

302927  
1  
2ej

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MÉXICO

ESCUELA: QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
(INCORPORADA A LA U.N.A.M.)

DISTRIBUCIÓN Y ELIMINACIÓN EN LECHE ENTERA DE UNA NUEVA MOLÉCULA DE LA FAMILIA DE LAS CEFALOSPORINAS APLICADA COMO SOLUCIÓN INYECTABLE A UNA VACA, DETERMINADO POR HPLC, UV, KIT.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

LORENA GARCÍA TORRES.

QUERÉTARO, QRO.; ENERO DE 1999

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

270330



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.



Hijo mío, está atento a mis palabras;  
Inclina tu oído a mis razones.  
No se aparten de tus ojos;  
Guárdalas en medio de tu corazón;  
Porque son vida a los que las hallan,  
Y medicina a tu cuerpo.  
Sobre toda cosa guardada, guarda tu corazón;  
Porque de él mana la vida.  
Aparta de ti la perversidad de la boca,  
Y aleja de ti la iniquidad de los labios.  
Tus ojos miren recto,  
Y diríjase tus párpados hacia lo que tienes delante.  
Examina la senda de tus pies,  
Y todos los caminos sean rectos.  
No te desvíes a la derecha ni a la izquierda;  
Aparta tu pie del mal.

Con el más profundo amor ; GRACIAS PAPA Y MAMA  
Gracias por ser mis hermanos; Marco, Guille, Roci, Angelita y Marlene.  
Cuando sean mayores sigan sinedo niños felices y hombres triunfadores : Max, Paulina, Leo, Andres,  
Fernanda, Alicia, Aida y Alejandra.

---

## INDICE

---

CAPITULO I	I. Introducción	1
	II. Justificación del proyecto.	2
	III. Hipótesis.	2
	IV. Objetivo	2
	V. Antecedentes	3
	CONCLUSIONES GENERALES	20
CAPITULO II	PUREZA DE CQ-M-EPCA POR HPLC	22
CAPITULO III	CONTENIDO DE CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% POR HPLC	30
CAPITULO IV	ESTABILIDAD DE LA CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% POR HPLC	37
CAPITULO V	IDENTIFICACION DE RESIDUOS DETALACTAMICOS POR SNAP-KIT	54
CAPITULO VI	DISTRIBUCION DE CQ-M-EPCA EN LECHE POR TLC	60
CAPITULO VII	DISTRIBUCION DE CQ-M-EPCA EN SUERO Y GRASA DETERMINADO POR HPLC Y ABSORBANCIA	69
CAPITULO VIII	COMPORTAMIENTO DE LA CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% POR EXCRECION MAMARIA DETERMINADO POR HPLC	76
	ANEXOS	93
	BIBLIOGRAFÍA	196

## I. INTRODUCCION

### Excreción mamaria

□ La persistencia de antibióticos, antiparasitarios y otros fármacos en la leche del ganado bovino ha suscitado muchas preocupaciones en el hombre, por lo que pudieran representar en términos de salud pública. Idealmente se procura detectar actividad antibiótica en leche y decomisarla si supera cierto nivel. Aunque la detección de antibióticos es posible mediante pruebas biológicas relativamente simples, aún no se ha logrado la detección de cualquier antibiótico del que aún no se haya estimado con justeza el peligro que sus residuos provocan, ya sea dando lugar a una resistencia bacteriana o induciendo hipersensibilidad a un antibiótico, así como otros efectos aún no bien determinados. Lo mismo se aplica a otras sustancias que se encuentran en leche de vacunos, como antihelmínticos, promotores del crecimiento, etc., de los que se sabe aún menos. Debido a que el pH de la leche es ligeramente ácido (6.5-6.9), especialmente con respecto al plasma (7.4), los fármacos alcalinos tenderán a concentrarse en leche, llegando a estar 4.5 veces más concentrados en el tejido mamario que en el plasma. (21)

En la actualidad dos de los grupos de antimicrobianos de más desarrollo farmacéutico son las fluoroquinolonas y los Beta-lactámicos. Del primer grupo, se cuenta en la actualidad con más de 340 compuestos con notable actividad antimicrobiana (20). En el caso de los compuestos Beta-lactámicos, se experimenta un enorme desarrollo de compuestos biosintéticos y semisintéticos a partir de la caracterización de la molécula base en 1945 (4). En México, a la fecha, no se ha desarrollado ningún antimicrobiano hasta la fase de comercialización. Uno de los grupos de antimicrobianos que más ha evolucionado en este sentido es el de la cefaquinolonas<sup>2</sup>. La idea inicial se basa en el acoplamiento del grupo 7-amino de un grupo B-lactámico con el grupo carboxilo de la posición 3 del anillo quinolonico, como se muestra en la figura 1. lograndose un enlace carboxamido característico de las cefalosporinas perfectamente estable, que da lugar a una nueva molécula de potencia considerable. De esta reacción básica, se han generado múltiples opciones con mayor o menor actividad dependiendo de los precursores utilizados para su síntesis.

La estructura de la nueva molécula ha sido comprobada mediante: IR, RMN, MS.

En diversos ensayos se ha detectado una actividad tóxica mínima o nula de esta molécula 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.

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 (1). De tal suerte, es necesario llevar a cabo estudios en este sentido en cada una de las especies a las que se habrá de aplicar. Esto permitirá, entre otras cosas, establecer los tiempos de retiro de la leche y carne, distribución en el organismo, intervalos de dosificación, concentración de la molécula en tejidos sanos afectados, etc.

<sup>2</sup> Premio CANIFARMA a tecnología farmacéutica.

El objetivo de Laboratorios Aranda es establecer con exactitud la farmacocinética de la nueva molécula:

Absorción

Distribución

Biodisponibilidad

Excreción:

Excreción renal

Absorción y reabsorción por difusión pasiva

Transporte renal activo

Filtración glomerular

Excreción biliar

Excreción pulmonar

Excreción por saliva

Excreción mamaria

## II. JUSTIFICACION DEL PROYECTO

Este proyecto solo se enfocara a excreción mamaria:

En función a lo anterior, se propone en este ensayo llevar a cabo un estudio en leche fresca entera de vaca y leche entera ultrapasteurizada libre de residuos B-lactámicos usada como blanco. Esto permitirá entre otras cosas establecer los tiempos de eliminación del medicamento en la leche por excreción mamaria, se obtendrá información de distribución de la molécula en suero y grasa de leche de vaca.

## III. HIPOTESIS

Las variables de eliminación y distribución de la CQ-M-EPCA (molécula) pueden ser descritas utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como método analítico en leche de vaca.

## IV. OBJETIVOS

### IV.A. GENERALES

Establecer la distribución en leche bronca de vacas clínicamente sanas de una nueva molécula de la familia de las cefaquinolonas (CQ-M-EPCA) aplicada como inyección intramuscular y determinación por HPLC del tiempo de eliminación.

### IV.B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a. Determinar mediante HPLC la pureza de la CQ-M-EPCA.
- b. Determinar mediante HPLC la composición del medicamento CQ-M-EPCA 10% Solución Inyectable.
- c. Determinar mediante HPLC la estabilidad de la CQ-M-EPCA 10% en Solución Inyectable.
- d. Determinar mediante SNAP DE B-LACTAMICOS (KIT) residuos Beta-lactámicos.
- e. Determinar mediante TLC la distribución de CQ-M-EPCA en leche entera ultrapasteurizada.
- f. Determinar cuantitativamente por HPLC la distribución de CQ-M-EPCA en leche entera ultrapasteurizada.
- g. Determinar mediante HPLC el comportamiento de CQ-M-EPCA por excreción mamaria en vacas sanas inyectadas con CQ-M-EPCA 10%.

## V. ANTECEDENTES

## CEFALOSPORINAS

ORIGEN:

En 1948, Brotzu, aisló por vez primera una cefalosporina a partir del hongo *Cephalosporium acremonium*. Los líquidos donde se cultiva este hongo contenía tres tipos de antibióticos definidos: cefalosporina P, activa únicamente contra microorganismos grampositivos, cefalosporinas N, una estructura con la cadena lateral derivada del ácido D-alfaminoadípico, efectiva frente a bacterias gramnegativas y grampositivas y la cefalosporina C menos potente que la cefalosporina N pero con igual gama de efectividad. (15)

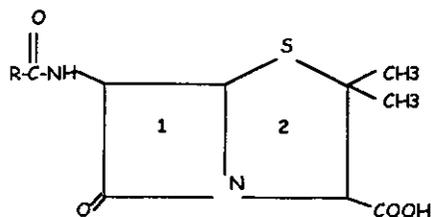
ACERCA DE:.....

## PENICILINAS Y CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas al igual que las penicilinas son estructuras beta-lactámicas, poseen dos anillos fusionados los cuales les brinda su actividad biológica: El anillo beta-lactámico y el anillo dihidrotiazina. Su actividad bacteriana es por el mismo mecanismo semejante al de las penicilinas: estas actúan destruyendo la estructura de la pared celular de la membrana del microorganismo en cuestión.

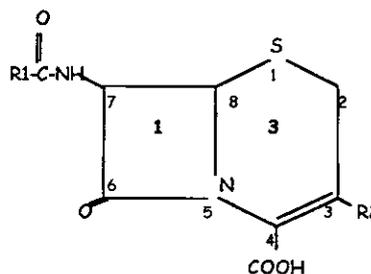
Ref. 13

## ESTRUCTURA BASICA



PENICILINA  
FLEMING  
1928

- 1 Anillo Beta-lactámico
- 2 Anillo Tiazolidino
- 3 Anillo Dihidrotiazina



CEFALOSPORINA  
BROTZU  
1945

La cefalosporina C contiene una cadena lateral derivada del ácido D-alfa-aminoadípico, que se condensa con un sistema de anillos dihidrotiazina betalactámicos (ácido 7-aminocefalosporánico) 7-ACA. Los compuestos que contienen este ácido tienen una estabilidad relativa e el ácido diluido y una resistencia elevada a la penicilinas, independientemente de la naturaleza de su cadena lateral y su afinidad por la enzima.

Por hidrólisis de la Cefalosporina C puede obtenerse la separación de la cadena lateral alifática unida al anillo Beta lactámico dando origen a lácido (7-ACA) 7-aminocefalosporánico. Este compuesto ha sido modificado mediante el agregado de diferentes cadenas laterales para crear una familia entera de antibióticos cefalosporinas. Parece que las modificaciones en la posición 7 del anillo betalactámico se asocian con alteración de la actividad antibacteriana y que las sustituciones en la posición 3 del anillo dihidrotiazina están asociadas con cambios en el metabolismo y en las propiedades farmacocinéticas.

Ref. 9

Con el aislamiento del grupo básico de la cefalosporina C, al ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA) y con el agregado de diferentes cadenas laterales fueron así obtenidos una gran diversidad de derivados semisintéticos con una actividad antibacteriana mucho mayor que la sustancia madre.

Las modificaciones en la posición 7 están asociados a cambios en las propiedades antibacterianas y las sustituciones en la posición 3 del anillo dihidrotiazinico se asocian a cambios en el metabolismo y a la farmacocinética del medicamento.

### ESTABILIDAD

En general son tan inestables como las penicilinas y deben por ello manejarse con cuidado, evitando su mezcla con otros fármacos, con soluciones con iones, agentes oxidantes, metales pesados, luz, humedad, temperatura elevada, etc. Desecadas y a temperatura ambiente puede durar uno o dos años en el almacén. La cefalosporina expuesta a estos agentes puede hidrolisarse abriendo el anillo betalactámico lo que produce la inestabilidad.

### MECANISMO DE ACCION

Las cefalosporinas actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias y poseen de forma general una vida media larga, lo que resulta beneficioso a la hora de su administración. (9) (fig. Bacteria)

### FARMACOCINETICA

**Absorción:** la existencia de gran número de cefalosporinas es un indicio de su variedad en absorción y su capacidad de irritación en el sitio de aplicación. Sin embargo se puede generalizar que, de acuerdo con la vía de administración especificada oral o parenteral difieren de uno a otro individuo significativamente; también a factores como su unión a las proteínas plasmáticas alcanzando niveles terapéuticos en un lapso de 30 a 60 minutos de su administración.

**Distribución:** las cefalosporinas tienen mejor distribución que las penicilinas, cruzan fácilmente la barrera placentaria y se les encuentra en concentraciones terapéuticas en el pericarpio, el humor vítreo, el líquido sinovial y la bilis. No obstante las cefalosporinas se difunden muy difícilmente al SNC, por que no son aconsejables para el tratamiento de infecciones en este nivel. Se unen a las proteínas plasmáticas en porcentajes variables.

**Biotransformación:** a diferencia de las penicilinas las cefalosporinas no parecen ser biotrasformadas en un porcentaje significativo, aún se sabe poco de la forma de biotransformación de la mayor parte de ellas.

**Excreción:** las cefalosporinas se excretan básicamente por vía renal, mediante filtración renal y por secreción tubular activa, solo requieren de una moderada reducción de la dosis en pacientes con deterioro en la función renal. (9)

### ESPECTRO ANTIMICROBIANO.

Tienen actividad contra grampositivas y gramnegativas y algunas bacterias productoras de beta-lactámicas (tabla 5). (14)

### RESISTENCIA.

Es de esperarse que por las similitudes estructurales de las penicilinas con las cefalosporinas existan Beta-lactámicas capaces de destruir a estas últimas, Las llamadas cefalosporinasas son menos comunes que las Beta-lactámicas específicas para las penicilinas (penicilinasas). (21)

### REACCIONES ADVERSAS.

Los pacientes que poseen una reacción leve o temporalmente distante a la penicilina, parecen poco propensos a correr riesgos de sufrir reacciones alérgicas luego de la administración de una cefalosporina. La toxicidad provocada por las cefalosporinas se traduce en nefrotoxicidad.(14) (Tabla 3)

USOS.

Son antibióticos de amplio espectro antibacteriano. Efectivas para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio y tejidos blandos; huesos y articulaciones, tracto urinario y torrente circulatorio, muy utilizados en cirugía para la profilaxis de la infección. (17) (8)

Como antibiótico recomendado durante el embarazo y la lactancia para el tratamiento de las infecciones: Bacteriuria, Gonorrea, Ruptura prematura de membranas, profilaxis en cesáreas y mastitis. (7) (2)

Utilización de ciclosporina y otros fármacos en trasplante renal. (2)

(Tabla 4)

CLASIFICACION.

Las cefalosporinas, se clasifican dentro de los antibióticos Betalactámicos de amplio espectro .

**Tabla 1- Características de las generaciones de cefalosporinas.(13)**

Generación	Aprobada US	Actividad in vitro		Suseptibilidad a Beta-lactámase
		Grampositivo	Gramnegativo	
1er.	1960 y 1970	Buena	Moderada	Relativamente susceptible
2do.	finales de 1970	Buena	Buena, amplio espectro	Resistente
3a.	1980's	Moderada	Muy buena amplio espectro (Pseudomonas)	Muy resistente
4a	1980 y 1990	Muy buena	Muy buena	Altamente resistente

La clasificación de acuerdo a las generaciones se basa fundamentalmente en su actividad antimicrobiana.

**Tabla 2- Clasificación de las cefalosporinas.**

PRIMERA GENERACION	SEGUNDA GENERACION	TERCERA GENERACION	CUARTA GENERACION O AMPLIO ESPECTRO
Cefalotina*	Cefaclor**	Cefotaxima*	Cefepime*
Cefalexina**	Cefprozil**	Ceftizoxima*	Cefpiroma*
Cefradina***	Cefamandol*	Ceftriaxona*	
Cefadroxil**	Cefuroxima*	Cefixima**	
Cefazolina*	Cefonicid*	Moxalactam*	
Cefapirina*	Ceforanide*	Ceftibuten*	
	Cefoxitina*	Cefpodoxima*	
	Cefmetazol*	Cefetamet	
	Cefotetam*	Cefoperazona*	
	Loracarbef*	Ceftazidima*	
		Cefodizima*	
		Cefsulodina*	
		Ceftiofur*	

vía de administración

\* parenteral

\*\* = oral

\*\*\* = oral y parenteral

Tabla 3- Reacciones adversas de las cefalosporinas.

Cefalosporinas	Hematológicas	Gastrointestinales	Otros
Primera generación	Anemia hemolítica, alteraciones plaquetárias, decuagulación, trombocitopenia, neutropenia.	Alteraciones transitorias de enzimas hepáticas	
Segunda generación	Anemia hemolítica, alteraciones plaquetárias, alteraciones de coagulación, trombocitopenia, neutropenia.		<i>Candida albicans</i>
Tercera y Cuarta generación		Diarrea. Colitis pseudomembranosa	

Tabla 4- Clasificación de las cefalosporinas de acuerdo a su uso.

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación	Cuarta generación
Endocarditis, Infecciones; respiratorias, urinarias, gastrointestinales, cutáneas, articulares y óseas, biliares, genitales, Septicemia, profilaxia pos-operatoria y preoperatoria	Faringitis, Infecciones; del tracto respiratorio, urinarias, cutánea, pélvicas, ginecológicas, intra-abdominales Bronquitis aguda o aguda y neumonías, Septicemia, profilaxia preoperatoria	Faringitis, Infecciones; del tracto respiratorio, sexuales, urinarias, cutánea, en el sistema nervioso central, articulares y óseas pélvicas, ginecológicas, intra-abdominales. Bronquitis aguda y neumonías, Septicemia, profilaxia preoperatoria, Otitis media, Sinusitis.	Faringitis, Infecciones; del tracto respiratorio, urinarias, cutánea, en el sistema nervioso central, articulares y óseas pélvicas, ginecológicas, intra-abdominales.

Tabla 5- Clasificación de las cefalosporinas por su espectro antimicrobiano

Primera generación	Segunda generación
<i>Cocos gram-positivos</i> aerobios entre ellos neumococos, Estreptococos beta-hemolíticos del grupo A, Estreptococos viridans. Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis y contra <i>cocos gram-negativos</i> adquiridos no comunmente ademas E. coli, Klebsiella spp, Cepas productoras de penicilinas, Proteus mirabilis, S.pneumonie, Haemophilus influenza, Enterobacter spp., Morganella morganii, P. vulgaris,	Menos activas contra <i>cocos gram-positivos aeróbicos</i> : cepas productoras de beta-lactamasa, Staphylococos aureus, Staphylococos epidermidis Streptococcus pneumoniae y Streptococcus pyógenes, S. agalactiae; pero mucho mas activas contra bacterias <i>aeróbicas gram-negativas</i> Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenza. E. coli, Klebsiella spp, Enterobacter sp., Proteus mirabilis. Proteus vulgaris, Morganella morganii, Neisseria gonorrea, P. aeruginosa, Providencia spp, Salmnella y Shigella spp. Citrobacter diversus, Propionibacteria acnes, Providencia ruttgeri, Serratia marcescens <i>Anaerobios</i> : cocos gram negativos y gram positivos; bacilos gram-positivos (Clostridium sp.) bacilos gram negativos no fermentadores(Bacteroides spp.) Prevotella bivia, Prevotella disiens, bacteroides fragilis, Prevotella melanogenica, bacteroides vulgatus, Fusobacterium spp.

**Tabla 5- Clasificación de las cefalosporinas por su espectro antimicrobiano**

Tercera generación	Cuarta generación o amplio espectro
<p>Son menos eficaces contra gram-positivos y tienen mayor acción contra bacterias gram-negativas.</p> <p><b>Gram-positivos aerobios:</b> . Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus spp., Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae.</p> <p><b>Gram-negativos aeróbicos:</b> Citrobacter spp. Enterobacter spp. Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Haemophilus parainfluenzae, Klebsiella spp., Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae Neisseria gonorrea, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Proteus inconstans grupo B, Morganella morganii, Providencia ruttgeri, Serratia spp., Serratia marcescens, Acinetobacter spp., M. catharralis, Salmonella spp., Shigella spp., Vibrio cholerae.</p> <p><b>Anaeróbios:</b> Bacteroides spp., Bacteroides fragilis, Clostridium spp., Peptococcus spp. Peptostreptococcus spp. Fusobacterium spp.</p>	<p>Estas cefalosporinas son de comercialización reciente. Tienen un espectro de acción mayor, son mas resistentes a la betalactamasa. Tiene actividad contra gran variedad de bacterias gram-positivas y gram-negativas.</p> <p><b>Gram-positivos aeróbicos:</b> Staphylococcus aureus, Streptococcus pyógenes, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae, otros streptococcus beta-hemolíticos y streptococcus viridans, Staphylococcus sp. coagulasa negativa, Streptococcus faecalis, Corynebacterium sp.</p> <p><b>Gram-negativos aeróbicos:</b> Citrobacter spp. Enterobacter spp. Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Haemophilus parainfluenzae, Klebsiella spp., Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae Neisseria gonorrea, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Proteus inconstans grupo B, Morganella morganii, Providencia ruttgeri, Serratia spp., Serratia marcescens, Acinetobacter spp., M. catharralis, Salmonella spp., Shigella spp., Vibrio cholerae. Pseudomonas sp., Acinobacter calcoaceticus, Legionella sp., Yersinia enterocolitica.</p> <p><b>Anaerobios:</b> Bacteroides sp., Clostridium perfringens, Fusobacterium sp., Peptostreptococcus sp., Enterococci, B. fragilis.</p>

## CLASIFICACION DE LAS CEFALOSPORINAS DEACUERDO AL SUSTITUYENTE.

(TABLA 6)

Las diferencias de las cefalosporinas están dadas por los sustituyentes en la cadena lateral y el sustituyente de la posición 3 (9-22) nos permite clasificar las cefalosporinas en 4 grupos básicos:

1.- Derivados de 7-ACA que presentan un grupo acetoxilo en la posición tres.

Ej. cefotaxima y Cefalotina.

2.- Derivados del 7-ADCA con un grupo metilo en la posición tres.

Ej. Cefalexina y cefadroxil.

3.- Cefalosporinas que presentan sustituyentes en C4 o sustituyente no carbonados.

Ej. Cefaclor y Cefroxadina.

4.- Cefalosporinas con sustituyentes heterocíclicos en la posición tres.

Ejemplo de grupos a introducir:

Grupo piridinium	(Cefaloridina)
Grupo tiadiazol	(Cefazolina)
Grupo triazol	(Cefotriazina)
Grupo tetrazol	(Cefamandol)
Grupo triazina	(Ceftriazona)

## CLASIFICACION DE LAS CEFALOSPORINAS DEACUERDO AL SUSTITUYENTE

Las diferencias de las cefalosporinas están dadas por los sustituyentes en la cadena lateral y el sustituyente en la posición 3 nos permite clasificar las cefalosporinas en 4 grupos básicos.

CEFALOSPORINA

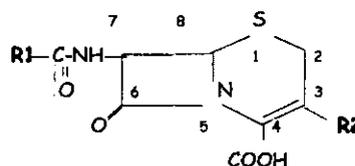
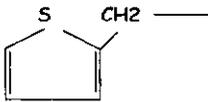
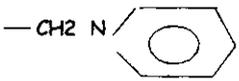
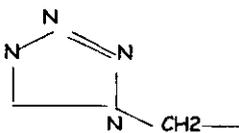
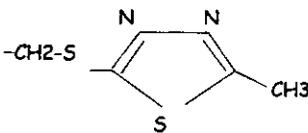
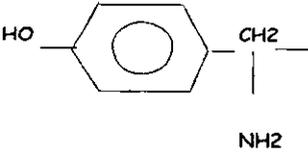
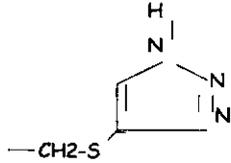
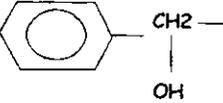
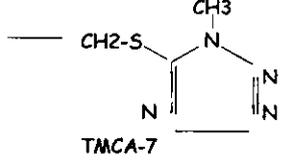
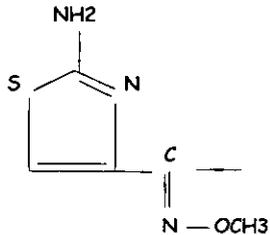
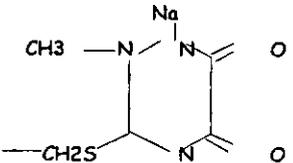


TABLA 6

GENERACION	NOMBRE	R1 Sustituyente en la cadena lateral	R2 Sustituyente en la posición 3
3a.	<b>DERIVADOS DEL 7-ACA</b> Cefotaxima		<b>Grupo acetoxilo</b> 
1a.	Cefalotina		
1a.	<b>DERIVADOS DEL 7-ADCA</b> Cefalexina		<b>Grupo metilo</b> 
1a. 1a.	Cefadroxil		
2da.	<b>SUSTITUYENTES EN EL C4 O</b> <b>DERIVADOS NO CARBONADOS</b> Cefaclor		

## CLASIFICACION DE LAS CEFALSOPORINAS DEACUERDO AL SUSTITUYENTE

GENERACION	NOMBRE	R1 Sustituyente en la cadena lateral	R2 Sustituyente en la posición 3
<b>SUSTITUYENTES HETEROCICLICOS</b>			
3a.	Cefaloridina		a. Grupo piridinio 
1a.	Cefazolina		b. Grupo tiadiazol 
2da.	Cefotriazina		c. Grupo triazol 
2da.	Cefamandol		d. Grupo tetrazol 
3a.	Ceftriaxona		e. grupo triazina 

También con el sustituyente metoxilo en la posición siete han sido sintetizadas las llamadas Cefamicinas. Estas fueron aisladas primeramente del hongo *Streptomyces*. De forma similar a las cefalosporinas también pueden ser variadas sintéticamente.

El grupo 7-metoxi es introducido de forma estereoselectiva en las cefalosporinas mediante diferentes métodos e imparte a esta una gran estabilidad frente a las enzimas Betalactámicas. (17)

### SINTESIS

Por ser el enlace Betalactámico de una elevada sensibilidad frente a ácidos y bases, requieren todos los procesos de síntesis y semisíntesis donde esté involucrado el anillo betalactámico, de la presencia de agentes que actúen activando posiciones, grupos protectores que puedan ser eliminados fácilmente y temperaturas de reacción tan bajas como sea posible. Estas condiciones son muy generales para la obtención de todas las cefalosporinas.

### SECUENCIA DE SINTESIS GENERAL.

Ruptura química o enzimática de la cefalosporina C a 7-ACA.

Desplazamiento del residuo 3-acetoxi en el 7-ACA con nucleófilos S y N

Síntesis de ácidos de la cadena lateral y si es necesario la protección de grupos funcionales.

Acoplamiento del ácido con la cadena lateral con el esqueleto 7-amino y si es necesario la remoción de los grupos protectores.

Preparación de sales estables y fisiológicamente bien toleradas.

Otras modificaciones en el anillo dihidrotiazínico y diferentes sustituciones en el anillo betalactámico conllevarían a la obtención de nuevas estructuras más potentes y específicas.

La investigación para obtener antibióticos más potentes tendrá que permanecer como una tarea permanente del desarrollo quimioterapéutico, si queremos mantener un alto nivel en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Las nuevas drogas tendrán que ser seleccionadas y evaluadas de acuerdo a la eficacia, tolerancia y necesidad de acuerdo a criterios muy estrictos antes de que sean usadas en la práctica clínica.

### **NUEVAS SINTESIS DE CEFALOSPORINAS CON ACCION DUAL ANTIBACTERIANA.**

Durante la revisión bibliográfica realizada se encontró que en los últimos 8 años se han desarrollado síntesis con cefalosporinas combinadas con fluoroquinolonas llamados modelos de acción dual, para crear nuevos antibióticos más potentes.

Figura 1a.

#### ***Cefalotina-Ciprofloxacina.***

Enlace éster entre el sustituyente del C3' de la cefalotina (cefalosporina) y el grupo carboxilo del C3 de la ciprofloxacina (fluoroquinolona).

La actividad antibacteriana in vitro ha resultado buena comparándola con cefalotina y ciprofloxacina, incluyendo actividad contra bacterias productoras de beta-lactámase. (11)

Figura 1b.

#### ***Desacetilcefotaxima-Fleroxacina.***

Enlace éster entre el sustituyente del C3' desacetilcefotaxima (cefalosporina) y el grupo carboxilo del C3 de la fleroxacina (fluoroquinolona).

La molécula presenta doble acción antibacteriana por la combinación del espectro de la cefalosporina y la quinolona.

La actividad antibacteriana in vitro ha resultado buena contra *Enterobacterias*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

La actividad antibacteriana in vivo en ratones ha sido evaluada en infecciones sistémicas producidas por gram-negativos y gram-positivos y comparada por separado con desacetilcefotaxima y fleroxacina. Pudiendo ser utilizado como un antibiótico de acción doble contra infecciones sistémicas, organismos específicos como gram-positivos que causan neumonía y meningitis y bacterias gram-negativos como *P. aeruginosa*. (12)

Figura 1c.

#### *Cefotaxima-Ciprofloxacina*

Enlace carboxamido entre el sustituyente del C3' del grupo éster de la cefotaxima (cefalosporina) y la amina cuaternaria de la posición 4' de la fleroxacina (fluoroquinolona). La molécula presenta doble acción antibacteriana por la combinación del espectro de la cefalosporina y la quinolona.

Tiene actividad antibacteriana in vitro de 99% contra 363 bacterias gram-positivas y gram-negativas aeróbicas, comparando la actividad contra cefotaxima y ciprofloxacina del 77 y 97% respectivamente.

La actividad antibacteriana in vivo en ratones ha sido evaluada en infecciones sistémicas producidas por gram-negativos y gram-positivos y comparada por separado con cefotaxima y Ciprofloxacina. Pudiendo ser utilizado como un antibiótico de acción doble contra infecciones sistémicas, organismos específicos como gram-positivos que causan neumonía y meningitis y bacterias gram-negativos como *P. aeruginosa*. (12)

#### *7-ACA-Ciprofloxacina.*

Enlace carboxamido entre el sustituyente éster de la posición C3' de la cefalosporina 7-ACA y la amina cuaternaria de la posición 4' de quinolona ciprofloxacina.

La molécula presenta doble acción antibacteriana por la combinación del espectro de la cefalosporina y la quinolona.

Este compuesto ha demostrado tener una actividad potente contra un amplio espectro de bacterias gram-positivas y gram-negativas incluyendo actividad contra bacterias productoras de beta-lactámase. (10)

### *¿ Por que los nuevos compuestos sintetizados son antibióticos de acción dual?*

#### *Mecanismo de acción doble:*

(figura 1d, bacteria)

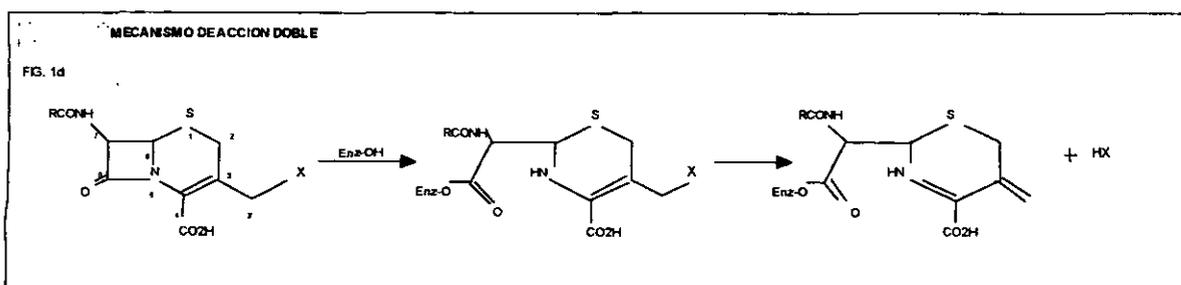
(Ver acerca de... Quinolonas)

Los nuevos compuestos están formados por cefalosporina y quinolona . La quinolona (X) se une a la cefalosporina en la posición C3' por un enlace éster o carboxamido.

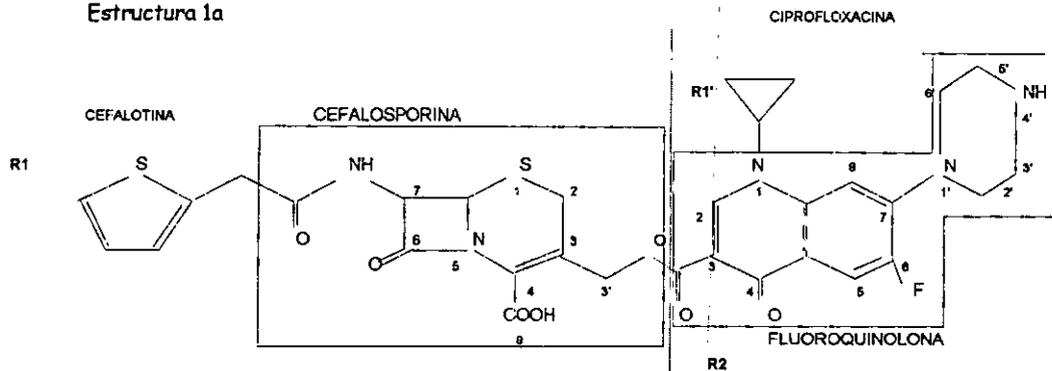
La bacteria produce la enzima betalactámase esta inactiva al antibiótico abriendo el anillo betalactámico de la cefalosporina lo que produce que este se hidrolice y libere el sustituyente (X) de la posición C3', el sustituyente que libera es la quinolona que posee actividad antibacteriana, por lo cual es un modelo de acción dual.

El objetivo de llevar a cabo síntesis de modelos de acción dual es desarrollar antibióticos mas potentes (cefalosporina-quinolona) uniendo la cefalosporina a una quinolona y disminuir la toxicidad de la quinolona.

Este mecanismo presenta una oportunidad de ampliar el espectro antibacteriano que incluye a organismos que resisten a cefalosporinas de tercera generación . (10)



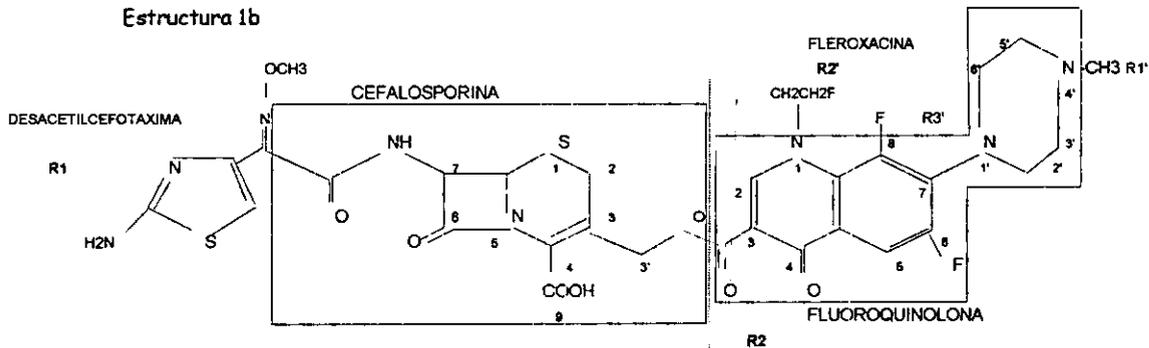
Estructura 1a



..... Enlace éster  
 Entre el sustituyente del C3' de la cefalosporina y el grupo carboxilo del C3 de la quinolona

R1 Cefalotina  
 R2 Ciprofloxacina  
 R1' ciclopropilo

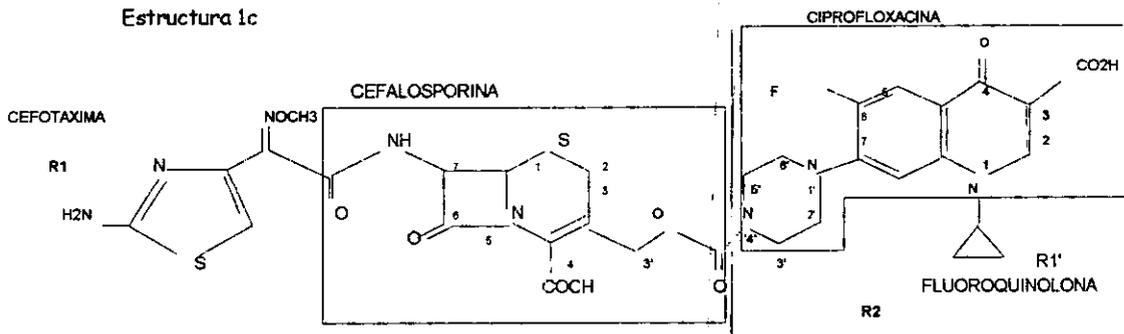
Estructura 1b



..... Enlace éster  
 Entre el sustituyente del C3' de la cefalosporina y el grupo carboxilo del C3 de la quinolona

R1 Sustituyente desacetilcefotaxima  
 R2 Fleroxacina  
 R1' Metilo  
 R2' Flúoroetilo  
 R3' Flúor

Estructura 1c



..... Enlace carboxamido.  
 Entre el sustituyente del C3' grupo éster y la amina cuaternaria de la posición 4' de la quinolona.

R1 Cefotaxima  
 R2 Ciprofloxacina  
 R1' ciclopropilo

ACERCA DE.....

**QUINOLONAS Y FLUROQUINOLONAS** MECANISMO DE ACCION.

Las quinolonas son utilizadas como quimioterapéuticos.

El blanco bioquímico de las quinolonas es la girasa ADN, una enzima bacteriana con 4 subunidades que intervienen en diversas reacciones de ADN de suma importancia, dicha enzima bacteriana produce giros superhelicoidales negativos de ADN de doble cordón e introduce roturas en el DNA.

¿Cuál es la función que realizan las quinolonas sobre estas enzimas bacterianas?

Elas bloquean las actividades de dicha enzima, además al parecer interfieren en la reacción de reestructuración del ADN, de la acción de separación unión de la propia girasa. Es decir la quinolona afecta el metabolismo de los ácidos nucleicos y bloquea la replicación bacteriana.

 CLASIFICACION.PRIMERA GENERACIÓNQUINOLONAS:

Acido nalidíxico, que es una naftiridina, cuyas modificaciones en su estructura produjo agentes antibacterianos tales como, el ácido oxolínico, ácido piperídico, ácido piromídico y la cinoxacina. (18)

El desarrollo y el descubrimiento de los cambios en la estructura química de este grupo de compuestos modificaba de manera importante su actividad antibacteriana hizo que innumerables compañías farmacéuticas sintetizaran nuevos agentes antimicrobianos.

SEGUNDA GENERACIONFLUROQUINOLONAS:

De ahí surgió la segunda generación de quinolonas llamadas ácidos QUINOLON-CARBOXILICOS o 4-quinolonas. Este término ha sido usado como un nombre genérico para el esqueleto común 4-oxo-1,4-dihidroquinolinas.

La adición de un grupo piperacínico en posición 7 y un átomo de flúor en posición 6 produce un grupo de agente antibacterianos llamados piperacínifluoroquinolonas o simplemente fluoroquinolonas.

Ellos contienen un átomo de flúor que le confiere actividad contra especies grampositivas como estafilococos, y el anillo piperazínico con lo cual su espectro de actividad es mas amplio contra especies gramnegativas aeróbicas y Pseudomonas aeruginosas.

La primera de esta segunda serie fue la Norfloxacin, a partir de ella por pequeños cambios estructurales surgieron la Enoxacin, Ciprofloxacina clorhidrato, Enrofloxacin, Perfloxacin, Ofloxacin y Amifloxacin las cuales tienen algunos usos veterinarios y otras para el consumo humano. Existen otras fluoroquinolonas tales como Dicloxacin y Plenoxacin están aun bajo investigación.

 ESPECTRO

Las quinolonas actúan como bactericidas frente a la mayoría de las bacterias comunes gramnegativas que causan infecciones urinarias, siendo la especie Pseudomonas, resistente a esta primera generación y menos activo contra microorganismos grampositivos.

Las fluoroquinolonas son muy activas contra microorganismos aeróbicos gramnegativos bacilli y cocci incluyendo el Enterobacteriaceae, Haemophilus influenzae, y Neisseria gonorrhoea y son activos contra Pseudomonas aeruginosa. Son sin embargo mas activas contra microorganismos grampositivos tales como Staphylococcus y Streptococcus pero la actividad contra las bacterias anaerobias es generalmente pobre

### RESISTENCIA.

Se demostró que el mecanismo de tal resistencia era la alteración de la girasa ADN.

La alteración de la girasa ADN hace que aumente las concentraciones inhibitorias mínima (MIC) de bacterias, pero tales incrementos por lo común llegan a niveles de un microgramo por mililitro, niveles que pueden obtenerse en la sangre con quinolonas tales como Ciprofloxacina y la Ofloxacina, y es mucho menos que las concentraciones de todos los nuevos agentes en orina.

Con respecto a la segunda generación poseen desventajas y es que no pueden usarse para tratar infecciones sistémicas, ya que con dosis inocuas no se alcanzan concentraciones plasmáticas efectivas, pero se concentran en los tubos renales, pelvis y vejiga; por lo tanto solo pueden usarse para tratar infecciones urinarias ya que alcanzan concentraciones antibacterianas efectivas en ellos. Otra desventaja es que durante el tratamiento se produce resistencia, adquirida rápidamente por mutación cromosómica al ácido nalidíxico.

### ABSORCION.

Se absorben bien por el tracto gastrointestinal y algunas poseen gran afinidad por las proteínas plasmáticas, además se excretan inmodificadas, mientras que otras poseen metabolitos que tienen mayor actividad antimicrobiana.

### FARMACOLOGIA.

Las fluoroquinolonas parecen ser absorbidas rápidamente cuando se administran oralmente.

Poseen vidas medias relativamente prolongadas, las concentraciones alcanzables en suero y tejidos, pulmones, hígado, corazón, hueso, próstata, secreciones salivales, mucosas nasales, epitelio bronquial, exceden las concentraciones inhibitorias máximas de la mayoría de los organismos gramnegativos y algunos grampositivos, lo que indica que estas sustancias son de uso potencial en el tratamiento de infecciones del tracto urinario.

### USOS.

Pueden usarse en el tratamiento de una variedad de infecciones producidas a causa de organismos susceptibles incluyendo aquellos de los del tracto respiratorio y gastrointestinal, gonorrea y la septicemia. Son utilizadas en infecciones de vías urinarias ya que atacan a microorganismos resistentes a beta-lactámase, aminoglucosidos, enfermedades venéreas, todas las quinolonas han sido eficaces en una sola dosis contra gonorrea, incluidas las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de penicilinasa. Se ha determinado que no son apropiadas para la sífilis, son muy utilizadas, pero no son de primera línea, son activas para la otitis necrosante, sinusitis, bronquitis bacteriana y fibrosis quísticas.

### EFECTOS ADVERSOS.

El efecto adverso más común se ha localizado en vías gastrointestinales. Como todos los agentes un fenómeno siempre presente es la náusea, incluyendo dolor abdominal, diarrea, la toxicidad en riñones no ha constituido un problema aunque se han reportado cristaluria, además se han señalado reacciones de fotosensibilidad cutáneas. La preocupación por el posible daño articular es la máxima razón por la que no se recomiendan el uso de quinolonas para combatir infecciones en niños.

**CQ-M-EPCA**

La actividad microbiológica de compuestos formados por la unión de una cefalosporina y una fluoroquinolona (10) han sido evaluados contra bacterias grampositivas y gramnegativas, siendo denominados como agentes antimicrobianos o cefalosporinas de acción dual, con una actividad superior a la cefalosporina pero menor a la de la quinolona, sin embargo, su espectro es amplio y su actividad es mayor contra las bacterias probadas (11)

En México, Laboratorios Aranda sintetizó un compuesto llamado CQ-M-EPCA (cefaquinolona) mediante formación de un híbrido de una cefalosporina y una fluoroquinolona, con buenos resultados a partir de 1992, siendo patentada a nivel nacional en abril de 1993, y a nivel Mundial en septiembre de 1994.

La nueva molécula tiene el nombre de CQ-M-EPCA por la siguiente razón:

C = Cefalosporina

Q = Quinolona (fluoroquinolona)

M = Molécula

EP = Enrofloxacin

CA = Acido 7-aminocefalosporánico (7-ACA).

