

00563
/
79

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"BIODISPONIBILIDAD DE PRODUCTOS COMERCIALES DE TETRACICLINA"
Y SU CORRELACION CON ESTUDIOS
IN VITRO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA FARMACIA
(BIOFARMACIA)

PRESENTA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Q.F.B. MARIA ANGELICA DORANTES GUEVARA



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.

C O N T E N I D O

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
CONTENIDO	iv
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE APENDICES	xvi
CAPITULO I	1
1. Introducción	2
1.1. Presentación y Objetivo	2
CAPITULO II	8
2. Generalidades (Monografía de Tetraci- clina)	9
2.1. Historia	9
2.2. Descripción	10
2.3. Propiedades físicas	14
2.4. Estabilidad de clorhidrato de tetra- ciclina	19
2.5. Métodos de fabricación	21
2.6. Métodos de análisis	22

	Página
2.7. Consideraciones de interés Biofarmacéutico	23
CAPITULO III	41
3. Parte Experimental	42
3.1. Control Farmacéutico	42
3.2. Estudios <u>In Vitro</u> : Disolución de productos de clorhidrato de tetraciclina del mercado nacional	42
3.2.1. Determinación cuantitativa de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada	45
3.2.1.1. Instrumentos	45
3.2.1.2. Reactivos	46
3.2.1.3. Método	46
3.2.1.4. Linealidad y Repetibilidad	46
3.2.1.5. Reproducibilidad	47
3.2.2. Perfil de disolución de quince productos farmacéuticos de clorhidrato de tetraciclina	47
3.2.2.1. Instrumentos	48
3.2.2.2. Reactivos	48
3.2.2.3. Método	48
3.3. Estudios <u>In Vivo</u> : Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos	49

	Página
4.2.1.1. Linealidad y repetibilidad	65
4.2.1.2. Reproducibilidad	69
4.2.2. Perfil de disolución de quince productos de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg	71
4.3. Estudios <u>In Vivo</u> : Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos	71
4.3.1. Determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma	71
4.3.1.1. Linealidad	74
4.3.1.2. Reproducibilidad y repetibilidad	74
4.3.1.3. Mínima concentración detectable	80
4.3.1.4. Estabilidad de clorhidrato de tetraciclina en plasma	80
4.3.2. Estudios preliminares de Biodisponibilidad	81
4.3.2.1. Estudio Preliminar I	81
4.3.2.2. Estudio Final de Bioequivalencia: producto innovador y tres productos del mercado nacional	87
 CAPITULO V	 100
5. Discusión	101
5.1. Pruebas de Control Farmacéutico	101
5.2. Estudios <u>In Vitro</u>	103
5.2.1. Determinación cuantitativa de clor- hidrato de tetraciclina en agua destilada	103

5.2.2.	Perfil de disolución de quince productos de clorhidrato de tetra- ciclina de 250 mg	106
5.3.	Estudio <u>In Vivo</u> : Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos	107
5.3.1.	Determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma	107
5.3.2.	Estudios Preliminares de Biodispo- nibilidad	112
5.3.2.1.	Estudio Preliminar I	112
5.3.2.2.	Estudio Final de Bioequivalencia: producto innovador de tres productos del mercado nacional	113
5.4.	Análisis Estadístico	115
5.5.	Correlación <u>In Vivo</u> - <u>In Vitro</u>	138
CAPITULO VI		146
6.	Conclusiones	147
CAPITULO VII		151
7.	Apéndices	152
CAPITULO VIII		176
8.	Bibliografía	177

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada, método espectrofotométrico.	68
2. Perfil de disolución de productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada	72
3. Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma utilizando el método fluorométrico de Kohn.	75
4. Representación Esquemática de modelo abierto de un compartimiento administración oral	83
5. Gráfica de concentración plasmática vs tiempo después de la administración oral del producto innovador de clorhidrato de tetraciclina a cuatro voluntarios sanos.	85
6. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S después de la administración oral del producto "A" a 12 voluntarios sanos.	90
7. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S vs tiempo después de la administración oral del producto "B" a 12 voluntarios sanos.	92

	Página
8. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S vs tiempo después de la administración del producto "C" a 12 voluntarios sanos.	94
9. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S vs tiempo después de la administración del producto "D" a 12 voluntarios sanos.	96
10. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S contra tiempo después de la administración oral de los productos A, B, C y D de clorhidrato de tetraciclina.	97
11. Cantidad remanente por disolverse de los quince productos utilizados de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.	108
12. Correlación <u>In Vivo/In Vitro</u> para cápsulas de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina (ABC $\circ \rightarrow \infty$ vs % disuelto a 30, 60, 120 min).	124
13. Correlación <u>In Vivo/In Vitro</u> para cápsulas de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina (Cp max, Cp 1h, Cp 3h, Cp 4h, Cp 5 h vs % disuelto a 60 min).	125
14. Correlación <u>In Vivo/In Vitro</u> para cápsulas de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina (ABC $\circ \rightarrow 24$, ABC $\circ \rightarrow \infty$ vs constante de disolución).	126

LISTA DE TABLAS

	Página
I. Fórmula estructural de las tetraciclinas.	11
II. Solubilidad de tetraciclinas en diferentes disolventes.	15
III. Valores de pKa (clorhidrato) en soluciones acuosas a 25°C.	17
IV. Señales de espectro ultravioleta-visible de tetraciclinas.	18
V. Valores farmacocinéticos de las tetraciclinas.	31
VI. Sensibilidad bacteriana a las tetraciclinas.	33
VII. Porcentaje de ventas de antibióticos en E.U.A.	39
VIII. Diagrama General de la parte experimental.	43
IX. Productos farmacéuticos de clorhidrato de tetraciclina estudiados.	44
X. Diluciones de la curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma.	51
XI. Esquema del método de valoración de clorhi-	53

Página

- drato de tetraciclina en plasma.
- XII. Diseño cruzado completo de 4 vías para el estudio de biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina. 60
- XIII. Horario utilizado en la toma de muestras sanguíneas del estudio de biodisponibilidad de 4 vías de clorhidrato de tetraciclina. 61
- XIV. Resultados del análisis de Control de Calidad de quince productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg. 66
- XV. Repetibilidad del método de valoración de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada (método espectrofotométrico). 67
- XVI. Reproducibilidad del método de valoración para clorhidrato de tetraciclina en agua destilada en diferentes días, utilizando un método espectrofotométrico. 70
- XVII. Resultados promedio del estudio de perfil de disolución de quince productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada. 73
- XVIII. Repetibilidad del método fluorométrico de 76

	Página
Kohn en plasma.	
XIX. Reproducibilidad del método fluorométrico de Kohn en plasma en diferentes días.	77
XX. Mínima concentración detectable por el método fluorométrico de Kohn para clorhidrato de tetraciclina en plasma.	78
XXI. Datos de estabilidad de clorhidrato de tetraciclina a temperatura de -10°C .	79
XXII. Datos de concentración (mcg/ml), obtenidos después de la administración oral del producto innovador de clorhidrato de tetraciclina (250 mg) a 4 voluntarios sanos.	84
XXIII. Parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de datos plasmáticos, después de la administración oral de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina a cuatro voluntarios sanos (producto innovador).	86
XXIV. Datos de concentración plasmática obtenidos después de la administración oral de una dosis de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina a 12 voluntarios sanos. (Producto A).	89
XXV. Datos de concentración plasmática obtenidos	91

después de la administración oral de una dosis de 250 mg del producto "B" a 12 voluntarios sanos.

- | | | |
|---------|---|-----|
| XXVI. | Datos de concentración plasmática obtenidos después de la administración oral del producto "C" a 12 voluntarios sanos. | 93 |
| XXVII. | Datos de concentración plasmática obtenidos después de la administración oral del producto "D" a 12 voluntarios sanos. | 95 |
| XXVIII. | Parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de datos plasmáticos asumiendo MAUC, después de la administración oral de los productos A, B, C y D conteniendo 250 mg de clorhidrato de tetraciclina. | 98 |
| XXIX. | Análisis estadístico de varianza de la cantidad disuelta de clorhidrato de tetraciclina (250 mg) a 30 y 60 min. en agua destilada. | 106 |
| XXX. | Constantes de velocidad de disolución de los quince productos de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada. | 107 |
| XXXI. | Cálculos necesarios para efectuar el análisis de varianza de un diseño cruzado balanceado (ANOVA). | 115 |

Página

- XXXII. Resultados del análisis de varianza respecto 118
al nivel de significancia, para los datos de
 $t_{1/2}$, $t_{m\acute{a}x}$, $C_{p\acute{m}a}x$, concentración plasmática
a 1, 3, 4 y 5 horas, ABC_0^+ y ABC_0^∞ .
- XXXIII. Correlación cuantitativa In Vivo/In Vitro 123
para los productos A, B, C y D de clorhi-
drato de tetraciclina (Cápsulas 250 mg).

LISTA DE APENDICES

	Página
I. Cepas reportadas en la fermentación de tetraciclina	133
II. Uso actual de agentes antimicrobianos en la terapéutica de las infecciones.	136
III. Contraindicaciones, advertencias, precauciones y reacciones adversas de las tetraciclinas.	149
IV. Carta de consentimiento para participar como voluntario, en el estudio de Bioequivalencia de clorhidrato de tetraciclina.	158
V. Características de los voluntarios del estudio cruzado de cuadrado latino de 4 vías: producto innovador y tres productos mexicanos.	159
VI. Tablas de cálculos generales y resultados del análisis de varianza del estudio de 4 vías para datos de $t_{1/2}$, $t_{m\acute{a}x}$, $C_{p\acute{m}ax}$, concentración plasmática a 1,3,4 y 5 horas, ABC_0^+ y ABC_0^∞ ; obtenidos durante el estudio de Biodisponibilidad, de clorhidrato de tetraciclina.	160

CAPITULO I

CAPITULO I

1. Introducción.

1.1. Presentación y objetivo:

La Biodisponibilidad de un medicamento es un parámetro relativamente nuevo, que determina la calidad de un producto farmacéutico. La Biodisponibilidad es un concepto que ha ido cobrando importancia en las dos últimas décadas tras haberse demostrado en un gran número de trabajos, que formas farmacéuticas sólidas de administración oral (comprimidos, cápsulas, tabletas, etc.), si bien eran equivalentes desde el punto de vista de la cantidad de fármaco, no lo eran desde el punto de vista farmacológico.

Las definiciones de biodisponibilidad son numerosas:

"Un término empleado para indicar una medida de la cantidad relativa de un fármaco que llega a la circulación general y la velocidad a la cual esto ocurre" (123).

"Significa la cantidad y velocidad a la cual el principio activo es absorbido desde un producto farmacéutico y queda disponible en el sitio de acción" (124).

"La cantidad y velocidad de la absorción desde una forma farmacéutica, reflejada por la curva de concentración-tiempo del fármaco administrado, en la circulación sistémica" (103).

Todas estas definiciones coinciden en que el concepto de biodisponibilidad abarca dos componentes: la

cantidad de fármaco absorbido y la velocidad de absorción.

Numerosos investigadores han demostrado que la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos puede ser muy variable; el problema consiste en determinar si la variación de la absorción de los productos, puede tener una consecuencia terapéutica debida a la producción de síntomas tóxicos o a la reducción del efecto terapéutico.

Como se ha mencionado la biodisponibilidad es una medida que puede ser utilizada para evaluar la eficacia y seguridad de un medicamento, mientras la bioequivalencia es una comparación de la biodisponibilidad de dos o más productos farmacéuticos que contienen el mismo principio activo, por lo tanto los estudios de bioequivalencia proporcionan información relevante sobre la eficacia y/o toxicidad del medicamento. Los primeros estudios de bioequivalencia se realizaron en Canadá en el año de 1971 en 229 medicamentos de los cuales solo el 9% resultaron bioequivalentes ⁽¹²⁵⁾. Estudios posteriores de bioequivalencia en Estados Unidos de Norteamérica demostraron que en ese país existía el mismo problema ⁽¹²⁶⁾. Los estudios de bioequivalencia realizados en Costa Rica y Panamá demostraron que la biodisponibilidad es un problema mayor en los países de America Latina, que en los países europeos y americanos ⁽¹²⁷⁾. Asimismo, estudios preliminares y/o finales realizados en México con diferentes fármacos (Nitrofurantoina, ampicilina, tolbutamida, tetraci-

clina, etc.), indican que también existe el mismo tipo de problema de bioinequivalencia.

En México, a pesar del gran uso terapéutico e importancia socioeconómica que representa la tetraciclina, oficialmente no existen normas suficientes de calidad que garanticen su eficacia terapéutica, únicamente se consideran pruebas físicas, químicas y/o microbiológicas para controlar su calidad final, y está plenamente demostrado en diversos países que estas pruebas de control por sí solas, no bastan para garantizar la eficacia terapéutica y establecer una biodisponibilidad y/o bioequivalencia entre productos semejantes.

Dependiendo del tipo de pruebas de control de calidad que los medicamentos cumplan, la F.D.A. (Food and Drug Administration) los ha clasificado en:

1. Equivalentes químicos
2. Equivalentes farmacéuticos
3. Alternativas farmacéuticas
4. Medicamentos bioequivalentes.

"Equivalentes químicos": Son aquellos productos que contienen exactamente las mismas cantidades de los mismos principios activos, los cuales no necesariamente se presentan en la misma forma farmacéutica⁽¹²⁸⁾.

"Equivalentes farmacéuticos": Son formas farmacéuticas que contienen idénticas cantidades del mismo principio activo, en idéntica forma farmacéutica, pero que no

contienen necesariamente el mismo ingrediente "inactivo" (excipiente) y que complen con los requisitos establecidos en las farmacopeas en cuanto a identidad, potencia, cantidad y pureza y, si es aplicable, uniformidad de contenido y tiempo de desintegración y/o disolución (128,129).

"Alternativas farmacéuticas": Son formas farmacéuticas que contienen idéntica porción activa de la molécula o su precursor, pero no necesariamente en la misma cantidad o forma farmacéutica o la misma sal o éster. Tales formas farmacéuticas cumplen, en forma individual, con los requisitos de la farmacopea en cuanto a identidad, pureza, potencia y, si es aplicable, uniformidad de contenido, desintegración y/o disolución (128,129).

"Productos bioequivalentes": Son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y grado de absorción no exhibe diferencias significativas cuando se administran en la misma dosis, bajo condiciones experimentales similares, ya sea en dosis únicas o en dosis múltiples (128,129).

El Federal Register (126) publicado por la F.D.A., reglamentó en 1977 que son necesarias las pruebas de biodisponibilidad (pruebas in vivo) para 110 medicamentos, entre los cuales se encuentran incluidos productos de Tetraciclina. Sin embargo en algunos productos farmacéuticos, la biodisponibilidad puede ser demostrada solamente

con pruebas in vitro que hayan sido correlacionadas previamente con estudios in vivo. Estas pruebas in vitro incluyen tiempo de desintegración y/o velocidad de disolución. En México es factible la existencia de este tipo de problemas, debido: Primero al gran número de marcas comerciales diferentes ⁽⁶¹⁾ que contienen tetraciclina como principio activo. Segundo, a que existe un gran número de reportes de la literatura en los que se ha demostrado bioinequivalencia entre diferentes marcas comerciales ^(83,86,87,88,89,90,91,92,94), y Tercero, debido a sus propiedades biofarmacéuticas la tetraciclina está catalogada como un fármaco con alto potencial para presentar problemas de bioequivalencia.

Por las razones expuestas anteriormente el objetivo de este trabajo comprende cuatro aspectos principales: Primero, la equivalencia farmacéutica de productos de clorhidrato de tetraciclina de diez fabricantes nacionales y uno americano; Segundo, estudiar el comportamiento de disolución de estos productos; Tercero, efectuar el estudio de bioequivalencia de tres productos nacionales de baja disolución respecto al producto innovador y Cuatro, tratar de establecer una correlación In Vitro/In Vivo en los productos estudiados.

El logro de estos objetivos proporcionará suficiente información para evaluar la calidad de los productos estudiados y bases para elaborar normas que ayuden a ga-

garantizar la eficacia terapéutica de los medicamentos que contienen como principio activo clorhidrato de tetraciclina.

CAPITULO II

CAPITULO II

2. Generalidades

(Monografía de tetraciclina).

2.1. Historia.

El desarrollo de las tetraciclinas fué el resultado de la selección sistemática de muestras de suelos recogidos en muchas partes del mundo en busca de microorganismos productores de antibióticos. El primero de estos compuestos, la clortetraciclina se introdujo en 1948; dos años después se conoció la oxitetraciclina. La elucidación de la estructura química de estos agentes confirmó su semejanza y sirvió de base para la producción de un tercer miembro de este grupo la "tetraciclina", en 1952. En 1957 se desarrolló una nueva familia de tetraciclinas, caracterizada químicamente por la ausencia del grupo CH_3 -unido al anillo, presente en las otras. La demeclociclina, se incorporó al uso general en 1959. La metaciclina un derivado de la oxitetraciclina, se introdujo 1961, la doxiciclina en 1966 y la minociclina en 1972.

Poco después de su desarrollo inicial, se comprobó que las tetraciclinas eran muy efectivas contra las rickettsias, muchas bacterias grampositivas y gramnegativas y los agentes responsables del linfogranuloma venereo la conjuntivitis por inclusión a la psitocosis por lo que se las considero como antibióticos de "amplio espectro".

Al confirmarse su actividad antimicrobiana in vitro, su efectividad en las infecciones experimentales y sus propiedades farmacológicas, las tetraciclinas comenzaron a usarse ampliamente en la terapéutica⁽³⁾.

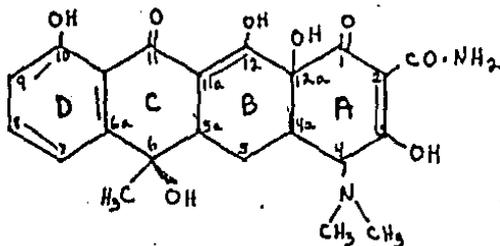
2.2. Descripción.

El nombre tetraciclina se derivó del núcleo naftaceno que poseen estos antibióticos, las fórmulas estructurales de los principales miembros de este grupo se presentan en la Tabla I.

2.2.1. Nombre químico: -4-dimetilamino-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-naftaceno-2-carboxamida.^(1,2,3,4,5)
 -2-naftacencarboxamida,4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-4_S-4_α-4_{aa}, 6_β, 12_{αα}.⁽¹³⁾

2.2.2. Nombre común: Tetraciclina^(1,2,3,4,5).

2.2.3. Fórmula desarrollada:



2.2.4. Fórmula condensada: $C_{22}H_{24}N_2O_8$.

2.2.5. Peso molecular: 444.43.

2.2.6. Apariencia, color y olor: Polvo cristalino, amarillo, inodoro, poco higroscópico. Es estable al aire. Se oscurece por exposición a la luz solar intensa (4).

2.2.7. Mecanismo de acción:

Las tetraciclinas ejercen su acción antibacteriana por inhibición de la síntesis proteica. El sitio de acción de las tetraciclinas es el ribosoma bacteriano, pero parecen ser necesarios por lo menos dos procesos para que estos antibióticos tengan acceso a los ribosomas de las bacterias. El primero es la difusión pasiva a través de los poros hidrófilos de la membrana celular externa. El segundo proceso incluye un sistema de transporte activo, que acarrea las tetraciclinas a través de la membrana citoplásmica interna. Este transporte puede requerir un portador protéico periplasmático. Una vez que las tetraciclinas llegan a la célula bacteriana, inhiben la síntesis de proteínas y/o la de los aminoglucósidos, y se ligan específicamente a la subunidad 30 S del ribosoma bacteriano. Parecen impedir el acceso del aminoacil RNA_T al sitio aceptor del complejo RNAm - ribosoma. Esto evita la adición de aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento (3).

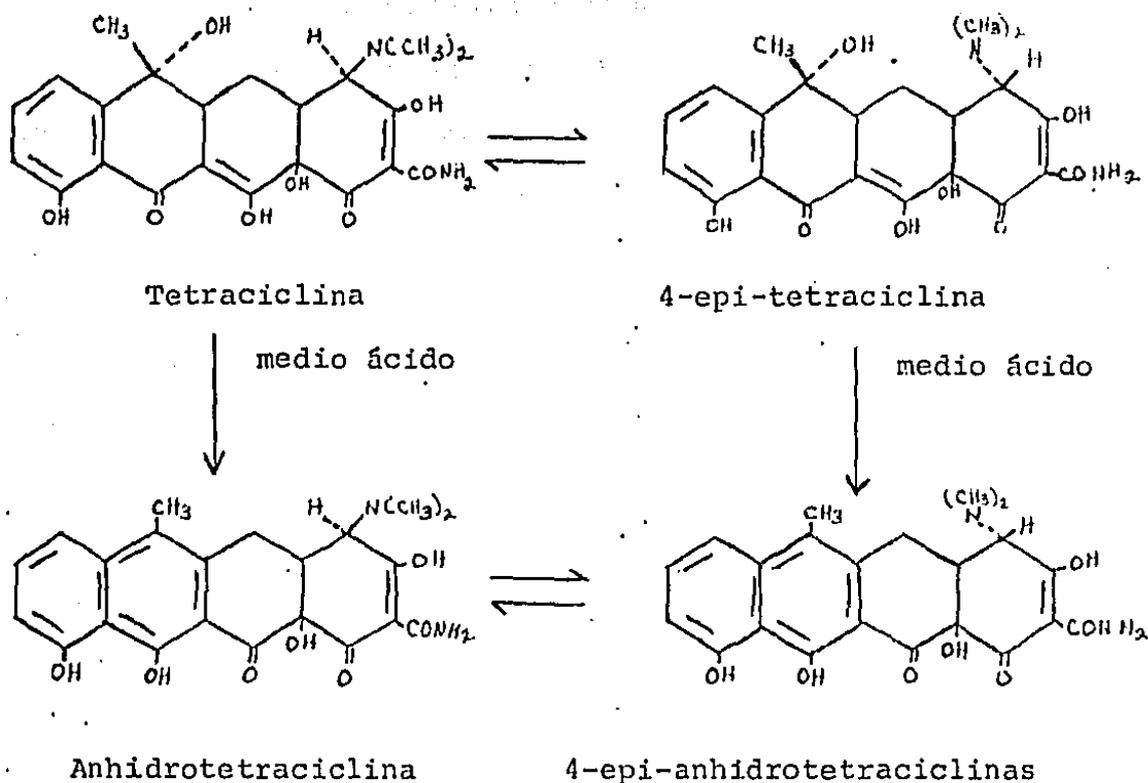
Las bacterias tienen ribosomas 70 S, mientras las células de los mamíferos tienen ribosomas 80 S. Las subu

nidades de cada tipo de ribosomas y su especificidad funcional son suficientemente diferentes para explicar, porqué los fármacos antimicrobianos pueden inhibir la síntesis de proteínas en los ribosomas bacterianos sin tener un mayor efecto en los ribosomas de los mamíferos. Sin embargo a concentraciones altas estos antibióticos también alteran la síntesis de proteínas en las células de los mamíferos (6).

2.2.8. Sales: La tetraciclina presenta funciones ácidas y básicas, por lo que es capaz de formar las sales correspondientes; siendo más estables las que provienen de ácidos que las que provienen de bases, generalmente se usan las sales de sodio y clorhidrato, de acción farmacológica superior y más solubles en agua que las tetraciclinas libres (6,8,9,10).

2.2.9. Isómeros: La tetraciclina permite una isomerización reversible en el carbono 4 dando nuevos derivados; las 4-epitetraciclinas o cuatrimicinas, bajo condiciones de pH 2-6, aumentando la formación de estos compuestos la presencia de ciertos aniones como fosfato, citrato y acetato (7,8). Los isómeros se han aislado por métodos de cristalización diferencial y cromatográficos; en general tienen menor absorbancia en UV. a 250 nm, mayor estabilidad en álcalis y ácidos, rotación óptica más negativa y mayor solubilidad en agua, además presentan menor actividad antibacteriana contra S. aureus in vitro.

Respecto a la actividad "in vivo", los isómeros son inferiores y más tóxicos (7,8,9).



2.3. Propiedades Físicas

2.3.1. Punto de fusión: La tetraciclina funde de 170° a 175°C (se dilata a 165°C).

2.3.2. Solubilidad: La tetraciclina es poco soluble en agua, muy soluble en soluciones diluídas de ácidos e hidróxidos alcalinos poco soluble en alcohol y prácticamente insolubles en cloroformo y éter (1,2,4,5).

En la Tabla II se presentan datos de solubilidad de algunas tetraciclinas en diferentes disolventes (13).

2.3.3. Constante de Ionización: La agrupación estructural poco usual de las tetraciclinas, produce tres constantes ácidas. Los grupos funcionales responsables

Tabla II. Solubilidad de tetraciclina en diferentes disolventes (mg/ml) (13).

Disolvente	TC.HCl	TC	OTC.HCl	CTC.HCl
Agua	10.9	1.7	6.9	8.6
Metanol	20+	20+	16.4	17.4
Etanol	7.9	20+	12.0	1.7
Benceno	0.3	1.0	0.03	0.1
Eter de petróleo	0.0	0.005	0.01	0.01
Tetracloruro de carbono	0.1	0.3	0.07	0.13
Acetato de etilo	0.8	17.3	2.0	0.35
Acetona	0.8	17.4	10.8	0.12
Eter	0.6	3.7	0.1	0.09
Cloruro de etileno	0.8	11.3	0.4	0.25
Dioxano	7.7	14.6	6.3	1.45
Cloroformo	2.9	13.8	0.4	0.02
Piridina	20+	20+	20+	20+
Alcohol bencílico	10.8	14.4	20+	1.8

TC.HCl = Clorhidrato de tetraciclina

TC = Tetraciclina

OTC.HCl = Clorhidrato de oxitetraciclina

CTC.HCl = Clorhidrato de clortetraciclina

de cada valor de pKa, fueron determinados por Lesson y col. (11) y los valores fueron asignados por Stephens y col. (12). Los datos se encuentran en la Tabla III.

