



Universidad Nacional Autónoma de  
México

---

Facultad de Estudios Superiores  
Zaragoza

"Farmacocinética *in vitro* de  
ciprofloxacina: modelo abierto de dos  
compartimentos en administración oral e  
intravenosa"

Tesis  
que para obtener el título de  
Química Farmacéutico Biológica

Presenta:

Jessica Sarahi Alavez Rubio

Directora: Dra. Leticia Cruz Antonio

Asesora: QFB Irma Alejandre Razo

PROYECTO PAPIME PE206214





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Agradecimientos

*A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme conocimiento y permitirme vivir experiencias extraordinarias en el ámbito académico y personal a lo largo de mi vida universitaria.*

*A la Dra. Leticia Cruz Antonio por todo su apoyo, confianza y por compartir parte de sus conocimientos.*

*A la Q.F.B. Irma Alejandre Razo por su tiempo y comentarios para la mejora del presente trabajo.*

*A la M. en C. Alma Elena Ibarra Cazáres, M. en C. Dolores Centeotl Castillo Montiel y al Mtro. Valentín Islas Pérez por el tiempo invertido en la revisión del trabajo y por compartirme su opinión respecto a éste.*

*Este trabajo se desarrolló gracias al financiamiento del proyecto PAPIME PE206214 “Diseño de proyectos innovadores para el laboratorio del módulo de biofarmacia de la carrera de QFB en la FES Zaragoza”.*

# Dedicatorias

*Agradezco este momento a esa fuerza superior que siempre me ha acompañado y me ha permitido culminar una etapa muy importante de mi vida.*

*A mis padres Victor y Lety porque sin ustedes nada de esto sería posible, gracias por la educación, por la confianza y por el apoyo incondicional que siempre me han brindado.*

*A mi hermanito, espero ser un buen ejemplo, servir de motivación para que luches por tus metas y siempre estar para ti.*

*A mi familia, tías, tíos y primos porque siempre he contado con ustedes y son parte fundamental en mi vida.*

*A Pedro, por siempre alentarme a ser mejor, por todo lo que hiciste para ayudarme, por apoyarme y por ser parte de esta etapa.*

*A mis amigos de la universidad, del trabajo y de la vida, por todas las risas y los momentos compartidos, por hacer cada día más divertido.*

*A la Dra. Lety Cruz, porque además de agradecer su apoyo, el conocimiento compartido, su confianza y su tiempo debo reconocer y agradecer su extraordinaria calidad humana.*

# Índice

1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	3
2.1 Uso de animales en investigación y docencia.....	3
2.2 Farmacocinética.....	7
2.3 LADME.....	8
2.4 Modelos farmacocinéticos.....	10
2.5 Modelo abierto de dos compartimentos.....	13
2.6 Ciprofloxacina .....	22
3. Planteamiento del problema.....	26
4. Objetivos.....	27
5. Hipótesis.....	28
6. Metodología.....	29
6.1 Validación.....	31
6.2 Sistema <i>in vitro</i> .....	33
6.3 Perfiles de concentración y parámetros farmacocinéticos.....	37
7. Resultados.....	39
7.1 Validación.....	39
7.2 Sistema <i>in vitro</i> .....	41
7.3 Perfiles de concentración y parámetros farmacocinéticos.....	43
8. Análisis de resultados.....	55
9. Conclusiones.....	62
10. Anexos.....	63
Anexo 1. Abreviaturas.....	63
Anexo 2. Validación.....	65
Anexo 3. Perfiles de concentración.....	71
Anexo 4. Procedimiento para obtener los parámetros farmacocinéticos.....	76
11. Referencias.....	86

# 1. Introducción

La Farmacocinética surge en el contexto de las ciencias farmacéuticas, conceptualmente desde épocas ancestrales; sin embargo en 1972 en la *International Conference of Pharmacology and Pharmacokinetic* fue la primera ocasión que una institución de prestigio reconoció formalmente la existencia de la farmacocinética como disciplina independiente. La farmacocinética es el estudio de la evolución temporal de los niveles de los fármacos y sus metabolitos en los diferentes fluidos y tejidos del organismo y de las relaciones matemáticas necesarias para desarrollar los modelos adecuados para interpretar tales datos. Por su amplia aplicación, la farmacocinética ha pasado a ocupar un lugar predominante en los planes de estudio vigentes.

El empleo de animales en la experimentación es clave en el avance de las ciencias biomédicas y biológicas, con esas investigaciones se ha logrado adquirir profundo conocimientos de las características de los seres vivos y de su fisiología, que resulta imprescindible para poder diseñar y ensayar nuevos fármacos. Sin embargo, en los últimos tiempos, organismos internacionales se han interesado en cuestiones éticas, generando principios básicos en la experimentación con animales, donde se sugiere evitar el uso de animales cuando exista un método alternativo que proporcione resultados satisfactorios y además, recomiendan el uso de métodos estadísticos, modelos matemáticos y sistemas *in vitro* cuando sean apropiados para complementar la experimentación animal y para reducir el número de los sujetos empleados.

Siguiendo estas recomendaciones y la tendencia a sustituir la experimentación con animales en los laboratorios de docencia, en este trabajo se propone un sistema *in vitro* empleando vasos que se comunican entre sí (con un flujo constante) y un dispositivo que permite la entrada de agua para transportar el fármaco fuera del compartimento central, a manera de eliminación, este sistema de vasos comunicantes presenta un comportamiento cinético que se ajusta a un modelo abierto de dos compartimentos después de una administración simulada vía oral y vía intravenosa (por infusión) de ciprofloxacina.

Se calcularon las constantes de eliminación, distribución y absorción, el área bajo la curva, el volumen de distribución, el tiempo de vida media, las microconstantes de transferencia y la depuración total.



## 2. Marco teórico

### 2.1 Uso de animales en investigación y docencia

La docencia e investigación biológica y biomédica, el desarrollo, producción y control de medicamentos, alimentos y otros insumos importantes para la salud humana y animal, requieren la utilización de animales de laboratorio.<sup>1</sup> La mayor parte de los descubrimientos de fármacos y avances en anatomía, fisiología y patologías fueron posibles gracias a la utilización de animales en la investigación.

El uso de seres vivos con el fin de adquirir conocimientos data de épocas lejanas, en la antigüedad, no solo se practicaba la vivisección en animales, sino también en seres humanos.<sup>2</sup>

En el siglo XVIII, en Gran Bretaña se inició el movimiento de protección animal, que cuestionaba el derecho del hombre de someter a los animales a experimentos dolorosos. Uno de los primeros filósofos que argumentó que los animales comparten con el ser humano la capacidad de sufrir y la conciencia fue Schopenhauer (1788-1860), quien se opuso a la opinión de Descartes, de que los animales no sienten dolor.<sup>2,3</sup>

A mediados del siglo XIX fue fundada la Real Sociedad para la Prevención de la Crueldad hacia los Animales y en 1876 se aprobó la ley contra la crueldad hacia ellos. Durante el siglo XX en numerosos países europeos surgieron asociaciones y leyes para evitar la crueldad y algunas de ellas incluyeron a los usados en la experimentación científica.<sup>2,3</sup>

En las últimas décadas se ha hablado insistentemente de los derechos de los animales y en casi todos los países desarrollados se efectúan reuniones y

congresos relacionados con el problema.<sup>1</sup> En México, el Consejo Internacional de Ciencias Médicas ha publicado principios para guiar la investigación que involucra animales y por su parte la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) publicó en el Diario Oficial el 28 de junio de 2001 la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: “Especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio”.<sup>2</sup>

El dilema de continuar experimentando con animales en la educación e investigación continúa con diversos argumentos; el problema ético no se ha podido resolver de manera satisfactoria para todos, existen grupos de ciudadanos que manifiestan su repudio y pretenden eliminar por completo su uso, por otro lado, grupos de científicos e instituciones donde se llevan a cabo pruebas de diagnóstico, de constatación o aquellos dedicados a la enseñanza, defienden el uso de animales.<sup>2,3</sup>

#### **a. Alternativas a la experimentación con animales**

Es difícil obtener cifras exactas del número de animales utilizados en docencia e investigación, ya que en muchos países, México entre ellos, las autoridades no cuentan con cifras al respecto. Sin embargo, se estima que son entre 50 y 100 millones de animales por año, de los cuales alrededor del 1 y el 10% del total son empleados en la enseñanza; la mayoría son pequeños roedores como ratones y ratas (96%) que generalmente se utilizan solamente en un procedimiento.<sup>2,3</sup>

Aunque aún existe la creencia de que la farmacología no puede ser aprendida sin la experimentación en animales, en diversos países, impulsados por el esfuerzo de profesores y activistas, se han introducido alternativas en docencia e investigación.<sup>3</sup>

El concepto de alternativa más generalizado surge en el libro de Russel y Burch “The principles of human experimental technique”, de ahí se desprende el principio de las “3 R’s” de la técnica humanitaria: reemplazar, reducir y refinar. Estos principios se han vuelto clásicos en la literatura sobre experimentación en animales, en la tabla 1 se presenta un resumen al respecto.

El número de experimentos con animales vivos está disminuyendo, siendo reemplazados gradualmente por ciertas alternativas que están disponibles a costos relativamente bajos y con eficacia educativa probada. En este escenario cambiante, el desarrollo de alternativas es la necesidad del día.<sup>3</sup>

Tabla 1. Definición de los principios y estrategias planteadas para cumplirlos.

<b>Principio</b>	<b>Definición</b>	<b>Estrategia o alternativa</b>
Reemplazar	Sustituir a los animales o bien el uso de especies ubicadas en un estado de menor desarrollo, según la escala filogenética.	Uso de invertebrados, modelos <i>in silico</i> , apoyos audiovisuales, animales muertos, material de mataderos, sistemas <i>in vitro</i> . <sup>4</sup>
Reducir	Disminuir el número de animales sin afectar la precisión u obtener más información con el mismo número de animales. <sup>1-3</sup>	Mejorar el diseño experimental y el análisis estadístico y utilizar animales homogéneos en cuanto a raza o cepa, edad, estado de salud, peso y procedencia. <sup>2,3</sup>

---

Refinar	Mejorar las técnicas para reducir el dolor y malestar. <sup>4</sup>	Cuidado y bienestar animal, capacitación del personal, perfeccionamiento de métodos para detectar dolor, uso de anestésicos, analgésicos y tranquilizantes o uso de técnicas no invasivas. Aplicar eutanasia adecuadamente. <sup>4</sup>
---------	---	--

---

#### **b. Modelos *in vitro***

*In vitro* se traduce literalmente como “en vidrio”, es un adjetivo que se refiere a que fue producido en el laboratorio por métodos experimentales.<sup>5</sup>

El estudio de la farmacocinética *in vitro* ha sido planteado a través de la simulación de compartimentos utilizando principalmente vasos de precipitado, soportes, barras magnéticas, buretas y una bomba peristáltica, estos componentes son accesibles y hacen posible diferentes vías de administración, además se permite el muestreo de los compartimentos (central y periférico) y del fluido de eliminación, proporcionando una visión experimental imposible de visualizarse en sujetos reales.<sup>6</sup>

Esta herramienta puede ser efectivamente usada para ayudar a los estudiantes a observar la relación de las concentraciones del fármaco en varios tejidos del cuerpo y una de las aplicaciones más importante es la generación y comparación de perfiles de concentración-tiempo como una función de diferentes vías de administración.<sup>6</sup>

## 2.2 Farmacocinética

Torsten Teorell, fisiólogo y biofísico médico puede considerarse el creador de la farmacocinética. El término fue acuñado por el profesor F. H. Dost en 1953, en Alemania, quien la definió como “la ciencia del análisis cuantitativo entre organismos y medicamento”.<sup>7,8</sup> Tiene por objeto estudiar el destino de cualquier sustancia después de su administración en un organismo vivo. Los principios farmacocinéticos usualmente son aplicados a fármacos pero también pueden ser aplicados a cualquier otro compuesto, como nutrientes, hormonas, toxinas y otros.<sup>9</sup>

La farmacocinética es una descripción cuantitativa de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos, procesos que definen los perfiles de concentración a través del tiempo en la circulación sistémica y en los diferentes órganos y tejidos. Es una disciplina cuantitativa, en donde los procesos que afectan el comportamiento farmacocinético de un fármaco pueden ser descritos matemáticamente y los parámetros pueden ser asociados a ecuaciones matemáticas.<sup>9,10</sup>

Los objetivos de la farmacocinética van desde encontrar relaciones entre la respuesta farmacológica o toxicológica y los niveles de fármacos o sus metabolitos en los fluidos del organismo; el estudio de las cinéticas de absorción, distribución, metabolismo o excreción de los medicamentos para aumentar el conocimiento de los mecanismos básicos que sustentan estos procesos; hasta ofrecer, incluso, un camino para mejorar y quizá optimizar el tratamiento terapéutico a través de la determinación de los factores que afectan el comportamiento farmacocinético en las diferentes poblaciones de pacientes.<sup>9,11</sup>

## 2.3 LADME

El conjunto de procesos que caracterizan la evolución temporal de un medicamento, tras ser administrado a un organismo, en determinadas condiciones y bajo una vía de administración específica, se denomina LADME. El acrónimo está formado por las iniciales de las cinco etapas que pueden ocurrir durante el tránsito del medicamento por el organismo: liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción,<sup>11,12</sup> aunque se estudia por separado con fines académicos, en la realidad todo el proceso ocurre en forma simultánea.<sup>13</sup>

Pocos autores consideran la liberación como parte de esta ruta que siguen los fármacos, implica una serie de conocimientos técnicos relativos a la elaboración y estabilidad de las formas farmacéuticas para liberar el principio activo de sus excipientes, lo que puede afectar principalmente la absorción<sup>14</sup>, proceso que ocurre para que los medicamentos que son administrados por una vía distinta a la intravenosa pasen a circulación sistémica. Una vez que el fármaco se encuentra en la sangre y está penetrando en órganos y tejidos, se dice que se encuentra en fase de distribución.<sup>15</sup>

El metabolismo puede ser definido como los cambios químicos (biotransformación) que le ocurren a una sustancia en el organismo, convirtiéndola en un metabolito. La biotransformación tiene como objetivo volver hidrofílica a la molécula con el fin de facilitar/acelerar el proceso de excreción. Este proceso es usualmente enzimático, pero algunas sustancias pueden sufrir cambios químicos por procesos no enzimáticos. Las enzimas involucradas en la biotransformación se encuentran localizadas principalmente en el hígado. Sin embargo, otros tejidos como el riñón,

pulmón, intestino delgado y piel pueden contener enzimas biotransformadoras.<sup>11,12,16</sup> El proceso normalmente es dividido en fase 1 y fase 2, donde ocurren reacciones de funcionalización y de conjugación, respectivamente.<sup>16,17</sup>

La eliminación es la salida irreversible de fármaco del organismo y puede llevarse a cabo mediante excreción o bien por biotransformación, dos órganos importantes en este proceso son el hígado y los riñones.<sup>15</sup> La excreción es la eliminación del fármaco intacto, los fármacos no volátiles son excretados principalmente vía renal, un proceso en el que el fármaco pasa a través del riñón a la vejiga y por último a la orina. Otras vías de excreción son la bilis, sudor, saliva, leche y otros fluidos corporales.

El metabolismo y excreción pueden agruparse bajo el término eliminación y junto con la distribución, reciben la denominación de disposición.<sup>11,12</sup>

Cuando los estudios se centran solamente en un aspecto farmacocinético específico (liberación, administración, distribución, metabolismo o excreción) por técnicas *in vitro*, *in situ*, *in vivo* o *in silico* son referidos como estudios LADME mientras el nombre "farmacocinética", es normalmente reservado para estudios *in vivo* donde son integrados todos los procesos.<sup>12</sup>

## 2.4 Modelos farmacocinéticos

En un sistema biológico, un fármaco administrado se encuentra en estado dinámico, razón por la cual los eventos relacionados con éste ocurren de manera simultánea, por lo que en la práctica resulta difícil medir la concentración en el lugar de acción. Con el fin de describir un sistema biológico complejo se emplean los modelos farmacocinéticos, en donde se realizan suposiciones simplificadas sobre el movimiento de los fármaco en el cuerpo.<sup>9,11</sup>

La Real Academia de la Lengua Española define un modelo, como un esquema teórico, generalmente en forma matemática, de un sistema o de una realidad compleja, que se elabora para facilitar su comprensión y el estudio de su comportamiento.<sup>5</sup> A su vez, un modelo matemático describe matemáticamente, la relación cuantitativa entre variables y/o parámetros.<sup>11,18</sup>

Existen diversos modelos matemáticos que pueden idearse para simular los procesos de absorción, distribución y eliminación de los fármacos, haciendo posible el desarrollo de las ecuaciones para describir el comportamiento farmacocinético del fármaco en el cuerpo como una función del tiempo, con un aceptable grado de precisión.<sup>9,11</sup>

En un modelo, los parámetros farmacocinéticos, considerados como constantes, no son medidos directamente sino que se determinan a partir de los datos (variables dependientes e independientes).

El número de parámetros necesarios para describir un modelo depende de la complejidad del proceso y de la vía de administración del fármaco.<sup>11</sup>



Los modelos farmacocinéticos pueden ser útiles para:<sup>11,19</sup>

- Predecir concentraciones plasmáticas, tisulares y urinarias a partir de cualquier régimen de dosificación
- Evaluar los factores que afectan el comportamiento farmacocinético
- Calcular el régimen de dosificación óptimo para cada paciente
- Evaluar la posible acumulación de fármacos o sus metabolitos
- Correlacionar la concentración del fármaco con la actividad farmacológica y/o tóxica
- Evaluar las diferencias en velocidad y cantidad de fármaco absorbido de diferentes medicamentos
- Describir cómo los cambios en fisiología o enfermedad afectan la absorción, distribución o eliminación de un fármaco
- Explicar las interacciones entre fármacos
- Permiten realizar correlaciones entre estructura y actividad

Para investigar el comportamiento dinámico de sistemas biológicos, Carson, Cobelli y Finkelstein en 1983, establecieron la utilización de dos grandes grupos de modelos matemáticos: modelos no compartimentales y modelos compartimentales.<sup>20</sup> En otras publicaciones se consideran tres tipos principales de modelos farmacocinéticos: compartimentales, no compartimentales y fisiológicos.<sup>9,11,19</sup>

### **a. Modelos compartimentales**

En un modelo compartimental el cuerpo es presentado como uno o más compartimentos dependiendo de la velocidad de distribución del fármaco a las diferentes partes del cuerpo.<sup>9,19</sup> Un compartimento no es una región fisiológica o anatómica real, es considerado como un tejido o grupo de tejidos que tiene similar flujo sanguíneo y afinidad por el fármaco. Se asume que en cada compartimento la absorción es instantánea y homogénea y que la concentración en un punto del mismo es representativa del resto del compartimento.<sup>11,18,21</sup>

Matemáticamente, se construyen utilizando ecuaciones diferenciales lineales. Conceptualmente, el fármaco tiene un comportamiento dinámico y la velocidad de la transferencia del fármaco entre los tejidos del organismo se cuantifica mediante constantes de velocidad de entrada y salida del compartimento.

Este modelo es usado particularmente cuando existe poca información sobre la concentración de fármaco en los tejidos, son la base de los modelos fisiológicos y de otros modelos avanzados.<sup>11</sup>

### **b. Modelos no compartimentales o modelos independientes**

Permite estimar los parámetros farmacocinéticos a partir del tratamiento de datos experimentales sin necesidad de ajustarlos a un modelo determinado.<sup>19</sup> Entre las ventajas que presenta, es que es posible estimar parámetros farmacocinéticos sin discriminar un modelo cinético, la evolución de la concentración plasmática puede expresarse mediante una curva de distribución normal<sup>13</sup>. Incluyen: modelos estocásticos o probabilísticos, de distribución de sistemas y modelos basados en distintas ecuaciones.<sup>19</sup>

### **c. Modelos fisiológicos**

Los modelos fisiológicos son también conocidos como modelos de flujos o modelos de perfusión, dividen el cuerpo en una serie de órganos o tejidos. Están basados en el conocimiento de datos anatómicos y fisiológicos, se construyen considerando el tamaño del órgano, flujo sanguíneo, absorción y eliminación del fármaco en los diferentes órganos.<sup>9</sup>

Pueden ser usados para predecir cambios en el comportamiento farmacocinético cuando ocurren alteraciones fisiológicas y patológicas.<sup>9</sup> La importancia real de los modelos fisiológicos reside en su potencial aplicación para predecir el comportamiento cinético de los fármacos en humanos a partir de datos obtenidos en la experimentación animal, sin embargo su aplicabilidad en la práctica clínica está muy limitada, debido al tipo de información que se requiere para su aplicación.<sup>9,11</sup>

## **2.5 Modelo abierto de dos compartimentos**

Cuando un fármaco es rápidamente distribuido a algunos tejidos y órganos y lentamente a otros, el modelo farmacocinético bicompartimental puede ser usado para describir el comportamiento farmacocinético de éste.

El término abierto se refiere a que la concentración al tiempo infinito es cero ( $C_{\infty} = 0$ ) lo cual implica que el sistema pierde la totalidad de la dosis que inicialmente se introdujo.<sup>22</sup>

La distribución del medicamento está relacionada con el flujo sanguíneo. Los órganos y tejidos muy irrigados, como el hígado y el riñón, alcanzan con gran

rapidez su equilibrio de distribución con la sangre, por lo que frecuentemente la sangre y todos los fluidos y tejidos rápidamente accesibles pueden tratarse cinéticamente como una unidad homogénea común, que se conoce como compartimento central. Los tejidos con poca perfusión sanguínea se agrupan frecuentemente en un compartimento periférico único.<sup>10,11</sup>

La curva del logaritmo natural de la concentración plasmática contra tiempo de un fármaco que sigue un modelo de dos compartimentos muestra que la concentración de fármaco en plasma disminuye de forma biexponencial, como la suma de dos procesos de primer orden.

