL PRODUCTO

TO "D". (Equipo N° 3 de disolución de la USP XX)

	Tiempo (min)	Disuelto (mcg/ml)	%Disuelto	%Remanente
Primera Determinación	2	90.13	32.444	67.556
	5	134.20	48.313	51.687
	7	179.30	64.549	35.451
	10	200.20	72.074	27.926
	12	209.00	75.242	24.758
	15	246.40	88.706	11.294
	20	259.60	93.453	6.542
	25	272.80	98.210	1.790
	30	278.30	100.190	-----
Segunda Determinación	60	277.20	99.794	0.206
	2	60.50	21.78	78.22
	5	148.50	53.45	46.54
	7	199.10	71.67	28.33
	10	234.30	84.35	15.65
	12	251.90	90.686	9.31
	15	264.00	95.042	4.95
	20	273.90	98.60	1.40
	25	280.50	100.98	-----
30	281.60	101.37	-----	
60	288.20	103.75	-----	

TABLA XI: RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCION DEL PRO-
DUCTO I. (Equipo N° 3 de disolución de la USP XX)

	Tiempo (min.)	Disuelto (mcg/ml)	%Disuelto	%Remanente
Primera Determinación	2	6.6	2.376	97.624
	5	78.1	28.116	71.884
	7	177.0	63.743	36.257
	10	211.2	76.034	23.966
	12	236.5	85.142	14.858
	15	247.5	89.102	10.898
	20	253.0	91.082	8.918
	25	266.2	95.834	4.166
	30	268.4	96.626	3.374
	60	275.0	99.002	0.998
Segunda Determinación	2	4.4	1.584	98.416
	5	38.5	13.860	86.14
	7	116.6	41.977	58.023
	10	206.8	74.450	25.55
	12	228.8	82.370	17.63
	15	259.6	93.458	6.542
	20	261.8	94.25	5.75
	25	266.2	95.834	4.166
	30	267.3	96.230	3.77
	60	268.4	96.626	3.374

TABLA XII: RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCION DEL PRO
 DUCTO J. (Equipo N° 3 de disolución de la USP XX)

	Tiempo (min)	Disuelto (mcg/ml)	%Disuelto	%Remanente
Primera Determinación	2	16.5	5.940	94.06
	5	96.8	34.848	65.152
	7	194.7	70.093	29.907
	10	249.7	89.894	10.106
	12	256.3	92.270	7.760
	15	276.0	99.362	0.638
	20	278.3	100.190	-----
	25	291.5	104.942	-----
	30	299.2	107.715	-----
	60	301.4	108.507	-----
Segunda Determinación	2	4.4	1.584	98.416
	5	25.3	9.108	90.892
	7	102.3	36.829	63.171
	10	180.4	64.945	35.055
	12	216.7	78.014	21.986
	15	273.9	98.606	1.394
	20	277.2	99.794	0.206
	25	281.6	101.138	-----
	30	299.2	107.715	-----
	60	305.8	110.091	-----

TABLA XIII: RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE DISOLUCION DEL PRO
 DUCTO K. (Equipo N° 3 de disolución de la USP XX)

	Tiempo (min)	Disuelto (mcg/ml)	%Disuelto	%Remanente
Primera Determinación	2	4.4	1.584	98.416
	5	25.3	9.108	90.892
	7	102.3	36.829	63.171
	10	180.4	64.945	35.055
	12	216.7	78.014	21.986
	15	273.9	98.606	1.394
	20	277.2	99.794	0.206
	25	281.6	101.378	-----
	30	299.2	107.715	-----
	60	305.8	110.091	-----
Segunda Determinación	2	14.3	5.148	94.852
	5	48.4	17.424	85.276
	7	140.8	50.689	49.311
	10	262.9	94.646	5.354
	12	284.9	102.566	-----
	15	288.2	103.754	-----
	20	292.2	105.194	-----
	25	295.5	106.400	-----
	30	300.0	108.003	-----
	60	303.6	109.299	-----

C A P I T U L O V

A N A L I S I S D E R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

5.1 Estudios "in vivo".

5.1.1 Método Colorimétrico para Determinar Cloranfenicol.

Analizando los resultados de las curvas patrón efectuadas para la determinación de Cloranfenicol por el método de Bessman y Stevens, (tabla XIV), se puede observar que la linealidad es satisfactoria a partir de la relación entre las concentraciones conocidas de Cloranfenicol y sus respectivas absorbancias obteniéndose un coeficiente de correlación promedio de 0.998 y su coeficiente de variación promedio de 0.081. La reproducibilidad de las absorbancias en el método varía de 4.69 a 11.89 %, para las concentraciones de 10 y 5 mcg respectivamente; por lo tanto se puede considerar que es aceptable para realizar el estudio de bioequivalencia. (tabla IV).