La molécula está formada por dos precursores; que corresponden a una parte cefalosporánica que es el 7-ACA y la otra fluoroquinolónica que corresponde a Enrofloxacin.

#### PROCEDIMIENTO DE SINTESIS DE CQ-CARBOXAMIDOS

La idea inicial se basa en el acoplamiento del grupo 7-amino de un grupo B-lactámico con el grupo carboxilo de la posición 3 del anillo quinolónico, como se muestra en la figura lográndose un enlace carboxamido característico de las cefalosporinas perfectamente estable, que da lugar a una nueva molécula de potencia considerable. De esta reacción básica, se han generado múltiples opciones con mayor o menor actividad dependiendo de los precursores utilizados para su síntesis.

La pureza de la CQ-M-EPCA se determina por HPLC cuantificando la impureza de síntesis que puede corresponder a cualquiera de los precursores o a los dos; la pureza de la CQ-MEPCA varía dependiendo de la partida que va de 96 a 99%.

La estructura de la nueva molécula ha sido comprobada mediante: IR, RMN, MS.

#### PROPIEDADES FISICAS:

##### NOMBRE QUIMICO:

Acido 7-[(1-ciclopropil-6-fluor-7-(4-etilpiperazin-1-il-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-il) carboxamido] cefalosporánico.

FORMULA CONDENSADA:  $C_{29}H_{32}SFN_5O_7$

PESO MOLECULAR: 613.72

CLASIFICACIÓN: Producto obtenido a partir de 7-ACA y ENROFLOXACINA

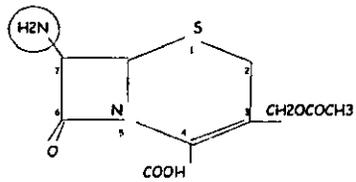
APARIENCIA: Polvo fino de color amarillo homogéneo sin partículas extrañas.

SOLUBILIDAD: Soluble en soluciones alcalinas a pH 10.0, de trietilamina, NaOH,  $NH_4OH$ ; insoluble en agua y cloroformo.

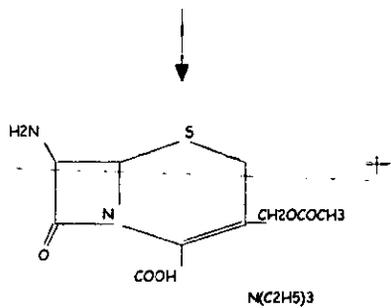
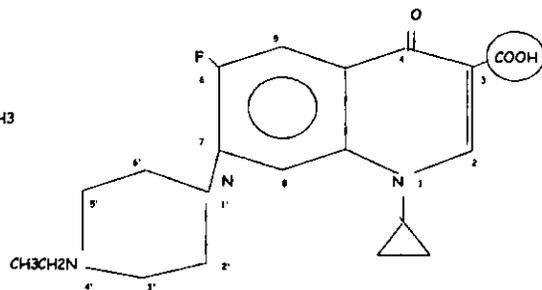
PUNTO DE FUSION: 162-180°C (descompone y funde)

HUMEDAD K.F.: 2.4%

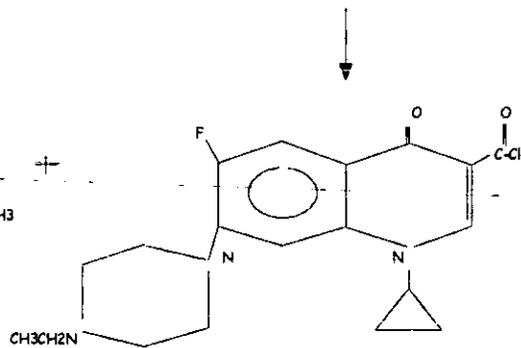
CEFALOSPORINA  
ACIDO 7-AMINOCEFALOSPORANICO



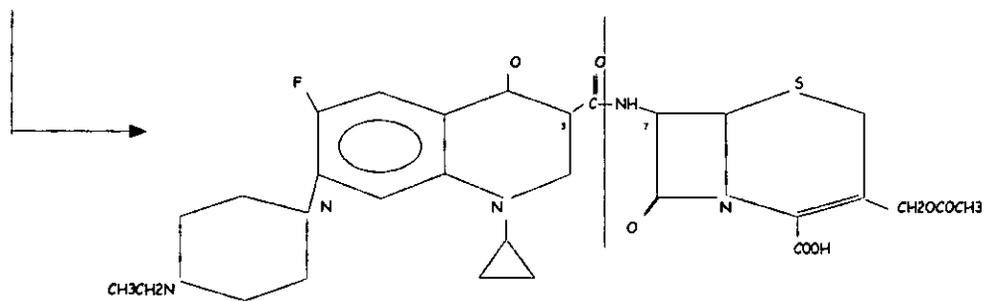
FLUOROQUINOLONA  
ENROFLOXACINA



A. SAL DE TRIETILAMINA DE 7-ACA



B. CLORURO DE ACIDO DE ENROFLOXACINA



CQ-M-EPCA

**CQ-M-EPCA****□ MECANISMO DE ACCION :**

El mecanismo de acción en este momento se continúa estudiando, por lo que se tienen algunas hipótesis y preguntas sin respuesta aún.

¿ La CQ-M-EPCA es un modelo de acción dual?

¿ El mecanismo de acción corresponde al de una cefalosporina o a una quinolona?

(Ver Dibujo: Bacteria)

" Probablemente la cefalosporina actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias y la quinolona afecta el metabolismo de los ácidos nucleicos y bloquea la replicación bacteriana."

**□ ESPECTRO ANTIMICROBIANO:**

La actividad antibacteriana de la CQ-M-EPCA in vitro ha resultado buena contra algunas bacterias gram-negativas aeróbicas comparada con cefalosporinas de tercera generación como: Cefotaxima, Ceftiofur, Cefoperazona, Ceftriaxona obteniendo resultados comparables a Cefotaxima.

La actividad antibacteriana in vivo en ratones ha sido evaluada en infecciones sistémicas producidas por gram-negativos comparada por separado con cefotaxima, ceftiofur y enrofloxacin obteniendo buenos resultados y comportamiento semejante a cefotaxima.

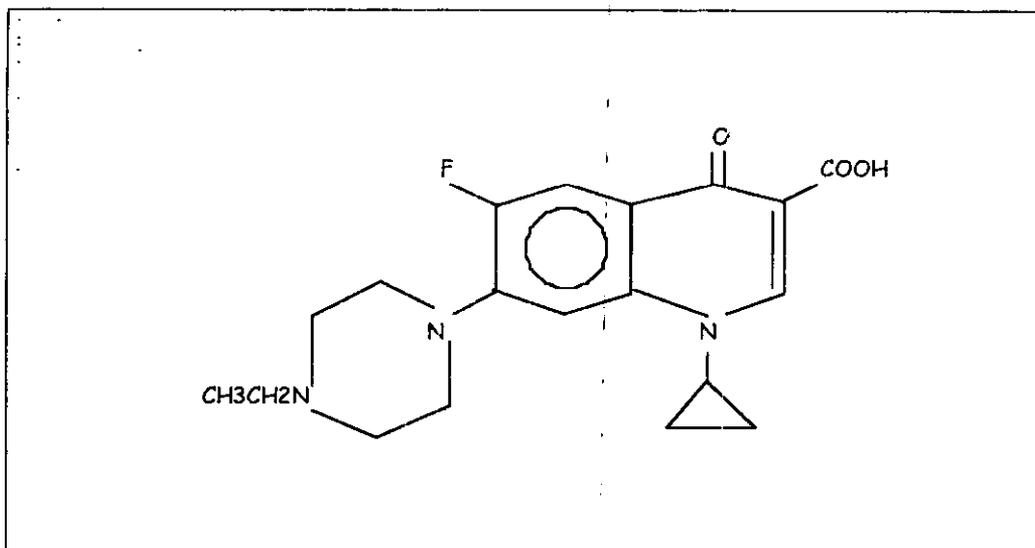
Utilizando una cepa resistente a quinolonas supero a la enrofloxacin y su actividad fue menor al ceftiofur que es una cefalosporina de cuarta generación.

Pudiendo ser utilizado como un antibiótico de acción dual contra infecciones sistémicas.

Surgen en este momento muchas preguntas acerca de este nuevo antibiótico que aun no tienen respuesta por lo cual en este momento el objetivo de Laboratorios Aranda es establecer con exactitud el espectro antimicrobiano, la toxicidad, el mecanismo de acción, usos y la farmacocinética.

En Laboratorios Aranda desde 1990 hasta la fecha se estan realizando muchos estudios en el area de síntesis, microbiología y farmacología experimental. Estos estudios se están realizando en paralelo en Coordinación con la Facultad de Veterinaria de la UNAM y Blue Ridge Pharmaceuticals, Inc. en los U.S.A.

## ENROFLOXACINA

**NOMBRE QUIMICO:**

Acido 1-Ciclopropil-6-fluor-(4-etilpiperazin-1-il)1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico.

FORMULA MOLECULAR:  $C_{19}H_{22}FN_3O_3$

PESO MOLECULAR: 359.44

APARIENCIA: Polvo fino de color amarillo homogéneo sin partículas extrañas.

PUNTO DE FUSION: 219-221°C (descompone y funde)

SOLUBILIDAD: Soluble en soluciones acuosas a pH 7.0, alcohol.

VALORACION: 98.9%

ESTABILIDAD: Es estable a cambios de temperatura e influencias hidrolíticas. Ligera sensibilidad a exposiciones prolongadas e intensas de la luz, sin embargo no afecta su actividad.

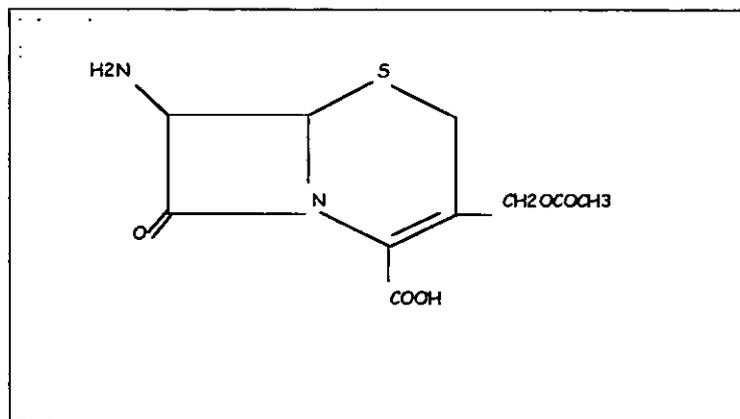
Materia prima para la síntesis de cefquinolonas: EPCA

La enrofloxacin es una quinolona de segunda generación derivada del ácido QUINOLIN-CARBOXILICO.

El sitio de acción es en el DNA girasa o topoisomerasa II, enzima vital para la replicación del material genético bacteriano (actúa sobre los ácidos nucleicos). De manera muy simplificada se puede decir que dicho material se encuentra conglomerado y la función del DNA girasa consiste en alinearlo y girarlo en sentido contrario a la torsión normal de la doble hélice y de esta forma permitir que el material genético se replique, transcriba, repare y recombine: Así la inhibición de estos procesos genera el bloqueo de múltiples funciones celulares, muchas de ellas vitales, de ahí el carácter bactericida de las quinolonas. (6)

## 7 -ACA

## ACIDO 7- AMINOCEFALOSPORANICO



Por hidrólisis de la Cefalosporina C puede obtenerse la separación de la cadena lateral alifática unida al anillo betalactámico dando origen al (7-ACA) ácido 7-aminocefalosporánico.

7-ACA es un antibiótico betalactámico y es precursor de varias síntesis de cefalosporinas.

Reacciones adversas: sensibilidad respiratoria, asma (3).

#### ❑ PROPIEDADES FISICAS

NOMBRE QUIMICO: Acido [3-(acetoxi)metil]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

FORMULA MOLECULAR:  $C_{10}H_{12}SN_2O_5$

PESO MOLECULAR: 272.30

PUNTO ISOELECTRICO: pH 3.5

Materia prima para la síntesis de cefaquinolonas: EPCA

APARIENCIA: Polvo fino de color amarillo homogéneo sin partículas extrañas.

PUNTO DE FUSION: 162-180°C (descompone y funde)

HUMEDAD K.F.: 0.5%

VALORACION: 97.4 %

## CONCLUSIONES GENERALES

Los objetivos propuestos en este trabajo fueron cubiertos:

Se determino por HPLC la pureza de la CQ-M-EPCA: 96 %

Se determino la composición y la estabilidad de la CQ-M-EPCA AL 10% por HPLC: A 4°C la cefquinolona disminuye 17.46% y la quinolona aumenta 1.7%, a 25°C la cefalosporina disminuye 27.42% y la quinolona aumenta 2.7%. Por lo tanto es más estable a 4°C.

Se determino que leche no tenía residuos beta-lactámicos para poder ser usada como blanco.

Se determino por HPLC, ABSORBANCIA Y TLC la distribución del CQ-M-EPCA en leche: la CQ-M-EPCA se encuentra en mayor concentración en suero que en grasa.

Se determino por HPLC el comportamiento y tiempo de eliminación del medicamento por excreción mamaria:

La leche puede consumirse después de las 24 horas de haber administrado el medicamento.

Por los resultados obtenidos hasta el momento podemos presumir que la CQ-M-EPCA actúa en el organismo como una CEFALOSPORINA y no se desdobra o hidroliza aumentando la actividad de la fluoroquinolona (enrofloxacin) como ocurrió en el estudio de estabilidad ya que no se detecto por HPLC la impureza y que probablemente no se trate de un modelo de acción dual.

CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% pretende dirigirse para uso exclusivo en la línea veterinaria.

Para Laboratorios Aranda es importante que la molécula actúe como una cefalosporina y no tenga acción dual es decir que por una parte actúe en el organismo la cefalosporina y por otro la fluoroquinolona ya que las quinolonas están prohibidas para usarlas en animales porque producen daño articular.

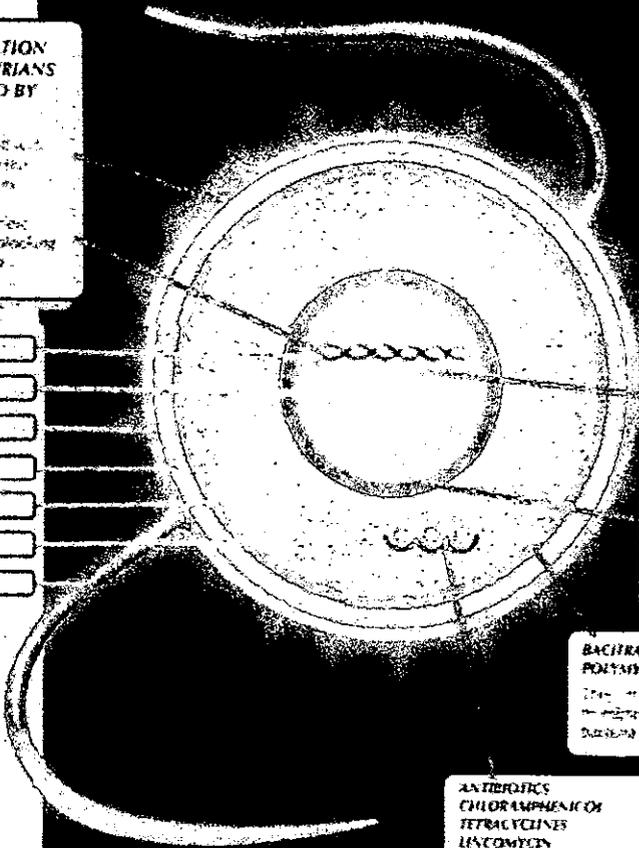
# BACTERIA

## NEW GENERATION OF ANTIBACTERIALS DISCOVERED BY "LASA"

They inhibit the cell wall synthesis of a large group of bacteria (Gram-positive).

They inhibit the protein synthesis, blocking the bacteria's replication.

- DNA
- Nucleus
- Cell Wall
- Periplasmic Space
- Cell membrane
- Ribosomes
- Flagellum



**PENICILLINS  
CEPHALOSPORINS  
QUINOLONES  
VANCOMYCIN  
CYCLOSERINE**  
They inhibit the cell wall synthesis and the bacteria's replication.

**QUINOLONES  
RIFAMYCINS**  
They inhibit the DNA synthesis and the bacteria's replication.

**NETRONAMIDAN  
TRIMETHOPRIM**  
They inhibit the protein synthesis and the bacteria's replication.

**BACTRACINES  
POLYMYXINS**  
They inhibit the cell wall synthesis and the bacteria's replication.

**ANTIBIOTICS  
CHLORAMPHENICOL  
TETRACYCLINES  
LINCOSAMIDES  
AMINOGLYCOSIDES  
MACROLIDES**  
They inhibit the protein synthesis and the bacteria's replication.



PUREZA DE CQ-M-EPCA<sup>1</sup>

## II. A OBJETIVO

DETERMINACIÓN DE LA PUREZA DE LA CQ-M-EPCA<sup>1</sup> POR HPLC

## II. B REACTIVOS Y MATERIAL

II.B.1 REACTIVOSMolécula CQ-M-EPCA<sup>1</sup>

Precursor ENROFLOXACINA\*

Precursor 7-ACA\*

Buffer de fosfatos de amonio dibásico pH 3.5 HPLC, 0.04 M HPLC

Buffer de fosfatos de amonio dibásico pH 10.0, 0.04 M HPLC

Ácido acético glacial R.A

Agua HPLC

Acetonitrilo HPLC

Metanol HPLC

II.B.2 MATERIAL

- 6 Matraz volumétrico 100 ml
- 6 Matraz volumétrico 25 ml
- 6 Pipeta volumétrica 1 ml
- 6 Pipeta volumétrica de 4 ml
- 6 Jeringas de 10 ml
- 2 Probetas de 100 ml
- 3 Filtros para jeringa Nylon Acrodisc, 0.45  $\mu$ m, 25 mm
- 1 Columna uBondapak C18 125 A 10  $\mu$ m, 3.9 x 150 mm  
Contenido: Dimethyloctadecylsilyl bonded amorphous silica-acetonitrilo-agua
- 10 Viales de 2 ml

## II. C EQUIPO

Cromatografo de líquidos de alta resolución (HPLC), Marca Hewlett Packard, Serie 1050.

Espectrofotómetro marca Varian, modelo Cary 1E UV-Visible

Potenciómetro marca Bekman

Balanza analítica marca Sartorius

\* Sintetizados en Laboratorios Aranda, S.A. de C.V.

<sup>1</sup> Patente Internacional Patent Bélgica.

**II-D PROCEDIMIENTO****II-D.1 CONDICIONES PARA HPLC*****1.A BOMBA***

Fase móvil: Buffer de fosfato de amonio pH 3.5, 0.04 M /Metanol

Gradiente: 65%-35%

Flujo: 1 ml/min

Presión: 90 bar

Tiempo: 10 minutos

***1.B INYECTOR***

Vol. inyección: 20 ul

Tiempo: 10 minutos

***1.C DETECTOR***

Longitud de onda: 280 nm

Tiempo: 10 minutos

***1.D INTEGRADOR***

ZERO = 0

ATT 2 = 8

CHT SP= 0.5

AR REJ = 100000

THRSH = 7

PK WD = 0.04

TIME 0 INTG 8

**II-D.2 CONDICIONES DEL ESPECTROFOTOMETRO**

Lampara: UV-VISIBLE

Modo: Nanometros

Inicio: 800.00 nm

Terminó: 200.00 nm

Tipo de pico: Picos

Threshold: 0.0200

### II-D.3 MÉTODO PARA HPLC Y U.V.

#### ***PREPARACIÓN DE LA MOLÉCULA CQ-M-EPCA PARA DETERMINACIÓN DE UV Y HPLC***

Pesar exactamente 100 mg de CQ-M-EPCA, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml y disolver con 4ml de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M pH 10.0, aforar con una mezcla de agua/acetoneitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

#### **U.V.**

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

#### **HPLC.**

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: área y tiempo de retención

La determinación será por duplicado y de cada una se inyectará 3 veces

#### ***PREPARACION DEL PRECURSOR ENROFLOXACINA PARA DETERMINACION DEL UV Y HPLC***

Pesar exactamente 100 mg de Enrofloxacin, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml , aforar con una mezcla de agua/acetoneitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

#### **U.V.**

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

#### **HPLC.**

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar área y tiempo de retención.

La determinación será por triplicado y de cada una se inyectará una vez.

#### ***PREPARACION DEL PRECURSOR 7-ACA PARA DETERMINACION DEL UV Y HPLC***

Pesar exactamente 100 mg de 7-ACA, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml para disolver la molécula con 4ml de buffer de fosfato de amonio dibásico 0.04 M pH 10.0 , aforar con una mezcla de agua/acetoneitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionarla a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

**U.V.**

Tomar 2 ml de la solución final.

Determinar: el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

**HPLC.**

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: área y tiempo de retención.

La determinación será por triplicado y de cada una se inyectará una vez.

De acuerdo a los tiempos de retención en la CQ-M-EPCA comparado con los tiempos de retención de los precursores, se determinará la pureza de la CQ-M-EPCA, en base a la materia no reaccionante de síntesis.

## II-E RESULTADOS

## E. A AREA BAJO LA CURVA (HPLC)

## PRECURSORES

## ANEXO II-E.A1 ENROFLOXACINA

CORRIDA	A.B.C.	T.R.
8	24180096	3.583
9	24088160	3.585
10	24067984	3.525
MEDIA	24112080	3.5636
DESVIACION ESTANDAR	50.981.663	0.1032
COEFICIENTE VARIACIÓN	0.2114	2.8986

## ANEXO II-E.A2 TACI

CORRIDA	A.B.C.	T.R.
14	3508134	1.867
15	3564646	1.867
16	3630392	1.885
MEDIA	3567724	1.873
DESVIACION ESTANDAR	61.186.494	0.0103
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.7250	0.5548

## MOLECULA

## ANEXO II-E.A3 CQ-M-EPCA

CORRIDA	CQ-M-EPCA	T.R.	ENROFLOXACINA	T.R.
	A.B.C.		A.B.C.	
2	15290976	5.141	872943	3.200
3	15588392	4.877	888938	3.060
4	15330672	4.846	850235	3.028
5	15332616	4.840	860275	3.112
6	15565000	4.946	815445	3.041
7	15188632	4.743	771221	3.028
MEDIA	15382715	4.8988	843176.17	3.0781
DESVIACION ESTANDAR	159269.29	0.1355576	43.055.313	0.06733
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.0353781	2.7671	5.1063	2.18

## II.E RESULTADOS

## E.B LONGITUD DE ONDA (nm) Y ABSORBANCIA

PRECURSORESANEXO II-E.B1 *ENROFLOXACINA*

Espectros	nm	Abs.
1	278.33	3.4506
2	278.33	3.4506
3	278.33	3.4506
MEDIA	278.33	3.4506
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE VARIACION	0	0

ANEXO II-E.B2 *7 ACA*

Espectros	nm	Abs.
1	265.54	1.4939
2	265.54	1.4939
3	265.54	1.4939
MEDIA	265.54	1.4939
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE VARIACION	0	0

MOLECULAANEXO II-E.B3 *CQ-M-EPCA*

Espectros	nm	Abs
1	278.33	2.8294
2	278.33	2.8294
3	278.33	2.8294
MEDIA	278.33	2.8294
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE VARIACION	0	0

## II-F CALCULOS.

## II-F.1 FORMULAS

a. Para determinar el % de impureza:

$$\% \text{ Impureza} = \left[ \left( \frac{R_u}{R_s} \right) \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \right] 100$$

b. Para determinar la Pureza de la CQ-M-EPCA:

$$\% \text{ Pureza} = \text{CQ-M-EPCA } 100\% \text{ Teórico} - \% \text{ Impureza}$$

Donde:

$R_s$  = A.B.C. del std.

$R_u$  = A.B.C. de la impureza la la muestra

$C_s$  = Concentración del std. en mg/ml

$C_u$  = Concentración de la muestra. en mg/ml

a.1 Determinación del % de impureza:

$$\% \text{ IMPUREZA} = \left[ \left( \frac{843176.17}{24112080} \right) \left( \frac{0.04 \text{ MG/ML}}{0.04 \text{ MG/ML}} \right) \right] 100 =$$

$$\% \text{ IMPUREZA ENROFLOXACINA} = 3.49$$

b.1 Determinación de la Pureza de la CQ-M-EPCA:

$$\% \text{ PUREZA CQ-M-EPCA} = 100\% \text{ CQ-M-EPCA TEORICO} - \% \text{ IMPUREZA ENROFLOXACINA}$$

$$\% \text{ PUREZA CQ-M-EPCA} = 100\% - 3.49\% = 96.51\%$$

Por lo tanto:

$$\text{PUREZA DE CQ-M-EPCA} = 96.51\%$$

$$\text{IMPUREZA QUE CORRESPONDE A ENROFLOXACINA} = 3.49\%$$

**II-6 INTERPRETACION DE HPLC'S Y U.V.****ANALISIS DE PUREZA DE PICOS:**

El objetivo del análisis realizado fue el de comprobar que el pico que se encuentra en el cromatograma ( Anexo II-E.A3) se trata de un solo compuesto y que no presenta ningún tipo de compuesto precursor que se encuentra coeluido con el pico de interés.

**U.V.**

Se realizo un corte espectral del pico de interés y se verifico por perfil espectral llegando a obtener una máxima absorbancia 278.33 nm (Anexo II-E.B3), lo mismo fue realizado para los precursores, llegando a obtener una máxima absorbancia para enrofloxacin de 278.33 nm(Anexo II-E.B1) y para 7-ACA de 265.54 nm (Anexo II-E.B2)

**HPLC**

En los cromatogramas de CQ-M-EPCA el análisis se realizó al retenido a los 3.0781 min. área 843176.17 y al pico que se presenta a 4.8988 min. área 15382715 (Anexo II-E.A3), los tiempos de retención fueron comparados con los tiempos de retención de los precursores que corresponde para Enrofloxacin 3.5636 min. área 24112080 (Anexo II-E.A1) y 7-ACA 1.873 min. área 3567724 (Anexo II-E.A2)

Por lo tanto:

Deacuerdo a los tiempos de retención:

En los cromatogramas de CQ-M-EPCA (Anexo II-E.A) el primer pico con t.r. 3.0781 min. es el resultado de una impureza de síntesis materia no reaccionante que corresponde a enrofloxacin y el pico de interés se presenta a los 4.8988 min. el cual corresponde a CQ-M-EPCA.

**II-H CONCLUSIONES**

Durante el procedimiento de síntesis de CQ-carboxamidos la sal de trietilamina de 7-ACA reacciona totalmente, sin embargo el cloruro de ácido de enrofloxacin no reacciona completamente todo, por lo tanto la impureza de CQ-M-EPCA se debe a la materia no reaccionante de enrofloxacin

EN ESTE CASO SE PUEDE DAR UN DATO PRESUNTIVO CON RESPECTO AL PICO DE SUSTANCIA NO REACCIONANTE (ENROFLOXACINA) COMO EL 3.49% POR LO ANTERIOR SE PUEDE ESTABLECER QUE LA PUREZA PRESUNTIVA DEL COMPUESTO PRINCIPAL PODRIA SER DE APROXIMADAMENTE 96.51%

## CONTENIDO DE CQ-M-EPCA

## III. A OBJETIVO

DETERMINACION EN HPLC DEL CONTENIDO DE CQ-M-EPCA<sup>1</sup> AL 10% COMO SOLUCION INYECTABLE

## III-B REACTIVOS Y MATERIAL

B.1 REACTIVOS

Molécula CQ-M-EPCA\*

Procaína. HCl

Hidroxido de sodio

Buffer de fosfatos de amonio dibásico pH 3.5 HPLC, 0.04 M HPLC

Buffer de fosfatos de amonio dibásico pH 10.0, 0.04 M HPLC

Acido acético glacial R.A

Agua HPLC

Acetonitrilo HPLC

Metanol HPLC

B.2 MATERIAL

(Ver II-B.2)

## III-C EQUIPO

(Ver II-C.2)

## III-D CONDICIONES DEL EQUIPO

III-D.1 CONDICIONES PARA HPLC

(Ver II-D.1)

III-D.1 CONDICIONES PARA U.V.

(Ver II-D.2)

## III-E PROCEDIMIENTO

***E.1 PREPARACION DE LA SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA 10%***

Formula:

Cada 100 ml contiene:

POLVO PARA RECONSTITUIR	CONTENIDO
CQ-M-EPCA*	9.651 g
Enrofloxacina*	0.349 g
PROCAINA. HCL	
Equivale	
PROCAINA BASE	0.87 g
<b>DILUENTE</b>	
HIDROXIDO DE SODIO	0.815 g
AGUA c.b.p.	100 ml

\* Pureza CQ-M-EPCA = 96.51% = 9.651 g

\* Impureza Enrofloxacina = 3.49 % = 0.349 g

## E.2 DETERMINACION DEL HPLC Y U.V DE LA SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml ,aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

### U.V.

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

### HPLC.

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

La determinación será por duplicado y de cada una se inyectará 3 veces

La determinación será cualitativa y cuantitativa.

Por lo tanto, para identificar los picos en el cromatograma de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA 10% se correrá en paralelo enrofloxacina y procaína.base.

Determinar: área, % de área y tiempo de retención

## E.3 PREPARACION DE ENROFLOXACINA PARA DETERMINACION DEL UV Y HPLC

Pesar exactamente 100 mg de Enrofloxacina, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml , aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

### U.V.

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

### HPLC.

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar área, % área y tiempo de retención.

La determinación será por triplicado y de cada una se inyectará una vez.

## E.4 PREPARACION DE PROCAINA.BASE PARA DETERMINACION DEL UV Y HPLC

Pesar exactamente 100 mg de Procaína.HCL, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml , aforar con una mezcla de diluyente de NaOH/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionarla a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

**U.V.**

Tomar 2 ml de la solución final.

Determinar: el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

**HPLC.**

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: área y tiempo de retención.

La determinación será por triplicado y de cada una se inyectará una vez.

- De acuerdo a los tiempos de retención de los picos en el cromatograma de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10% comparados con los tiempos de retención de enrofloxacina y procaína.base , se determinará cualitativamente y cuantitativamente las picos del cromatograma de SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%.

## III-F RESULTADOS

## F.A RESULTADOS HPLC

TABLA III-F.A1 SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%

RUN	PROCAINA. BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
	T.R	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
18	2.190	1302146	6.75723	2.999	1595076	8.27733	4.664	16373192	84.96544
19	2.203	1278231	6.77242	2.984	1416269	7.50378	4.598	16179576	85.72381
20	2.195	1256218	6.49876	2.996	1476087	7.63620	4.6202	16597816	85.86506
21	2.189	1288770	6.64782	2.968	1581320	8.15687	4.595	16516264	85.19533
22	2.190	1281246	6.57731	2.923	1675025	8.59878	4.479	16523528	84.82394
23	2.203	1329429	6.81827	2.941	1682248	8.62778	4.494	16486360	84.55395
6									
MEDIA	2.195	1289340	6.6786	2.9685	1571004.2	8.1334	4.5750	16446123	85.1879
DESVIACION ESTANDAR	0.0065421	24.727.717	0.2939	0.0308	106613.32	0.4792	0.0730	133338.74	0.5156
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0.2980	1.9178	4.4017	1.038	6.7863	5.8928	1.5963	0.8107	0.6052

TABLA III-F.A2 PROCAINA BASE

RUN	PROCAINA.BASE		
	T.R	AREA	% AREA
24	2.179	11911432	100.00
25	2.183	11725256	100.00
26	2.195	11981520	100.00
3			
MEIA	2.1856	11872736	100.00
DESVIACION ESTANDAR	0.0052664	13243923	0
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0.2409	1.11	0

TABLA III-F.A3 ENROFLOXACINA

RUN	ENROFLOXACINA		
	T.R	AREA	% AREA
11	3.555	24050688	100
12	3.560	24399824	100
13	3.543	24034656	100
3			
MEIA	3.5526	24161723	100.00
DESVIACION ESTANDAR	0.0087372	206356.49	0
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0.2459	0.8540	0

## F.B RESULTADOS U.V.

TABLA III-F.B1 SOLUCION INYECTABLE  
CQ-M-EPCA AL 10 %

RUN	SOL. INYECTABLE CQ-M-EPCA 10%	
	nm	absorbancia
1	279.00	3.1654
2	279.00	3.1654
3	279.00	3.1654
3		
MEIA	279.00	3.1654
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0	0

TABLA III-F.B2 PROCAINA BASE

RUN	PROCAINA. BASE	
	nm	absorbancia
1	228.91	4.4451
2	228.91	4.4451
3	228.91	4.4451
3		
MEIA	228.91	4.4451
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0	0

TABLA III-F.B3 ENROFLOXACINA

RUN	ENROFLOXACINA	
	nm	absorbancia
1	278.91	3.4506
2	278.91	3.4506
3		
3		
MEIA	278.91	3.4506
DESVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE DE VARIACION +/- 2%	0	0

## III-G ANALISIS DE RESULTADOS

G.A INTERPRETACION DE HPLC 'S  
CQ-M-EPCA AL 10%  
SOL. INYECTABLE*ANALISIS DE PUREZA DE PICOS:*

El objetivo del análisis realizado fue el de obtener el cromatograma de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10% e identificar cada pico.  
( ANEXO III-F.A1)

En el cromatograma se observan tres picos: (Anexo III-F.A1)  
El análisis se realizó al primer pico retenido a 2.195 min. área = 1289340 y % área = 6.6786.  
El segundo pico con un tiempo de retención de 2.9685 min. área = 1571004.2 y % área = 8.1334.  
Y al pico de interés con un tiempo de retención de 4.5750 min. área = 16446123 % área = 85.1879.  
(TABLA III-F.A1)

Para identificar cada pico se inyectó bajo las mismas condiciones por separado:  
Procaína.base registrando un tiempo de retención 2.1856 minutos ( ANEXO III-F.A2) (TABLA III-F.A2)  
Enrofloxacin registra un tiempo de retención de 3.5526 minutos (ANEXO III-F.A3 )  
(TABLA III-F.A3)

Por lo tanto el primer pico corresponde a procaína.base con un tiempo de retención de 2.195 minutos .  
El segundo pico corresponde a enrofloxacin (resultado de una impureza de síntesis materia no reaccionante) con un tiempo de retención de 2.9685 minutos .  
El pico de interés se presenta a los 4.5750 minutos. El cual corresponde a la CQ-M-EPCA  
(Anexo III-F.A1)

**G.B INTERPRETACION DE UV**  
**CQ-M-EPCA AL 10%**  
**SOL. INJECTABLE**

Se realizó un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verificó por perfil espectral llegando a obtener una máxima absorbancia a 279.00 nm (Anexo III-F.B1) (Tabla III-F.B1), lo mismo fue realizado para procaína.base llegando a obtener una máx. abs de 229.91 nm (Anexo III-F.B2) (Tabla III-F.B2) y para enrofloxacin de 278.91 nm (Anexo III-F.B3 Y Tabla III-F.B3)

**III-H CONCLUSIONES**

**CQ-M-EPCA AL 10%**  
**SOL. INJECTABLE**

COMPOSICION	AREA %	PESO (G) EQUIVALE
CQ-M-EPCA	85.1879 %	9.651 G
ENROFLOXACINA	8.1334 %	0.349 G
PROCAINA. BASE	6.6786 %	0.87 G

En este caso se podría dar un dato presuntivo con respecto al % área para:  
 Procaína.base con un 6.6786 % de área que equivale a 0.87G de la composición de la fórmula.  
 Enrofloxacin con un 8.1334% % de área equivale a 0.349 G de la composición de la fórmula (impureza de la CQ).

POR LO ANTERIOR SE PUEDE ESTABLECER QUE EL % DE AREA HPLC PRESUNTIVA DEL COMPUESTO PRINCIPAL CORRESPONDE AL 85.1879 % QUE REPRESENTA EL 100% de CQ-M-EPCA EQUIVALE A 9.651 G DE LA COMPOSICIÓN DE LA FÓRMULA.

ESTABILIDAD DE CQ-M-EPCA<sup>1</sup>

## IV.A OBJETIVO

DETERMINAR LA ESTABILIDAD DE LA CQ-M-EPCA<sup>1</sup> AL 10% COMO SOLUCION INYECTABLE

## IV-B REACTIVOS Y MATERIAL

## IV-B.1 REACTIVOS

(Ver II-B.1)

## IV-B.2 MATERIAL

- 6 Matraz volumétrico 10 ml
- 6 Matraz volumétrico 100 ml
- 6 Matraz volumétrico 25 ml
- 6 Pipeta volumétrica 1 ml
- 6 Pipeta volumétrica de 4 ml
- 6 Jeringas de 10 ml
- 2 Probetas de 100 ml
- 3 Filtros para jeringa Nylon Acrodisc, 0.45  $\mu$ m, 25 mm
- 1 Columna  $\mu$ Bondapak C18 125 A 10  $\mu$ m, 3.9 x 150 mm  
Contenido: Dimethyloctadecylsilyl bonded amorphous silica-acetonitrilo-agua
- 10 Viales de 2 ml
- 12 Frascos ambar con tapa y retapa.

## IV-C EQUIPO

Cromatografo de líquidos de alta resolución (HPLC), Marca Hewlett Packard, Serie 1050, detector de longitud de onda corta

Espectrofotómetro marca Varian, modelo Cary 1E UV-Visible

Potenciómetro marca Bekman

Balanza analítica marca Sartorius

Cámara fría

## IV- D. CONDICIONES DEL EQUIPO

## IV-D.1 CONDICIONES PARA HPLC

(Ver II-D.1)

## IV-D.2 CONDICIONES DEL ESPECTROFOTOMETRO

(Ver II-D.2)

#### IV-E PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LA SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA 10%

(Ver III-E.1)

Preparar 6 muestras con polvo para reconstituir y 6 con diluyente.

Reconstituir el polvo con el diluyente y realizar a cada muestra las siguientes determinaciones a diferentes temperaturas y tiempos:

3 Frascos de solución inyectable a 25°C.

3 Frascos de solución inyectable a 4°C.

#### IV- F DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD

##### F. A PROCEDIMIENTO

\* Las determinaciones de estabilidad se harán por triplicado para cada temperatura empleando el siguiente método de análisis.

TIEMPO	TEMPERATURA		DETERMINACIONES			
	25 °C +/- 5°C	4°C +/- 2°C	HPLC	U.V	pH	APARIENCIA
0	3 fcos.	3 fcos.	*	*	*	*
24	-	-	*	*	*	*
48	-	-	*	*	*	*
72	-	-	*	*	*	*
96	-	-	*	*	*	*

- 3 Frascos para 25 °C y 4°C, de los frascos para la determinación del tiempo cero se tomara muestra para las determinaciones de los otros tiempos.

##### F.A1 DETERMINACION DEL HPLC, U.V y APARIENCIA DE LA SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml ,aforar con una mezcla de agua/acetoniitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

##### *Apariencia:*

Observar la solución inyectable.

Determinar: apariencia , color, brillo y transparencia

##### *U.V.*

Tomar 2 ml de la solución final.

Determinar: el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

La determinación será por triplicado y de cada una se correrá el espectro una vez.

##### *HPLC*

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Injectar.

La determinación será por duplicado y de cada una se inyectará 3 veces

Determinar: área, % de área y tiempo de retención.

##### IV-F.A2 DETERMINACION DEL pH DE LA SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%

##### *pH*

Tomar 10 ml de la solución inyectable y adicionarlos en un vaso de precipitado de 50 ml y determinar el pH de la solución inyectable CQ-MEPCA

## IV-6 RESULTADOS

## IV-6.A ESTABILIDAD A 4°C +/- 2°C

## HPLC

VER TABLA IV-6.A

## ANEXO IV-6.A-HPLC1

RUN	TIEMPO	PROCAINA.BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	0	1.940	974788	6.98869	3.150	1176256	8.43310	5.872	11797040	84.57821
2	0	1.939	994351	8.40943	3.140	1173167	8.40943	5.846	11783096	84.46291
3	0	1.930	993152	7.14030	3.109	1127949	8.10943	5.775	11788000	84.75027
MEDIA		1.936	987430	7.08854	3.133	1159124	8.31732	5.831	11789378	84.59713
DESVIACION ESTANDAR		0.00522	187430.33	0.0841184	0.02137	27.042.484	0.1804266	0.05020	7073.4946	0.146112
COEFICIENTE DE VARIACION%/ ZS		0.2852	1.1104	1.1871	0.6823	2.3330	2.1692	0.8610	0.0599	0.17041

## ANEXO IV-6.A-HPLC2

RUN	TIEMPO	PROCAINA.BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	24	3.323	3129157	14.92509	3.975	1775539	8.46876	5.139	16061056	76.60618
2	24	3.060	3296781	15.53511	3.772	1812271	8.53980	4.848	16112432	75.92512
MEDIA		3.192	3212969	15.2301	3.874	1793905	8.50428	4.994	16086744	76.265665
DESVIACION ESTANDAR		0.18597	118928.07	0.43134	0.14354	25.973.446	0.50232	0.20576	36.328.318	0.48158
COEFICIENTE DE VARIACION%/ ZS		5.8261	3.6890	2.8322	3.7053	1.4478	0.5906	4.12030	0.2258	0.6314

## ANEXO IV-6.A-HPLC3

RUN	TIEMPO	PROCAINA.BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	48	2.328	1244395	7.53498	3.315	2881152	17.44575	5.501	12389368	75.01980
2	48	2.396	1242726	7.26133	3.281	2918062	17.05043	5.179	12953512	75.68822
3	48	2.145	1186050	6.78209	3.163	3050573	17.44382	4.830	13251360	73.77411
MEDIA		2.290	1224390	7.19228	3.253	2949929	17.3133	5.170	12864746	75.49387
DESVIACION ESTANDAR		0.12981	33.214.188	0.3810	0.07977	72.743.834	0.22767	0.33599	437797.92	0.41323
COEFICIENTE DE VARIACION%/ ZS		5.6688	2.7127	5.2982	1.1090	2.4659	1.3150	6.4911	3.4030	0.5473

## ANEXO IV-6.A-HPLC4

RUN	TIEMPO	PROCAINA.BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	72	2.359	1193783	6.69249	3.526	3830904	21.47649	6.021	12587328	70.56602
2	72	2.390	1223066	6.59523	3.465	3996638	21.55136	5.881	13138856	70.84960
3	72	2.416	1331437	6.56201	3.385	4561091	22.47941	5.505	14162944	69.80227
MEDIA		2.388	1249428	6.61657	3.458	4129544	21.835753	5.802	13296376	70.40596
DESVIACION ESTANDAR		0.02853	72.514.816	0.067808	0.07071	3.82807.18	0.55867	0.26684	799531.65	0.54169
COEFICIENTE DE VARIACION%/ ZS		1.1951	5.8038	1.0248	2.0450	9.2699	2.5585	4.59916	6.0131	0.7693

## ANEXO IV-6.A-HPLC5

RUN	TIEMPO	PROCAINA.BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	96	1.955	1012548	7.07510	3.300	3225634	22.53886	6.297	9968806	69.65629
2	96	1.949	991976	7.02284	3.255	3273413	23.17462	6.200	9859603	69.80253
3	96	1.956	975488	6.92887	3.170	3243758	23.04035	5.932	9859354	70.03078
MEDIA		1.953	993337	7.0089	3.241	3247601	22.91794	6.143	9895921	69.8298
DESVIACION ESTANDAR		3.80788	18.567.467	0.07409	0.06602	24.120.293	0.40742	1.18905	63.120.384	0.18873
COEFICIENTE DE VARIACION%/ ZS		0.1949	1.1892	1.0572	2.0371	0.7427	1.7777	3.0776	0.6378	0.2702

## IV-6 RESULTADOS

IV-6.A ESTABILIDAD A 4°C +/-2°C

U.V.

pH

VER TABLA IV-6.A

VER TABLA IV-6.A

## ANEXO IV-6A-UV1

TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBANCIA
0	279.00	3.1654
0	279.00	3.1654
0	279.00	3.1654
<b>MEDIA</b>	279.00	3.1654
DEVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE	0	0
DE VARIACION +/- 2%		

## ANEXO IV-6A-UV2

TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBANCIA
24	278.86	3.1466
24	278.86	3.1466
24	278.86	3.1466
<b>MEDIA</b>	278.86	3.1466
DEVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE	0	0
DE VARIACION +/- 2%		

## ANEXO IV-6A-UV3

TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBANCIA
48	278.33	3.0547
48	278.33	3.0547
48	278.33	3.0547
<b>MEDIA</b>	278.33	3.0547
DEVIACION ESTANDAR	0	0
COEFICIENTE	0	0
DE VARIACION +/- 2%		

## ANEXO IV-6A-UV4

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBANCIA
	72	279.00	2.9700
	72	279.00	2.9700
	72	279.00	2.9700
<b>MEDIA</b>	279.00	2.9700	
DEVIACION ESTANDAR	0	0	
COEFICIENTE	0	0	
DE VARIACION +/- 2%			

## ANEXO IV-6A-UV5

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBANCIA
	92	278.33	3.0269
	92	278.33	3.0269
	92	278.33	3.0269
<b>MEDIA</b>	278.33	3.0269	
DEVIACION ESTANDAR	0	0	
COEFICIENTE	0	0	
DE VARIACION +/- 2%			

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	0	10.47
2	0	10.47
3	0	10.47
<b>MEDIA</b>		10.47

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	24	9.97
2	24	9.97
3	24	9.97
<b>MEDIA</b>		9.97

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	48	9.45
2	48	9.45
3	48	9.45
<b>MEDIA</b>		9.45

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	72	9.15
2	72	9.15
3	72	9.15
<b>MEDIA</b>		9.15

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	96	9.42
2	96	9.42
3	96	9.42
<b>MEDIA</b>		9.42

**PRUEBAS DE ESTABILIDAD**  
**TEMPERATURA: 4°C +/- 2°C**

**CQ-M-EPCA**  
**AL 10% SOL INYECTABLE**

TIEMPO HORAS	U. V.		HPLC % AREA			pH	APARIENCIA
	nm	Abs.	PROCAINA. BASE	ENROFLOXACINA	CQ-M-EPCA		
0	279.00	3.1654	7.0855	8.3173	84.5971	10.47	SOL. BRILLANTE. COLOR AMARILLO
24	278.86	3.1466	15.2301	8.5042	76.2656	9.97	SOL. LIGERAMENTE TURBIA COLOR AMARILLO AMBAR
48	278.33	3.0547	7.1928	17.3133	75.4938	9.45	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.
72	279.00	2.9700	6.6165	21.8357	70.4059	9.15	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.
96	278.33	3.0269	7.0089	22.9179	69.8298	9.42	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.