2.3.4. Rotación Óptica

	Referencia
Tetraciclina \rightarrow $[\alpha]_D^{25}$ -257.9°	(10,13)
(C = 1% en HCl 0.1N)	
$[\alpha]_D^{25}$ = -239.0	(10,13)
(c = 1% en metanol)	
Clorhidrato de \rightarrow $[\alpha]_D^{25}$ = -257.9	(10,13)
tetraciclina (c = 0.5% en HCl 0.1N)	

2.3.5. Espectros de IR y UV:

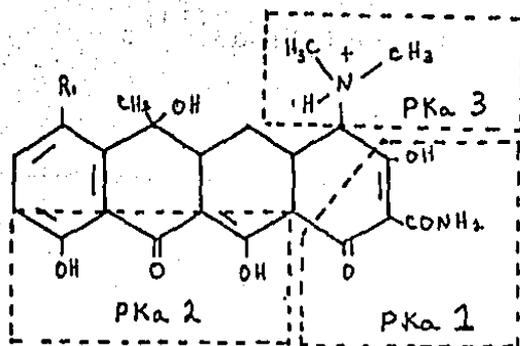
2.3.5.1. Espectro de Infrarrojo.

Las tetraciclinas no son suficientemente solubles en disolventes adecuados, por ejemplo cloroformo, por lo que su espectro de IR se corre usualmente en pastillas de KBr. Los espectros se usan para propósitos de identificación ya que se obtiene muy poca información de tipo estructural.

2.3.5.2. Espectro de Ultravioleta.

El carbono cuaternario C_{12a} separa los cromóforos de las tetraciclinas en 2 regiones relativamente diferentes. El sistema β -tricarbonílico del anillo A contribuye a una banda de absorción fuerte, aproximadamente a 260 nm, mientras el anillo aromático D se conjuga con la β -dicetona de los anillos B y C para producir una banda visible aproximadamente a 360 nm (a esta ban

Tabla III. Valores de pKa (clorhidratos) en soluciones acuosas a 25°C (12,13).



	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃
Tetraciclina	3.3	7.7	9.5
Clortetraciclina	3.3	7.4	9.3
Demeclociclina	3.3	7.2	9.3
Oxitetraciclina	3.3	7.3	9.1

Tabla IV. Señales del espectro ultravioleta-visible de tetraciclinas⁽¹³⁾.

Tetraciclina	UV-Vis máxima (nm)
TC	268, 363
CTC	270, 355
OTC	267, 357
MOTC	253, 245
DOOTC	267, 351
4-Epitetraciclina	255, 365
Anhydrotetraciclina	275, 425

TC = Tetraciclina

CTC = Clorotetraciclina

OTC = Oxitetraciclina

MOTC = 6-metilen oxitetraciclina

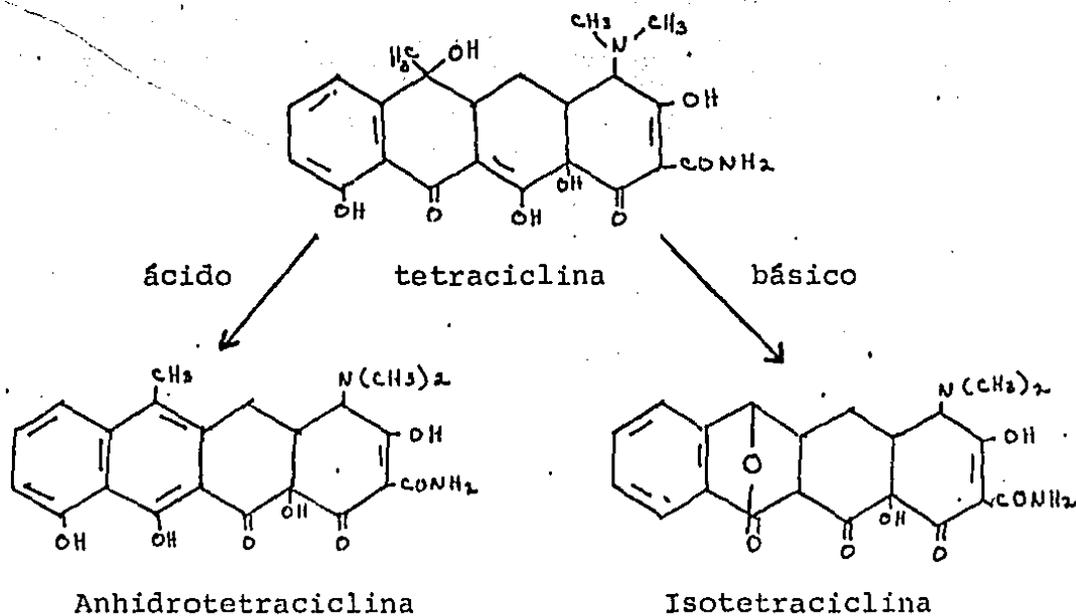
DOOTC = α 6-deoxitetraciclina

da se debe el color amarillo de las tetraciclinas).

En la Tabla IV se encuentran las bandas de absorción máxima UV-Vis, de las tetraciclinas en soluciones alcohólicas de HCl 0.1N.

2.4. Estabilidad de la tetraciclina:

La tetraciclina es muy usada en la elaboración de preparados farmacéuticos por su amplio espectro y efectividad, sin embargo, sus productos de degradación son tóxicos, siendo más rápida la formación de éstos cuando el antibiótico está en suspensión. Todas las tetraciclinas son susceptibles a la hidrólisis alcalina, rompiéndose el anillo C entre los carbonos 11 y 11a debilitando la unión con los anillos A y B. La tetraciclina en presencia de ácidos minerales calientes y concentrados sufre una deshidratación en C_5-C_6 porque este último posee un grupo -OH terciario que está en posición trans con respecto al átomo de hidrógeno adyacente al C_5 , formándose la anhidrotetraciclina (ATC) que es un compuesto con los anillos C y D de carácter aromático (11,14,15,16). Tanto la tetraciclina como la anhidrotetraciclina permiten una isomerización reversible en C_4 originando nuevos derivados, las epitetraciclinas (Ver. págs. 12 y 13).



El clorhidrato de tetraciclina pierde 10% de su potencia cuando se almacena 2 meses a 37°C con humedad relativa del 66%; aunque todas las sales tetraciclínicas tienden oscurecerse cuando se exponen a la luz solar interna y directa. La adición del ácido cítrico aumenta la degradación de clorhidrato de tetraciclina a anhidrotetraciclina y a 4-epianhidrotetraciclina cuando se almacenan bajo las condiciones ya mencionadas⁽¹⁷⁾.

En solución al 1% tiene un pH de 1.8 a 2.8 y llega enturbiarse por almacenamiento debido a la hidrólisis.

El clorhidrato de tetraciclina utilizado para soluciones intravenosas de pH 3 a 5, es químicamente estable por 6 horas, pero pierde del 8 al 12% de su actividad al cabo de un día a temperatura ambiente⁽¹⁸⁾.

A concentraciones de 1 g/100 ml pierde el 50%

de su actividad en solución inyectable de dextrosa al 5% después de 14 días a 25°C (19)

El clorhidrato de tetraciclina en soluciones de cloruro de sodio y a una concentración de 970 mg/l es estable por 24 horas (20).

La pérdida de potencia y/o elegancia farmacéutica no son los únicos factores a considerar, sino también los productos formados durante la degradación que son tóxicos. Sea cual sea la degradación (con formación de anhidrotetraciclina y epianhidrotetraciclina principalmente), la cantidad de éstos aumenta gradualmente en productos almacenados por los fabricantes en los envases originales con el sello sin romper y protegidos de la luz y el calor (17).

2.5. Métodos de fabricación:

Estos antibióticos se obtienen por fermentación de especies de Streptomyces en tanque profundo. La clortetraciclina y la oxitetraciclina son elaboradas por Streptomyces aureofaciens y Streptomyces rimosus, respectivamente. La tetraciclina se produce semisintéticamente a partir de la hidrogenólisis de la clortetraciclina; pero también se ha obtenido de una especie de Streptomyces. La demeclociclina es el producto de un mutante de la cepa de Streptomyces aureofaciens de la que se obtuvo por primera vez la clortetraciclina. La metaciclina, doxiciclina y minociclina son derivados semisintéticos.

La tetraciclina (clorhidrato) es el antibiótico más popular de este grupo debido, principalmente, a que produce niveles plasmáticos mayores y más duraderos.

Todas las tetraciclinas de importancia comercial son productos de fermentación o bien son derivados de los mismos. Debido a su valor económico, existen en la literatura científica abierta, pocos datos de su producción fermentativa y aislamiento. Sin embargo, existe una gran lista de patentes disponibles. (Algunas referencias se presentan en el apéndice I).

2.6. Métodos de análisis.

Existe una gran variedad de métodos para la determinación cuantitativa de las tetraciclinas; entre estos se encuentran métodos microbiológicos^(21,22), espectro fotométricos de UV y visible^(23,24,25,26,27,28,29,30), fluorométricos^(23,31,32,33,34), polarográficos^(35,36), titulaciones no acuosas⁽³⁷⁾, cromatografía en papel^(21,38,39), cromatografía en capa fina^(21,38,40), cromatografía en columna^(41,42,43,44,45,46,47,48), cromatografía líquida de alta presión^(49,50,51,52), etcétera.

La selección del método más adecuado dependerá de la naturaleza de la muestra a analizar (ejem. tabletas, cápsulas, soluciones, suspensiones, productos de degradación, fluidos biológicos, etc.) de la sensibilidad y especificidad requeridas y de los medios con que se cuenta para trabajar (reactivos, aparatos, laboratorio, personal capacitado, recursos económicos, etc.)

2.7. Consideraciones de Interés Biofarmacéutico.

2.7.1. Absorción:

Casi todas las tetraciclinas se absorben adecuada, pero incompletamente, del tracto gastrointestinal. El porcentaje de una dosis oral que se absorbe (cuando el estómago está vacío) es mínimo para la clor tetraciclina (30%), intermedio para la oxitetraciclina, la demeclociclina y la tetraciclina (60 a 80%), y alto para la doxiciclina (95%) y la minociclina (100%)⁽⁵³⁾ Pindell y col⁽⁵⁴⁾ demostraron que el clorhidrato de tetraciclina se absorbe en todas las regiones del tracto gastrointestinal, presentándose mayores concentraciones en suero al ser absorbido a través del estómago; la absorción es menos efectiva en las partes inferiores del tracto gastrointestinal y es despreciable en el colon. Se ha demostrado que la absorción del clorhidrato de tetraciclina se lleva a cabo rápidamente, pero es incompleta⁽⁵⁵⁾.

Al aumentar la dosis, la absorción disminuye, así mismo se ve disminuida en presencia de leche y productos lácteos⁽⁵⁶⁾ y particularmente con la administración simultánea de geles de hidróxido de aluminio, sales de calcio y magnesio^(57,60,65,66,73), bicarbonato de sodio y preparados de hierro⁽⁶²⁾. Los mecanismos responsables de la menor absorción parecen ser la quelación y un aumento de pH gástrico⁽⁶³⁾.

La amplia gama de concentraciones plasmáticas presentes en diferentes individuos después de la administración por vía oral de las diversas tetraciclinas se relaciona, en gran parte con la irregularidad de su absorción del tracto gastrointestinal. Estos fármacos pueden dividirse en tres grupos según las dosis y frecuencia de administración, por vía oral, que sean necesarias para producir concentraciones plasmáticas efectivas.

Como se ha mencionado la absorción de clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina es incompleta. Después de una sola dosis por vía oral se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas en 2 a 4 horas (58,59). Estos fármacos tienen vidas medias de 6 a 9 horas, y con frecuencia se administran de dos a cuatro veces por día. La administración de 250 mg cada 6 horas produce concentraciones plasmáticas máximas aproximadas de 3 µg/ml.

La demeclociclina y metaciclina se administran generalmente en dosis diarias menores que los análogos mencionados. Su absorción también es incompleta, pero su vida media es de 16 horas aproximadamente y por ello las concentraciones plasmáticas efectivas pueden persistir de 24 a 48 horas, especialmente en la demeclociclina. La mala absorción de la metaciclina puede producir concentraciones plasmáticas menores que las dosis recomendadas de tetraciclina, pese a la diferencia de la vi

da media, la concentración máxima de metaciclina es de unos 2 $\mu\text{g/ml}$ después de una dosis oral de 500 mg⁽³⁾.

La doxiciclina y minociclina deben administrarse en dosis diarias aún menores por vía oral, pues su vida media es larga (de 17 a 20 horas), y se absorben bien. Después de una dosis oral de 200 mg de doxiciclina, las concentraciones plasmáticas del fármaco llegan a un máximo de 3 $\mu\text{g/ml}$ a las 2 horas y se mantienen por encima de 1 $\mu\text{g/ml}$ durante 8 a 12 horas. Las concentraciones plasmáticas son equivalentes cuando se administra doxiciclina por vía oral o parenteral⁽⁶⁴⁾. Los alimentos no interfieren en la absorción de doxiciclina o minociclina.

2.7.2. Distribución:

El volumen de distribución de las tetraciclinas es relativamente mayor que el del agua corporal total indicando la reclusión del fármaco en algún tejido. Spitzzi⁽⁶⁷⁾ y Chulski⁽⁶⁸⁾ indican un volumen de distribución de 68.1 litros, que equivale a un 95% del peso corporal, sin embargo Barr⁽⁵⁶⁾, reporta un volumen de distribución de 100 litros. Se unen en grado variable a las proteínas del plasma. Los valores aproximados son los siguientes: doxiciclina 80 a 90%; demeclociclina, de 65 a 90%; metaciclina aproximadamente 80%; minociclina, de 60 a 75%; clortetraciclina, de 50 a 70%; tetraciclina de 45 a 65%, y oxitetraciclina, de 20 a 40%⁽⁵⁶⁾. Sin embargo los valores reportados

en la literatura son extremadamente variables.

Todas las tetraciclinas se concentran en el hígado y se excretan, por medio de la bilis, al intestino, del cual se reabsorben parcialmente. Las concentraciones biliares de estos agentes son, por lo menos de cinco a diez veces mayores que los valores simultáneos plasmáticos⁽⁶⁹⁾. La clortetraciclina depende más de la excreción biliar para su eliminación del organismo que las otras tetraciclinas. Una disminución en la función hepática o la obstrucción del conducto biliar común reducen la excreción biliar de estos agentes y su consiguiente persistencia en la sangre. Debido a su circulación enterohepática, las tetraciclinas pueden estar presentes en la sangre durante mucho tiempo después de terminar el tratamiento.

Las concentraciones de clortetraciclina en el líquido cefalorraquídeo son cuatro veces menores que las plasmáticas, pero varían considerablemente cualquiera que sea la dosis. La inflamación de las meninges no es requisito previo para la entrada de las tetraciclinas al líquido cefalorraquídeo; las determinantes principales son la vía de administración y la duración del tratamiento. La inyección por vía intravenosa de una tetraciclina produce la aparición gradual del fármaco en el líquido cefalorraquídeo durante un período de 6 horas:

El tratamiento por vía oral da concentraciones muy bajas en el líquido cefalorraquídeo.

La penetración de estos fármacos en casi todos los demás líquidos y tejidos es excelente. Las concentraciones en el líquido sinovial y en la mucosa del seno maxilar se acercan a las plasmáticas^(70,71). La minociclina alcanza una concentración suficiente en las lágrimas y la saliva para eliminar el estado de portador meningocócico; esta característica es exclusiva de la minociclina y se ha atribuido a su mayor liposolubilidad⁽⁷²⁾.

Las tetraciclinas se almacenan en la células reticuloendoteliales del hígado, el bazo, y la médula ósea, en el hueso, la dentina y el esmalte de los dientes no erupcionados. Las tetraciclinas atraviesan la placenta y penetran en la circulación fetal y el líquido amniótico. Las concentraciones de tetraciclina en el plasma del cordón umbilical llegan al 60%, y en el líquido amniótico al 20% de la circulación materna. Asimismo, se encuentran concentraciones relativamente altas de estos fármacos en la leche materna⁽³⁾.

2.7.3. Metabolismo:

No se han encontrado datos reportados en la literatura sobre los metabolitos formados en humanos.

2.7.4. Excreción:

Todas las tetraciclinas se excretan por la orina y las heces, siendo la vía principal el riñón.

La depuración renal de estos fármacos se efectúa por filtración glomerular. Del 20 al 60% de una dosis intravenosa de 0.5 g de tetraciclina se excreta por la orina durante las primeras 24 horas; del 20 al 55% de una dosis oral, de cualquier magnitud se excreta por esta vía. Del 10 al 35% de una dosis de oxitetraciclina se excreta en forma inalterada por la orina, donde es detectable a los 30 minutos y alcanza una concentración máxima unas 5 horas después de su administración. Sólo se recupera en orina el 10 o 15% de una o varias dosis de clortetraciclina, la inyección por vía intravenosa produce el 60% de excreción urinaria durante las primeras 12 horas. La depuración metabólica de clortetraciclina por el riñón es aproximadamente del 35% del índice de filtración glomerular y menos que la de oxitetraciclina. Aproximadamente el 50% de la metaciclina se excreta sin cambios por la orina y aproximadamente el 5% se excreta en heces durante un período de 72 horas.

La minociclina es recuperable de la orina y las heces en cantidades mucho menores que las otras tetraciclinas y parece metabolizarse en grados considerable, su depuración renal es baja. El fármaco persiste en el organismo después de cesar su administración; esto puede deberse a retención en los tejidos grasos.

Debe hacerse una distinción importante en el caso de la doxiciclina, ésta no se elimina por las mis

mas vías que las otras tetraciclinas, y no se acumula significativamente en la sangre de los pacientes con insuficiencia renal. Por ello es una de las tetraciclinas más seguras para el tratamiento de infecciones extrarrenales en estos individuos.

Este fármaco se excreta en las heces, en gran parte como conjugado inactivo o, quizá como quelato; por esta razón su efecto es relativamente menor sobre la microflora intestinal.

Como ya se mencionó, el intestino es una vía importante de eliminación de las tetraciclinas.

Como estos agentes se absorben incompletamente del intestino cuando se administran por vía oral o se excretan al intestino por la bilis, están presentes en diversas concentraciones en las heces. La eliminación del tracto intestinal se produce incluso cuando estos fármacos se administran por vía parenteral, como resultado de la excreción por la bilis.

Chulski y col⁽⁶⁸⁾ administraron una dosis diaria de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina a 3 voluntarios de sexo femenino, una cada semana durante siete semanas. Se tomaron muestras de orina de 1 a 96 horas y de sangre de 1.5 a 5 horas; las muestras se analizaron por el método de Kohn⁽³⁾, encontrando una depuración renal de 53 - 95 ml/min.

Sukaloski y col⁽⁷⁴⁾ reportan el 60% de recuperación en orina después de la administración de una

dosis de 500 mg de clorhidrato de tetraciclina administrado intravenosamente. Este valor fué similar al obtenido después de una administración oral. Según Meyer y col⁽⁷⁵⁾ la recuperación promedio es de 54%. Steigbigel y col⁽⁷⁶⁾ citan una recuperación promedio del 59.4%, mientras que Jaffe y col⁽⁷⁷⁾ encuentran una recuperación del 48% de una dosis de 500 mg después de 48 horas, en sujetos con orina ácida y de 59% en sujetos con orina alcalina. En base a los estudios antes mencionados^(22,27,28,29), del 40 al 60% de una dosis de tetraciclina se elimina en forma intacta en la orina. Se ha demostrado que la excreción urinaria de la tetraciclina es un indicador confiable de la biodisponibilidad de este antibiótico y puede ser directamente correlacionado con los niveles de fármaco en sangre⁽⁶⁸⁾.

2.7.5. Tiempo de vida media.

La tetraciclina se elimina del organismo después de una sola dosis con un tiempo de vida media de 6.3 a 9.4 horas y en dosis múltiples se elimina con un tiempo de vida media aproximado de 10 horas en adultos con función renal normal^(75,77). Este tiempo aumenta en sujetos con función renal impedida.

En la Tabla V se presentan algunos parámetros farmacocinéticos reportados para las tetraciclinas, entre estos datos se encuentran valores de tiempo de vida media reportados por diversos autores^(79,80,91,82,83,84).

Tabla VI. Valores farmacocinéticos de las tetraciclinas.

Fármaco	% absorbido de una dosis oral (a)	Tiempo de vida media (horas)		Unión a Proteínas % (f)	Depuración Renal mL/mín/1.73 m ²	
		Dosis únicas	Dosis múltiples			
Tetraciclina	77	8-10 ^(a)	6.1±1 ^(b)	10.8 ^(b)	64.6	73.5
Demeclociclina	66	12 ^(a)	8.7±1.5 ^(b)	13.6 ^(b)	90.8	36.5
Doxiciclina	90-100	15-17 ^(a)	8.1±2.2 ^(b)	16.6 ^(b)	93.0	16.0
Metaciclina	bajo	14-15 ^(a)	7.4±2.3 ^(b)	14.3 ^(b)	90.0 ^(e)	29.0 ^(d)
Oxitetraciclina	58	15-20 ^(a)	-	-	-	-
Clortetraciclina	30	9-5 ^(a)	-	-	-	-
Minociclina	-	5.5-6 ^(a)	13-15 ^(c)	-	76.0 ^(d)	9.0 ^(d)

16^d

referencia

- a) AMA (79)
- b) Doluisio and Dittert, 1969 (80)
- e) Weinstein, 1970 (81)
- d) Mac Donald et al, 1973 (82)
- c) Brogden et al. 1975 (83)
- f) Kunin et al., 1974 (84)
- (-) No determinado

2.7.6. Usos terapéuticos:

Las tetraciclinas poseen una amplia gama de actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas y gramnegativas. Las tetraciclinas se han usado ampliamente para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Este uso ha traído aparejada una creciente resistencia bacteriana a estos fármacos. Debido a esto y al desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que son más efectivos para infecciones específicas y menos tóxicos, el uso de las tetraciclinas ha disminuído considerablemente.

Estos agentes son útiles en enfermedades por rickettsias y bacterias, en infecciones producidas por algunos Mycroplasmas y en trastornos causados por Chlamydia. Entre las enfermedades infecciosas que combaten con probada eficacia figuran fiebre maculosa de las montañas rocosas, tifus murino, tifus exantémico epidémico, tifus de los matorrales, fiebre Q, linfogranuloma venéreo, psitacosis, tularemia atinomicosis, acné, brucelosis, gonorrea, algunas infecciones del tracto urinario, infecciones oculares, infecciones causadas por estreptococos y estafilococos, algunos tipos de peritonitis, gonorrea, granuloma inguinal, chancroide, sífilis y enfermedades debidas a Bacteroides y Clostridium.

El uso actual de las tetraciclinas en la terapéutica de diversas infecciones se encuentra reportado en el Apéndice II.

Tabla VI. Sensibilidad bacteriana a las tetraciclinas*

Bacterias aerobias	PORCENTAJE DE CEPAS SENSIBLES (Concentración inhibitoria mínima 3.1µg/ml)	
	Tetraciclina	Doxiciclina
Staphylococcus aureus	65	65
Streptococcus pyogenes	87	95
Streptococcus pneumoniae**	100	-
Streptococcus (grupo B)	50	50
Streptococcus (grupo D)	0	0
Neisseria gonorrhoeae	88	92
Neisseria meningitidis	100	-
Haemophilus influenzae	33	93
Escherichia coli	5	5
Klebsiella pneumoniae	0	0
Especies de Enterobacter	50	0
Pseudomonas pseudomallei	100	-
Especies de Shigella	50	-

Bacterias Anaerobias	PORCENTAJE DE CEPAS SENSIBLES (Concentración inhibitoria mínima 4µg/ml)	
	Tetraciclina	Doxiciclina
Peptococcus	36	70
Peptostreptococcus	52	79
Streptococcus	90	90
Eubacterium	65	82
Propionibacterium	83	92
Clostridium pertingens	67	78
Otras especies de Clostridium	52	68
Actinomyces	94	100
Bacteroides fragilis	42	75
Bacteroides melaninogenicus	87	96
Otras especies de Bacteroides	50	68

* Modificado de Standiford (1979).

**Las cepas tetraciclina-resistentes de Strep. pneumoniae son más comunes en algunas áreas.

Todas las cepas se inhiben con 1.6µg/ml de minociclina.

La mayoría de las cepas se inhibe con 25 µg/ml de doxiciclina, concentración que se alcanza en el tracto urinario.

Los niveles sanguíneos terapéuticos de tetraciclina dependen del organismo y del sitio de la infección. Las concentraciones in vivo no se conocen, por lo tanto, las concentraciones in vitro se consideran generalmente como un índice aproximado de ellas: Los rangos in vitro son de 0.19 - 12.5 mcg/ml para una variedad de bacterias patógenas susceptibles⁽⁸⁵⁾. En la Tabla VI se presenta la sensibilidad de algunas bacterias aerobias y anaerobias a las tetraciclinas⁽³⁾.

2.7.7. Reacciones secundarias y tóxicas:

Las reacciones adversas de las tetraciclinas y sus derivados se encuentran descritas en el Apéndice III.

2.7.8. Biodisponibilidad.

Los efectos de la dieta en la absorción de fármacos del tracto gastrointestinal son muy variables y dependen frecuentemente de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y del mecanismo de absorción.

Kirby y col⁽⁹⁶⁾ estudiaron el efecto de la dieta en la absorción de tetraciclinas. Se midieron niveles plasmáticos de cuatro tetraciclinas administradas a sujetos en ayunas y a sujetos con dieta controlada. Estos autores encontraron una reducción del 50 al 80% en los niveles séricos de los voluntarios que recibieron alimento.

Kaplan y col⁽⁹⁷⁾, demostraron que las concentraciones en suero después de la administración de la sal del complejo de fosfatos de sodio fueron 20 veces mayores que las obtenidas por el clorhidrato de tetraciclina.

Bunn (98), también señala que la administración del clorhidrato de tetraciclina junto con ácido cítrico produce niveles plasmáticos más altos.

Carlozzi y col (92) demuestran que las concentraciones séricas de tetraciclina aumentan al usar D-glucosa mida como adyuvante.