5.1.2 Niveles de Cloranfenicol en Plasma.

Los resultados obtenidos de la concentración de Cloranfenicol en nivel plasmático descritos en las tablas: V, VI, VII y VIII, fueron corregidos dividiendo cada uno de ellos entre el peso del perro con el fin de considerar la variación biológica. Los resultados obtenidos de la corrección anterior se encuentran en las tablas: XV, XVI, XVII y XVIII. En la figura 11 se presentan las concentraciones promedio de Cloranfenicol en el plasma, corregidas \pm un error estándar para cada producto.

5.1.3 Bioequivalencia.

A los resultados de los niveles plasmáticos de Cloranfenicol de los valores no corregidos como los corregidos encontrados después de la administración de los productos estudiados se les determinó el área bajo la curva (ABC), el tiempo al cual se alcanza la concentración máxima (t_{max}), y la concentración máxima (C_{max}).

Se aplicó un análisis de varianza correspondiente al diseño del estudio cruzado completo 4 x 4 a los niveles plasmáticos tanto de los valores no corregidos como de los corregidos en los tiempos: 1.0, 1.5, 2.0, 6.0 y 8.0 hrs., así como a ABC, t_{max} y C_{max} . De la tabla XIX a la XXXI se presentan los resultados de este análisis.

Los niveles de Cloranfenicol después de la administración de los productos en estudio no presentaron una diferencia estadísticamente significativa al usarse el producto D de alta disolución como referencia.

En esta parte, consideramos oportuno establecer una comparación de nuestros resultados, con los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia en productos orales conteniendo Cloranfenicol y que se han realizado en varios países incluyendo el nuestro.

En un estudio de bioequivalencia de Cloranfenicol que llevó a cabo el IMSS (5), con 8 diferentes marcas y 16 voluntarios, se encontró que cápsulas conteniendo Cloranfenicol cuantitativa y cualitativamente dentro de los límites farmacopeicos, presentaban una pequeña diferencia entre los niveles sanguíneos correspondientes a los tiempos de 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 horas. De los resultados de nuestro trabajo se obtienen diferencias similares.

Mercer y col. (4), en su estudio de disponibilidad biológica de Cloranfenicol en perros "beagle" utilizando: cápsulas solución oral y solución parenteral; encontraron una variación considerable en la biodisponibilidad del antibiótico proveniente de las tres formas farmacéuticas, ya que las características de absorción del fármaco en los perros fueron significativamente diferentes. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas, cuando se comparan los niveles plasmáticos provenientes de una misma forma farmacéutica; lo cual concuerda con los resultados del estudio que nosotros llevamos a cabo.

Glazko y col. (3, 18), evaluaron "in vitro" e "in vivo" e con humanos, las características de absorción de cuatro diferentes medicamentos orales de Cloranfenicol químicamente equivalentes. Del estudio de disolución "in vitro" en el aparato "Vanderkamp" de la USP XVI, en 800 ml de ácido clorhídrico 0.1 N a 30 r.p.m. y 37 C.; obtuvieron para el producto denominado A, una velocidad de disolución muy alta con respecto a los demás produc

tos (B, C y D). El estudio "in vivo" reveló que ese producto producía casi el doble de la concentración de Cloranfenicol en el plasma que daban los otros medicamentos. En nuestro estudio, esta aparente correlación "in vitro-in vivo", no se presenta cuando se utilizan los equipos 1 y 2 de la USP XX. Sin embargo existe cierta analogía cuando los estudios "in vitro" se llevan a cabo en el equipo N° 3.

En el presente trabajo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los cuatro productos estudiados. Aunque el análisis de varianza aplicado a los diferentes tiempos de muestreo, indica que en general existen diferencias en cuanto a individuos y grupos; y no entre tratamientos, excepte las concentraciones de las 8 horas que indican que existe diferencia -- significativa entre productos pero también entre sujetos/grupo.

TABLA XIV: REPRODUCIBILIDAD Y LINEALIDAD DEL METODO DE BESSMAN
Y STEVENS PARA LA CUANTIFICACION DE CLORANFENICOL -
EN PLASMA.

	I	II	III	IV	V	VI	\bar{x}
m	0.007	0.006	0.007	0.008	0.007	0.007	0.007
b	0.001	0.000	0.000	0.005	0.004	0.002	0.002
r	0.999	0.998	0.999	0.997	0.998	0.997	0.998

	Desviación Estándar.	Coefficiente de Variación
m	0.08	0.7
b	3.70×10^{-6}	0.19
r	7.0×10^{-7}	0.081

m = Pendiente

b = Intercepto

r = Correlación

TABLA XV: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL ALCANZADOS DES-
 PUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO D DE ALTA DI-
 SOLUCION. (valores corregidos por Eg de peso).