## IV-6 RESULTADOS

IV-6.B ESTABILIDAD A 25°C +/-5°C

HPLC

VER TABLA IV-6.B

## ANEXO IV-6.B-HPLC1

RUN	TIEMPO	PROCAINA BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	0	1.940	974788	6.98869	3.150	1176256	8.43310	5.872	11797040	84.57821
2	0	1.939	1173167	8.40943	3.140	1173167	8.40943	5.846	11783096	84.46291
3	0	1.930	993152	7.14030	3.109	1127949	8.10943	5.775	11788000	84.75027
MEIA		1.936	987430	7.08554	3.133	1159124	8.31732	5.831	11789378	84.59713
DESVIACION ESTANDAR		0.00522	187430.33	0.0841184	0.02137	27.042.484	0.1804266	0.05020	7073.4946	0.146112
COEFICIENTE DE VARIACION%-%		0.2852	11104	1.1871	0.6823	2.3330	2.1692	0.8610	0.0599	0.17041

## ANEXO IV-6.B-HPLC2

RUN	TIEMPO	PROCAINA BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	24	2.416	1191115	6.56607	3.235	3605998	19.87821	4.946	13343344	73.55571
2	24	2.377	1181323	6.58600	3.273	3576712	19.94054	5.246	13178856	73.47347
MEIA		2.396	1186219	6.57603	3.254	3591355	19.90937	5.096	13261100	73.51459
DESVIACION ESTANDAR		0.027586	6923.9896	0.01409	0.02687	20.708.329	0.0440739	0.21213	116310.58	0.05815
COEFICIENTE DE VARIACION%-%		1.1513	0.5837	0.2143	0.8257	0.5766	0.2213	4.1627	0.8770	0.0791

## ANEXO IV-6.B-HPLC3

RUN	TIEMPO	PROCAINA BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	48	2.296	1128299	7.24038	3.401	3977421	25.52341	5.822	10477704	67.23619
2	48	2.312	1526756	6.88306	3.445	5669408	25.55933	5.928	14985208	67.55763
3	48	2.293	1048900	6.94178	3.352	3745792	24.79022	5.738	10315272	68.26800
MEIA		2.3003	1234651.7	7.02174	3.399	4464207	25.29099	5.829	11926061	67.687273
DESVIACION ESTANDAR		0.0102144	256065.92	0.19161	0.04652	1060140.5	0.43404	0.09521	2650543.3	0.52798
COEFICIENTE DE VARIACION%-%		0.4440	20.7399	2.7288	1.3687	23.5235	1.7162	1.6334	22.2248	0.7800

## ANEXO IV-6.B-HPLC4

RUN	TIEMPO	PROCAINA BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	72	2.439	964678	5.96893	3.399	4516141	27.94354	5.453	10680840	66.08752
2	72	2.517	1012655	5.94357	3.498	5012163	29.41790	5.319	11012992	64.63856
3	72	2.499	1127364	6.56811	3.236	5250387	30.58918	4.786	10786448	62.84272
MEIA		2.485	1034.899	6.16020	3.378	4926230.3	29.31687	5.186	1082670	64.52293
DESVIACION ESTANDAR		0.0408411	83.592.944	0.353485	0.13229	374589.93	1.32571	0.35282	169705.72	1.62548
COEFICIENTE DE VARIACION%-%		1.6435	8.0774	5.7382	3.9164	7.6039	4.5220	6.8035	0.6379	2.5192

## ANEXO 6.A-HPLC5

RUN	TIEMPO	PROCAINA BASE			ENROFLOXACINA			CQ-M-EPCA		
		T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA	T.R.	AREA	% AREA
1	96	2.045	876006	8.32010	3.454	3315734	31.49208	6.466	6337050	60.18784
2	96	1.970	762526	7.04158	3.333	3345958	30.89841	6.370	6720416	62.06000
3	96	1.972	758174	7.05096	3.343	3333045	30.99706	6.380	6661555	61.95200
MEIA		1.995	798902	7.47088	3.376	3331579	31.12918	6.405	6573007	61.3939
DESVIACION ESTANDAR		0.042743	66.809.469	0.73546	0.067163	15.165.237	0.318124	0.052777	206453.22	1.0511
COEFICIENTE DE VARIACION%-%		2.1425	8.3626	9.8443	1.9894	0.4551	1.0219	0.8240	3.1409	1.7118

CAPITULO IV  
IV-6 RESULTADOS

IV-6-B ESTABILIDAD A 25°C +/- 5°C

U.V.

pH

VER TABLA IV-6-B  
ANEXO IV-6-B-UVI

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBIANCIA
	0	279.00	3.1654
	0	279.00	3.1654
	0	279.00	3.1654

MEDIA: 279.00  
 DESVIACION ESTANDAR: 0  
 COEFICIENTE DE VARIACION: 0

ANEXO IV-6-B-UV2

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBIANCIA
	24	278.86	3.0702
	24	278.86	3.0702
	24	278.86	3.0702

MEDIA: 278.86  
 DESVIACION ESTANDAR: 0  
 COEFICIENTE DE VARIACION: 0

ANEXO IV-6-B-UV3

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBIANCIA
	48	278.33	2.9670
	48	278.33	2.9670
	48	278.33	2.9670

MEDIA: 278.33  
 DESVIACION ESTANDAR: 0  
 COEFICIENTE DE VARIACION: 0

ANEXO IV-6-B-UV4

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBIANCIA
	72	280.00	2.9599
	72	280.00	2.9599
	72	280.00	2.9599

MEDIA: 280.00  
 DESVIACION ESTANDAR: 0  
 COEFICIENTE DE VARIACION: 0

ANEXO IV-6-B-UV5

RUN	TIEMPO	LONGITUD DE ONDA MAXIMA (nm)	ABSORBIANCIA
	96	280.00	3.0593
	96	280.00	3.0593
	96	280.00	3.0593

MEDIA: 280.00  
 DESVIACION ESTANDAR: 0  
 COEFICIENTE DE VARIACION: 0

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	0	10.47
2	0	10.47
3	0	10.47

MEDIA: 10.47

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	24	9.81
2	24	9.81
3	24	9.81

MEDIA: 9.81

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	48	9.05
2	48	9.05
3	48	9.05

MEDIA: 9.05

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	72	9.45
2	72	9.45
3	72	9.45

MEDIA: 9.45

NO.	TIEMPO HRS.	pH
1	96	9.20
2	96	9.20
3	96	9.20

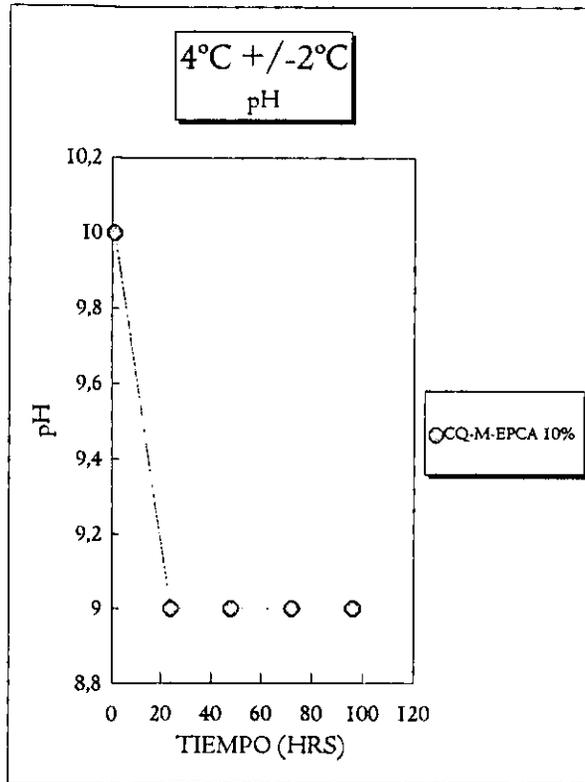
MEDIA: 9.20

TABLA IV-G.B

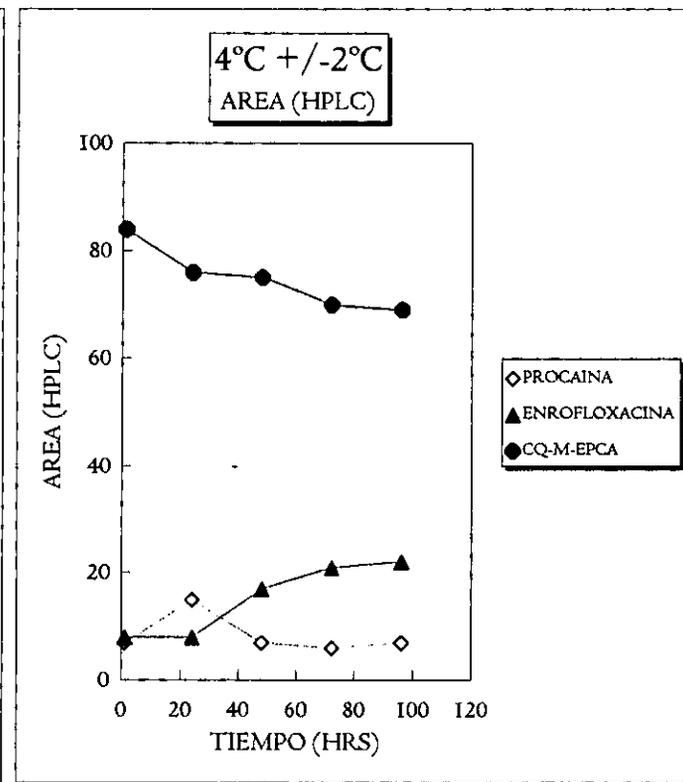
**PRUEBAS DE ESTABILIDAD  
TEMPERATURA: 25C +/- 5°C**

**CQ-M-EPCA  
AL 10% SOLUCION INYECTABLE**

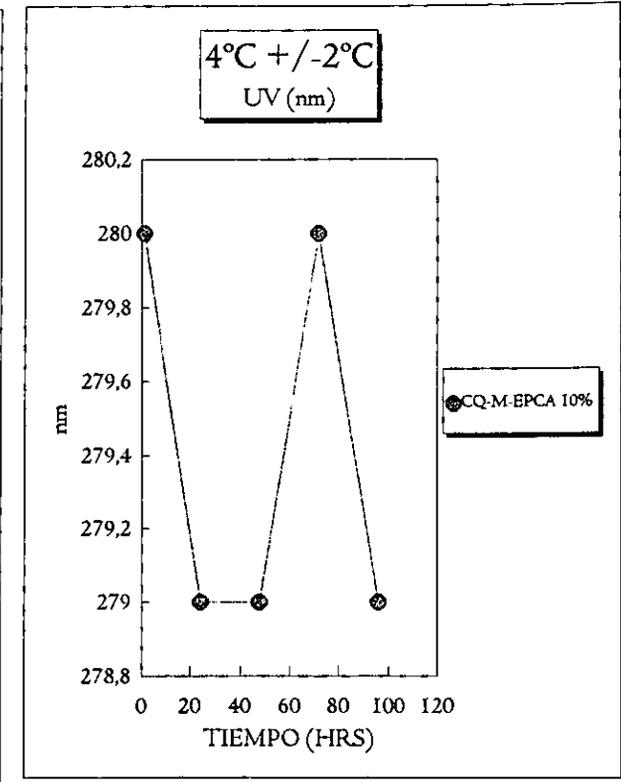
TIEMPO HORAS	U. V.		HPLC % AREA			CQ-M-EPCA Equivalente	pH	APARIENCIA
	nm	Abs.	PROCAINA. BASE	ENROFLOXACINA	CQ-M-EPCA			
0	279.00	3.1654	7.0855	8.3173	84.5971	100 %	10.47	SOL. BRILLANTE. COLOR AMARILLO
24	278.86	3.0702	6.5760	19.9093	73.5145	86.89 %	9.81	SOL. LIGERAMENTE TURBIA COLOR AMARILLO AMBAR
48	278.33	2.9875	7.0217	25.2909	67.6872	80.00%	9.05	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.
72	280.00	2.9599	6.1602	29.3168	64.5229	76.27 %	9.45	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.
96	280.00	3.0593	7.4708	31.1291	61.3999	72.57%	9.20	SOL. TURBIA, COLOR AMARILLO AMBAR.



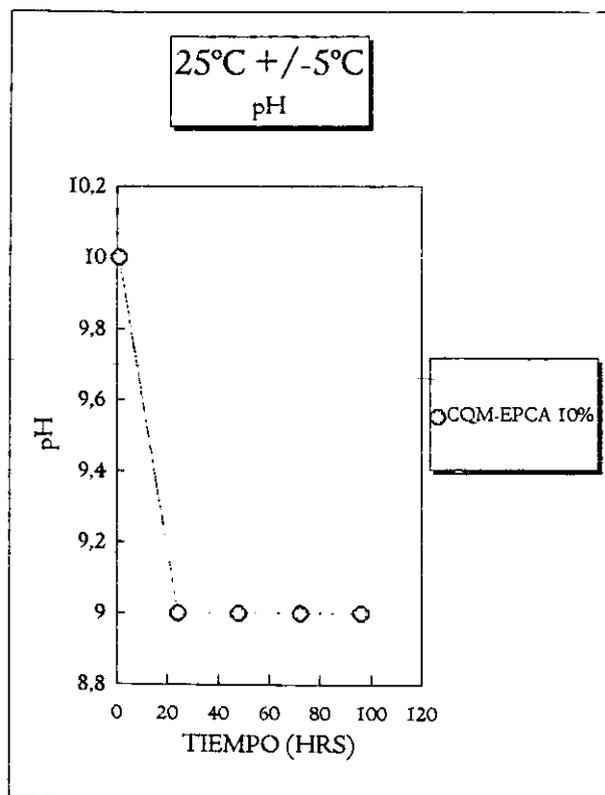
IV-1A-pH



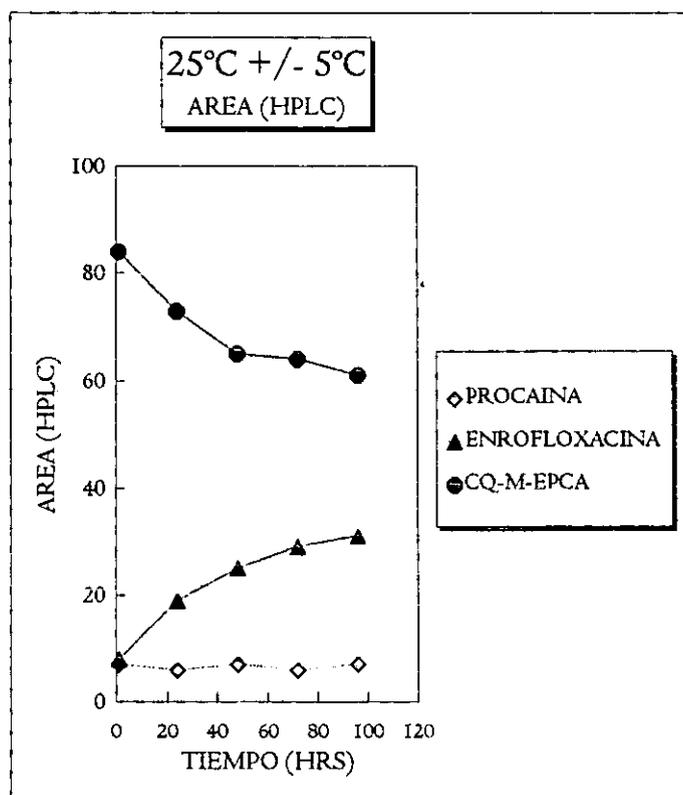
IV-1A-HPLC



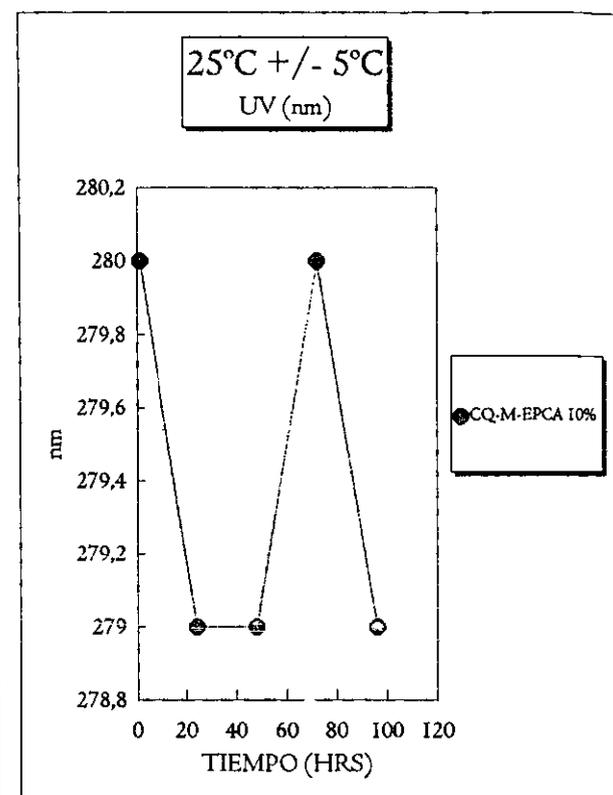
IV-1A-UV



IV-IB-pH



IV-IB-HPLC



IV-IB-UV

**IV-H ANALISIS DE RESULTADOS**

El objetivo del análisis realizado fue el de saber cual es el comportamiento de la Solución Inyectable CQ-M-EPCA 10% a 4°C +/- 2°C (Tabla IV-G.A) y a 25° C +/-5° C (tabla IV-G.B) durante una semana.

Las pruebas de estabilidad realizadas fueron:

U.V.

HPLC

pH

Apariencia

El análisis de la CQ-M-EPCA 10% fue realizado en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con detector de arreglo de diodos 991 con 512 diodos y de longitud de onda variable marca Watters

**TEMPERATURA: 4° C +/- 2° C**

**TIEMPO: 0 HORAS**

**HPLC:** (Anexos IV-G.A-HPLC1)

En el cromatograma observamos tres picos corresponde:

El primero a procaína.base con 7.0 % área.

El segundo a enrofloxacin con 8.3 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 84.5 % área.

**U.V.**

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.86 y absorbancia 3.0702 (Anexos IV-G.A-UV1).

**pH** es de 10.47 (Anexo VI-G.A-PH1)

La **apariciencia** de la solución brillante, color amarillo.

**TIEMPO: 24 HORAS**

**HPLC:** (Anexos IV-G.A-HPLC2)

En el cromatograma observamos tres picos corresponde:

El primero a procaína.base con 15.2 % área.

El segundo a enrofloxacin con 8.5 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 74.2 % área.

**U.V.**

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verificó por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.86 y absorbancia 3.14 (Anexos IV-G.A-UV2).

**pH** es de 9.97 (Anexo VI-G.A-PH2)

**Apariencia** de la solución brillante, color amarillo.

**TIEMPO: 48 HR****HPLC: (Anexos IV-G.A-HPLC3)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde:

El primero a procaína.base con 7.1 % área.

El segundo a enrofloxacin con 17.3 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 75.4 % área.

**U.V.**

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.33 y absorbancia 3.05 (Anexos IV-G.A-UV3).

**pH** es de 9.45 (Anexo VI-G.A-PH3)

**La apariencia** de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

**TIEMPO: 72 HR****HPLC: (Anexos IV-G.A-HPLC4)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde:

El primero a procaína.base con 6.6 % área.

El segundo a enrofloxacin con 21.8 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 70.4 % área.

**U.V.**

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 279.00 y absorbancia 2.97 (Anexos IV-G.A-UV4).

**pH** es de 9.15 (Anexo IV-G.A-PH4)

**La apariencia** de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

**TIEMPO: 96 HR****HPLC: (Anexos IV-G.A-HPLC5)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde:

El primero a procaína.base con 7.0 % área.

El segundo a enrofloxacin con 22.9 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 69.8 % área.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 279.00 y absorbancia 2.97 (Anexo IV-G.A-UV5).

**pH** es de 9.42 (Anexo IV-G.A-PH5)

**La apariencia** de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

**TEMPERATURA: 25° C +/- 5° C**

**TIEMPO: 0 HORAS****HPLC: (Anexos IV-G.B-HPLC1)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde

El primero a procaína.base con 7.0 % área.

El segundo a enrofloxacin con 8.3 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 84.5 % área.

U.V.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.86 y absorbancia 3.0702 (Anexos IV-G.B-UV1).

pH es de 10.47 (Anexo IV-G.B -PH1)

La apariencia de la solución brillante, color amarillo.

**TIEMPO: 24 HR****HPLC: (Anexos IV-G.B-HPLC2)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde

El primero a procaína.base con 6.5 % área.

El segundo a enrofloxacin con 19.9 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 73.5 % área.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.86 y absorbancia 3.0702 (Anexos IV-G.B-UV2).

pH es de 9.81 (Anexo IV-G.B -PH2)

La apariencia de la solución brillante, color amarillo.

**TIEMPO: 48 HR****HPLC: (Anexos IV-G.B-HPLC3)**

En el cromatograma observamos tres picos corresponde

El primero a procaína.base con 7.02 % área.

El segundo a enrofloxacin con 25.29 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 67.68 % área.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 278.33 y absorbancia 2.9875 (Anexos IV-G.B-UV3).

pH es de 9.05 (Anexo IV-G.B -PH3)

La apariencia de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

pH es de 9.05 (Anexo IV-G.B -PH3)

La apariencia de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

#### TIEMPO: 72 HR

**HPLC:** (Anexos IV-G.B-HPLC4)

En el cromatograma observamos tres picos corresponde

El primero a procaína.base con 6.16 % área.

El segundo a enrofloxacin con 29.31 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 64.52 % área.

U.V.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 280.00 y absorbancia 2.9599 (Anexos IV-G.B-UV4).

pH es de 9.45 (Anexo IV-G.B -PH4)

La apariencia de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

#### TIEMPO: 96 HR

**HPLC:** (Anexos IV-G.B-HPLC5)

En el cromatograma observamos tres picos corresponde

El primero a procaína.base con 7.00 % área.

El segundo a enrofloxacin con 31.12 % área.

El tercero a CQ-M-EPCA con 61.39 % área.

U.V.

Por otra parte se realizo un corte espectral de la sol. Iny. CQ-M-EPCA 10% y se verifico por perfil espectral la máxima longitud de onda 280.00 y absorbancia 3.0593 (Anexos IV-G.B-UV5).

pH es de 9.20 (Anexo IV-G.B -PH5)

La apariencia de la solución es turbia, color amarillo ámbar.

## IV-I CONCLUSIONES:

**ESTABILIDAD DE CQ-M-EPCA 10%**  
**TEMPERATURA: 4° C +/- 2° C**

De acuerdo a los resultados obtenidos en los cromatogramas observamos que el % de área de la CQ-M-EPCA disminuye:

Ver TABLA IV-G.A

Ver GRAFICAS

IV-I.A-HPLC

IV-I.A-UV

IV-I.A-Ph

Tiempo (HORAS)	ENROFLOXACINA QUINOLONA % AREA	CQ-M-EPCA CEFAQUINOLONA % AREA	RELACION
0	8.3173	84.5971	10.17
24	8.5042	76.2656	8.96
48	17.3133	75.4938	4.36
72	21.8357	70.4059	3.22
96	22.9179	69.8298	3.04

A la primera hora la concentración de la cefaquinolona es de 84.5% equivale al 100%  
 A las 96 horas la concentración de la cefaquinolona es de 69.8% equivale al 82.54%  
 Por lo tanto la concentración disminuye un 17.46 %

Por otra parte observamos que la concentración de enrofloxacin aumenta.  
 Al tiempo cero la concentración de la quinolona es de 8.3% equivale al 1%  
 A las 96 horas la concentración de la quinolona es de 22.91% equivale al 2.7%  
 Por lo tanto la concentración de la quinolona a las 96 horas aumenta 1.7%.

Por otro lado el comportamiento de la procaína.base no se ve afectado por la disminución de la concentración de la cefaquinolona y el aumento de la quinolona.

.El % área de la procaína.base a la primera hora es de 7.08% y a las 96 horas de 7.00%

¿ A que se debe que la concentración de la cefaquinolona disminuya y aumenta la de enrofloxacin?

A que la CQ se encuentra en un medio básico de NaOH, por lo cual la carboxamida de la CQ-M-EPCA empieza a hidrolizarse en condiciones básica, hasta un ácido carboxílico o su sal como productos respectivos.

Por otra parte el perfil espectral de la CQ-M-EPCA al 10% tiene una máxima absorbancia de 278.86 nm a la primera hora y a las 96 horas de 278.33 nm por lo cual el perfil espectral sigue siendo el mismo.

El pH de la solución a la primera hora y a las 96 horas continua en condiciones básicas.

A la hora tiene un pH de 10.47, a las 96 horas el pH es de 9.42

La apariencia de la sol. Iny. CQ-M-EPCA al 10% el primer día tiene un aspecto brillante, color amarillo, a las 96 horas la apariencia de la solución es turbia de color amarillo ámbar (esto se debe a la hidrólisis de la carboxamida de la CQ)

**ESTABILIDAD DE CQ-M-EPCA 10%**  
**TEMPERATURA: 25° C +/- 5° C**

De acuerdo a los resultados obtenidos en los cromatogramas observamos que el % de área de la CQ-M-EPCA disminuye:

Ver TABLA IV-G.B

Ver GRAFICAS

IV-I.B-HPLC

IV-I.B-UV

IV-I.B-pH

Tiempo (HORAS)	ENROFLOXACINA QUINOLONA % AREA	CQ-M-EPCA CEFAQUINOLONA % AREA	RELACION
0	8.3173	84.5971	10.17
24	19.9093	73.5145	3.69
48	25.2909	67.6872	2.67
72	29.3168	64.5229	2.20
96	31.1291	61.3999	1.97

A la primera hora la concentración de la cefaquinolona es de 84.5% equivale al 100%  
 A las 96 horas la concentración de la cefaquinolona es de 61.39% equivale al 72.57%  
 Por lo tanto la concentración disminuye un 27.42 %

Por otra parte observamos que la concentración de enrofloxacin aumenta.  
 A la primera hora la concentración de la quinolona es de 8.3% equivale al 1%  
 A las 96 horas la concentración de la quinolona es de 31.12% equivale al 3.7%  
 Por lo tanto la concentración de la quinolona a las 96 horas aumenta un 2.7%

Por otro lado el comportamiento de la procaína.base no se ve afectado por la disminución de la concentración de la cefaquinolona y el aumento de la quinolona.  
 .El % área de la procaína.base a la primera hora es de 7.08% y a las 96 horas de 7.47%

¿ A que se debe que la concentración de la cefaquinolona disminuya y aumenta la de enrofloxacin?

A que la CQ se encuentra en un medio básico de NaOH, por lo cual la carboxamida de la CQ-M-EPCA empieza a hidrolizarse en condiciones básica, hasta una ácido carboxílico o su sal como productos respectivos.

Por otra parte el perfil espectral de la CQ-M-EPCA al 10% tiene una máxima absorbancia de 278.86 nm a la primera hora y a las 96 horas de 280.00 nm por lo cual el perfil espectral sigue siendo el mismo.

El pH de la solución a la primera hora y a las 96 horas continua en condiciones básicas.

A la hora tiene un pH de 10.47, a las 96 horas el pH es de 9.20

La apariencia de la sol. Iny. CQ-M-EPCA al 10% el primer día tiene un aspecto brillante, color amarillo, a las 96 horas la apariencia de la solución es turbia de color amarillo ámbar (esto se debe a la hidrólisis de la carboxamida de la CQ)

#### **IV-I. A CONCLUSIONES GENERALES:**

La solución inyectable CQ-M-EPCA 10% no es estable  
Por lo tanto esto confirma que el polvo debe de reconstituirse en el momento de la aplicación .

##### **4°C +/- 2°C**

La concentración de la cefaquinolona disminuye 100% a 82.54% y aumenta la concentración en la quinolona de 1% a 2.7

Por lo tanto en la cefaquinolona la disminución es de un 17.46%

Y la quinolona aumenta un 1.7%

##### **25°C +/- 5°C**

La concentración de la cefaquinolona disminuye 100% a 72.57 y aumenta la concentración en la quinolona de 1% a 3.7

Por lo tanto en la cefaquinolona la disminución es de un 27.42%

Y la quinolona aumenta un 2.7%

Por lo tanto es más estable a 4°C que a 25°C

El pH de la solución a 4°C y a 25°C se mantiene estable

El aspecto de la solución es el mismo a 4°C y a 25°C

## PRUEBA DE SNAP™- KIT DE BETALACTAMICOS

**V-A OBJETIVO**

DETERMINAR RESIDUOS B-LACTAMICOS EN LECHE ENTERA ULTRA PASTEURIZADA

**V.B MATERIAL**

Leche entera ultrapasteurizada (marca no. 1) 1 L

Leche entera ultrapasteurizada (marca no. 2) 1 L

**V-C EQUIPO**

(Ver dibujo de componentes V-C)

Equipo de prueba de betalactámicos KIT-SNAP™

Equipo de 20 pruebas: cada equipo listo para el uso, contiene el dispositivo SNAP™, tubos de prueba y pipetas.

Calentador de una unidad:

Marca Multi-Block, código: 98-13183-00

Nota: E equipo para la prueba de beta lactámicos actúa por fijación y receptores de enlace enzimático.

Uso: El kit test SNAP ha sido validado para detectar las siguientes drogas en leche de bovino el cual tiene un 90% a 95% de confianza: penicilina G a 5ppb, amoxicilina a 10 ppb, ampicilina a 10 ppb, cefapirina a 8ppb y ceftiofur a 50 ppb.

Referencia: IDEXX Laboratories, Inc.

**V-D INSTRUCCIONES DE USO DEL KIT-SNAP™** CALENTAR LA MUESTRA Y EL KIT SNAP™

Tomar una muestra de la leche (459 ul +/-50ul) que llega hasta la línea de indicación de la pipeta; verter en el tubo y colocarlo en el dispositivo del calentador durante 5 minuto a 45°C +/- 5°C.

 VERTER LA MUESTRA Y ACTIVAR

Agregar la muestra al dispositivo.

Observar el trayecto de la muestra hacia el círculo de la activación.

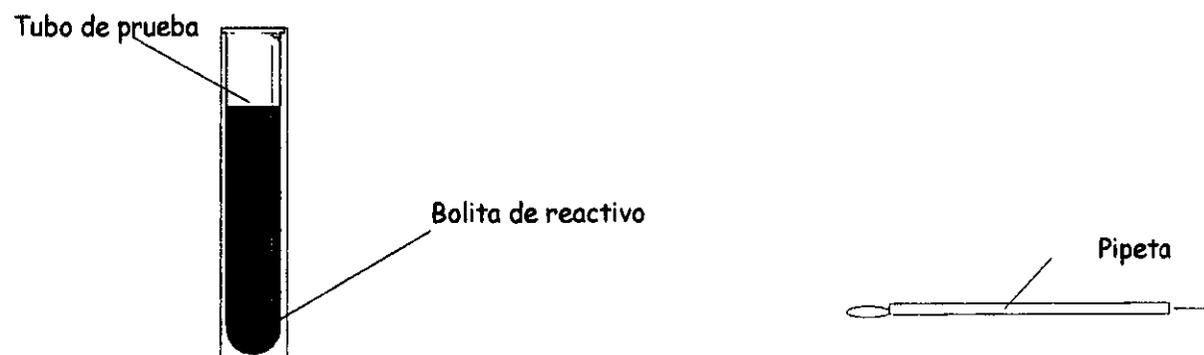
Presionar completamente cuando el círculo de activación comienza a desaparecer.

 LEER

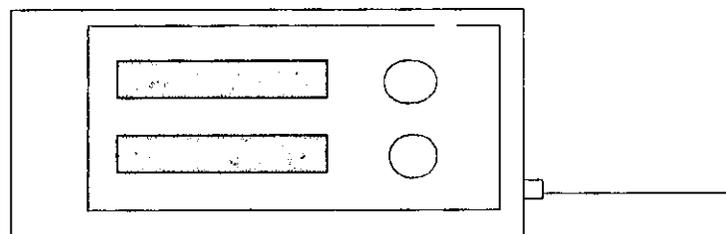
Incubar durante 4 minutos y tomar lectura.

(ver cuadro de orientación V-D)

## DIBUJO V-C COMPONENTES



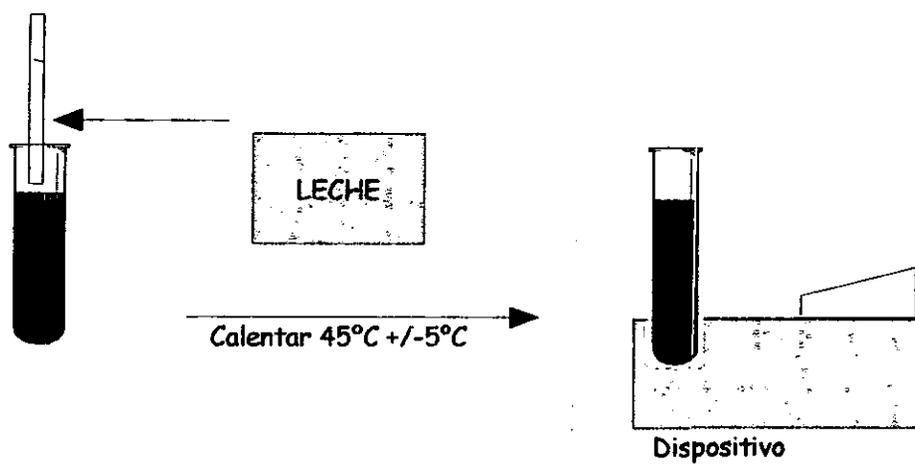
El calentador y las cavidades de inserción del calentador SNAP son indispensables



## INSTRUCCIONES DE USO

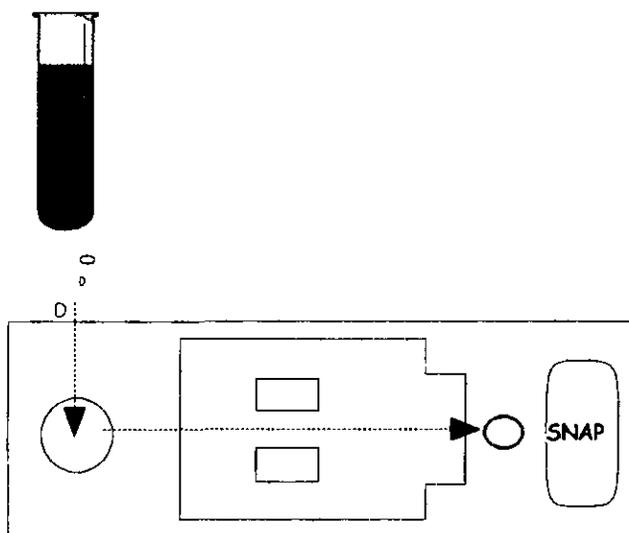
1

CALENTAR LA MUESTRA Y EL KIT SNAP



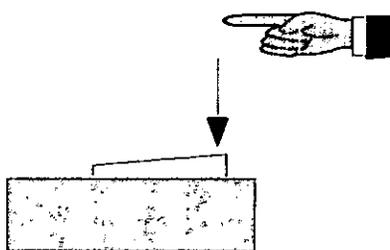
2

VERTER LA MUESTRA Y ACTIVAR



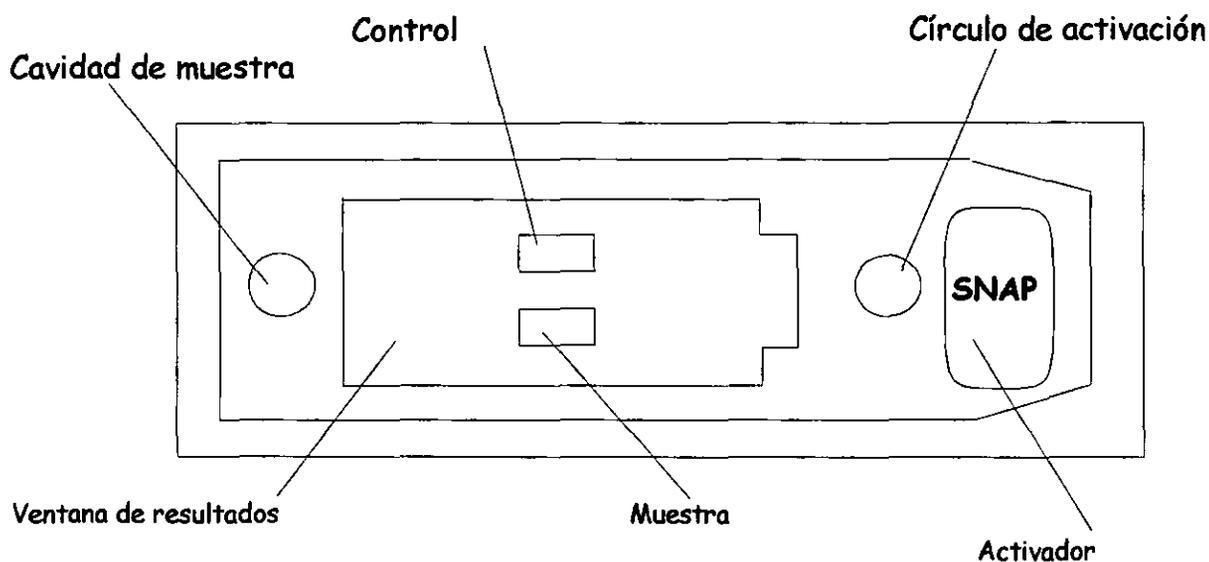
3

LEER



VER CUADRO DE ORIENTACION

V-D CUADRO DE ORIENTACION

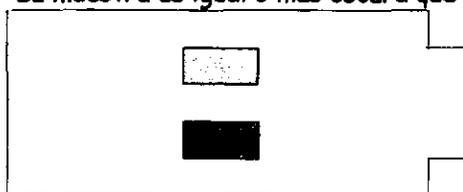


**SIEMPRE SE DEBE LEER EN ESTA ORIENTACION**

Lectura visual

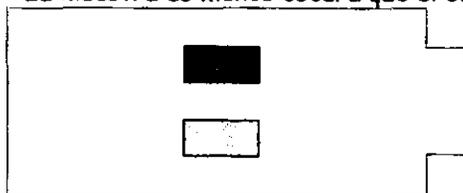
**RESULTADO NEGATIVO**

La muestra es igual o más oscura que el control



**RESULTADO POSITIVO**

La muestra es menos oscura que el control

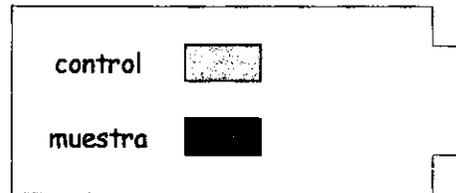


## V-E RESULTADOS

Lectura visual

### RESULTADO NEGATIVO

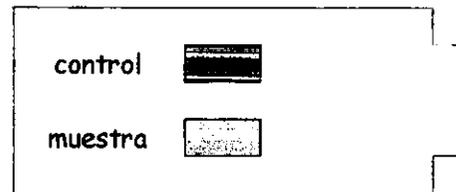
La muestra es más oscura que el control



Leche entera ultrapasteurizada no. 1

### RESULTADO POSITIVO

La muestra es menos oscura que el control



Leche entera ultrapasteurizada no. 2

## V-F ANALISIS DE RESULTADOS

Leche entera ultrapasteurizada no. 1

No tiene residuos B-lactamicos o tiene una concentración no mayor de lo que detecta el Kit-SNAP  
La cual es apta para el consumo humano.

Leche entera ultrapasteurizada no. 2

Tiene residuos B-lactamicos de algun antibiotico

## V-6 CONCLUSIONES

Deacuerdo a los resultados obtenidos:

Se utilizará la leche entera ultrapasteurizada que no tiene residuos b-lactámicos.

En los siguientes capítulos se utilizará como blanco comparada con la CQ-M-EPCA que tiene un anillo B-lactámico en su estructura molecular.

Deacuerdo a las Normas de Calidad no se permite la venta al público de leche entera pasterizada: libre de calostro, conservadores (tales como formaldehído, agua oxigenada, hipoclorito, cloraminas, dicromato de potasio), adulterantes (tales como harina, almidones, sacarosa, cloruros), neutralizantes, colorantes, ANTIBIÓTICOS (residuos B-lactamicos) drogas, materias extrañas y sabores u olores objetables o extrañas

\* BOLSA NACIONAL AGROPECUARIA S.A.

## DISTRIBUCIÓN DE CQ-M-EPCA POR TLC

## VI-A OBJETIVO

Determinar cualitativamente y semicuantitativamente la distribución de la CQ-M-EPCA en suero o grasa de la leche por TLC.

## VI-B MOLECULAS, MATERIA Y EQUIPO

## VI-B.1 MOLÉCULAS

CQ-M-EPCA  
Enrofloxacin  
7-ACA

## VI-B.2 MATERIAL Y EQUIPO

10 ml	Metanol	1	Cámara para cromatografía
10 ml	cloroformo	1	Gradilla
100 ml	agua destilada	10	Cromatoplasas de silica gel 60 f <sub>254</sub>
2 tabletas	Renina (enzima protelítica)		Lampara de u.v.
1 L	Leche entera ultrapasteurizada	1	Jeringa para inyección
10 ml	Trietilamina	1	Centrifuga "
5	Pipetas 1 ml	1	Balanza analítica
20	Tubos para centrifuga	9	Matraz volumétrico de 25 ml
1	Diluyente para reconstituir		
1	Polvo CQ-M-EPCA 10%		

## VI-C PROCEDIMIENTO

## VI-C.A PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES.

## ENROFLOXACINA.

Pesar 50 mg disolver con unas gotas de TEA y aforar con agua destilada a 25 ml , concentración final de 2 mg/ml.