La estructura química de la tetraciclina posee numerosos sitios donde puede ocurrir la quelación con cationes metálicos. La quelación es considerada el mecanismo por el cual se ve disminuída la absorción en presencia de antiácidos que contienen cationes polivalentes.

Neuvonen y col (94) demostraron que los complejos de tetraciclina-metal más estables son, en orden decreciente: Fe^{+++} , Al^{+++} , Cu^{++} , Ni^{++} , Fe^{++} , Co^{+++} , Zn^{++} , Mn^{++} . Algunos de estos complejos son insolubles y poco absorbibles en el tubo gastrointestinal. También la leche y sus derivados disminuyen la absorción en un 50-90%.

La absorción gastrointestinal de las tetraciclinas es reducida significativamente con leche o productos lácteos, o con diferentes antiácidos que contengan metales y que sean ingeridos al mismo tiempo (100).

2.7.9. Datos de Bioequivalencia.

La determinación de bioequivalencia entre productos que contienen el mismo ingrediente activo, está adquiriendo día a día mayor importancia, tanto para la industria farmacéutica, como para la profesión médica y los consumidores.

Existen en la literatura médica y farmacéutica un

gran número de reportes en los que se hace notar la falta de bioequivalencia para diferentes fármacos, entre los cuales se encuentra la tetraciclina⁽⁸⁶⁾. Schneller⁽⁸³⁾ incluye a este antibiótico en la lista de 40 fármacos en los cuales definitivamente se esperan problemas de biodisponibilidad biológica. Los reportes presentados por "The ad Hoc Committee on Drug Product Selection of the Academy of General Practice of Pharmacy" y por "the Academy of Pharmaceutical Science, American Pharmaceutical Association", catalogan a la tetraciclina como un fármaco con fallas potenciales de biodisponibilidad⁽⁸⁸⁾. En julio de 1974 "the Drug Bioequivalence Panel of the office of technology Assessment"⁽⁸⁷⁾, incluye a la tetraciclina en la lista de 24 fármacos que exhiben diferencias de biodisponibilidad entre productos químicamente equivalentes.

La tetraciclina también ha sido incluida entre los productos cuya biodisponibilidad es susceptible a los efectos de factores de formulación⁽⁸⁹⁾. Estos problemas de biodisponibilidad han sido estudiados por diferentes investigadores^(58,59,68,75).

Mac Donald y colaboradores⁽⁹⁰⁾ estudiaron 4 preparaciones de cápsulas de tetraciclina y reportaron que la Achromycin V de Lederle presenta: diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos y urinarios de tetraciclina, siendo mayores respecto a las otras tres marcas analizadas. Los fabricantes de las marcas que presentan niveles inferiores no se indicaron.

Barr y colaboradores⁽⁹¹⁾ efectuaron un estudio de biodisponibilidad en el cual compararon 3 preparaciones de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg. Achromycin V de Lederle con productos de tetraciclina etiquetados por los laboratorio Gyma y Rugby, sus datos indicaron diferencias significativas en Biodisponibilidad respecto a la cantidad relativa de tetraciclina absorbida, en términos de niveles séricos y datos de excreción urinaria. Esta fue mayor para el producto de Lederle. En este estudio, también se demuestra que la biodisponibilidad de la tetraciclina puede calcularse usando los datos de excreción urinaria obtenidos después de la administración de una dosis.

Lovering y col.⁽⁹²⁾ realizaron un estudio de Biodisponibilidad de 9 productos de clorhidrato de tetraciclina existentes en Canadá; encontrando diferencias significativas entre los productos estudiados, además se estableció un grado estadísticamente de correlación significativa entre la biodisponibilidad y la disolución de las tabletas estudiadas.

Meyer y col.⁽⁹³⁾ efectuaron un estudio sobre la biodisponibilidad relativa de 16 preparaciones diferentes de tetraciclina de 250 mg disponibles en los Estados Unidos, usando los datos obtenidos de la excreción urinaria del fármaco, no encontrando diferencias significativas entre los productos estudiados.

De Sante y col.⁽⁹⁴⁾ llevaron a cabo un estudio en

el que demostraron que 3 productos de tetraciclina que pasaron las pruebas de la F.D.A. (Food and Drug Administration) presentaban diferencias en Biodisponibilidad. Al hacer las pruebas de disolución se observó que una baja disolución sugiere ya un problema de bioequivalencia; en el caso de tetraciclina, a pesar de que esta prueba aún no ha sido considerada necesaria de manera oficial para la certificación de este fármaco. Estos autores sugieren iniciar estudios para determinar si existe correlación entre la disolución del fármaco y los niveles sanguíneos antes de aceptar la certificación de equivalencia química como un criterio válido para asegurar la biodisponibilidad entre diferentes preparaciones de un mismo fármaco.

2.7.10. Importancia Socioeconómica.

El pueblo americano es un consumidor prolífico de fármacos. En 1972, 10 billones de antibióticos fueron certificados por la F.D.A. para usarse en Estados Unidos.

Esta cantidad es suficiente para proporcionar 50 dosis por año para cada hombre, mujer o niño en el país. Los antibióticos representan la categoría más prescrita (12.3%); de éstos el grupo de las tetraciclinas representa un 30.5% y el clorhidrato de tetraciclina el 22% (Tabla VII).

Hasta 1975 la tetraciclina representaba el segundo grupo de fármacos genéricos más prescritos en Estados Unidos.

En México la tetraciclina se encuentra incluida dentro de la lista de fármacos del cuadro básico del IMSS. En 1974 este antibiótico se encontraba entre los productos

Tabla VII. Porcentaje de ventas de antibióticos en E.U.A. (13).

Tetraciclinas	30.5%	→	6-Demetilclorotetraciclina	5.4%
Penicilinas	24.6%		6-Metilenoxitetraciclina	1.5%
Aminociclitales	10.9%		Oxitetraciclina	1.2%
Macrólidos y Lincomicina	11.3%		α 6-deoxioxitetraciclina	0.3%
Péptidos	13.0%		clortetraciclina	0.1%
Cloranfenicol	2.6%		Tetraciclina	22.0%
Polienos y Griseofulvina	7.0%			
Misceláneos	8.3%			

que representaron el 50% de la compra. El consumo en 1975 fué del 60% de la venta total de antibióticos.

Actualmente se encuentran incluidos en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, 61 productos que contienen clorhidrato de tetraciclina como principio activo⁽⁹⁵⁾.

Su importancia socioeconómica se debe a que en México la tetraciclina se usa principalmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias y gastrointestinales, las cuales representan una de las principales causas de mortalidad en el país.

CAPITULO III

CAPITULO III

III. Parte experimental. En las Tabla VIII se presenta un diagrama que ilustra de una manera general el desarrollo seguido durante el estudio.

3.1. Control Farmacéutico.

Los productos farmacéuticos de tetraciclina estudiados se compraron en las farmacias nacionales. Se adquirieron 100 cápsulas del mismo lote. El producto innovador (Achromycin V, Lederle, Laboratories Division, Lote No. 651-555) fué comprado en la ciudad de Tijuana, Baja California Norte. Todos los medicamentos estudiados estipulaban en el marbete 250 mg de clorhidrato de tetraciclina, como único principio activo.

Los medicamentos estudiados se presentan en la Tabla IX. A los productos se les efectuaron las siguientes pruebas de control físico-químico en el laboratorio de Farmacia Experimental de la Facultad de Química, U.N.A.M., con el objeto de conocer la equivalencia farmacéutica de los mismos antes de empezar cualquier estudio.

Identificación	U.S.P. XX ⁽⁵⁾
Desintegración	Aparato U.S.P.-XIX ⁽⁴⁾ en agua destilada a 37° sin disco
Variación de peso	U.S.P. XX ⁽⁵⁾
Variación de contenido	CFR ^(5a) (Método espectrofotométrico con NaOH 5N)
Contenido químico	CFR ^(5a) (Método espectrofotométrico con NaOH 5N)

3.2. Estudios in vitro; disolución de productos de clorhidrato de tetraciclina del mercado nacional.

Se realizó el estudio de disolución de 15 productos farmacéuticos comerciales de clorhidrato de tetra-

Tabla VIII. Diagrama General de la Parte Experimental

Adquisición de muestras de clorhidrato de tetraciclina (cáps. de 250 mg) y con trol farmacéutico de las mismas

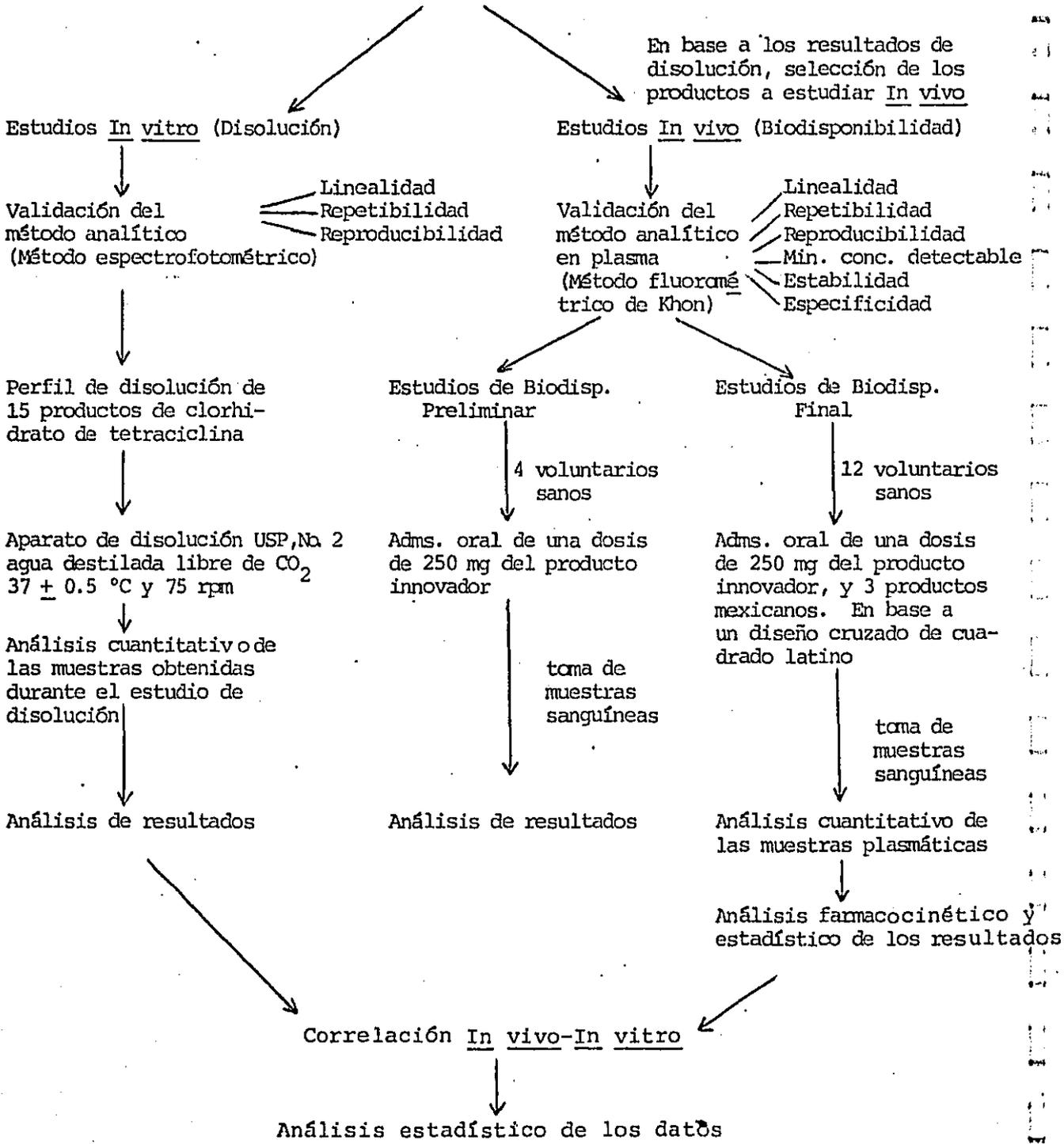


Tabla IX. Productos Farmacéuticos de clorhidrato de tetraciclina estudiados (250 mg)

Nombre comercial	No. de Lote	Forma farmacéutica	Laboratorio
Abramicina	96841	cápsulas	Lepetit, S.A.
Bristaciclina A	EF119	cápsulas	Antibióticos de Méx. S.A.
Goñiciclina	4G38	cápsulas	Lab. Bristol, S.A.
Acromicina (Lederle)	157	tabletas	Cyanamid de México, S.A. de C.V.
Achromycin V	500-453 651-555*	cápsulas	Lederle Laboratories Division
Tetraciclina Atlantis	L-670303	cápsulas	Atlantis, S.A.
Tetraciclina Besal	185	cápsulas	Besal, S.A.
Tetraciclina Carlo-Erba	16118 12110 5021	cápsulas	Montedison Farmacéuticos, S.A.
Tetraciclina ICN	9984-4RS	cápsulas	Lab. ICN, S.A.
Tetraciclina Kan	7081	cápsulas	Productos Kan, S.A.
Tetrex	EC-807 EC-151	cápsulas	Lab. Bristol de Méx. S.A. de C.V.

* Producto innovador.

ciclina (250 mg) de 11 laboratorios diferentes de los cuales 13 productos eran mexicanos y 2 productos americanos (Ver Tabla IX). La prueba de disolución se realizó en agua destilada libre de CO_2 a 37°C y 75 rpm utilizando el equipo oficial No. 2 de la U.S.P. XX⁽⁵⁾

A cada medicamento de la Tabla IX se le asignó una clave, correspondiendo el número 15 al producto innovador.

A partir del perfil de disolución de los diferentes productos estudiados se seleccionaron tres productos de baja velocidad de disolución, para utilizarlos en el estudio de biodisponibilidad (estudio in vivo) y así, posteriormente tratar de establecer una relación que pueda ser de utilidad en la predicción de comportamiento in vivo de los medicamentos de clorhidrato de tetraciclina realizando pruebas de disolución.

3.2.1. Determinación cuantitativa de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

El método utilizado para la cuantificación del clorhidrato de tetraciclina en el medio de disolución (agua destilada libre de CO_2) fue un método espectrofotométrico.

3.2.1.1. Instrumentos.

Espectrofotómetro Varian, modelo 634; Balanza analítica Mettler, modelo H54AR; Registrador Farrand, modelo 100.

3.2.1.2. Reactivos.

1. Clorhidrato de tetraciclina donada por los laboratorios Fermic, S.A., potencia microbiológica 972 mcg/mg.

2. Solución de referencia de clorhidrato de tetraciclina; pesar 50 mg activos de clorhidrato de tetraciclina y aforar a 100 ml con agua destilada, (concentración 500 µg/ml); esta solución se utilizó para preparar la curva patrón.

3. Agua destilada libre de CO₂.

4. Detergente Extran líquido (Merck).

3.2.1.3. Método.

Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina:

De la solución de referencia de clorhidrato de tetraciclina (500 mcg/ml) se transfieren alícuotas de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 ml a matraces volumétricos de 50 ml, aforando con agua destilada para obtener concentraciones de 5, 10, 20, 30 y 40 µg/ml respectivamente.

Valoración: Las soluciones preparadas para la curva patrón se leen en el espectrofotómetro a 360 mµ, utilizando como blanco agua destilada libre de CO₂.

3.2.1.4. Linealidad y repetibilidad.

Con el fin de determinar si la relación entre la absorbancia y la concentración de tetraciclina correspondiente era lineal, se efectuó un estudio determinando las absorbancias de concentraciones conocidas de clorhi-

drato de tetraciclina en agua destilada en un intervalo de concentración de 1 a 40 $\mu\text{g/ml}$. Se obtuvo el promedio de 5 curvas de referencia realizadas al mismo tiempo, utilizando las siguientes concentraciones: 1, 5, 10, 20, 30 y 40 $\mu\text{g/ml}$.

Con objeto de determinar la repetibilidad del método espectrofotométrico, para la determinación de tetraciclina en agua destilada, se determinó el coeficiente de variación para cada una de las concentraciones utilizadas en las 5 curvas patrón mencionadas.

3.2.1.5. Reproducibilidad.

Con el objeto de determinar la reproducibilidad del método en diferentes días, bajo condiciones idénticas de operador, aparato espectrofotométrico, laboratorio, etc., se hicieron determinaciones de clorhidrato de tetraciclina a concentraciones de 1, 5, 10, 20, 30 y 40 $\mu\text{g/ml}$ en 10 ocasiones diferentes en agua destilada mediante el método descrito en 3.2.1.3.

3.2.2. Perfil de disolución de quince productos farmacéuticos de clorhidrato de tetraciclina.

Se realizaron estudios para determinar el perfil de disolución de los diferentes productos de clorhidrato de tetraciclina (cápsulas de 250 mg) incluyendo el producto innovador).

El estudio de disolución se realizó con el obje-

to de caracterizar el perfil de disolución de los productos nacionales, comparar su comportamiento con el del producto innovador y seleccionar, posteriormente, los productos farmacéuticos del mercado nacional a estudiar in vivo.

3.2.2.1. Instrumentos.

Aparato de disolución número dos de 6 vasos USP-NF, modelo 725L (Hanson Research Corporation), y los instrumentos mencionados en 3.2.1.1.

3.2.2.2. Reactivos.

Los mencionados en 3.2.1.2.

3.2.2.3. Método.

El estudio de disolución se realizó en 6 cápsulas por cada lote estudiado. En cada vaso del aparato de disolución se depositaron 900 ml del medio de disolución, agua destilada libre de CO₂, utilizando la temperatura de baño a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y calibrando el aparato a 75 rpm. Se colocó una cápsula en cada uno de los vasos e inmediatamente se accionó el motor de agitación del aparato, anotando el tiempo de inicio del estudio (tiempo cero). Se tomaron alícuotas filtradas de 10 ml a los siguientes tiempos: 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos (reponiendo el volumen extraído en cada ocasión con el medio de disolución a 37°C). Se determinó cuantitativa

mente el clorhidrato de tetraciclina en las muestras, al mismo tiempo que a una curva patrón, utilizando el método espectrofotométrico descrito en la sección 3.2.1.3.

3.3. Estudios in vivo.

Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos:

Se diseñó un estudio de biodisponibilidad utilizando dosis únicas del fármaco en sujetos sanos, en estado de ayuno. No se permitió la ingestión de otros fármacos una semana antes del estudio ni durante el mismo. Los estudios se condujeron en sujetos ambulantes sanos con una actividad física normal, además se controló la cantidad y tipo de alimentos, así como el tiempo antes de su ingestión.

3.3.1. Determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Para la cuantificación de clorhidrato de tetraciclina en plasma se empleó el método fluorométrico, descrito por Kohn (31)

3.3.1.1. Instrumentos.

Balanza analítica Mettler, modelo H54AR; Balanza granataria Ohaus, modelo Harvard trip; Fluorómetro, modelo Ratio fluorometer 2, Foci-Farrand optical CO, INC; Agitador Vortex, Termolyne Maxi-Mix; Centrífuga Dymac, Cat. No. 0065, Clay Adams; Refrigerador, Mabe, mo

delo Space line; Congelador IEM, Fiem, S.A. de C.V.
Micropipeta de graduación variable de 200 a 1000 μ l,
Socorex (swiss), Repipeteador, modelo Repipet Dispensers
& Dilutors, LI Labindustries.

3.3.1.2. Reactivos.

1. Clorhidrato de tetraciclina (4 dimetilamino - 1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a-octahidro-3, 6, 10, 12, 12a pentahidroxi-6-metil-1, 11-dioxonaftaceno-2-carboxamida, Laboratorios Fermic de México, S.A., potencia microbiológica 972 mcg/ml)

2. Cloruro de calcio R.A. (Merck)

Solución de cloruro de calcio 0.08M: se pesaron 4.43 g y se aforó a 500 ml con agua destilada.

3. Acido tricloroacético R.A. (Merck)

Solución de ácido tricloroacético 0.88N: se pesaron 71.87 g de ácido tricloroacético y se aforó a 500 ml con agua destilada.

4. Solución de CaCl_2 0.04M y ácido tricloroacético 0.44N; las soluciones 1 y 2 se mezclaron en volúmenes iguales.

5. Barbital sódico R.A. (Merck); Solución de Barbital sódico al 12%, se pesaron 12 g de barbital y se aforó a 100 ml con agua destilada.

6. Acetato de etilo R.A. (Merck)

7. Detergente Extran líquido (Merck).

Tabla X. Diluciones de la curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Dilución	Vol.dilución.conc.plasma + Vol.plasma	Vol.inicial	Vol.final	Conc µg/ml
A	Solución stock (100 mcg/ml)			
B	1 ml de la sol A + 9 ml plasma	10 ml	8 ml	10.0
C	2 ml de la sol B + 2 ml plasma	4 ml	2 ml	5.0
D	2 ml de la sol C + 2 ml plasma	4 ml	2 ml	2.5
E	2 ml de la sol D + 3 ml plasma	5 ml	3 ml	1.0
F	2 ml de la sol E + 2 ml plasma	4 ml	3 ml	0.5
G	1 ml de la sol F + 1 ml plasma	2 ml	2 ml	0.25

3.3.1.3. Método.

Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina:

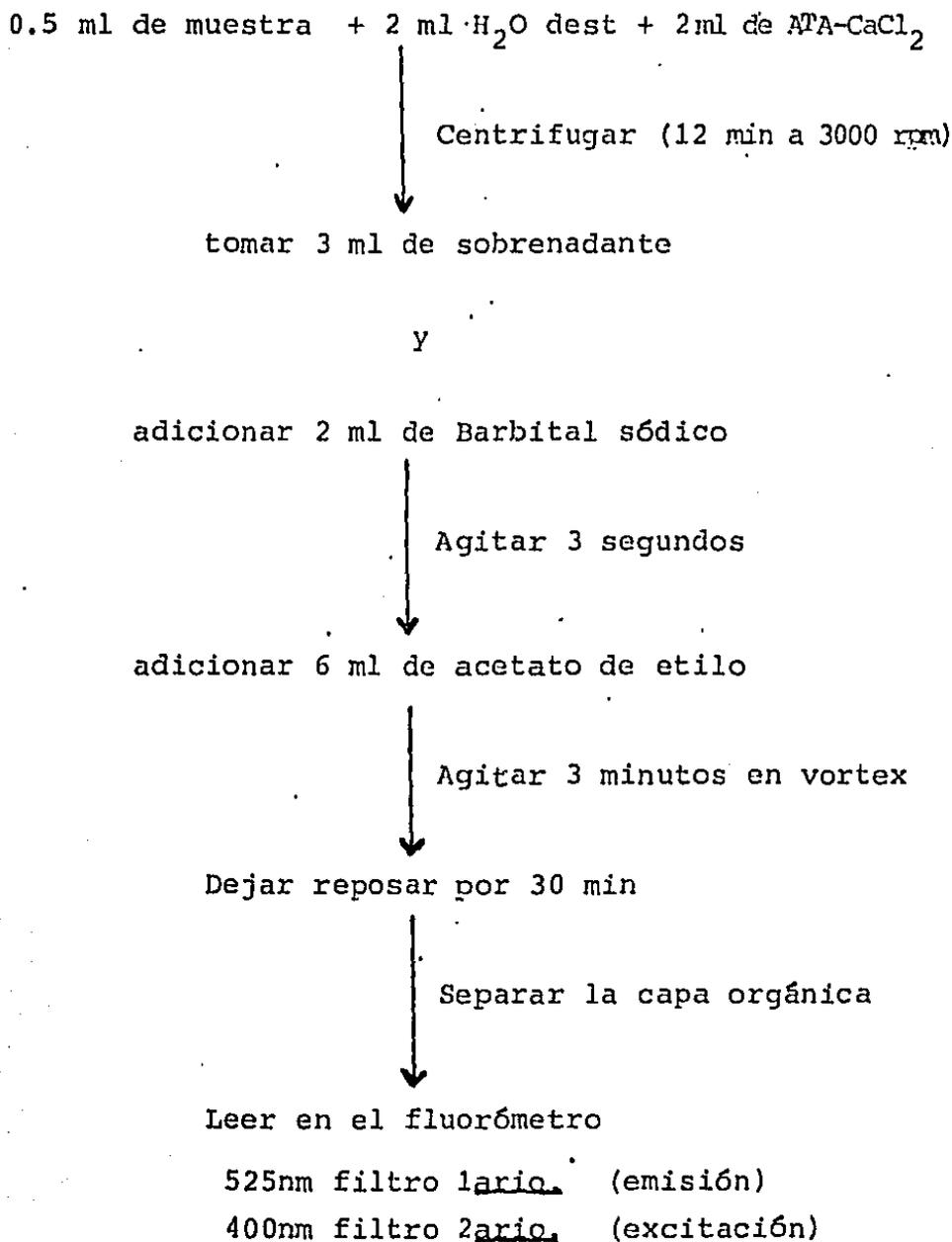
La preparación de la curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma se realizó de la siguiente manera: En un matraz volumétrico de 100 ml, se pesaron con exactitud 10 mg activos de clorhidrato de tetraciclina, se añadió agua destilada, se agitó hasta dilución total y se aforó. A esta solución se le asignó la letra A (concentración: 100 mcg/ml).

A partir de la solución A se prepararon las diferentes concentraciones de la curva patrón en plasma humano libre de fármacos (el plasma debe obtenerse utilizando heparina como anticoagulante) en un intervalo de 0.25 - 10 µg/ml efectuando las diluciones indicadas en la Tabla X este intervalo de concentraciones es el mismo que se espera tener en plasma humano después de una administración oral de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina. La curva patrón se prepara de esa manera, con el objeto de utilizar la mínima cantidad de plasma o cualquier otro fluido biológico, que en el caso de muestras biológicas es importante, debido a que son difíciles de conseguir.