La mayoría de los fármacos que penetran en la circulación sistémica necesitan un tiempo finito para distribuirse por completo en todo el espacio corporal disponible, esto se pone de manifiesto en especial después de una administración intravenosa, durante esta fase distributiva las concentraciones de fármaco en el plasma disminuyen más rápidamente que en la fase posterior a la distribución.<sup>10,18</sup> Al contrario, los niveles de fármaco en tejidos poco irrigados, como músculo, tejidos magros y grasa, aumentan hasta alcanzar un máximo y después disminuyen durante la fase de distribución, como se muestra en la figura 1.<sup>9,22</sup> En determinado momento se alcanza un equilibrio de pseudodistribución entre los tejidos y fluidos del compartimento central y los tejidos menos accesibles, una vez alcanzado, la disminución de fármaco en el plasma es más lenta y puede describirse según un proceso monoexponencial, lo que indica homogeneidad cinética en todos los fluidos y tejidos del organismo.<sup>10,22</sup>

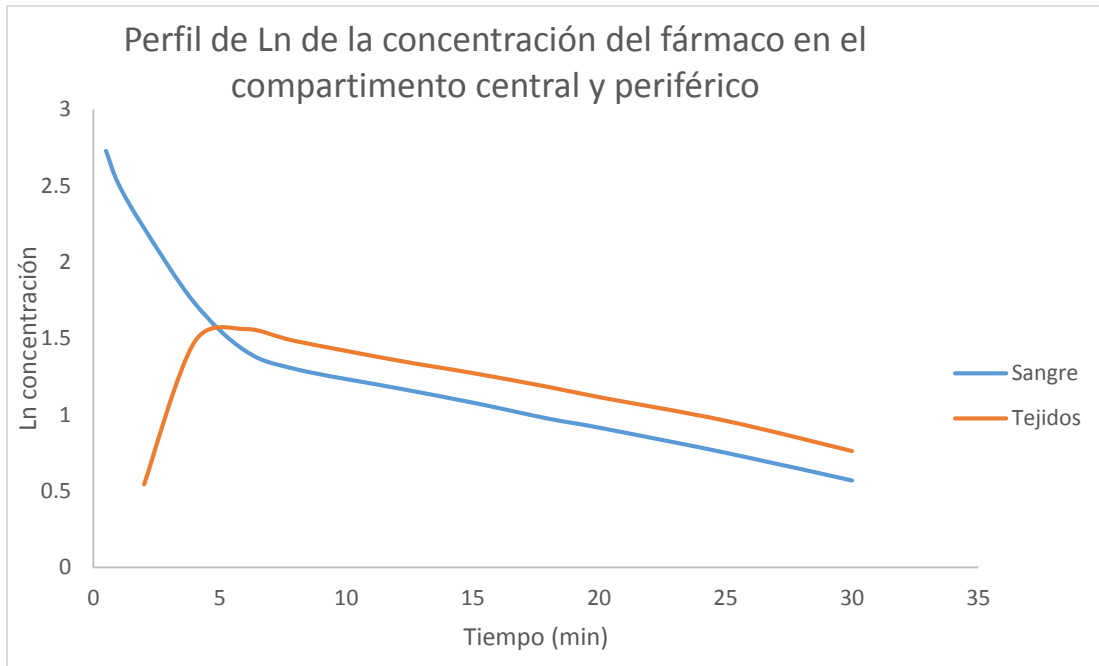


Figura 1. Comportamiento cinético del fármaco presente en el compartimento central (sangre) y en el compartimento periférico (tejidos) a través del tiempo después de una administración intravenosa en un modelo bicompartimental.

El fármaco es transferido entre compartimentos por procesos de primer orden, de igual forma se considera que la eliminación del fármaco ocurre solo por el compartimento central según una cinética de primer orden a menos que exista información que sugiera otra cosa.<sup>9,10</sup>

Las constantes de velocidad  $k_{12}$  y  $k_{21}$  representan las constantes de velocidad de transferencia del fármaco entre compartimentos (figura 2), son llamadas microconstantes, sus valores no pueden ser estimados directamente.

La concentración en el compartimento periférico puede ser más alta o más baja que la concentración en plasma dependiendo de la afinidad del fármaco a los tejidos.<sup>9,11</sup>

La ecuación matemática que describe la concentración plasmática ( $C_p$ ) en un modelo bicompartimental es la siguiente (ver anexo 1):<sup>11,15,22</sup>

$$C_p = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \quad (1)$$

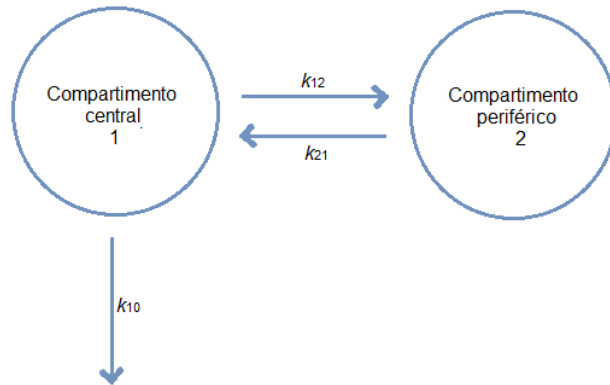


Figura 2. Modelo de dos compartimentos, la velocidad de transferencia del compartimento 1 al compartimento 2 y del compartimento 2 al 1 se representan por las microconstantes  $k_{12}$  y  $k_{21}$ , respectivamente. La eliminación se realiza desde el compartimento central y su velocidad se describe por la constante  $k_{10}$ .

A y B son las ordenadas al origen de la fase de distribución y de eliminación. Las constantes  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de velocidad de la fase de distribución y de la fase de eliminación, respectivamente.

A pesar de que  $\beta$ , o la vida media obtenida a partir de esta constante es un parámetro híbrido, es probablemente, el parámetro farmacocinético funcional más importante. La vida media es el tiempo para que la concentración del fármaco en plasma se reduzca un 50%, es función de la depuración y del volumen de distribución y puede emplearse para el cálculo de los regímenes de dosificación múltiple.<sup>16</sup>

Otro parámetro derivado importante, es la depuración total ( $Cl_T$ ), que representa la suma de todos los procesos de depuración en el cuerpo, incluyendo depuración renal, pulmonar y hepática.<sup>16</sup> El término describe el proceso de eliminación del fármaco del cuerpo sin considerar el proceso individual involucrado, también pueden ocurrir procesos de eliminación no identificables. La velocidad de eliminación es descrita en términos de volumen de fluido limpiado del fármaco por

unidad de tiempo, por lo tanto las unidades para la depuración son volumen/tiempo y normalmente se expresa por kg de peso del cuerpo, por ejemplo mL/min por kg.<sup>11</sup>

#### **a. Administración oral**

La vía oral es la ruta de administración extravascular más común, los medicamentos administrados para producir un efecto sistémico deben pasar del sitio de administración a la circulación y después ser distribuidos para producir sus efectos terapéuticos.<sup>9</sup>

Después de la administración oral de una tableta, éstas son desintegradas a gránulos, posteriormente a polvo fino y luego el fármaco debe disolverse para cruzar la membrana gastrointestinal. La velocidad y el grado de absorción del fármaco son parámetros muy importantes, el primero influye en la velocidad con la que el fármaco aparece en la circulación sistémica después de la administración y es representada como la constante de velocidad de absorción ( $k_a$ ) del proceso, mientras que la cantidad de fármaco absorbida representa la fracción de la dosis administrada que alcanzó la circulación sistémica y es conocida como biodisponibilidad.<sup>9</sup>

La constante de velocidad de absorción describe la velocidad total del proceso y refleja la velocidad de desintegración, disolución y absorción.<sup>9</sup> Una absorción incompleta disminuye la proporción de la dosis que alcanza la circulación sistémica. Depende de las propiedades fisicoquímicas, la forma farmacéutica y las propiedades anatómicas y fisiológicas en el sitio de absorción. A pesar de estas variaciones, la velocidad global de absorción se puede describir matemáticamente como un proceso de primer orden o de orden cero. La mayoría de los modelos farmacocinéticos asumen la absorción como un proceso de primer orden.<sup>11,23,24</sup>

Después de la administración oral de un medicamento que sigue un modelo farmacocinético de dos compartimentos, el fármaco es absorbido a circulación sistémica, la cual es parte del compartimento central, una vez ahí, el fármaco puede ser eliminado del cuerpo o distribuido al compartimento periférico (figura 3).<sup>9</sup>

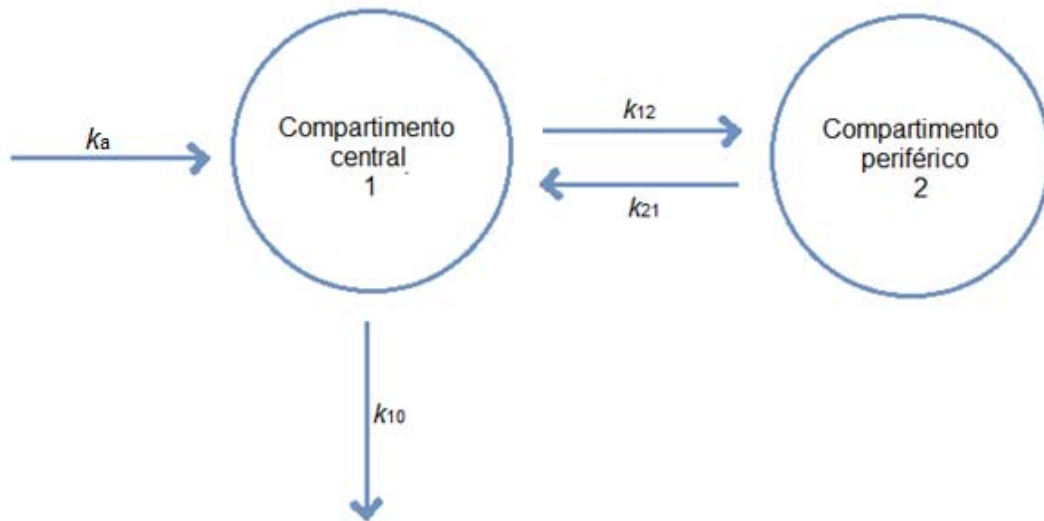


Figura 3. Representación esquemática de un modelo bicompartimental, donde la absorción y la eliminación ocurren en el compartimento central;  $k_a$  representa la constante de absorción.<sup>11</sup>

El perfil de concentración-tiempo puede ser descrito por una ecuación triexponencial (ecuación 2) que representa los procesos de absorción, distribución y eliminación.<sup>9</sup>

$$C_p = L e^{-\alpha t} + M e^{-\beta t} + N e^{-k_a t} \quad (2)$$

Dónde: L y M son las ordenadas al origen de la fase de distribución y eliminación, respectivamente, y N es la ordenada al origen de la fase de absorción.



## **Determinación de la constante de velocidad de absorción**

Existen diversos métodos que pueden ser empleados para calcular la constante de la velocidad de absorción ( $k_a$ ), estos difieren en las condiciones en las que pueden ser aplicados.<sup>9</sup>

El método de los residuales es empleado normalmente en farmacocinética para resolver una curva en sus distintos componentes exponenciales. La idea del método de los residuales es caracterizar la velocidad de eliminación del fármaco de la fase de eliminación terminal del perfil de concentración-tiempo de fármaco en plasma. Después, la contribución de la velocidad de absorción y la de eliminación del fármaco en el perfil concentración-tiempo durante la fase de absorción es separada, esto permite la determinación de la velocidad de eliminación del fármaco y la estimación de la constante de velocidad de absorción.<sup>9,10</sup>

El método de Wagner-Nelson asume un modelo monocompartimental para proporcionar un estimado inicial de  $k_a$ . La concentración en plasma predicha a partir de la constante de absorción obtenida por este método no se desvía, en muchas situaciones, de forma significativa de los niveles plasmáticos determinados experimentalmente.<sup>11</sup>

El método de Loo-Riegelman puede ser aplicado para determinar la constante de velocidad de absorción para fármacos que se comportan según una cinética lineal, con absorción de orden cero o de primer orden y que siguen un modelo farmacocinético de dos compartimentos. El método consiste en calcular la fracción de la dosis que falta por ser absorbida a lo largo del tiempo para determinar el orden del proceso y la constante de velocidad de absorción.

## **b. Administración intravenosa por infusión**

Durante la administración repetida de dosis de un medicamento por vía intravenosa u oral la concentración plasmática de fármaco presenta fluctuaciones, lo cual puede provocar situaciones desfavorables. Para mantener constante la concentración de forma prolongada, el medicamento puede ser administrado como una infusión a velocidad constante.<sup>18,25</sup>

Si la administración es intravenosa continua, la infusión es un proceso de orden cero y la eliminación es un proceso de orden uno. La concentración aumenta uniformemente y la eliminación al principio es lenta debido a la baja concentración plasmática de fármaco, pero luego aumenta hasta alcanzar una velocidad máxima igual a la velocidad de entrada ( $k_0$ ). En este punto se alcanza el estado de equilibrio estacionario, donde la concentración plasmática permanecerá constante tanto tiempo como dure la infusión, mientras que no se altere  $k_0$ . Cuando cesa la infusión, la concentración plasmática cae de forma exponencial y se rige por la constante de eliminación.<sup>10,18,25</sup>

El aumento del nivel plasmático tras una infusión continua es un proceso exponencial en el que, teóricamente, el tiempo necesario para alcanzar el nivel estable sería infinito. En la práctica, se considera que en 3 vidas medias se alcanza un nivel próximo a la concentración constante y que en 5 vidas medias puede considerarse que se ha alcanzado éste.<sup>25</sup>

Si el medicamento tiene una vida media plasmática larga, el tiempo necesario para alcanzar el estado de equilibrio estacionario será prolongado y dependiente de la constante  $\beta$ , en tanto la concentración que alcance dependerá de la velocidad de infusión y de la depuración.<sup>18,25</sup>

Cuando la infusión intravenosa dura menos de 5 vidas medias de eliminación, la concentración máxima que se alcanza al final de una infusión corta depende de la velocidad de infusión ( $k_0$ ), de la depuración (Cl), de la constante de eliminación ( $k_e$ ) y del tiempo que dure la infusión<sup>2</sup> ( $T$ ).

La ecuación 3 describe la evolución temporal del medicamento en el plasma durante la infusión y después de terminada ésta. Mientras dura la infusión  $T$  cambia con el tiempo ( $T=t$ ), pero cuando termina la infusión,  $T$  se vuelve constante y su valor corresponde al tiempo en que terminó,  $t = t' + T$ , siendo  $t'$  el tiempo postinfusivo.<sup>10</sup>

$$c = \frac{k_0(k_{21}-\alpha)(1-e^{-\alpha T})}{V_c\alpha(\alpha-\beta)} e^{-\alpha t} + \frac{k_0(\beta-k_{21})(1-e^{-\beta T})}{V_c\beta(\alpha-\beta)} e^{-\beta t} \quad (3)$$

Una vez terminada la infusión, las concentraciones plasmáticas de medicamento disminuyen en la forma biexponencial usual (figura 4). La determinación de las constantes  $\alpha$ ,  $\beta$ , R y S a partir de los datos de la fase posterior de la infusión, se realiza de la manera habitual, es decir, por el método de los residuales o mediante el uso de un ordenador.

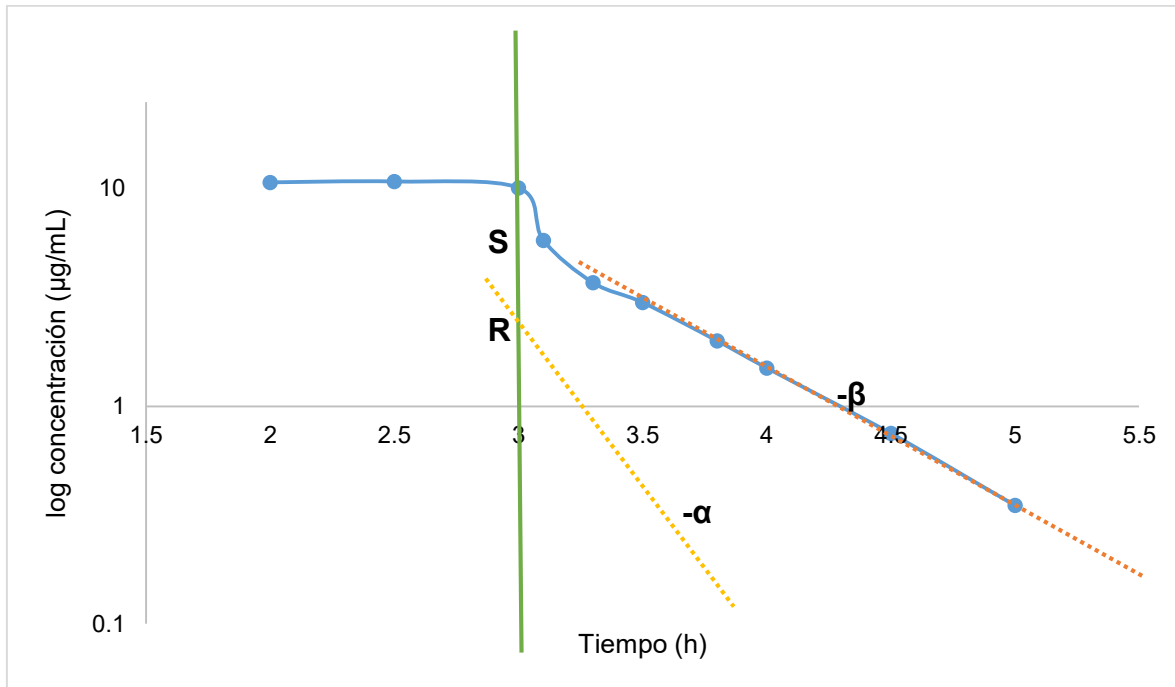


Figura 4.9 Comportamiento cinético del fármaco en el compartimento central. Una vez terminada la fase de equilibrio estacionario las concentraciones disminuyen de forma biexponencial.

## 2.6 Ciprofloxacina

La ciprofloxacina o ciprofloxacino (cpx) es una quinolona de segunda generación monofluorada derivada de la quinoleína. La primera quinolona, ácido nalidíxico, se obtuvo en 1962, mediante síntesis a partir de la cloroquina. En 1973 apareció la primera quinolona con un átomo de flúor: la flumequina, pero es en 1978 cuando se inicia la era de las quinolonas fluoradas, se caracterizan por tener un espectro dirigido hacia bacilos gramnegativos y se han utilizado como antisépticos urinarios, intestinales y biliares.<sup>18</sup>

## Estructura química

La estructura química está basada en el anillo 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, posee un fragmento de ácido carboxílico en la posición 3 del anillo primario. Las mayores ventajas conseguidas en cuanto a la actividad y el espectro de la molécula se deben a la incorporación de un átomo de flúor en posición 6 y el grupo piperazínico heretocíclico en la posición 7, que aumentan la actividad antibacteriana.<sup>18,19,26</sup>

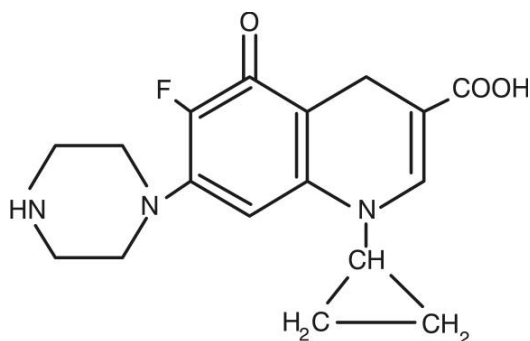


Figura 5. Estructura química de ciprofloxacina.

## Espectro de acción y usos terapéuticos

La ciprofloxacina presenta un amplio espectro de actividad, aún a bajas concentraciones. Su actividad antimicrobiana y propiedades farmacocinéticas la vuelven un agente con uso potencial para el tratamiento de infecciones de pulmón, piel, urinarias y genitales.<sup>21</sup> Las altas concentraciones de ciprofloxacina excretada en orina por más de 36 horas indican que es la mejor opción terapéutica para el tratamiento de infecciones sistémicas, especialmente las originadas por bacterias gramnegativas, así como las infecciones agudas del tracto urinario de cepas resistentes, incluso a los aminoglucósidos, penicilinas y cefalosporinas de tercera generación.<sup>27</sup>

## **Mecanismo de acción**

La ciprofloxacina posee un efecto bactericida, penetra en la bacteria a través de las porinas, una vez dentro de la célula actúan inhibiendo la ADN girasa y la topoisomerasa IV. La ADN girasa es la responsable del enrollamiento de las bandas de ADN (prepara el ácido desoxirribonucleico para la transcripción).<sup>18,26,28</sup>

## **Farmacocinética**

Estudios realizados en diferentes especies animales, conejos, ovejas, cabras, perros, así como en humanos muestran que las curvas de concentración plasmática versus tiempo se ajusta de mejor manera a un modelo abierto de dos compartimentos.<sup>26,27,29-31</sup>

Las fluoroquinolonas se absorben bien por vía oral y se distribuyen de manera extensa en los tejidos del cuerpo, alcanzando su  $t_{m\acute{a}x}$  (tiempo en el que se alcanza la concentración máxima) al cabo de 1-3 horas.<sup>18,30,32</sup>

El volumen de distribución aparente es mayor que 1 L/Kg lo cual sugiere la habilidad del fármaco para penetrar tejidos, su concentración en orina, riñones, pulmón, tejido prostático, heces, bilis, macrófagos y neutrófilos es mayor que su concentración sérica, esto se favorece por el bajo porcentaje de unión a proteínas y el bajo grado de ionización.<sup>18,26</sup>

El área bajo la curva sugiere alta distribución del fármaco en los fluidos y tejidos del cuerpo por lo que su uso es efectivo en el tratamiento de infecciones sistémicas y ampliamente arraigadas.<sup>26</sup> Basada en un modelo de análisis compartimental, parámetros cinéticos de distribución y constantes de velocidad de transferencia del

fármaco ( $k_{12}$  y  $k_{21}$ ) se sugiere una rápida distribución del fármaco de la sangre a los tejidos y a los fluidos del cuerpo.<sup>26,33</sup>

En el hígado, la biotransformación ocurre por reacciones de oxidación en las que intervienen enzimas del sistema citocromo P450, o mediante reacciones de conjugación. Tanto los metabolitos como el fármaco sin modificar pueden encontrarse en la orina y en la bilis.<sup>18</sup>

Los mecanismos de aclaramiento no renal representan aproximadamente un tercio de la eliminación. La filtración glomerular y la secreción tubular suman alrededor del 66% de la depuración total en adultos.<sup>34</sup>

La dosis oral en adultos es de 250 a 750 mg cada 12 horas.<sup>30</sup>

### 3. Planteamiento del problema

El uso de animales de experimentación ha sido un factor importante para la investigación de enfermedades, desordenes, técnicas quirúrgicas, así como para el desarrollo de nuevas formas de prevención y tratamientos para humanos. A partir de los años 70 diversos organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) promulgaron normas y establecieron protocolos para el manejo de animales en investigación, teniendo en cuenta el derecho que tienen como seres vivos, e incluso se establecieron leyes que amparan estos derechos. Por su parte, en México se ha legislado el uso de animales en la Ley Federal de Sanidad Animal y específicamente en el ámbito experimental se publicó la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”.