## 7-ACA

Pesar 50 mg disolver con unas gotas de TEA y aforar con agua destilada a 25 ml , concentración final de 2 mg/ml.

## CQ-M-EPCA

Pesar 50 mg disolver con unas gotas de TEA y aforar con agua destilada a 25 ml , concentración final de 2 mg/ml.

## CQ-M-EPCA AL 10% (SOL. INY.)

Reconstituir el polvo con el diluyente, tomar una alícuota de 0.5 ml que equivale a 50 mg y aforar con agua destilada a 25 ml , concentración final de 2 mg/ml.

**VI-C.B PREPARACIÓN DEL BLANCO****COAGULACIÓN**

Leche cuajada: Disolver la enzima proteolítica (1 tableta) en 10 ml de agua y adicinarla a un litro de leche (precipitación de las proteínas de la leche: caseína y lactoalbúmina)

Tomar 10 ml de leche y centrifugar a 7 RPM /15 MIN

Separar el suero de la grasa\*

El volumen total de suero se afora a 25 ml con agua destilada.

El pH del suero 7.4

**VI-C.C PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN EN SUERO**

CQ-M-EPCA

ENROFLOXACINA

7-ACA

Adicionar 50 mg y unas gotas de TEA a un tubo de centrifuga (el TEA disuelve la muestra) y 10 ml de leche cuajada.

Centrifugar a 7 RPM /15 MIN

Separar el suero de la grasa\*

Determinar al suero residuos B-lactamicos (ver método Capitulo V)

El volumen total de suero se afora a 25 ml con agua destilada.

Inyectar 5 ul

CQ-M-EPCA AL 10%

Tomar una alícuota de 0.5 ml que equivale a 50 mg adicionar a 10 ml de leche cuajada.

Centrifugar a 7 RPM /15 MIN

Separar el suero de la grasa\*

Determinar al suero residuos B-lactamicos (ver método Capitulo V)

El volumen total de suero se afora a 25 ml con agua destilada.

Inyectar 5 ul.

**VI-C.D PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN EN GRASA**

CQ-M-EPCA AL 10%

CQ-M-EPCA

ENROFLOXACINA

7-ACA

\* Adicionar a la grasa unas gotas de TEA para asegurarse de que el compuesto este disuelto completamente y 10 ml de agua destilada, para tener una solución de grasa reconstituida

Inyectar 5 ul.

**VI-C.E PREPARACIÓN CÁMARA DE CROMATOGRAFIA****FASE MÓVIL.**

Metano/Agua/Cloroformo

6:3:1

Saturar la cámara con vapores 10 minutos antes de correr la placa.

**VI-C.F PROCEDIMIENTO DE INYECCIÓN MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
(SUERO)**

- PLACA 1 SUERO/CQ-M-EPCA<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 2 SUERO/CQ-M-EPCA 10%<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 3 SUERO/ENROFLOXACINA<sub>ESTANDAR</sub> /ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 4 SUERO/7-ACA<sub>ESTANDAR</sub> /7-ACA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 5  
SUERO/CQ-M-EPCA<sub>ESTANDAR</sub>/CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>/CQ-M-EPCA10%<sub>ESTANDAR</sub>/CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub>  
/ENROFLOXACINA<sub>ESTANDAR</sub> /ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub> /7-ACA<sub>ESTANDAR</sub> /7-ACA<sub>MUESTRA</sub>

**VI-C.G PROCEDIMIENTO DE INYECCIÓN MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
(GRASA)**

- PLACA 1 GRASA/CQ-M-EPCA<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 2 GRASA/CQ-M-EPCA 10%<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 3 GRASA/ENROFLOXACINA<sub>ESTANDAR</sub> /ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 4 GRASA/7-ACA<sub>ESTANDAR</sub> /7-ACA<sub>MUESTRA</sub>

**VI-C.H PROCEDIMIENTO DE INYECCIÓN GRASA VS. SUERO  
(MUESTRA)**

- PLACA 1 GRASA/CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub> / SUERO CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>
- PLACA 2 GRASA/CQ-M-EPCA 10%<sub>MUESTRA</sub> / SUERO CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub>

Después del procedimiento de inyección estándar vs. muestra en suero, grasa y suero vs. grasa en muestra.

Secar la placa 1 minuto a 100°C.

Introducir la placa en la cámara, la fase móvil deberá correr toda la distancia de la placa.

Sacar la placa y secar 2 minutos a 100°C.

Observar con la lampara de UV

**Determinar:** Cualitativa y semicuantitativamente la distribución de la CQ-M-EPCA en suero y grasa.

Rf y características e intensidad de la mancha

## VI-E RESULTADOS

## VI-E.A RESULTADOS DETECCIÓN DE RESIDUOS B LACTAMICOS EN SUERO.

Suero-CQ-M-EPCA	Positivo
Suero-CQ-M-EPCA 10%	Positivo
Suero-Enrofloxacin	Negativo
Suero-7-ACA	Positivo

## VI-E.B RESULTADOS EN TLC DE SUERO Y GRASA

## VI-E.B1 CÁLCULOS

$$R_f = \frac{DR_{CO}}{DR_{FM}}$$

Donde:

DISTANCIA RECORRIDA POR UN COMPUESTO DESDE EL ORIGEN =  $DR_{CO}$

DISTANCIA RECORRIDA POR EL FRENTE DE LA FASE MÓVIL  $DR_{FM}$

$DR_{FM} = 6.6 \text{ cm}$

□ MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
(SUERO)

<b>PLACA 1</b>	SUERO/CQ-M-EPCA <sub>ESTANDAR</sub> / CQ-M-EPCA <sub>MUESTRA</sub>	
	$DR_{CO} \text{ SUERO} = 0 \text{ cm}$	$R_f = 0$
	$DR_{CO} \text{ CQ-M-EPCA}_{ESTANDAR} = 4.8 \text{ cm}$	$R_f = 0.72$
	$DR_{CO} \text{ CQ-M-EPCA}_{MUESTRA} = 4.7 \text{ cm}$	$R_f = 0.71$
	Impureza Enrofloxacin en <sub>estandar</sub> = 2.2 cm	$R_f = 0.33$
<b>PLACA 2</b>	SUERO/CQ-M-EPCA 10% <sub>ESTANDAR</sub> / CQ-M-EPCA 10% <sub>MUESTRA</sub>	
	$DR_{CO} \text{ SUERO} = 0 \text{ cm}$	$R_f = 0$
	$DR_{CO} \text{ CQ-M-EPCA } 10\%_{ESTANDAR} = 5.4 \text{ cm}$	$R_f = 0.81$
	$DR_{CO} \text{ CQ-M-EPCA } 10\%_{MUESTRA} = 5.2 \text{ cm}$	$R_f = 0.78$
	Impureza Enrofloxacin en <sub>estandar</sub> = 2.2 cm	$R_f = 0.33$
<b>PLACA 3</b>	SUERO/ENROFLOXACINA <sub>ESTANDAR</sub> / ENROFLOXACINA <sub>MUESTRA</sub>	
	$DR_{CO} \text{ SUERO} = 0 \text{ cm}$	$R_f = 0$
	$DR_{CO} \text{ ENROFLOXACINA}_{ESTANDAR} = 2.7 \text{ cm}$	$R_f = 0.40$
	$DR_{CO} \text{ ENROFLOXACINA}_{MUESTRA} = 2.7 \text{ cm}$	$R_f = 0.40$
<b>PLACA 4</b>	SUERO/7-ACA <sub>ESTANDAR</sub> / 7-ACA <sub>MUESTRA</sub>	
	$DR_{CO} \text{ SUERO} = 0 \text{ cm}$	$R_f = 0$
	$DR_{CO} \text{ 7-ACA}_{ESTANDAR} = 5.9 \text{ cm}$	$R_f = 0.89$
	$DR_{CO} \text{ 7-ACA}_{MUESTRA} = 5.9 \text{ cm}$	$R_f = 0.89$

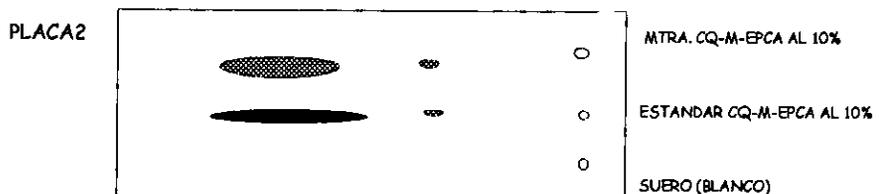
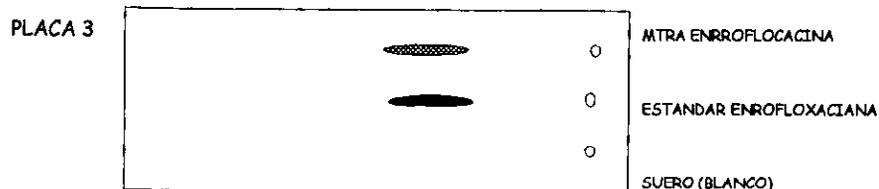
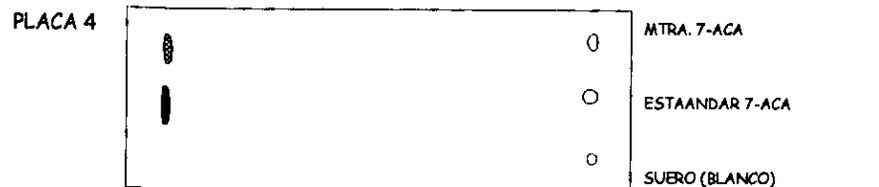
**MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
(GRASA)**

<b>PLACA 1</b>	<b>GRASA/CQ-M-EPCA<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> GRASA= 0 cm	Rf= 0
	DR <sub>CO</sub> CQ-M-EPCA <sub>ESTANDAR</sub> = 5.2 cm	Rf= 0.78
	DR <sub>CO</sub> CQ-M-EPCA <sub>MUESTRA</sub> = 5.1 cm	Rf= 0.77
	Impureza Enrofloxacin <sub>enestandar</sub> = 2.3 cm	Rf= 0.34
<b>PLACA 2</b>	<b>GRASA/CQ-M-EPCA 10%<sub>ESTANDAR</sub> /CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> GRASA= 0 cm	Rf= 0
	DR <sub>CO</sub> CQ-M-EPCA 10% <sub>ESTANDAR</sub> = 5.1 cm	Rf= 0.77
	DR <sub>CO</sub> CQ-M-EPCA 10% <sub>MUESTRA</sub> = 5.0 cm	Rf= 0.75
	Impureza Enrofloxacin <sub>enestandar</sub> = 2.3 cm	Rf= 0.34
<b>PLACA 3</b>	<b>GRASA/ENROFLOXACINA<sub>ESTANDAR</sub> /ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> GRASA = 0 cm	Rf= 0
	DR <sub>CO</sub> ENROFLOXACINA <sub>ESTANDAR</sub> = 2.5 cm	Rf= 0.37
	DR <sub>CO</sub> ENROFLOXACINA <sub>MUESTRA</sub> = 2.7 cm	Rf= 0.40
<b>PLACA 4</b>	<b>GRASA/7-ACA<sub>ESTANDAR</sub> /7-ACA<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> SUERO= 0 cm	Rf= 0
	DR <sub>CO</sub> 7-ACA <sub>ESTANDAR</sub> = 5.4 cm	Rf= 0.81
	DR <sub>CO</sub> 7-ACA <sub>MUESTRA</sub> = 5.3 cm	Rf= 0.80

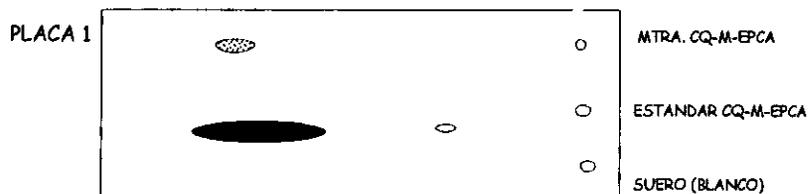
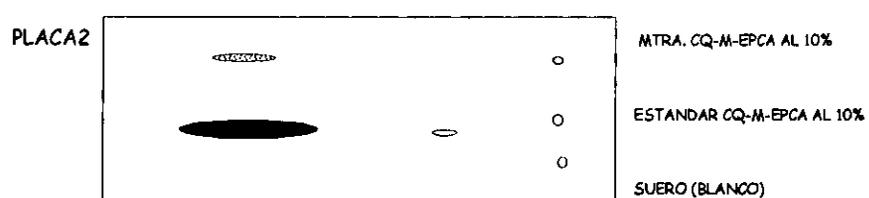
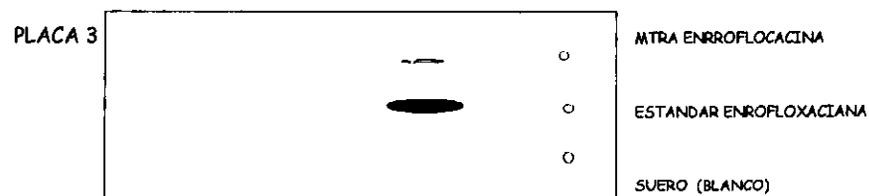
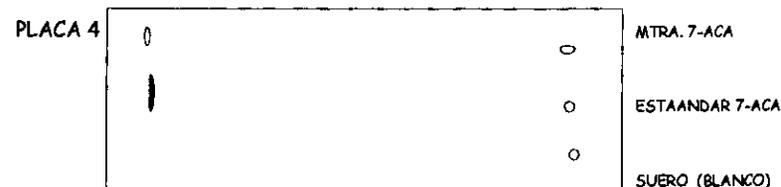
**□ GRASA VS. SUERO  
(MUESTRA)**

<b>PLACA 1</b>	<b>GRASA CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub> / SUERO CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> GRASA CQ-M-EPCA <sub>MUESTRA</sub> = 5.2 cm	Rf= 0.78
	DR <sub>CO</sub> SUERO CQ-M-EPCA <sub>MUESTRA</sub> = 5.1 cm	Rf= 0.77
<b>PLACA 2</b>	<b>GRASA/CQ-M-EPCA 10%<sub>MUESTRA</sub> / SUERO CQ-M-EPCA10%<sub>MUESTRA</sub></b>	
	DR <sub>CO</sub> GRASA CQ-M-EPCA 10% <sub>MUESTRA</sub> = 5.1 cm	Rf= 0.77
	DR <sub>CO</sub> SUERO CQ-M-EPCA 10% <sub>MUESTRA</sub> = 5.0 cm	Rf= 0.75

**SUERO**



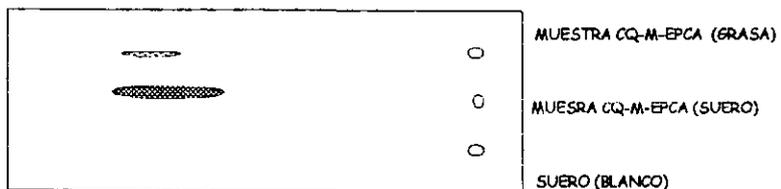
**GRASA**



IDENTIFICACION DE LA CQ-M-EPCA PRESENTE EN SUERO Y GRASA DE LECHE ULTRAPASTEURIZADA. DESPUES DE CROMATOGRAFIA ASCENDENTE EN PAPEL EN AGUA-CLOROFORMO Y METANOL, LAS MANCHAS FUERON VISTAS CON LUZ UV

## CAPITULO VI

## RESULTADOS EN CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (TLC)

*MUESTRA DE SUERO vs. MUESTRA DE GRASA**CQ-M-EPCA**CQ-M-EPCA AL 10%*

## VI-F ANÁLISIS DE RESULTADOS

MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
SUERO

## PLACA 1

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.72, la mancha de la muestra presenta las mismas características que el estándar y su Rf = 0.71.

Estándar y muestra presentan la mancha de la impureza que corresponde a Enrofloxacin con Rf= 0.33

## PLACA 2

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA 10%<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. CQ-M-EPCA 10%<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.81, la mancha de la muestra presenta las mismas características que el estándar y su Rf = 0.78.

Estándar y muestra presentan la mancha de la impureza que corresponde a Enrofloxacin con Rf= 0.33

## PLACA 3

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

ENROFLOXACINA<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{1}{2}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.40, la mancha de la muestra presenta las mismas características que el estándar y su Rf = 0.40.

## PLACA 4

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

7-ACA<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. 7-ACA<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre casi toda la distancia de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.89, la mancha de la muestra presenta las mismas características que el estándar y su Rf = 0.89.

MUESTRA VS. ESTÁNDAR  
(GRASA)

## PLACA 1

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. CQ-M-EPCA<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.78, la mancha de la muestra es muy tenue y pequeña, su Rf = 0.77.

## PLACA 2

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA 10%<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. CQ-M-EPCA 10%<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.77, la mancha de la muestra es muy tenue, pequeña y su Rf = 0.75.

## PLACA 3

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

ENROFLOXACINA<sub>ESTÁNDAR</sub> VS. ENROFLOXACINA<sub>MUESTRA</sub>: El estándar corre aproximadamente  $\frac{1}{2}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con Rf= 0.37, la mancha de la muestra es muy tenue, pequeña y su Rf = 0.40.

## PLACA 4

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

7-ACA ESTANDAR VS. 7-ACA MUESTRA: El estándar corre casi toda la distancia de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con  $R_f = 0.81$ , la mancha de la muestra es muy tenue, pequeña y su  $R_f = 0.80$ .

**GRASA VS. SUERO  
(MUESTRA)**

## PLACA 1

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA SUERO VS. CQ-M-EPCA GRASA: El suero corre aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con  $R_f = 0.78$ , la mancha de la grasa es muy tenue y pequeña, su  $R_f = 0.77$ .

## PLACA 2

BLANCO. En la placa no se observa ninguna mancha.

CQ-M-EPCA 10% SUERO VS. CQ-M-EPCA 10% GRASA: El suero corre aproximadamente  $\frac{1}{4}$  de la placa en la que se observa una mancha grande e intensa con  $R_f = 0.77$ , la mancha de la grasa es muy tenue, pequeña y su  $R_f = 0.75$ .

## VI-6 CONCLUSIONES

Por el kit se determina:

El suero tiene residuos de B-lactámicos, por lo tanto la CQ-M-EPCA, Enrofloxacin y 7-ACA se queda en suero y probablemente muy poca cantidad en grasa

En TLC se determina:

Cualitativa y semicuantitativamente que la CQ-M-EPCA, Enrofloxacin y 7-ACA se distribuye en mayor concentración en suero que en grasa y proteínas (caseinógeno y lactoalbúmina) de leche entera ultrapasteurizada, porque la intensidad y el tamaño de la mancha en suero es mayor que en grasa que es una sombra lo que se observa.

Se identifican los compuestos (CQ-M-EPCA, enrofloxacin y 7-ACA) que quedan en suero y grasa porque los  $R_f$  son iguales a los estándares.

## DISTRIBUCIÓN DE CQ-M-EPCA EN LECHE ENTERA

## VII-A OBJETIVO

- A.1 Determinación cuantitativa de CQ-M-EPCA en suero por HPLC
- A.2 Determinación cuantitativa de CQ-M-EPCA en grasa y suero por ABSORBANCIA

## VII-B MATERIAL Y REACTIVOS

- Polvo para reconstituir CQ-M-EPCA al 10%
- Diluyente para reconstituir
- Enzima proteolítica
- Cloroformo
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> pH 3.5, 0.04 M
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> pH 10.0, 0.04 M
- 4 Matraz volumétrico 10 ml
- 4 Matraz volumétrico 100 ml
- 4 Matraz volumétrico 25 ml
- 4 Pipeta volumétrica 1 ml
- 4 Pipeta volumétrica 4 ml
- 4 Jeringa 10 ml
- 2 Probetas 100 ml
- 2 Filtros para jeringa Nylon Acrodisc, 0.45 um, 25mm
- 1 Columna uBondapak C18 125 a 10 um, 3.9 x 150 mm
- 2 Embudos de separación
- 10 tubos para centrifuga
- 1 L Leche entera ultrapasteurizada /libre de residuos beta-lactamicos)

## VII-C EQUIPO

(Ver II-C)

## VII-D CONDICIONES DEL EQUIPO

## III-D.1 CONDICIONES HPLC

(Ver II-D.1)

## III-D.2 CONDICIONES DEL ESPECTROFOTOMETRO

Absorbancia simple:

Lampara : UV

Modo: Nanometros

Longitud de onda: 280 nm

## VII-E PROCEDIMIENTO

## A-1.1 DETERMINACION DEL AREA DEL ESTANDAR (SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%) POR HPLC

Reconstituir el polvo con el diluyente.

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml, aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

*HPLC.*

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

La determinación será por duplicado y de cada una se inyectará 2 veces

La determinación será cuantitativa.

Determinar: área y tiempo de retención de cada pico en el cromatograma, se calculará la media de procaína, enrofloxacin y CQ-M-EPCA que representa el 100%

## A-1.2 DETERMINACION DE AREA DE LA MUESTRA EN SUERO (SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%) POR HPLC

Reconstituir el polvo con el diluyente.

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a 10 ml de leche cuajada ( que se prepara disolviendo la enzima proteolítica (1 tableta) en 10 ml de agua y adicionarla a un litro de leche (precipitación de las proteínas de la leche: caseína y lactoalbúmina).

Centrifugar a 7 RPM por 15 minutos.

Separar el suero de la grasa.

Lavar el suero 5 veces con un volumen de 10 ml 1:1 de agua y acetonitrilo, centrifugar y juntar las fracciones acuosas en un matraz volumétrico de 100 ml, aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

*HPLC.*

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

La determinación será por duplicado y de cada una se inyectará 2 veces

La determinación será cuantitativa.

Determinar: área y tiempo de retención de cada pico en el cromatograma, se calculará la media de procaína, enrofloxacin y CQ-M-EPCA.

Calcular el rendimiento en suero:

*Calcular Area total del estandar.*

$$AREA_{ESTANDAR} = Media_{procaína} + Media_{enrofloxacin} + Media_{CQ-M-EPCA}$$

*Calcular Area total de la muestra:*

$$AREA_{MUESTRA} = Media_{procaína} + Media_{enrofloxacin} + Media_{CQ-M-EPCA}$$

$$AREA_{TOTAL MUESTRA (100\%)} / AREA_{TOTAL ESTANDAR} = RENDIMIENTO EN SUERO$$

El % teórico para grasa se supone por diferencia.

**A-2.1 DETERMINACION DE LA ABSORBANCIA DEL ESTANDAR (SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%)**

Reconstituir el polvo con el diluyente.

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml ,aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

*Absorbancia.*

Tomar 2 ml de solución final

Determinar: Absorbancia simple

Calibrar con metanol/buffer

La determinación será por duplicado.

**A-2.2 DETERMINACION DE LA ABSORBANCIA DE LA MUESTRA EN SUERO Y GRASA (SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%)**

Reconstituir el polvo con el diluyente.

Tomar 1 ml de la SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%, adicionar a 10 ml de leche cuajada ( que se prepara disolviendo la enzima proteolítica (1 tableta) en 10 ml de agua y adicionarla a un litro de leche (precipitación de las proteínas de la leche: caseína y lactoalbúmina).

Centrifugar a 7 RPM po 15 minutos.

Separar el suero de la grasa.

*SUERO:* adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml ,aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

*GRASA:* Reconstituir la grasa con cloroformo a un volumen de 100 ml .

Tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml con cloroformo, concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

*Absorbancia.*

Tomar 2 ml de solución final: suero y grasa

Calibrar con agua para suero y con cloroformo para grasa

Determinar: Absorbancia simple

La determinación será por duplicado.

Calcular el rendimiento de CQ-M-EPCA en suero y grasa ( $C_M$  en mg):

Calcular  $C_{Ms}$  y  $C_{Mg}$

Formula :

$$\text{Para suero mg/ml} = \frac{A_E \cdot C_{Ms}}{A_M \cdot C_E}$$

$$\text{Para grasa mg/ml} = \frac{A_E \cdot C_{Mg}}{A_M \cdot C_E}$$

Donde:

$A_E$  = Absorbancia del estándar.

$A_M$  = Absorbancia de la muestra.

$C_{Ms}$  = Concentración en mg de suero

$C_{Mg}$  = Concentración en mg de grasa

$C_E$  = Concentración del estándar ( 0.04 mg/ml)

Entonces:

Calcular mg/ml total =  $C_{Ms}$  mg/ml de suero +  $C_{Mg}$  mg/ml de grasa

En base a mg/ml total calcular el % que corresponde para suero y para grasa.

## VII-F RESULTADOS

### DETERMINACION DE LA ABSORBANCIA DE ESTANDAR Y MUESTRA EN SUERO Y GRASA

ABSORBANCIA	READ	Abs	nm
ESTANDAR	1	3.9381	280.00
	2	3.8923	280.00

ABSORBANCIA	SUERO		
MUESTRA	READ	Abs	nm
	1	3.7986	280.00
	2	3.8271	280.00

GRASA			
	READ	Abs	nm
	1	0.1390	280.00
	2	0.1158	280.00

## VII-F RESULTADOS

## ANEXOS VII-F.1 DETERMINACION DEL AREA DEL ESTANDAR (HPLC)

RUN	PROCAINA		ENROFLOXACINA		CQ-M-EPCA	
	A.B.C.	T.R.	A.B.C.	T.R.	A.B.C.	T.R.
1	1077583	10935	1980087	2.722	12750880	4.444
2	1129452	10931	2046212	2.707	12516560	4.449
3	1077066	10940	1956471	2.719	12444640	4.389
4	1095861	1.943	1914440	2.684	12596416	4.276
MEDIA	1094915.5	1.937	1974302.5	2.708	12577124	4.3895

## ANEXOS VII-F.2 DETERMINACION DEL AREA DEL LA MUESTRA EN SUERO (HPLC)

RUN	PROCAINA		ENROFLOXACINA		CQ-M-EPCA	
	A.B.C.	T.R.	A.B.C.	T.R.	A.B.C.	T.R.
1	990897	1.987	1791356	2.581	11987624	3.816
2	1059123	1.984	1886873	2.535	12087080	3.738
3	103766	1.995	1912785	2.490	12154032	3.600
4	1069111	2.020	1917039	2.505	12429664	3.527
MEDIA	1048224.3	1.996	1877013.3	2.528	12164600	3.670

## VII-6 CALCULOS

*DISTRIBUCION EN LECHE DE LA CQ-M-EPCA POR HPLC*

AREA TOTAL DEL ESTANDAR		AREA TOTAL DE LA MUESTRA EN SUERO	
PROCAINA	1094915.5	PROCAINA	1048224.3
ENROFLOXACINA	1974302.5	ENROFLOXACINA	1877013.3
CQ-M-EPCA	12577124	CQ-M-EPCA	12164600
A.B.C. TOTAL	15646342	A.B.C. TOTAL	15089838

## RENDIMIENTO EN SUERO DE CQ-M-EPCA

$$15089838 \left[ \frac{100\%}{15646342} \right] = 96.44\% \text{ SUERO}$$

POR LO TANTO POR DIFERENCIA EN GRASA SE SUPONE UN 3.56 %

*DISTRIBUCION EN LECHE DE LA CQ-M-EPCA POR ABSORBANCIA*

- 1.
- Suero mg/ml =  $\frac{3.7986 \times 0.04 \text{ mg/ml}}{3.9381} = 0.0385 \text{ mg/ml}$
- Grasa mg/ml =  $\frac{0.1390 \times 0.04 \text{ mg/ml}}{3.9381} = 0.00141 \text{ mg/ml}$
- |             |                      |         |                       |
|-------------|----------------------|---------|-----------------------|
| mg totales= | 0.0385 mg/ml         | suero   | DISTRIBUCION EN LECHE |
|             | <u>0.00141 mg/ml</u> | grasa   |                       |
|             | 0.0399 mg/ml         |         |                       |
|             |                      | 96.69 % | suero                 |
|             |                      | 3.31 %  | grasa                 |
- 2.
- Suero mg/ml =  $\frac{3.8271 \times 0.04 \text{ mg/ml}}{3.8923} = 0.0393 \text{ mg/ml}$
- Grasa mg/ml =  $\frac{0.1158 \times 0.04 \text{ mg/ml}}{3.8923} = 0.00119 \text{ mg/ml}$
- |             |                      |         |                       |
|-------------|----------------------|---------|-----------------------|
| mg totales= | 0.0393 mg/ml         | suero   | DISTRIBUCION EN LECHE |
|             | <u>0.00119 mg/ml</u> | grasa   |                       |
|             | 0.04049 mg/ml        |         |                       |
|             |                      | 97.06 % | suero                 |
|             |                      | 2.93 %  | grasa                 |

## VII-H ANALISIS DE RESULTADOS

*DISTRIBUCION EN SUERO DE LA CQ-M-EPCA POR HPLC (A.B.C.)*

AREA DEL ESTANDAR	AREA DE LA MUESTRA (en suero)	Relación
15,646,342	15,089,838	0.96

La concentración final de CQ-M-EPCA al 10 % como solución inyectable adicionada a los s 10 ml de leche fue 0.04 mg/ml

15089838 área total de la muestra (0.04 mg/ml) = 0.0385772 mg/ml en suero  
15646342 área total del estándar

Por diferencia en grasa se supone un rendimiento de 0.00142 mg/ml.

Por lo tanto:

0.03858 mg/ml en suero

0.00142 mg/ml en grasa

0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA determinados en leche.

*DISTRIBUCION EN SUERO Y GRASA DE LA CQ-M-EPCA POR ABSORBANCIA*

ABSORBANCIA ESTANDAR	ABSORBANCIA MUESTRA (SUERO)	ABSORBANCIA MUESTRA (GRASA)	RELACION
3.92	3.81	0.12	0.99

La concentración final de CQ-M-EPCA al 10 % como solución inyectable adicionada a los s 10 ml de leche fue 0.04 mg/ml

Por lo tanto:

0.0389 mg/ml en suero

0.0013 mg/ml en grasa

0.0402 mg/ml de CQ-M-EPCA determinados en leche

## VII-I CONCLUSION

La distribución de la CQ-M-EPCA en leche entera no se puede determinar por HPLC por el tipo de columna (C<sub>18</sub>), para lo cual se necesitaría una columna para grasas por lo cual se utilizo HPLC para suero y absorbancia para suero y grasa.

La distribución de la CQ-M-EPCA en leche entera se determino solo en suero por HPLC. La concentración inicial de CQ-M-EPCA en leche fue de 0.04 mg/ml, obteniendo 0.03858 mg/ml en suero y por diferencia 0.00142 mg/ml en grasa.

Por lo tanto

En suero se obtiene un rendimiento que equivale al 96.45 % de CQ-M-EPCA

En grasa se obtiene un rendimiento que equivale al 3.55 % de CQ-M-EPCA

La distribución de la CQ-M-EPCA en leche entera se determino en suero y grasa por Absorbancia. La concentración inicial de CQ-M-EPCA en leche fue de 0.04 mg/ml, obteniendo 0.0389 mg/ml en suero y en grasa 0.0013 mg/ml .

Por lo tanto

En suero se obtiene un rendimiento que equivale al 97.25 % de CQ-M-EPCA

En grasa se obtiene un rendimiento que equivale al 3.25 % de CQ-M-EPCA

Por lo tanto en suero la distribución de la CQ-M-EPCA es del 96.4 al 97.2 % y en grasa de 3.5 al 3.2%.

COMPORTAMIENTO DE CQ-M-EPCA POR EXCRECION MAMARIA

**VIII-A OBJETIVOS**

A.1 Utilizando el Snap-Kit determinar en leche entera de vaca antes y después de la administración a los diferentes tiempos de ordeña residuos B-lactamicos.

Determininar:

A.2 Por HPLC y UV el tiempo de eliminación de la CQ-M-EPCA por excreción mamaria (en suero )

A.3 Por HPLC y UV que compuestos de eliminan.

**VIII-B MATERIAL Y REACTIVOS**

(Ver VII-B)

Vaca sana, peso aproximado 400 Kg

10 Snap-Kit

**VIII-C EQUIPO**

(Ver II-C)

Calentador para el Snap-kit

Centrífuga clínica

**VIII-D CONDICIONES DEL EQUIPO**

(Ver II-D.1)

(Ver II-D.2)

Gradiente: 60%-40%

Detector de longitud de onda variable

## VII-E PROCEDIMIENTO

### PREPARACION DE LOS ESTANDARES

#### *Solución inyectable CQ-M-EPCA AL 10%*

Reconstituir el polvo con el diluyente y tomar 1 ml de la solución inyectable CQ-M-EPCA al 10%, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml ,aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico, aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

U.V.

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

HPLC.

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: tiempo de retención

La determinación se hará una vez y se inyectará 1 vez

#### *Enrofloxacin*

Pesar exactamente 100 mg de Enrofloxacin, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml , aforar con una mezcla de agua/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionar a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

U.V.

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

HPLC.

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: tiempo de retención.

La determinación se hará una vez y se inyectará 1 vez

#### *Procaína clorhidrato*

Pesar exactamente 100 mg de procaína.HCL, adicionar a un matraz volumétrico de 100 ml , aforar con una mezcla de diluyente de NaOH/acetonitrilo 1:1.

Tomar una alícuota de 1 ml y adicionarla a un segundo matraz volumétrico y aforar a 25 ml con una mezcla de metanol/buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5, 0.04 M 1:1, para tener una concentración final de 0.04 mg/ml de CQ-M-EPCA.

U.V.

Tomar 2 ml de la solución final y determinar el perfil espectral, longitud de onda y absorbancia máxima.

HPLC.

Filtrar 1 ml de solución final y adicionar a un vial.

Inyectar.

Determinar: área, % área y tiempo de retención.

La determinación se hará una vez y se inyectará 1 vez

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Administración IM



40 ML SOL INY.  
CQ-M-EPCA 10%



10 mg/kg de peso  
400 kg de peso

TIEMPO DE ORDEÑA

BLANCO:  
Toma de muestra antes  
de la administración de la  
sol. iny.



0 HRS.



1 HR.



3 HRS



12 HRS.



24 HRS



36 HRS.



48 HRS.



60 HRS.



72 HRS.

10 ml de  
leche

Determinar a las nueve muestras residuos de  
Betalactamicos

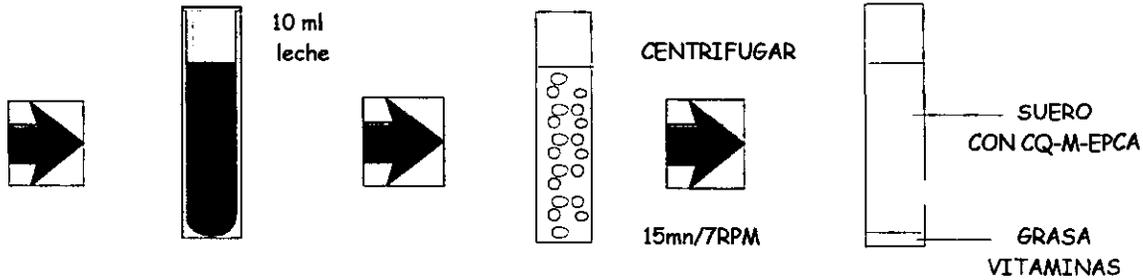


SNAP-KIT

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

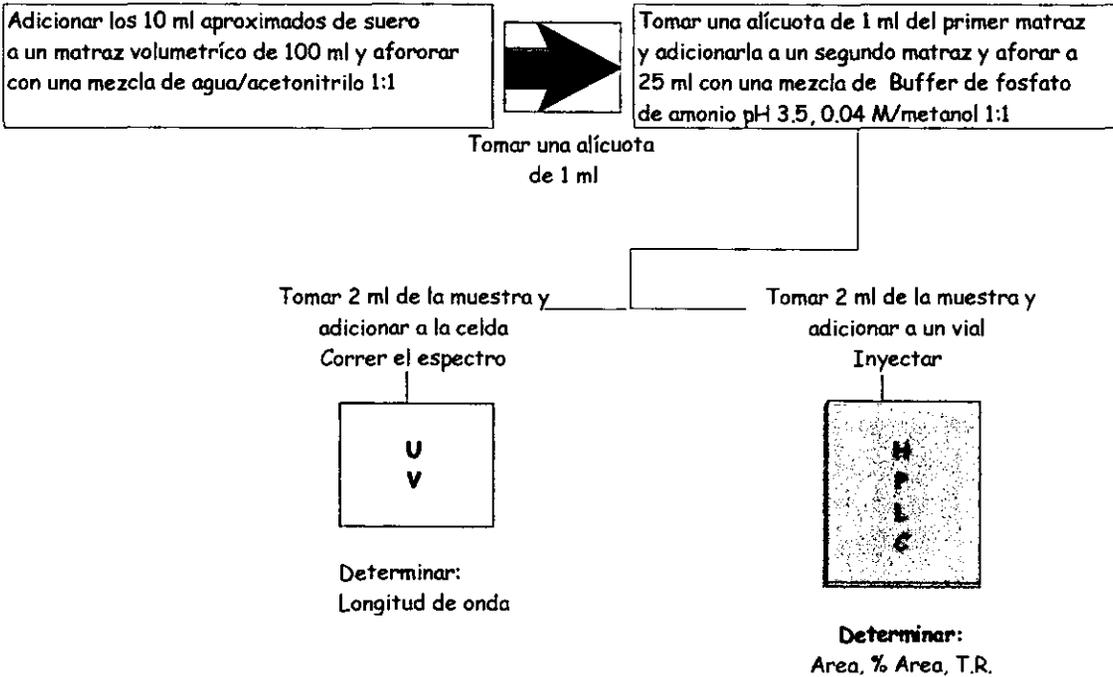
Las nueve muestras se prepararán y analizarán igual

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA



10 ml de leche con 10 gotas de renina\*  
\* 1 tableta de renina en 10 ml agua.

Leche cortada



NOTAS:

Se tomaran 20 ml como volumen total de leche en cada ordeña a los diferentes tiempos distribuida en 2 tubos de 10 ml, ya que las determinaciones se realizaran por duplicado. Se debe de asegurar que la vaca que se utilize para el experimento este sana y que no haya sido tratada recientemente con algun antibiótico que tenga residuos betalactámicos, porque podría dar "positivos falsos". La grasa que se separa del suero despues de centrifugar se elimina, solo se utiliza el suero. El blanco que se utilizara para el U.V. será Buffer de fosfato de amonio dibásico pH 3.5 0.04 M/metanol 1:1  
VER TABLA

## PREPARACION DE LAS MUESTRAS

TABLA

DIA	TIEMPO	VACA DE 3 ORDEÑOS	MUESTRAS***
*1	0		x
**1	1	1	x
	3	2	x
	12	3	x
	24	4	x
2	36	1	x
	48	2	x
	60	3	x
3	72	1	x

**Nota.**

El primer día se realizaron 4 ordeñas, el segundo día 3 ordeñas y el tercer día solo una ordeña.

El tercer día solo se pudo realizar un ordeño y no tres como se tenía planeado

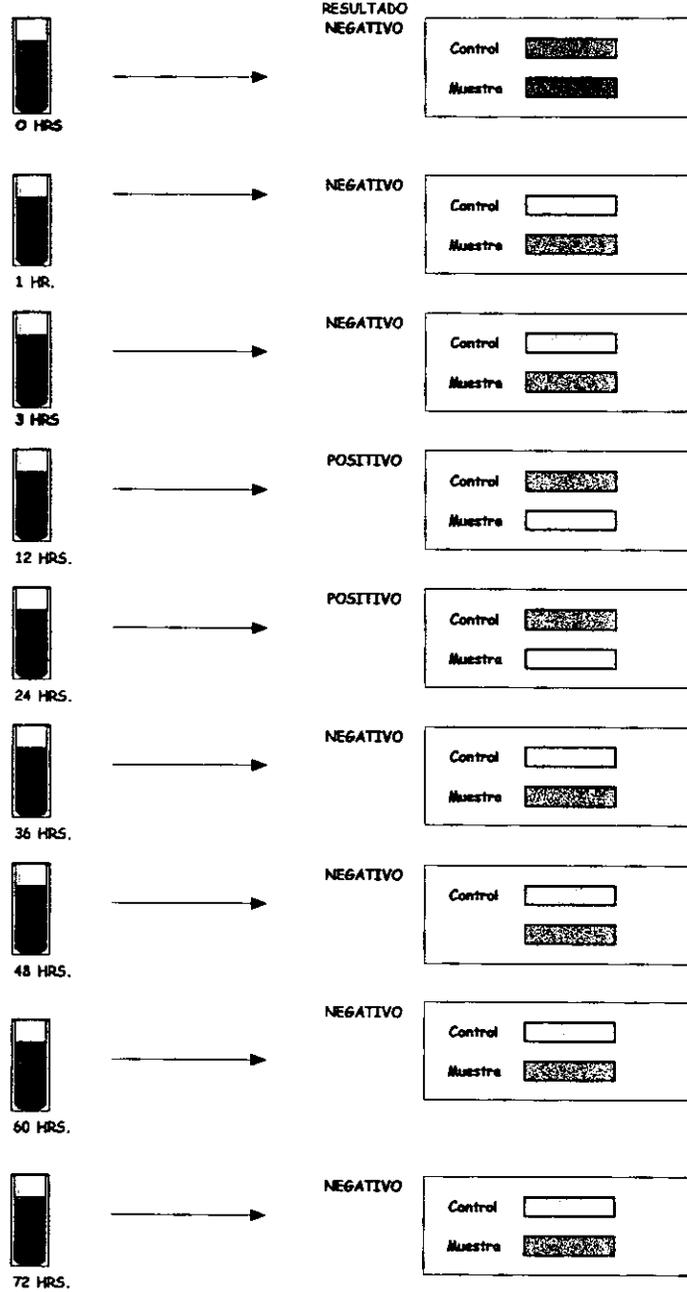
\* muestra antes del tratamiento.

\*\* Día 1, hora uno, es la hora después del tratamiento IM a la vaca con CQ-M-EPCA AL 10% a 10 mg/kg.

\*\*\* Prueba inicial con una vaca como base para estudios farmacocinéticos en un determinado número de vacas.

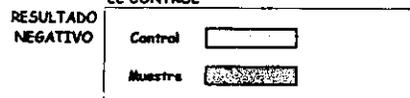
x volumen total de ordeña para cada tiempo: 20 ml (2 tubos de 10 ml)

IDENTIFICACION DE RESIDUOS B-LACTAMICOS POR SNAP-KIT  
EN LAS MUESTRAS DE LECHE



LECTURA VISUAL

LA MUESTRA ES IGUAL O MAS OSCURA QUE EL CONTROL



LA MUESTRA ES MENOS OSCURA QUE EL CONTROL



VIII-F RESULTADOS

F.2 RESULTADOS DE HPLC Y UV CORRESPONDIENTE A ESTANDAR

HPLC		T.R.
VER ANEXO F.2-HPLC1	PROCAINA	1.923 min
F.2-HPLC2	ENROFLOXACINA	2.811 min
F.2-HPLC3	CQ-M-EPCA AL 10% SOLUCION INYECTABLE Procaína Enrofloxacina CQ-M-EPCA	2.191 min. 2.644 min. 3.713 min

UV		nm	abs
VER ANEXO F.2-UV1	PROCAINA	228.91	4.4451
F.2-UV2	ENROFLOXACINA	278.33	3.4506
F.2-UV3	CQ-M-EPCA AL 10% SOLUCION INYECTABLE	279.00	3.1654

VIII-F RESULTADOS

F.3-a RESULTADOS DE HPLC CORRESPONDIENTES A LAS MUESTRAS TOMADAS A DIFERENTES TIEMPOS DE ORDEÑA

Ver anexos Ver Graficas F.3-HPLC1 Area vs. Tiempo  
F.3-HPLC2 % Area vs. Tiempo

F.3-HPLC1 0 HRS Ningun pico en la corrida

F.3-HPLC2 1 HR. Ningun pico en la corrida

F.3-HPLC3 3 HRS. Ningun pico en la corrida

F.3-HPLC4 12 HRS.