Valoración:

En tubos de ensayo de 10 ml con tapón de rosca se adicionó con una micropipeta 0.5 ml de cada una de las diluciones preparadas anteriormente para la curva patrón;

Tabla XI: Esquema del método de valoración de clorhidrato de tetraciclina en plasma.



se les añadió 2 ml de H₂O dest y 2.0 ml de la mezcla de cloruro de calcio 0.44 M - ácido tricloroacético 0.4N, se centrifugó a 3000 rpm durante 12 minutos para separar las proteínas plasmáticas precipitadas y del líquido sobrenadante se tomaron con pipeta volumétrica 3 ml, los cuales se colocaron en tubos de ensayo de 50 ml con tapón de rosca, se adicionaron 2 ml de la solución de Barbitol sódico, se agitó 3 segundos; se añadieron 6 ml de acetato de etilo, se agitó en "vortex" durante 3 minutos, se dejó reposar 30 minutos. La fase orgánica se leyó en el fluorómetro utilizando un filtro de 525 nm como filtro primario y un filtro de 400 nm como filtro secundario. El esquema del método de valoración se presenta en la Tabla III.

3.3.1.4. Linealidad.

Con el fin de determinar si la relación entre las concentraciones y la fluorescencia era lineal, se efectuó el estudio por quintuplicado en el rango de concentraciones de 0.25-10 mcg/ml; las concentraciones utilizadas fueron las siguientes: 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10 mcg/ml.

3.3.1.5. Reproducibilidad y repetibilidad.

Con el objeto de conocer la variación del método fluorométrico de clorhidrato de tetraciclina en plasma bajo las mismas condiciones de tiempo, reactivos, operador, instrumentos y laboratorio, se determinó el coeficiente de variación de la curva patrón como se indica en

3.3.1.4.

Para determinar la reproducibilidad del método en plasma, se analizaron 5 curvas en días diferentes siguiendo el método descrito en 3.3.1.3. Las diferentes concentraciones de estas curvas patrón se prepararon el mismo día de la determinación en condiciones idénticas de operador, instrumentos y laboratorio.

3.3.1.6. Mínima concentración detectable.

Con el objeto de conocer la mínima concentración que es posible detectar se procedió a determinar por triplicado las absorbancias de concentraciones conocidas y la fluorescencia del blanco, ajustando el cero de fluorescencia con una muestra preparada en forma semejante a las demás muestras, pero libre de clorhidrato de tetraciclina. Las concentraciones utilizadas fueron: 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 $\mu\text{g/ml}$).

3.3.1.7. Estabilidad de clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Con el objeto de observar la estabilidad de las muestras de clorhidrato de tetraciclina en plasma humano respecto al tiempo, se prepararon 4 soluciones de clorhidrato de tetraciclina en plasma, cuyas concentraciones fueron: 1.0, 2.5, 5.0 y 10 $\mu\text{g/ml}$. Estas soluciones se dividieron en alícuotas, colocándose en diferentes tubos

con el objeto de no descongelar el volumen total preparado para cada concentración en los diferentes días del análisis de estabilidad. La primera serie se analizó el mismo día (tiempo cero) y las demás alícuotas de diferentes concentraciones se guardaron a -10°C , hasta el momento de su análisis de acuerdo al siguiente horario:

1er día	
3er día	
5 ^a . día	
7 ^a . día	→ 1a. semana
	2a. semana
	3a. semana
	4a. semana → 1 mes
	2 meses
	3 meses

Las muestras se analizaron por duplicado, comparándose con una curva de referencia preparada en cada ocasión.

3.3.2. Estudios preliminares de Biodisponibilidad.

Los estudios preliminares efectuados en el desarrollo de este trabajo tuvieron por objeto:

- a) Conocer los tiempos y concentraciones más adecuados para llevar a cabo un estudio final de biodisponibilidad.
- b) Determinar parámetros farmacocinéticos de clorhidrato de tetraciclina en la población mexicana.

Se seleccionaron voluntarios sanos, sin manifestaciones clínicas de padecimientos renales o hepáticos y con pruebas de laboratorio de química sanguínea (glucosa, urea y creatinina), biometría hemática completa (leucocitos, linfocitos, hemoglobina, hematocrito) y análisis general de orina (densidad, pH, glucosa, albumina y leucocitos), dentro de parámetros normales.

Después de informar a cada voluntario sobre las características del clorhidrato de tetraciclina (Apendice III) así como los objetivos del estudio, procedimientos y riesgos involucrados, se les pidió su consentimiento por escrito para participar en esta investigación (Apendice IV).

3.3.2.1. Estudio Preliminar

Administración oral del producto innovador.

Se administró por vía oral una dosis de 250 mg del producto innovador del clorhidrato de tetraciclina (Achromycin V, Lederle, Lote No. 651-555) a 4 voluntarios sanos del sexo femenino seleccionados de acuerdo a la sección 3.3.2.

El protocolo del experimento fue el siguiente:

1. Voluntarios sanos sin antecedentes de hipersensibilidad o idiosincracia a tetraciclina y sus derivados.
2. Los sujetos no deberán tomar ningún medicamento o alcohol por lo menos una semana antes del estudio ni durante el mismo, notificarán al responsable del es-

tudio en caso contrario.

3. Permanecerán en ayunas desde las 23 horas del día anterior al estudio, hasta 4 horas después de la administración del medicamento; tiempo en el cual el sujeto podrá tomar un desayuno ligero que consistirá en fruta, gelatina, emparedado y ensalada.
4. Deberán tomar 200 ml de agua con la ingestión del medicamento y hasta las 4 horas después el agua será ad libitum.
5. Para la toma de muestras sanguíneas, se introducirá un catéter del No. 17 en la vena cefálica media, este catéter permanecerá en la vena durante las primeras 12 horas del estudio.
6. Se tomará un volumen de 10 ml a tiempo cero (para blanco y preparación de curva patrón) y un volumen de 5 ml de sangre en cada tiempo de muestreo. Para evitar que se coagule la sangre en el catéter se introducen inmediatamente después de cada toma de sangre 0.05 ml de una solución estéril de heparina de 1000 u/ml con una jeringa de 1 ml.
7. La sangre extraída se colocará en tubos previamente heparinizados estériles, después se procederá a separar el plasma por centrifugación, dentro de los 30 minutos posteriores a la toma de muestra.
8. Una vez separado el plasma de las diferentes muestras sanguíneas se tapanán los tubos perfectamente con

parafilm, con el objeto de evitar cualquier tipo de contaminación y se colocarán estas muestras en el congelador a -10°C hasta el momento de su análisis.

9. Se debe tener cuidado que los tubos para las muestras sanguíneas estén adecuadamente etiquetados (número, nombre del voluntario, número de muestra, día de estudio y tiempo de muestreo en horas), para evitar cualquier tipo de confusión ya sea de horario o muestras de otro voluntario.
10. Los voluntarios no deben ingerir leche o sus derivados durante el primer día del estudio (24 horas).

3.3.3. Estudio final de Bioequivalencia: producto innovador y tres productos del mercado nacional.

Se efectuó el estudio de bioequivalencia de clorhidrato de tetraciclina utilizando 4 productos diferentes. Se siguió un diseño cruzado completo de 4 vías, comparándose la biodisponibilidad del producto innovador con la de 3 productos del mercado nacional.

En este estudio participaron 12 voluntarios sanos, 7 del sexo masculino y 5 del sexo femenino, seleccionados en base a resultados normales de biometría hemática, química sanguínea y análisis general de orina y pruebas de funcionamiento renal y hepático. En el apéndice V se indican las características físicas de los voluntarios. A los voluntarios se les asignó un número secuencial del 1 al 12 y se distribuyeron de acuerdo a la Tabla IV.

Tabla XII. Diseño cruzado completo de 4 vías para el estudio de bio-disponibilidad de clorhidrato de tetraciclina.

Grupo	Voluntario	Período de tiempo (semanas)			
		1	2	3	4
I	1,2,3	A	B	C	D
II	4,5,6	B	C	D	A
III	7,8,9	C	D	A	B
IV	10,11,12	D	A	B	C

Tabla XIII. Horario utilizado en la toma de muestras sanguíneas del estudio de biodisponibilidad de 4 vías de clorhidrato de tetraciclina.

Muestras sanguíneas

Tiempo (horas)	Muestra
Blanco 0.0	0-PL
0.25	1-PL
0.5	2-PL
1.0	3-PL
1.5	4-PL
2.0	5-PL
2.5	6-PL
3.0	7-PL
3.5	8-PL
4.0	9-PL
5.0	10-PL
6.0	11-PL
8.0	12-PL
10.0	13-PL
12.0	14-PL
24.0	15-PL

Nota: En las 4 semanas del estudio se siguió el mismo horario.

Los productos mexicanos se seleccionaron en base al perfil de disolución y a los datos de control de calidad. Se seleccionaron productos farmacéuticamente equivalentes, pero con un comportamiento de disolución significativamente inferior al producto innovador. Los productos fueron administrados en base al diseño cruzado completo (cuadrado latino) presentado en la Tabla XII. Las claves que se les asignaron a los productos fueron las siguientes A: Producto Innovador (Achromycin V, Lederle lote 651-555, B: Tetraciclina Carlo Erba, C: Bristaciclina A, D: Abromicina.

El protocolo que se siguió en este estudio fué semejante al descrito en la sección 3.3.2.1. y las muestras plasmáticas se tomaron de acuerdo al horario presentado en la Tabla VIII.

Las muestras plasmáticas obtenidas durante el estudio se analizaron por duplicado al mismo tiempo que sus respectivas curvas patrón, utilizando el método de Kohn descrito en la sección 3.3.1.

3.4. Análisis de datos:

Se analizaron farmacocinéticamente los datos plasmáticos de cada individuo determinando; constante de eliminación (K_d), tiempo de vida media de eliminación $t_{1/2} K_d$, constante de absorción (K_a), tiempo de vida media de absorción $t_{1/2} K_a$, tiempo en el que se llega a la concentración plasmática max (t_{max}), concentración plasmática máxi

ma que se alcanza (C_p max) Area bajo la curva de concentración plasmática VS tiempo (ABC_{∞}^{∞}), y Biodisponibilidad relativa (Fr).

3.5. Análisis estadístico de los datos.

Se efectuó el análisis de varianza y prueba de t en los diferentes estudios para comprobar si había diferencias estadísticamente significativas entre la Biodisponibilidad de los productos mexicanos estudiados y el producto innovador.

CAPITULO IV

CAPITULO IV

4. Resultados.

4.1. Control Farmacéutico.

En la Tabla XIV se presentan los resultados de las pruebas de control realizadas en los quince productos farmacéuticos de clorhidrato de tetraciclina. Las pruebas efectuadas fueron; identificación pH, desintegración, humedad, variación de peso, variación de contenido y contenido químico.

4.2. Estudios In vitro.4.2.2. Determinación cuantitativa de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

El clorhidrato de tetraciclina fue cuantificado en base al método espectrofotométrico descrito en la sección 3.2.1. El método fue validado y los resultados se presentan a continuación.

4.2.2.1. Linealidad y repetibilidad.

Para determinar la linealidad del método de valoración utilizado, se siguieron los lineamientos descritos en la sección 3.2.1. En la Figura 1 se presenta la gráfica promedio de cinco curvas patrón de clorhidrato de tetraciclina en un intervalo de concentración de 1 a 40 mcg/ml en agua destilada. En esta gráfica se observa una relación lineal entre la absorbancia y la concentración.

Tabla XIV. Resultados del análisis de Control de Calidad de quince productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg.

Producto	Identificación	Tiempo de de- sintegración (min) (n = 3)	Variación de peso % (n = 20)	Variación de contenido % (n = 3)	Contenido %
1	Positiva	10.2 - 12.45	1.5 - 1.78	101.3	102.11
2	Positiva	0.97 - 67.16	3.29 - 4.70	102.54	101.68
3	Positiva	0.75 - 12.81	2.18 - 2.93	104.33	103.84
4	Positiva	0.89 - 12.21	3.28 - 9.99	99.47	101.68
5	Positiva	0.75 - 1.0	1.1 - 1.5	106.3	104.6
6	Positiva	1.87 - 7.61	4.32 - 7.61	100.47	98.6
7	Positiva	4.83 - <2 hs	1.9 - 5.6	103.13	107.7
8	Positiva	1.66 - 11.53	1.6 - 2.4	103.83	103.0
9	Positiva	2.37 - 19.51	9.45 - 23.44	101.11	108.34
10	Positiva	2.33 - 16.51	2.35 - 3.29	98.29	100.28
11	Positiva	2.05 - 11.36	2.02 - 5.22	103.4	102.5
12	Positiva	4.92 - 38.83	4.98 - 20.14	90.13	90.6
13	Positiva	5.66 - >2 hs	2.61 - 3.12	97.88	95.28
14	Positiva	1.61 - 16.93	1.62 - 1.7	98.3	98.1
15	Positiva	1.75 - 10.63	1.77 - 3.33	108.54	105.0

Tabla XV. Repetibilidad del método de valoración de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada (método espectrofotométrico).

Concentración de clorhidrato de tetraciclina (mcg/ml)	Agua destilada		
	\bar{X} (n = 5)	S	C.V. %
1	0.025	0.0008	3.32
5	0.206	0.0011	0.72
10	0.461	0.0010	0.24
20	0.885	0.0015	0.17
30	1.302	0.0029	0.22
40	1.831	0.0024	0.13

\bar{X} = valor promedio

S = desviación estándar

C.V. % = coeficiente de variación en por ciento.

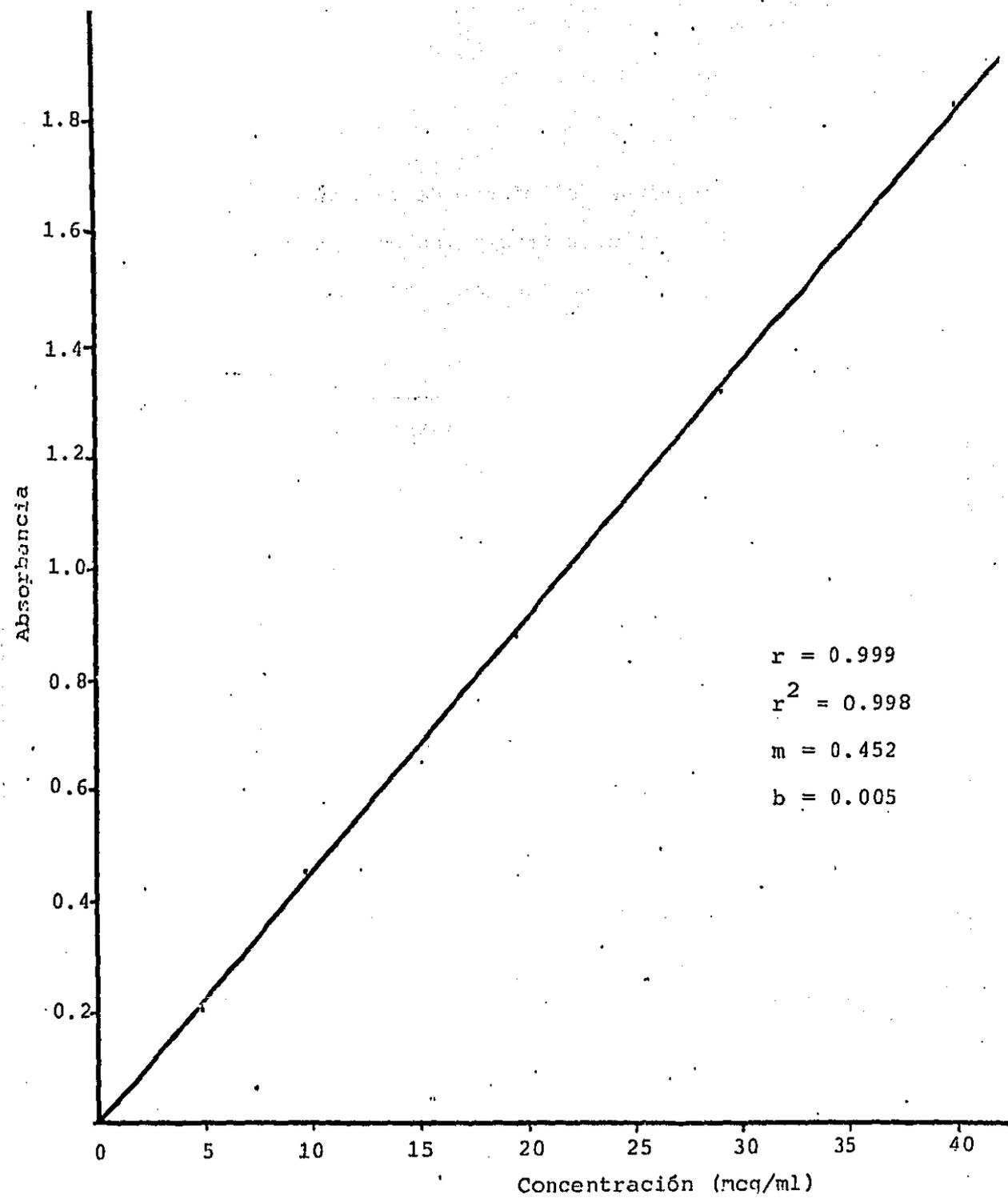


Figura 1. Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada Método espectrofotométrico.

Mediante un análisis de regresión lineal, por el método de mínimos cuadrados, se obtiene la ecuación de una línea recta, en base a la cual se calcula la pendiente (m), intercepto (b) y como coeficiente de correlación (r) en las curvas patrón de clorhidrato de tetraciclina en el medio de disolución.

En la Tabla XV se presentan los resultados del análisis estadístico efectuado en la determinación de la repetibilidad del método de valoración de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

4.2.2.2. Reproducibilidad.

En la Tabla XVI se presentan los resultados de reproducibilidad obtenidos al seguir los lineamientos explicados en la sección 3.2.1.5. A partir de estos datos se calcula el coeficiente de variación diario en porcentaje para el método de valoración de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

Mediante un análisis de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados de los valores experimentales de concentración y el promedio de las absorbancias en los diferentes días, se obtiene la ecuación de una línea recta con $m = 0.44$, $b = 0.409$ y $r = 0.999$ ($p < 0.001$) para agua destilada. En la Tabla XVI también se presentan los parámetros m , b y r , obtenidos del análisis de regresión por mínimos cuadrados para las curvas patrón realizadas en diferentes días.

Tabla XVI. Reproducibilidad del método de valoración para clorhidrato de tetraciclina en agua destilada en diferentes días, utilizando un método espectrofotométrico.

Concentración de Cl. de Tetrac. (mcg/mL)	Absorbancia en agua destilada												\bar{X}	S	C.V. %
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X					
1	0.055	0.070	0.75	0.080	0.020	0.069	0.025	0.085	0.065	0.080	0.062	0.022	36.42		
5	0.246	0.266	0.280	0.275	0.216	0.245	0.206	0.289	0.256	0.260	0.254	0.026	10.46		
10	0.470	0.493	0.516	0.506	0.455	0.493	0.461	0.520	0.472	0.462	0.485	0.024	4.93		
20	0.885	0.906	0.916	0.930	0.894	0.916	0.884	0.930	0.898	0.909	0.907	0.016	1.83		
30	1.296	1.335	1.301	1.350	1.296	1.316	1.302	1.335	1.282	1.326	1.314	0.218	1.66		
r	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.00	0.0		
m	0.043	0.044	0.044	0.044	0.045	0.044	0.045	0.044	0.043	0.044	0.044	0.0006	1.3		
b	0.029	0.043	0.09	0.053	0.003	0.038	0.005	0.068	0.041	0.039	0.0409	0.0261	63.8		

r = coeficiente de correlación

m = pendiente

b = intercepto

71.

4.2.2. Perfil de disolución de quince productos de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg.

Se determinó la cantidad disuelta a los diferentes tiempo de muestreo para cada producto estudiado de acuerdo al procedimiento descrito en 3.2.2. para esto, las absorbancias de las muestras en estudio se interpolaron en sus respectivas curvas patrón, obteniéndose datos de concentración. Cada concentración fué corregida por el factor de dilución, calculándose así, la cantidad disuelta individual.

Los resultados obtenidos para los datos promedio (n=6) de la cantidad disuelta en por ciento contra tiempo en agua destilada se presentan en la Tabla XVII.

En la Figura 2 se presenta la gráfica promedio de por ciento disuelto contra tiempo para los quince productos estudiados de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

4.3. Estudios In vivo: Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos.

4.3.1. Determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Para la determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma se empleó el método fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ Este método fue validado como se describe a continuación.

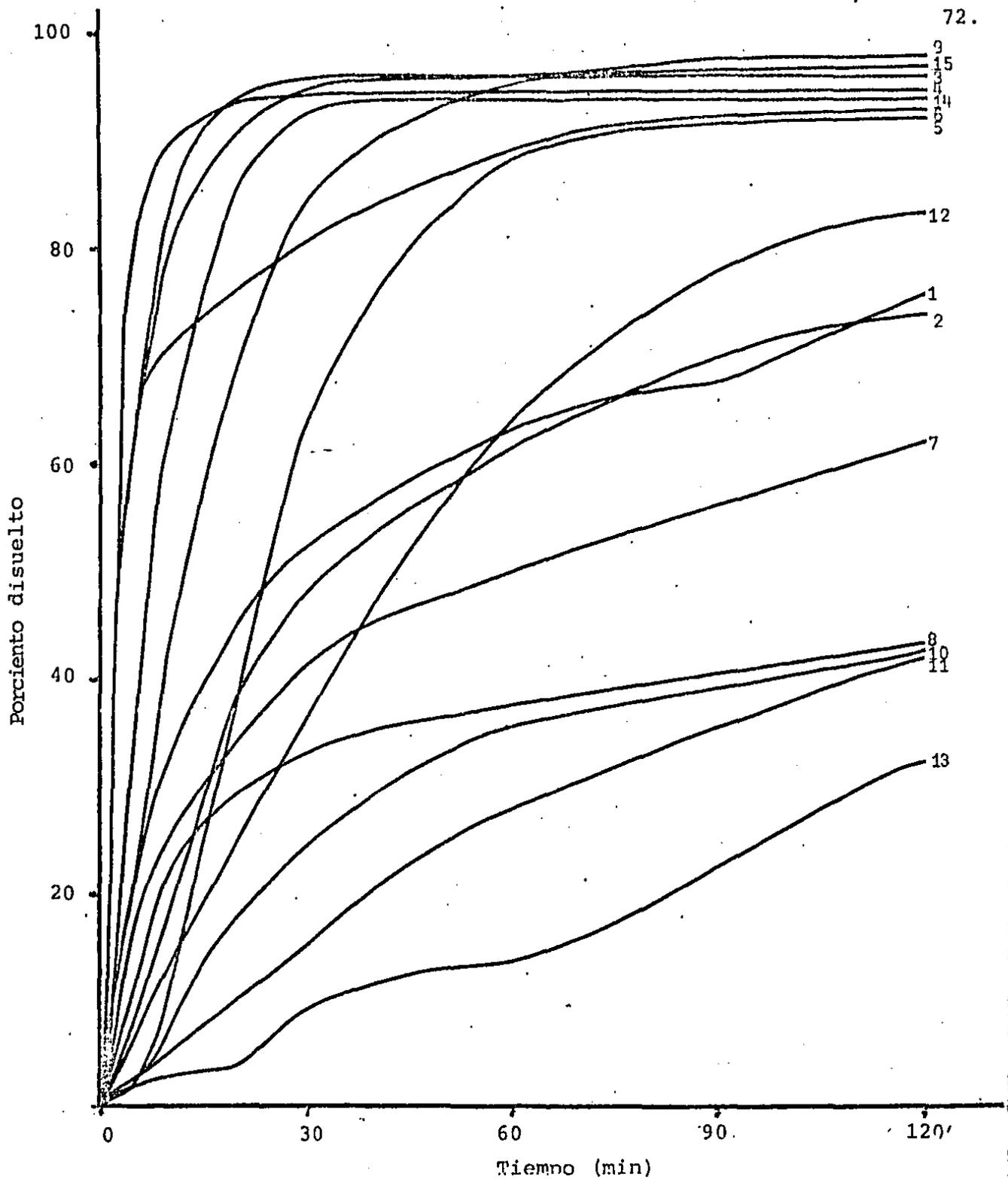


Figura 2. Perfil de disolución de productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

Tabla XVII. Resultados promedio del estudio de perfil de disolución de quince productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

Producto estudiado (clave)	Porcentaje disuelto					
	10'	20'	30'	60'	90'	120'
1	32.69	45.36	52.24	63.32	67.93	76.02
2	19.36	38.0	48.16	61.29	69.81	73.93
3	83.62	95.10	96.05	96.15	95.86	95.66
4	89.05	94.44	94.66	94.85	94.60	94.46
5	12.76	39.55	63.27	88.40	91.82	92.27
6	70.64	76.07	80.74	88.96	92.50	93.22
7	25.0	33.34	41.42	49.14	56.67	62.31
8	22.56	29.11	33.70	36.90	40.60	43.39
9	44.51	70.18	84.71	94.91	97.65	97.84
10	7.8	17.84	24.71	36.29	38.65	42.83
11	5.0	10.33	14.79	25.65	35.37	42.30
12	13.93	25.07	36.86	63.55	77.08	83.39
13	2.90	3.93	9.36	13.76	20.24	32.19
14	61.6	86.60	92.85	94.32	94.11	94.01
15	81.02	91.0	95.90	95.95	96.23	96.20

4.3.1.1. Linealidad:

Para determinar la linealidad del método fluorométrico se siguieron los lineamientos indicados en la sección 3.3.1.4. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 3, aquí se observa que al graficar la fluorescencia contra la concentración se obtiene una relación lineal adecuada de 0.25 a 10 µg/ml, cuyo coeficiente de determinación, pendiente e intercepto son: $r^2 = 0.998$ ($p < 0.0005$), $m = 0.085$ $b = 0.0011$ respectivamente.

Las concentraciones observadas en los plasmas de los diferentes estudios, no excedieron la concentración de 10 µg/ml, por lo que el intervalo de linealidad establecido, fue adecuado para interpolar en la curva patrón de tetraciclina los datos de fluorescencia obtenidos en los plasmas problemas.