PERROS	1	2	3	4	5	6	7	8
HRS.								
0.5	3.13	0.0	0.0	2.28	0.01	0.13	0.12	0.76
1.0	4.76	0.73	0.06	4.61	0.60	0.61	1.08	2.90
1.5	5.39	1.22	2.62	6.75	1.72	0.67	1.30	3.34
2.0	6.33	1.62	3.00	3.53	1.80	1.29	1.68	4.18
3.0	5.12	1.73	5.42	1.72	1.79	0.91	2.15	3.68
4.5	3.81	1.27	4.02	1.59	1.44	0.77	1.70	2.04
6.0	2.02	0.94	2.56	0.68	0.85	0.62	1.36	0.67
8.0	0.77	0.63	1.43	0.26	0.41	0.22	0.94	0.28

PERROS	9	10	11	12	\bar{X}	S	S/ \bar{X}
HRS.							
0.5	0.54	0.30	1.13	0.12	0.71	1.01	0.29
1.0	1.15	1.37	1.64	2.26	1.85	1.56	0.45
1.5	1.35	1.88	1.76	3.21	2.52	1.64	0.47
2.0	1.44	2.32	1.89	3.44	2.71	1.48	0.43
3.0	1.58	2.33	1.68	3.59	2.64	1.47	0.42
4.5	1.49	1.76	1.08	2.20	1.93	1.10	0.29
6.0	1.01	1.13	0.60	1.32	1.15	0.60	0.17
8.0	0.39	0.49	0.27	0.39	0.54	0.36	0.10

S = Desviación Estándar.

TABLA XVI: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL ALCANZADOS DES
PUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO I. (valores
corregidos por Kg de peso).

PERROS	1	2	3	4	5	6	7	8
HRS								
0.5	0.79	0.79	0.27	0.02	0.12	0.16	0.00	0.01
1.0	1.24	1.35	0.52	0.11	1.35	0.51	0.00	1.71
1.5	2.83	1.53	1.23	0.45	3.46	0.72	0.08	2.76
2.0	4.94	1.80	2.33	2.72	3.13	1.05	0.52	3.42
3.0	5.35	2.02	2.44	2.95	2.50	1.11	1.51	3.41
4.5	3.74	2.03	2.58	3.24	1.30	1.74	1.60	1.47
6.0	2.43	0.97	2.75	2.14	0.61	1.05	2.18	0.79
8.0	1.29	0.06	1.90	0.69	0.35	0.65	1.40	0.18

PERROS	9	10	11	12	\bar{x}	S	S/ \bar{x}
HRS.							
0.5	0.76	2.46	0.77	0.00	0.51	0.70	0.20
1.0	1.93	3.64	2.24	0.26	1.24	1.06	0.31
1.5	2.62	3.34	2.35	2.82	2.02	1.17	0.34
2.0	2.39	2.99	2.10	3.81	2.60	1.20	0.35
3.0	1.59	2.34	1.72	4.04	2.58	1.21	0.35
4.5	1.00	1.43	0.84	2.60	1.96	0.90	0.26
6.0	0.57	0.91	0.51	1.52	1.37	0.80	0.23
8.0	0.35	0.53	0.37	0.71	0.71	0.55	0.16

TABLA XVII: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL ALCANZADOS -
 DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO J. (va-
 lores corregidos por Kg de peso).

PERROS	1	2	3	4	5	6	7	8
HRS:								
0.5	1.99	0.00	0.24	0.15	0.15	1.38	0.00	0.00
1.0	3.86	0.00	2.21	1.33	0.33	1.82	0.00	1.33
1.5	5.39	1.31	3.93	1.45	2.23	1.98	0.32	2.60
2.0	5.46	3.08	4.60	2.33	3.67	2.16	0.75	2.99
3.0	4.86	2.89	4.05	4.06	2.93	1.98	1.32	3.07
4.5	2.86	1.92	2.46	3.18	1.68	1.38	1.42	1.58
6.0	2.14	1.30	1.71	1.89	0.80	1.11	0.85	0.67
8.0	0.88	0.66	1.24	1.32	0.34	0.84	0.30	0.23

PERROS	9	10	11	12	\bar{x}	S	S/ \bar{x}
HRS.							
0.5	0.00	0.27	0.04	0.21	0.045	0.65	0.19
1.0	0.00	0.55	1.40	0.74	1.13	1.14	0.33
1.5	0.05	1.85	1.67	1.14	1.99	1.47	0.43
2.0	0.48	2.15	2.79	1.61	2.67	1.45	0.42
3.0	0.89	2.17	0.89	1.74	2.57	1.30	0.38
4.5	0.80	2.40	0.51	3.25	1.95	0.89	0.26
6.0	0.70	0.88	0.30	2.62	1.25	0.70	0.20
8.0	0.70	0.70	0.15	0.84	0.63	0.42	0.12

TABLA XVIII: NIVELES PLASMATICOS DE CLORANFENICOL ALCANZADOS
 DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO K. -
 (valores corregidos por Kg de peso).