PROCAINA			CQ-M-EPCA		
T.R	AREA	% AREA	T.R	AREA	% AREA
1.905	3683946	80.76618	3.256	877303	19.23383
1.925	3006149	82.75517	3.294	793139	17.24482
1.915	3345047.5	81.760675	3.275	835221	18.239325

F.3-HPLC5 24 HRS.

PROCAINA			CQ-M-EPCA		
T.R	AREA	% AREA	T.R	AREA	% AREA
1.880	2821109	62.85131	3.180	1667435	37.14870
1.180	2656522	72.84176	3.228	990455	27.15825
1.53	2738815.5	67.846535	3.204	1328945	32.153475

F.3-HPLC6 36 HRS.

PROCAINA			CQ-M-EPCA		
T.R	AREA	% AREA	T.R	AREA	% AREA
1.895	3618022	78.36352	3.371	998950	21.63647
1.925	3801906	79.33158	3.376	990519	20.66842
1.910	3709964	78.84755	3.373	994734.5	21.152445

F.3-HPLC7 48 HRS.

PROCAINA			CQ-M-EPCA		
T.R	AREA	% AREA	T.R	AREA	% AREA
1.915	6202611	85.92707	3.465	1015850	14.07294
1.902	6516749	86.67075	3.431	1002223	13.32926
1.9085	6359680	86.29891	3.448	1009036.5	13.7011

F.3-HPLC8 60 HRS.

PROCAINA		
T.R	AREA	% AREA
1.880	2461230	100.00000
1.857	2387397	100.00000
1.868	24243135	100.00000

E.3-HPLC9 72 HRS

PROCAINA		
T.R	AREA	% AREA
1.870	1597197	100.00000
1.879	1672678	100.00000
1.8745	1634937.5	100.00000

VIII-F RESULTADOS

F.3-b RESULTADOS DE UV CORRESPONDIENTES A LAS MUESTRAS TOMADAS A DIFERENTES TIEMPOS DE ORDEÑA

Ver anexos

Ver Grafica

F.3-UV1

nm vs. Tiempo

F.3-UV1 0 HRS Ningun pico en la corrida

F.3-UV2 1 HR. Ningun pico en la corrida

F.3-UV3 3 HRS. Ningun pico en la corrida

F.3-UV4

12 HRS.			
PROCAINA		CQ-M-EPCA	
nm	abs.	nm.	abs
236.67	3.2596	276.67	2.6972
236.67	3.2596	276.67	2.6972
236.67	3.2596	276.67	2.6972

F.3-UV5

24 HRS.			
PROCAINA		CQ-M-EPCA	
nm	abs.	nm.	abs
237.23	3.2742	277.19	2.7210
237.23	3.2742	277.19	2.7210
237.23	3.2742	277.19	2.7210

F.3-UV6

36 HRS.			
PROCAINA		CQ-M-EPCA	
nm	abs.	nm.	abs
238.33	3.7282	276.67	3.3893
238.33	3.7282	276.67	3.3893
238.33	3.7282	276.67	3.3893

F.3-UV7

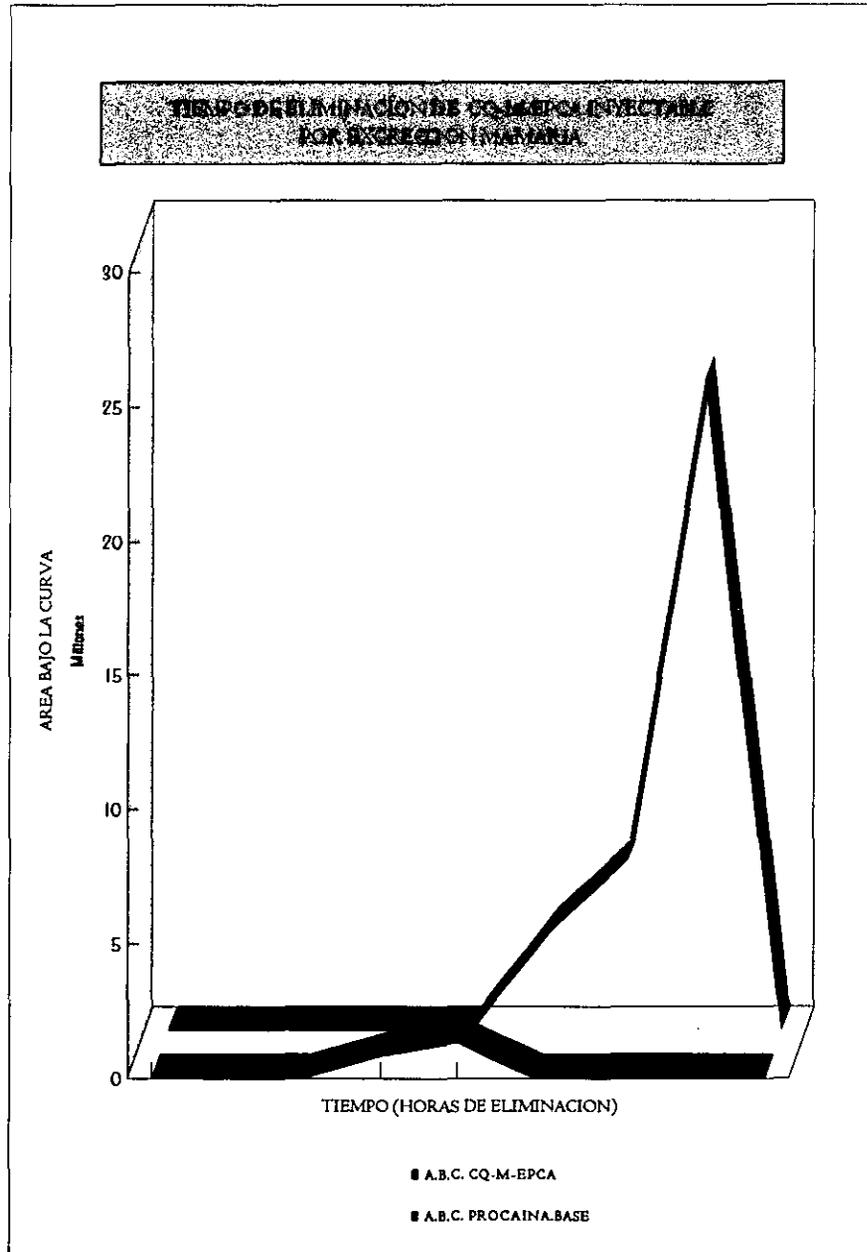
48 HRS.			
PROCAINA		CQ-M-EPCA	
nm	abs.	nm.	abs
236.67	3.2904	276.67	2.7559
236.67	3.2904	276.67	2.7559
236.67	3.2904	276.67	2.7559

F.3-UV8

60 HRS.	
PROCAINA	
nm	abs.
232.00	2.5003
232.00	2.5003
232.00	2.5003

F.3-UV9

72 HRS	
PROCAINA	
nm	abs.
230.00	1.5267
230.00	1.5267
230.00	1.5267



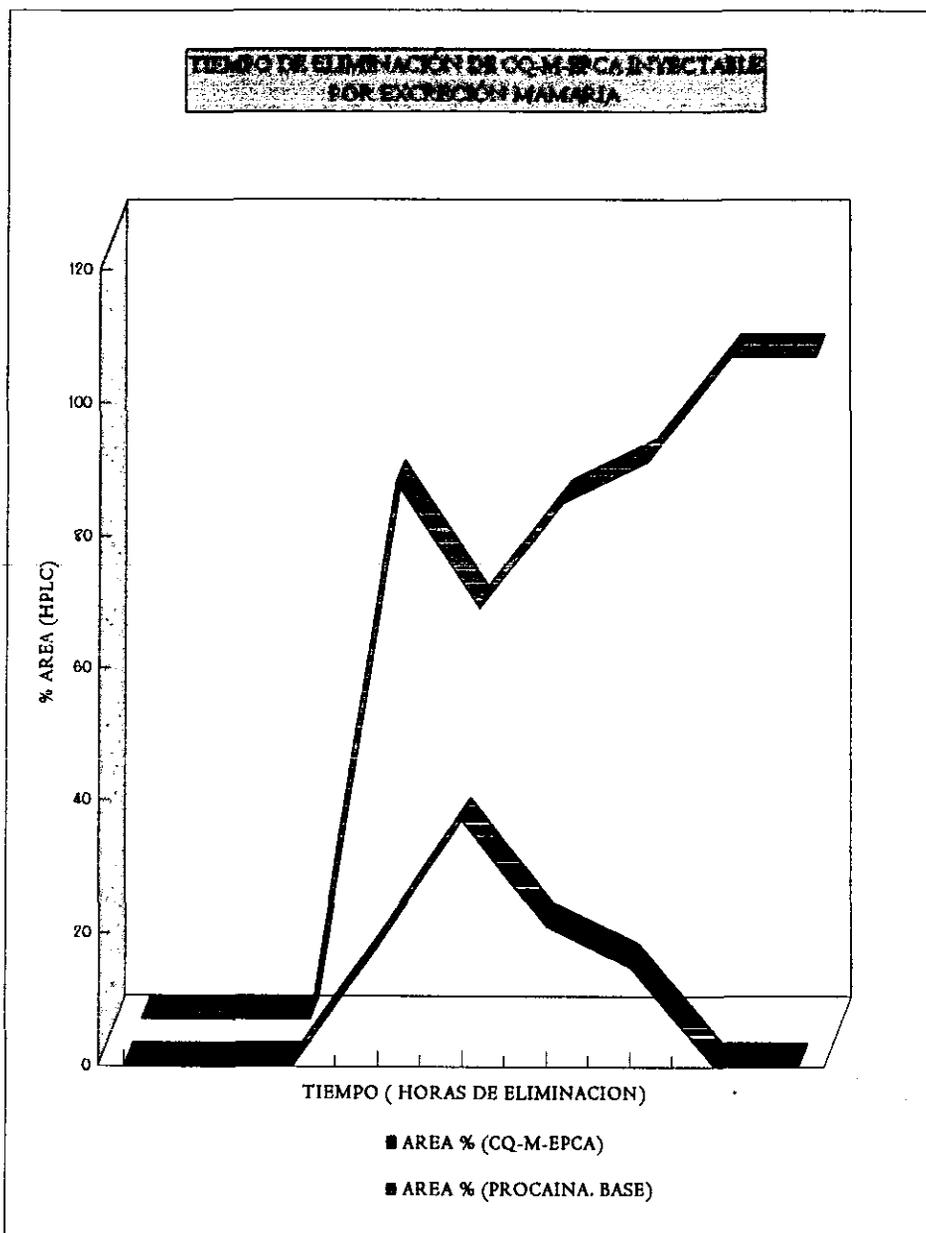
TIEMPO VS. AREA

TIEMPO (HORAS)	A.B.C. CQ-M-EPCA	A.B.C. PROCAINA.BASE
0	0	0
1	0	0
3	0	0
12	835221	3345047.5
24	1328945	2738815.5
36	994734.5	3709964
48	1009036.5	6359680
60	0	24243135
72	0	1634937.5

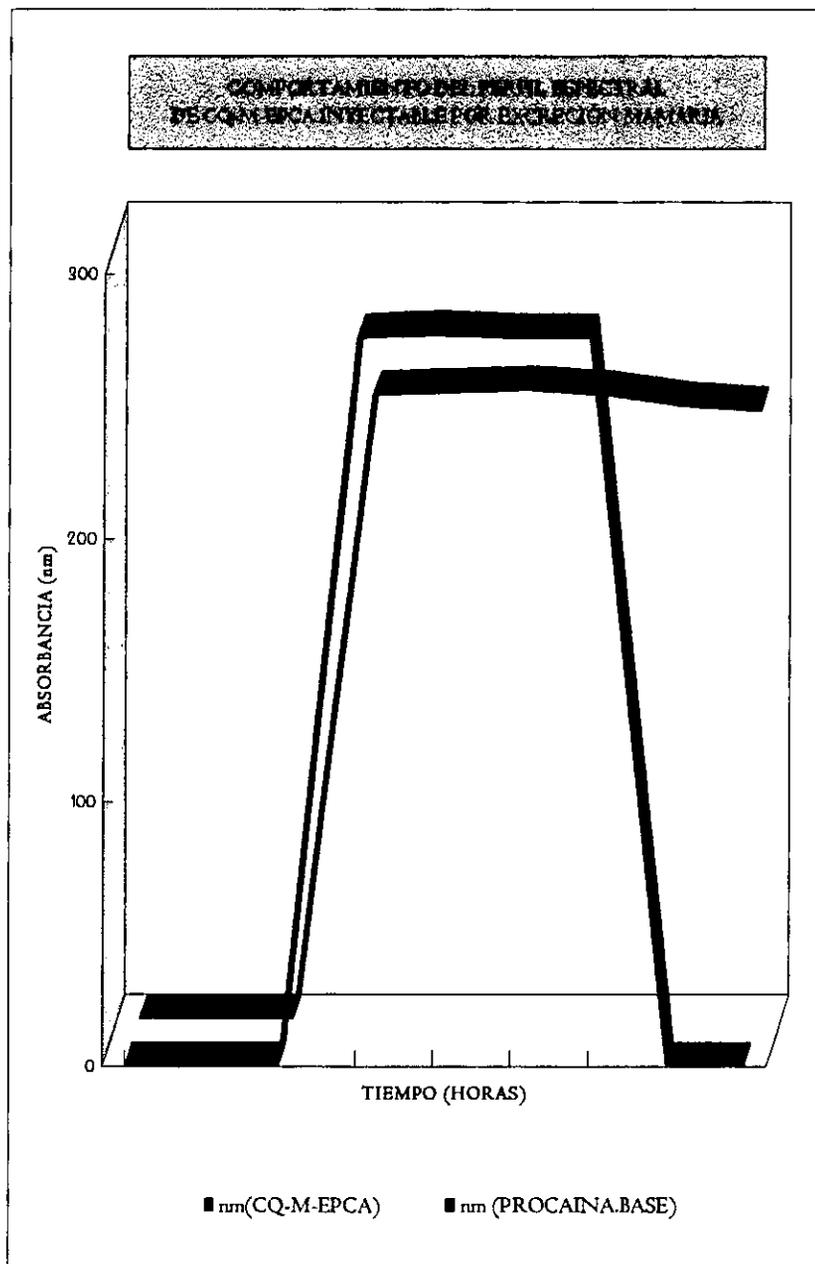
GRAFICA

F.3-HPLCI

## TIEMPO VS. % AREA



TIEMPO (HORAS)	AREA % (CQ-M-EPCA)	AREA % (PROCAINA. BASE)
0	0	0
1	0	0
3	0	0
12	18	81
24	32	67
36	21	78
48	13	86
60	0	100
72	0	100



TIEMPO VS. ABSORBANCIA

TIEMPO(HORAS)	nm(CQ-M-EPCA)	nm (PROCAINA.BASE)
0	0	0
1	0	0
3	0	0
12	276	236
24	277	237
36	276	238
48	276	236
60	0	232
72	0	230

## VIII-G ANALISIS GRAFICO DE RESULTADOS.

**Comportamiento gráfico de HPLC en las muestras: % AREA VS. TIEMPO**

**Procaína (Producto de eliminación 1):** A 0, 1 y 3 horas no se detecta, por lo tanto el % área corresponde a 0%, a 12 horas se detecta con 81.7%, a 24 hrs. disminuye ligeramente a 67.8%, a 36, 48, 60 y 72 horas se observa un incremento de 78.8%, 86.2%, 100% y 100% respectivamente.

A las 60 y 72 horas el %área es 100% porque se elimina solamente procaína ya que la CQ-M-EPCA se elimino completamente a las 60 horas.

**CQ-M-EPCA (Producto de eliminación 2):** A 0, 1 y 3 horas no se detecta, por lo tanto el % área corresponde al 0%, a las 12 y 24 horas se observa un incrementa de 18.2% a 32.25% respectivamente en este periodo se elimina mayor cantidad del producto, a las 36, 48, 60 y 72 horas se observa una disminución en el % área de 21.1%, 13.7%, 0% y 0% respectivamente. El producto se elimina a las 60 hrs.

**Comportamiento gráfico de HPLC en las muestras: AREA BAJO LA CURVA VS. TIEMPO**

**Procaína (Producto de eliminación 1):** A las 0, 1 y 3 horas no se detecta, por lo tanto el área corresponde a 0%, a las 12 horas se detecta 3345047.5 de área, a las 24 hrs. disminuye ligeramente a 2738815.5, de las 36 a las 48 horas se observa un incremento en el área de 3709964, 6359680m respectivamente, en este intervalo de horas se elimina mayor cantidad del producto 1

De las 60 a las 72 horas se observa una disminución en el área de 2424313.5 y 1634937.5 respectivamente, que representa casi la eliminación completa del organismo. El comportamiento de la curva es descendente, porque continua eliminandose el producto.

**CQ-M-EPCA (Producto de eliminación 2):** A las 0, 1 y 3 horas no se detecta, por lo tanto el área corresponde al 0%, a las 12 y 24 horas se observa un incrementa de 835221 a 1328945 respectivamente. A las 24 hrs. la eliminación del producto es mayor. A 36, 48, 60 y 72 horas se observa una disminución en el área de 994734.5, 1009036.5, 0 y 0 respectivamente, A 60 hrs. se elimina todo el producto.

El comportamiento de la curva es descendente.

**El comportamiento gráfico de UV en las muestras: NM VS. TIEMPO**

**Procaína (Producto de eliminación 1):** A las 0, 1 y 3 horas no hay absorbancia.

De las 12 a 48 horas la longitud de onda es 237.00 nm disminuyendo ligeramente a las 60 y 72 hrs a 231.00 nm.

El comportamiento de la curva es lineal porque no hay cambio en la longitud de onda.

**CQ-M-EPCA (Producto de eliminación 2):** A las 0, 1 y 3 horas no hay absorbancia.

De las 12 a 48 horas la longitud de onda es 276.00 nm.

A las 60 y 72 horas no hay absorbancia.

El comportamiento de la curva es lineal porque no hay cambio en la estructura del compuesto.

## VIII-G ANALISIS DE RESULTADOS

## ESTANDAR

**Procaína.base** tiempo de retención 1.9 minutos (Anexo F.2-HPLC1)

**Enrofloxacin**a tiempo de retención 2.8 minutos (Anexo F.2-HPLC2)

**CQ-M-EPCA AL 10% Solución inyectable**

El primero corresponde a procaína.base con un T.R. 2.1 minutos

El segundo corresponde a enrofloxacin con un T.R. 2.6 minutos

El tercero corresponde a CQ-M-EPCA con un T.R. 3.7 minutos  
(Anexo F.2-HPLC3)

## MUESTRAS

## ANTES DE LA ADMINISTRACION

KIT. Negativo ( la leche no tiene residuos B-lactamicos)

UV. No se determina el perfil espectral, no hay absorbancia. (Anexo F.3-UV1)

HPLC. En el cromatograma no observamos ningun pico. (Anexo F.3-HPLC1)

## TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 1 HORA

KIT. Negativo ( la leche no tiene residuos B-lactamicos)

UV. No se determina el perfil espectral, no hay absorbancia. (Anexo F.3-UV2)

HPLC. En el cromatograma no observamos ningun pico. (Anexo F.3-HPLC2)

## TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 3 HORAS

KIT. Negativo ( la leche no tiene residuos B-lactamicos)

UV. No se determina el perfil espectral, no hay absorbancia. (Anexo F.3-UV3)

HPLC. En el cromatograma no observamos ningun pico. (Anexo F.3-HPLC3)

## TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 12 HORAS

KIT. Positivo ( la leche tiene residuos B-lactamicos)

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 236.67 nm y la CQ-M-EPCA 276.67% (Anexo F.3-UV4)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3- HPLC4)

Procaína.base con un T.R. 1.9 minutos, área 3345047.5, % área = 81.76

CQ-M-EPCA con un T.R 3.2 minutos, área 835221 % área = 18.24

**TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 24 HORAS**

KIT. Positivo ( la leche tiene residuos B-lactamicos)

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 237.23 nm y la CQ-M-EPCA 277.19% (Anexo F.3-UV5)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3- HPLC5)

Procaína.base con un T.R. 1.53 minutos, área 2738815.5, % área = 67.84

CQ-M-EPCA con un T.R 3.20 minutos, área 1328945 área = 32.15

**TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 36 HORAS**

KIT. Negativo (Se identifican residuos B-lactamicos en leche, pero el kit ya no los detecta porque su sensibilidad es de 5ppb, mucho menor a la sensibilidad del HPLC)

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 238.33 nm y la CQ-M-EPCA 276.67% (Anexo F.3-UV6)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3-HPLC6)

Procaína.base con un T.R. 1.8 minutos, área 3709964, % área = 78.84

CQ-M-EPCA con un T.R 3.3 minutos, área 994734.5, % área = 21.15

**TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 48 HORAS**

KIT. Negativo.

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 238.67 nm y la CQ-M-EPCA 276.67% (Anexo F.3-UV7)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3-HPLC7)

Procaína.base con un T.R. 1.9 minutos, área 6359680 % área = 86.29

CQ-M-EPCA con un T.R 3.4 minutos, área 1009036.5 % área = 13.70

**TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 60 HORAS**

KIT. Negativo.

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 232.00 nm (Anexo F.3-UV8)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3-HPLC8)

Procaína.base con un T.R. 1.8 minutos, área 24243135 % área = 100

**TIEMPO DE ADMISNISTRACIÓN: 72 HORAS**

KIT. Negativo.

UV. El corte espectral se verificó por el perfil espectral de la procaína.base 230.00 nm (Anexo F.3-UV9)

HPLC. En el cromatograma observamos dos picos que corresponden a: (Anexo F.3-HPLC9)

Procaína.base con un T.R. 1.8 minutos, área 1634937.5 % área = 100

## VII-H CONCLUSIONES.

- Los compuestos que se eliminan por excreción mamaria son.*  
 Procaína y CQ-M-EPCA, se identifican por el tiempo de retención y el perfil espectral comparados con los establecidos por los estándares, en los cromatogramas de todas las muestras de leche no aparece la impureza de síntesis (enrofloxacin).
- ¿Porque no aparece en los cromatogramas Enrofloxacin?*  
 Probablemente el fármaco presente una biotransformación con respecto a su actividad farmacológica que pueda ser excretado sin que sufra alteración.  
 Es decir:  
 Probablemente el compuesto en el organismo de la vaca no se hidrolice y se comporte como una cefalosporina
- ¿A que tiempo comienza a eliminarse CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% (COMPUESTO 2)?*  
 A las 12 hrs. después de su administración, alcanzando un punto máximo de eliminación a las 24 hrs.
- ¿A que tiempo se elimina completamente del organismo CQ-M-EPCA INYECTABLE AL 10% (COMPUESTO 2)?*  
 A las 60 hrs. después de su administración..
- ¿A que tiempo comienza a eliminarse Procaína (COMPUESTO 1)?*  
 A las 12 hrs. después de su administración, alcanzando un punto máximo de eliminación a las 48 hrs.
- ¿A que tiempo se elimina completamente del organismo Procaína (compuesto 12)?*  
 Se tomaron muestras hasta las 72 horas, por esta razón no se determino a que tiempo se elimina. Pero la eliminación es prácticamente total después de las 72 horas.
- Tiempo de eliminación de residuos betalactámicos en leche determinados por kit vs. HPLC (%área).*  
*Tiempos de eliminacion por HPLC:*  
 CQ-M-EPCA: comienzan a eliminarse por excreción mamaria a las 12 hrs despues de haber administrado el medicamento. La CQ-M-EPCA se elimina completamente por excreción mamaria a las 60 hrs  
*Tiempos de eliminación por SNAP-KIT:*  
 A las 12 hrs y a las 24 hrs se detectan residuos betalactámicos en leche.  
 Apartir de la sexta toma de muestra que corresponde a 36 hrs ya no se detectan residuos betalactámicos.

Por lo tanto, la sensibilidad de HPLC es mucho mayor comparada con la sensibilidad del SNAP-KIT que detecta hasta 5ppb (unidades americanas). Porque mientras por HPLC comienzan a detectarse residuos betalactámicos a partir de las 12 hrs hasta 48 hrs, el SNAP-KIT detecta los residuos en la cuarta y quinta toma de muestra que corresponde a 12 y 24 horas respectivamente en donde la eliminación del medicamento fue mayor

De acuerdo a la Norma de Calidad de la Bolsa Nacional Agropecuaria S.A. la leche no debe superar cierto nivel de actividad antibiótica, el parámetro que se usa para medir el nivel de residuos betalactámicos es SNAP-KIT y no HPLC. Por lo tanto la leche se puede consumir después de las 24 hrs de haber administrado el medicamento.

Como se menciona anteriormente en la investigación de esta nueva molécula el objetivo es establecer con exactitud el espectro antimicrobiano, la toxicidad, el mecanismo de acción, usos y la Farmacocinética principalmente.

El proyecto realizado contemplo solo una parte de la investigación, la cual fue cubierta de acuerdo a los objetivos establecidos.



ENROFLOXACINA  
ANEXO II-E.A1

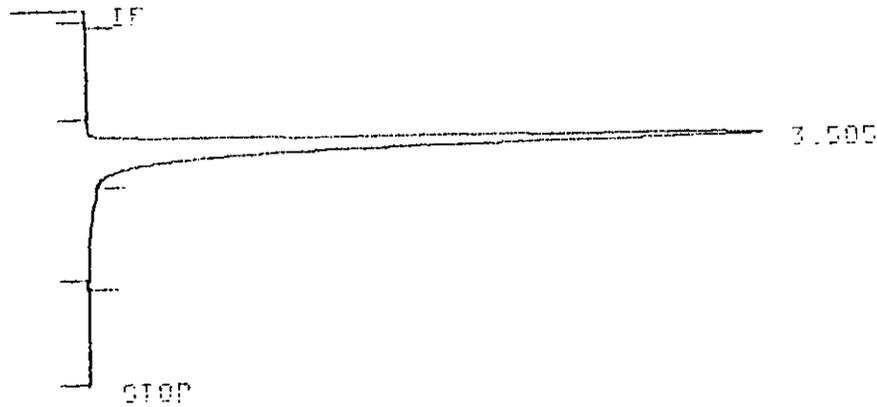
\*EN ROFLOXACINA BREAK

\*PRECURSOR BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0.50.123  
ATT 2^ = 0  
CHI SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THROU = ?  
PK WD = 0.01

\* RUN # 0 MAR 2, 1998 14:31:23  
START



RUN# 0 MAR 2, 1998 14:31:23

AREA#	RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
	3.505	24000100	PD	.327	100.00000

TOTAL AREA=2.40000E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

**ENROFLOXACINA**  
**ANEXO II-E.A1**

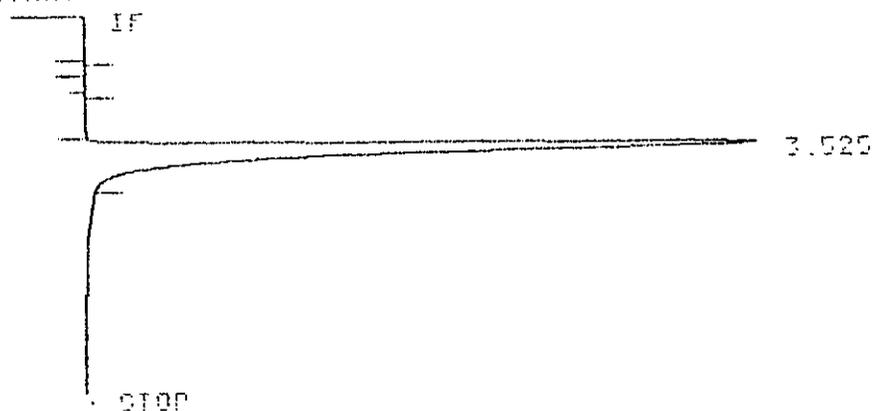
\*ENROFLOXACINA BREAK

\*PRECURSOR BREAK

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.10.002  
 ATT 2^ = 0  
 CH1 SP = 0.5  
 OR REF = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 10 MAR 2, 1990 14:17:00  
 START



RUN# 10 MAR 2, 1990 14:17:00

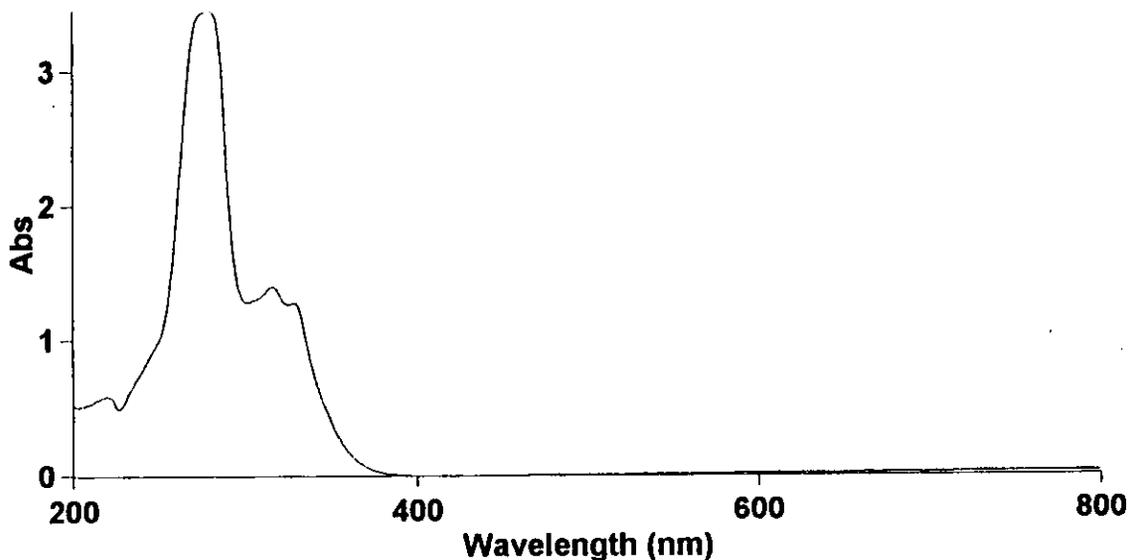
RT	AREA TYPE	WIDTH	AREA%
3.525	24967004	00	100.00000

TOTAL AREA=2.496700E7  
 MUL FACTOR=1.00000E00

\*

**ANEXO II-E.B1**

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



**Scan Report Jue 05 Mar 10:54:37 AM 1998**

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: ENROFLOXACINA**

Collection Time 5/03/98 10:43:42 AM

**Peak Table**

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
316.67	1.3956
278.33	3.4506
220.00	0.5782

7-ACA

ANEXO II-E. A2

\* NO PROGRAM ASSIGNED TO KEY

\*REA 7 BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 8, 58.844

ATT 2^ = 8

CHT SP = 8.5

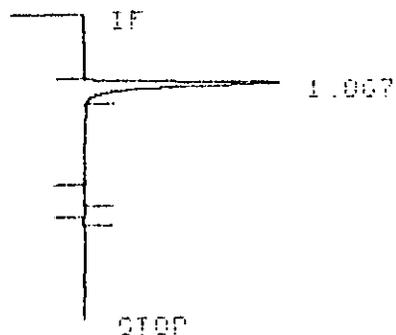
OR RES = 100000

THRESH = 7

PK WD = 8.84

\* RUN # 14 MAR 2, 1990 15:34:40

START



RUN# 14 MAR 2, 1990 15:34:40

AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.067	3500134	00	.105	100.00000

TOTAL AREA=3500134

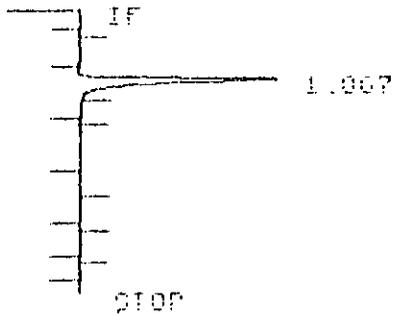
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
\*

## 7-ACA

## ANEXO II-E.A2

\*OCC 7 BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244ZERO = 8, 58.000  
ATT 20 = 0  
CMT SP = 0.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK MD = 0.01\* RUN # 15 MAR 2, 1990 15:43:55  
START

RUN# 15 MAR 2, 1990 15:43:55

AREA#	RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1	1.067	3504016	PD	.100	100.00000

TOTAL AREA=3504016  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

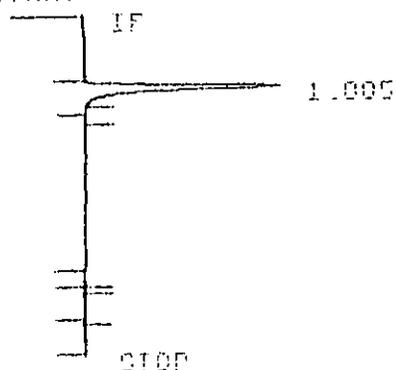
7-ACA BREAK

ANEXO II-EA2

LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.49.010  
ATT 2^ = 0  
CUT SP = 8.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 8.84

\* RUN # 10 MAR 2, 1990 15:51:24  
START



RUN# 10 MAR 2, 1990 15:51:24

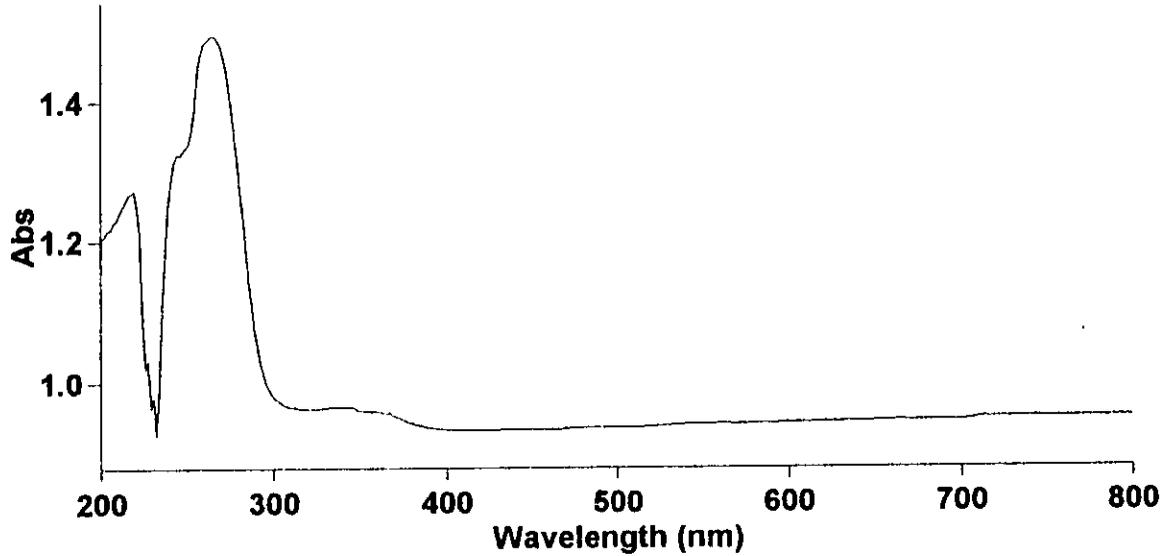
AREA%	RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.005	3630392	00	.100	100.00000	

TOTAL AREA=3630392  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
\*

### ANEXO II-E.B2

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



## Scan Report Jue 05 Mar 11:05:02 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

### Sample Name: 7-ACA

Collection Time

5/03/98 11:04:05 AM

### Peak Table

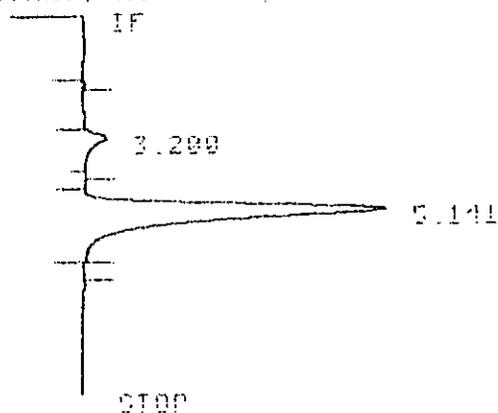
Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 198.94nm

Wavelength (nm)	Abs
265.54	1.4939
218.92	1.2712

CQ-M-EPCA

ANEXO II-EA3 BREAK

\*CONCENTRACION 0.01 MG ML BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244ZERO = 0, 43.540  
ATT 2^ = 0  
GHI SP = 0.5  
RR PCI = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04\* RUN # 2 MAR 2, 1990 13:11:33  
START: not ready

RUN# 2 MAR 2, 1990 13:11:33

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
3.200	872043	BP	.301	5.49957
5.141	15290076	PD	.464	94.50042

TOTAL AREA=1.61640E07  
MUL FACTOR=1.00000E00

\*

CQ-M-EPCA  
ANEXO II-E.A3

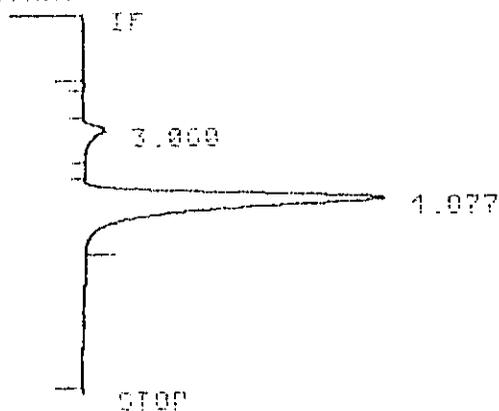
\*CQ M EPCA BREAK

\*CONCENTRACION 0.04 MG ML BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.010  
ATT 2^ = 0  
CHT CP = 0.5  
OR REF = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 3 MAR 2, 1990 13:22:51  
START



RUN# 3 MAR 2, 1990 13:22:51

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.068	000030	UU	.367	5.30402
4.077	15500302	UD	.177	94.69598

TOTAL AREA=1.6477E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*  
\*

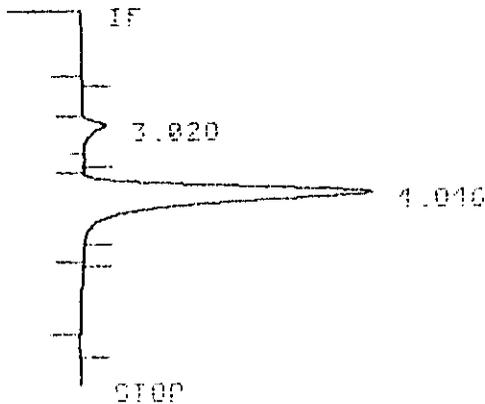
CQ-M-EPCA  
ANEXO II-E.A3

\*CQ M EPCA BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.010  
ATT 20 = 0  
CH7 SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 1 MAR 2, 1990 13:34:13  
START



RUN# 1 MAR 2, 1990 13:34:13

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.020	050235	DU	.333	5.25456
4.040	15330672	DU	.400	94.74544

TOTAL AREA=1.610101E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

\*

\*

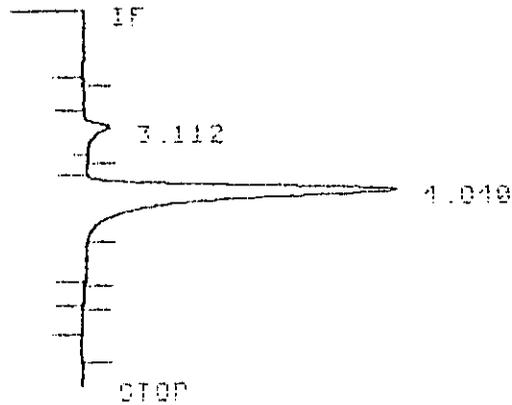
CQ-M-EPCA

ANEXO II-E-A3 BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.144  
BIT 2 = 0  
CHT SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = ?  
PK WD = 0.04

\* RUN # 5 MAR 2, 1990 13:45:30  
START



RUN# 5 MAR 2, 1990 13:45:30

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.112	998275	PV	.326	5.31267
4.040	15332616	BB	.456	94.68733

TOTAL AREA=1.61030E07  
MUL FACTOR=1.00000E00

\*  
\*

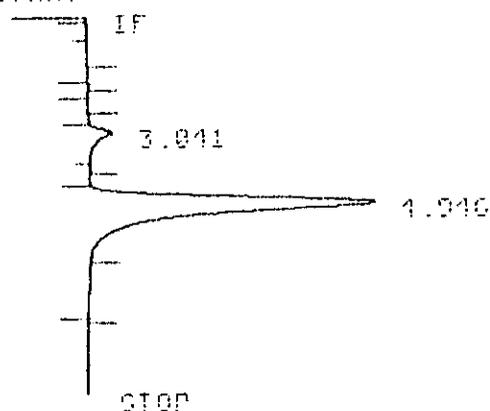
CQ-M-EPCA  
ANEXO II-E.A3

\*CQ M EPCA BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.013  
ATT 20 = 0  
CHT SP = 0.5  
NR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 0 MAR 2, 1990 13:50:29  
START



RUN# 0 MAR 2, 1990 13:50:29

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
3.041	015445	DU	.310	4.37016
4.046	15505000	DU	.500	95.82106

TOTAL AREA=1.63095E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
\*

CQ-M-EPCA

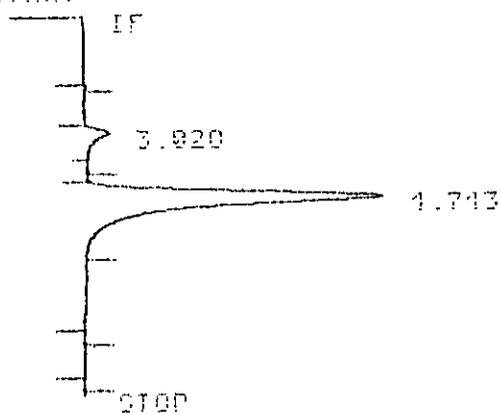
ANEXO II-E-A3

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.000  
 ATT 2 = 0  
 CH1 SP = 0.5  
 OR SCJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 7 MAR 2, 1990 14:07:50

START



RUN# 7 MAR 2, 1990 14:07:50

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.920	771221	BB	.200	1.03220
1.713	15100032	BB	.173	95.16774

TOTAL AREA=1.50000E+07

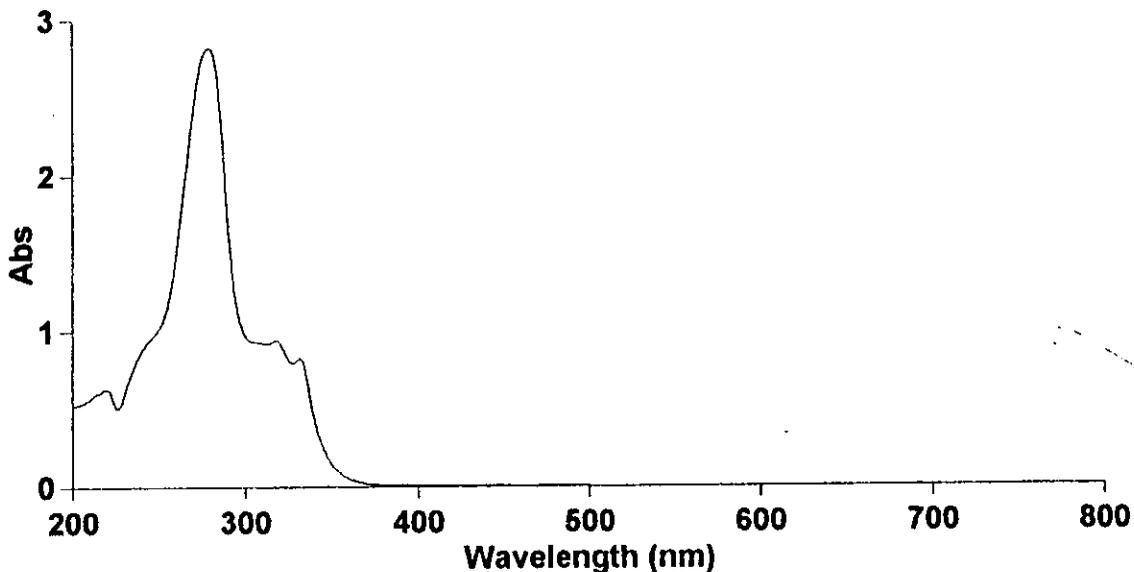
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CQ-M-EPCA