4.3.1.2. Reproducibilidad y repetibilidad.

Para establecer la repetibilidad del método se siguieron las indicaciones del inciso 3.3.1.5. Se determinó por quintuplicado cada concentración (0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 y 10.0 mcg/ml) de la curva patrón de tetraciclina en plasma. Los resultados del análisis estadístico de los datos se muestran en la Tabla XVIII; en la columna 4 se presenta el coeficiente de variación en porcentaje (C.V.%), el cual determina la repetibilidad del método fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ en plasma.

En la Tabla XIX se muestra la reproducibilidad del método fluorométrico, siguiendo los lineamientos indicados en la sección 3.3.1.5.

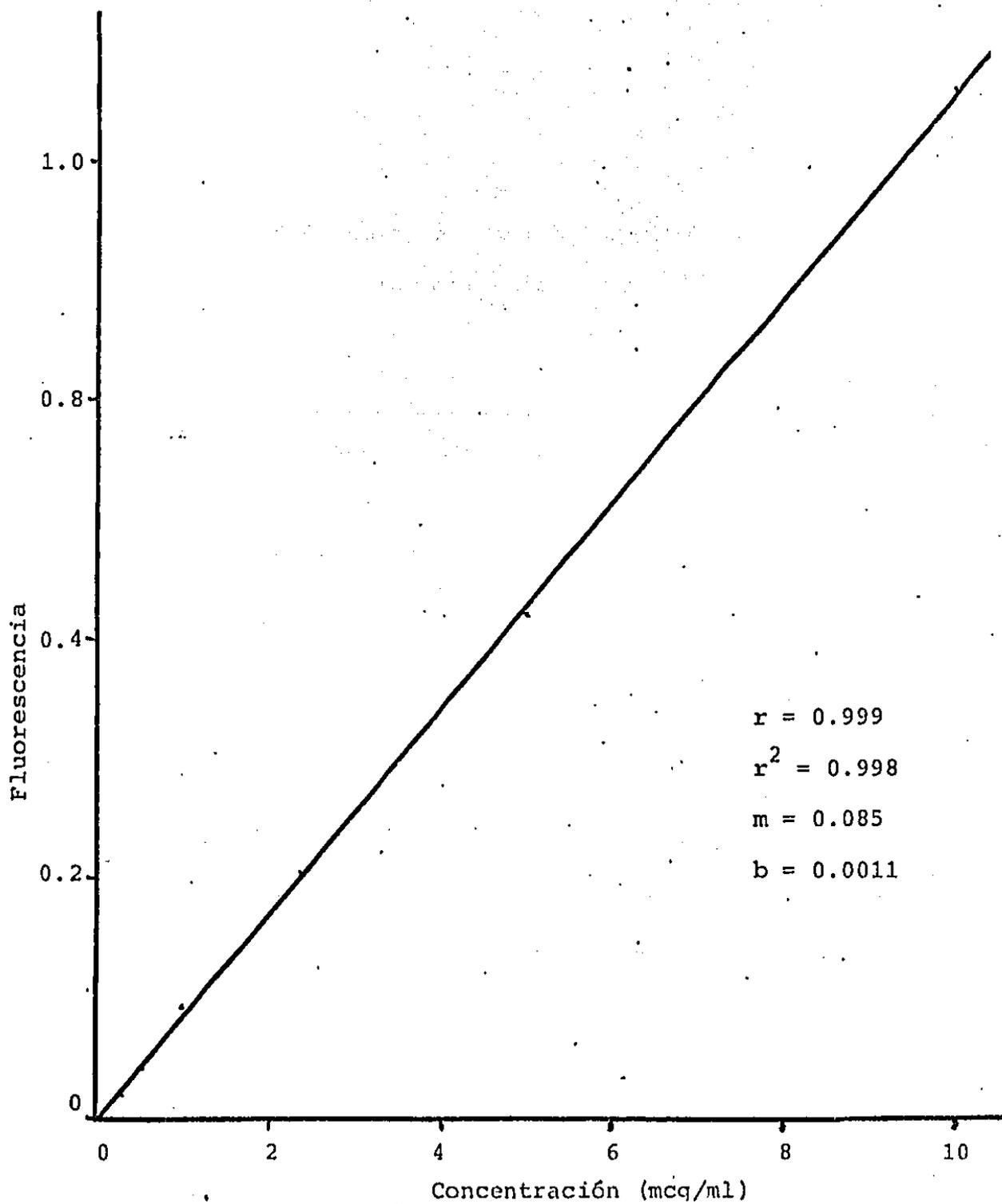


Figura 3. Curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma utilizando el Método Fluorométrico de Kohn(31)

Tabla XVIII. Repetibilidad del método fluorométrico de Kohn (31) en plasma. (n = 5).

Concentración µg/ml	Media \bar{x}	Desviación estándar S	Coefficiente de variación en porcentaje C.V. %
0.1	0.084	0.004	4.9
0.25	0.021	0.0008	4.0
0.5	0.045	0.0011	2.5
1.0	0.091	0.0013	1.4
2.0	0.204	0.0011	0.55
5.0	0.421	0.0029	0.70
10.0	0.859	0.0016	0.19

Tabla XIX. Reproducibilidad del método fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ en plasma en diferentes días.

Concentración (mcg/ml)	Fluorescencia (días)					Datos promedio de		
	I	II	III	IV	V	\bar{X}	S	C.V. %
0.1	0.008	0.01	0.008	0.011	0.01	0.0094	0.0013	14.27%
0.25	0.020	0.021	0.017	0.028	0.023	0.022	0.004	18.74%
0.5	0.045	0.043	0.032	0.050	0.055	0.045	0.0086	19.18%
1.0	0.090	0.08	0.064	0.09	0.09	0.083	0.011	13.72%
2.5	0.205	0.201	0.235	0.230	0.219	0.218	0.015	5.8%
5	0.420	0.395	0.450	0.450	0.436	0.430	0.023	5.4%
10	0.858	0.665	0.890	0.920	0.870	0.840	0.100	12.0%
r^2	0.998	0.992	0.998	0.996	0.998	0.996	0.003	0.262
r	0.999	0.996	0.999	0.998	0.999	0.996	0.004	0.430
m	0.085	0.067	0.09	0.089	0.086	0.083	0.009	11.26
b	0.0011	0.016	0.007	0.002	0.004	0.006	0.006	

Tabla XX. Mínima concentración detectable por el método fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ para clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Concentración mcg/ml	Fluorescencia			\bar{X}	S	C.V. %
	1	2	3			
0.00	0.000	0.000	0.000	0.0	0.0	0.0
0.025	0.023	0.024	0.025	0.024	0.001	4.1
0.05	0.050	0.049	0.051	0.05	0.001	2.0
0.10	0.099	0.100	0.098	0.099	0.001	1.0
0.25	0.250	0.249	0.250	0.249	0.0005	0.23
0.50	0.505	0.502	0.503	0.503	0.001	0.30
1.00	1.0	1.0	0.98	0.993	0.011	1.16

Tabla XXI. Datos de estabilidad de clorhidrato de tetraciclina a temperatura de -10°C (n = 3).

Tiempo (días)	Concentración (mcg/ml)			
	10.0	5.0	2.5	1.0
0	10.10	5.00	2.53	1.03
1	10.02	5.01	2.58	1.00
3	10.08	5.10	2.46	1.08
5	10.0	5.03	2.50	0.99
7	10.05	4.90	2.44	1.00
14	9.90	5.00	2.51	1.01
21	9.96	5.04	2.40	0.98
28	9.90	4.91	2.45	0.94
56	9.83	4.88	2.38	0.90
84	9.71	4.73	2.31	0.88

En esta tabla se presentan los datos de fluorescencia, la media (\bar{X}), desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (C.V.), obtenidos en las determinaciones de las curvas patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma analizadas en diferentes días, pero bajo condiciones idénticas de operador, instrumento y laboratorio. El coeficiente de variación indica la reproducibilidad del método fluorométrico de Kohn en muestras plasmáticas. El coeficiente de determinación de las curvas patrón estudiadas varía entre 0.992 y 0.998.

4.3.1.3. Mínima concentración detectable.

Se siguió el procedimiento indicado en la sección 3.3.1.6. En la Tabla XX se presentan los datos obtenidos para determinar la mínima concentración detectable. En esta tabla puede observarse que la concentración mínima detectable es menor de 0.025 mcg/ml.

4.3.1.4. Estabilidad del clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Para determinar la estabilidad del clorhidrato de tetraciclina en plasma se siguieron los lineamientos descritos en la sección 3.3.1.7. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla XXI, en la cual se observa, que ninguna de las muestras guardadas en congelación a

-10°C sufre una degradación mayor al 2.0% durante los 3 meses de exposición.

Debe hacerse referencia al hecho que las muestras plasmáticas obtenidas durante los estudios de Biodisponibilidad fueron analizadas antes de 3 meses, lo que asegura una pérdida de potencia, menor al 2% en todos los casos.

4.3.2. Estudios preliminares de Biodisponibilidad.

4.3.2.1. Estudio Preliminar I.

Administración oral del producto innovador.

Con el objeto de diseñar un horario adecuado para la toma de muestras plasmáticas a obtener en el estudio final de bioequivalencia del clorhidrato de tetraciclina y determinar si las concentraciones plasmáticas de las muestras obtenidas durante el estudio se encontrarían en el intervalo de concentraciones establecido para la curva patrón (0.25 -10 mcg/ml), se administró por vía oral una dosis de 250 mg del producto innovador (Achromycin V de Lederle, Lote 651-555) a cuatro voluntarios sanos, siguiendo el protocolo descrito en la sección 3.3.2.1.

Las concentraciones plasmáticas obtenidas para los voluntarios se encontraron dentro del intervalo establecido para la curva patrón, por lo cual no fué necesario modificar dicho intervalo. Las muestras plasmáticas colectadas durante el estudio, fueron analizadas de acuerdo al

método de Kohn⁽³¹⁾ descrito en la sección 3.3.1.

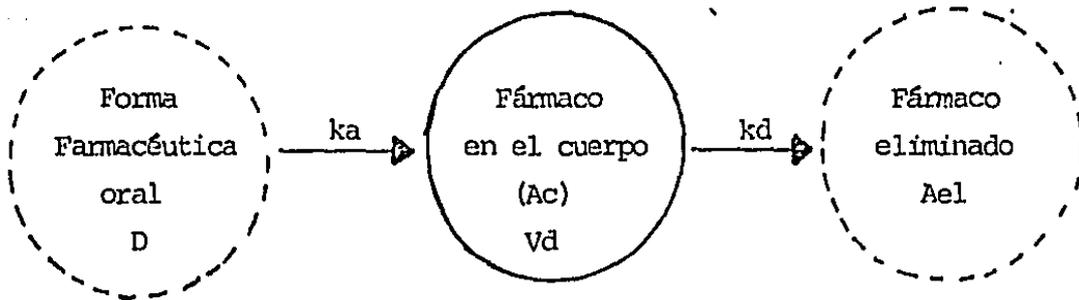
Los resultados encontrados al seguir el curso temporal de la concentración plasmática de clórhidrato de tetraciclina contra el tiempo, muestran que tanto la absorción como la eliminación son procesos que pueden ser descritos por una cinética aparente de primer orden.

En la Tabla XXII, se presentan los datos de concentración plasmática en mcg/ml obtenidos a diferentes intervalos de tiempo después de la administración oral del producto de clorhidrato de tetraciclina estudiado (producto innovador), así como el promedio y desviación estándar de los mismos.

En la Figura 5, se presenta la gráfica del logaritmo de la concentración plasmática contra tiempo para el producto innovador en los cuatro voluntarios. Se puede observar que estas gráficas presentan un proceso biexponencial, caracterizado por un Modelo Abierto de Un Compartimiento administración de primer orden (Figura 11) en donde la eliminación del fármaco del organismo se lleva a cabo con una constante global de eliminación K_d (la cual se calcula por el método de regresión lineal de mínimos cuadrados) y el fármaco aparece en sangre con una constante de absorción K_a , la cual es calculada por el método denominado "De los residuos" o de "Feathering"^(102, 103).

En base al modelo farmacocinético asumido (MAUC) se calculan los siguientes parámetros:

Figura 4. Representación Esquemática del Modelo Abierto de un Compartimiento administración oral.



$$C_p = \frac{k_a F D}{V_d (k_a - k_d)} (e^{-k_d t} - e^{-k_a t})$$

k_a = constante de absorción de primer orden

k_d = constante de eliminación de primer orden.

Tabla XXII. Datos de concentración plasmática (mcg/ml),
obtenidos después de la administración oral
del producto innovador de clorhidrato de te-
traciclina (250 mg) a 4 voluntarios sanos.

Sujeto tiempo (hs)	Concentración plasmática (mcg/ml) (n = 2)			
	1	2	3	4
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	0.376	0.821	0.156	0.157
0.5	0.942	-	0.646	0.606
1.0	1.92	1.78	2.17	1.38
1.5	2.20	2.16	2.28	1.77
2.0	-	2.68	3.12	2.68
2.5	3.15	-	-	3.20
3.0	3.15	3.01	2.86	2.99
3.5	3.11	2.88	2.74	2.96
4.0	3.03	2.83	-	2.78
6.0	2.27	2.19	2.26	2.39
8.0	1.76	1.54	1.89	1.93
10.0	1.44	1.25	1.53	1.58
24.0	0.268	0.217	0.386	0.404

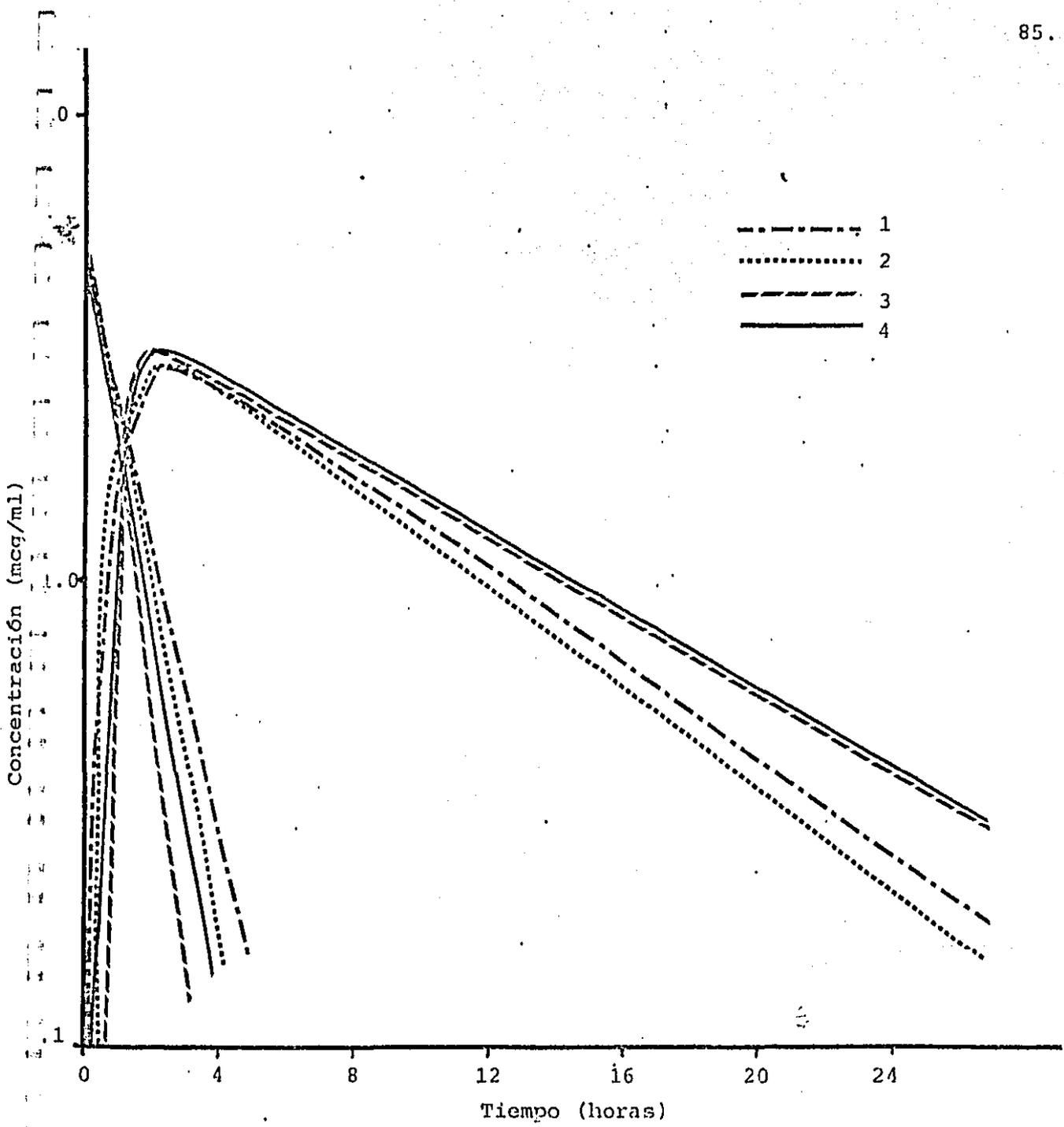


Figura 5. Gráfica de concentración plasmática vs tiempo después de la administración oral del producto innovador de clorhidrato de tetraciclina a cuatro voluntarios sanos.

Tabla XXIII. Parámetros Farmacocinéticos obtenidos a partir de datos plasmáticos, después de la administración oral de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina a cuatro voluntarios (producto innovador).

Voluntario Parámetro Farmacocinético						
	1	2	3	4	\bar{X}	S
Ka (hs ⁻¹)	0.729	0.813	1.043	0.880	0.866	0.133
t 1/2 Ka (hs)	0.950	0.852	0.664	0.787	0.813	0.119
t max (hs)	2.5	3.0	2.0	2.5	2.5	0.408
Cp max (mcg/ml)	3.28	3.01	3.59	3.20	3.27	0.241
Kd (hs ⁻¹)	0.119	0.126	0.095	0.096	0.109	0.0159
t 1/2 Kd (hs)	5.82	5.5	7.29	7.64	6.56	1.059
ABC ₀ [∞] mcg/ml/hs	36.06	32.55	38.96	39.64	36.80	3.23

K_a (constante de absorción)

$t_{1/2 K_a}$ (tiempo de vida media de absorción)

t_{max} (tiempo en el que se llega a $C_p max$)

$C_p max$ (concentración plasmática máxima)

K_d (constante de eliminación)

$t_{1/2 K_d}$ (tiempo de vida media de eliminación)

ABC_0^∞ (área bajo la curva de cero a infinito).

En la Tabla XXIII se encuentran los parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos a partir de datos plasmáticos para los voluntarios que participaron en el estudio, asumiendo MAUC, después de la administración oral del producto innovador de clorhidrato de tetraciclina. Se observa en esta tabla que los datos farmacocinéticos obtenidos para los productos de clorhidrato de tetraciclina estudiados, están de acuerdo a los parámetros reportados en la literatura. (79,80,83)

4.3.2.2. Estudio Final de Bioequivalencia; producto innovador y tres productos del mercado nacional.

Se estudió la biodisponibilidad del clorhidrato de tetraciclina en 12 voluntarios sanos, 7 del sexo masculino y 5 del sexo femenino, seleccionados en base a pruebas clínicas. Los voluntarios recibieron una dosis de clorhidrato de tetraciclina (en las presentaciones: A = producto innovador (Achromycin V de Lederle, Lote 651-555, B = Tetraciclina Carlo Erba, C = Bristaci-

clina y D=Abramicina). El diseño experimental, protocolo y lineamiento seguidos durante el estudio se encuentran descritos en la sección 3.3.3.

Las muestras plasmáticas colectadas durante el mismo, fueron analizadas de acuerdo al método fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ descrito en la sección 3.3.1.

En las tablas XXIV, XXV, XXVI, y XXVII, se presentan los datos de concentración plasmática en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos a diferentes intervalos de tiempo, para los productos A, B, C y D de clorhidrato de tetraciclina. Así como el promedio y desviación estándar de los mismos.

En las figuras 6, 7, 8, 9 y 10 se presentan las gráficas del logaritmo de la concentración plasmática promedio \pm desviación estándar contra tiempo. En estas gráficas se observa un proceso biexponencial, descrito por un Modelo Abierto de Un Compartimiento administración de primer orden. En base al modelo (MAUC), se calcularon los parámetros farmacocinéticos (K_d , K_a , $t_{1/2} K_d$, $t_{1/2} K_a$, $C_p \text{ max T may}$, ABC_0^∞) ya descritos en 4.3.2.1. - Asimismo - se calculó Fr (Fracción de fármaco biodisponible respecto al producto innovador).

En la Tabla XX se encuentran los parámetros individuales obtenidos a partir de datos plasmáticos para los doce voluntarios que participaron en el estudio, después de la administración oral de los productos A, B, C

Tabla XXIV. Datos de concentración plasmática obtenidos después de la administración oral de una dosis de 250 mg de clorhidrato de tetraciclina a 12 voluntarios sanos. (Producto A).

Sujeto	Concentración plasmática (mcg/ml) n = 2												\bar{X}	S	E.S.				
	tiempo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				12			
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
0.25	0.15	0.55	0.31	0.13	0.78	0.20	0.25	0.07	0.09	0.52	0.51	0.18	0.31	0.31	0.23	0.066	0.31	0.23	0.066
0.50	0.77	1.36	0.99	1.36	1.47	0.91	0.92	0.60	0.77	1.18	1.34	0.84	1.04	1.04	0.26	0.075	1.04	0.26	0.075
1.0	1.55	1.85	1.41	1.98	2.14	1.41	1.30	1.66	1.33	1.55	1.60	1.82	1.63	1.63	0.27	0.078	1.63	0.27	0.078
1.5	2.04	2.32	1.74	2.43	2.42	2.38	2.02	1.95	2.01	2.21	2.08	2.32	2.16	2.16	0.22	0.064	2.16	0.22	0.064
2.0	2.34	1.75	2.06	2.56	2.71	2.50	2.54	2.28	2.50	2.60	2.76	2.73	2.44	2.44	0.30	0.087	2.44	0.30	0.087
2.5	2.63	2.65	2.58	2.73	2.79	2.89	3.05	2.92	2.88	2.82	2.91	3.03	2.82	2.82	0.15	0.043	2.82	0.15	0.043
3.0	2.67	2.58	2.93	2.66	2.73	3.20	2.89	2.75	2.74	2.57	2.77	2.74	2.77	2.77	0.18	0.052	2.77	0.18	0.052
3.5	2.56	2.44	2.67	2.49	2.65	3.01	2.67	2.65	2.62	2.45	2.68	2.65	2.63	2.63	0.15	0.043	2.63	0.15	0.043
4.0	2.35	2.33	2.40	2.48	2.45	2.73	2.53	2.56	2.48	2.22	2.40	2.49	2.46	2.46	0.11	0.032	2.46	0.11	0.032
5.0	2.28	2.06	2.15	2.29	2.19	2.55	2.39	2.27	2.23	2.29	2.30	2.38	2.27	2.27	0.13	0.038	2.27	0.13	0.038
6.0	2.07	1.88	2.05	2.06	2.08	2.35	2.14	2.14	1.99	2.04	2.02	1.95	2.05	2.05	0.12	0.035	2.05	0.12	0.035
8.0	1.73	1.70	1.54	1.81	1.88	1.95	1.76	1.68	1.72	1.70	1.75	1.53	1.73	1.73	0.12	0.035	1.73	0.12	0.035
10.0	1.56	1.45	1.18	1.49	1.52	1.64	1.54	1.39	1.37	1.41	1.51	1.24	1.44	1.44	0.13	0.038	1.44	0.13	0.038
12.0	1.29	1.25	0.97	1.33	1.29	1.28	1.32	1.22	1.05	1.15	1.20	1.08	1.22	1.22	0.12	0.032	1.22	0.12	0.032
24.0	0.50	0.41	0.25	0.51	0.47	0.44	0.45	0.35	0.32	0.33	0.38	0.28	0.39	0.39	0.09	0.026	0.39	0.09	0.026
r (Kd)	0.99	0.998	0.99	0.99	0.998	0.990	0.992	0.998	0.987	0.998	0.998	0.998	0.996	0.996	0.004	0.001	0.996	0.004	0.001
Kd	0.079	0.085	0.116	0.078	0.082	0.093	0.087	0.097	0.103	0.098	0.094	0.109	0.0924	0.0924	0.0119	0.003	0.0924	0.0119	0.003
t1/2 Kd	8.72	8.13	5.97	8.88	8.36	7.45	7.96	7.14	6.72	7.07	7.37	6.35	7.51	7.51	0.921	0.266	7.51	0.921	0.266
b (Kd)	3.35	3.28	3.95	3.33	3.46	4.11	3.66	3.74	3.75	3.61	3.65	3.86	3.65	3.65	0.257	0.074	3.65	0.257	0.074
m (Ka)	0.999	0.962	0.960	0.996	0.987	0.982	0.997	0.997	0.985	0.978	0.993	0.989	0.997	0.997	0.013	0.004	0.997	0.013	0.004
Ka	0.979	1.27	0.888	1.32	1.32	0.994	0.986	0.854	1.02	1.15	1.23	1.31	1.11	1.11	0.175	0.050	1.11	0.175	0.050
t1/2 Ka	0.710	0.543	0.780	0.525	0.523	0.696	0.702	0.811	0.680	0.600	0.561	0.528	0.638	0.638	0.104	0.030	0.638	0.104	0.030
b (Ka)	4.02	3.19	4.81	3.99	3.78	5.33	4.55	4.39	4.92	4.38	4.67	5.86	4.49	4.49	0.713	0.206	4.49	0.713	0.206
ABC _O	39.31	35.31	29.99	41.98	46.04	39.73	38.87	35.15	33.02	37.49	36.40	35.12	37.37	37.37	4.227	1.220	37.37	4.227	1.220

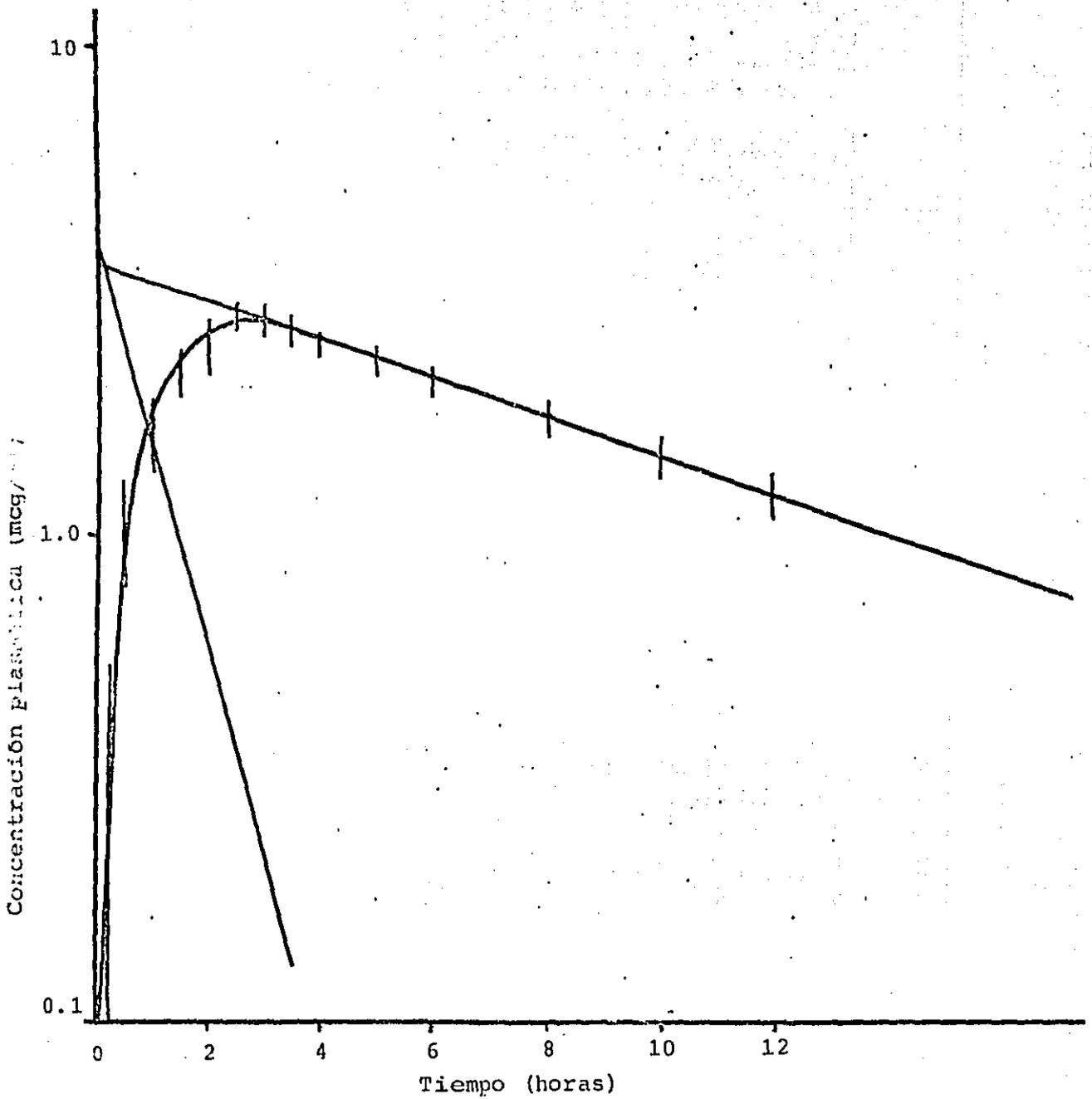


Figura 6. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S' después de la administración oral del producto "A" a 12 voluntarios sanos.