PERROS	1	2	3	4	5	6	7	8
HRS.								
0.5	1.61	0.28	0.49	0.00	1.50	0.90	0.00	0.13
1.0	3.55	1.02	0.82	0.00	2.91	1.48	0.24	2.18
1.5	4.21	2.25	1.02	0.00	3.16	1.66	0.51	3.42
2.0	4.31	3.18	2.05	0.13	3.12	1.71	0.61	4.22
3.0	5.14	3.32	1.99	1.36	3.02	1.60	1.15	4.16
4.5	4.45	2.16	3.15	2.47	1.85	0.86	1.35	2.71
6.0	2.50	1.10	2.69	4.04	0.80	0.59	1.66	1.47
8.0	1.71	0.68	1.81	4.04	0.41	0.25	2.73	0.58

PERROS	9	10	11	12	\bar{X}	S	S/ \bar{X}
HRS.							
0.5	0.12	0.17	0.00	0.00	0.43	0.59	0.17
1.0	2.30	0.50	0.40	0.00	1.28	1.19	0.34
1.5	2.96	1.69	0.80	0.00	1.81	1.40	0.41
2.0	3.01	2.05	1.43	0.00	2.15	1.46	0.42
3.0	2.43	2.14	2.13	0.21	2.39	1.36	0.39
4.5	1.60	1.97	1.69	1.19	2.21	0.98	0.28
6.0	0.83	1.44	1.52	1.56	1.68	0.97	0.28
8.0	0.48	0.98	1.02	0.03	1.23	1.17	0.34