Surgiendo una tendencia a sustituir los ensayos *in vivo* de animales en laboratorios de docencia e investigación por diversas cuestiones, tanto éticas como económicas, optando como alternativa por modelos *in vitro*, *in silico* u otros. Sin embargo, aún muchos de los modelos empleados no han sido del todo modificados, por ello es necesario proponer la implementación de nuevos modelos que faciliten el entendimiento de los conceptos teóricos, que se adapten a las necesidades y a la oferta de recursos presente en el laboratorio de biofarmacia impartido en el noveno semestre de la carrera de QFB de la FES Zaragoza.



## 4. Objetivos

### Objetivo general

Proponer las condiciones óptimas de un modelo *in vitro* de ciprofloxacina que permita ilustrar un comportamiento farmacocinético bicompartimental después de una administración oral e intravenosa por infusión.

### Objetivos particulares

- Validar el método analítico para cuantificar ciprofloxacino en el modelo *in vitro*
- Obtener perfiles de concentración-tiempo con un modelo *in vitro* de vasos comunicantes
- Determinar los parámetros farmacocinéticos de un modelo abierto de dos compartimentos aplicando las fórmulas correspondientes
- Determinar los parámetros farmacocinéticos de un modelo abierto de dos compartimentos empleando un programa computacional de ajuste farmacocinético (WinNolin Pro)
- Adecuar el procedimiento para que pueda implementarse en el laboratorio de biofarmacia, considerando las necesidades, el tiempo y los recursos disponibles

## 5. Hipótesis

Al controlar la velocidad de transferencia de fármaco entre compartimentos, la velocidad de adición del líquido diluyente y los volúmenes de los compartimentos central y periférico, se tendrá un perfil de concentración que se ajuste a un modelo abierto de dos compartimentos, a partir del cual se podrán obtener parámetros farmacocinéticos como el tiempo de vida media, el volumen de distribución, constantes de transferencia entre compartimentos, tiempo máximo, concentración máxima, constantes de eliminación, de distribución y de absorción.

## 6. Metodología

### Material y equipo

- ✓ Bomba peristáltica modular MasterFlex
- ✓ Bomba de infusión de jeringa Kd Scientific
- ✓ Vortex Thomas scientific
- ✓ 2 parrillas de agitación Scientific products magnestir
- ✓ 2 agitadores magnéticos (1/2 pulgada)
- ✓ Gradilla para tubo de ensayo
- ✓ Soporte universal
- ✓ Anillo de acero con nuez
- ✓ Abrazadera para columna
- ✓ Columna de vidrio con capacidad de 2 L
- ✓ Vaso de precipitados modificado de 600 y 1000 mL
- ✓ Probeta 100 y 250 mL
- ✓ Vasos de precipitados de 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo 10 mL
- ✓ Microtubos Eppendorf 200 y 1000  $\mu$ L
- ✓ Jeringa Terumo 3, 5 y 10 mL
- ✓ Swinnex
- ✓ Papel filtro

### Instrumentos

- ✓ Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda XLS +
- ✓ Balanza analítica Mettler Toledo ME 204

### Reactivos

- ✓ Agua destilada
- ✓ Tabletas Kenzoflex (250 mg de ciprofloxacino)
- ✓ Ciprofloxacina, solución inyectable Pisa (200mg/100mL de ciprofloxacino)

## Metodología

La metodología del proyecto, en su parte experimental, se divide en 3 etapas, la primera consistió en la validación del método analítico para la cuantificación del fármaco de interés, posteriormente se realizó el montaje del sistema y las pruebas para determinar las condiciones adecuadas para obtener el comportamiento bicompartimental de ciprofloxacina en el sistema *in vitro* y en la tercer etapa se reprodujeron las condiciones y se trataron matemáticamente los datos para obtener los parámetros farmacocinéticos correspondientes.

La representación general de la metodología se muestra en la figura 6:

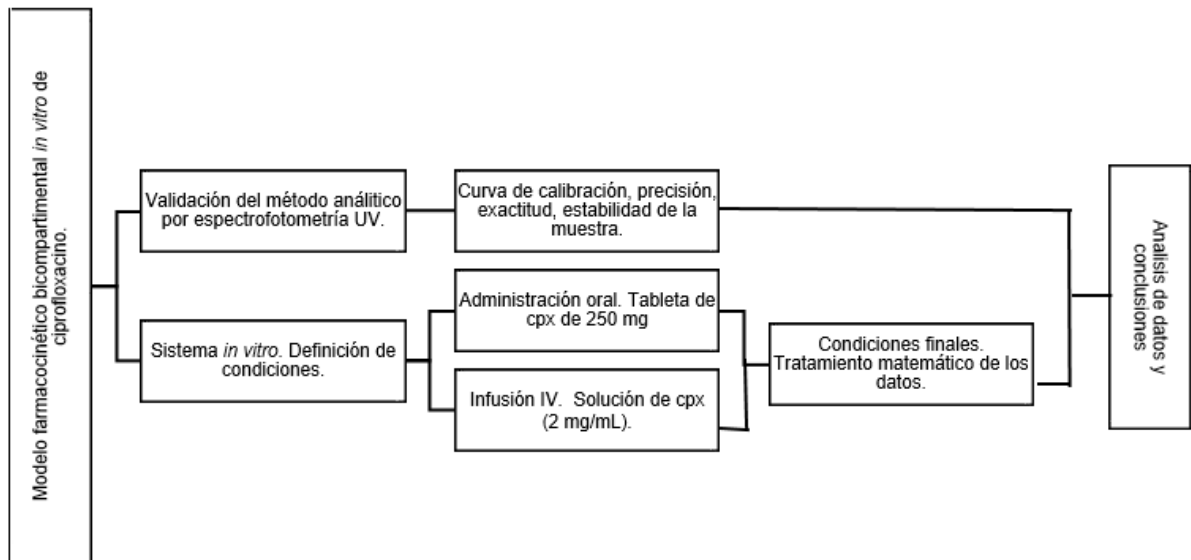


Figura 6. Esquema general de la metodología seguida.

## 6.1 Validación<sup>35</sup>

Los siguientes son los parámetros que se consideraron para la validación del método para cuantificar ciprofloxacino en el sistema *in vitro* para tabletas y para la solución inyectable de ciprofloxacino.

### ➤ **Curva de calibración**

Se prepararon tres curvas de calibración con seis niveles de concentración, para las tabletas con un intervalo de concentración de 1.82 a 10.92 µg/mL y para la solución inyectable de 1 a 10 µg/mL. Se midió la absorbancia de las muestras a 271nm, se definió un modelo matemático para describir la relación entre concentración-respuesta y se obtuvo la concentración recuperada y el porcentaje de desviación empleando la siguiente fórmula.

$$\% \text{ desviación} = 100 \times \frac{\text{concentración adicionada} - \text{concentración obtenida}}{\text{concentración adicionada}}$$

### ➤ **Precisión**

#### ○ **Repetibilidad**

Se analizaron por quintuplicado, en un mismo día, la muestra control del límite inferior de cuantificación, la muestra control baja, media, alta y la muestra control de dilución (LIC, MCB, MCM, MCA y MCD), se calculó la concentración obtenida para cada nivel interpolando su respuesta analítica en la curva de calibración y se obtuvo el CV% del valor promedio.

- **Reproducibilidad**

Se analizaron por quintuplicado en tres corridas analíticas y en dos días distintos las muestras control LIC, MCB, MCM y MCA. Para cada muestra control se calculó la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración y se obtuvo el CV% del valor promedio.

- **Exactitud**

Con los datos de repetibilidad y reproducibilidad se calculó el porcentaje de desviación.

- **Estabilidad de la muestra**

Se colocaron por triplicado a temperatura ambiente y en ausencia de luz muestras de las tabletas y de la solución inyectable de ciprofloxacino en dos niveles de concentración (MCB y MCA), se analizaron al terminar de prepararlas (0 horas), a las 72 horas y después de una semana, se obtuvo la concentración promedio y el porcentaje de desviación con respecto al valor nominal por cada nivel de concentración.

## 6.2 Sistema *in vitro*

### a) Montaje del sistema

Sobre una placa de agitación se colocó un vaso de precipitado modificado (vaso B) que representa el compartimento central, junto a éste, como se muestra en la figura 7, se colocó otro vaso de precipitado modificado sobre una placa de agitación que se encontraba a una altura aproximada de 7 cm. Este vaso (vaso C) representa el compartimento periférico. El vaso C se colocó a mayor altura para que la salida lateral quedaría sobre el vaso B. Para realizar la transferencia del fluido del compartimento central al periférico se empleó una bomba peristáltica, la cual se situó detrás de las placas de agitación, el extremo de la manguera de la bomba con fuerza de succión se colocó dentro del vaso B y el otro extremo en el vaso C. Cada extremo de la manguera se sumergió a la mitad de profundidad de los vasos y se aseguraron con cinta adhesiva para que se mantuvieran junto a la pared interior del vaso.



Figura 7. Sistema *in vitro*. **A**, columna, permite la entrada de agua al compartimento central. **B**, compartimento central. **C**, compartimento periférico.

En la salida lateral del vaso B se colocó un vaso de precipitado para recolectar el fluido eliminado.

La columna de vidrio (A) se instaló en un soporte con un anillo de acero, asegurándola con una abrazadera (figuras 8 y 9), se colocó sobre el vaso B, a una altura tal que la punta de la columna quedara junto a la pared interior del vaso sin tocar el contenido.



Figura 8. Columna sobre anillo de acero inoxidable.

Figura 9. Columna asegurada al soporte universal con una abrazadera.



En la administración por infusión adicionalmente se utilizó una bomba de infusión de jeringa, que se colocó junto al compartimento central, a una altura aproximada de 17 cm de tal manera que la jeringa estuviera al nivel de este compartimento.

### **b) Selección de condiciones**

Para determinar las condiciones óptimas, se realizó el montaje del sistema, se administró el medicamento y se obtuvieron los perfiles de concentración contra tiempo considerando las siguientes condiciones:

Primero se evaluó la velocidad de transferencia del fluido entre compartimentos, de 42-75mL/min (tabla 2), posteriormente se modificaron los volúmenes de los compartimentos central y periférico para observar el efecto sobre los perfiles de concentración (tabla 3). Para la infusión IV, se ensayaron dosis de 6 a 12 mg y velocidades de infusión de ciprofloxacino de 200 a 1333.33  $\mu\text{g}/\text{min}$  (tabla 4).



Tabla 2. Velocidad de transferencia, se refiere al volumen de fluido por unidad de tiempo que se transfiere de un compartimento a otro.

<b>Número de velocidad</b>	<b>Velocidad (mL/min)</b>
6	42-45
7	57-60
8	72-75

Tabla 3. Volumen del compartimento central y del compartimento periférico

	<b>Volumen del compartimento (mL)</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Central	1000	400	400	1000	600	1000
Periférico	1000	1000	600	400	400	600

Tabla 4. Condiciones ensayadas durante la infusión IV, dosis administrada y velocidad de infusión de la solución de ciprofloxacino

<b>No.</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>Velocidad de infusión (µg/min)</b>
<b>1</b>	6	200
<b>2</b>	6	333.33
<b>3</b>	8	533.33
<b>4</b>	4	666.67
<b>5</b>	12	666.67
<b>6</b>	12	833.33
<b>7</b>	20	1333.33

Para cada ensayo, se inició el flujo de agua de la columna, ajustándolo a velocidad de 30 mL/min, se encendió la bomba peristáltica. En la administración oral, la tableta de ciprofloxacino se colocó en el compartimento central y para la administración por infusión IV se empleó una bomba de infusión de jeringa.

Se tomaron muestras del compartimento central y se realizaron las diluciones como se indica en la tabla 5, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 271nm.

Se obtuvieron los perfiles de concentración de ciprofloxacino en el compartimento central.

Además, se tomaron y analizaron, a la misma longitud de onda, muestras del fluido eliminado en los tiempos mostrados en la tabla 6, midiendo el volumen total eliminado en cada tiempo.

Tabla 5. Tiempo de muestreo del compartimento central y factor de dilución de la muestra en la administración oral y por infusión.

<b>Administración oral</b>		<b>Administración por infusión</b>	
<b>Tiempo de muestreo del compartimento central (1mL)</b>	<b>Factor de dilución</b>	<b>Tiempo de muestreo del compartimento central (4 mL)</b>	<b>Factor de dilución</b>
1	10	2	1
2	25	4	1
4	25	6	1
6	25	8	1
8	25	10	1
10	25	12	1
12	25	15	1
15	25	18	1
18	25	20	1
20	25	25	1
25	25	30	1
30	25	35	1
40	10	40	1
50	10	50	1
60	10	60	1
80	10	80	1
100	10	100	1
110	10	110	1
120	10	120	1
140	10		

Tabla 6. Tiempo para la toma de muestra del fluido de eliminación y su factor de dilución correspondiente.

Administración oral		Administración por infusión	
Tiempo de muestreo del fluido de eliminación (1 mL)	Factor de dilución	Tiempo de muestreo del fluido de eliminación (4 mL)	Factor de dilución
3	10	3	1
5	25	6	1
7	25	9	1
9	25	12	1
11	25	15	1
14	25	18	1
17	25	20	1
21	25	25	1
26	25	30	1
31	25	35	1
36	25	40	1
45	25	50	1
58	10	60	1
65	10	70	1
80	10	80	1
95	10	100	1
120	10	120	1
140	10		

### 6.3 Perfiles de concentración y parámetros farmacocinéticos

Se repitió 6 veces el experimento, empleando un compartimento central de 1000mL, compartimento periférico de 600 mL, velocidad de transferencia entre compartimentos de 57 a 60 mL/min y velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min. En el caso de la infusión se administraron 12 mg a velocidad de 666.67  $\mu\text{g}/\text{min}$  y para la vía oral se administró una tableta de 250 mg.

Con los datos de concentración obtenidos del compartimento central se obtuvieron las gráficas de concentración de cpx contra tiempo y las del Ln de la concentración contra tiempo.

Para la administración oral se calculó:  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $k_a$ , A, B,  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ , ABC,  $V_c$ ,  $Cl_T$ ,  $t_{1/2\beta}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{10}$  y para la administración por infusión se calcularon  $\beta$ ,  $\alpha$ , S, R,  $C_{max}$ , ABC,  $Cl_T$ ,  $t_{1/2\beta}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{10}$ , usando el programa WinNolin Pro y mediante el uso de fórmulas como se muestra en el anexo 4.

Con los datos de eliminación se obtuvo la constante  $\beta$  empleando el método de velocidades promedio y con el programa WinNolin Pro.

## 7. Resultados

### 7.1 Validación

Los resultados de la validación se encuentran resumidos en las tablas 7 y 8, los métodos son lineales en el rango de concentración estudiado y cumplen con los criterios de aceptación de los parámetros evaluados. En las tablas, en la columna de resultados se muestra un intervalo, éste expresa el valor más bajo y más alto que se obtuvo para ese parámetro en cada nivel de concentración, para observar los resultados completos ver anexo 2.

Tabla 7. Resumen de resultados de la validación para la solución inyectable de ciprofloxacino

Parámetro	Criterio de aceptación	Resultado
Curva de calibración	Modelo matemático Porcentaje de desviación de concentración recuperada respecto a la concentración nominal $\leq 15\%$ en cada nivel	$y = 0.107x - 0.005$ -0.008 a -3.695%
Precisión Repetibilidad	CV% del valor promedio $\leq 15\%$ .	0.346 a 3.116%
Reproducibilidad	CV% del valor promedio $\leq 15\%$ .	1.871 a 3.130%
Exactitud	Intervalo del valor promedio del % de desviación $\leq 15\%$ .	-0.036 a -4.068%
Estabilidad: 72 horas y 1 semana.	% de desviación con respecto a la muestra recién preparada $\leq 10\%$	-0.344 a 2.567%

Modelo matemático:  $Absorbancia = 0.107 \left( \text{concentración} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \right) - 0.005$

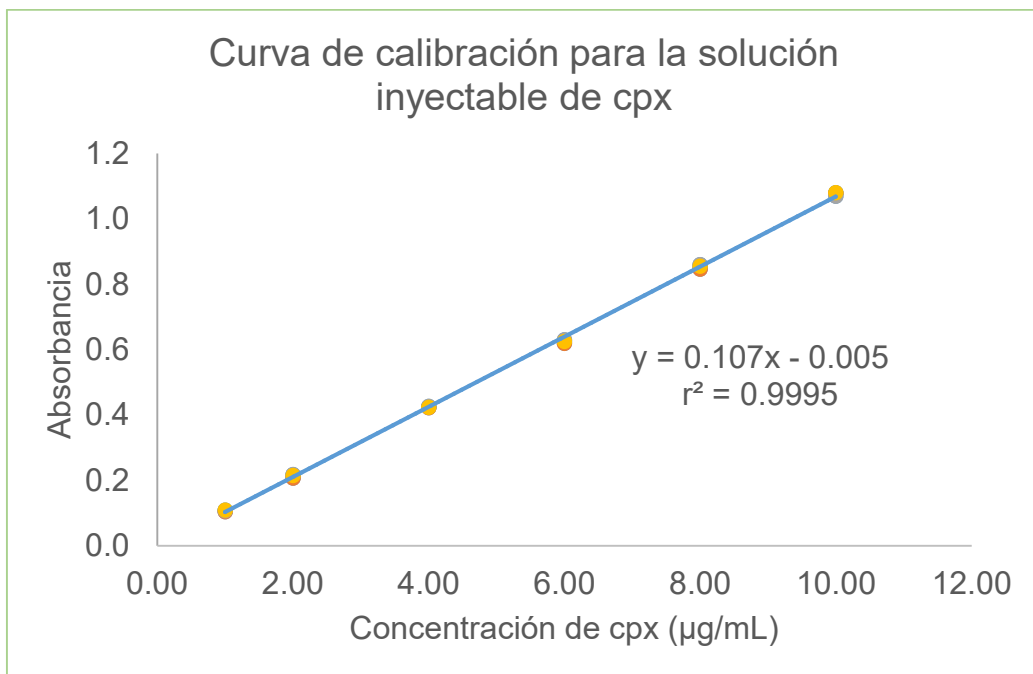


Figura 10. Relación proporcional entre la concentración de ciprofloxacino en solución inyectable y su respuesta analítica (por triplicado) en un intervalo de concentración de 1-10  $\mu\text{g/mL}$ .

Tabla 8. Resumen de resultados de la validación para tabletas de ciprofloxacino

Parámetro	Criterio de aceptación	Resultado
Curva de calibración	Modelo matemático Porcentaje de desviación de concentración recuperada respecto a la concentración nominal $\leq 15\%$ en cada nivel.	$y = 0.0981x - 0.0016$ -0.145 a 2.893%
Precisión	Repetibilidad	CV% del valor promedio $\leq 15\%$ . 0.818 a 1.888%
	Reproducibilidad	CV% del valor promedio $\leq 15\%$ . 1.187 a 2.606%
Exactitud	Intervalo del valor promedio del % de desviación $\leq 15\%$ .	-1.522 a -3.457%
Estabilidad: 72 horas y 1 semana	% de desviación con respecto a la muestra recién preparada $\leq 10\%$	0.345 a 7.601%

Modelo matemático:  $Absorbancia = 0.098 \left( \text{concentración} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \right) - 0.002$

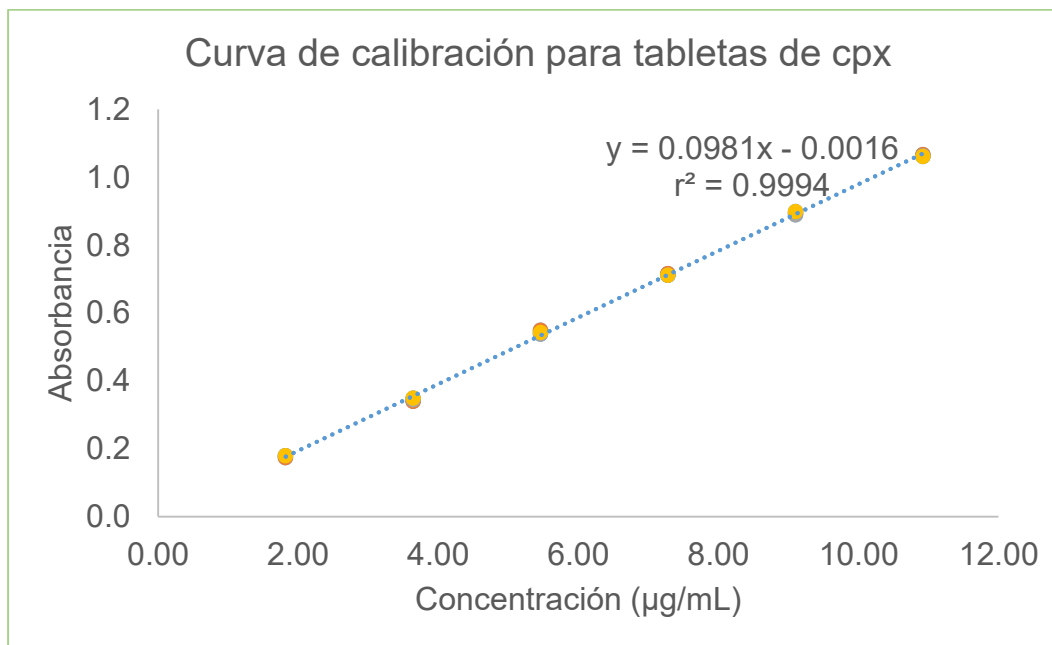
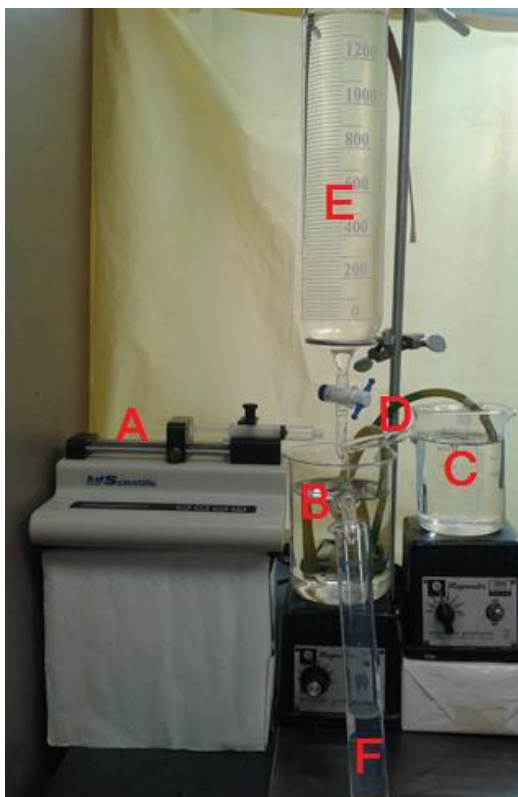


Figura 11. Relación proporcional entre la concentración de ciprofloxacino en tabletas y su respuesta analítica (por triplicado) en un intervalo de concentración 1.82-10.92 µg/mL.