Tabla XXV. Datos de concentración plasmática obtenidos después de la administración oral de una dosis de 250.mg del producto "B" a 12 voluntarios sanos.

Sujeto tiempo	Concentración plasmática (mcg/ml) n = 2												\bar{X}	S	E.S.		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12					
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.33	0.0	0.0	0.0	0.08	0.0	0.04	0.11	0.032	0.032	0.032
0.5	0.0	0.34	0.22	0.10	0.12	0.71	0.66	0.0	0.28	0.11	0.36	0.40	0.28	0.23	0.076	0.076	0.076
1.0	0.89	0.77	0.59	0.85	0.70	1.11	0.99	0.57	1.16	1.10	0.64	0.67	0.84	0.21	0.070	0.070	0.070
1.5	1.16	1.63	1.33	1.79	1.05	1.50	1.05	1.32	1.54	1.36	1.05	1.06	1.32	0.25	0.077	0.077	0.077
2.0	1.45	1.86	1.47	1.88	1.55	1.78	1.41	1.61	1.78	1.91	1.33	1.32	1.61	0.22	0.073	0.073	0.073
2.5	1.83	2.01	1.80	1.97	1.80	2.03	1.59	1.85	1.92	2.04	1.73	1.65	1.85	0.15	0.050	0.050	0.050
3.0	2.00	1.93	1.99	1.90	1.95	2.08	1.71	1.98	2.03	2.08	2.10	2.00	1.98	0.10	0.029	0.029	0.029
3.5	1.92	1.84	2.43	1.82	1.91	2.01	1.87	2.07	2.04	1.93	2.27	2.15	2.02	0.18	0.031	0.031	0.031
4.0	1.78	1.79	2.05	1.69	1.87	1.90	1.83	1.97	1.99	1.86	2.17	2.07	1.91	0.14	0.037	0.037	0.037
5.0	1.70	1.67	1.77	1.64	1.76	1.65	1.71	1.85	1.82	1.54	1.96	1.87	1.75	0.12	0.039	0.039	0.039
6.0	1.59	1.50	1.52	1.56	1.62	1.59	1.46	1.60	1.45	1.38	1.78	1.72	1.56	0.11	0.037	0.037	0.037
8.0	1.36	1.27	1.23	1.34	1.46	1.36	1.23	1.29	1.12	1.07	1.40	1.20	1.28	0.11	0.044	0.044	0.044
10.0	1.15	1.07	0.89	1.21	1.18	1.07	1.03	1.12	0.93	0.92	1.05	0.84	1.04	0.12	0.046	0.046	0.046
12.0	0.97	0.87	0.63	0.97	1.02	0.81	0.86	0.89	0.69	0.77	0.88	0.73	0.84	0.12	0.046	0.046	0.046
24.0	0.37	0.28	0.23	0.32	0.36	0.31	0.32	0.31	0.24	0.29	0.37	0.22	0.30	0.05	0.018	0.018	0.018
r (Kd)	0.999	0.999	0.990	0.995	0.997	0.997	0.998	0.998	0.993	0.992	0.990	0.992	0.995	0.01	0.003	0.003	0.003
Kd	0.079	0.091	0.112	0.083	0.080	0.092	0.087	0.093	0.105	0.093	0.090	0.113	0.093	0.01	0.003	0.003	0.003
t1/2 Kd	8.73	7.55	6.16	8.33	8.59	7.53	7.89	7.43	6.56	7.42	7.69	6.12	7.43	0.862	0.248	0.248	0.248
b (Kd)	2.52	2.58	2.99	2.50	2.61	2.71	2.54	2.83	2.81	2.50	2.94	3.09	2.72	0.209	0.060	0.060	0.060
r (Ka)	0.993	0.982	0.984	0.982	0.981	0.957	0.984	0.990	0.996	0.957	0.978	0.983	0.981	0.012	0.003	0.003	0.003
Ka	0.712	1.37	0.859	1.61	0.973	1.28	0.659	1.22	1.11	1.60	0.629	0.642	1.055	0.363	0.105	0.105	0.105
t1/2 (Ka)	0.972	0.504	0.806	0.429	0.711	0.539	1.05	0.563	0.623	0.431	1.10	1.07	0.733	0.256	0.074	0.074	0.074
b (Ka)	3.00	4.94	4.44	5.65	4.44	4.57	2.59	7.43	4.27	5.87	3.53	3.80	4.54	1.33	0.383	0.383	0.383
ABC ^o	28.76	25.95	22.57	28.07	29.23	26.75	26.07	26.67	23.62	24.51	28.30	23.05	26.13	2.29	0.661	0.661	0.661
Fr	0.731	0.734	0.752	0.669	0.635	0.673	0.671	0.759	0.712	0.654	0.780	0.656	0.702	0.049	0.014	0.014	0.014

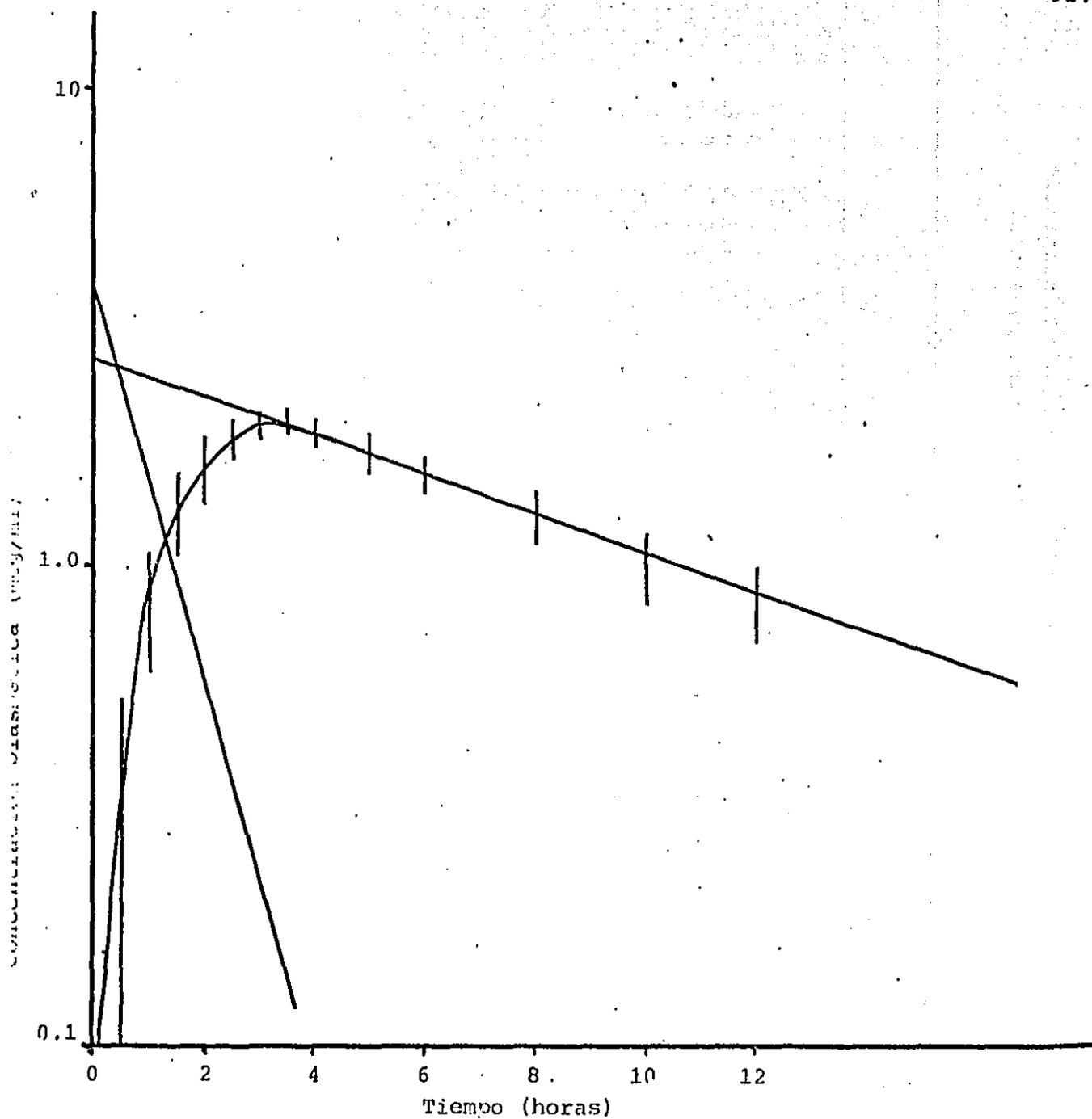


Figura 7. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S vs tiempo después de la administración oral del producto "B" a 12 voluntarios sanos.

Tabla XXVI. Datos de concentración plasmática, obtenidos después de la administración oral del producto "C" a 12 voluntarios sanos.

Sujeto	Concentración plasmática (mcg/ml) n = 2												\bar{X}	S	E.S.			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
0.25	0.0	0.13	0.19	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.16	0.10	0.11	0.0	0.06	0.07	0.024	0.048	0.048	
0.5	0.19	0.60	0.52	0.17	0.15	0.11	0.16	0.28	0.41	0.52	0.30	0.21	0.30	0.17	0.048	0.098	0.098	
1.0	0.48	1.37	1.09	0.54	0.26	0.85	0.57	0.71	0.89	1.35	0.90	0.64	0.80	0.34	0.098	0.087	0.074	
1.5	1.04	1.56	1.60	0.97	0.80	1.57	1.22	1.30	1.15	1.86	1.27	1.32	1.30	0.30	0.087	0.074	0.056	
2.0	1.45	1.85	1.92	1.26	1.28	1.86	1.69	1.58	1.70	2.06	1.58	1.64	1.63	0.26	0.074	0.056	0.031	
2.5	1.69	1.98	2.12	1.60	1.73	2.04	1.84	1.89	1.56	2.17	1.92	1.85	1.86	0.20	0.056	0.031	0.031	
3.0	1.89	2.10	2.18	1.92	2.0	2.11	2.01	2.05	1.99	2.28	2.08	2.02	2.05	0.11	0.031	0.031	0.036	
3.5	2.04	2.20	2.03	2.01	2.15	2.19	2.08	2.15	2.20	2.19	2.13	1.83	2.10	0.11	0.031	0.036	0.039	
4.0	1.93	2.14	1.87	1.96	1.99	2.07	2.03	2.07	2.18	2.06	2.23	1.80	2.03	0.13	0.036	0.039	0.040	
5.0	1.78	1.96	1.60	1.88	1.93	1.91	1.84	1.88	1.89	1.91	2.00	1.56	1.84	0.14	0.039	0.040	0.043	
6.0	1.60	1.82	1.37	1.72	1.74	1.71	1.70	1.64	1.61	1.62	1.81	1.40	1.64	0.14	0.040	0.043	0.039	
8.0	1.48	1.49	1.08	1.50	1.46	1.45	1.44	1.47	1.22	1.37	1.54	1.15	1.38	0.15	0.043	0.039	0.044	
10.0	1.21	1.23	0.90	1.27	1.33	1.09	1.24	1.10	1.03	1.13	1.14	0.90	1.13	0.14	0.039	0.044	0.022	
12.0	1.03	0.97	0.68	1.13	1.14	0.91	1.07	0.92	0.78	0.92	0.89	0.70	0.93	0.15	0.044	0.022	0.007	
24.0	0.42	0.40	0.20	0.40	0.39	0.34	0.37	0.29	0.24	0.35	0.38	0.20	0.33	0.08	0.022	0.007	0.0125	0.003
r (Kd)	0.999	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997	0.999	0.998	0.997	0.997	0.991	0.999	0.997	0.002	0.007	0.0125	0.003	0.003
Kd	0.076	0.084	0.113	0.079	0.082	0.091	0.084	0.098	0.109	0.090	0.089	0.109	0.092	0.0125	0.003	0.003	0.003	0.003
b (Kd)	2.62	2.93	2.28	2.76	2.87	2.93	2.83	3.04	3.14	2.89	3.01	2.72	2.83	0.226	0.065	0.065	0.065	0.065
t1/2 Kd	9.06	8.17	6.12	8.74	8.45	7.55	8.23	7.05	6.33	7.69	7.76	6.31	7.62	0.985	0.284	0.284	0.284	0.284
r (Ka)	0.987	0.997	0.986	0.987	0.957	0.996	0.995	0.998	0.999	0.994	0.978	0.983	0.988	0.012	0.003	0.003	0.003	0.003
Ka	0.814	0.842	1.12	0.645	0.927	1.11	0.660	1.24	0.550	1.30	0.880	1.18	0.939	0.249	0.072	0.072	0.072	0.072
b (Ka)	3.97	3.34	3.81	3.69	5.65	5.11	3.64	4.92	3.36	4.30	4.24	5.17	4.26	0.773	0.223	0.223	0.223	0.223
t1/2	0.850	0.822	0.618	1.07	0.746	0.624	0.049	0.556	1.25	0.532	0.787	0.584	0.707	0.299	0.086	0.086	0.086	0.086
ABC ^o	30.64	31.48	22.47	31.06	30.87	28.63	30.15	27.14	24.35	29.50	29.61	21.77	28.14	3.43	0.99	0.99	0.99	0.99
Fr ^o	0.780	0.890	0.749	0.740	0.671	0.721	0.776	0.772	0.737	0.787	0.813	0.620	0.755	0.068	0.020	0.020	0.020	0.020

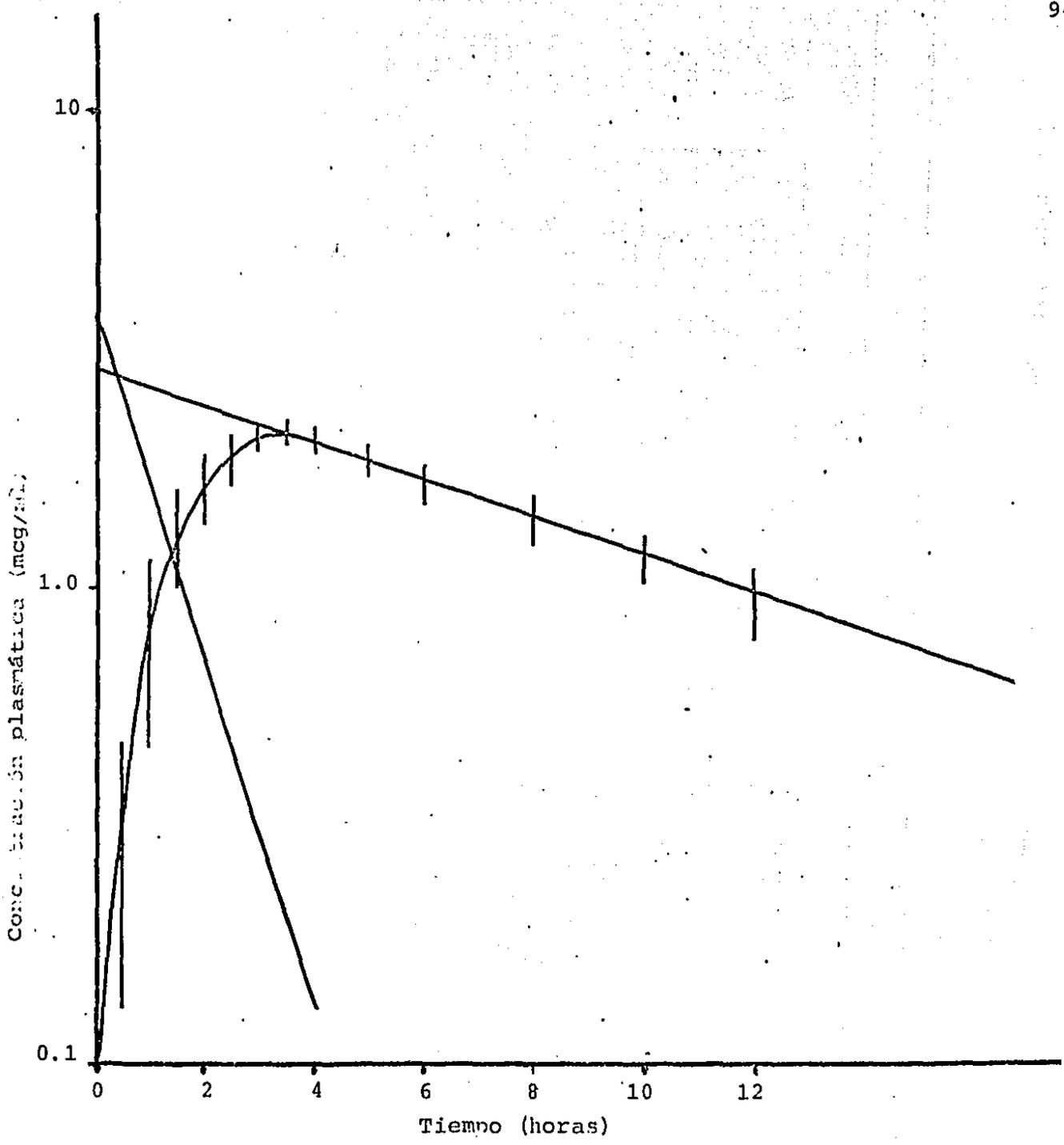


Figura 8. Gráfica de concentración plasmática promedio + S vs tiempo después de la administración del producto "C" a 12 voluntarios sanos.

Tabla XXVII. Datos de concentración plasmática, obtenidos después de la administración oral del producto "D" a 12 voluntarios sanos.

Sujeto	Concentración plasmática (mcg/ml) n = 2												\bar{X}	S	E.S.			
	tiempo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				12		
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5	0.1	0.0	0.17	0.11	0.22	0.03	0.06	0.48	0.23	0.05	0.25	0.08	0.15	0.13	0.038	0.038	0.038	0.038
1.0	0.52	0.47	0.56	0.24	0.90	0.21	0.40	1.06	0.69	0.47	0.57	0.50	0.55	0.24	0.070	0.070	0.070	0.070
1.5	0.82	1.15	1.11	0.51	1.14	0.70	0.69	1.20	0.91	0.98	0.84	1.08	0.93	0.22	0.063	0.063	0.063	0.063
2.0	1.07	1.20	1.34	0.61	1.30	0.91	0.82	-	1.08	1.13	1.17	1.24	1.08	0.22	0.063	0.063	0.063	0.063
2.5	1.22	1.34	1.48	0.89	1.52	1.06	1.10	1.33	1.31	1.25	1.26	1.39	1.26	0.18	0.051	0.051	0.051	0.051
3.0	1.28	1.40	1.56	1.20	1.70	1.27	1.27	1.39	1.61	1.41	1.42	1.54	1.42	0.15	0.044	0.044	0.044	0.044
3.5	1.41	1.46	1.59	1.53	1.74	1.53	1.35	1.48	1.65	1.58	1.49	1.60	1.53	0.11	0.030	0.030	0.030	0.030
4.0	1.44	1.38	1.54	1.50	1.68	1.61	1.39	1.34	1.65	1.51	1.43	1.62	0.50	0.11	0.033	0.033	0.033	0.033
5.0	1.38	1.36	1.38	1.46	1.61	1.47	1.20	1.14	1.54	1.42	1.33	1.44	1.39	0.13	0.037	0.037	0.037	0.037
6.0	1.24	1.27	1.33	1.38	1.48	1.34	1.11	1.03	1.38	1.34	1.16	1.30	1.28	0.13	0.036	0.036	0.036	0.036
8.0	1.08	1.13	1.02	1.18	1.24	1.13	0.98	0.82	1.18	1.11	0.94	1.12	1.07	0.12	0.034	0.034	0.034	0.034
10.0	0.99	1.01	0.88	1.01	1.16	0.92	0.86	0.74	0.93	0.97	0.82	0.83	0.926	0.11	0.032	0.032	0.032	0.032
12.0	0.90	0.85	0.66	0.91	0.95	0.70	0.71	0.56	0.71	0.84	0.67	0.66	0.760	0.12	0.035	0.035	0.035	0.035
24	0.32	0.23	0.20	0.33	0.36	0.28	0.27	0.21	0.25	0.27	0.24	0.23	0.265	0.05	0.014	0.014	0.014	0.014
r (Kd)	0.995	0.992	0.998	0.996	0.998	0.997	0.998	0.995	0.998	0.997	0.998	0.997	0.996	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
Kd	0.075	0.080	0.102	0.075	0.077	0.088	0.080	0.093	0.095	0.085	0.089	0.098	0.086	0.009	0.002	0.002	0.002	0.002
b (Kd)	2.00	2.05	2.33	2.10	2.34	2.24	1.85	1.85	2.40	2.20	2.00	2.32	2.14	0.192	0.055	0.055	0.055	0.055
t1/2 Kd	9.26	8.65	6.77	9.18	9.00	7.84	8.66	7.46	7.30	8.06	7.74	7.07	8.08	0.853	0.246	0.246	0.246	0.246
r (Ka)	0.944	0.986	0.995	0.962	0.992	0.989	0.984	0.987	0.993	0.995	0.991	0.996	0.985	0.016	0.005	0.005	0.005	0.005
Ka	0.668	0.895	0.934	0.357	0.752	0.612	0.677	0.852	0.603	0.755	0.812	0.816	0.727	0.158	0.045	0.045	0.045	0.045
b (Ka)	2.03	3.10	3.56	2.30	2.88	3.15	2.54	1.67	2.80	3.14	2.72	3.33	2.77	0.553	0.159	0.159	0.159	0.159
t1/2 (Ka)	1.04	0.774	0.741	1.93	0.921	1.13	1.02	0.813	1.15	0.917	0.852	0.849	1.01	0.318	0.091	0.091	0.091	0.091
ABC	20.04	22.34	20.00	24.32	27.64	21.40	20.42	18.30	21.90	22.85	19.97	20.58	21.65	2.47	0.713	0.713	0.713	0.713
Fr	0.510	0.633	0.667	0.579	0.600	0.539	0.532	0.521	0.663	0.609	0.549	0.586	0.682	0.054	0.016	0.016	0.016	0.016

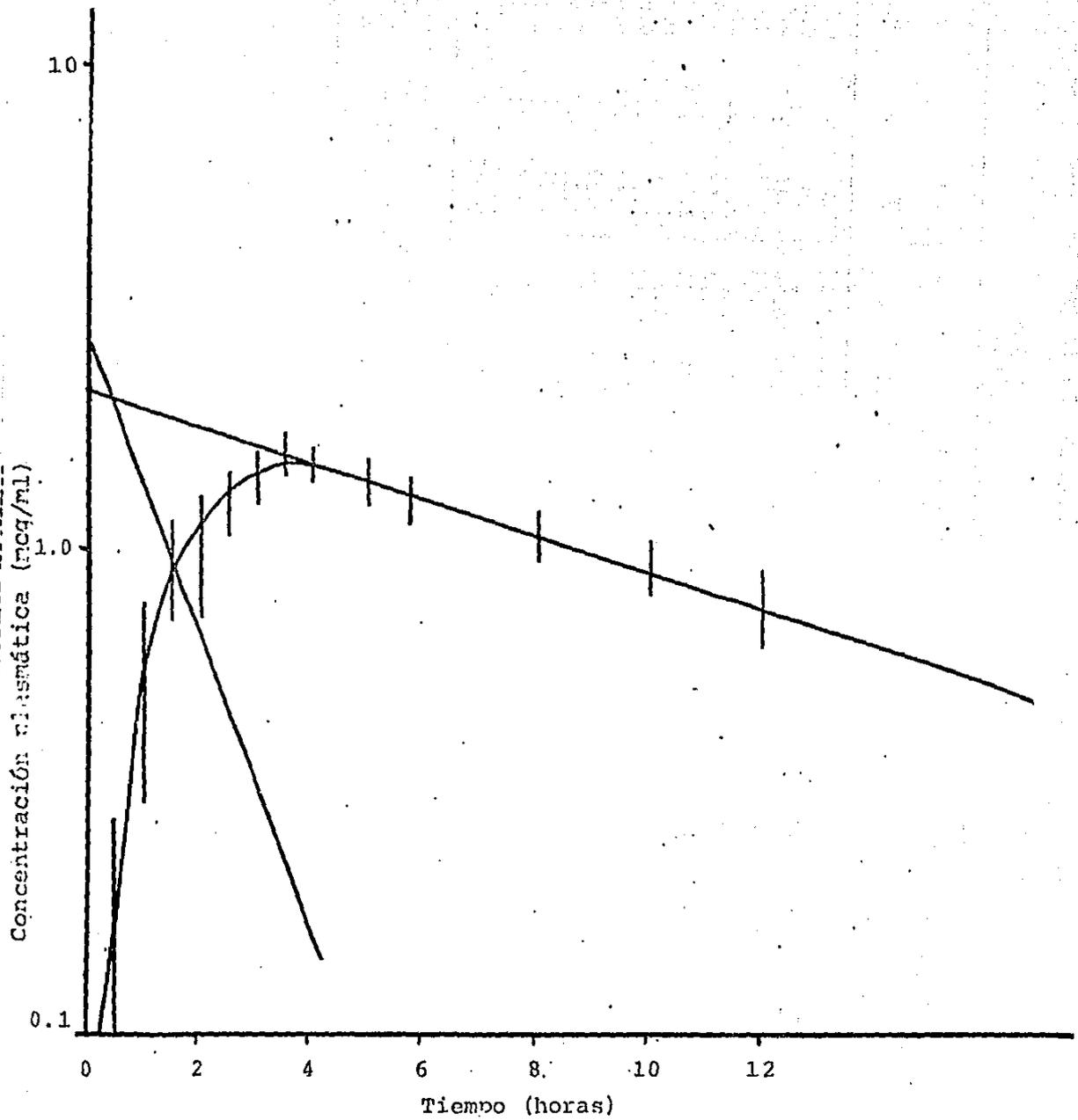


Figura 9. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm S vs tiempo después de la administración oral de 250 mg del producto "D" a 12 voluntarios sanos.