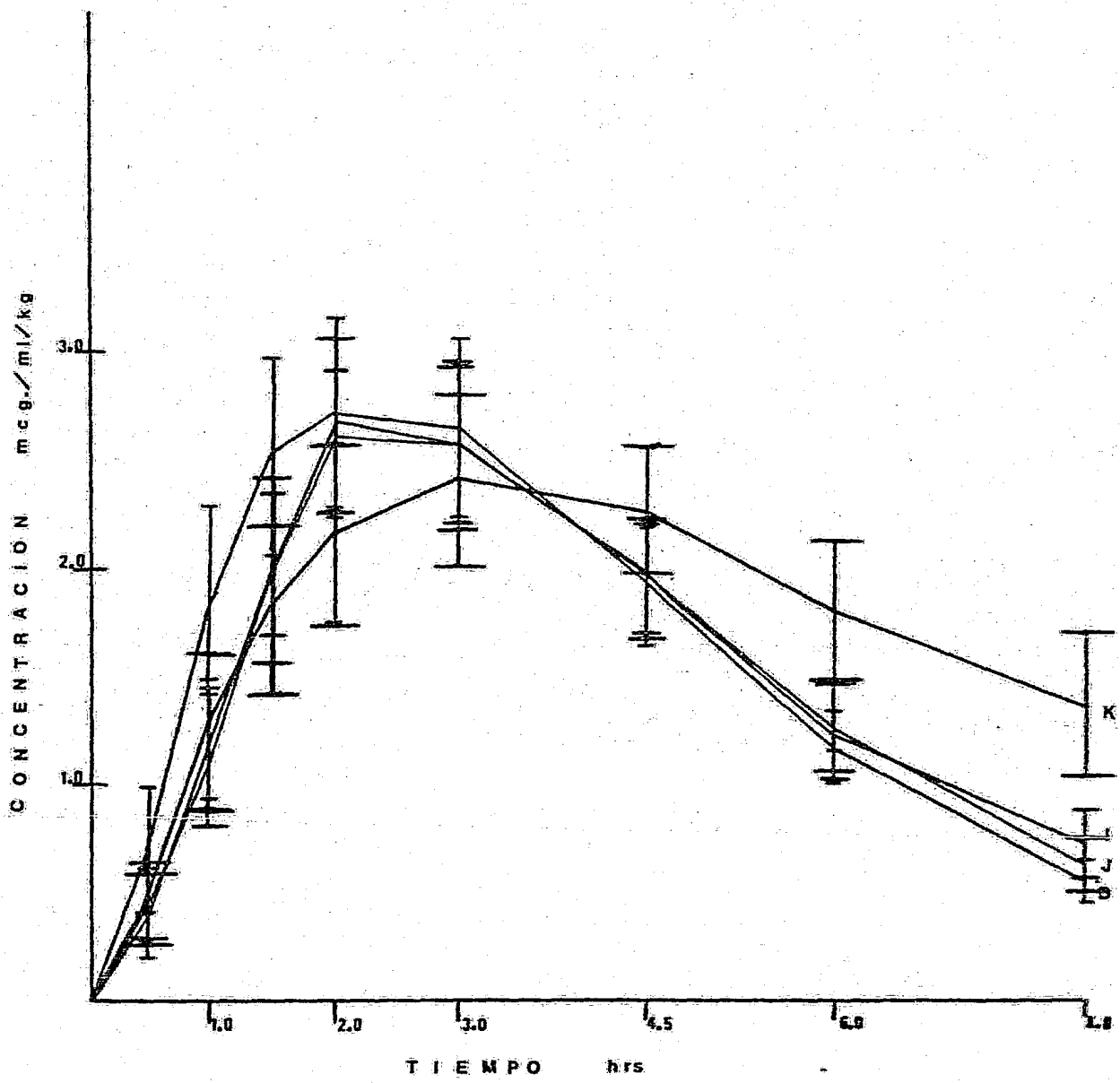


FIGURA II NIVELES PROMEDIO DE CLORANFENICOL \pm UN ERROR ESTANDAR DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE LOS CUATRO PRODUCTOS (VALORES CORREGIDOS m.c.g./ml/Kg DE PESO CORPORAL)

TABLA XIX: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL AREA PAJO LA CURVA DE -
 LOS NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 PERROS BEAGLES
 (valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	75633.03	-----	----	-----
Sujetos	11	39572.20	3597.47	3.87	p < 0.05
Grupos	3	16564.76	5521.59	5.94	p < 0.05
Suj./Grupos	8	23007.47	2875.93	3.10	p < 0.05
Semanas	3	7403.03	2467.68	2.66	p > 0.05
Tratamientos	3	793.51	264.40	0.28	p > 0.05
Residual	30	27864.29	928.81	----	-----

TABLA XX: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL AREA BAJO LA CURVA DE LOS
 NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 PERROS BEAGLES.
 (valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	1377.39	-----	----	-----
Sujetos	11	1091.91	99.26	13.09	p < 0.05
Grupos	3	431.57	143.86	18.98	p < 0.05
Suj./Grupos	8	660.34	82.54	10.89	p < 0.05
Semanas	3	53.77	17.92	2.36	p > 0.05
Tratamientos	3	4.72	1.57	0.21	p > 0.05
Residual	30	227.39	7.58	----	-----

TABLA XXI. ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENI-
COL EN 12 PERROS BEAGLES A LAS 1.0 HORAS.
(valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	6948.76	-----	-----	-----
Sujetos	11	1789.97	162.72	1.22	p > 0.05
Grupos	3	27.17	9.06	0.07	p > 0.05
Suj./Grupo	8	1762.60	220.33	1.65	p < 0.05
Semanas	3	793.05	264.33	1.98	p > 0.05
Tratamientos	3	370.33	123.44	0.92	p > 0.05
Residual	30	3995.61	133.49	-----	-----

TABLA XXII: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENI
COL EN 12 PERROS BEAGLE A LAS 1.5 HORAS.
(valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	8246.16	-----	-----	-----
Sujetos	11	2962.71	269.34	1.84	p > 0.05
Grupos	3	176.95	58.99	0.40	p > 0.05
Suj./Grupos	8	2785.76	348.22	2.37	p > 0.05
Semanas	3	667.63	222.54	1.52	p > 0.05
Tratamientos	3	216.97	72.32	0.49	p > 0.05
Residual	30	4398.85	146.63	-----	-----

TABLA XXIII: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 PERROS BEAGLE A LAS 2.0 HORAS.
(valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	7169.33	-----	-----	-----
Sujetos	11	3330.77	302.80	2.94	p < 0.05
Grupos	3	560.97	186.99	1.31	p > 0.05
Suj./Grupos	8	2769.80	346.23	3.36	p < 0.05
Semanas	3	600.61	200.20	1.94	p > 0.05
Tratamientos	3	170.27	56.76	0.55	p > 0.05
Residual	30	3094.68	103.15	----	-----

TABLA XXIV: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 PERROS BEAGLE A LAS 6.0 HORAS.
(valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	2581.11	-----	-----	-----
Sujetos	11	891.73	81.07	1.83	p > 0.05
Grupos	3	185.47	61.82	1.40	p > 0.05
Suj./Grupos	8	706.26	88.28	2.00	p > 0.05
Semanas	3	5.86	1.95	0.04	p > 0.05
Tratamientos	3	158.20	56.07	1.27	p > 0.05
Residual	30	1515.32	44.24	----	-----

TABLA XXV: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 FERROS BEAGLE A LAS 8.0 HORAS.