ANEXO II-E.B3

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



### Scan Report Jue 05 Mar 10:17:17 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

#### Sample Name: CQ-M-EPCA

Collection Time 5/03/98 10:16:52 AM

#### Peak Table

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 500.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.8320
318.33	0.9428
278.33	2.8294
220.00	0.6292

ANEXO III-F.A1

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.067

ATT 2^ = 0

CHI SP = 0.5

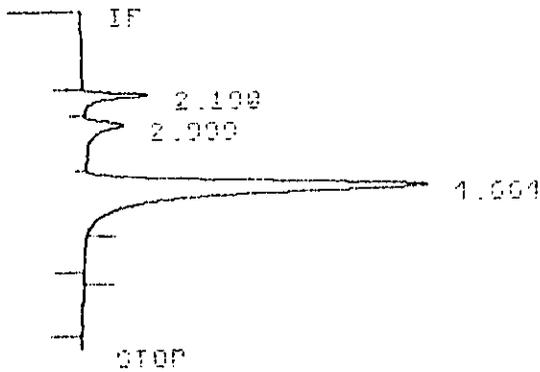
OR REV = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 10 MAR 2, 1999 16:15:24

START



RUN# 10 MAR 2, 1999 16:15:24

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.199	1392140	UV	.193	0.75723
2.999	1505076	UV	.364	0.27733
4.664	16373192	UV	.439	94.96544

TOTAL AREA=1.0279E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

ANEXO III.F.1.1: BREAK

\* SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0, 50.203

ATT 2^ = 0

CUT OFF = 0.5

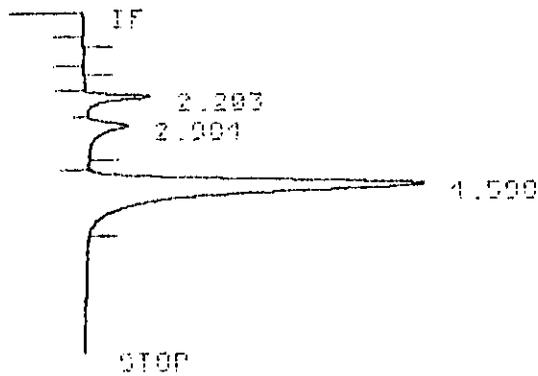
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 10 MAR 2, 1990 17:01:14

START



RUN# 10 MAR 2, 1990 17:01:14

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.203	1270231	DD	.102	0.77212
2.904	1410269	DD	.317	7.50370
4.500	16179570	DD	.413	80.72301

TOTAL AREA=1.00740E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

ANEXO III-F.A1

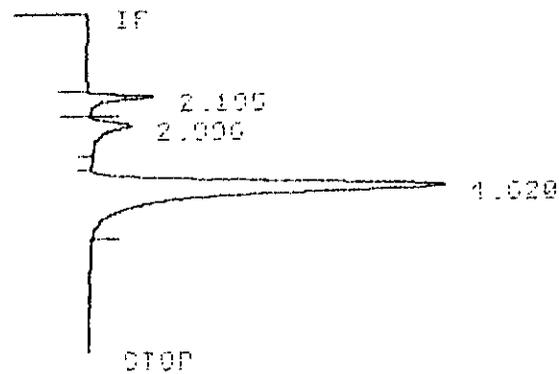
\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 19.860  
ATT 20 = 0  
CHT SP = 0.5  
RR REF = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 20 MAR 2, 1990 17:14:24  
START



RUN# 20 MAR 2, 1990 17:14:24

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.105	1256210	00	.177	0.49976
2.096	1476807	00	.330	7.63628
4.628	16597016	00	.431	95.86596

TOTAL AREA=1.93390E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

ANEXO III-F.A1

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 19.000

ATT 2° = 0

ENT SP = 0.5

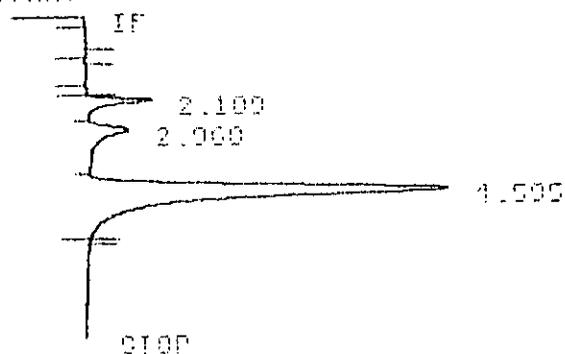
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 21 MAR 2, 1990 17:27:23

START



RUN# 21 MAR 2, 1990 17:27:23

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.100	1200770	UU	.101	0.04702
2.000	1001320	UU	.340	0.15007
4.595	10510204	UU	.423	05.19533

TOTAL AREA=1.0300E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*  
\*

ANEXO III-F.A1

\*CQ M EPCA 10% BREAK

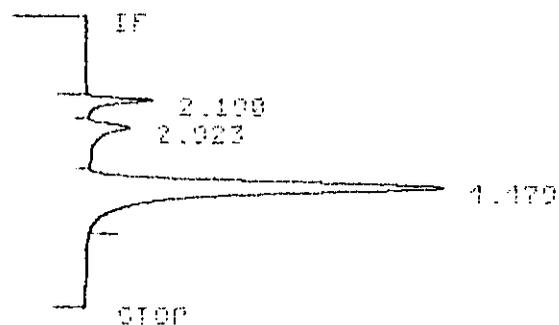
\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 10.001  
 ATT 2^ = 0  
 CNT SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK MD = 0.01

\* RUN # 22 MAR 2, 1990 17:37:10  
 START



RUN# 22 MAR 2, 1990 17:37:10

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.100	1201216	UU	.177	0.57731
2.023	1675825	UU	.302	0.50070
1.170	16523520	UU	.426	01.02394

TOTAL AREA=1.3100E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

ANEXO III-F.A1

\*EPC M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0, 50.117

ATT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

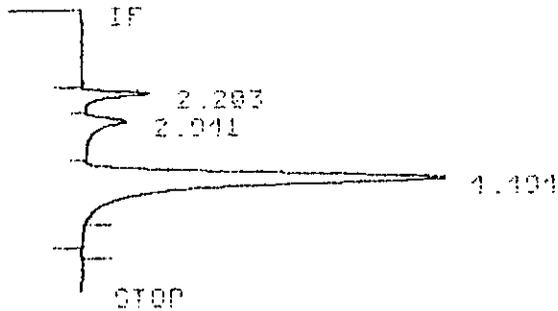
OR REJ = 100000

THRU = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 23 MAR 2, 1990 17:40:10

START



RUN# 23 MAR 2, 1990 17:40:10

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.203	1320420	UU	.102	0.01027
2.041	1002240	UU	.353	0.02770
4.401	10400300	UU	.410	04.55395

TOTAL AREA=1.04000E+07

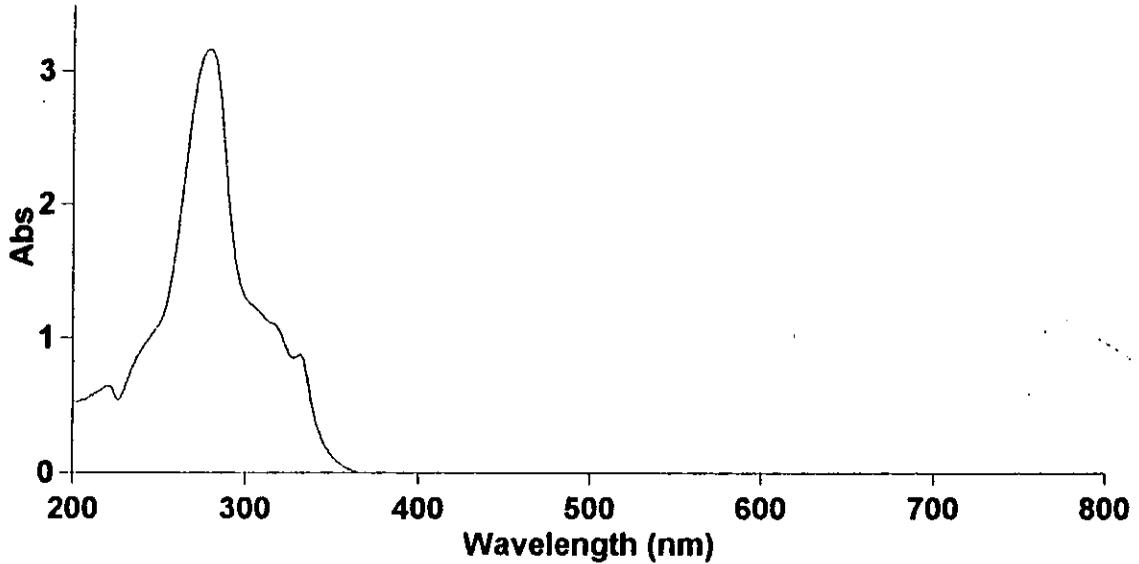
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
\*

CQ-M-EPCA SOL INY AL 10%

ANEXO III-F.B1

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 5/03/98 4:37:46 PM  
Report changed 5/03/98 4:37:25 PM

### Scan Report Jue 05 Mar 03:05:36 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

### Sample Name: SOLUCION INYECTABLE AL 10% DE CQ-M-EPCA

Collection Time 5/03/98 2:00:53 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.00	0.8815
279.00	3.1654
220.00	0.6468

## ANEXO III-F.A2

## PROCAINA.BASE

\*PROBANDO BASE BREAK

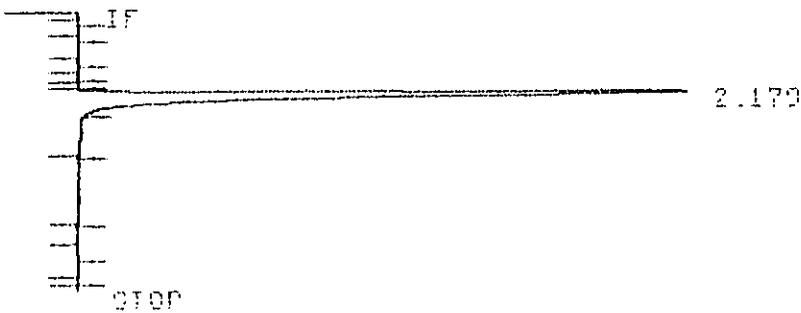
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 10.007  
 RTT 2\* = 0  
 CH1 SP = 0.5  
 OR RES = 100000  
 THRESH = 7  
 OK WD = 0.01

\* RUN # 21 MAR 2, 1990 17:51:43

START



RUN# 21 MAR 2, 1990 17:51:43

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.170	11011432	00	.100	100.00000

TOTAL AREA=1.1011E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

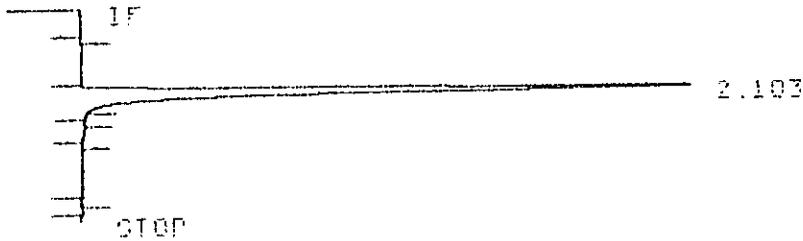
\*  
\*

\*PROCAINA BASE BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.10.777  
ATT 2^ = 0  
CNT SP = 0.5  
OR SCJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.84

\* RUN # 25 MAR 2, 1990 10:03:00  
START



RUN# 25 MAR 2, 1990 10:03:00

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.103	11725256	BB	.177	100.00000

TOTAL AREA=1.1725E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

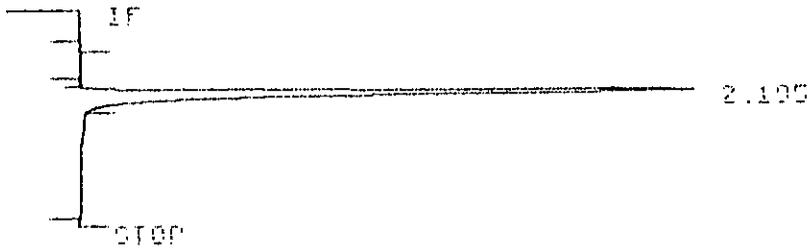
\*

\*PROCAINA BASE BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.032  
RTT 20 = 0  
CNT SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK UD = 0.01

\* RUN # 20 MAR 2, 1990 10:00:10  
START



RUN# 20 MAR 2, 1990 10:00:10

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.105	11001520	PD	.100	100.00000

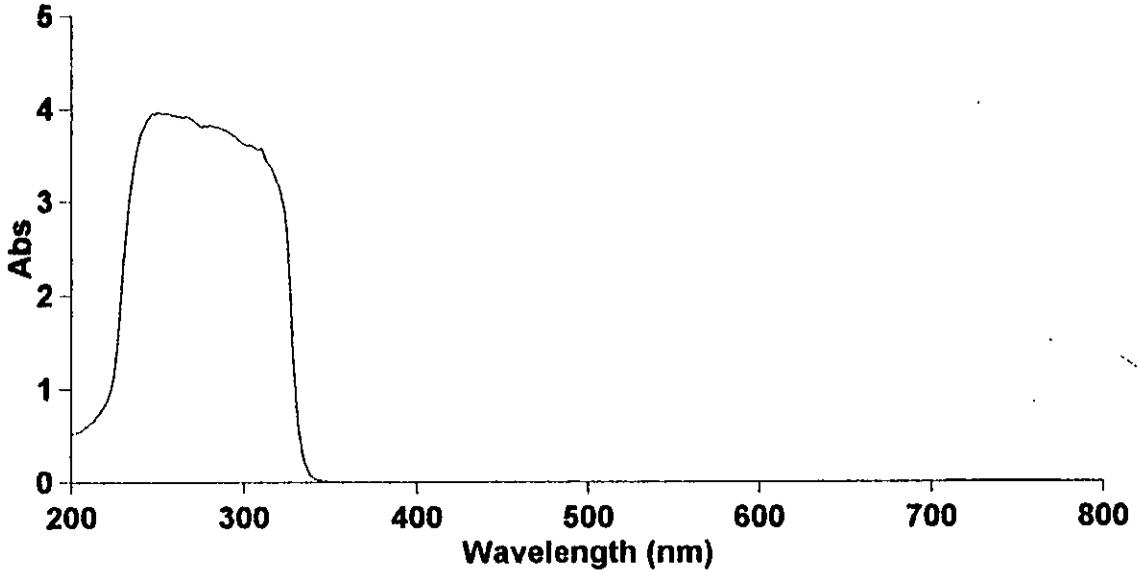
TOTAL AREA=1.10020E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
\*

**PROCAINA.BASE**

**ANEXO III-F.B2**

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 19/03/98 6:19:19 PM

## Scan Report Lun 02 Feb 01:17:38 PM 1998

Batch: A:PROCAINA.BASE  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

### Sample Name: PROCAINA BASE

Collection Time 2/02/98 1:16:41 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 198.94nm

Wavelength (nm)	Abs
228.91	4.4451

\*ENROFLOXACINO BREAK

\*PRECURSOR BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0.40.017

RT 2^ = 0

CHT OF = 0.5

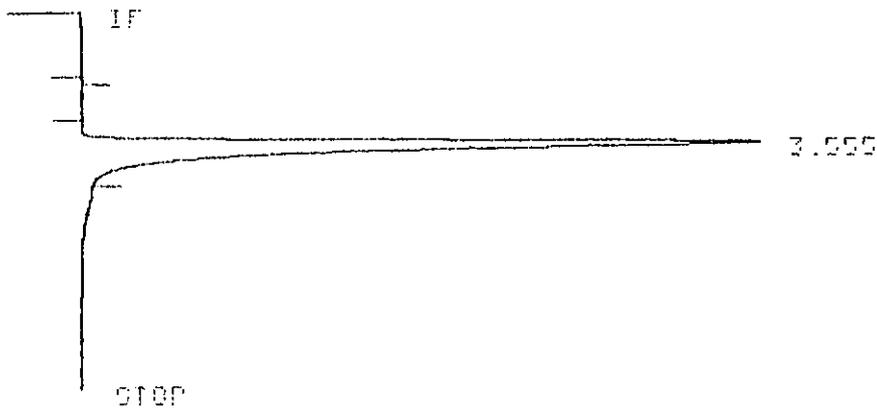
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 11 MAR 2, 1990 14:50:20

START



RUN# 11 MAR 2, 1990 14:50:20

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
3.555	21050000	PD	.320	100.00000

TOTAL AREA=2.1051E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

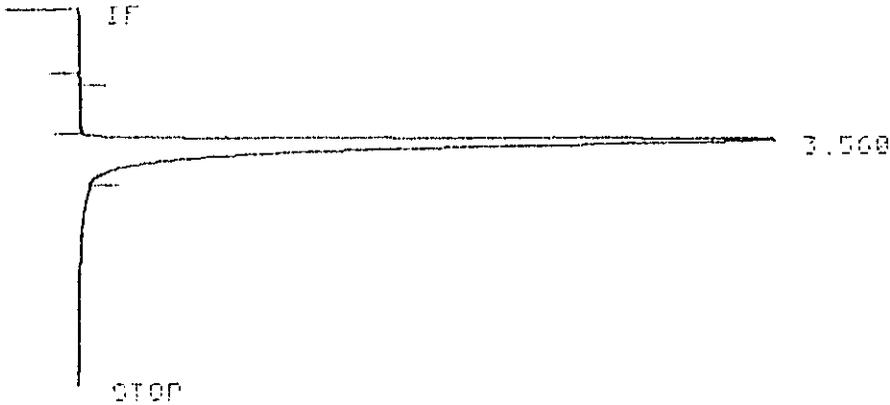
\*ENROFLOXACINA BREAK

\*PRECURSOR BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.40.055  
ATT 20 = 0  
CHT SP = 0.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 12 MAR 2, 1990 15:12:40  
START



RUN# 12 MAR 2, 1990 15:12:40

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.500	24300021	DD	.323	100.00000

TOTAL AREA=2.4400E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*  
\*

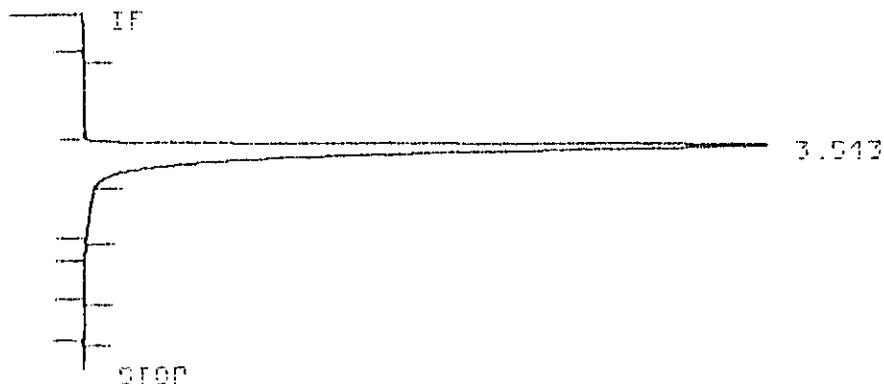
\*ENROFLOXACINA BREAK

\*PRECURSOR BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.020  
ATT 2<sup>0</sup> = 0  
CHT SP = 0.5  
OR RES = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 13 MAR 2, 1990 15:24:24  
START



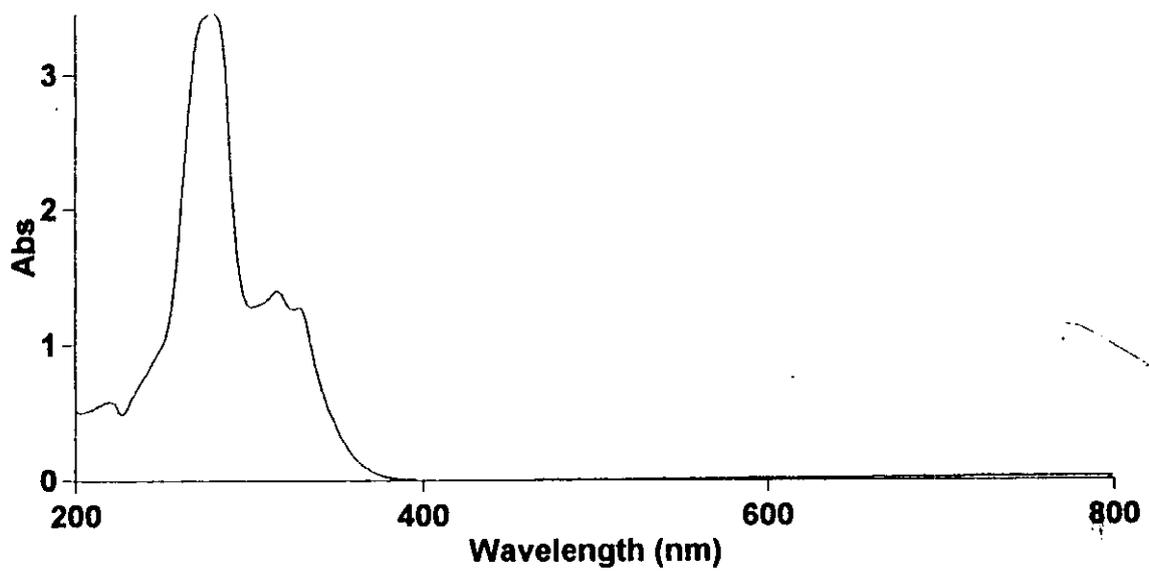
RUN# 13 MAR 2, 1990 15:24:24

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.543	24034056	DB	.324	100.00000

TOTAL AREA=2.4035E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

**ENROFLOXACINA**  
**ANEXO III-F.B3**  
Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



### Scan Report Jue 05 Mar 10:54:37 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: ENROFLOXACINA**  
Collection Time 5/03/98 10:43:42 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
316.67	1.3956
278.33	3.4506
220.00	0.5782

TIEMPO: 0 HRS.

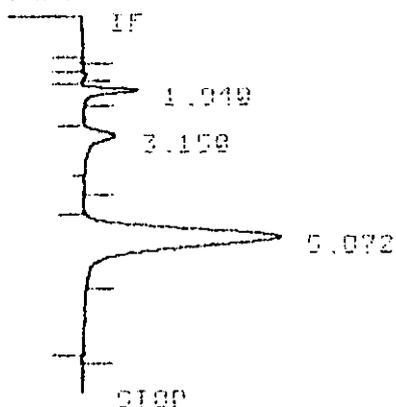
\*SOLUCION INYECTABLE BREAK  
ANEXO IV-6.A-HPLC1

\*CQ-M-EPCA AL 10% BREAK  
ANEXO IV-6.B-HPLC1

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.791  
RT 2^ = 0  
CHY SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 12 JAN 26, 1990 12:37:23  
START



RUN# 12 JAN 26, 1990 12:37:23

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.048	974700	00	.166	0.00000
3.158	1176250	00	.349	0.13310
5.072	11797010	00	.550	04.57021

TOTAL AREA=1.33400E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

TIEMPO: 0 HRS.

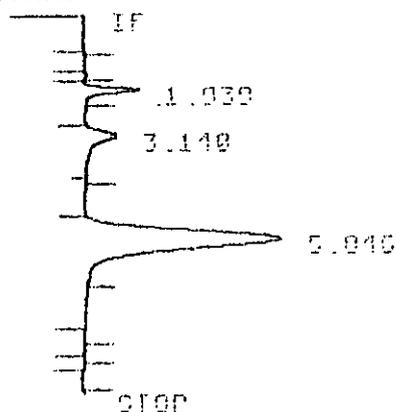
ANEXO IV-G A-HPLC1  
 \*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*CQ M EPCA AL 10% BREAK

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.042  
 ATT 2° = 0  
 CHT SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.04

\* RUN # 13 JAN 26, 1990 12:51:41  
 START



RUN# 13 JAN 26, 1990 12:51:41

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.039	004351	PP	.167	7.12700
3.140	1173107	BP	.345	0.40043
5.046	11703006	BP	.568	04.46201

TOTAL AREA=1.3951E+07  
 MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

TIEMPO: 0 HRS.

\*SOLUTION INVESTIGABLE BREAK  
ANEXO IV-6.A-HPLCI

\*00 M EPOR AL 100% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.100

BIT 2° = 0

DHT SP = 0.5

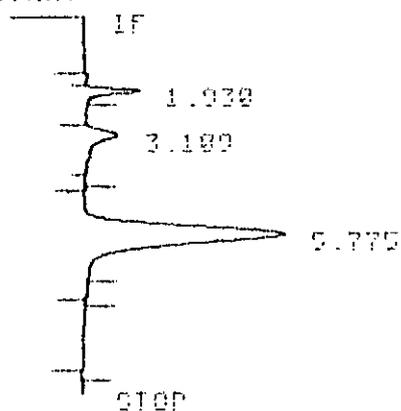
RR RCJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 14 JAN 26, 1990 13:00:02

START



RUN# 14 JAN 26, 1990 13:00:02

AREAX

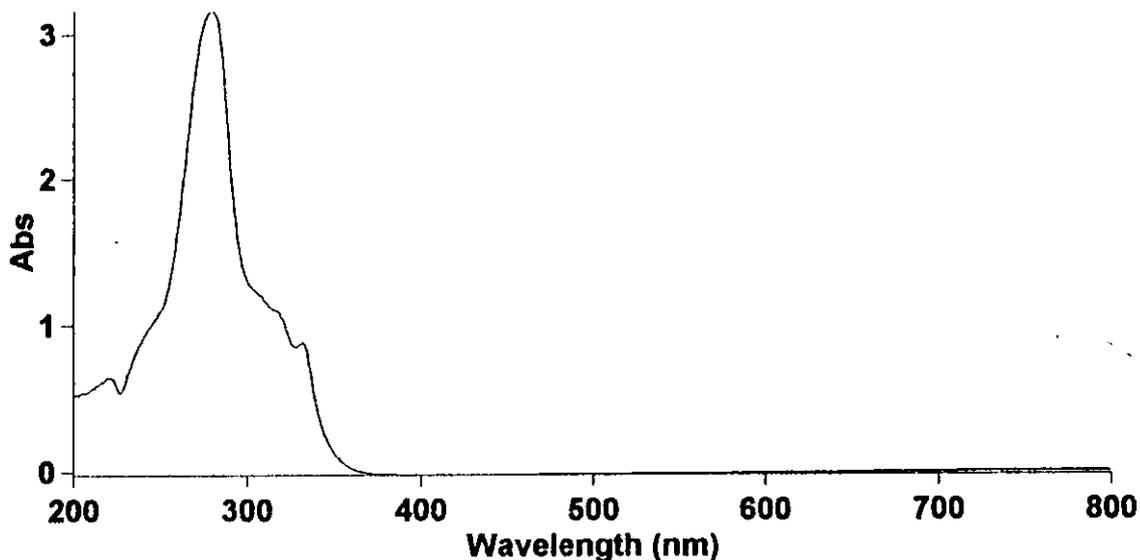
RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.030	993152	PD	.100	7.14030
3.100	1127040	DP	.334	0.18043
5.775	11700000	PD	.540	91.75027

TOTAL AREA=1.30000E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 24/03/98 2:19:20 PM by LORENA GARCIA TORRES

## Scan Report Mar 24 Mar 02:18:21 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: SOLUCION INYECTABLE CQ-M-EPCA AL 10%

TIEMPO = 0 HORAS

Collection Time 5/03/98 2:00:53 PM

### Peak Table

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.00	0.8815
279.00	3.1654
220.00	0.6468

TIMEPO:24 HRS.

ANEXO IV-G.A-HPLC2

\*CQ M EPCA AL 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TIEMPO: 2 DIAS BREAK

\*TEMPERATURA: 4 C BREAK

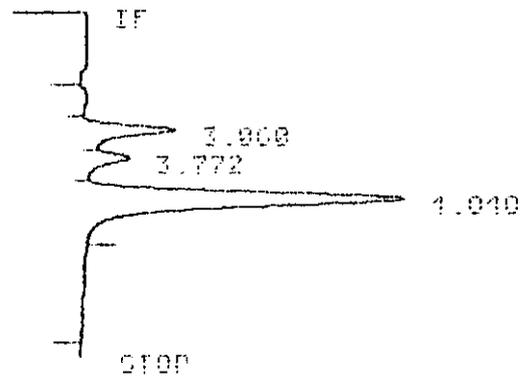
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.101  
 RT 2° = 0  
 CH1 SP = 0.5  
 RR DEL = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 10 JAN 27, 1990 03:55:30

START



RUN# 10 JAN 27, 1990 03:55:30

AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA#
3.000	3200701	UU	.331	15.53511
3.772	1012271	UU	.302	0.53000
1.040	16112432	UD	.405	75.92512

TOTAL AREA=2.1221E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*CQ M EPCA AL 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TIEMPO: 2 DIAS BREAK

\*TEMPERATURA: 4 C BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.072

BIT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

OR REJ = 100000

THROH = 7

PK WD = 0.04

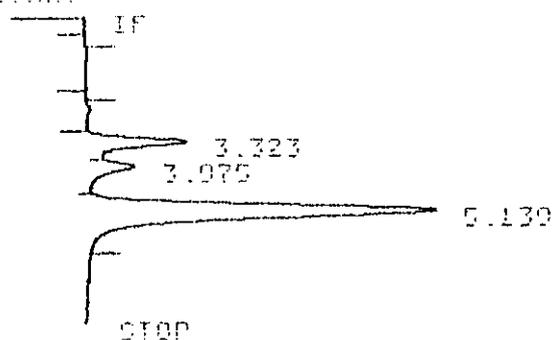
CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO:24 HRS.

ANEXO IV-G.A-HPLC2

\* RUN # 13 JUN 27, 1990 03:35:47

START



RUN# 13 JUN 27, 1990 03:35:47

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
3.323	3120157	UV	.203	14.02500
3.075	1775530	UV	.340	0.10076
5.130	10001050	UV	.420	70.00010

TOTAL AREA=2.00000E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

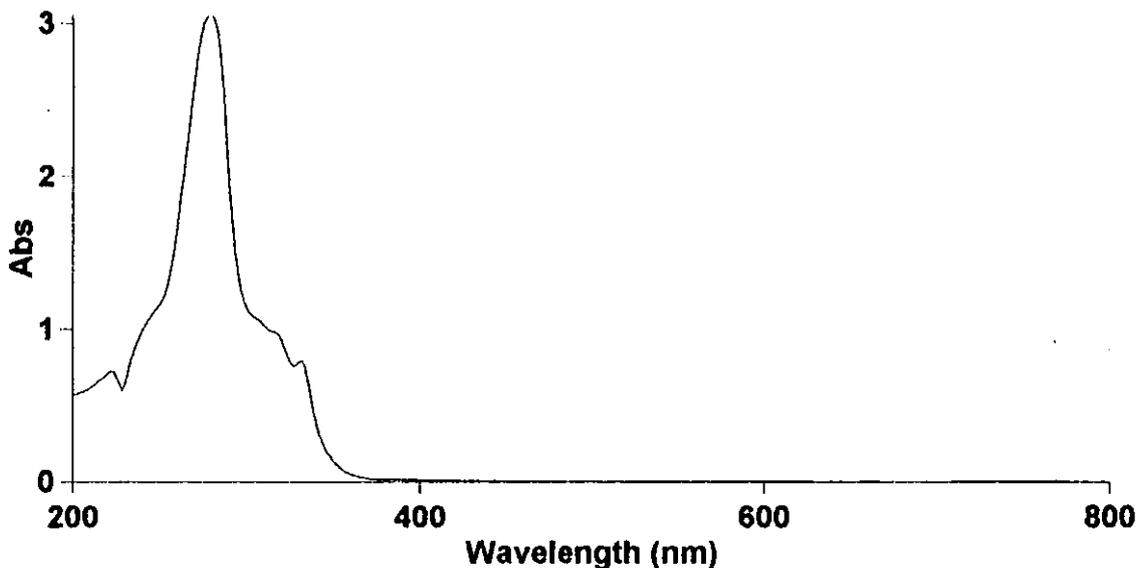
\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO:24 HRS.

ANEXO IV-G.A-UV2

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 27/03/98 7:22:12 PM

### Scan Report Vie 27 Mar 07:14:34 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: CQ-M-EPCA 10%. TEMPERATURA:4°C. TIEMPO: 2 DIAS**

Collection Time 28/01/98 9:50:23 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.14	0.8349
317.15	0.9448
278.86	3.1466

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 48 HRS.

ANEXO IV-6.A-HPLC3

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 1 C BREAK

\*TIEMPO: 3 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0.40.070

ATT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

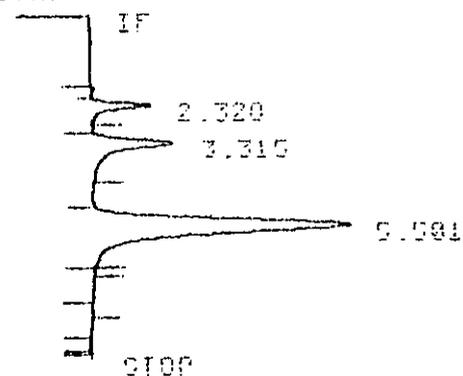
RR REI = 100000

THRESH = 7

PK MB = 0.04

\* RUN # 0 JAN 20, 1990 12:40:00

START



RUN# 0 JAN 20, 1990 12:40:00

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.320	1244305	DB	.101	7.53100
3.315	2001152	DB	.332	17.44575
5.581	12300360	DB	.440	75.01038

TOTAL AREA=1.55150E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 48 HRS.

ANEXO IV-G.A-HPLC3

\*CU M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA 4 C BREAK

\*TIEMPO: 3 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.662

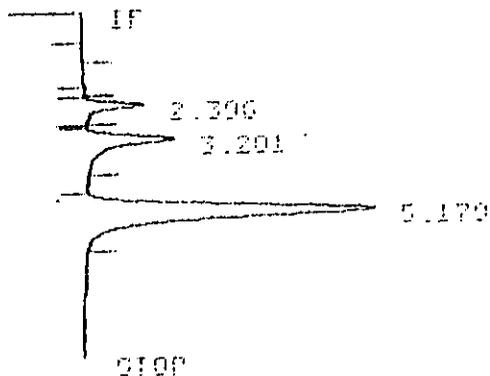
BIT 2 = 0

CH1 GP = 0.5

OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 0 JAN 20, 1990 12:53:33  
START

RUN# 0 JAN 20, 1990 12:53:33

AREAS

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.396	1242720	BB	.135	7.26133
3.201	2910002	BB	.314	17.95843
5.179	12953512	BB	.416	75.08022

TOTAL AREA=1.7114E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIEMPO: 48 HRS.

ANEXO IV-G.A-HPLCS

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 4 C BREAK

\*TIEMPO: 3 DIAS BREAK

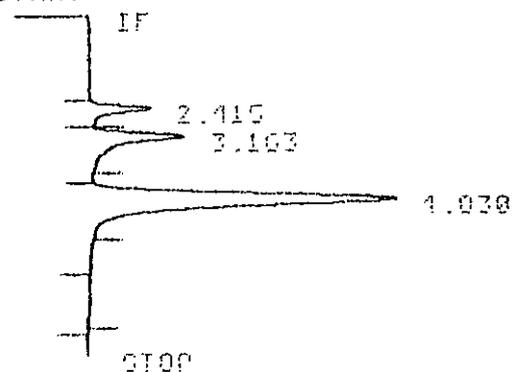
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0, 10.000  
 INT 2° = 0  
 CH1 SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 10 JAN 20, 1990 13:00:40

START



RUN# 10 JAN 20, 1990 13:00:40

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.415	1100000	00	.105	6.70280
3.103	3000000	00	.314	17.44302
4.030	13251300	00	.403	75.77411

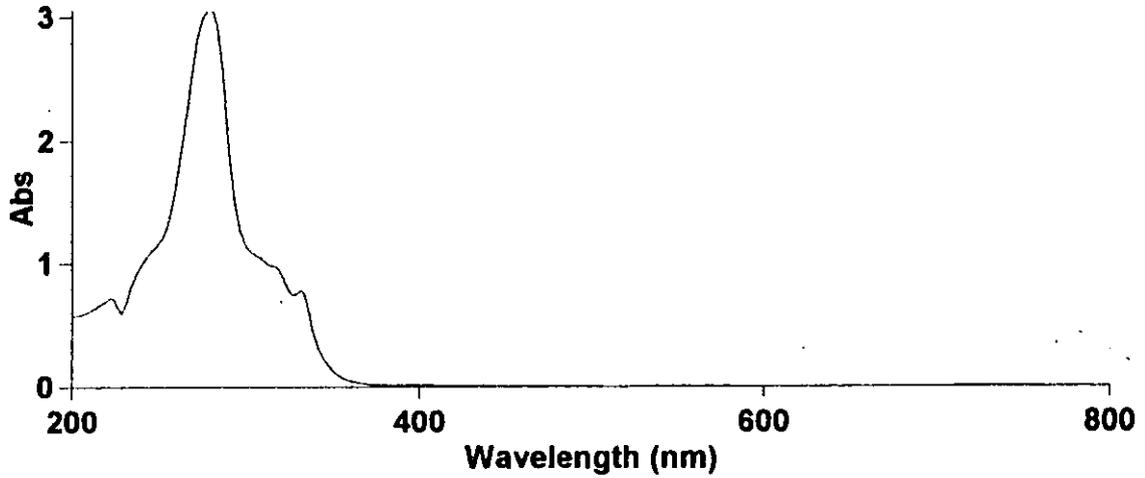
TOTAL AREA=1.74000E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%  
TIEMPO: 48 HRS.  
ANEXO IV-G.A-UV3



### Scan Report Jue 29 Ene 08:59:31 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: CQ-M-EPCA 10%. TEMPERATURA: 4°C. TIEMPO: 3 DIAS**

Collection Time 28/01/98 9:50:23 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.7912
278.33	3.0547
221.67	0.7231

\*  
 \*CQ M EPCA 10% BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

TIMEPO: 72 HRS.

\*TEMPERATURA: 1 C BREAK

ANEXO IV-G.A-HPLC4

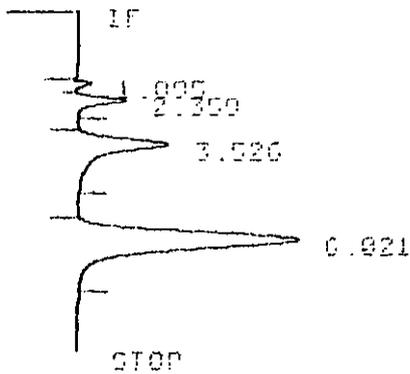
\*TIEMPO: 1 DIAO BREAK

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.58125  
 ATT 2° = 0  
 CH1 CF = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRUH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 11 JAN 29, 1990 11:40:37

START



RUN# 11 JAN 29, 1990 11:40:37

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.095	225654	PP	.120	1.26584
2.350	1103703	PP	.221	6.69240
3.526	3030004	PP	.400	21.17640
6.021	12507320	PP	.520	78.50692

TOTAL AREA=1.70305107

MUL FACTOR=1.00000100

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

ANEXO IV-G.A-HPLC4

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 4 C BREAK

\*TIEMPO: 4 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.502

ATT 20 = 0

OUT SP = 0.5

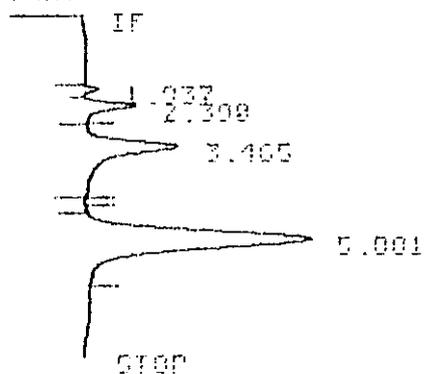
OR PCL = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 12 JAN 20, 1990 12:00:42

START



RUN# 12 JAN 20, 1990 12:00:42

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.037	100156	PP	.117	1.00302
2.300	1223066	PP	.224	6.59523
3.405	3090030	PP	.400	21.05136
5.001	13130096	PP	.541	70.04959

TOTAL AREA=1.0515E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*  
\*  
\*

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 1 C BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

\*TIEMPO: 4 DIAS BREAK

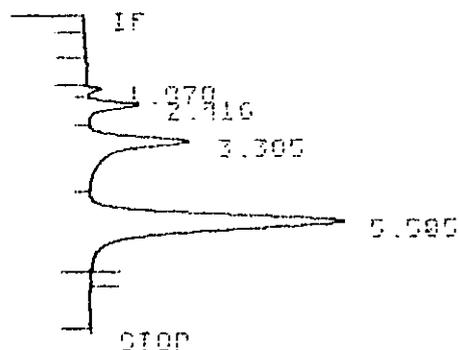
ANEXO IV-6.A-HPLC4

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 40.707  
ATT 2^ = 0  
CHI SQ = 0.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 14 JAN 20, 1990 12:25:25

START



RUN# 14 JAN 20, 1990 12:25:25

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.970	234017	UV	.141	1.15031
2.116	1331437	UV	.235	6.56201
3.305	4561001	UV	.114	22.47041
5.585	14162044	UV	.514	69.00227

TOTAL AREA=2.0200E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

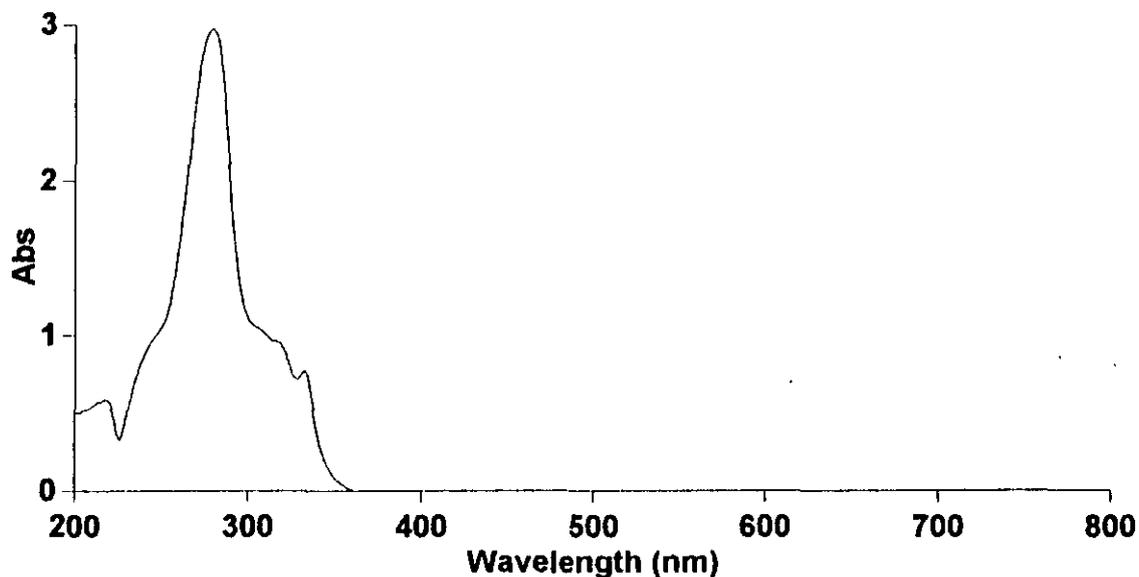
\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

ANEXO IV-G.A-UV4

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 97043194



### Scan Report Jue 29 Ene 02:17:06 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%. TEMPERATURA: 4°C. TIEMPO: 4 DIAS

Collection Time 29/01/98 2:15:57 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.00	0.7719
279.00	2.9700
218.00	0.5886

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 96 HRS.

ANEXO IV-6.A-HPLC5

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOL. INY.