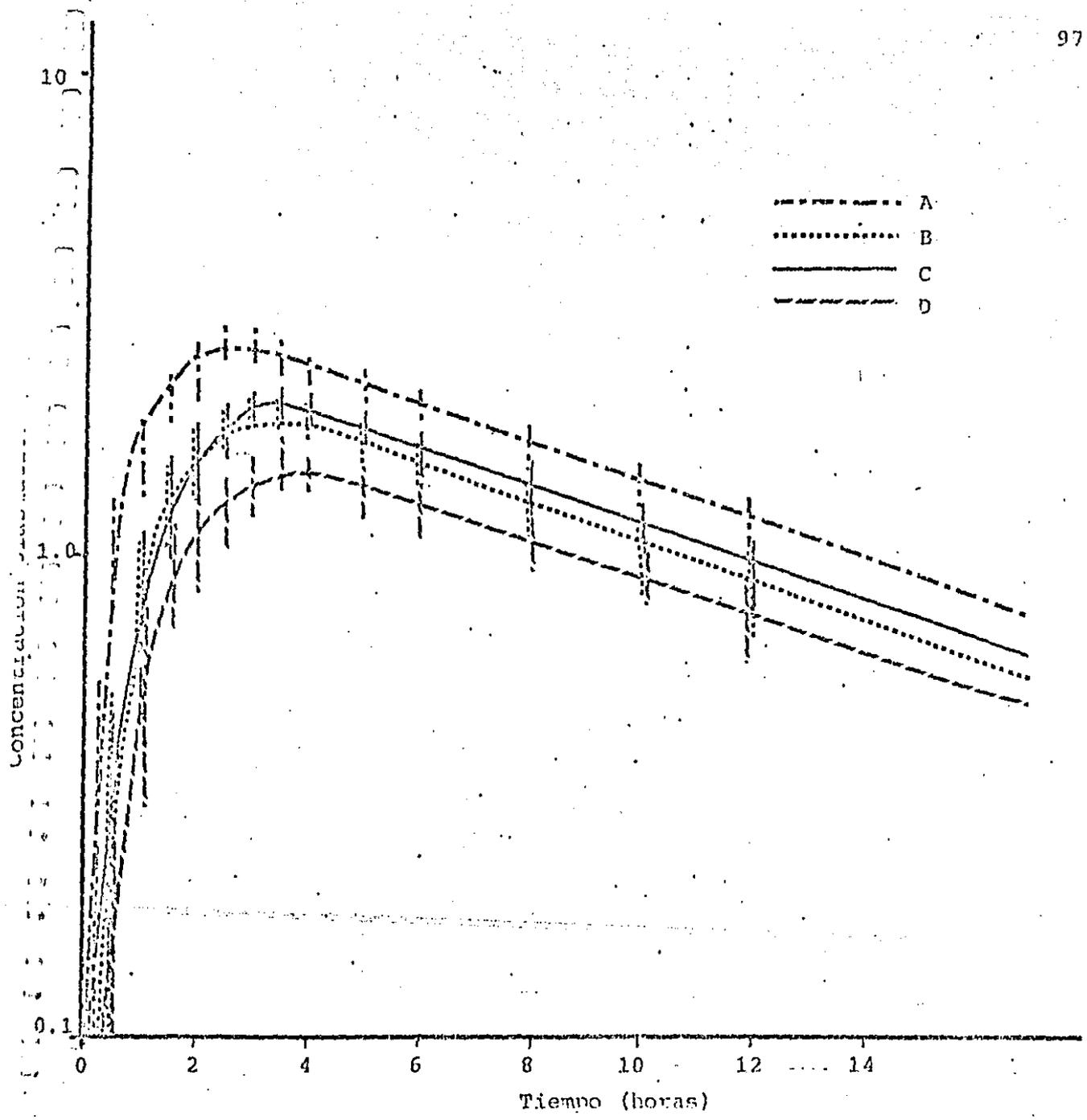


Figura 10. Gráfica de concentración plasmática promedio + S contra tiempo después de la administración oral de los productos A, B, C y D de clorhidrato de tetraciclina.

Tabla XXVIII. Parámetros Farmacocinéticos obtenidos a partir de datos plasmáticos asumiendo MAUC, después de la administración oral de los productos A, B, C Y D conteniendo 250 mg de clorhidrato de tetraciclina.

Parámetro Farmacocinético	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	\bar{X}	S	
A	Ka (hs ⁻¹)	0.979	1.27	0.888	1.32	0.32	0.994	0.986	0.854	1.02	1.15	1.23	1.31	1.11	0.175
	t _{1/2} Ka (hs)	0.710	0.543	0.780	0.525	0.523	0.696	0.702	0.811	0.680	0.600	0.561	0.528	0.708	0.104
	t max (hs)	3.0	2.5	3.0	2.5	2.5	3.0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	0.226
	Cp max (mcg/ml)	2.67	2.65	2.93	2.73	2.79	3.20	3.05	2.92	2.88	2.82	2.91	3.03	2.83	0.162
	Kd (hs ⁻¹)	0.079	0.085	0.116	0.078	0.082	0.093	0.087	0.097	0.103	0.098	0.094	0.109	0.092	0.012
	t _{1/2} Kd (hs)	8.72	8.13	5.97	9.88	8.36	7.45	7.96	7.14	6.72	7.07	7.37	6.35	7.31	0.921
	ABC _T mcg/ml/hs	32.98	30.49	27.83	35.44	40.31	35.00	33.70	31.54	29.91	34.22	32.36	32.55		
	ABC _O mcg/ml/hs	39.31	35.31	29.99	41.98	46.04	39.73	38.87	35.15	33.02	37.49	36.40	35.12	37.37	4.227
	Ka (hs ⁻¹)	0.712	1.37	0.859	1.61	0.973	1.28	0.659	1.22	1.11	1.60	0.629	0.642	1.35	0.363
	t _{1/2} Ka (hs)	0.972	0.504	0.806	0.429	0.711	0.539	1.05	0.563	0.623	0.431	1.10	1.07	0.733	0.256
B	t max (hs)	3.0	2.5	3.5	2.5	3.0	3.0	3.5	3.5	3.5	3.0	3.5	3.5	3.14	0.442
	Cp max (mcg/ml)	2.00	2.01	2.43	1.97	1.95	2.08	1.87	2.07	2.04	2.08	2.27	2.15	2.07	0.150
	Kd (hs ⁻¹)	0.079	0.091	0.112	0.083	0.080	0.092	0.087	0.093	0.105	0.093	0.090	0.113	0.093	0.011
	t _{1/2} Kd (hs)	8.73	7.55	6.16	8.33	8.59	7.53	7.89	7.43	6.56	7.42	7.69	6.12	7.43	0.862
	ABC _T mcg/ml/hs	24.08	22.87	20.52	24.21	24.73	23.38	22.39	23.34	21.23	21.39	24.27	21.10	22.79	1.44
	ABC _O mcg/ml/hs	28.76	25.95	22.57	28.07	29.23	26.75	26.07	26.67	23.52	24.51	28.38	23.05	26.13	2.290
	Fr	0.731	0.734	0.752	0.669	0.635	0.673	0.671	0.759	0.712	0.654	0.780	0.656	0.702	0.049
	Ka (hs ⁻¹)	0.814	0.842	1.12	0.645	0.927	1.11	0.660	1.24	0.550	1.30	0.880	1.18	0.939	0.249
	t _{1/2} Ka (hs)	0.850	0.822	0.618	1.07	0.746	0.624	0.049	0.556	1.25	0.532	0.787	0.584	0.707	0.299
	C	t max (hs)	3.5	3.5	3.0	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.0	4.0	3.0	3.41
Cp max (mcg/ml)		2.04	2.20	2.18	2.01	2.15	2.19	2.08	2.15	2.20	2.28	2.23	2.02	2.14	0.087
Kd (hs ⁻¹)		0.076	0.084	0.113	0.079	0.082	0.091	0.084	0.098	0.109	0.090	0.089	0.109	0.092	0.013
t _{1/2} Kd (hs)		9.06	8.17	6.12	8.74	8.45	7.55	8.23	7.05	6.33	7.69	7.76	6.31	7.62	0.985
ABC _T mcg/ml/hs		25.11	26.72	20.70	26.00	26.11	24.39	25.75	24.18	22.15	25.61	25.34	19.94	24.37	2.23
ABC _O mcg/ml/hs		30.64	31.48	22.47	31.06	30.87	28.63	30.15	27.14	24.35	29.50	29.61	21.77	28.14	3.430
Fr		0.780	0.890	0.749	0.740	0.671	0.727	0.776	0.772	0.737	0.787	0.813	0.620	0.755	0.068
Ka (hs ⁻¹)		0.668	0.895	0.934	0.357	0.752	0.612	0.677	0.852	0.603	0.755	0.812	0.816	0.727	0.153
t _{1/2} Ka (hs)		1.04	0.774	0.741	1.93	0.921	1.13	1.02	0.813	1.15	0.917	0.852	0.849	0.701	0.318
D		t max (hs)	4.0	3.5	3.5	3.5	3.5	4.0	4.0	3.5	4.0	3.5	3.5	4.0	3.70
	Cp max (mcg/ml)	1.44	1.46	1.59	1.53	1.74	1.61	1.39	1.48	1.65	1.58	1.49	1.62	1.55	0.100
	Kd (hs ⁻¹)	0.075	0.080	0.102	0.075	0.077	0.088	0.080	0.093	0.095	0.085	0.089	0.098	0.086	0.009
	t _{1/2} Kd (hs)	9.26	8.65	6.77	9.18	9.0	7.84	8.66	7.46	7.30	8.06	7.74	7.07	8.08	0.853
	ABC _T mcg/ml/hs	15.77	19.46	18.04	19.92	22.96	18.22	17.03	16.04	19.27	19.67	17.27	18.23	18.49	1.96
	ABC _O mcg/ml/hs	20.04	22.34	20.00	24.32	27.64	21.40	20.42	18.30	21.90	22.85	19.97	20.58	21.65	2.47
	Fr	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.539	0.532	0.521	0.566	0.56	0.5	0.5	0.5	0.5

CAPITULO V

CAPITULO V

5. Discusión.

A continuación se discutirán los resultados obtenidos en cada una de las secciones anteriormente presentadas.

5.1. Pruebas de Control Farmacéutico.

Las pruebas de control farmacéutico realizadas en los quince productos de clorhidrato de tetraciclina, previas al estudio de bioequivalencia, fueron para establecer si estos medicamentos eran farmacéuticamente equivalentes, al cumplir con las especificaciones de las pruebas de control establecidas por la U.S.P.-XX⁽⁵⁾.

La U.S.P. XX especifica que las cápsulas de clorhidrato de tetraciclina deben contener no menos del 90% ni más del 125% de la cantidad indicada en el marbete de clorhidrato de tetraciclina, consecuentemente todos los productos cumplen con las especificaciones, ya que el contenido determinado fué superior al 90% en todos los casos (Tabla XIV), sin embargo es importante mencionar que el producto 12 se encuentra prácticamente en el límite inferior (90.6%).

Para confirmar lo anterior, se realizó un análisis individual de contenido, en tres cápsulas de cada producto, observándose que el valor promedio fue superior al

90% en todos los productos estudiados, pero cabe mencionar que también el producto 12 se encuentra en el límite inferior (90.13%).

Respecto a la prueba de desintegración para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina, la U.S.P.-XX no estipula ningún tipo de límites, por lo que no es posible establecer cuáles productos están fuera de los límites oficiales, sin embargo se puede observar que los productos 2 y 12 presentan un tiempo de desintegración de 67.16 y 38.83 minutos respectivamente, y para los productos 7 y 13 el tiempo de desintegración fue superior a 2 horas, por lo que es posible predecir que estos productos presentarán problemas de disolución y bioequivalencia.

De esta manera de quince productos farmacéuticos estudiados, de clorhidrato de tetraciclina, todos los productos cumplen satisfactoriamente con las especificaciones de la U.S.P.-XX, por lo que estos medicamentos son considerados como equivalentes farmacéuticos (128,129).

5.2. Estudios In vitro.

5.2.1. Determinación cuantitativa de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

La determinación de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada por el método espectrofotométrico, mostró una linealidad satisfactoria entre las concentraciones de 1 a 40 mcg/ml, con un coeficiente de correlación de 0.999 ($p < 0.001$) en el medio de disolución (ver Figura 1) y un coeficiente de variación entre 0.13 a 3.32% en agua destilada en el intervalo de concentración estudiado tabla VII.

El método se evaluó considerando la reproducibilidad de las determinaciones de diferentes concentraciones de clorhidrato de tetraciclina preparadas el día de la determinación y en diferentes días. Se efectuó un análisis estadístico de varianza, el cual indica que no existe variación significativa en las determinaciones en diferentes días para las concentraciones de 1, 5, 10, 20, 30 y 40 mcg/ml. Mediante una prueba de T entre pendientes se encontró que no hay diferencias significativas entre ellos, en agua destilada a un nivel de significancia de $p < 0.05$. Lo cual indica que el método espectrofotométrico es confiable, reproducible y aplicable a pruebas de disolución de clorhidrato de tetraciclina en las condiciones aquí expuestas.

5.2.2. Perfil de disolución de quince productos de clorhidrato de tetraciclina de 250 mg.

Actualmente la prueba de disolución para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina no está considerada como una prueba oficial por la U.S.P. XX⁽⁵⁾, B.P.⁽²⁾ o Farmacopea Nacional⁽¹³⁹⁾, por lo que no existen especificaciones oficiales al respecto. Sin embargo en un trabajo publicado en la F.D.A. por Vinod P. Shah et al.⁽¹⁰⁵⁾, se proponen especificaciones para la disolución de cápsulas de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada. Ellos proponen que debe disolverse no menos del 60% en 30 minutos y no menos del 85% en 60 minutos.

En la Figura 2 se observa que los productos 1, 2, 7, 8, 10, 11 y 13 no pasan la especificación de disolución propuesta por la F.D.A.⁽¹⁰⁵⁾ tanto a 30 como a 60 minutos.

Se efectuó un análisis estadístico para establecer si el comportamiento de disolución variaba significativamente o no entre los productos de clorhidrato de tetraciclina estudiados. En la Tabla XXX se presentan los resultados obtenidos al efectuar el análisis de varianza con respecto a la cantidad de clorhidrato de tetraciclina disuelta en agua destilada a 30 y 60 minutos para los quince productos estudiados.

En el análisis de varianza se observa que hay di

ferencias estadísticamente significativas a 30 y 60 minutos entre los productos estudiados.

La diferencia en la disolución de los productos 10, 11 y 13 resultó en una diferencia en la biodisponibilidad respecto al producto innovador y por lo tanto existe también la posibilidad de encontrar diferencias en la biodisponibilidad de los productos 1, 2, 7, 8 y 12 debido a que presentan una disolución inferior al producto innovador.

En base a los datos mostrados en la Tabla XVII se calcularon las constantes de disolución a partir de la gráfica del logaritmo de la cantidad remanente por disolverse contra el tiempo. En esta gráfica (Figura 11) se observa claramente que existe variación en el comportamiento de disolución. En la Tabla XXX se reportan las constantes de disolución, intercepto y el coeficiente de correlación para cada producto estudiado de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada. Los productos 3 y 13 presentan las constantes de disolución máxima y mínima de 0.241 y 0.011 min^{-1} respectivamente.

No se encontró correlación entre las pruebas de disolución y desintegración en los productos estudiados.

5.3. Estudios In vivo: Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina en humanos.

5.3.1. Determinación de clorhidrato de tetraciclina en plasma .

La determinación de clorhidrato de tetraciclina

Tabla XXIX. Análisis Estadístico de varianza de la cantidad disuelta de clorhidrato de tetraciclina (250 mg) a 30 y 60 min. en agua destilada.

Dato Estadístico	30 minutos	60 minutos
TSS	507354.20	498431.35
RSS	461136.99	452582.97
TrSS	46217.21	45848.38
DF ₁	14.0	14.0
DF ₂	74.0	74.0
DF ₃	88.0	88.0
TrMS	32938.36	32327.35
EMS	624.56	619.57
Fcal	52.74	52.18
Ftab	2.45	2.45
Nivel de Significancia	SS*	SS*

TSS = Suma total de cuadrados

RSS = Tratamiento de la suma de cuadrados

ESS = Error de suma de cuadrados

DF₁ = Tratamiento de los grados de libertad

DF₂ = Error de los grados de libertad

DF₃ = Total de grados de libertad

TrMS = Tratamiento cuadrático medio

EMS = Error cuadrático medio

Fcal = Relación F calculada

Ftab = Relación F Tablas

SS* = Si hay diferencias significativas.

Tabla XXX. Constantes de velocidad de disolución de los quince productos de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

Producto	Método de cantidad remanente por disolverse		
	K (1er. orden)	r	b
1	0.023	0.993	51.43
2	0.031	0.995	70.34
3	0.241	0.999	137.29
4	0.168	0.954	22.08
5	0.061	0.996	167.40
6	0.042	0.989	40.81
7	0.022	0.993	45.48
8	0.023	0.987	23.42
9	0.068	0.993	111.96
10	0.033	0.999	49.10
11	0.020	0.984	47.24
12	0.030	0.993	105.8
13	0.011	0.989	33.62
14	0.155	0.999	159.98
15	0.196	0.967	145.30

K = constante de disolución (min^{-1})

r = coeficiente de correlación

b = intercepto en y.

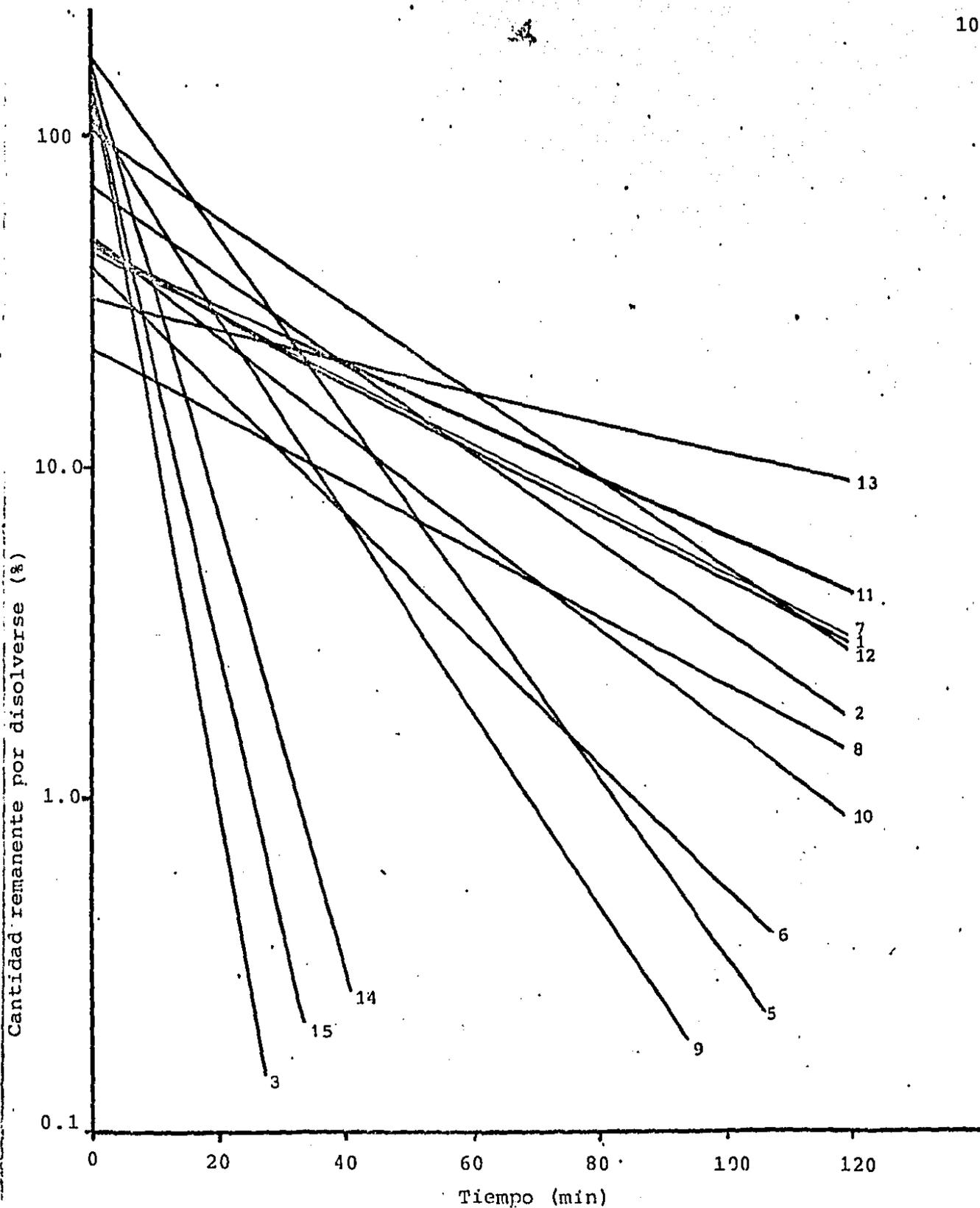


Figura 11. Cantidad remanente por disolverse de los quince productos de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada.

en plasma se realizó empleando el método fluorométrico de Kohn (31).

El método mostró una linealidad satisfactoria entre las concentraciones de la 10 mcg/ml con un coeficiente de correlación de 0.999 ($p < 0.01$) en plasma (Figura 3) el coeficiente de variación en la repetibilidad del método en plasma fué de 4.9 a 0.19 por ciento, para las concentraciones de 0.1 y 10 mcg/ml respectivamente (Tabla XVIII).

La reproducibilidad del método se evaluó con los datos de la Tabla XIX encontrándose un coeficiente de variación de 19.18 a 5.4 por ciento para plasma en el intervalo de concentraciones de 0.1 a 10 mcg/ml.

La reproducibilidad y repetibilidad son de magnitud diferente debido a que los valores del coeficiente de variación en determinaciones realizadas en diferentes días son mayores a los valores de determinaciones realizadas el mismo día. Por lo que es aconsejable hacer una curva patrón cada día de trabajo para aumentar la precisión del método analítico.

El estudio de estabilidad mostró que el clorhidrato de tetraciclina en plasma a una temperatura de -10°C y a una concentración de 10.0, 5.0, 2.5 y 1.0 mcg/ml se degrada $< 3\%$ en 90 días (Tabla XXI).

En este estudio no se determinó el orden de la reacción debido a que no se cuantificó el clorhidrato de tetraciclina hasta el 75% de degradación, que es el por

centaje necesario para calcular adecuadamente el orden de una reacción, ya que el propósito de este estudio no fue establecer el orden de reacción sino observar el porcentaje de degradación en el tiempo de trabajo, evitando de esta manera error en la determinación de las muestras de clorhidrato de tetraciclina por almacenamiento prolongado de las muestras plasmáticas.

Las muestras colectadas durante los estudios fueron analizadas 1 mes después de su obtención, lo que asegura una pérdida de potencia, menor al 1% en todos los casos.