(valores no corregidos).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	1991.15	-----	-----	-----
Sujetos	11	688.72	62.61	2.06	$p > 0.05$
Grupos	3	94.03	31.34	1.03	$p > 0.05$
Suj./Grupos	8	594.69	74.34	2.44	$p < 0.05$
Semanas	3	81.31	27.10	0.89	$p > 0.05$
Tratamientos	3	307.65	102.55	3.37	$p < 0.05$
Residual	30	913.46	30.45	-----	-----

G.L. : Grados de Libertad

SS : Suma de Cuadrados

MS : Cuadrado Medio

F : Cuadrado Medio Esperado

P : Probabilidad

TABLA XXVI: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENI
COL EN 12 PERRGS BEAGLES A LAS 1.0 HORAS.
(valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	72.79	----	----	-----
Sujetos	11	25.30	2.30	1.80	$p > 0.05$
Grupos	3	1.50	0.50	0.40	$p > 0.05$
Suj./Grupos	8	23.80	2.98	2.38	$p < 0.05$
Semanas	3	6.18	2.06	1.65	$p > 0.05$
Tratamientos	3	3.74	1.25	1.00	$p > 0.05$
Residual	30	37.57	1.25	----	-----

TABLA XXVII: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENI
NICOL EN 12 PERROS BEAGLE A LAS 1.5 HORAS.
(valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	93.26	----	----	-----
Sujetos	11	42.25	3.84	2.69	$p < 0.05$
Grupos	3	7.13	2.38	1.66	$p > 0.05$
Suj./Grupos	8	35.12	4.39	3.07	$p < 0.05$
Semanas	3	4.81	1.60	1.12	$p > 0.05$
Tratamientos	3	3.33	1.11	0.78	$p > 0.05$
Residual	30	42.87	1.43	----	-----

**TABLA XXVIII: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFE
 NICOL EN 12 PERROS BEAGLES A LAS 2.0 HORAS.**
 (valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	88.80	----	----	-----
Sujetos	11	55.30	5.03	5.53	p < 0.05
Grupos	3	16.86	5.62	6.18	p < 0.05
Suj./Grupos	8	38.44	4.81	5.29	p < 0.05
Semanas	3	3.83	1.28	1.41	p > 0.05
Tratamientos	3	2.41	0.80	0.88	p > 0.05
Residual	30	27.26	0.91	----	-----

**TABLA XXIX: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFE-
 NICOL EN 12 PERROS BEAGLES A LAS 6.0 HORAS.**
 (valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	28.75	----	----	-----
Sujetos	11	18.22	1.76	6.29	p < 0.05
Grupos	3	5.34	1.78	6.36	p < 0.05
Suj./Grupos	8	12.88	1.61	5.75	p < 0.05
Semanas	3	0.07	0.02	0.08	p > 0.05
Tratamientos	3	1.95	0.65	2.32	p > 0.05
Residual	30	8.51	0.28	----	-----

TABLA XXX: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE CLORANFENICOL EN 12 PERROS BEAGLES A LAS 8.0 HORAS.

(valores corregidos por Kg de peso).

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	25.32	-----	-----	-----
Sujetos	11	10.89	0.99	2.91	$p < 0.05$
Grupos	3	2.03	0.68	2.00	$p > 0.05$
Suj./Grupos	8	8.86	1.11	3.26	$p < 0.05$
Semanas	3	0.76	0.25	0.74	$p > 0.05$
Tratamientos	3	3.44	1.15	3.38	$p < 0.05$
Residual	30	10.23	0.34	-----	-----

TABLA XXXI: ANALISIS DE VARIANZA DE LOS VALORES EN QUE SE ALCANZA LA MAXIMA CONCENTRACION DE CLORANFENICOL EN PLASMA DE 12 PERROS BEAGLES.

Fuente de Variación	G.L.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	5030.30	-----	-----	-----
Sujetos	11	2170.74	197.34	2.32	$p < 0.05$
Grupos	3	437.69	145.90	1.71	$p > 0.05$
Suj./Grupos	8	1733.05	216.63	2.54	$p < 0.05$
Semanas	3	246.37	82.12	0.96	$p > 0.05$
Tratamientos	3	57.09	19.03	0.22	$p > 0.05$
Residual	30	2556.10	85.20	-----	-----

5.2 Estudios "in vitro".

Se calcularon las constantes de velocidad de disolución en el equipo 3 de la USP XX de los cuatro productos estudiados, utilizando el método de los residuos (15). Estos valores se presentan en la tabla XXXII.

Los tiempos de desintegración de los productos se encuentran entre 4 y 11 minutos. (tabla IX). No fué posible calcular las constantes de la velocidad de desintegración a partir de las gráficas debido a que los puntos obtenidos no fueron suficientes (15).

TABLA XXXII: CONSTANTES DE VELOCIDAD DE DISOLUCION OBTENIDAS DEL EQUIPO 3 DE LA USP XX.