## 7.2 Sistema *in vitro*

Con base en los perfiles mostrados en el anexo 3, se seleccionaron las siguientes condiciones para obtener el comportamiento bicompartimental de ciprofloxacina en el sistema. Para ambas vías de administración se empleó un vaso de precipitados modificado con capacidad para 1000 mL para simular el compartimento central, cuyo volumen real contenido fue de 820 mL; para el compartimento periférico se usó un vaso de precipitados modificado con capacidad de 600 mL, con un volumen real de 485 mL. La velocidad de entrada de agua al sistema con la columna de vidrio, fue aproximadamente de 30 mL/min y la velocidad de transferencia de fluido entre compartimentos, regulada con la bomba peristáltica, de 57 a 60 mL/min. Las condiciones particulares para cada vía de administración se detallan a continuación.

### 7.2.1 Administración intravenosa por infusión



El montaje final del sistema para la administración por infusión se muestra en la figura 12, se administraron 12 mg de ciprofloxacina a velocidad de  $666.67 \mu\text{g}/\text{min}$ .

Figura 12. Sistema *in vitro* con administración por infusión IV. **A**, bomba de jeringa. **B**, compartimento central. **C**, compartimento periférico. **D**, manguera de la bomba peristáltica. **E**, columna para simular la entrada de agua al organismo. **F**, probeta para recolectar el fluido eliminado.

### 7.2.2 Administración oral



En la figura 13 se muestra el montaje final del sistema para la administración oral, se administró una tableta de 250 mg de ciprofloxacina

Figura 13. Sistema *in vitro* para administración oral, **A**, compartimento central. **B**, compartimento periférico. **C**, manguera de la bomba peristáltica, **D**, columna. **E**, probeta para recolectar el fluido eliminado



## 7.3 Perfiles de concentración y parámetros farmacocinéticos

### 7.3.1 Administración por infusión IV

En la tabla 9 se muestran las concentraciones de ciprofloxacina en el compartimento central en el tiempo de muestreo indicado, en la figura 14 se presenta la gráfica de estos datos y en la figura 15 la del logaritmo natural de la concentración, donde se observa que al terminar la infusión, en el minuto 18, la concentración de ciprofloxacino disminuye a dos velocidades distintas, es decir, de forma biexponencial.

Tabla 9. Concentraciones de ciprofloxacino en el compartimento central durante una administración de 12 mg de ciprofloxacino con velocidad de infusión de 666.67 $\mu$ g/min, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

Tiempo (min)	Concentración ( $\mu$ g/mL)						promedio
	1	2	3	4	5	6	
2	1.266	1.473	1.349	1.504	1.089	1.307	1.332
4	2.396	2.832	2.739	2.666	2.376	2.521	2.588
6	3.890	4.014	4.035	3.994	3.662	3.008	3.767
8	4.792	5.332	4.668	5.020	4.647	4.823	4.880
10	5.840	6.141	5.103	5.912	5.850	5.269	5.686
12	6.711	6.773	6.607	6.804	6.400	6.784	6.680
15	7.831	8.070	7.810	7.852	7.914	7.748	7.871
18	8.962	9.314	8.816	9.107	8.806	8.879	8.981
20	7.925	8.101	7.997	7.966	7.873	7.727	7.931
25	6.203	6.638	5.975	6.545	6.172	6.265	6.300
30	5.290	5.560	5.000	5.591	5.166	5.394	5.333
35	4.564	4.927	4.502	4.678	4.595	4.813	4.680
40	4.108	4.315	3.983	4.139	4.139	4.429	4.185
50	3.299	3.527	3.247	3.568	3.319	3.454	3.402
60	2.625	2.905	2.645	2.884	2.614	2.801	2.746
80	1.919	1.961	1.847	1.888	1.816	1.950	1.897
100	1.318	1.266	1.152	1.255	1.204	1.224	1.236
110	1.172	1.048	0.996	1.079	1.089	1.152	1.089
120	0.944	0.944	0.882	0.965	0.913	0.944	0.932

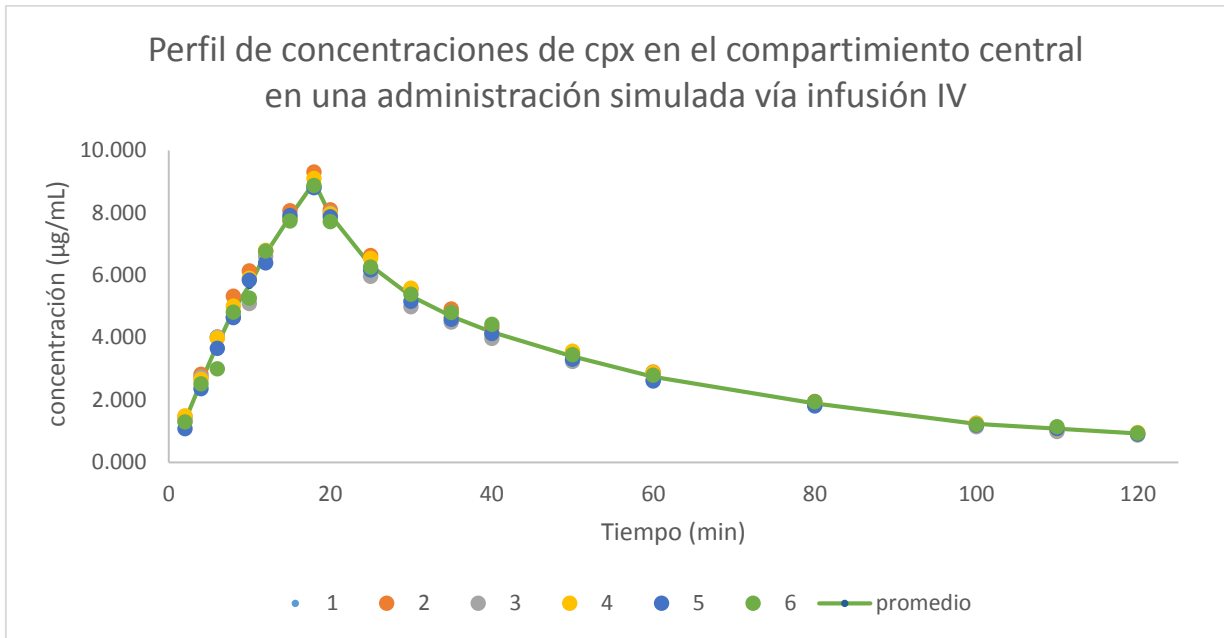


Figura 14. Comportamiento de la concentración de ciprofloxacino en el compartimiento central durante la administración de 12 mg con velocidad de infusión de 666.67 µg/min, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, la línea continua representa el promedio de seis repeticiones realizadas.

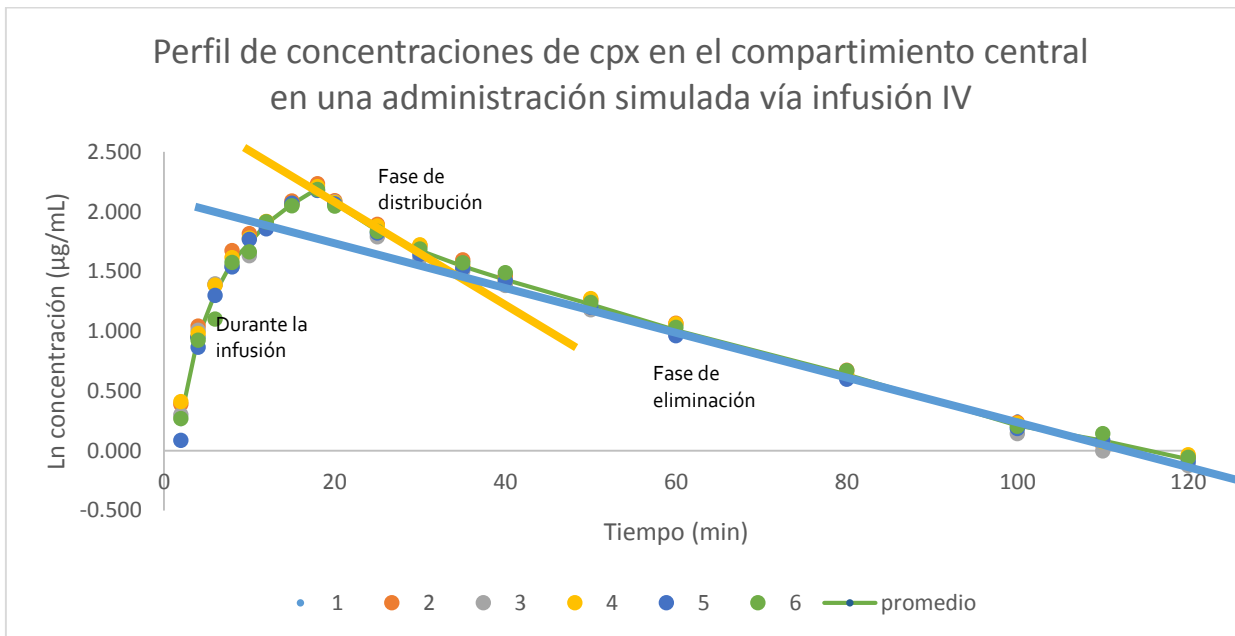
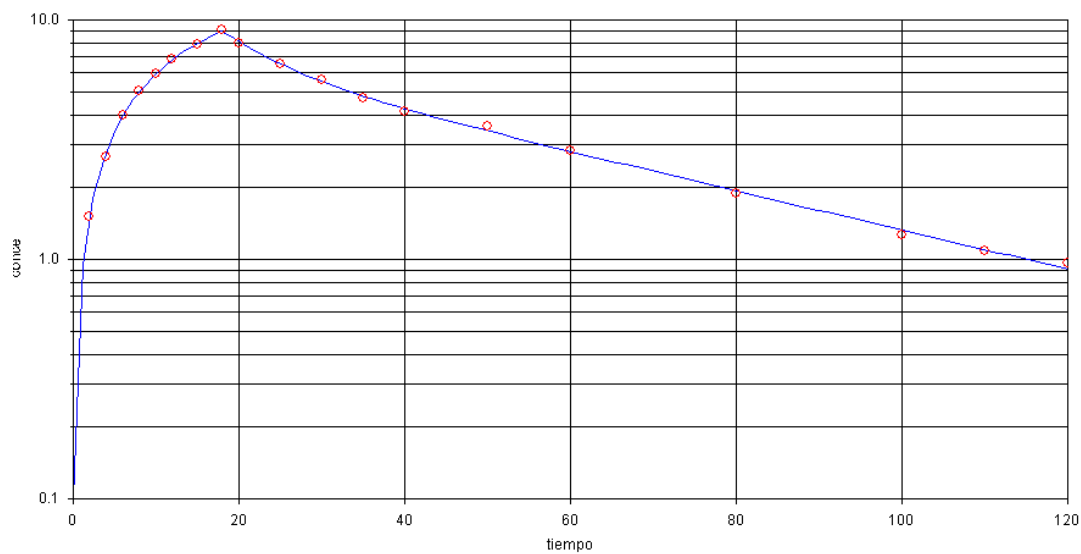


Figura 15. Grafica del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacino en el compartimiento central durante la administración de 12 mg con velocidad de infusión de 666.67 µg/min, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, la línea continua representa el promedio de seis repeticiones realizadas. La línea azul y la línea naranja se colocaron para señalar la tendencia de la concentración en las fases indicadas.

En la figura 16 se presenta la gráfica obtenida con el programa WinNolin Pro, los círculos representan el valor promedio de la concentración, datos presentados en la tabla 9, y la línea continua representa las concentraciones esperadas considerando el ajuste matemático realizado por el programa.

Comportamiento de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central después del análisis bicompartimental con WinNolin Pro.



○ Concentración obtenida experimentalmente

— Valor esperado por ajuste matemático

Figura 16. Gráfica obtenida con el programa WinNolin Pro donde se visualizan los resultados obtenidos experimentalmente y el valor calculado por el programa a partir del ajuste realizado, considerando un modelo bicompartimental.

En la tabla 10 se concentra el promedio del valor de los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos de la tabla 9. En la primer columna se encuentran los resultados obtenidos mediante formulas, consultar anexo 4, y en la segunda columna los que se obtuvieron con el programa WinNolin Pro.

Tabla 10. Parámetros farmacocinéticos para la administración intravenosa por infusión de 12 mg de ciprofloxacina con velocidad de infusión de 666.67  $\mu\text{g}/\text{min}$ , velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min

Parámetro	Promedio $\pm$ DS (n=6)	
	Empleando formulas	Programa WinNolin Pro
$\beta$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.019 $\pm$ 0.001	0.018 $\pm$ 0.001
$\alpha$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.167 $\pm$ 0.029	0.119 $\pm$ 0.018
S ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	8.744 $\pm$ 0.491	/
R ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	63.2 $\pm$ 41.2	/
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	8.98 $\pm$ 0.20	8.79 $\pm$ 0.22
ABC ( $\text{min}^*\mu\text{g}/\text{mL}$ )	438.9 $\pm$ 12.3	436.1 $\pm$ 10.4
$\text{Cl}_T$ (mL/min)	27.43 $\pm$ 0.74	28.15 $\pm$ 1.34
$t_{1/2\beta}$ (min)	36.51 $\pm$ 1.22	38.09 $\pm$ 2.08
$k_{21}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.028 $\pm$ 0.003	0.068 $\pm$ 0.011
$k_{12}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.040 $\pm$ 0.006	0.037 $\pm$ 0.007
$k_{10}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.118 $\pm$ 0.036	0.032 $\pm$ 0.002

Los datos de concentración de ciprofloxacina y volumen eliminado en cada tiempo de muestreo del fluido de eliminación en la administración de 12 mg de ciprofloxacina se muestran en la tabla 11, con estos datos se obtuvo la constante  $\beta$ , para ver el método usado dirigirse al anexo 4. Los resultados de la constante  $\beta$  se presentan en la tabla 12.

Tabla 11. Concentración de ciprofloxacina y volumen del fluido de eliminación en cada tiempo de muestreo en la infusión IV.

Tiempo (min)	Concentración (µg/mL)						Volumen (mL)					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
3	1.052	1.115	0.958	1.302	0.948	1.240	94	78	97	91	97	90
6	2.656	2.844	2.948	2.844	2.635	2.833	91	88	92	92	98	93
9	4.531	4.813	4.302	4.677	4.313	4.406	82	69	93	89	91	95
12	5.781	6.063	5.594	5.917	5.677	5.917	88	90	96	86	89	91
15	7.010	7.365	7.021	7.271	6.979	7.156	91	89	95	104	90	93
18	8.521	8.510	8.188	8.198	8.427	8.260	93	91	95	93	92	92
20	8.406	8.406	8.250	8.354	8.104	7.833	63	62	63	57	65	57
25	7.000	7.198	6.958	6.979	6.990	7.125	148	141	155	148	152	143
30	5.792	5.865	5.656	5.719	5.719	5.885	158	148	154	155	157	143
35	5.052	5.188	4.708	4.958	4.885	5.042	159	151	150	151	145	151
40	4.302	4.531	4.219	4.052	4.323	4.552	154	145	149	153	148	145
50	3.573	3.854	3.583	3.938	3.563	3.677	310	299	294	302	302	315
60	3.042	3.167	2.885	3.021	2.938	3.063	302	294	303	311	304	317
70	2.396	2.500	2.354	2.385	2.375	2.469	302	285	294	323	301	296
80	1.844	2.115	1.927	2.000	1.948	2.000	303	294	294	303	297	308
100	1.573	1.531	1.448	1.521	1.469	1.542	610	598	596	601	601	612
120	1.135	1.146	1.042	1.146	1.104	1.115	592	595	610	617	600	604

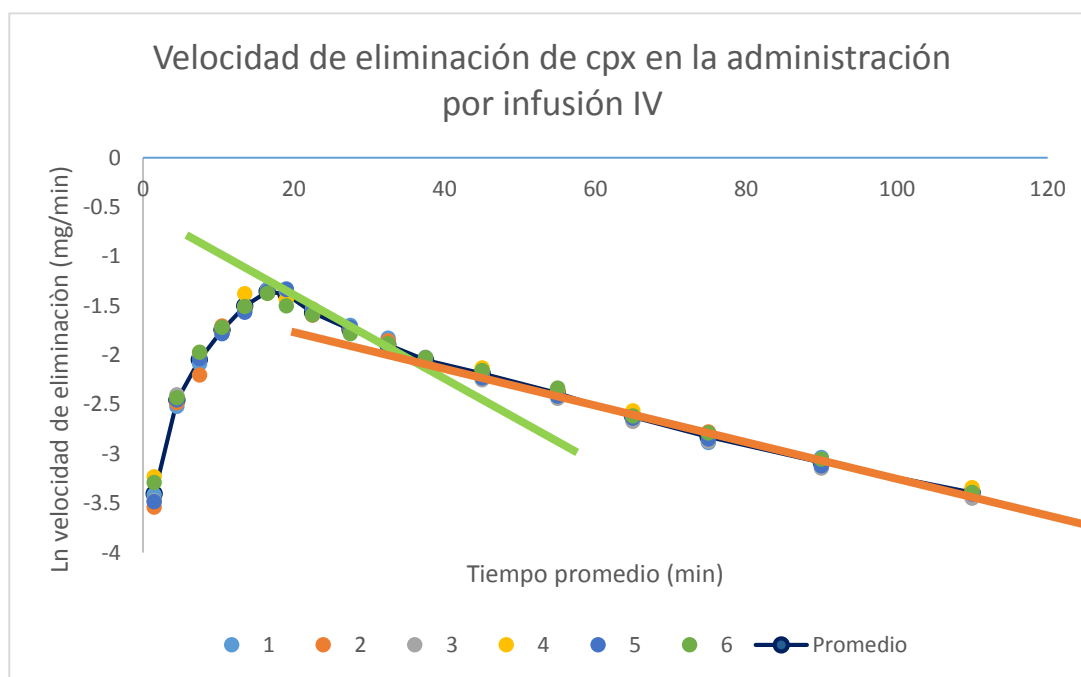


Figura 17. Grafica obtenida a partir de los datos de la tabla 11 con el método de velocidades promedio, se observa la disminución de la concentración de forma biexponencial. La línea verde y la línea naranja se colocaron para señalar la tendencia de la fase de distribución y de eliminación.

Tabla 12. Constante  $\beta$  de la administración por infusión obtenida por el método de velocidades promedio y con el programa WinNolin Pro.

<b>Constante <math>\beta</math> (min<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Experimento</b>	Velocidades promedio	WinNolin Pro
<b>1</b>	0.0176	0.0189
<b>2</b>	0.0180	0.0168
<b>3</b>	0.0183	0.0165
<b>4</b>	0.0180	0.0189
<b>5</b>	0.0180	0.0192
<b>6</b>	0.0187	0.0173
<b>Promedio <math>\pm</math> DS (n=6)</b>	0.0181 $\pm$ 0.0004	0.0179 $\pm$ 0.0012

### 7.3.2 Administración oral

En la tabla 13 se muestran las concentraciones de ciprofloxacina en el compartimento central en el tiempo de muestreo indicado, en la figura 18 se presenta la gráfica de estos datos y en la figura 19 la del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacina. Después de la administración de la tableta, la concentración aumenta hasta llegar a un punto máximo y posteriormente disminuye en dos velocidades.