INVALID SYSTEM COMMAND

\*TEMPERATURA: 1 C BREAK

\*TIEMPO: 5 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 19.001

ATT 2° = 0

CHT CP = 0.5

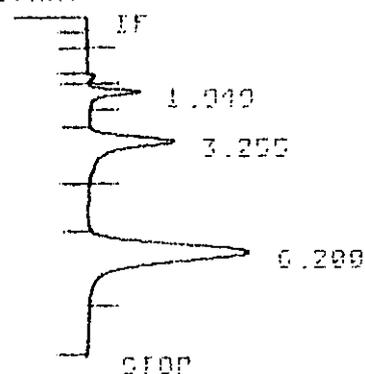
RR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 15 JAN 30, 1990 12:27:41

START



RUN# 15 JAN 30, 1990 12:27:41

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.040	991076	DD	.170	7.82204
3.255	3273413	DD	.361	23.17462
6.200	9050603	DD	.571	69.00253

TOTAL AREA=1.4125E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

#

OUT OF PAPER: FEED W/ENTER, RESUME W/ESC .

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIEMPO: 96 HRS.

ANEXO IV-6.A-HPLC5

\*CQ M EPCA BREAK

\*SOL INY. BREAK

\*TEMPERATURA: 4 C BREAK

\*TIEMPO: 5 DIAS BREAK

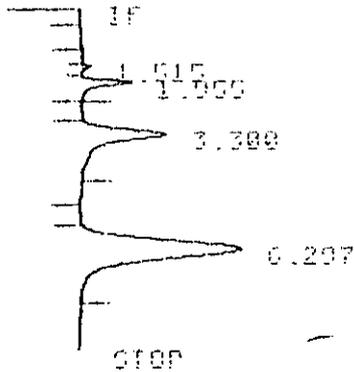
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.963  
 RTT 2° = 0  
 CNT OP = 0.5  
 PR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.04

\* RUN # 14 JAN 30, 1990 12:13:13

START



RUN# 14 JAN 30, 1990 12:13:13

BREAK

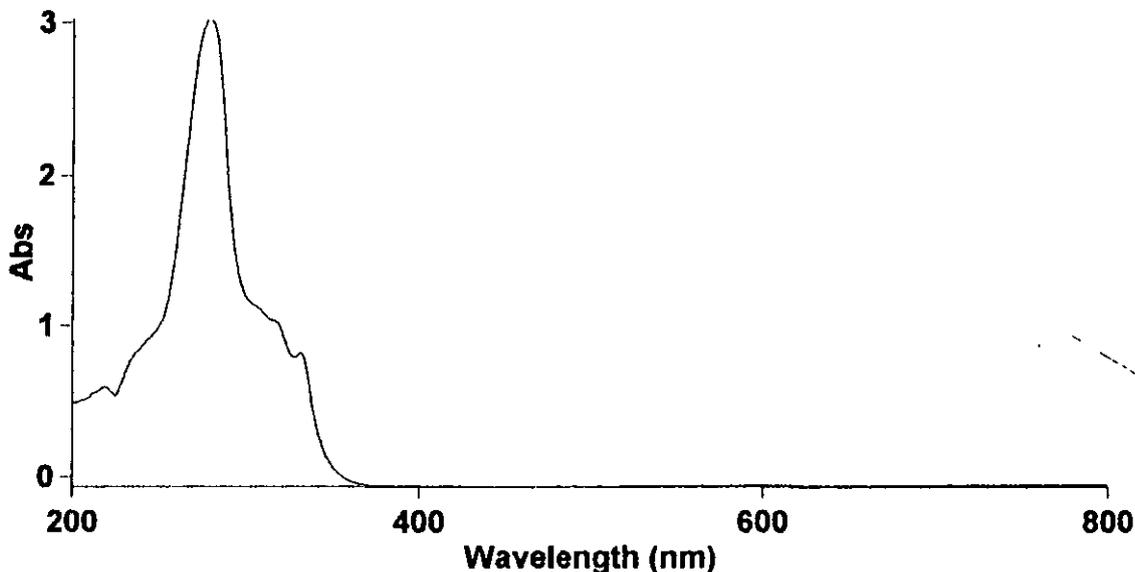
RT	AREA	TYPE	WIDTH	PERCENT
1.515	104430	UP	.007	.72975
1.955	1012540	DD	.103	7.97519
3.388	3225634	DD	.364	22.53896
6.297	9960000	DD	.577	69.65620

TOTAL AREA=1.4311E+07  
 MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%  
TIMEPO: 96 HRS.  
ANEXO IV-G.A-UV5



Report changed 27/03/98 7:29:11 PM by LORENA GARCIA TORRES

### Scan Report Vie 27 Mar 07:28:25 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%.  
TEMPERATURA: 4°C.  
TIEMPO: 5 DIAS

Collection Time 2/02/98 9:13:50 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.8321
278.33	3.0269
218.33	0.5963

\*CQ M EPCC AL 10% BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

TIMEPO: 24 HRS.

\*TIEMPO 2 DIAS BREAK

ANEXO IV-6.B-HPLC 2

\*TEMPERATURA 25 C BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.052

OFF 2^ = 0

CHT SP = 0.5

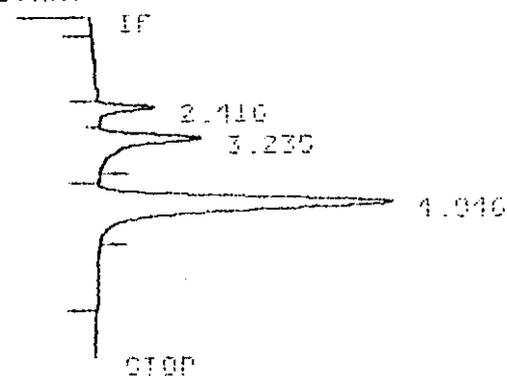
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 12 JAN 27, 1990 03:24:50

START



\* RUN# 12 JAN 27, 1990 03:24:50

\* AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.416	1101115	UV	.106	0.50087
3.235	3085000	UV	.325	10.07021
4.046	13343344	UV	.420	73.55571

TOTAL AREA=1.01190E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 24 HRS.

ANEXO IV-6.B-HPLC

EQ M EPCA AL 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TIEMPO 2 DIOS BREAK

\*TEMPERATURA 25 C BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0, 10.032

ATT 2<sup>nd</sup> = 0

CHT SP = 0.5

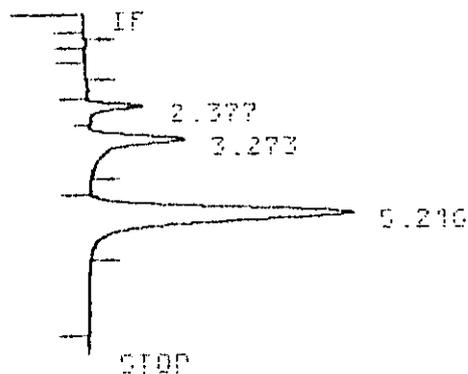
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 11 JAN 27, 1998 03:14:34

START



RUN# 11 JAN 27, 1998 03:14:34

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.377	1101323	DU	.107	6.50000
3.273	3576712	UD	.346	19.94001
5.216	13179056	OB	.462	73.17347

TOTAL AREA=1.7037E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

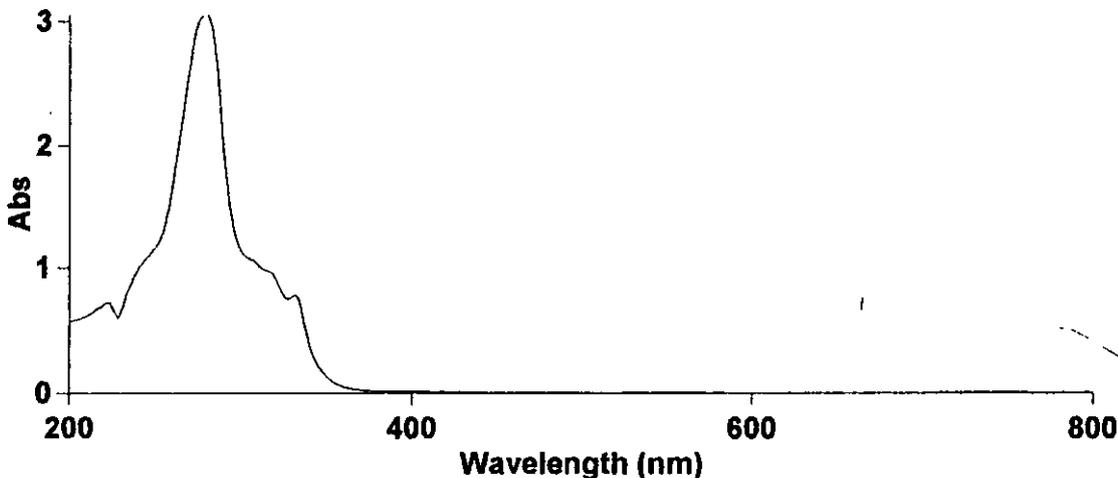
\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCIÓN INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 24 HRS.

ANEXO IV-6.B-UV2



Report changed 29/01/98 9:17:31 AM  
Report changed 29/01/98 9:16:26 AM

### Scan Report Jue 29 Ene 09:12:15 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%.  
TEMPERATURA: 25°C.  
TIEMPO: 2 DIAS

Collection Time 27/01/98 9:50:23 AM

#### Peak Table

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.14	0.8349
278.86	3.0702

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 48 HRS.

ANEXO IV-6.B-HPLC 3

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 25 CC BREAK

\*TIEMPO: 3 DIA2 BREAK

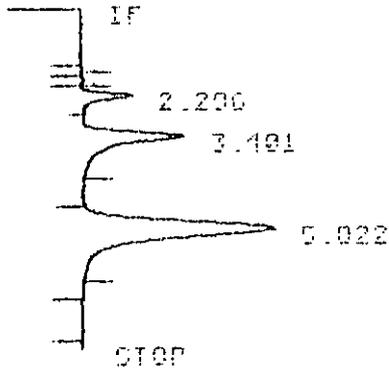
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 19.162  
 ATT 2^ = 0  
 ENT SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THROH = 7  
 PK WD = 9.84

\* RUN # 6 JAN 20, 1998 11:45:59

START



RUN# 6 JAN 20, 1998 11:45:59

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.200	1120200	DU	.200	7.21830
3.401	3377121	UD	.360	25.52341
5.022	10177704	DD	.500	67.23613

TOTAL AREA=1.5503E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

\*CQ M EPCA 10% BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

TIMEPO: 48 HRS.

\*TEMPERATURA: 25 C BREAK

ANEXO IV-G.B-HPLC 3

\*TIEMPO: 3 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 58.828

ATT 20 = 0

CHT SP = 0.5

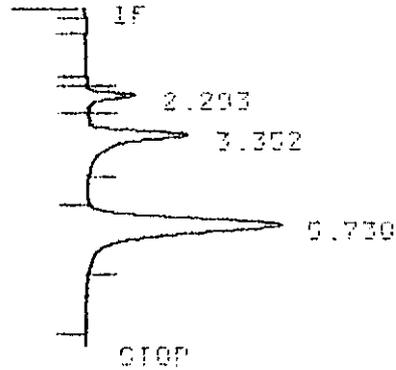
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 7 JAN 20, 1990 11:57:10

START



RUN# 7 JAN 20, 1990 11:57:10

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	ORCA%
2.203	1010000	00	.100	0.04170
3.352	3745702	00	.347	24.79022
5.730	10315272	00	.493	68.26008

TOTAL AREA=1.5110E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*Z

INVALID SYSTEM COMMAND

\*

\*

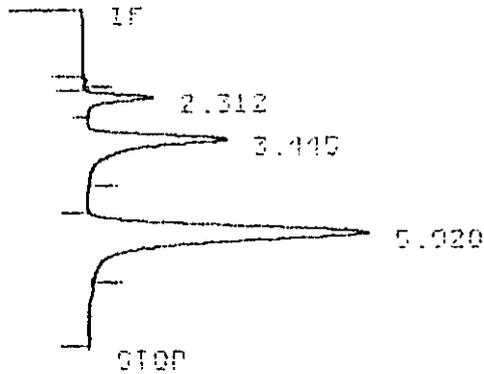
CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%  
TIMEPO: 48 HRS.  
ANEXO IV-G.B-HPLC 3

\*EQM EPCA 10% BREAK  
\*SOLUCION INYECTABLE BREAK  
\*TEMPERATURA: 25 C BREAK  
\*TIEMPO: 3 DIAS BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.10.010  
ATT 2° = 0  
CMT SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRUH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 3 JAN 20, 1990 11:00:10  
START



RUN# 3 JAN 20, 1990 11:00:10

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.312	1520750	DU	.287	6.00390
3.445	5650100	UD	.375	25.55033
5.020	11095200	DD	.497	67.55763

TOTAL AREA=2.2101E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

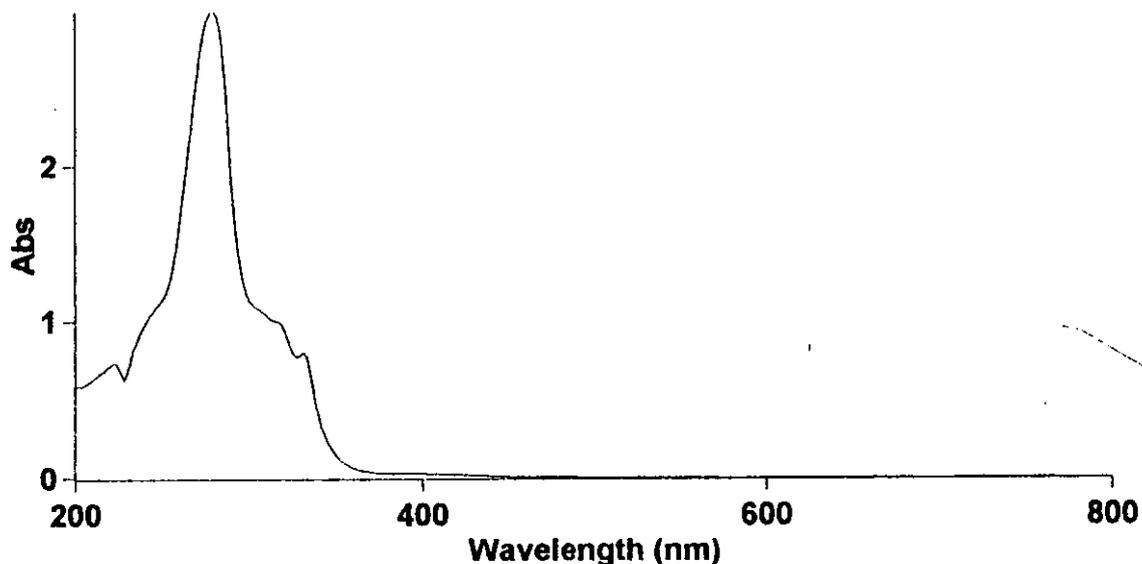
\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 48 HRS.

ANEXO IV-G.B-UV 3



Report changed 27/03/98 7:52:05 PM

Report changed 27/03/98 7:44:02 PM

### Scan ReportVie 27 Mar 07:42:25 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%.

TEMPERATURA: 25°C

TIEMPO: 3 DIAS

Collection Time

28/01/98 9:19:24 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.7912
278.33	2.9875
221.67	0.7231

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

ANEXO IV-G.B-HPLC 4

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 25 C BREAK

\*TIEMPO: 4 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0.50190

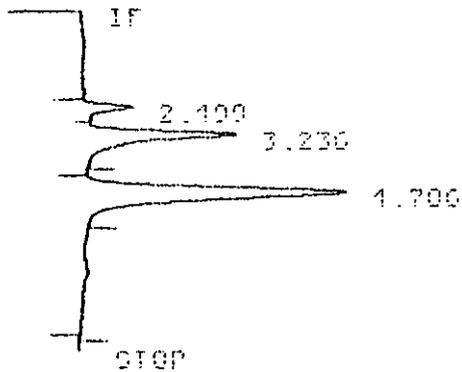
ATT 2^ = 0

CNT OP = 0.5

OR REJ = 100000

THROU = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 17 JAN 20, 1990 12:57:55  
START

RUN# 17 JAN 20, 1990 12:57:55

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.100	1127307	DU	.212	6.56011
3.230	5259307	DU	.321	30.59010
4.700	10700410	DU	.384	62.04272

TOTAL AREA=1.7104E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

ANEXO IV-G.B-HPLC 4

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*TEMPERATURA: 25 C BREAK

\*TIEMPO: 4 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 10.535

ATT 20 = 0

CHT SP = 0.5

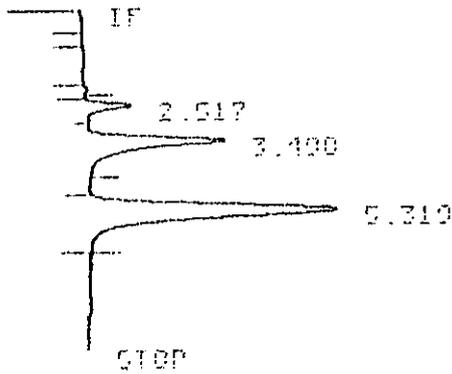
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 10 JAN 20, 1990 12:40:34

START



RUN# 10 JAN 20, 1990 12:40:34

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
2.517	1012055	00	.203	5.94357
3.400	5012103	00	.330	20.41708
5.310	11012092	00	.412	64.63056

TOTAL AREA=1.70300E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

\*CQ M EPCA 10% BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

TIMEPO: 72 HRS.

\*TEMPERATURA : 25 C BREAK

ANEXO IV-G.B-HPLC 4

\*TIEMPO: 1 DIA BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 13.085

ATT 20 = 0

CHT SP = 0.5

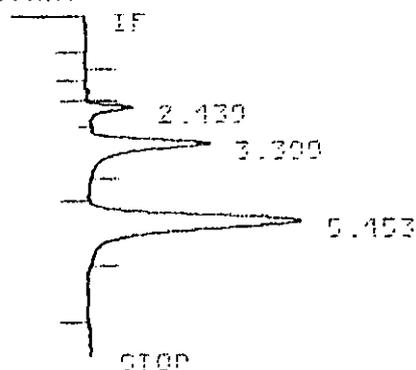
OR RCJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 15 JAN 20, 1990 12:35:14

START



RUN# 15 JAN 20, 1990 12:35:14

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.130	964070	DD	.200	5.96093
3.300	4516141	DD	.340	27.94354
5.453	10600049	DD	.460	66.09752

TOTAL AREA=1.6162E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

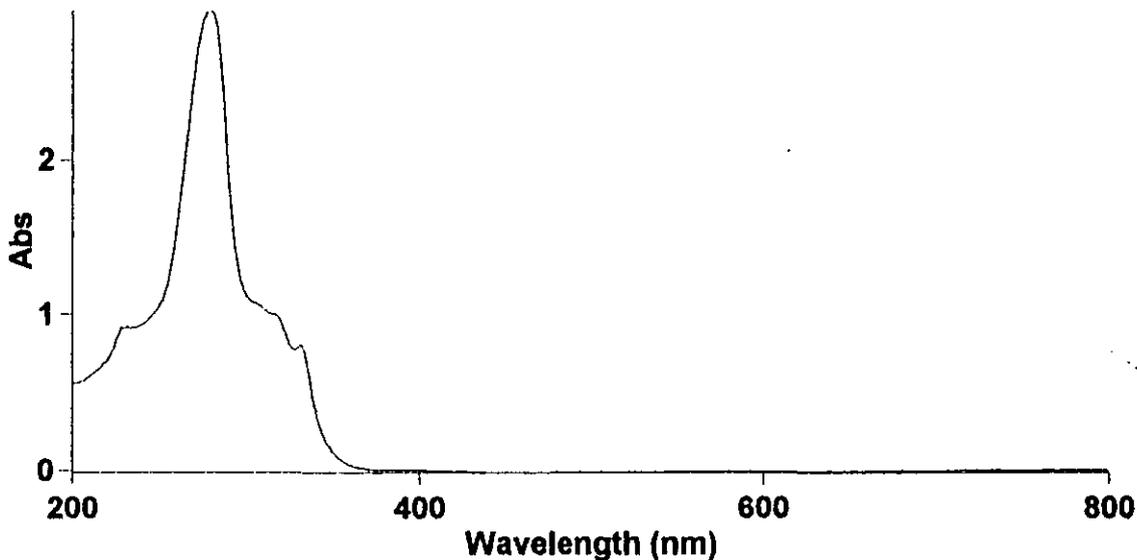
\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 72 HRS.

ANEXO IV-G.B-UV 4



Report changed 28/03/98 11:08:16 AM by LORENA GARCIA TORRES

### Scan Report Sáb 28 Mar 11:07:49 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%

TEMPERATURA: 25°C.

TIEMPO: 4 DIAS

Collection Time

29/01/98 2:25:24 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.7996
280.00	2.9599

\*C00 M EPCA 10% BREAK

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

\*SOL INY. BREAK

TIMEPO: 96 HRS.

\*TEMPERATURA: 25 C BREAK

ANEXO IV-G.B-HPLC 5

\*TIEMPO: 5 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0.51810

FIT 2^ = 0

CUT OFF = 0.5

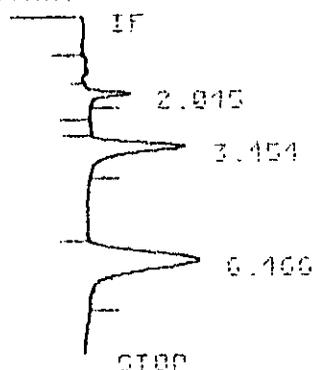
OR REJ = 100000

THRU = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 11 JAN 30, 1990 11:32:21

START



RUN# 11 JAN 30, 1990 11:32:21

AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.015	070000	PD	.176	0.32010
3.151	3310731	00	.324	31.40200
6.166	6337050	00	.536	60.10701

TOTAL AREA=1.05200E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIMEPO: 96 HRS.

ANEXO IV-G.B-HPLC 5

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*DBL. INY. BREAK

\*TEMPERATURA: 25 C BREAK

\*TIEMPO: 5 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.074

ATT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

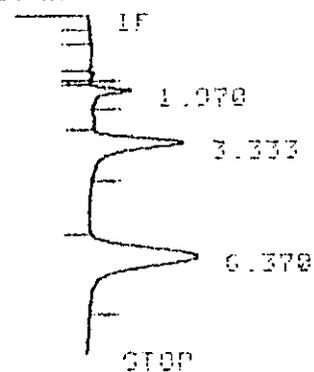
OR REJ = 100000

THROH = ?

PK MO = 0.04

\* RUN # 12 JUN 30, 1990 11:44:30

START



RUN# 12 JUN 30, 1990 11:44:30

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.070	762526	DB	.174	7.04150
3.333	3345000	DB	.344	30.00041
6.370	6720410	DB	.570	62.00000

TOTAL AREA=1.00200E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%

TIEMPO: 96 HRS.

ANEXO IV-G.B-HPLC 5

\*CQ M EPCA BREAK

\*SOL INY. BREAK

\*TEMPERATURA: 25 CC BREAK

\*TIEMPO: 5 DIAS BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.000

FIT 2^ = 0

CHT SF = 0.5

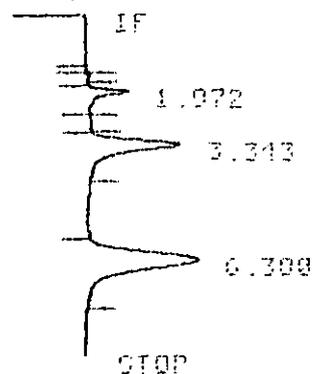
OR REJ = 100000

THROH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 13 JAN 30, 1990 12:01:23

START



RUN# 13 JAN 30, 1990 12:01:23

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	ORCAK
1.072	750174	00	.172	7.05000
3.343	3333040	00	.343	30.00700
6.300	6661555	00	.561	61.00200

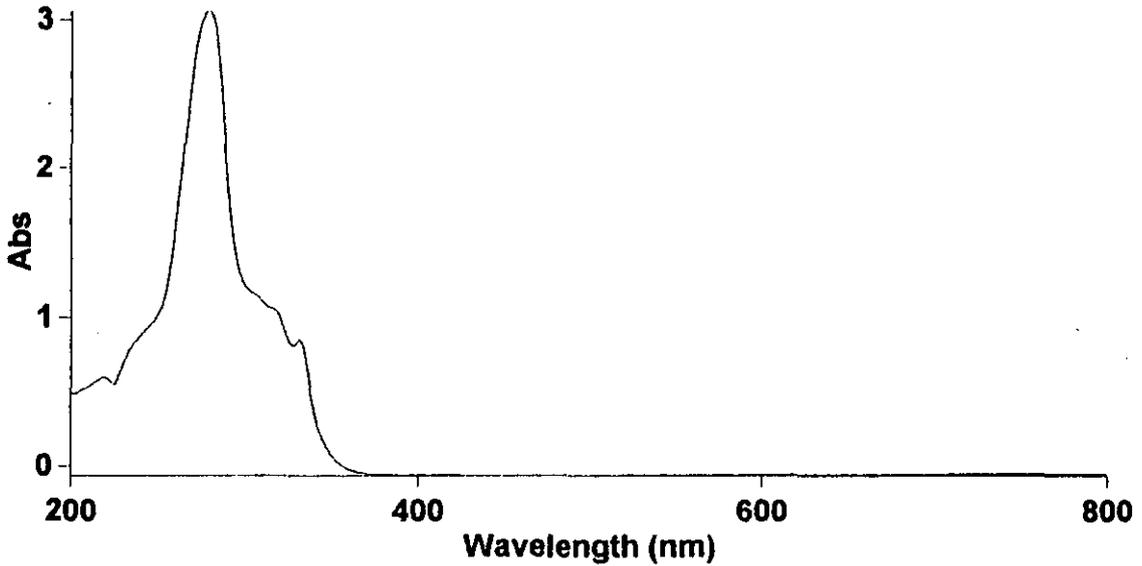
TOTAL AREA=1.07530E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

OUT OF PAPER: FEED W/ENTER, RESUME W/ESC .

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194

CQ-M-EPCA SOLUCION INYECTABLE AL 10%  
TIMEPO: 96 HRS.  
ANEXO IV-G.B-UV 5



Report changed 28/03/98 11:14:30 AM by LORENA GARCIA TORRES

### Scan Report Sáb 28 Mar 11:13:40 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

Sample Name: CQ-M-EPCA 10%.  
TEMPERATURA: 25°C.  
TIEMPO: 5 DIAS

Collection Time 2/02/98 9:20:54 AM

#### Peak Table

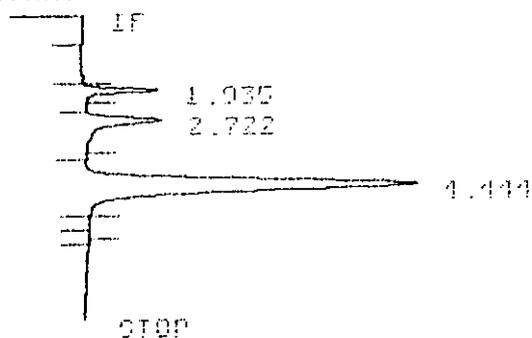
Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
331.67	0.8443
280.00	3.0593
218.33	0.6037

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*ESTANDAR BREAK

\*CONCENTRACION 8.81 MG ML BREAK

CAPITULO VII  
CQ-M-EPCA AL 10%  
ESTANDAR  
ANEXO VII-F.1\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244ZERO = 8, 49.821  
RTI 20 = 0  
CHI SP = 8.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 8.81\* RUN # 7 FEB 18, 1990 03:41:44  
START

RUN# 7 FEB 18, 1990 03:41:44

AREAS

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.035	1077583	00	.134	6.01645
2.722	1000007	00	.245	12.52542
4.444	12750000	00	.357	88.65911

TOTAL AREA=1.5000E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

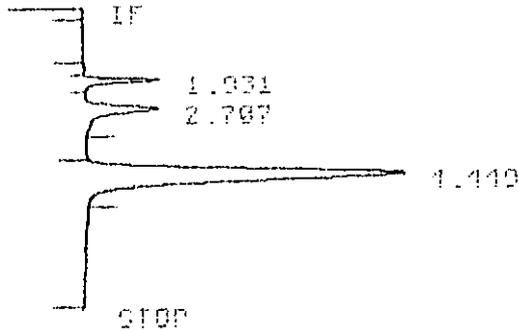
CAPITULO VII  
CQ-M-EPCA AL 10%  
ESTANDAR  
ANEXO VII-F.1

\*CQ M EPCA 10% BREAK  
\*SOLUCION INYECTABLE BREAK  
\*ESTANDAR BREAK  
\*CONCENTRACION 0.04 NG ML BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.40370  
ATT 2^ = 0  
CNT SP = 0.5  
OR RCJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 0 FEB 18, 1990 03:52:17  
START



RUN# 0 FEB 18, 1990 03:52:17

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.031	1120152	PV	.130	7.10575
2.797	2846212	UD	.256	13.83098
1.440	12516568	BB	.364	79.76435

TOTAL AREA=1.56032E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CAPITULO VII  
CQ-M-EPCA AL 10%  
ESTANDAR  
ANEXO VII-F.1

\*CUMULACION INYECTABLE BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*ESTANDAR BREAK

\*CONCENTRACION 0.01 MG NL BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.004

ATT 2 = 0

CHT SP = 0.5

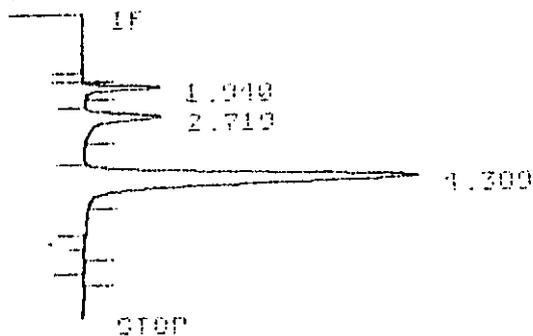
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK MD = 0.01

\* RUN # 0 FEB 10, 1998 01:00:40

START



RUNS 0 FEB 10, 1998 01:00:40

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	BREAK
1.340	1077900	00	.132	0.05001
2.710	1050471	00	.242	12.64910
4.300	1244640	00	.340	99.49122

TOTAL AREA=1.54700E+07

MUL FACTOR=1.00000E+00

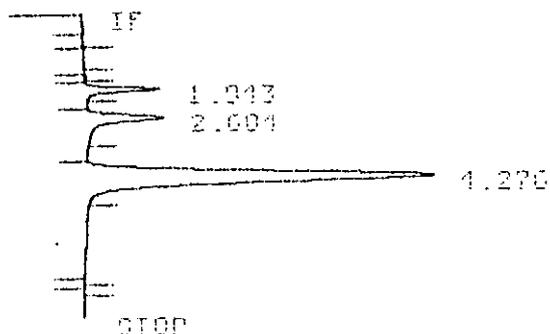
CAPITULO VII  
 CQ-M-EPCA AL 10%  
 ESTANDAR  
 ANEXO VII-F.1

\*CQ M EPCA 10% BREAK  
 \*SOLUTION INJECTABLE BREAK  
 \*ESTANDAR BREAK  
 \*CONCENTRACION 0.01 MG ML BREAK

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 40.000  
 RTT 2° = 0  
 CNT CP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRUH = 7  
 PK WD = 0.01

\* RUN # 10 FEB 10, 1990 01:24:10  
 START



RUN# 10 FEB 10, 1990 01:24:10

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.043	1005001	DD	.135	7.92173
2.004	1014440	DD	.234	12.20077
4.276	12506410	DD	.335	99.71152

TOTAL AREA=1.00070E+07  
 MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

CAPITULO VII  
CQ-M-EPCA AL 10%  
MUESTRA EN SUERO  
ANEXO VII-F.2

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

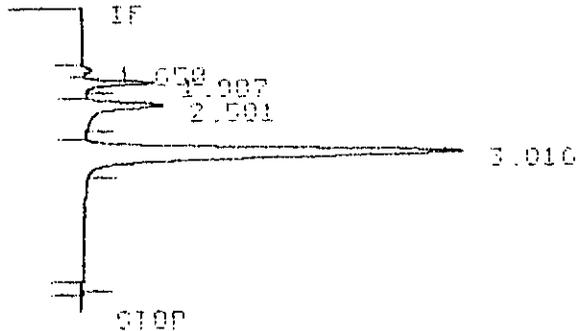
\*EN SUERO DE LECHE MARCA LALO BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1214

ZERO = 0, 50.980  
ATT 20 = 0  
CHI SQ = 0.5  
OR RES = 100000  
THRU = 7  
PK WD = 0.01

\* PLOT  
STOP

\* RUN # 15 FEB 10, 1990 00:27:50  
START



RUN# 15 FEB 10, 1990 00:27:50

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.058	123280	PP	.127	.02720
1.007	998997	PD	.132	0.05340
2.501	1791350	DD	.210	12.02011
3.016	11907624	DD	.293	80.10120

TOTAL AREA=1.4003E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

CAPITULO VII  
 CQ-M-EPCA AL 10%  
 MUESTRA EN SUERO  
 ANEXO VII-F.2

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*EN SUERO DE LECHE MARCA LALA BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 49.975

ATT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

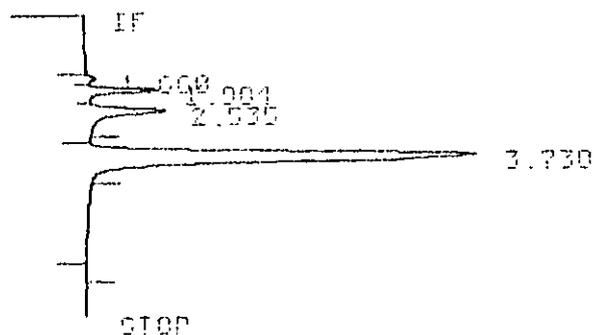
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 10 FEB 10, 1990 05:30:11

START



RUN# 10 FEB 10, 1990 05:30:11

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	BREAK
1.660	130451	DU	.140	.00051
1.904	1059123	UU	.130	0.00101
2.535	1006073	UD	.227	12.43050
3.730	12007800	DD	.200	79.60000

TOTAL AREA=1.5170E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

CAPITULO VII  
 CQ-M-EPCA AL 10%  
 MUESTRA EN SUERO  
 ANEXO VII-F.2

\*CQ M EPCA 10% BREAK

\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*EN SUERO DE LECHE MARCA LALA BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 8, 48.004

RT 2 = 8

CHL SP = 8.5

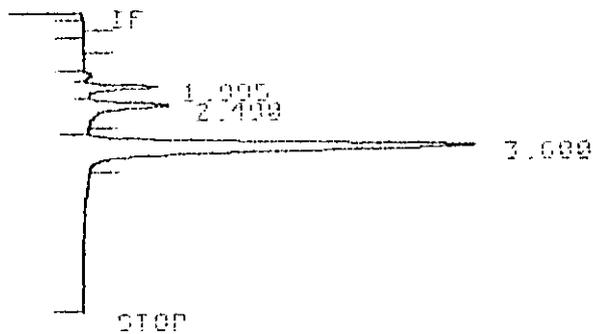
OR REI = 100000

THRESH = 7

PK UD = 8.84

\* RUN # 17 FEB 19, 1998 05:48:42

START



RUN# 17 FEB 19, 1998 05:48:42

BREAK

RT	AREA	TYPE	WIDTH	BREAK
1.005	1873766	UU	.136	7.99107
2.408	1912785	UB	.216	12.63359
3.688	12154832	BB	.291	99.27453

TOTAL AREA=1.5141E+07

MUL FACTOR=1.0000E+00

CAPITULO VII  
CQ-M-EPCA AL 10%  
MUESTRA EN SUERO  
ANEXO VII-F.2

\*CQ M EPCA 10% BREAK

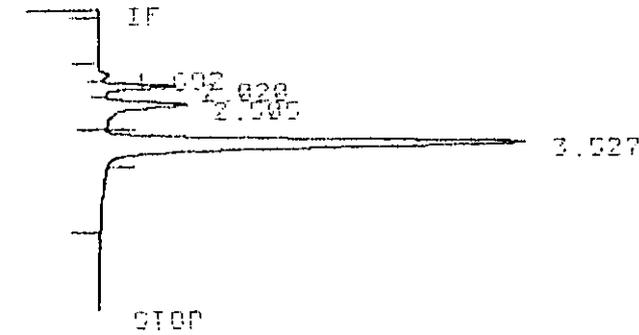
\*SOLUCION INYECTABLE BREAK

\*EN SUERO DE LECHE MARCA LALA BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 10.032  
BIT 2 = 0  
CH7 SP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.01

\* RUN # 10 FEB 18, 1990 00:23:01  
START



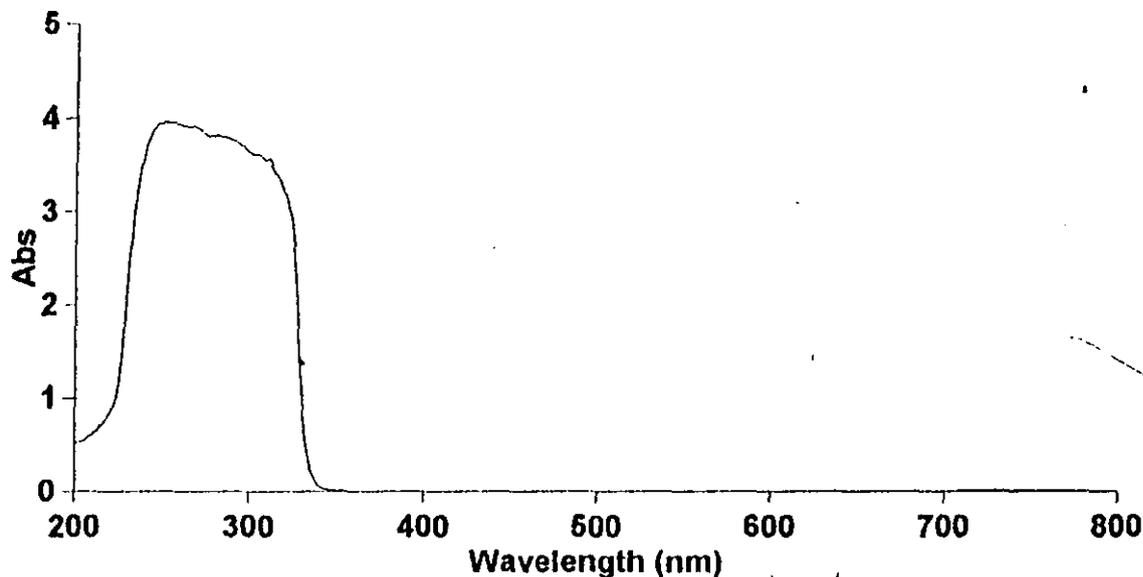
RUN# 10 FEB 18, 1990 00:23:01

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.002	112140	PV	.125	.72224
2.020	1060111	UV	.136	6.99507
2.505	1017939	UV	.212	12.34572
3.527	12420664	PD	.274	80.94600

TOTAL AREA=1.5520E+07  
MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 19/03/98 6:19:19 PM

### Scan Report Lun 02 Feb 01:17:38 PM 1998

Batch: A:\PROCAINA.BASE  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

#### Sample Name: PROCAINA BASE

Collection Time 2/02/98 1:16:41 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 198.94nm

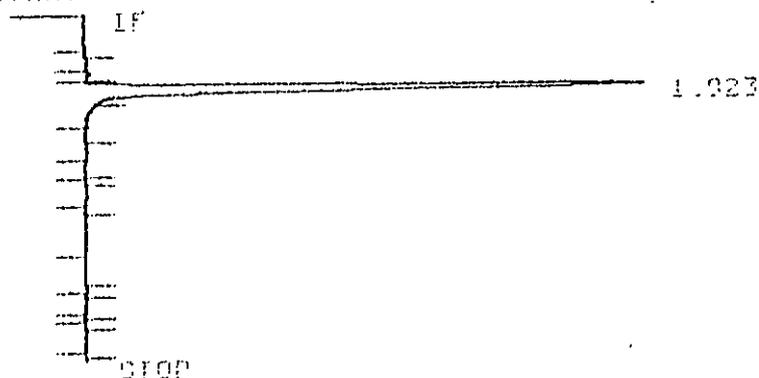
Wavelength (nm)	Abs
228.91	4.4451

\*PROCESING BASED BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1241

ZERO = 0, 00.000  
BIT 20 = 0  
CHI CP = 0.5  
OR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK MB = 0.04

\* RUN # 20 JAN 20, 1990 14:44:20  
START



RUN# 20 JAN 20, 1990 14:44:20

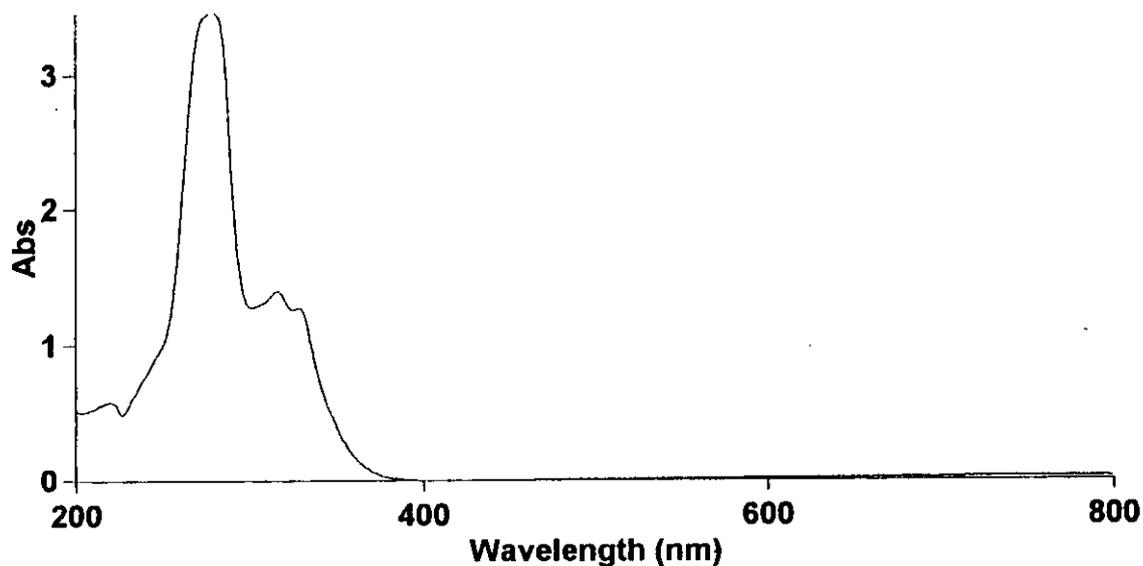
AREARX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREARX
1.923	10001072	DB	.100	100.00000

TOTAL AREA=1.000107  
MUL FACTOR=1.000000

\*

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



### Scan Report Jue 05 Mar 10:54:37 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

#### Sample Name: ENROFLOXACINA

Collection Time 5/03/98 10:43:42 AM

#### Peak Table

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 800.00nm to 200.00nm

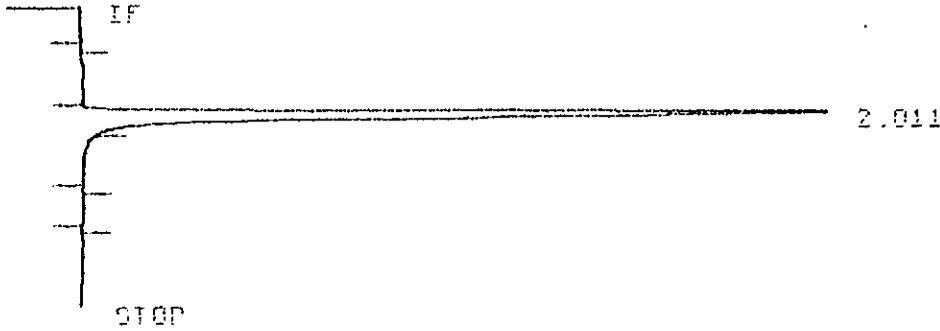
Wavelength (nm)	Abs
316.67	1.3956
278.33	3.4506
220.00	0.5782

\*ENROFLOXACINA BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.292  
RT 20 = 0  
CNT SP = 0.5  
OR SCI = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 0 FEB 1, 1990 10:17:17  
START



RUN# 0 FEB 1, 1990 10:17:17

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.011	15000000	PK	.104	100.00000