Producto	Cte. de vel. de Disolución en el Equipo 3 de la USP XX.	
D	2.04×10^{-1}	min ⁻¹
I	2.41×10^{-1}	"
J	2.87×10^{-1}	"
K	2.52×10^{-1}	"

Las constantes de velocidad obtenidas para los cuatro productos indican que tienen aproximadamente la misma velocidad de disolución y, por lo tanto, podrían ser bioequivalentes. Esto -- quedó ampliamente demostrado en el presente estudio.

Cabe mencionar que en el trabajo de disolución anterior a partir del cual se seleccionaron los productos (6), las velocidades de disolución de los tres productos probados son relativamente bajas cuando se comparan con el producto D de referencia.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que existe bioequivalencia entre los productos I, J, K y D; lo cual concuerda con el estudio de disolución realizado en el equipo N° 3 de la USP XX.

En este estudio no se corroboraron los resultados obtenidos del perfil de disolución que se llevó a cabo en un trabajo de tesis anterior (6), ya que se esperaba que los productos I, J, y K no resultaran bioequivalentes con respecto al producto D utilizado como referencia.

Esto demuestra que el método de disolución en ácido clorhídrico 0.1 N empleado para llevar a cabo las pruebas en los doce productos, no fué el adecuado, razón por la cual se deberán realizar nuevos estudios, tanto de disolución como de bioequivalencia.

Finalmente, para garantizar una adecuada biodisponibilidad de los productos estudiados, se sugiere llevar a cabo un estudio de bioequivalencia, utilizando como referencia el producto innovador "Chloromycetin U.S.A.", que es el reconocido por la F.D.A. como un producto eficaz y seguro; y no el producto nacional D que se usó como referencia sólo por presentar una alta disolución en ácido clorhídrico 0.1 N.

C A P I T U L O V I I
B I B L I O G R A F I A

- 1.- Helman, J. : Farmacotecnia Teórica y Práctica.- tomo VIII.-
Cia. Editorial Continental, S.A.- México, 1981.
- 2.- Jollow, D.J. y Brodie, B.B. : Mechanisms of Drug Absorption
and of Drug Solution.- Pharmacol. .- 8: 21-32 (1972).
- 3.- Glazko, A.J., Kinkel, A.W. y Alegnani, W.C.: An Evaluation
of the Absorption Characteristics of Different Chlorampheni-
col Preparations in Normal Human Subjects.- Clin. Pharmacol.
Ther..- 9: 472-482 (1968).
- 4.- Mercer, H.D., Geleta, J.N. y Kramer, J.: Chloramphenicol --
Blood Concentration Studies in Dogs.- J. Amer. Vet. Med. Ass.
.- 158: 47-52 (1971).
- 5.- Carranza, J., Vargas, J. y Overall, J.: Disponibilidad Bioló-
gica del Cloranfenicol.- Arch. Inves. Med..- 5: 89-94 (1974).
- 6.- Espíndola, S.: Estudio de Disolución de Cloranfenicol en Pro-
ductos del Comercio Nacional.- Tesis, UNAM, Fac. de Química.
- México, 1982.
- 7.- Goodman, L.S. y Gilman, A.: Bases Farmacológicas de la Tera-

- péutica.- 4a. edición.- Ed. Interamericana.- México, 1974.
- 8.- The Merck Index.- An Encyclopedia of Chemicals and Drugs.-
8a. edición.- Merck y CO., Inc.- U.S.A., 1968.
- 9.- Code of Federal Regulations, N° 21, 1979.- Food and Drugs.-
parts. 555.110 pag. 381.
- 10.- Glazko, A.J., Wolf, L.M. y Dill, W.A.: Colorimetric Methods
for the Determination of Chloramphenicol and Related Nitro -
Compounds.- Arch. Biochem.- 23: 411-418 (1949).
- 11.- Levine, J. y Fischbach, H.: Chemistry Determination of Chlo-
ramphenicol in Biological Materials.- Antib. Chemeter.- 1: -
59-62 (1951).
- 12.- Bessman, S.P. y Stevens, S. : A Colorimetric Method for the
Determination of Chloromycetin in Serum of Plasma.- J. Lab.
Clin. Med.- 35: 129-135 (1950).
- 13.- Clarenburg, R. y Rao, R.V. : A Fluorometric Method to Assay
Chloramphenicol.- Am. Soc. Pharm. Exp. Ther.- 5: 246-252 --
(1977).
- 14.- Dixon, W.J. y Massey, F.J. : Introduction to Statistical Ana
lysis.- 2a. edición.- Mc Graw Hill.- U.S.A., 1957.