Tabla 13. Concentraciones de ciprofloxacino en el compartimento central durante una administración simulada vía oral de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

Tiempo (min)	Concentración (µg/mL)						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
1	12.243	13.280	8.198	18.363	14.836	9.339	12.710
2	39.314	46.885	32.261	52.278	45.537	39.729	42.667
4	96.728	115.657	93.876	116.176	90.765	97.247	101.741
6	140.290	173.739	126.029	163.626	134.585	144.698	147.161
8	179.184	214.448	169.331	207.447	160.256	183.851	185.753
10	206.929	185.148	193.445	195.779	192.667	196.557	195.088
12	167.257	168.812	178.666	172.961	186.444	178.925	175.511
15	148.587	149.106	148.069	158.700	162.849	156.366	153.946
18	143.401	137.178	138.734	137.697	143.401	135.104	139.253
20	117.991	128.622	125.510	128.622	128.103	130.696	126.591
25	111.768	111.249	112.805	106.582	112.545	114.879	111.638
30	91.024	94.135	101.914	99.062	102.433	96.469	97.506
40	78.519	85.676	90.239	89.513	82.668	86.713	85.555
50	71.777	70.636	74.578	75.926	70.844	76.756	73.420
60	60.783	60.576	65.347	60.576	58.398	63.480	61.527
80	47.611	49.582	51.656	47.715	42.944	43.981	47.248
100	35.372	35.891	32.053	35.165	32.468	34.543	34.249
110	27.594	29.357	27.179	27.697	24.378	29.875	27.680
120	24.171	25.104	23.963	23.445	20.852	25.001	23.756
140	21.370	19.918	19.711	16.807	18.778	18.363	19.158

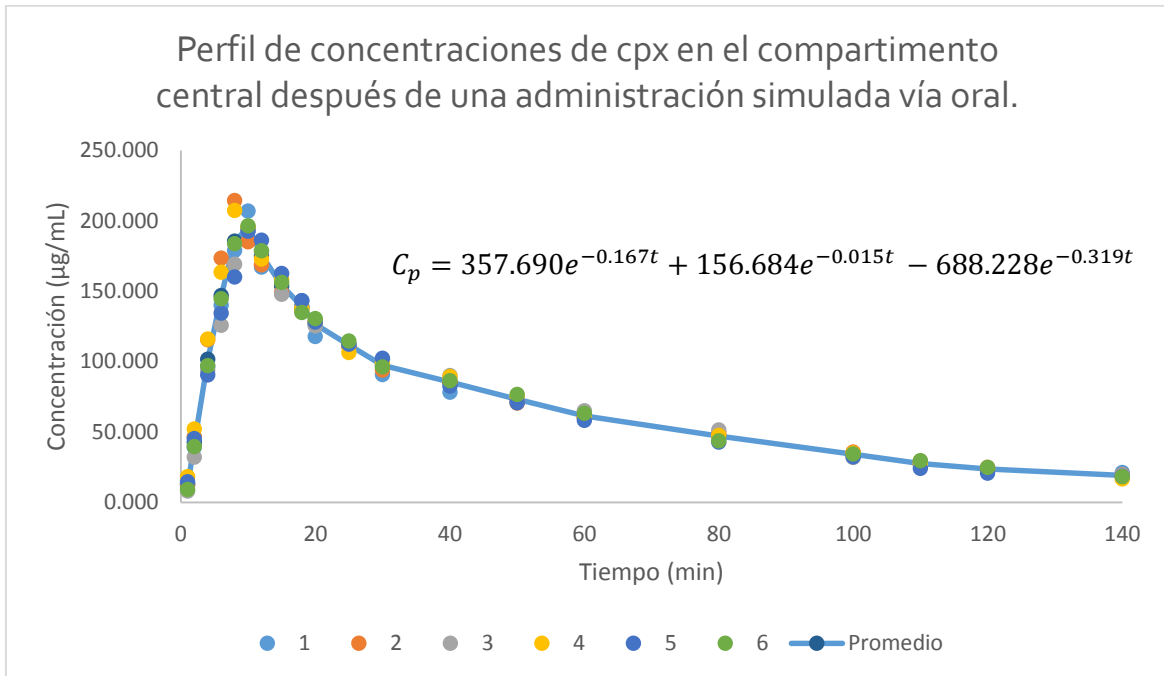


Figura 18. Comportamiento de la concentración de cpx en el compartimento central en una administración simulada vía oral de una tableta de 250 mg, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, la línea continua es el promedio de seis repeticiones realizadas.

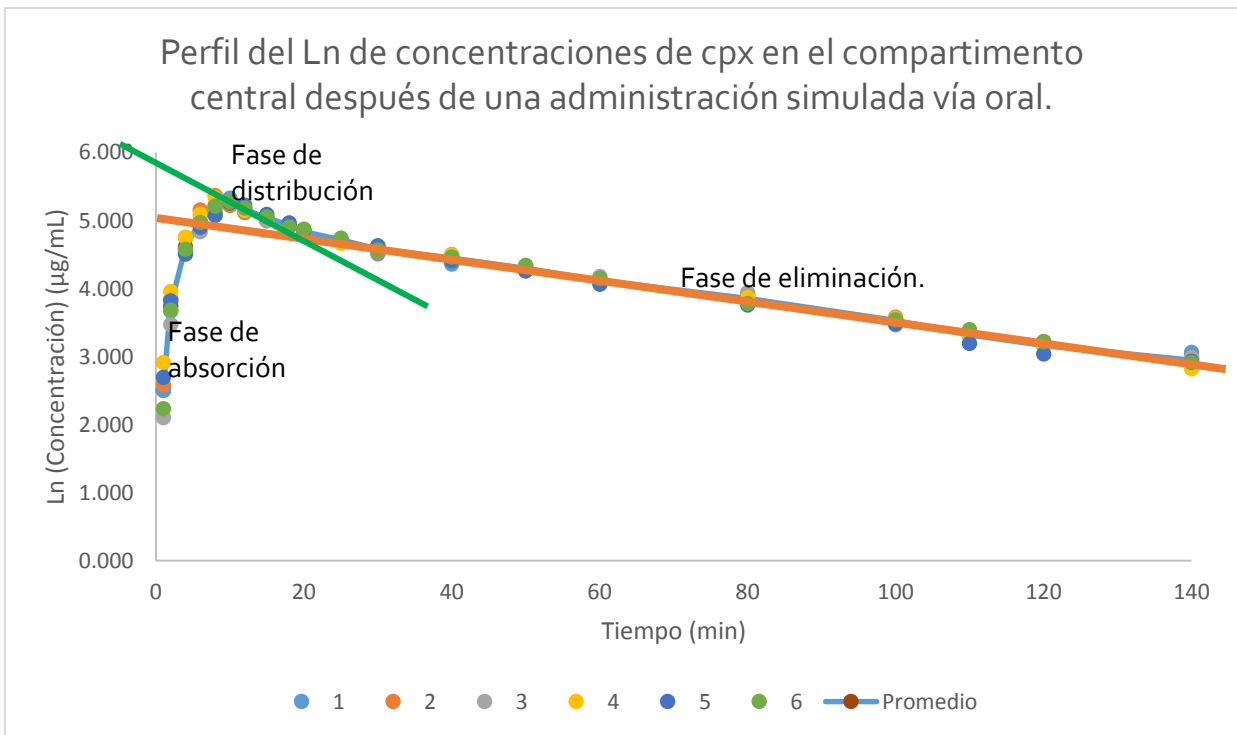


Figura 19. Gráfica del Ln de la concentración de cpx en el compartimento central después de una administración simulada vía oral de una tableta de 250 mg, con velocidad de entrada de fluido de 30mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min. La línea verde y naranja se colocaron para señalar la tendencia de la fase de distribución y de eliminación.



En la figura 20 se presenta la gráfica obtenida con el programa WinNolin Pro, los círculos representan el valor promedio de la concentración presentados en la tabla 13 y la línea continua representa las concentraciones esperadas considerando el ajuste bicompartimental realizado con el programa.

Comportamiento de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central después del análisis bicompartimental con WinNolin Pro

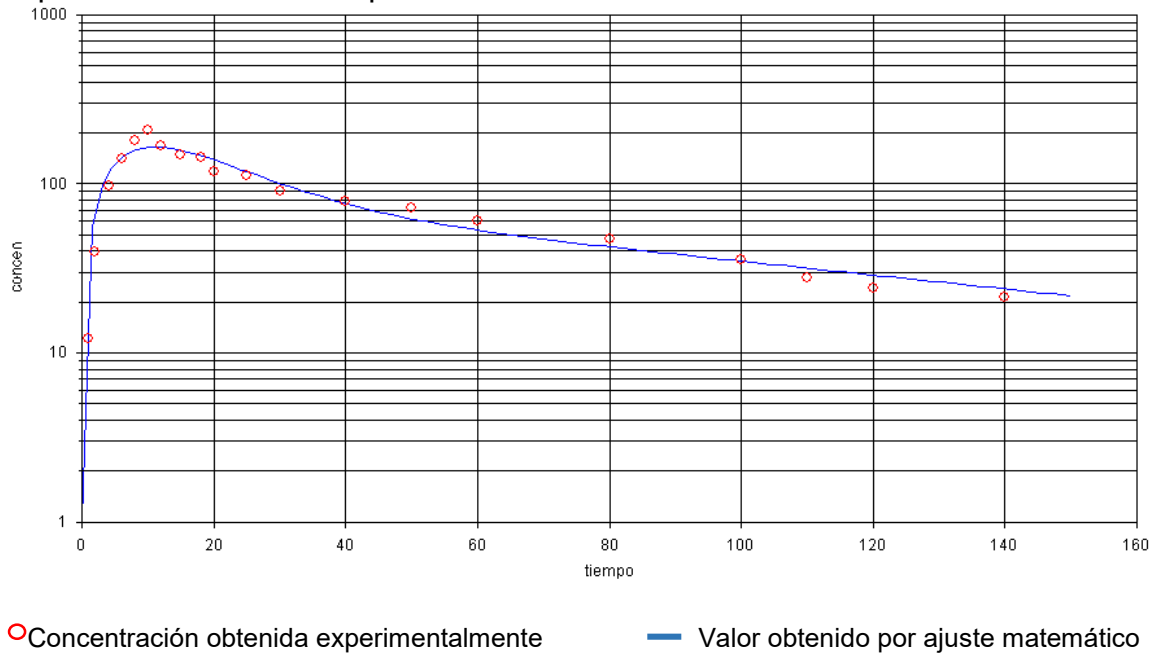


Figura 20. Gráfica obtenida con el programa WinNolin Pro donde se visualizan los resultados obtenidos experimentalmente y el valor calculado por el programa a partir del ajuste realizado considerando un modelo bicompartimental.

En la tabla 14 se concentra el promedio del valor de los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos mostrados en la tabla 13, en la primer columna se muestran los resultados obtenidos mediante formulas, consultar anexo 4, y en la segunda columna los que se obtuvieron con el programa WinNolin Pro.

Tabla 14. Parámetros farmacocinéticos para una administración oral de un tableta de 250 mg de cpx con velocidad de entrada del fluido de 30mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

Parámetro	Promedio $\pm$ DS (n=6)	
	Empleando formulas	Programa WinNolin Pro
$\beta$ (min <sup>-1</sup> )	0.015 $\pm$ 0.001	0.011 $\pm$ 0.001
$\alpha$ (min <sup>-1</sup> )	0.167 $\pm$ 0.042	0.114 $\pm$ 0.011
$k_a$ (min <sup>-1</sup> )	0.319 $\pm$ 0.057	0.114 $\pm$ 0.010
L ( $\mu$ g/mL)	357.69 $\pm$ 149.32	421.10 $\pm$ 60.75
M ( $\mu$ g/mL)	156.68 $\pm$ 10.60	103.22 $\pm$ 9.04
$t_{max}$ (min)	9.33 $\pm$ 1.03	10.99 $\pm$ 0.92
$C_{max}$ ( $\mu$ g/mL)	201.92 $\pm$ 8.93	167.61 $\pm$ 6.13
ABC (min* $\mu$ g/mL)	10.38 $\pm$ 0.20	11.06 $\pm$ 0.31
$V_c$ (mL)	521.3 $\pm$ 148.5	645.7 $\pm$ 25.2
$Cl_T$ (mL/min)	24.10 $\pm$ 0.46	22.49 $\pm$ 0.64
$t_{1/2\beta}$ (min)	45.26 $\pm$ 2.73	63.68 $\pm$ 5.67
$k_{21}$ (min <sup>-1</sup> )	0.052 $\pm$ 0.005	0.036 $\pm$ 0.004
$k_{12}$ (min <sup>-1</sup> )	0.080 $\pm$ 0.028	0.054 $\pm$ 0.008
$k_{10}$ (min <sup>-1</sup> )	0.050 $\pm$ 0.015	0.035 $\pm$ 0.001

Los datos de concentración de ciprofloxacina y el volumen eliminado en cada tiempo de muestreo del fluido de eliminación en la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacina se muestran en la tabla 15, con estos datos se obtuvo la constante  $\beta$ , los resultados se presentan en la tabla 16 y el procedimiento para obtenerla en el anexo 4.

Tabla 15. Se presenta la concentración de ciprofloxacina y el volumen del fluido eliminado en cada tiempo de muestreo en la administración oral

Tiempo (min)	Concentración (µg/mL)						Volumen (mL)					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
3	23.55	12.55	39.52	28.63	26.14	28.94	84	86	95	84	96	95
6	81.69	67.43	100.10	91.02	74.69	93.88	56	62	62	54	65	63
9	137.44	126.81	157.92	131.99	98.80	140.03	53	67	57	65	69	54
12	170.89	170.63	170.37	164.15	141.33	175.81	62	66	64	66	57	60
15	189.82	182.55	183.85	188.78	166.22	198.89	65	69	68	67	60	62
18	163.89	173.22	169.59	173.22	172.44	169.59	88	93	102	96	90	91
20	153.77	168.81	174.26	152.22	149.62	151.44	85	88	85	94	90	100
25	128.62	134.59	132.77	133.29	131.73	134.84	127	119	121	128	115	125
30	113.32	101.66	119.81	114.36	118.25	115.92	136	146	144	144	145	153
35	95.17	105.29	106.84	106.32	98.28	92.32	145	145	154	156	154	155
40	93.10	92.58	85.84	93.62	88.17	89.99	158	156	160	150	156	148
50	86.36	79.36	78.84	86.36	72.61	81.95	264	263	266	292	278	264
60	76.03	73.23	67.73	71.26	68.87	72.50	259	362	310	304	300	304
70	55.08	58.92	56.12	51.86	50.83	56.01	285	228	296	300	303	348
80	48.86	45.43	49.27	40.87	46.78	46.06	434	472	470	462	458	439
100	34.96	36.20	37.03	32.57	34.75	38.28	432	470	442	472	446	448
120	27.70	26.35	23.03	25.83	26.45	29.25	704	782	730	774	760	730
140	20.33	18.47	17.95	19.40	17.74	20.96	546	590	600	620	640	608

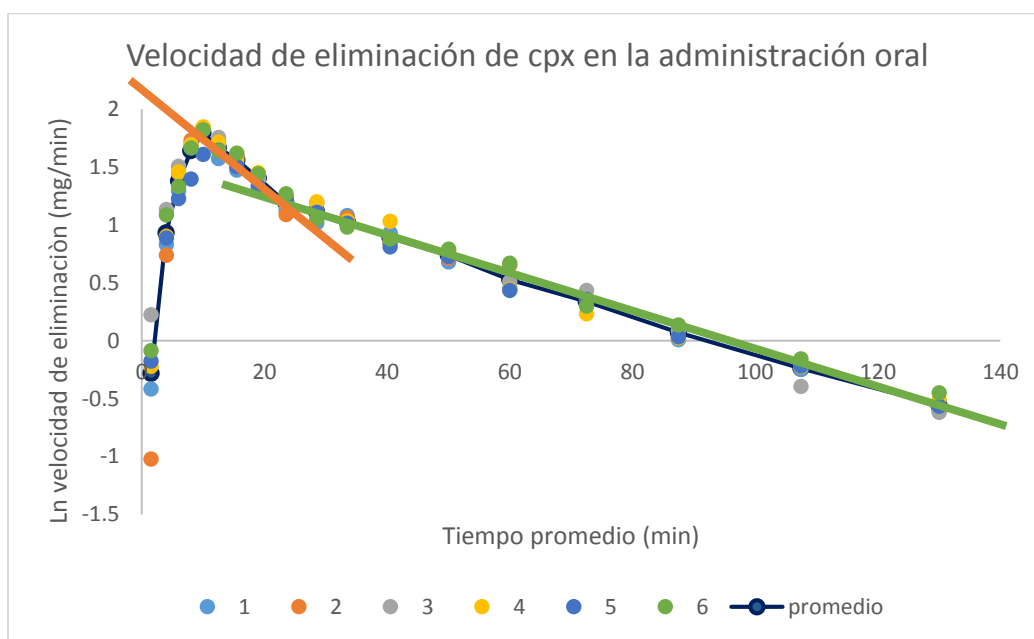


Figura 21. Grafica obtenida a partir de los datos de la tabla 15 con el método de velocidades promedio, se observa la disminución de la concentración de forma biexponencial. La línea naranja y la línea verde se colocaron para señalar la tendencia de la fase de distribución y de eliminación.

Tabla 16. Constante  $\beta$  de la administración oral, obtenida por el método de velocidades promedio y con el programa WinNolin Pro

<b>Constante <math>\beta</math> (min<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Experimento</b>	Velocidades promedio	WinNolin Pro
<b>1</b>	0.0153	0.0140
<b>2</b>	0.0177	0.0168
<b>3</b>	0.0176	0.0181
<b>4</b>	0.0134	0.0125
<b>5</b>	0.0147	0.0141
<b>6</b>	0.0152	0.0137
<b>Promedio <math>\pm</math> DS (n=6)</b>	0.0156 $\pm$ 0.0017	0.0149 $\pm$ 0.0021

## 8. Análisis de resultados

La validación del método analítico se basó en el numeral 9 de la NOM-177-SSA1-2013<sup>35</sup> que establece los criterios y requisitos para el análisis de muestras biológicas de un estudio de biodisponibilidad o bioequivalencia, aunque la cuantificación no se realizó en muestras biológicas, se decidió desarrollarlo de esta forma con la finalidad de aplicar los conceptos y criterios que establece la norma para este tipo de pruebas. La validación cumplió con los criterios de aceptación, los rangos de variación en todos los casos estuvieron dentro de los establecidos en la norma, esto resulta lógico debido a que la matriz en la que se realizaron las pruebas fue agua y no una matriz biológica como supone este tipo de pruebas.

En cuanto al montaje del sistema, el empleo de la columna de 2 litros para la entrada de agua al sistema presenta la ventaja de que se puede controlar de mejor manera la velocidad de flujo, en comparación con el uso de una columna de menor capacidad, conclusión obtenida mediante estudios previos de los cuales no se presentan los resultados, además de que durante el estudio solo debe llenarse dos veces.

Por efecto de la gravedad, el cambio en el nivel de agua de la columna conforme avanza el tiempo modifica la velocidad con la que ésta fluye, para minimizar esta situación, en cada tiempo de muestreo se verificaba la velocidad de flujo y cuando era necesario se ajustaba con la llave de la columna con el fin de mantenerla con las variaciones mínimas.

El modelo bicompartimental se ve influido por diversos factores, tanto de la forma farmacéutica y la vía de administración como de las condiciones propias del

sistema. Las características evaluadas para el sistema de forma general, fueron la velocidad de transferencia de fluido entre compartimentos y el volumen del compartimento central y del periférico, en particular para la administración por infusión IV se evaluó la dosis y la velocidad de infusión.

En el sistema *in vitro*, se logra simular el comportamiento bicompartimental porque al inicio la concentración disminuye rápidamente, debido a la suma de la distribución al compartimento periférico y la eliminación, pero cuando se alcanza el equilibrio de concentraciones entre los dos compartimentos, la disminución de la concentración en el compartimento central es más lenta, dado que solo depende de la eliminación. De forma similar ocurre en el cuerpo cuando un fármaco sigue una farmacocinética bicompartimental.<sup>36</sup>

La velocidad de transferencia de fluido entre compartimentos se reguló con la bomba peristáltica, esta velocidad influye en la concentración máxima de ciprofloxacina en el compartimento central y en el tiempo requerido para alcanzarla después de la administración, si la velocidad es alta las concentraciones en el compartimento central son menores y el equilibrio entre compartimentos se alcanza en menor tiempo, por lo que es difícil observar la fase de distribución. De igual forma ocurre si la velocidad es baja, los cambios son tan lentos que no es posible distinguir esta fase. Como se observa en la figura 22, cuando la velocidad es mayor (72-75 mL/min) la concentración máxima que se obtiene es 179.55µg/mL después de 8 minutos de la administración de una tableta de ciprofloxacina, en cambio, cuando la velocidad de transferencia es menor la concentración máxima y el tiempo para alcanzarla son mayores, por ejemplo con una velocidad de transferencia de 42-

45mL/min la concentración máxima alcanzada es de 231.22 $\mu$ g/mL en 10 minutos. Con las tres velocidades estudiadas 42-45, 57-60 y 72-75 mL/min es posible observar la fase de distribución (figura 22), se eligió la velocidad de 57-60mL/min porque visualmente presenta una mejor caída biexponencial, el tiempo en el que se obtiene la concentración máxima, 210.16 $\mu$ g/mL, ocurre a los 8 minutos de la administración de la tableta de ciprofloxacino, esto permite que se pueda definir la constante de absorción y que alcanzada la concentración máxima pueda distinguirse la fase de distribución y de eliminación.

En cuanto al volumen de los compartimentos, como se puede observar en el anexo 3 figura 23 y 24, en el caso número 2, es donde se visualiza de forma más clara la disminución de la concentración de ciprofloxacina a dos velocidades, esto debido a que el compartimento central, de 400 mL, es de menor volumen que el compartimento periférico, de 1000 mL, por lo que las concentraciones iniciales de ciprofloxacina son altas por el pequeño volumen del compartimento central pero después presentan una disminución rápida porque se distribuyen en un volumen grande. Sin embargo, por ser una condición que no ocurre en condiciones fisiológicas normales se buscó otra opción en la que también se observará la caída biexponencial y el compartimento central fuera de mayor volumen que el periférico. En el caso 3 y 5 también se alcanzaron concentraciones máximas altas, 330.26 y 283.38  $\mu$ g/mL respectivamente, debido a que el compartimento central empleado fue de volumen pequeño, de 400 y 600 mL, y al tratarse de un menor volumen las concentraciones son mayores. En el caso 1, 4 y 6 donde el volumen del compartimento central fue de 1000mL, la concentración máxima fue similar en los

tres casos, 182.55, 180.27 y 206.82  $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivamente, sin embargo en las gráficas del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacino vs tiempo (figura 24), se observa de mejor forma la disminución biexponencial de la concentración al emplear un compartimento periférico de 600 mL (caso 6) en lugar de uno de 400 mL (caso 4), esto debido a que al ser de mayor volumen el compartimento periférico la concentración disminuye de forma más pronunciada y es posible hacer la distinción entre la velocidad de distribución y la de eliminación. Por esta razón se eligió, para ambas vías de administración, un compartimento central de 1000 mL y uno periférico de 600 mL.

En una administración oral si el fármaco es rápidamente absorbido, la disminución de la concentración en el perfil de concentración-tiempo en el compartimento central después de terminada la fase de absorción será biexponencial, reflejando la fase de distribución y de eliminación. Sin embargo, si la absorción del fármaco es lenta, no se observará la fase de distribución, entonces las curvas de concentración plásmatica-tiempo aparecen como si solo existiera el proceso de eliminación.<sup>10</sup> Esta misma condición puede observarse también en el sistema *in vitro*. Para simular el proceso de absorción que ocurre en una administración oral, es conveniente representar una cavidad oral con un vaso de precipitado modificado en el que se administre la tableta y de éste pase al compartimento central para representar el proceso de absorción, sin embargo en el sistema *in vitro* planteado la administración de la tableta se realizó directamente en el compartimento central para conservar lo más simple posible el sistema. Se propuso que la administración se realizará en el compartimento central, considerando que en las pruebas previas realizadas se



podía simular una fase de absorción, que en este sistema depende de la disgregación de la tableta y la solubilidad del fármaco.