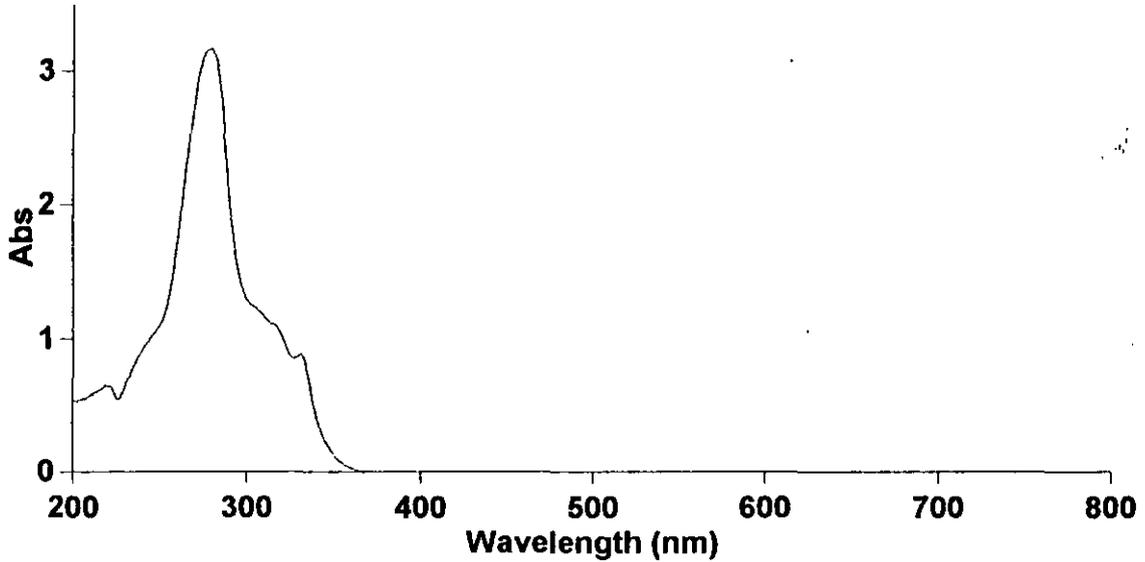
TOTAL AREA=1.50010E+07  
MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

ANEXO

F.2-UV3

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 5/03/98 4:37:46 PM  
Report changed 5/03/98 4:37:25 PM

### Scan Report Jue 05 Mar 03:05:36 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

### Sample Name: SOLUCION INYECTABLE AL 10% DE CQ-M-EPCA

Collection Time 5/03/98 2:00:53 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
332.00	0.8815
279.00	3.1654
220.00	0.6468

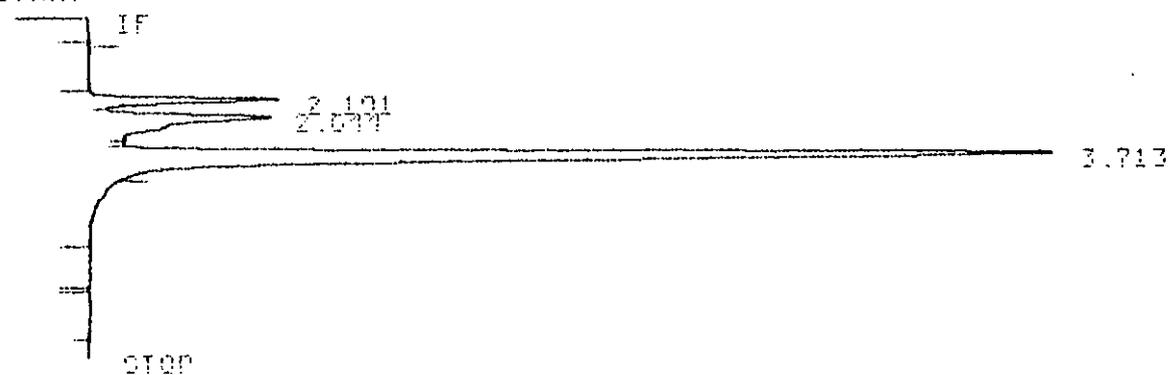
\* CO M EPED AL 10% BREAK  
 \* SUCCESSION INJECTABLE BREAK

ANEXO F.2-HPLC3

\* LIST: LIST  
 PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.10.004  
 ATT 2^ = 0  
 CHIT SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.04

\* RUN # 10 FEB 1, 1990 10:00:22  
 START



RUN# 10 FEB 1, 1990 10:00:22

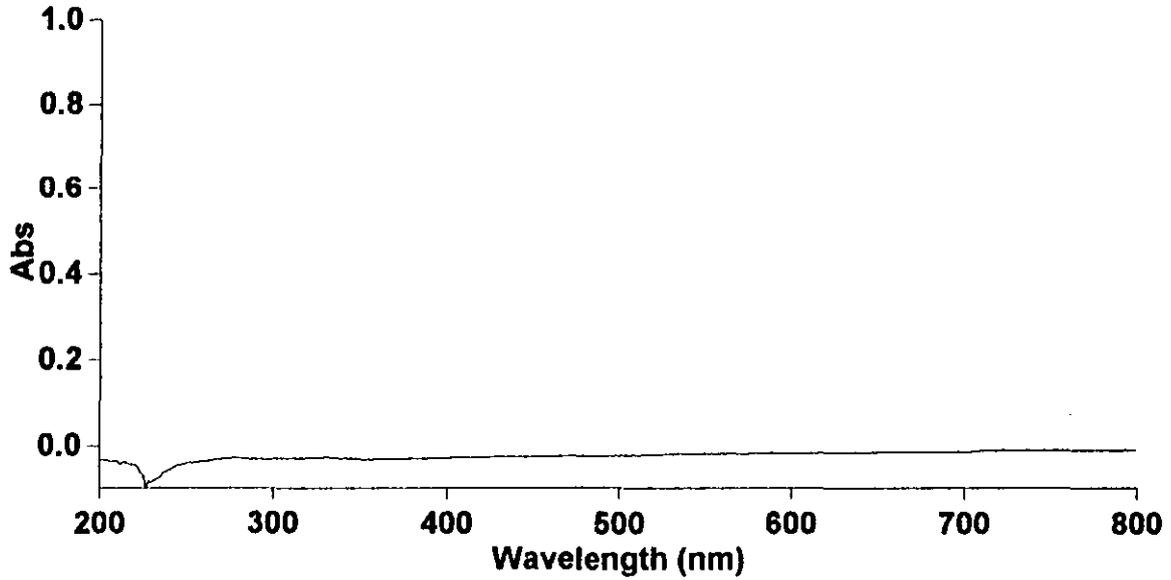
RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.101	3130834	PU	.157	0.10755
2.644	5551400	UU	.290	14.40765
3.713	29591000	UU	.290	77.39400

TOTAL AREA=3.8292E+07  
 MUL FACTOR=1.9999E+00

ANEXO

F.3-UV1

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



### Scan Report Jue 29 Ene 08:19:15 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA (ANTES DE LA ADMINISTRACION DE LA CQ AL 10%)

Collection Time 27/01/98 9:40:46 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

No peak found above threshold

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

F.3-HPLC1

\*TOMA DE MUESTRA ANTES DE LA ADMINISTRACION POR VIA I.M. BREAK

\*DE LA SOL. INJECTABLE DE EQ M CPOA AL 1% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0.50330

OFF 20 = 0

ENT SP = 0.5

RR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 20 JAN 26, 1990 16:04:22

START



RUN# 20 JAN 26, 1990 16:04:22

NO RUN PEAKS STORED

\*

F.3-HPLC1

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA ANTES DE LA ADMINISTRACION POR VIA I.M.

INUOLIO SYSTEM COMMAND

\*DE LA SOL. INYECTABLE AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.541

ATT 20 = 0

DHT SP = 0.5

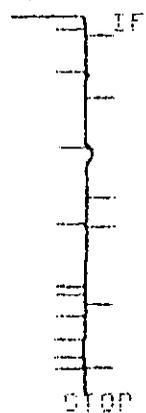
RR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 20 JAN 26, 1990 15:51:45

START



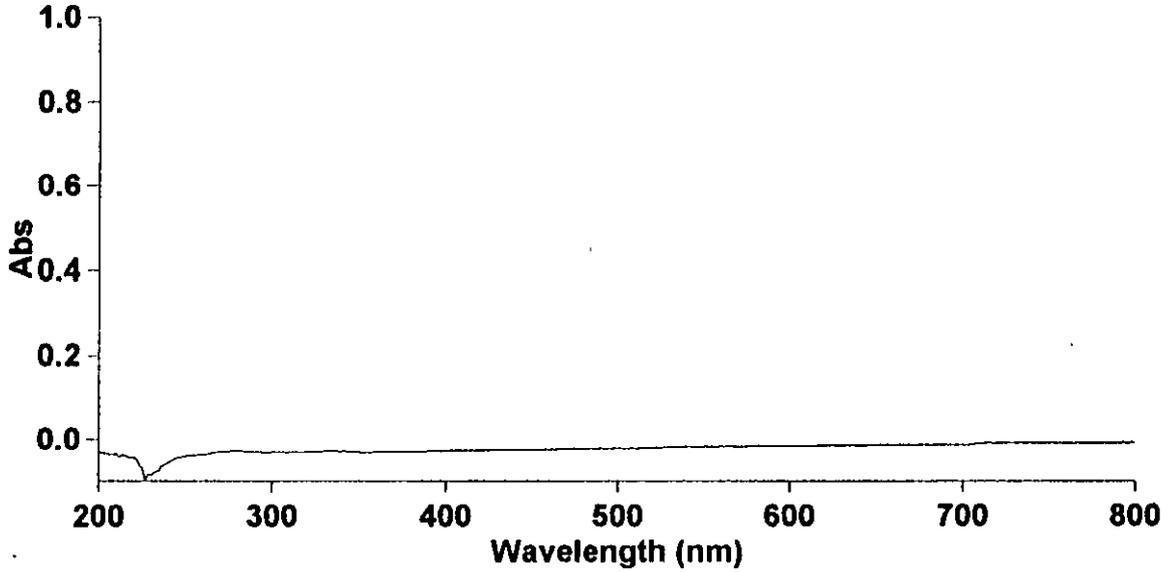
RUN# 20 JAN 26, 1990 15:51:45

NO RUN PEAKS STORED

\*

F.3-UV2

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 29/01/98 8:23:29 AM

### Scan Report Jue 29 Ene 08:19:15 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(8)  
Operator:

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA**  
**TIEMPO DE ADMINISTRACION: 1 HORA**

Collection Time 27/01/98 9:40:46 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

No peak found above threshold

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

F.3-HPLC2

ZERO = 0, 40.075  
ATT 20 = 0  
CHI SP = 0.5  
OR RES = 100000  
THRU = ?  
PK WD = 0.81

\* RUN # 20 JAN 26, 1990 10:51:57  
START



RUN# 20 JAN 26, 1990 10:51:57

NO RUN PEAKS STORED

\*SUERO DE LECHE DE UNCA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO 1 HORA BREAK

\*DESPUES DE LA APLICACION I.M. DE LA SOL. INYECTABLE. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 58.442  
ATT 20 = 0  
CHI SP = 0.5  
OR RES = 100000  
THRU = ?  
PK WD = 0.81

\*

F.3-HPLC2

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO 1 HORA BREAK

\*DESPUES DE LA APLICACION I.M. DE LA SOL. INY. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 8.58.837

RTI 2^ = 0

CHT OP = 0.5

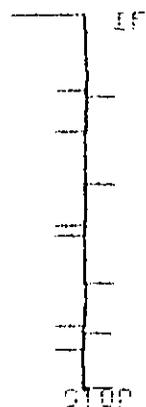
NR REJ = 100000

THROH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 27 JAN 26, 1990 10:21:22

DIAGN

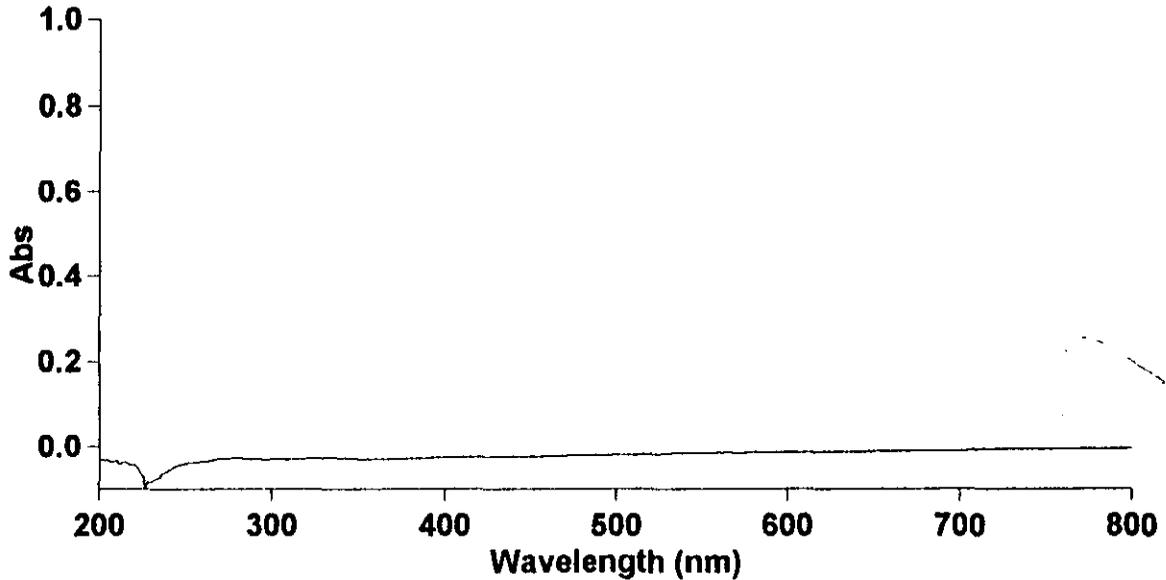


RUN# 27 JAN 26, 1990 10:21:22

NO RUN PEAKS STORED

F.3-UV3

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 29/01/98 8:24:36 AM  
Report changed 29/01/98 8:23:29 AM

### Scan Report Jue 29 Ene 08:19:15 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA**  
**TIEMPO DE ADMINISTRACION: 3 HORA**

Collection Time 27/01/98 9:40:46 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

No peak found above threshold

\*SUERO DE LECHE DE UCHO BREAK

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

F.3-HPLC3

\* TIEMPO 3 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA APLICACION I.M. DE LA SOL. INYECTABLE AL 10% BREAK

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.137

ATT 20 = 0

CHT SP = 0.5

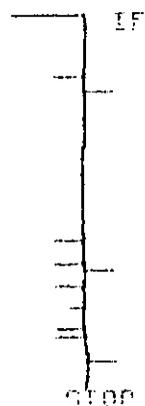
OR SCJ = 100000

THRESH = 7

PK (0) = 0.01

\* RUN # 20 JAN 26, 1990 17:00:00

START



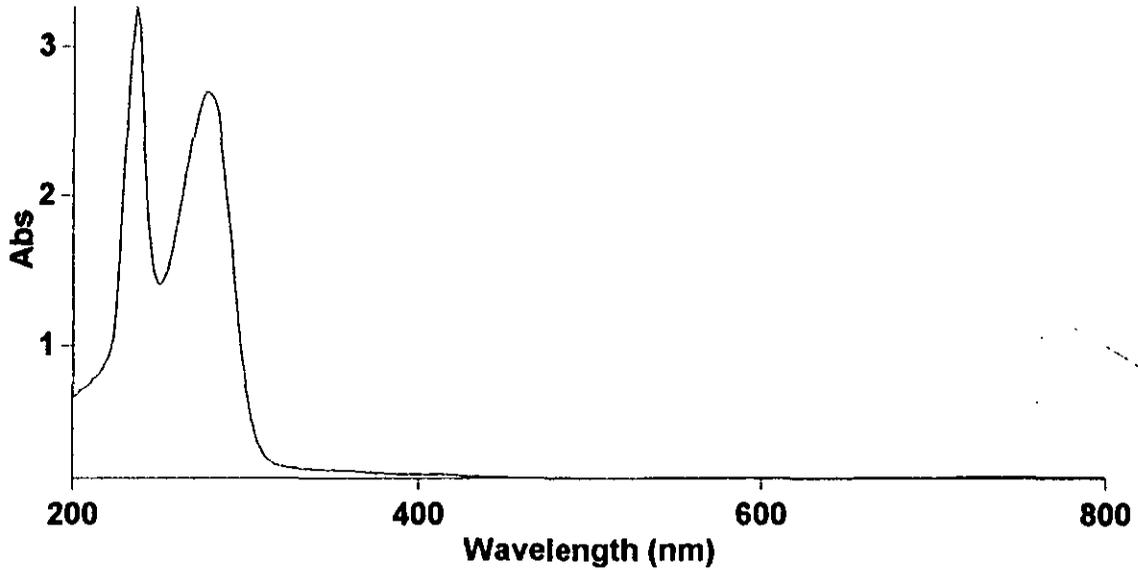
RUN# 20 JAN 26, 1990 17:00:00

NO RUN PEAKS STORED

\*

F.3-UV4

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 20/05/98 7:29:50 PM by LORENA GARCIA TORRES

### Scan Report Mié 20 May 07:28:44 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA. TIEMPO DE ADMINISTRACION: 12 HORAS**

Collection Time 2/02/98 11:05:45 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
276.67	2.6972
236.67	3.2596

DESPUES DE LECHO DE UREA BREAK

\*1 C MUESTRA BREAK

F.3-HPLC4

\*TIEMPO 12 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA SOL. INV. AL 10% BREAK

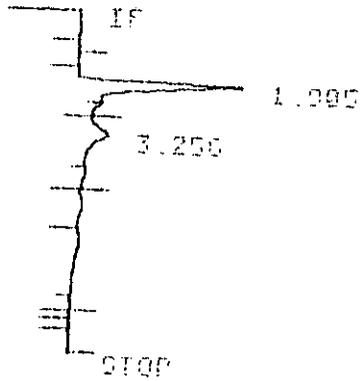
\* LIST: LIST

PLAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0.52.170  
 ATT 20 = 0  
 CHT SP = 0.5  
 OR DEL = 100000  
 THRESH = ?  
 PK MB = 0.04

\* RUN # 30 JAN 27, 1990 07:58:35

START



RUN# 30 JAN 27, 1990 07:58:35

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.095	3603016	OV	.212	00.70010
3.255	077393	DP	.390	10.23303

TOTAL AREA=4501210  
 MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

F.3-HPLC4

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO 12 HORAS BREAK

\*RESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA COL. INV. AL 10% BREAK

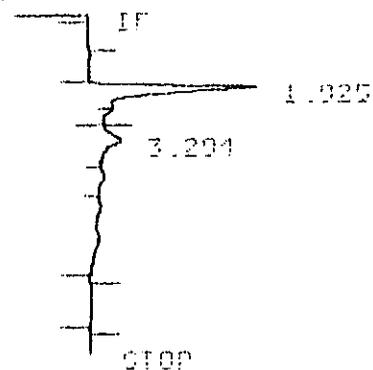
\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 58.874  
 ATT 2° = 0  
 SHT CP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRUH = 7  
 PK WD = 0.04

\* RUN # 31 JAN 27, 1990 00:02:00

START



RUN# 31 JAN 27, 1990 00:02:00

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.025	3086149	DU	.213	92.75517
3.204	793139	DU	.360	17.24492

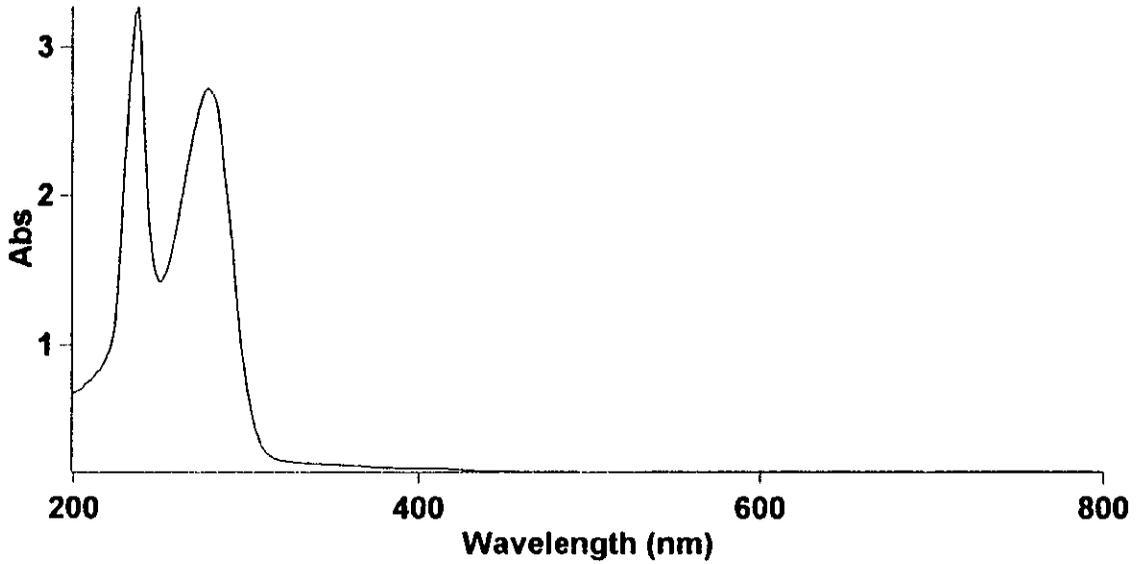
TOTAL AREA=4500206

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*  
\*

F.3-UV5

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 20/05/98 7:19:37 PM by LORENA GARCIA TORRES

### Scan Report Mié 20 May 07:17:06 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA. TIEMPO DE ADMINISTRACION: 24 HORAS**

Collection Time 2/02/98 11:21:32 AM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 198.94nm

Wavelength (nm)	Abs
277.19	2.7210
237.23	3.2742

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

F.3-HPLC5

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO: 24 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA SOL. INV. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.40.000

ATT 2^ = 0

CHI SP = 0.5

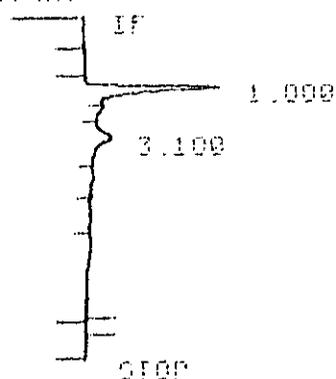
NR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 24 JAN 27, 1990 00:25:00

START



RUN# 24 JAN 27, 1990 00:25:00

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.000	2021100	UU	.104	62.00131
3.100	1007435	UU	.506	37.14070

TOTAL AREA=4400544

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

\*

F.3-HPLC5

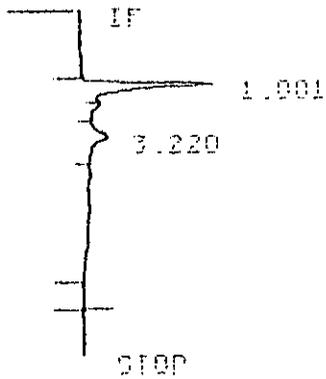
\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE NUESTRA BREAK

\*TIEMPO: 24 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA SOL. INV. AL 10% BREAK

\* RUN # 20 JAN 27, 1990 00:44:10  
START



RUN# 20 JAN 27, 1990 00:44:10

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.001	2656522	UV	.100	72.04176
3.220	908455	UV	.145	27.10025

TOTAL AREA=3610070

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 10.712  
 ATT 2^ = 0  
 CHG OF = 0.5  
 DR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.01

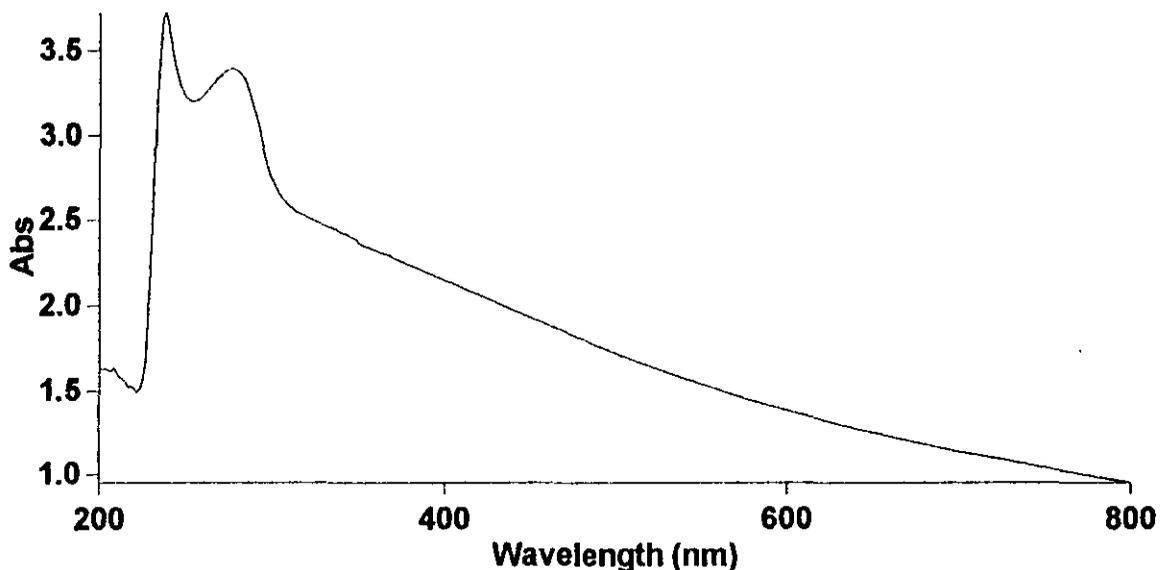
\*

\*

\*

F.3-UV6

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 2/02/98 12:38:40 PM by LORENA GARCIA TORRE  
Report changed 2/02/98 12:38:21 PM by LORENA GARCIA TORRE  
Report changed 2/02/98 11:57:52 AM by LORENA GARCIA TORRE

### Scan Report Lun 02 Feb 11:56:36 AM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRE

Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA.  
TIEMPO DE ADMINISTRACION: 36 HORAS

Collection Time 28/01/98 11:49:35 AM

#### Peak Table

Peak Type Peaks  
Peak Threshold 0.0200  
Range 800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
216.67	3.3893
238.33	3.7282
208.33	1.6351

F.3-HPLC6

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO: 30 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA SOL. INV. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.110

BIT 2^ = 0

CHT SP = 0.5

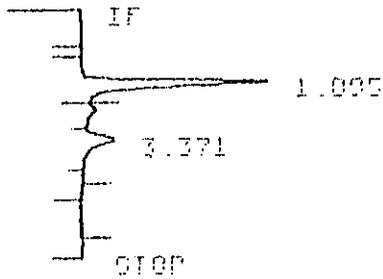
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK UP = 0.04

\* RUN # 23 JAN 20, 1990 15:32:23

START



RUN# 23 JAN 20, 1990 15:32:23

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.095	3610022	PP	.104	70.36352
3.371	900058	PP	.306	21.63647

TOTAL AREA=4610073

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

F.3-HPLC6

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA BREAK

\*TIEMPO: 30 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.M. DE LA SOL. INY. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.202

ATT 2° = 0

CHI SF = 0.5

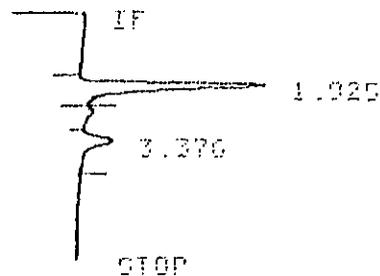
OR ACJ = 100000

THRU = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 22 JAN 20, 1990 15:21:50

START



RUN# 22 JAN 20, 1990 15:21:50

AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.025	3001000	PD	.102	70.33150
3.376	999510	PD	.204	20.66842

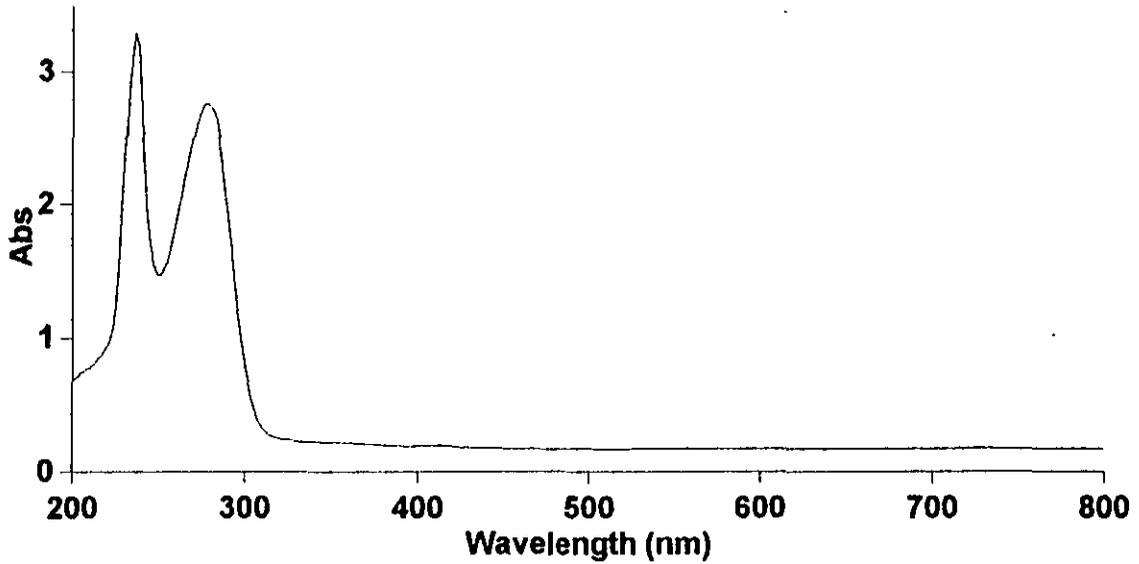
TOTAL AREA=1702420

MUL FACTOR=1.00000000

\*

F.3-HPLC7

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



Report changed 2/02/98 12:58:49 PM  
Report changed 2/02/98 12:57:53 PM

### Scan Report Lun 02 Feb 12:46:42 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator:

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA.**  
**TIEMPO DE ADMINISTRACION: 48 HORAS**

Collection Time 28/01/98 12:45:56 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
276.67	2.7559
236.67	3.2904

F.3-HPLC7

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA: 10 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION POR VIA I.M. DE LA SOL. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 8, 10.917

OFF 20 = 0

CHT 00 = 8.5

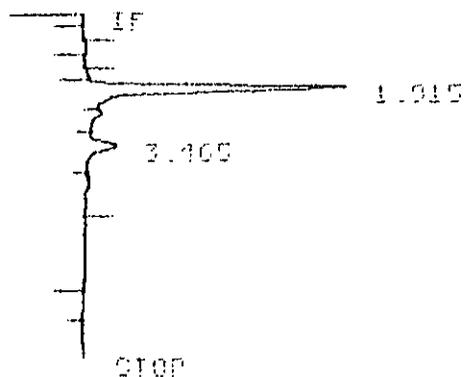
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.01

\* RUN # 33 JAN 20, 1998 17:07:15

START



RUN# 33 JAN 20, 1998 17:07:15

AREAS

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAS
1.015	6292611	UV	.220	65.92707
3.105	1815050	UV	.305	14.87204

TOTAL AREA=7210461

MUL FACTOR=1.80000E+00

\*

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

F.3-HPLC7

\*TOMA DE MUESTRA: 10 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION POR VIA I.M. DE LA SOL. AL 10% BREAK

\* LIQ1: LIQ1

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.220

RTI 20 = 0

CHT SP = 0.5

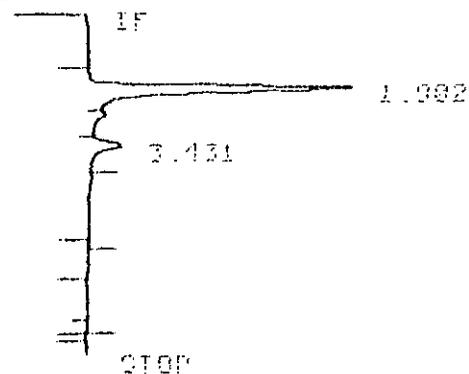
OR REF = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 31 JAN 20, 1990 16:45:37

START



RUN# 31 JAN 20, 1990 16:45:37

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.982	6516740	PU	.227	66.67070
3.431	1002223	UU	.200	13.32026

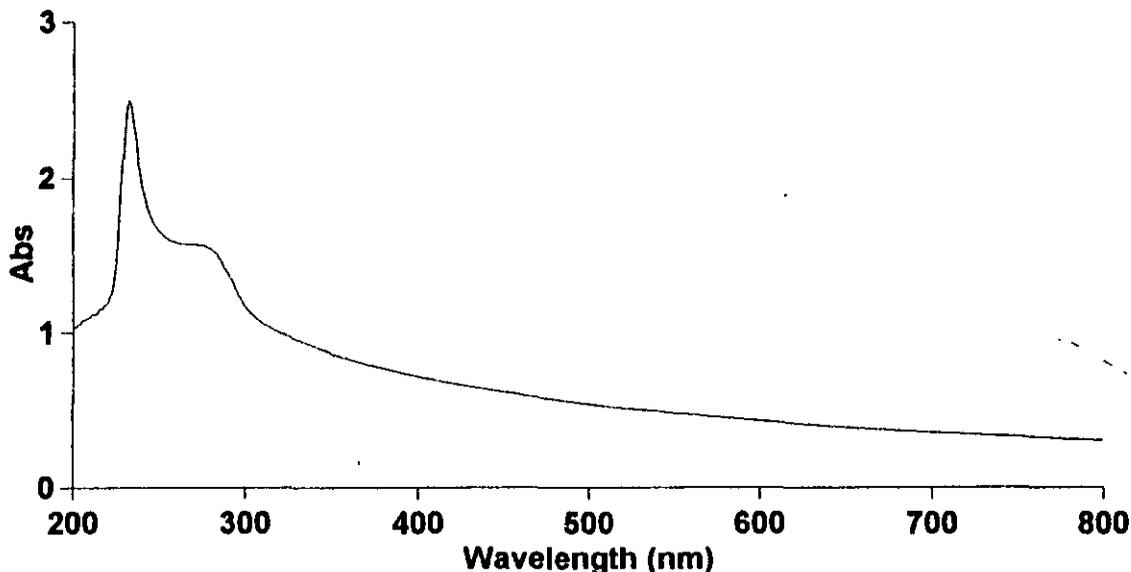
TOTAL AREA=7518970

MUL FACTOR=1.0000E+00

\*

F.3-UVB

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



### Scan Report Jue 29 Ene 03:14:54 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA. TIEMPO DE ADMINISTRACION: 60 HORAS**

Collection Time 29/01/98 3:13:44 PM

#### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 200.00nm

Wavelength (nm)	Abs
232.00	2.5003

\*SUERO DE LECHE DE UACA BREAK

\*TOMA DE MUESTRA 60 DIAS BREAK

F.3-HPLC8

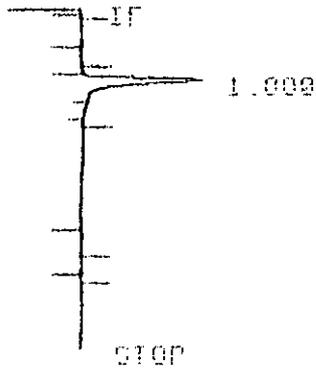
\*DESPUES DE LA APLICACION POR VIA I.M. DE LA SOL. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0.10.700  
 RTI 20 = 0  
 CHIT SP = 0.5  
 OR REJ = 100000  
 THRESH = 7  
 PK WD = 0.04

\* RUN # 20 JAN 20, 1990 14:40:27  
 START



RUN# 20 JAN 20, 1990 14:40:27

AREAX

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREAX
1.000	2461230	DU	.104	100.00000

TOTAL AREA=2461230

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*  
 \*

\*SUERO DE LECHE DE VACA BREAK

F.3-HPLC8

\*TOMA DE MUESTRA: 00 HORAS BREAK

\*DESPUES DE LA ADMINISTRACION POR VVA I.M. DE LA SOL. AL 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1211

ZERO = 0, 50.140

ATT 20 = 0

CHT SP = 0.5

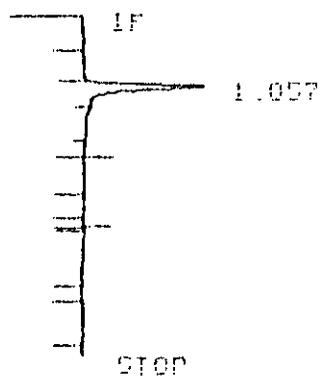
OR REJ = 100000

THRESH = 7

PK WD = 0.04

\* RUN # 25 JAN 20, 1990 14:30:54

START



RUN# 25 JAN 20, 1990 14:30:54

AREA#

RT	AREA	TYPE	WIDTH	ORCAK
1.057	2307307	00	.100	100.00000

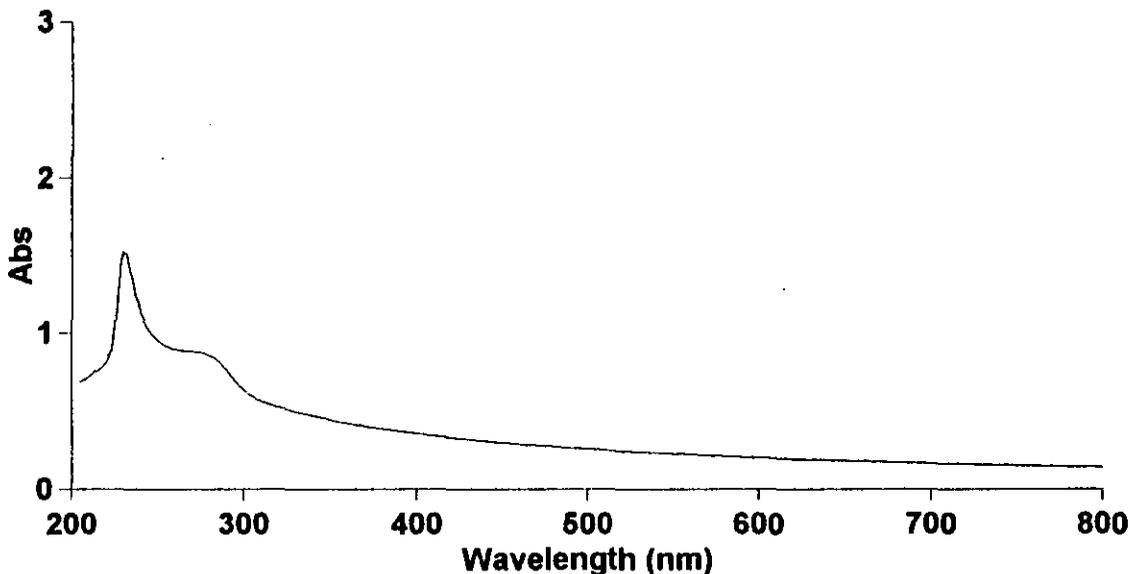
TOTAL AREA=2307307

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

F.3-UV9

Laboratorios Aranda S.A. de C.V.  
Instrument Serial Number EL 9704 3194



## Scan Report Jue 29 Ene 03:27:12 PM 1998

Batch:  
Software version: 01.00(6)  
Operator: LORENA GARCIA TORRES

**Sample Name: SUERO DE LECHE DE VACA. TIEMPO DE ADMINISTRACION: 72 HORAS**

Collection Time 29/01/98 3:26:26 PM

### Peak Table

Peak Type	Peaks
Peak Threshold	0.0200
Range	800.00nm to 205.00nm

Wavelength (nm)	Abs
230.00	1.5267

\*TOMA DE MUESTRA 72 HORAS BREAK

F.3-HPLC9

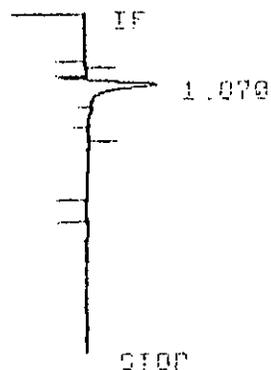
\*SUERO DE LECHE DE VACH BREAK

\*  
BREAK AT LINE 220

\* LIST: LIST  
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 9, 49.001  
ATT 2^ = 0  
CHT SP = 8.5  
RR REJ = 100000  
THRESH = 7  
PK WD = 0.04

\* RUN # 30 JAN 20, 1990 15:33:17  
START



RUN# 30 JAN 20, 1990 15:33:17

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.070	1507107	DU	.212	100.000000

TOTAL AREA=1507107  
MUL FACTOR=1.00000000

\*

\*SUERO DE LECHE DE UROA BREAK

F.3-HPLC9

\*TOMA DE MUESTRA: 72 HORAS BREAK

\*RESPUES DE LA ADMINISTRACION POR VIA I.M. DE LA SOL. 10% BREAK

\* LIST: LIST

PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.230

BIT 2^ = 0

OUT SP = 0.5

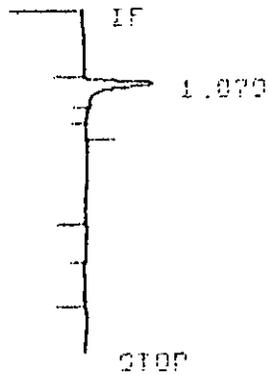
OR RES = 100000

THRESH = 7

PK MB = 0.04

\* RUN # 20 JAN 20, 1990 15:11:30

START



RUN# 20 JAN 20, 1990 15:11:30

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
1.070	1072070	00	.221	100.00000

TOTAL AREA=1072070

MUL FACTOR=1.00000E+00

\*

**BIBLIOGRAFÍA**

1. ADAMS, R.: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*: Iowa State University Press, U.S.A (1995)
2. AM J KIDNEY Dis 31 1998 283-292. Febrero
3. BRIATICO-VANGOSA., Bronchial asthma due to 7-aminocephalosporanic acid (7-aca) in workers employed in cephalosporine production. *Med.* 72 488-493 1981.
4. CAPRILE, K.A: The cefalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. *J. Vet. Pharmacol. Therap* 11:1-32. 1988
5. CARL L. HERFETZ, JOHN M. *The new generation of quinolones*, Edited by Clifford Siporyn., N.Y. 1990
6. DAVID C. HOOPER, JOHN S. WOLFSON., *Quinolone Antimicrobial agents*. Second edition. 1993
7. DURAN P. Medicamentos en la lactancia y el embarazo. En *Perinatología*. TomoII. Cabero L. (dir.) Salvat Editores Barcelona 1989. Pag 583-598
8. EDISANO S. Y COLS. *Canser* 80.2263-2267 DICIEMBRE 1997
9. GOODMAN GILMAN A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 7ma de. Ciudad de la Habana. Editorial Científico Técnica, 1989: 1085-89
10. HARRY A. ALDRECHT., *The journal of antibiotics*, Norwich Eaton Pharmaceuticals, Inc., a Procter & Gamble Company, Norwich, New York 13815, U.S.A. Received for publication. 33,77-86 July 12, 1990
11. HARRY A. ALBRECHT ., Department of Pharmacology and Chemotherapy . Hoffmann-La Roche Inc. Nutley, N.J., U.S.A May 10, 34,669-675 1990
12. HARRY A. ALBRECHT., Roche Research Center, Hoffmann-La Roche Inc., N.J. 07110. Received August 2, 1993.
13. *JAVMA.*, Vol. 185, No. 10, November 15, 1109-1113 (1984)
14. JOAO CARLOS CORREA. *Antibióticos e Quimioterapicos no dia a dia.*, Brasil (1998)
15. LITTER., *Farmacología experimental y Clínica*. Séptima edición. 1490-1491 (1988)
16. *Revista española de Quimioterapia* . Septiembre 1997; Vol. 10 No. 3
17. SINTEFARMA VOL. 1.2.4-95
18. SINTEFARMA VOL. 1.3.3-95
19. SINTEFARMA VOL. 1.4.3-96
20. SUMANO H.: Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria. *Vet. Mex.* 24: 83-92 (1993)
21. SUMANO L.H. Y OCAMPO C.J., Bases de farmacología de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. *Vet. Mex.* 26: 175-182 (1995)
22. USP Dictionary of USA and International Drug names 1998