- 15.- Adnan-El Yazigi. : Desintegration-Dissolution Analysis of Percent Dissolved-Time Data.- J. Pharm. Sci.- 70: 535-537(1981).
- 16.- The United States Pharmacopeia XX.- U.S.A.: 1980.
- 17.- Connors, A. : Curso de Análisis Farmacéutico.- Ed. Reverté.- España, 1980.
- 18.- Aguiar, A.J. y Wheeler, L.M. : Evaluation of Physical and -- Pharmaceutical Factors Involved in Drug Release and Availability from Chloramphenicol Capsules.- J. Pharm. Sci.- 57: --- 1844-1850 (1968).
- 19.- Gottlieb, D. y Shaw, P.- Antibiotics: Mechanisms of Action.- Vol. I.- Springer-Verlog.- E.U.A., 1967.
- 20.- Gottlieb, D. y Shaw, P.- Antibiotics: Biosynthesis.- Vol.II. - Springer-Verlog.- E.U.A., 1967.

FIGURAS

- 1.- Perfil de Disolución Promedio (n=6) Porcentaje Contra -
Tiempo a 100 r.p.m.
- 2.- Perfil de Disolución de 12 Productos Comerciales de Clo--
ranfenicol. Método de Propelas.
- 3.- Perfil de Disolución de 12 Productos Comerciales de Cloran--
fenicol. Método de Propelas 50 r.p.m.
- 4.- Perfil de Disolución de 12 Productos Comerciales de Clo--
ranfenicol. Método de Propelas 25 r.p.m.
- 5.- Curva de Calibración de Cloranfenicol en Plasma. Método Co
lorimétrico de Bessman-Stevens.
- 6.- Niveles Alcanzados de Cloranfenicol Después de la Adminis--
tración a 12 Perros Beagle del Producto D (producto de -
referencia).
- 7.- Niveles Alcanzados de Cloranfenicol Después de la Adminis--
tración a 12 Perros Beagle del Producto I.
- 8.- Niveles Alcanzados de Cloranfenicol Después de la Adminis--
tración a 12 Perros Beagle del Producto J.

9.- Niveles Alcanzados de Cloranfenicol Después de la Administración a 12 Perros Beagle del Producto K.

10.- Niveles Promedio de Cloranfenicol \pm un Error Estándar Después de la Administración de los 4 Productos.

11.- Niveles Promedio de Cloranfenicol \pm un Error Estándar Después de la Administración de los 4 Productos (valores corregidos mcg/ml/Kg de peso corporal).

TABLAS

- I.- Medicamentos de Cloranfenicol a los que se les Realizó el Estudio de Disolución.
- II.- Resultados de las Determinaciones de Control de Calidad de los Doce Productos Comerciales.
- III.- Estudio Cruzado Completo.
- IV.- Reproducibilidad de la Determinación de Cloranfenicol en Plasma Obtenido en Diferentes Días.
- V.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Después de la Administración del Producto D (producto de referencia).
- VI.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Después de la Administración del Producto I.
- VII.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Después de la administración del Producto J.
- VIII.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Después de la Administración del Producto K.

- IX.- Resultados del Tiempo de Desintegración de los Cuatro Productos de Cloranfenicol.
- X.- Resultados de los Estudios de Disolución del Producto D.
- XI.- Resultados de los Estudios de Disolución del Producto I.
- XII.- Resultados de los Estudios de Disolución del Producto J.
- XIII.- Resultados de los Estudios de Disolución del Producto K.
- XIV.- Reproducibilidad y Linealidad del Método de Bessman y Stevens para la Cuantificación de Cloranfenicol en Plasma.
- XV.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Alcanzados Después de la Administración del Producto D de Referencia. (valores corregidos).
- XVI.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Alcanzados Después de la Administración del Producto I. (valores corregidos).

- XVI.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Alcanzados Después de la Administración del Producto J. (valores corregidos).
- XVIII.- Niveles Plasmáticos de Cloranfenicol Alcanzados Después de la Administración del Producto K. (valores corregidos).
- XIX.- Análisis de Varianza del Area Bajo la Curva de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle. (valores no corregidos).
- XX.- Análisis de Varianza del Area Bajo la Curva de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle. (valores corregidos).
- XXI.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagles a las 1.0 Horas. (valores no corregidos).
- XXII.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 1.5 Horas. (valores no corregidos).
- XXIII.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 2.0 Horas. (valores no corregidos).

- XXIV.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 6.0 Horas. (valores no corregidos).
- XXV.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 8.0 Horas. (valores no corregidos).
- XXVI.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 1.0 Horas. (valores corregidos).
- XXVII.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagle a las 1.5 Horas. (valores corregidos).
- XXVIII.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagles a las 2.0 Horas. (valores corregidos).
- XXIX.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagles a las 6.0 Horas. (valores corregidos).
- XXX.- Análisis de Varianza de los Niveles de Cloranfenicol en 12 Perros Beagles a las 8.0 Horas. (valores corregidos).

XXXI.- Análisis de Varianza de los Valores en que se alcanza la Máxima Concentración de Cloranfenicol - en Plasma de 12 Perros Beagles.

XXXII.- Constantes de Velocidad de Disolución Obtenidas del Equipo N° 3 de la USP XX.