En la administración intravenosa por infusión, cuanto mayor sea el tiempo en el que se administre una dosis, menor será la velocidad de infusión, y por tanto, menor será la concentración máxima que se alcance al final de la infusión.<sup>25</sup> Esto también es válido en el sistema *in vitro*, como se puede observar en la figura 25, donde se muestran los perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central obtenidos después de una administración simulada vía infusión IV con dosis entre 6 y 20 mg y velocidades de infusión de 200 a 1333.33  $\mu\text{g}/\text{min}$ . Cuando la velocidad de infusión es mayor (1333.33  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) la concentración máxima alcanzada, 15.64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , es superior a la concentración máxima cuando la velocidad de infusión es menor, por ejemplo, con una velocidad de infusión de 200  $\mu\text{g}/\text{min}$  la concentración máxima es de 4.42  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Esto tiene relación con la velocidad de infusión, la velocidad de distribución y la de eliminación, si la velocidad de infusión es alta, las concentraciones alcanzadas serán altas porque el fármaco se va acumulando en el compartimento central a mayor velocidad de lo que pasa al compartimento periférico y regresa al central para eliminarse. Para seleccionar las condiciones para el sistema *in vitro* se consideró que la dosis y los volúmenes de los compartimentos (1000 mL para el central y 600 mL para el periférico) permitieran que las concentraciones durante todo el estudio se encontraran dentro de las concentraciones de la curva de calibración y así obtener su absorbancia directamente, sin realizar diluciones. El tiempo que duró la infusión (18 min) se eligió con base en la figura 25 y 26, considerando que se pudiera caracterizar la curva de

concentraciones durante la infusión y posteriormente se observará la caída biexponencial en un tiempo aproximado de 2 horas.

La transferencia de fármaco entre compartimentos, la eliminación y la absorción son procesos que siguen una cinética de primer orden, lo que significa que la velocidad del proceso es proporcional a la cantidad de fármaco presente en el organismo.<sup>9,10,37</sup> Esto quiere decir que los valores cambian de forma exponencial, por esta razón se presentan las gráficas en escala logarítmica.

Con las condiciones elegidas para cada vía de administración fue posible obtener perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central que se ajustan a un modelo bicompartimental, los parámetros se calcularon usando fórmulas matemáticas y WinNolin Pro, el valor de los parámetros obtenidos no pueden ser comparados con los reportados para animales o humanos, debido a que se trata de un sistema *in vitro* simple, en el que solo se busca representar un comportamiento bicompartimental después una administración simulada vía oral e intravenosa. Los valores de las constantes de distribución y eliminación en ambas vías de administración fueron similares, para la administración por infusión  $\alpha=0.167\pm 0.029$  y  $\beta=0.019\pm 0.001$ , y para la administración oral  $\alpha=0.167\pm 0.042$  y  $\beta=0.015\pm 0.001$ , como se mencionó la velocidad de estos procesos son proporcionales a la cantidad de fármaco presente en el sistema, también depende de la velocidad de adición del agua y de la velocidad de transferencia entre compartimentos, en ambas vías de administración la velocidad de transferencia entre compartimentos fue de 57-60mL/min por lo que la constante de distribución es similar.

Otros parámetros, como el  $t_{1/2}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{10}$ , son parámetros derivados y dependen de otros factores, como la dosis administrada, por lo que es lógico que los valores sean distintos para cada vía de administración.

La finalidad de obtener los parámetros farmacocinéticos con WinNolinPro es mostrar que es posible obtener los resultados fácilmente con un programa diseñado para este fin, sin embargo se debe recalcar la importancia de comprender el significado de cada parámetro para entender la forma en la que pueden influir algunos factores, como la forma farmacéutica, la administración e incluso factores fisiológicos o fisiopatológicos. No se busca comparar los resultados obtenidos empleando fórmulas matemáticas con los obtenidos con un programa computarizado, los programas realizan el mejor ajuste para los datos, además se debe recordar que las concentraciones se manejan en escala logarítmica lo que ocasiona que el error aumente en los parámetros derivados.

## 9. Conclusiones

Se validó el método para cuantificar el fármaco de interés de acuerdo a NOM-177-SSA1-2013.

Se propone un sistema *in vitro* con vasos comunicantes que permite la obtención de perfiles de concentración de ciprofloxacina que muestran un comportamiento bicompartimental después de la administración vía oral e intravenosa. Empleando un compartimento central de 1000 mL, un compartimento periférico de 600 mL, velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60mL/min, en la administración oral una dosis de 250 mg y en el caso de la administración por infusión, la administración de 12 mg de ciprofloxacina con velocidad de infusión de 666.67  $\mu\text{g}/\text{min}$ .

De esta manera se propone un sistema *in vitro* capaz de simular un comportamiento farmacocinético bicompartimental, continuando con la tendencia de los métodos y prácticas de enseñanza, para disminuir el número de animales vivos utilizados en docencia.

## 10. ANEXOS

### Anexo 1. Abreviaturas

$\alpha$  = Constante de velocidad de la fase de distribución

$\beta$  = Constante de velocidad de la fase de eliminación

ABC = Área bajo la curva

B= Ordenada al origen

$C_0$  = Concentración plasmática a tiempo cero

$C_\infty$  = Concentración al tiempo infinito

Cc = Compartimento central

$Cl_T$  = Depuración total

$C_{max}$  = Concentración máxima

Cp = Compartimento periférico

Cpx= Ciprofloxacino

CV% = Coeficiente de variación en porcentaje

DE = Desviación estándar

$k_0$  = Velocidad de entrada en una infusión intravenosa

$k_{10}$  = Constante de eliminación

$k_{12}$  = Constante de velocidad de transferencia del compartimento 1 al 2

$k_{21}$  = Constante de velocidad de transferencia del compartimento 2 al 1

$k_a$  = Constante de velocidad de absorción

$k_e$  = Constante de eliminación

L = Ordenada al origen de la fase de distribución en la administración oral

LIC = Límite inferior de cuantificación

Ln= logaritmo natural

M = Ordenada al origen de la fase de eliminación en la administración oral

m = Pendiente

MCA= Muestra control alta

MCB= Muestra control baja

MCD= Muestra control diluida

MCM = Muestra control media

N = Ordenada al origen de la fase de absorción en la administración oral

R = Ordenada al origen de la fase de distribución en la administración vía infusión

$r^2$  = Coeficiente de determinación

S = Ordenada al origen de la fase de eliminación en la administración vía infusión

$t_{1/2}$  = Tiempo de vida media

T = Tiempo que dura la infusión

$V_c$  = Volumen aparente de distribución en el compartimento central

$X_0$ = Dosis intravenosa

## Anexo 2. Validación

### Resultados de la validación para la solución inyectable de ciprofloxacino

#### ➤ Curva de calibración

Tabla 17. Respuesta analítica para la solución del inyectable de ciprofloxacino

Concentración µg/mL	Absorbancia			Promedio	DE
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
1.00	0.104	0.107	0.109		
2.00	0.207	0.218	0.215		
4.00	0.422	0.426	0.423		
6.00	0.619	0.63	0.625		
8.00	0.846	0.86	0.855		
10.00	1.078	1.070	1.080		

parámetro	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	DE
m	0.108	0.107	0.107	0.107	0.000
b	-0.010	0.000	-0.004	-0.005	0.005
r <sup>2</sup>	0.9993	0.9998	0.9994	0.9995	

Tabla 18. Concentración recuperada de la curva de calibración y porcentaje de desviación respecto al nivel nominal para cada nivel de concentración.

Concentración (µg/mL)	Concentración recuperada µg/mL			% de desviación			promedio
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3	
1	1.012	1.04	1.059	-1.209	-4.006	-5.870	-3.695
2	1.972	2.075	2.047	1.386	-3.741	-2.342	-1.566
4	3.977	4.014	3.986	0.587	-0.346	0.354	0.198
6	5.813	5.916	5.869	3.117	1.408	2.184	2.236
8	7.929	8.06	8.013	0.886	-0.746	-0.163	-0.008
10	10.092	10.017	10.111	-0.919	-0.173	-1.105	-0.732

➤ **Precisión**

○ **Repetibilidad**

Tabla 19. Concentración de muestras preparadas y analizadas en mismo día.

<b>Concentración (µg/mL)</b>								
<b>Muestra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Promedio</b>	<b>DE</b>	<b>CV%</b>
<b>LIC</b>	1.012	1.040	1.059	1.031	0.975	1.023	0.032	3.116
<b>MCB</b>	2.970	2.960	2.932	3.007	3.007	2.975	0.032	1.076
<b>MCM</b>	4.890	4.843	4.825	4.890	4.937	4.877	0.044	0.903
<b>MCA</b>	6.866	6.848	6.894	6.838	6.885	6.866	0.024	0.346

○ **Reproducibilidad.**

Tabla 20. Concentración de las muestras LIC, MCB, MCM y MCA obtenida por quintuplicado en tres corridas analíticas distintas y en dos días distintos.

<b>Concentración (µg/mL)</b>					
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>				
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>LIC</b>	1.012	1.040	1.059	1.031	0.975
<b>MCB</b>	2.970	2.960	2.932	3.007	3.007
<b>MCM</b>	4.890	4.843	4.825	4.890	4.937
<b>MCA</b>	6.866	6.848	6.894	6.838	6.885
	<b>Día 2.1</b>				
<b>LIC</b>	0.984	1.040	1.068	1.059	1.096
<b>MCB</b>	2.942	3.035	3.054	3.007	3.035
<b>MCM</b>	5.067	4.983	4.918	4.983	4.937
<b>MCA</b>	6.941	6.913	6.969	6.922	6.988
	<b>Día 2.2</b>				
<b>LIC</b>	1.068	1.021	1.068	1.049	1.040
<b>MCB</b>	2.914	3.026	3.082	3.016	3.119
<b>MCM</b>	5.142	5.254	5.179	5.291	5.132
<b>MCA</b>	7.230	7.118	7.295	7.183	7.146
	<b>Promedio</b>	<b>DE</b>		<b>CV%</b>	
	<b>(µg/mL)</b>				
<b>LIC</b>	1.041	0.033	3.130		
<b>MCB</b>	3.007	0.056	1.871		
<b>MCM</b>	5.018	0.150	2.979		
<b>MCA</b>	7.003	0.151	2.154		



➤ **Exactitud**

Tabla 21. Porcentaje de desviación de la concentración obtenida respecto al valor nominal de los datos de repetibilidad y reproducibilidad.

<b>% de desviación</b>					
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>				
<b>LIC</b>	-1.209	-4.006	-5.870	-3.073	2.520
<b>MCB</b>	1.009	1.319	2.252	-0.234	-0.234
<b>MCM</b>	2.198	3.130	3.503	2.198	1.266
<b>MCA</b>	1.908	2.175	1.509	2.308	1.642
	<b>Día 2.1</b>				
<b>LIC</b>	1.588	-4.006	-6.802	-5.870	-9.599
<b>MCB</b>	1.941	-1.167	-1.788	-0.234	-1.167
<b>MCM</b>	-1.345	0.333	1.638	0.333	1.266
<b>MCA</b>	0.843	1.243	0.444	1.109	0.177
	<b>Día 2.2</b>				
<b>LIC</b>	-6.802	-2.141	-6.802	-4.938	-4.006
<b>MCB</b>	2.873	-0.856	-2.720	-0.545	-3.963
<b>MCM</b>	-2.836	-5.073	-3.582	-5.819	-2.650
<b>MCA</b>	-3.285	-1.687	-4.218	-2.619	-2.087

<b>Muestra</b>	<b>Promedio (%)</b>
<b>LIC</b>	-4.068
<b>MCB</b>	-0.234
<b>MCM</b>	-0.363
<b>MCA</b>	-0.036

➤ **Estabilidad de la muestra.**

Tabla 22. Concentración de las muestras almacenadas a temperatura ambiente y sin exposición a la luz.

<b>Concentración (µg/mL)</b>							
<b>Muestra</b>	<b>0 horas</b>	<b>72 horas</b>	<b>1 semana</b>	<b>Muestra</b>	<b>0 hora</b>	<b>72 horas</b>	<b>1 semana</b>
<b>MCB 1</b>	2.942	2.895	2.942	<b>MCA 1</b>	6.941	7.025	7.137
<b>MCB 2</b>	3.035	2.97	2.951	<b>MCA 2</b>	6.913	6.857	6.988
<b>MCB 3</b>	3.054	2.904	2.895	<b>MCA 3</b>	6.969	6.978	7.081
<b>Promedio (µg/mL)</b>	3.010	2.923	2.929	<b>Promedio (µg/mL)</b>	6.941	6.953	7.069
<b>%desviación</b>	-0.344	2.567	2.356	<b>%desviación</b>	0.843	0.667	-0.981

## Resultado de la validación para las tabletas de ciprofloxacino

### ➤ Curva de calibración

Tabla 23. Respuesta analítica de las soluciones preparadas a partir de tabletas de ciprofloxacino

Concentración µg/mL	Absorbancia			Promedio	DE
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
1.82	0.174	0.180	0.180	0.098	0.001
3.64	0.340	0.345	0.350	-0.002	0.004
5.46	0.550	0.538	0.543	0.9995	
7.28	0.716	0.712	0.712		
9.10	0.895	0.890	0.899		
10.92	1.067	1.063	1.061		

parámetro	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	DE
m	0.099	0.098	0.098	0.098	0.001
b	-0.006	-0.001	0.002	-0.002	0.004
r <sup>2</sup>	0.9991	0.9997	0.9996	0.9995	

Tabla 24. Concentración recuperada de la curva de calibración y porcentaje de desviación respecto al valor nominal para cada nivel de concentración.

Concentración (µg/mL)	Concentración recuperada µg/mL			% de desviación			promedio
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3	
1.82	1.791	1.852	1.852	1.592	-1.770	-1.770	-0.649
3.64	3.484	3.535	3.586	4.294	2.893	1.492	2.893
5.46	5.625	5.503	5.554	-3.023	-0.782	-1.716	-1.840
7.28	7.318	7.277	7.277	-0.518	0.042	0.042	-0.145
9.10	9.143	9.092	9.184	-0.472	0.088	-0.921	-0.435
10.92	10.897	10.856	10.835	0.212	0.585	0.772	0.523

➤ **Precisión**

○ **Repetibilidad**

Tabla 25. Concentración de muestras preparadas y analizadas el mismo día.

<b>Concentración (µg/mL)</b>								
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>					<b>Promedio</b>	<b>DE</b>	<b>CV%</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>			
<b>LIC</b>	1.791	1.852	1.852	1.801	1.781	1.815	0.034	1.888
<b>MCB</b>	4.381	4.493	4.585	4.452	4.513	4.485	0.075	1.681
<b>MCM</b>	6.461	6.410	6.379	6.410	6.318	6.396	0.052	0.818
<b>MCA</b>	8.164	8.113	8.225	8.123	8.276	8.180	0.069	0.848
<b>MCD-10</b>	7.134	7.144	7.195	7.205	7.052	7.146	0.061	0.853
<b>MCD-25</b>	2.698	2.688	2.668	2.749	2.760	2.713	0.040	1.470

○ **Reproducibilidad**

Tabla 26. Concentración de las muestras LIC, MCB, MCM y MCA obtenidas por quintuplicado en tres corridas analíticas distintas y en dos días distintos.

<b>Concentración (µg/mL)</b>					
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>				
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>LIC</b>	1.791	1.852	1.852	1.801	1.781
<b>MCB</b>	4.381	4.493	4.585	4.452	4.513
<b>MCM</b>	6.461	6.410	6.379	6.410	6.318
<b>MCA</b>	8.164	8.113	8.225	8.123	8.276
	<b>Día 2.1</b>				
<b>LIC</b>	1.954	1.852	1.924	1.842	1.913
<b>MCB</b>	4.758	4.605	4.605	4.564	4.585
<b>MCM</b>	6.369	6.471	6.573	6.451	6.492
<b>MCA</b>	8.266	8.276	8.327	8.378	8.286
	<b>Día 2.2</b>				
<b>LIC</b>	1.873	1.873	1.862	1.903	1.852
<b>MCB</b>	4.605	4.544	4.758	4.564	4.595
<b>MCM</b>	6.583	6.543	6.543	6.604	6.604
<b>MCA</b>	8.358	8.409	8.398	8.368	8.388
	<b>Promedio</b>	<b>DE</b>	<b>CV%</b>		
	<b>(µg/mL)</b>				
<b>LIC</b>	1.862	0.049	2.606		
<b>MCB</b>	4.574	0.098	2.146		
<b>MCM</b>	6.481	0.092	1.414		
<b>MCA</b>	8.290	0.098	1.187		

➤ **Exactitud**

Tabla 27. Porcentaje de desviación de la concentración obtenida respecto al valor nominal de los datos de repetibilidad y reproducibilidad.

<b>% de desviación</b>					
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>				
<b>LIC</b>	1.592	-1.770	-1.770	1.032	2.152
<b>MCB</b>	3.713	1.248	-0.769	2.145	0.800
<b>MCM</b>	-1.432	-0.631	-0.151	-0.631	0.809
<b>MCA</b>	0.316	0.939	-0.431	0.814	-1.053
	<b>Día 2.1</b>				
<b>LIC</b>	-10.386	-4.626	-8.658	-4.050	-8.082
<b>MCB</b>	-7.514	-4.058	-4.058	-3.136	-3.597
<b>MCM</b>	-2.797	-4.443	-6.089	-4.114	-4.772
<b>MCA</b>	-3.761	-3.889	-4.529	-5.169	-4.017
	<b>Día 2.2</b>				
<b>LIC</b>	-5.778	-5.778	-5.202	-7.506	-4.626
<b>MCB</b>	-4.058	-2.675	-7.514	-3.136	-3.827
<b>MCM</b>	-6.253	-5.595	-5.595	-6.582	-6.582
<b>MCA</b>	-4.913	-5.553	-5.425	-5.041	-5.297
<b>Muestra</b>	<b>Promedio (%)</b>				
<b>LIC</b>	-3.457				
<b>MCB</b>	-1.522				
<b>MCM</b>	-2.425				
<b>MCA</b>	-2.078				

➤ **Estabilidad de la muestra.**

Tabla 28. Concentración de las muestras almacenadas a temperatura ambiente y sin exposición a la luz.

<b>Concentración (µg/mL)</b>							
<b>Muestra</b>	<b>0 horas</b>	<b>72 horas</b>	<b>1 semana</b>	<b>Muestra</b>	<b>0 hora</b>	<b>72 horas</b>	<b>1 semana</b>
<b>MCB 1</b>	4.605	4.544	4.422	<b>MCA 1</b>	8.358	8.358	8.184
<b>MCB 2</b>	4.595	4.289	4.218	<b>MCA 2</b>	8.409	8.409	8.103
<b>MCB 3</b>	4.564	4.218	3.973	<b>MCA 3</b>	8.398	8.470	8.368
<b>Promedio (µg/mL)</b>	4.588	4.350	4.204	<b>Promedio (µg/mL)</b>	8.388	8.412	8.218
<b>%desviación</b>	-0.840	4.389	7.601	<b>%desviación</b>	-2.420	-2.710	-0.345

### Anexo 3. Perfiles de concentración

Perfiles de concentración obtenidos a diferentes velocidades de transferencia de fluido entre el compartimento central y el compartimento periférico, después de la administración vía oral de una tableta de 250mg de ciprofloxacina.

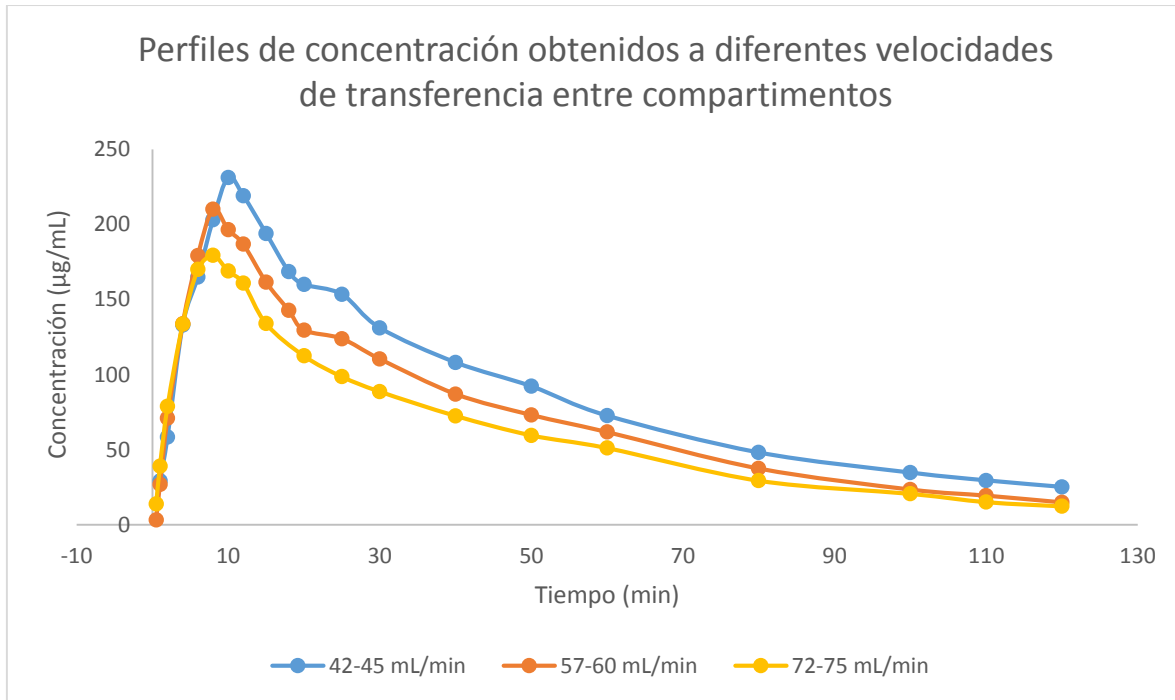


Figura 22. Perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central obtenidos después de la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacina, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min modificando la velocidad de transferencia de fluido entre compartimentos.

Perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central modificando los volúmenes del compartimento central y periférico, después de la administración vía oral de una tableta de 250mg de ciprofloxacina.

Tabla 29. Volumen del compartimento central y del compartimento periférico

	Volumen del compartimento (mL)					
Central	1	2	3	4	5	6
Periférico	1000	400	400	1000	600	1000
Periférico	1000	1000	600	400	400	600

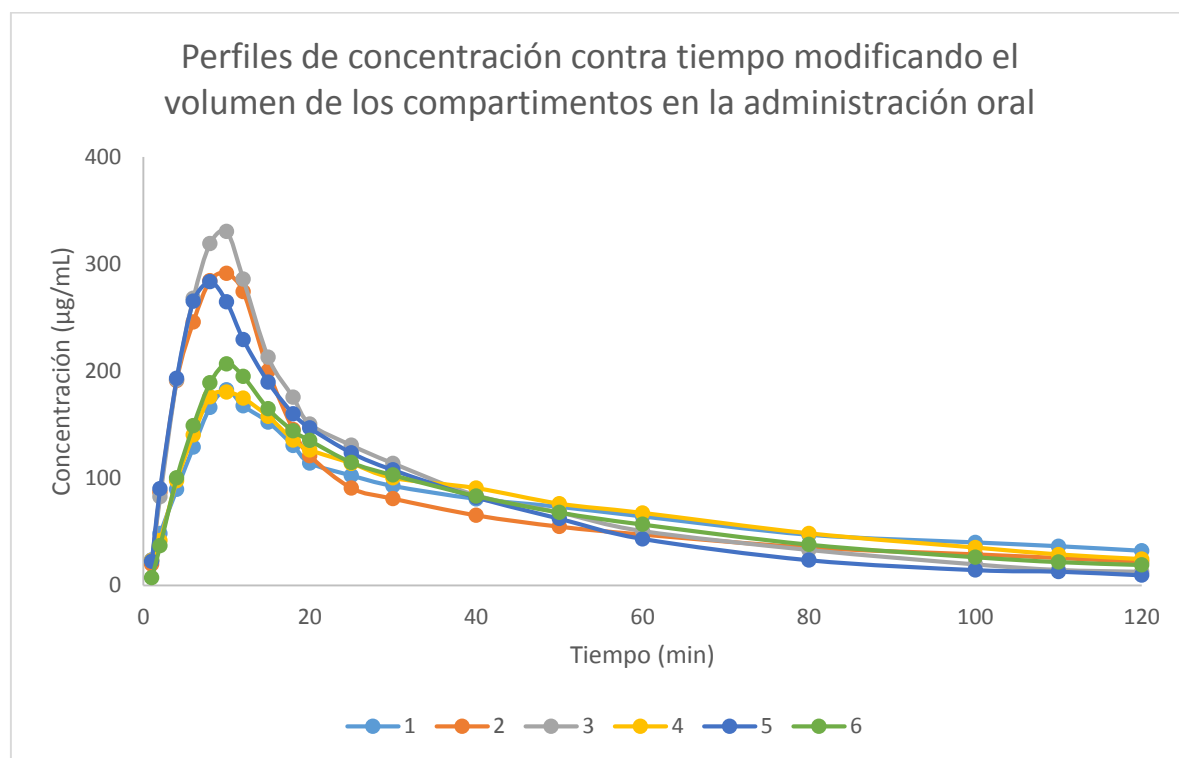


Figura 23. Perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central obtenidos después de la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacina, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min, velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, modificando el volumen del compartimento central y periférico.

En la siguiente figura se muestran las graficas del logaritmo natural de la concentración contra tiempo de forma individual.

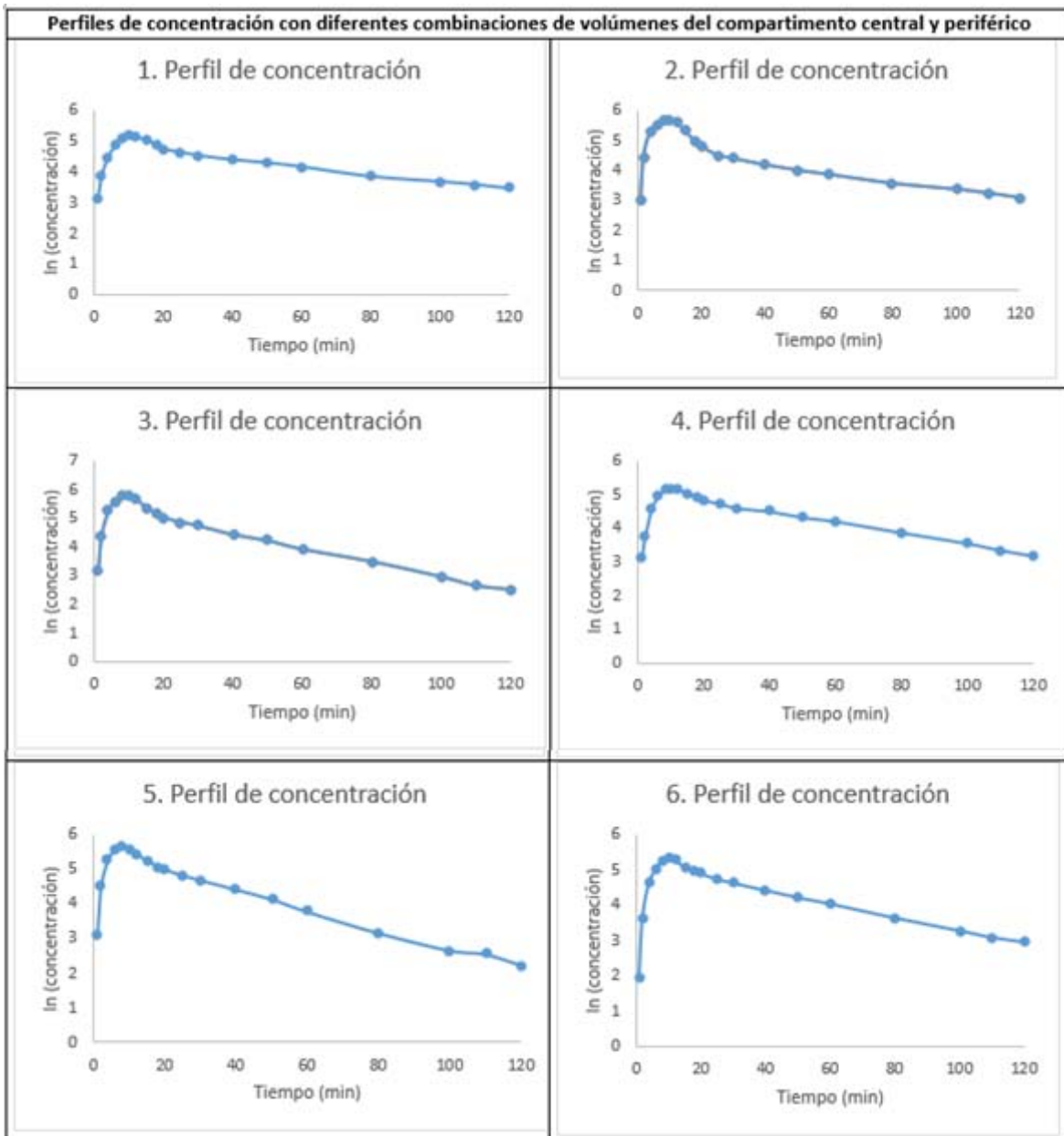


Figura 24. Perfiles del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central con las diferentes combinaciones de volúmenes de compartimentos, después de la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min,

Tabla 30. Condiciones ensayadas durante la infusión IV, dosis administrada y velocidad de infusión de la solución de ciprofloxacino

No.	Dosis (mg)	Velocidad de infusión ( $\mu\text{g}/\text{min}$ )
1	6	200
2	6	333.33
3	8	533.33
4	4	666.67
5	12	666.67
6	12	833.33
7	20	1333.33

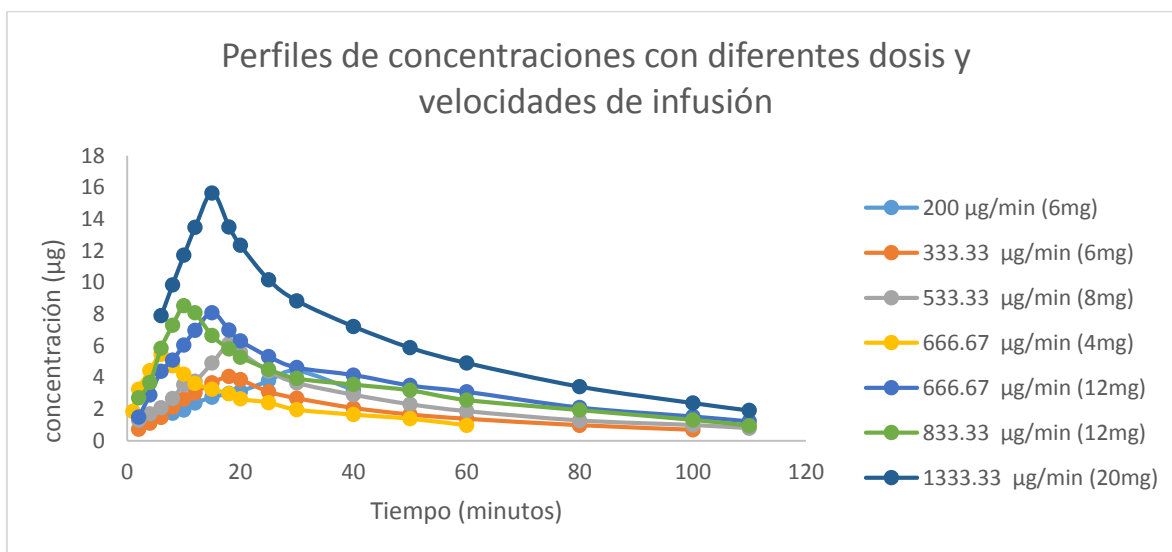


Figura 25. Perfiles de concentración de ciprofloxacina en el compartimento central obtenidos después de una administración simulada vía infusión IV con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min, velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, con un compartimento central de 1000 mL, un compartimento periférico de 600 mL y modificando la dosis (6-20 mg) y la velocidad de infusión (200-1333.33  $\mu\text{g}/\text{min}$ ).



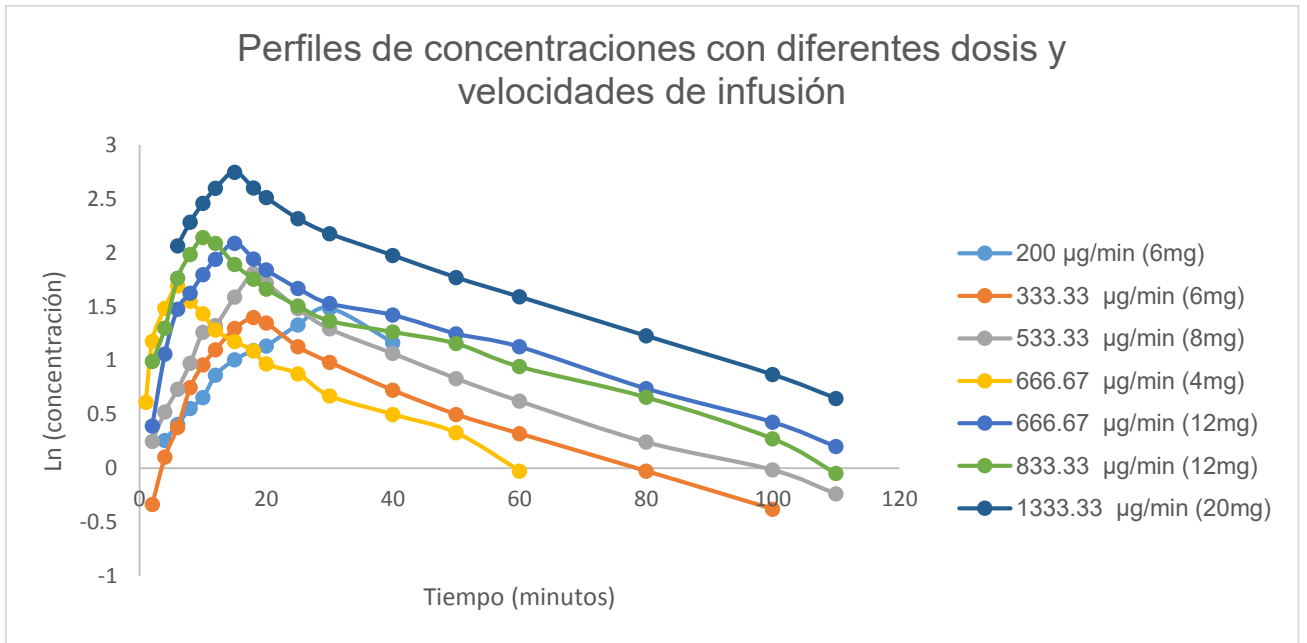


Figura 26. Perfiles del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central obtenidos después de una administración simulada vía infusión IV con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min, velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, con un compartimento central de 1000 mL, un compartimento periférico de 600 mL y modificando la dosis (6-20 mg) y la velocidad de infusión (200-1333.33 µg/min).

## Anexo 4. Procedimiento para obtener los parámetros farmacocinéticos.

### Cálculos con las concentraciones en el compartimento central

A continuación se muestra el procedimiento seguido y las formulas empleadas para obtener los parámetros de la administración oral.

Después de obtener la absorbancia de las muestras a 271 nm, se sustituyó el valor de la absorbancia en la ecuación obtenida en la validación para las tabletas de ciprofloxacino. Para determinar la concentración en el compartimento central se consideró la dilución para cada muestra y se obtuvo el logaritmo natural de cada concentración, en la figura 27 se observa el perfil de concentración de ciprofloxacino en el compartimento central y en la figura 28 se muestra el perfil del logaritmo natural de la concentración.

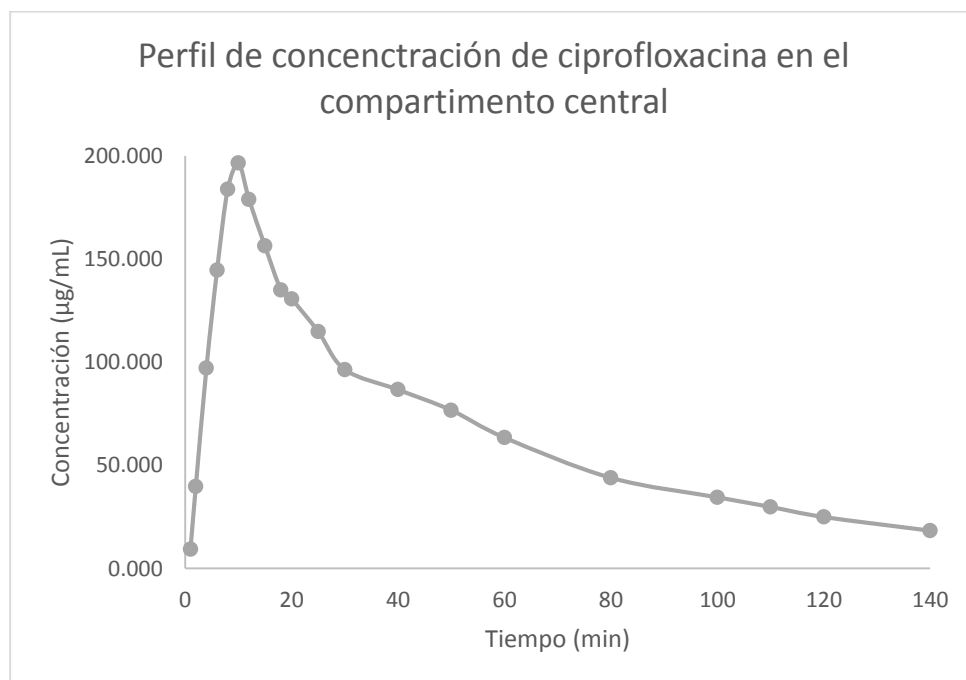


Figura 27. Comportamiento de la concentración de ciprofloxacino en el compartimento central en una administración simulada vía oral de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

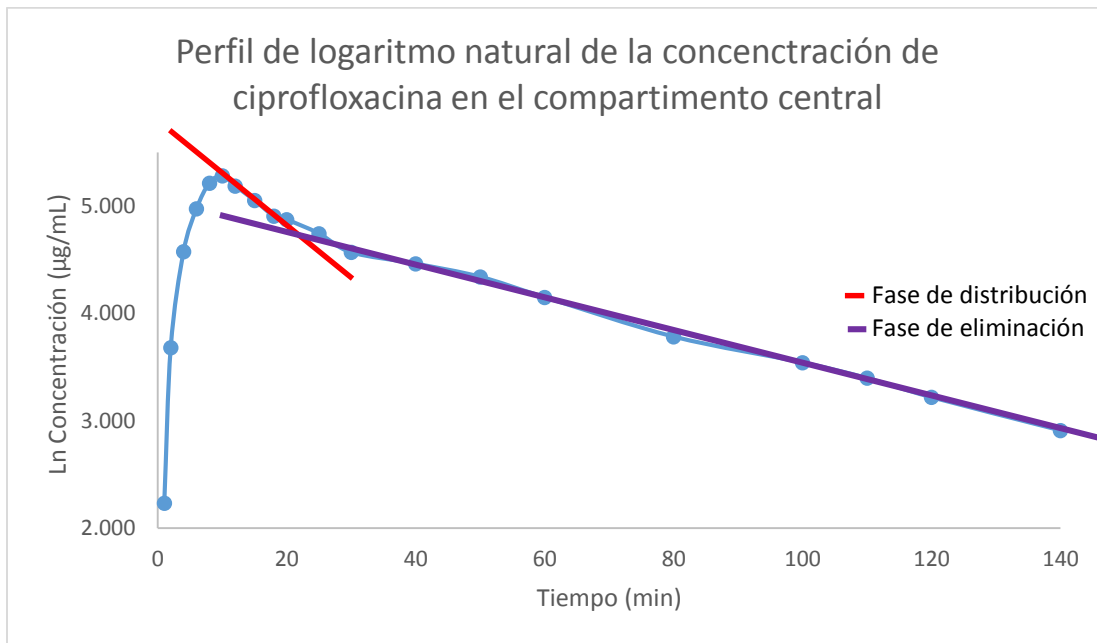


Figura 28. Perfil del logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central.

Tabla 31. Datos obtenidos en la administración de una tableta de 250mg de cpx.

Tiempo (min)	Absorbancia	Factor de dilución	Concentración (µg/mL)	Ln (conc)
1	0.078	10	9.339	2.234
2	0.371	10	39.729	3.682
4	0.363	25	97.247	4.577
6	0.546	25	144.698	4.975
8	0.697	25	183.851	5.214
10	0.746	25	196.557	5.281
12	0.678	25	178.925	5.187
15	0.591	25	156.366	5.052
18	0.509	25	135.104	4.906
20	0.492	25	130.696	4.873
25	0.431	25	114.879	4.744
30	0.360	25	96.469	4.569
40	0.824	10	86.713	4.463
50	0.728	10	76.756	4.341
60	0.600	10	63.480	4.151
80	0.412	10	43.981	3.784
100	0.321	10	34.543	3.542
110	0.276	10	29.875	3.397
120	0.229	10	25.001	3.219
140	0.165	10	18.363	2.910

Se calculó la pendiente de la parte final del perfil (datos sombreados), esta pendiente representa la constante  $\beta$ , con el método de regresión lineal se obtuvo la intersección con el eje Y, que se identificó con la letra M. De esta forma se obtuvieron los siguientes valores:

$$\beta = 0.015 \text{ min}^{-1}$$

$$M = 158.06 \mu\text{g/mL}$$

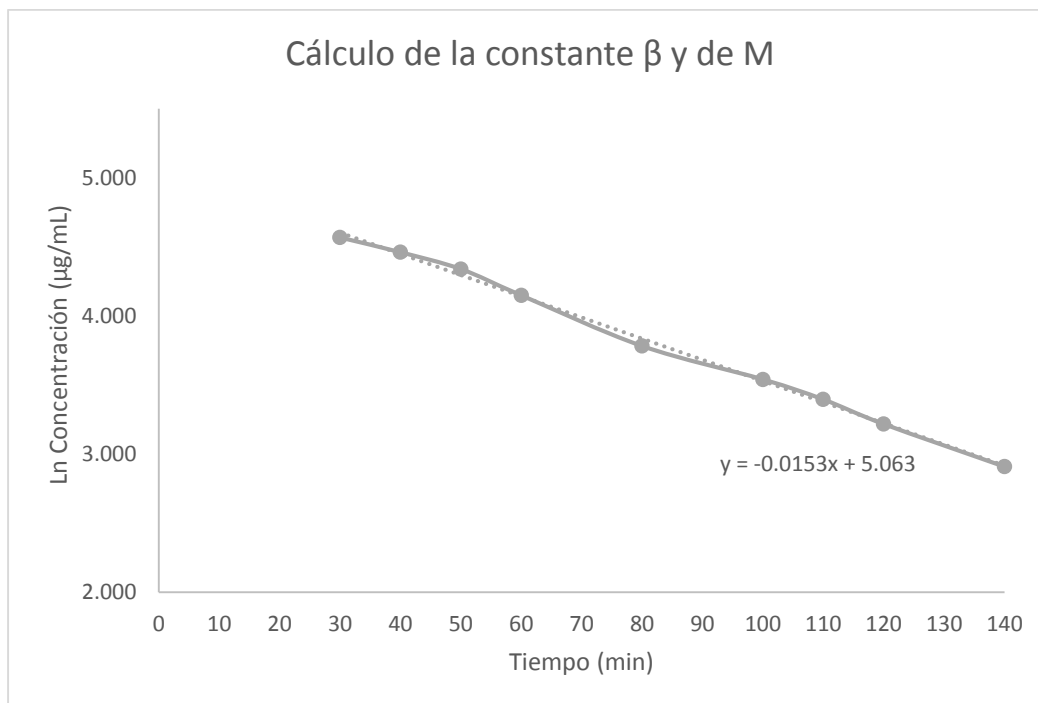


Figura 29. Logaritmo natural de la concentración de ciprofloxacina en el compartimento central en la fase de eliminación. La constante  $\beta$  corresponde a  $-m$  y la intersección con el eje Y es el Ln de M.

La ecuación que describe el comportamiento de ciprofloxacina en el comportamiento central después de 30 minutos de una administración vía oral de una tableta de 250mg de ciprofloxacino es la siguiente:

$$\text{Concentración} = 158.06e^{-0.015t}$$

Se calculó la concentración del tiempo 1 al 20 usando la ecuación anterior, correspondiente a la fase de eliminación, los resultados se presentan en la tabla en la columna  $Me^{-\beta t}$ . La concentración residual 1 ( $Cr_1$ ) se obtuvo restando la concentración extrapolada a la concentración obtenida experimentalmente, ver figura 30.

Tabla 32. Concentraciones residuales calculadas con la ecuación de la fase de eliminación.

Tiempo (min)	Conc exp ( $\mu\text{g/mL}$ )	$Me^{-\beta t}$	$Cr_1$	$\text{Ln } Cr_1$
1	9.339	155.654	-146.315	
2	39.729	153.286	-113.557	
4	97.247	148.657	-51.410	
6	144.698	144.168	0.530	-0.636
8	183.851	139.815	44.036	3.785
10	196.557	135.593	60.964	4.110
12	178.925	131.499	47.426	3.859
15	156.366	125.588	30.778	3.427
18	135.104	119.943	15.161	2.719
20	130.696	116.321	14.375	2.665

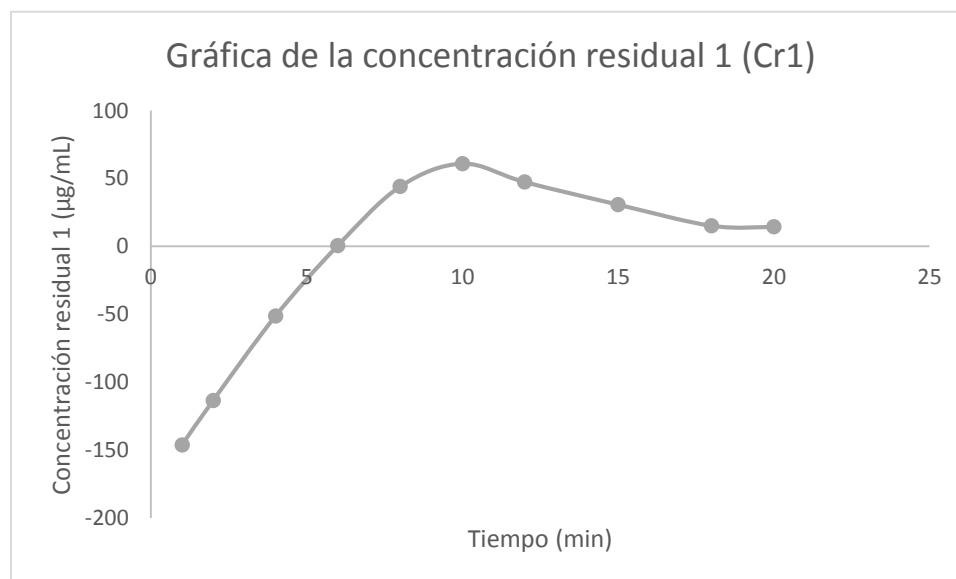


Figura 30. Concentración residual 1, se observa una parte de la gráfica con una pendiente positiva y otra con pendiente negativa, correspondientes a la fase de absorción y distribución.

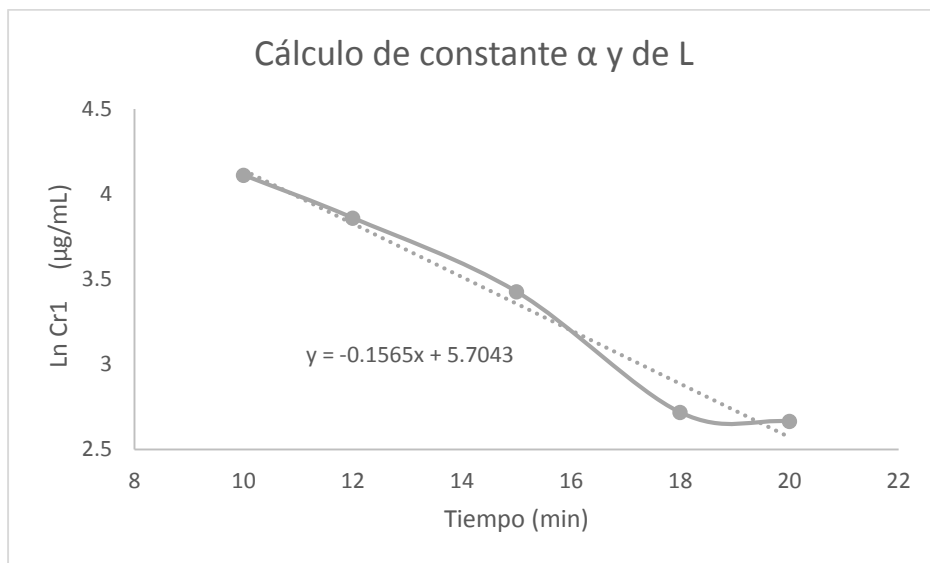


Figura 31. Ln de la concentración residual 1 de la fase de distribución, datos sombreados en la tabla 32. La constante  $\alpha$  corresponde a  $-m$  y la intersección con el eje Y es el Ln de L.

Se obtuvieron los siguientes datos:

$$L = 300.16 \mu\text{g/mL}$$

$$\alpha = 0.157 \text{ min}^{-1}$$

La ecuación que describe esta fase es la siguiente:

$$\text{Concentración} = 300.16e^{-0.157t}$$

Se calculó la concentración de ciprofloxacina del minuto 1 al 8 con la ecuación anterior, este resultado se muestra en la tabla 33 en la columna  $Le^{-\alpha t}$ , restando la concentración residual 1 a la concentración de la columna  $Le^{-\alpha t}$  se obtuvo la concentración residual 2 (Cr2), ver figura 32.

Tabla 33. Tabla de la concentración residual 2, obtenida para los datos de la absorción, empleando la ecuación obtenida en la fase de distribución.

Tiempo (min)	Cr1	$Le^{-\alpha t}$	Cr2	Ln Cr2
1	-146.315	256.663	402.977	5.999
2	-113.557	219.47	333.027	5.808
4	-51.410	160.472	211.882	5.356
6	0.530	117.334	116.804	4.761
8	44.036	85.792	41.756	3.732

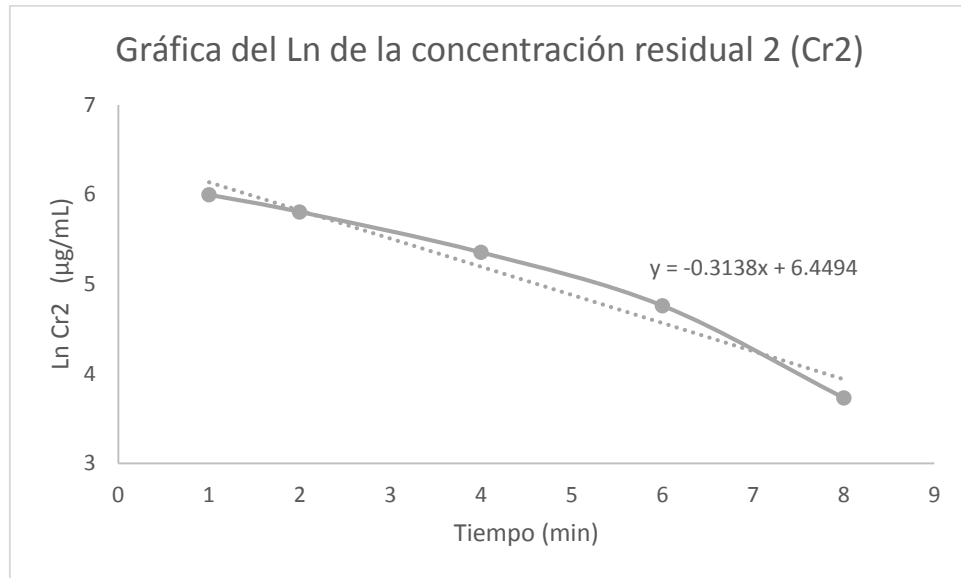


Figura 32. Logaritmo natural de la concentración residual 2. La constante  $k_a$  corresponde a  $-m$  y la intersección con el eje Y es el Ln de  $-N$ .

$$\text{Concentración} = -632.36e^{-0.314t}$$

$$N = -632.36 \mu\text{g/mL}$$

$$K_a = 0.314 \text{ min}^{-1}$$

Con base en la ecuación general que describe una administración oral que sigue un modelo abierto de dos compartimentos

$$C_p = Le^{-\alpha t} + Me^{-\beta t} + Ne^{-k_a t}$$

La ecuación que describe el comportamiento de la concentración de ciprofloxacino en el compartimento central después de la administración simulada vía oral de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino es la siguiente\*:

$$C_p = 300.16e^{-0.157t} + 158.06e^{-0.015t} - 632.36e^{-0.314t}$$

\*Con las siguientes condiciones durante la administración, tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

A continuación se muestra como se calcularon los parámetros farmacocinéticos en la administración oral

Tiempo de vida media:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{\beta} = \frac{\ln 2}{0.015 \text{ min}^{-1}} = 45.21 \text{ min}$$

Volumen de distribución aparente en el compartimento central:

$$V_c = \frac{X_0}{L+M} = \frac{250\,000 \mu\text{g}}{300.16 \mu\text{g/mL} + 158.06 \mu\text{g/mL}} = 545.59 \text{ mL}$$

Depuración total:

$$Cl_T = \frac{X_0}{ABC} = \frac{250 \text{ mg}}{10.40 \text{ min} * \text{mg/mL}} = 24.05 \text{ mL/min}$$

Constantes de velocidad:

$$k_{10} = \frac{Cl_T}{V_c} = \frac{24.05 \text{ mL/min}}{545.59 \text{ mL}} = 0.044 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{21} = \frac{\alpha\beta}{k_{10}} = \frac{(0.157 \text{ min}^{-1} * 0.015 \text{ min}^{-1})}{0.044 \text{ min}^{-1}} = 0.054 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{10} = 0.157 \text{ min}^{-1} + 0.015 \text{ min}^{-1} - 0.054 \text{ min}^{-1} - 0.044 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{12} = 0.073 \text{ min}^{-1}$$

La concentración máxima alcanzada y el tiempo en el que se alcanza ésta, fueron calculados gráficamente y el área bajo la curva se calculó empleando el método de los trapecios.

En el caso de la administración por infusión intravenosa, el procedimiento seguido se realizó de forma similar, considerando la ecuación:

$$Cp = \frac{k_0(k_{21} - \alpha)(1 - e^{\alpha T})}{V_c\alpha(\alpha - \beta)} e^{-\alpha t} + \frac{k_0(\beta - k_{21})(1 - e^{\beta T})}{V_c\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta t}$$

$$Cp = Re^{-\alpha t} + Se^{-\beta t}$$



### Cálculos con los datos del fluido de eliminación

Para obtener la constante  $\beta$  con los datos obtenidos del fluido eliminado, en ambas vías de administración, se empleó el método de velocidades promedio. A continuación se muestra un ejemplo con los datos obtenidos en la administración oral.

La concentración se obtuvo sustituyendo la absorbancia en la ecuación obtenida en la validación. Una vez obtenida la concentración, se multiplicó por el volumen medido en cada tiempo de muestreo para obtener la cantidad de ciprofloxacina eliminada en cada tiempo y la cantidad acumulada ( $X_u$ ); estos datos se muestran en la tabla 34.

Tabla 34. Datos obtenidos del fluido de eliminación durante la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min.

Tiempo (min)	Absorbancia	Factor de dilución	Conc ( $\mu\text{g/mL}$ )	Volumen (mL)	Cantidad (mg)	$X_u$ (mg)
3	0.264	10	28.631	84	2.405	2.405
5	0.339	25	91.024	54	4.915	7.320
7	0.497	25	131.992	65	8.580	15.900
9	0.621	25	164.145	66	10.834	26.733
11	0.716	25	188.778	67	12.648	39.381
14	0.656	25	173.220	96	16.629	56.011
17	0.575	25	152.217	94	14.308	70.319
21	0.502	25	133.289	128	17.061	87.380
26	0.429	25	114.360	144	16.468	103.848
31	0.398	25	106.322	156	16.586	120.434
36	0.349	25	93.617	150	14.043	134.477
45	0.321	25	86.357	292	25.216	159.693
55	0.675	10	71.259	304	21.663	181.356
65	0.488	10	51.864	300	15.559	196.915
80	0.382	10	40.869	462	18.882	215.796
95	0.302	10	32.572	472	15.374	231.170
120	0.237	10	25.830	774	19.993	251.163
140	0.175	10	19.400	620	12.028	263.191

Tabla 35. Datos obtenidos a partir de los datos de tabla 34 para aplicar el método de velocidades promedio.

$\Delta t$ ( $t_f, t_i$ )	$t^*$	$\Delta X_u$	$\Delta X_u / \Delta t$	$\ln (\Delta X_u / \Delta t)$
3	1.5	2.405	0.802	-0.221
2	4	4.915	2.458	0.899
2	6	8.580	4.290	1.456
2	8	10.834	5.417	1.690
2	10	12.648	6.324	1.844
3	12.5	16.629	5.543	1.713
3	15.5	14.308	4.769	1.562
4	19	17.061	4.265	1.451
5	23.5	16.468	3.294	1.192
5	28.5	16.586	3.317	1.199
5	33.5	14.043	2.809	1.033
9	40.5	25.216	2.802	1.030
10	50	21.663	2.166	0.773
10	60	15.559	1.556	0.442
15	72.5	18.882	1.259	0.230
15	87.5	15.374	1.025	0.025
25	107.5	19.993	0.800	-0.224
20	130	12.028	0.601	-0.509

$\Delta t$ , es la diferencia entre cada tiempo de muestreo, el tiempo promedio ( $t^*$ ) es el promedio del primer tiempo y el segundo, después del segundo con el tercero y así sucesivamente.  $\Delta X_u$  es la cantidad de cpx eliminada en cada tiempo de muestreo.  $\Delta X_u / \Delta t$ , indica la cantidad de ciprofloxacina por unidad de tiempo que se elimina, es decir, la velocidad de eliminación. Finalmente se traza la gráfica del  $\ln (\Delta X_u / \Delta t)$  contra el tiempo promedio, donde se obtiene una curva biexponencial. De esta forma, se puede obtener la constante  $\beta$  a partir de la pendiente de la fase exponencial terminal.

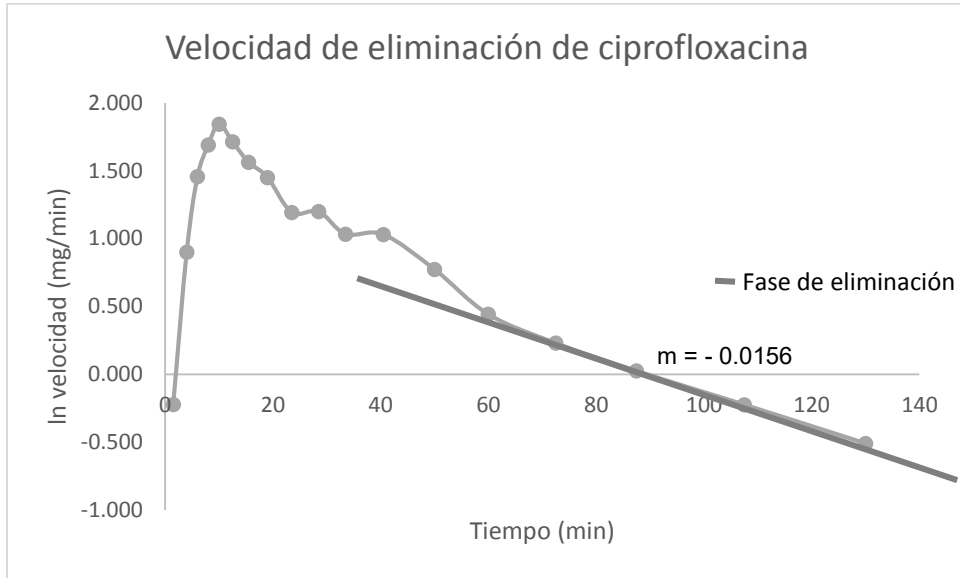


Figura 33. Gráfica de la velocidad de eliminación de ciprofloxacina cuantificada en el fluido de eliminación durante la administración de una tableta de 250 mg de ciprofloxacino, con velocidad de entrada de fluido de 30 mL/min y velocidad de transferencia entre compartimentos de 57-60 mL/min, la parte final de la gráfica representa la constante  $\beta$ .

## 11. Referencias

1. Mrad de Osorio A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* [Internet]. 2006 [consultado 31 de marzo de 2015]: 163-183. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>.
2. BIOÉTICA Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) Aline S. de Aluja. *Gac Méd Méx.* 2002;138(3).
3. Badyal DK, Desai C. Animal use in pharmacology education and research: The changing scenario. *Indian Journal of Pharmacology.* 2014;46(3):257-265.
4. Garcés Giraldo LF, Giraldo Zuluaga C. Bioética en la experimentación científica con animales: cuestión de reglamentación o de actitud humana. *Revista Lasallista de Investigación.* 2012;9: 159-166.
5. Real Academia Española [Internet]. Madrid: Real Academia Española; 2001 [acceso 13 de octubre de 2014]. Diccionario de la Lengua Española. Disponible en: <http://lema.rae.es/drae/?val=modelo>
6. Gumtow R, Proudfoot J, Talada A. An in vitro pharmacokinetic system for use in the undergraduate pharmaceuticals laboratory: a one- and two-compartment pharmacokinetic bench model; the glassman patient. *Revista Mexicana de Ciencias farmacéuticas.* 1989;20(3):25-30.
7. Wagner J. *Farmacocinética clínica.* Barcelona: Editorial Reverté; 1983.
8. Cid E. *Introducción a la farmacocinética.* Santiago: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos; 1982
9. Mohsen H. *Basic pharmacokinetics.* 2ª ed. New York: CRC Press; 2012.
10. Gibaldi M, Perrier D. *Farmacocinética.* Barcelona: Editorial Reverté; 1982.
11. Shargel L, Yu A. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics.* 3ª ed. EUA: Appleton & lange; 1993.
12. Ruiz A, Bermejo M, Moss A, Casabo V. Pharmacokinetics in drug discovery. *Journal of pharmaceutical sciences.* 2008;97(2):654-690.
13. Velázquez Y, Nava AA. Factores que afectan la absorción de los medicamentos en niños. *Rev Mex Pediatr.* 2005;72(3):148-153
14. Juárez H, Sandoval E, Guillé A. Comportamiento del proceso LADME de los medicamentos en niños. 2009;30(1):23-30.
15. Clark B, Smith D. *Introducción a la farmacocinética.* España: Acribia; 1989.

16. Waterbeemd H, Gifford E. ADMET in silico modelling: towards prediction Paradise?. Nature Publishing Group. 2003;2:191-204.
17. Mazzari A, Prieto JM. Herbal medicines in Brazil: pharmacokinetic profile and potential herb-drug interactions. Fphar. 2014;5:1-12.
18. Flórez J. Farmacología humana. 5ª ed. Barcelona: Elsevier masson; 2008.
19. Gennaro A. Remington Farmacia. 20ª ed. Buenos Aires: Médica Panamerica; 2003.
20. García MJ. Análisis cinético de los sistemas lineales de compartimentos: aplicación a la evaluación de parámetros medios. 3ª ed. Cuenca: Ediciones de la Universidad de Castilla; 1998.
21. López DP. Modelado y simulación de sistemas farmacocinéticos [tesis]. Mérida: Universidad de los Andes; 2005.
22. Notari R. Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 4ª ed. New York: Marcel Dekker; 1987.
23. Smith D, Waterbeemd H, Walker D. Pharmacokinetics and metabolism in drug desing. 2ª ed. Alemania: Wiley-vch; 2006.
24. Martinez MN, Amidon GL. A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. □J Clin Pharmacol. 2002;42:620-643.
25. Santos B, Guerrero MD. Administración de medicamentos, teoría y práctica. Madrid: Díaz de Santos;1994.
26. Fahmy S, Abu E. In vitro dissolution and in vivo bioavailability of six brands of ciprofloxacin tablets administered in rabbits and their pharmacokinetic modeling. Biomed Res Int. 2014;2014:1-8
27. Raina R, Prawez S, Dimitrova DJ, Pankaj NK, Verma PK. Disposition kinetics and urinary excretion of ciprofloxacin in goats following single intravenous administration. J Vet Sci. 2008;9(3):241–245.
28. Mohan A, Garg SK. Disposition kinetics of ciprofloxacin following a single intravenous dose in calves. Indian J Pharmacol. 2003;35:227-231.
29. Muñoz MJ, Llovería P, Santos MP, Abadía AR. Aramayona JJ, Bregante MA. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in sheep after single intravenous or intramuscular administration. Vet Q. 1996;18(2).
30. Brunton L. Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 12ª edición. México: Mc Graw Hill; 2012.
31. Hoffken G, Lode H, Prinzing C, Borner K, Koeppe P. Pharmacokinetics of Ciprofloxacin after oral and parenteral administration. Antimicrob Agents Chemother. 1985;27(3):375-379.

32. Crump B, Wise R, Dent J. Pharmacokinetics and tissue penetration of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983;24(5):784-786.
33. Wise R, Lockley RM, Webberly M, Dent J. Pharmacokinetics of intravenously administered Ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984;26(2):208-210.
34. Payen S, Serreau A, Munck A, Aujard Y, Aigrain Y, Bressolle F. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric and adolescent patients with acute infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(10):3170-3178.
35. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad: *Diario Oficial de la Federación*; 20-09-2013.
36. Repetto M, Repetto G. *Toxicología fundamental.* 4º edición. España: Diaz de santos; 2009.
37. Rosa J, Navarrete V. Diseño de una estrategia de infusión de midazolam ajustada al modelo farmacocinético de Greenblatt. *Rev cuba anestesiol reanim.* 2014; 13(3):220-230.