5.3.2. Estudios Preliminares de Biodisponibilidad.

5.3.2.1. Estudio Preliminar I.

Con el objeto de establecer un horario adecuado para la toma de muestras y conocer si la concentración de las muestras plasmáticas desconocidas caían dentro del intervalo de concentraciones de la curva patrón, se administró una dosis oral de 250 mg del producto innovador (Achromycin V, Lederle, Lote 651-555) a cuatro voluntarios sanos. Los datos obtenidos de concentración plasmática (Tabla XXII) estuvieron dentro del intervalo de la curva patrón y concuerdan con los datos reportados en la literatura^(79,80,83). Por esta razón no fué necesario modificar el intervalo establecido (0.1 a 10 mcg/ml) en la curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma.

Considerando los resultados encontrados en el

presente estudio, el horario establecido para la toma de muestras plasmáticas de 0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 y 24 horas es adecuado respecto al número de datos obtenidos en la fase de absorción y eliminación, éstos permiten calcular adecuadamente K_a y K_d . Se encontró que el valor promedio para la vida media de eliminación fue 6.56 hs, este valor concuerda con lo reportado por Meyer N. C. ⁽⁷⁵⁾ y Jaffe D. ⁽⁷⁷⁾ ($t_{1/2}$ - 6.3 a 8.4 horas).

5.3.2.2. Estudio final de Bioequivalencia: Producto innovador y tres productos del mercado nacional.

Se estudio la bioequivalencia de cuatro productos de clorhidrato de tetraciclina (cáps. de 250 mg): A (Producto innovador, Achromycin V, Lederle, Lote 651-555), B (Bristacilina A), C (Tetraciclina Carlo Erba) y D (Abramicina) colectándose muestras plasmáticas a diferentes tiempos.

En el presente estudio se siguió el diseño cruzado, descrito en la Tabla XII con el objeto de disminuir la variación entre voluntarios usando cada voluntario como su propio control. Se seleccionaron para el estudio de bioequivalencia los productos mexicanos designados en la Tabla IX con los números 10, 11 y 13, debido a que eran productos farmacéuticamente equivalentes al producto innovador, o sea que cumplían con las especificaciones de la U.S.P. XX, pero mostraban un perfil de disolución muy bajo (Figura 2). Con estas características de dilución se consideró que los

productos 10, 11 y 13 tenían un potencial elevado para presentar una biodisponibilidad baja.

En base al MAUC asumido, se calcularon los parámetros farmacocinéticos (K_d , $t_{1/2 K_d}$, K_a , $t_{1/2 K_a}$, t_{max} , $C_p \text{ máx}$ y ABC_0^∞) a partir de los datos plasmáticos.

Los datos obtenidos para K_d y $t_{1/2 K_d}$ concuerdan con lo reportado por Meyer⁽⁷⁵⁾, Jaffe⁽⁷⁷⁾, Mac Donald⁽⁸²⁾, etc., sin embargo respecto a los valores encontrados para K_a , $t_{1/2 K_a}$, t_{max} y $C_p \text{ máx}$, estos parámetros varían dependiendo de la cantidad y velocidad con la que el fármaco se absorbe, estando involucrados factores tanto de tipo fisiológico como de formulación.

Para determinar la bioequivalencia de los productos de clorhidrato de tetraciclina estudiados; se comparan estadísticamente los niveles alcanzados en plasma por los productos mexicanos respecto al producto innovador. Esta comparación se puede hacer a partir de algunos parámetros plasmáticos como son: a) La concentración plasmática máxima que se alcanza ($C_p \text{ máx}$), la cual depende de la formulación y respuesta individual. b) El tiempo en el cual se llega a la concentración plasmática máxima (t_{max}). Este parámetro está relacionado con la velocidad de absorción de un fármaco a partir de una formulación y es usado como una medida de la velocidad de absorción. c) El área bajo la curva de la gráfica de concentración plasmática contra tiempo.

Este parámetro es el más importante para evaluar

la biodisponibilidad y representa la cantidad de fármaco absorbida después de la administración de una dosis oral de un fármaco y d). La comparación de los niveles plasmáticos alcanzados a cada tiempo de muestreo por las formulaciones estudiadas.

En el presente trabajo se calculó la biodisponibilidad relativa (Fr) de los productos mexicanos estudiados respecto al producto innovador de clorhidrato de tetraciclina, utilizando la siguiente ecuación:

$$Fr = \frac{(ABC_{\infty})_x}{(ABC_{\infty})_r}$$

x = producto estudiado
r = producto de referencia

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla XXVIII en esta tabla puede observarse una biodisponibilidad relativa promedio de 0.702, 0.755 y 0.582 para los productos B, C y D respectivamente. Estos datos indican que los productos mexicanos estudiados presentan una biodisponibilidad inferior al producto de referencia (Achromycin V, Lederle, Lote 651-555). Este resultado concuerda con los datos encontrados en el estudio de disolución, en el cual se encontró que el porcentaje disuelto a 120 minutos para los productos B, C y D fue de 42.83, 42.30 y 32.19 respectivamente.

5.4. Análisis Estadístico.

Se puede usar la investigación científica para diseñar estudios en humanos, animales de laboratorio o experimentos In Vitro, de tal manera que los resultados obtenidos puedan ser analizados e indiquen las causas de variación a

un nivel de confianza dado, que establezca si la fuente de variación es estadísticamente significativa o no.

La variación en los estudios de tipo farmacocinético y de biodisponibilidad pueden ser diluida a las siguientes causas:

1. Variabilidad entre sujetos.
2. Variabilidad causada por el tratamiento (ejem. diferentes dosis, diferentes formulaciones, etc.
3. Tiempo (efectos de tiempo causados por cambios en el medio ambiente, fatiga, efecto residual de un tratamiento a otro, etc.
4. Variabilidad intra sujetos.
5. Error residual (cualquier fuente de variación que no pueda ser identificada y eliminada puede causar error).

Las diferencias entre estas variables dependerán del tipo de diseño utilizado. Los diseños experimentales más usados en farmacocinética son; (a) diseño completamente al azar, (b) diseño de bloque completo al azar, (c) diseño balanceado de bloque in completo y (d) diseño cruzado balanceado (cuadrado latino). Para cada diseño se pueden utilizar 2 tipos de análisis de varianza (ANOVA). El diseño usual de ANOVA para diseños cruzados en el cual las fuentes de variación son sujetos, tiempo, períodos de tiempo, tratamientos y residuales y un tipo especial de ANOVA en el que se analizan efectos residuales de un tratamiento a otro (descrito por Davies⁽¹⁰³⁾).

Tabla XXXI. Cálculos necesarios para efectuar el análisis de varianza de un diseño cruzado balanceado (ANOVA).

Ecuaciones para calcular SS		
Fuente de Variación	d.g.	Suma de cuadrados
SS total	$g.n.t. - 1$	$\left \sum_{i=1}^n \sum_{v=1}^t X^2 \right - C.F.$
SS sujetos	$gn - 1$	$\left \sum_{i=1}^{ng} S^2_{i/t} \right - C.F.$
SS secuencias o grupos	$g - 1$	$\left \sum_{i=1}^g .Gi^2/tn \right - C.F.$
SS sujetos/grupo	$g (n - 1)$	$\left SS \text{ sujetos} - SS \text{ grupos} \right $
SS períodos de tiempo	$(W - 1)$	$\left \sum_{i=1}^W Wi^2/gn \right - C.F.$
SS tratamiento	$(t - 1)$	$\left \sum_{J=1}^t Ti^2/gn \right - C.F.$
SS residual	$(gn - 2) (t - 1)$	$SS \text{ total} - SS \text{ suj.} - SS \text{ período de tiempo} - SS \text{ tratamientos}$

C.F. = Factor de corrección $\left| \sum x^2/g.n.t. \right|$.

n = Número de sujetos por grupo o secuencia de tratamientos.

t = Número de tratamientos.

g = Número de grupos o secuencia de tratamientos.

W = Número de períodos de tiempo.

gn = Número total de sujetos.

Tabulación de los resultados del análisis de Varianza					
Fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de significancia
Total					
Sujetos					
Grupos					
Sujetos/grupo					
Semanas					
Tratamientos					
Residual					

Los resultados encontrados en el presente estudio se trataron en base al "Análisis de varianza para un diseño cruzado balanceado (ANOVA)".

En la Tabla XXXI se encuentran las ecuaciones utilizadas en el análisis de ANOVA. En esta tabla se observa que el valor de SS es igual a la suma de cuadrados corregida y se refiere a la fuente de variación (tratamientos, sujetos, grupos, etc.). MS es el promedio de varianza y se obtiene dividiendo la suma de cuadrados corregida entre los correspondientes grados de libertad (g.l.). El valor de F se obtiene dividiendo el promedio del cuadrado (MS) de la particular fuente de variación entre el MS residual y por último al comparar el valor experimental de F con el valor F de tablas, correspondiendo a v_1 y v_2 donde v_1 es igual al número de grados de libertad del numerador y v_2 es el número de grados de libertad del denominador a un valor de significancia dado (el cual dependerá del poder del análisis deseado). De esta forma será posible establecer si hay diferencias estadísticamente significativas o no en las diversas fuentes de variación que se están analizando.

Los datos obtenidos en los parámetros farmacocinéticos; $t_{1/2}$ (Kd), $t_{\text{máx}}$, $C_p \text{ máx}$, ABC_0^+ y ABC_0^∞ , así como los datos de concentración plasmática a 1, 3, 4 y 5 horas, fueron sometidos a un análisis de varianza a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Este análisis se efectuó de acuerdo al diseño de cuadrado latino de 4 vías. En el apéndice VI se encuentran los cálculos generales en las tablas: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 y 17 y los resultados de estos análisis se encuentran en las tablas: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18 para $t_{1/2}$, t máx, C_p máx, concentración plasmática a 1, 3, 4 y 5 hs., ABC_0^+ y ABC_0^∞ respectivamente.

En el análisis de varianza para $t_{1/2}$ (Kd) (Tabla 2) puede observarse que no hay diferencias significativas respecto a la variación entre semanas y tratamientos, pero en las otras fuentes de variación sí se presentan diferencias significativas.

En las tablas 4 y 6 se ve que los valores de F calculados respecto a los valores de F en tablas ($\alpha=0.05$) para los datos de t máx no presentan diferencias significativas en ninguna fuente de variación. Sin embargo, para C_p máx sí se presentan diferencias estadísticamente significativas en tratamientos.

En el análisis de varianza de los valores de concentración plasmática a diferentes tiempos (1, 3, 4 y 5 hs) y en los datos de ABC_0^+ y de ABC_0^∞ , tablas 8, 10, 12, 14, 16 y 18, también se observa que se presentan diferencias significativas respecto al análisis de tratamientos.

En la tabla XXXII se resumen de una manera general los datos encontrados en el análisis de varianza respecto al nivel de significancia para los diferentes datos encontrados en los parámetros farmacocinéticos estudiados.

Tabla XXXII. Resultados del análisis de varianza respecto al nivel de significancia.

Fuentes de Variación	Nivel de significancia								
	t _{1/2}	t _{máx}	Cp _{máx}	Cp _{1h}	Cp _{3h}	Cp _{4h}	Cp _{5h}	ABC ₀ ⁺	ABC ₀ [∞]
Sujetos	SS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	SS	SS
Grupos	SS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	SS	SS
Sujetos/grupo	SS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	SS
Semanas	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Tratamientos	NS	NS	SS*	SS*	SS*	SS*	SS*	SS*	SS*

SS* = Si hay diferencias significativas.

NS = No hay diferencias significativas.

En la Tabla XXXII se observa que los productos mexicanos estudiados presentan un comportamiento de biodisponibilidad estadísticamente diferente al producto innovador (Achromycin V, Lederle, Lote 651-555).

5.5. Correlación In Vitro - In Vivo.

En estudios de bioequivalencia es útil encontrar correlaciones In vivo - In vitro. Esto significa encontrar correlaciones de variables apropiadas derivadas de estudios In vivo (realizados en voluntarios humanos) con variables apropiadas derivadas de estudios de velocidad de disolución o desintegración In vitro.

Analizando la gran cantidad de investigaciones realizadas en años recientes se puede observar que hay muy pocos trabajos en los cuales se han encontrado correlaciones adecuadas.

En general se pueden considerar dos tipos básicos de correlaciones. A) la correlación cuantitativa en la cual una variable in vivo Y está relacionada a una variable In Vitro X, por medio de una ecuación como puede ser $Y = b \cdot x$, $Y = a + bx$ o $\log y = \log c - bx$, etc. y se obtiene una información más amplia y B) una correlación por rango de ordenación en la cual; a) Y aumenta cuando X aumenta, b) Y aumenta cuando X disminuye y c) Y disminuye cuando X disminuye, y pueden ser correlaciones perfectas o imperfectas. Para este tipo de correlaciones se puede hacer un tratamiento estadístico conocido como correlación por rangos de ordenación de Spearman's⁽¹⁰³⁾.

Wagner⁽¹⁰³⁾ señala que existen diferentes variables derivadas de datos In

vivo que pueden ser correlacionados con variables derivadas de datos In vitro entre estas variables las principales son:

- 1) Datos de concentración plasmática a tiempo t .
- 2) Area bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo, en algún intervalo de tiempo t_1 a t_2 , o de cero a T horas donde T es el último tiempo al que se tomaron muestras sanguíneas después de la administración de una sola dosis del fármaco, o bien estimados de área bajo la curva de tiempo cero a infinito.
- 3) Constante de velocidad de absorción o tiempo de vida media de absorción, obtenidos después de aplicar un modelo farmacocinético a los datos plasmáticos.
- 4) Porcentaje absorbido respecto al tiempo.
- 5) Respuesta farmacológica, etc.

Asímismo existen diferentes variables In vitro que pueden ser correlacionadas con las variables derivadas de datos In vivo, entre estas, las más importantes son:

- 1) Tiempo de desintegración.
- 2) Tiempo en el cual algún porcentaje del fármaco se disuelve In vitro. Por ejem. $t_{50\%}$ (tiempo en el cual el 50% del fármaco se disuelve).
- 3) Cantidad disuelta o porcentaje disuelto a un tiempo dado.
- 4) Gráfica de porcentaje disuelto o de velocidad de disolución contra el tiempo.
- 5) Gráfica de primer orden de porcentaje no disuelto en es

cala logarítmica contra el tiempo.

- 6) Gráficas de probabilidad de por ciento disuelto contra logaritmo del tiempo.
- 7) Constantes de velocidad de disolución o tiempo de vida media de disolución derivados de gráficas de primer orden o de gráficas con otros tipos de cinética.
- 8) Velocidad de disolución intrínseca, etcétera.

Al revisar la literatura se observa que existen diferentes publicaciones en las que se ha intentado correlacionar los estudios realizados In vivo con pruebas In Vitro para productos de clorhidrato de tetraciclina. Así tenemos por ejemplo que Nelson, 1959⁽¹⁰⁶⁾, establece correlación por rangos de ordenación entre la cantidad excretada en orina y la velocidad de disolución. Mac Donald 1969⁽¹⁰⁷⁾ también, establece una correlación por rangos para diferentes formulaciones de clorhidrato de tetraciclina entre los valores relativos de ABC_0^+ y de excreción urinaria (datos In vivo) contra el recíproco de $T_{50\%}$ (datos In vitro). Shah y Col. 1977⁽¹⁰⁵⁾ establecen una correlación cuantitativa de tipo lineal al graficar porcentaje de biodisponibilidad relativa (sólo los sujetos en los cuales la biodisponibilidad fue mayor al 75% respecto a un producto de referencia) contra el por ciento disuelto a 30 y 60 minutos, los coeficientes de correlación fueron 0.893 y 0.888 respectivamente.

En el presente estudio se trató de establecer corre-

laciones de tipo cuantitativo entre algunos parámetros farmacocinéticos obtenidos de los estudios In vivo respecto a parámetros generados de los estudios de disolución In vitro. Para los productos A, B, C y D de clorhidrato de tetraciclina (cápsulas de 250 mg), las correlaciones que se establecieron se presentan en la Tabla XXIII. En esta tabla podemos observar que al graficar ABC_{∞}^{∞} contra el porcentaje disuelto a 30, 60 y 120 minutos, se obtiene la mejor correlación a los 60 minutos, $r = 0.984$ (Figura 12). Considerando este resultado, posteriormente se correlacionaron algunos parámetros como: C_p máx y concentración plasmática a 1, 3, 4 y 5 horas contra el porcentaje disuelto a los 60 minutos, obteniéndose valores adecuados para los coeficientes de correlación en todos los casos (Figura 13). Estos mismos parámetros In vivo se graficaron contra la constante de velocidad de disolución, observándose que el valor del coeficiente de correlación disminuye un poco respecto a los datos anteriores. (Figura 14).

En general se puede resumir que los resultados obtenidos en los estudios de correlación In vivo/In vitro son adecuados, por lo tanto la prueba de disolución puede ser utilizada para predecir el comportamiento de biodisponibilidad de las cápsulas de clorhidrato de tetraciclina. La prueba de disolución debe ser establecida de una manera oficial en todos los laboratorios de Control de Calidad para asegurar de esta manera la eficiencia terapéutica de los productos de tetraciclina.

Tabla XXXIII. Correlación cuantitativa In vivo-In vitro para los productos A, B, C y D de clorhidrato de tetraciclina (cápsulas 250 mg).

Parámetros In vivo	Parámetro In vitro	Coficiente de correlación	Pendiente	Intercepto
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	% disuelto a 30 min	0.960	0.158	22.62
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	% disuelto a 60 min	0.984	0.178	20.67
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	% disuelto a 120 min	0.966	0.220	16.55
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	constante de disolución	0.947	71.35	23.68
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	constante de disolución	0.947	65.80	20.39
Cp máx	constante de disolución	0.915	5.70	1.79
Cp 2 hs	constante de disolución	0.925	5.91	1.30
Cp 3 hs	constante de disolución	0.901	5.69	1.69
Cp 4 hs	constante de disolución	0.868	3.91	1.72
Cp 5 hs	constante de disolución	0.889	3.66	1.57
Cp max	% disuelto a 60 min	0.961	0.014	1.54
Cp 2 hs	% disuelto a 60 min	0.964	0.015	1.05
Cp 3 hs	% disuelto a 60 min	0.951	0.014	1.43
Cp 4 hs	% disuelto a 60 min	0.931	0.010	1.54
Cp 5 hs	% disuelto a 60 min	0.944	0.009	1.41

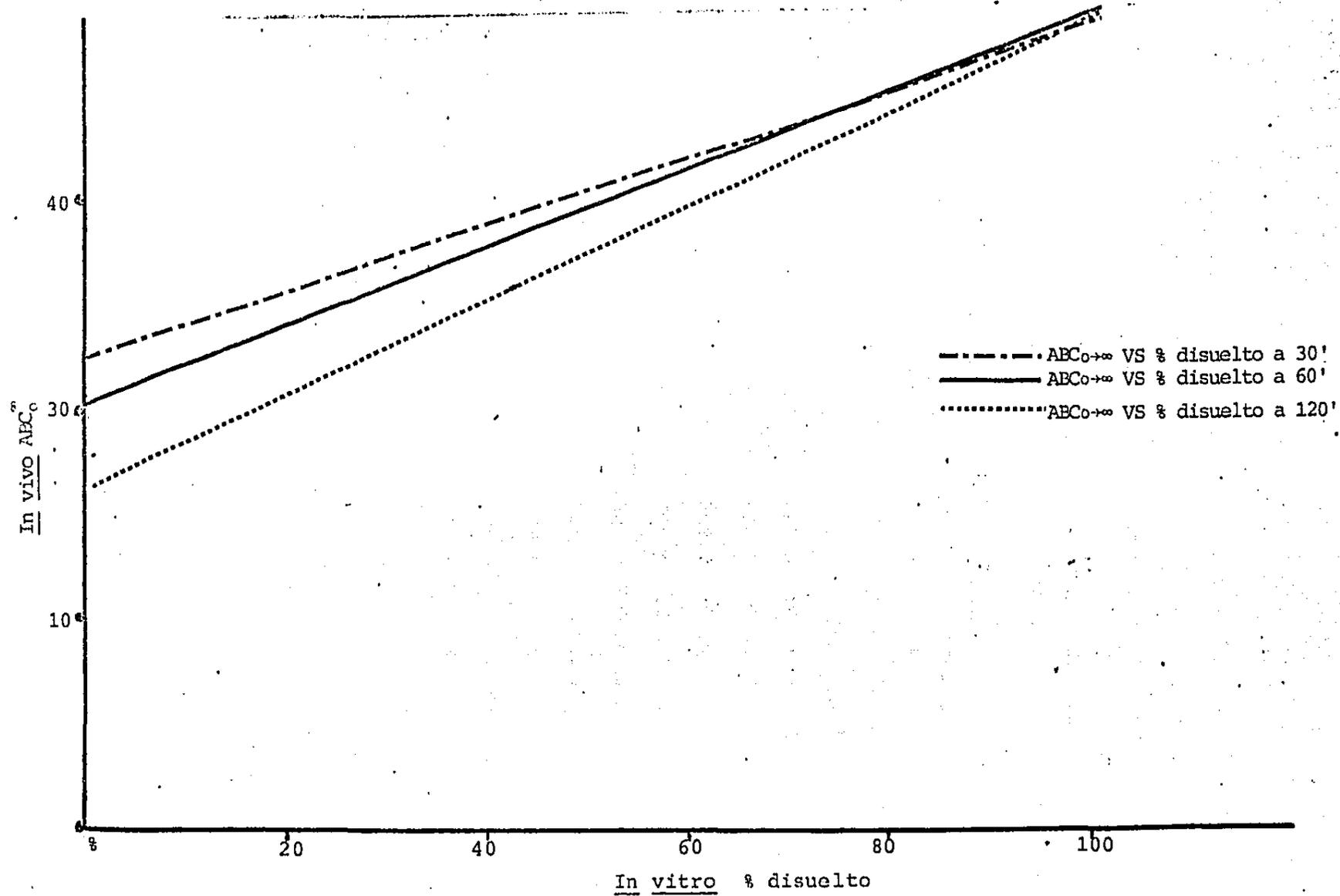


Figura 12. Correlación In vivo/In vitro para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina (250 mg)

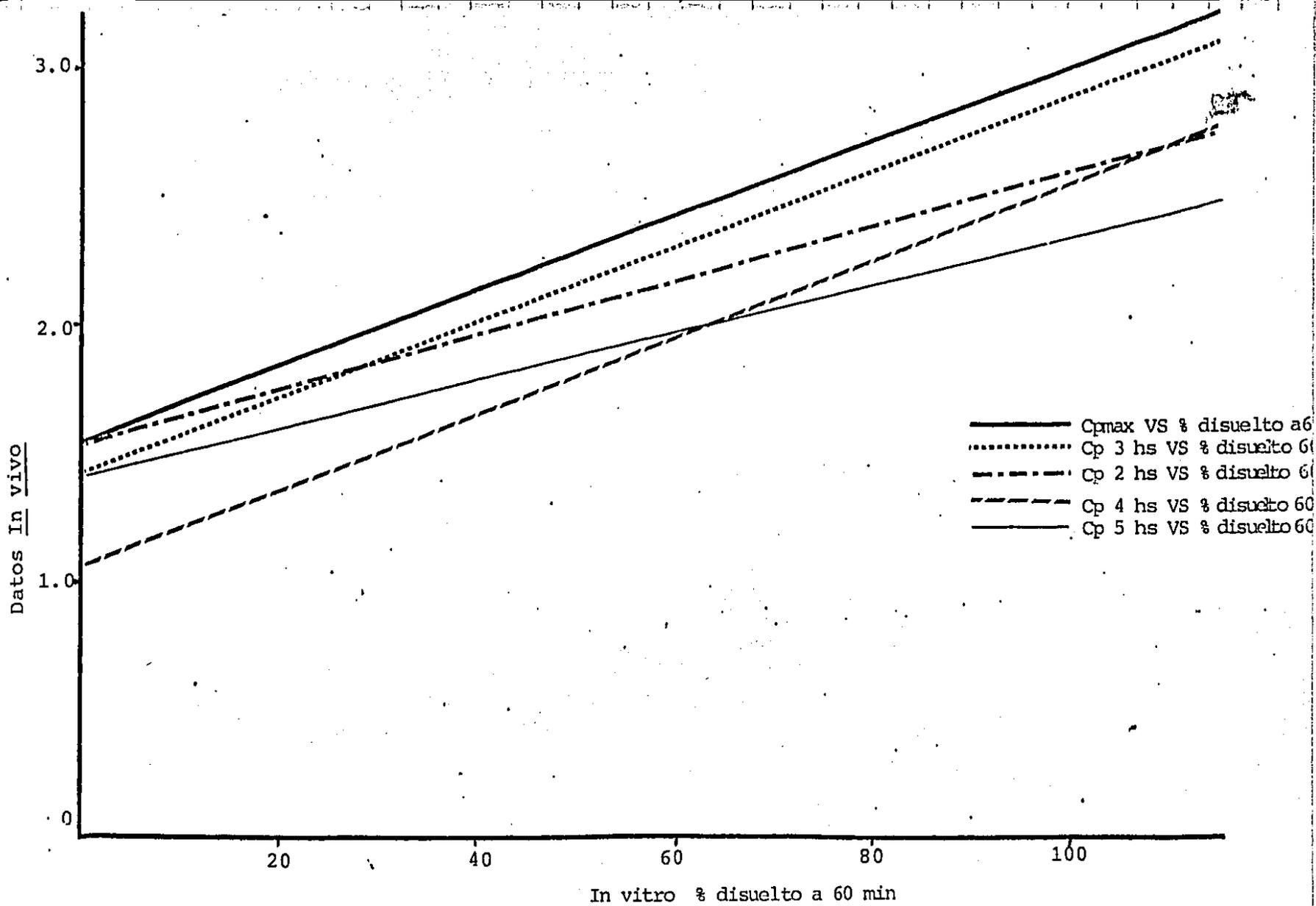


Figura 13. Correlación In vivo/In vitro para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina (250 mg)

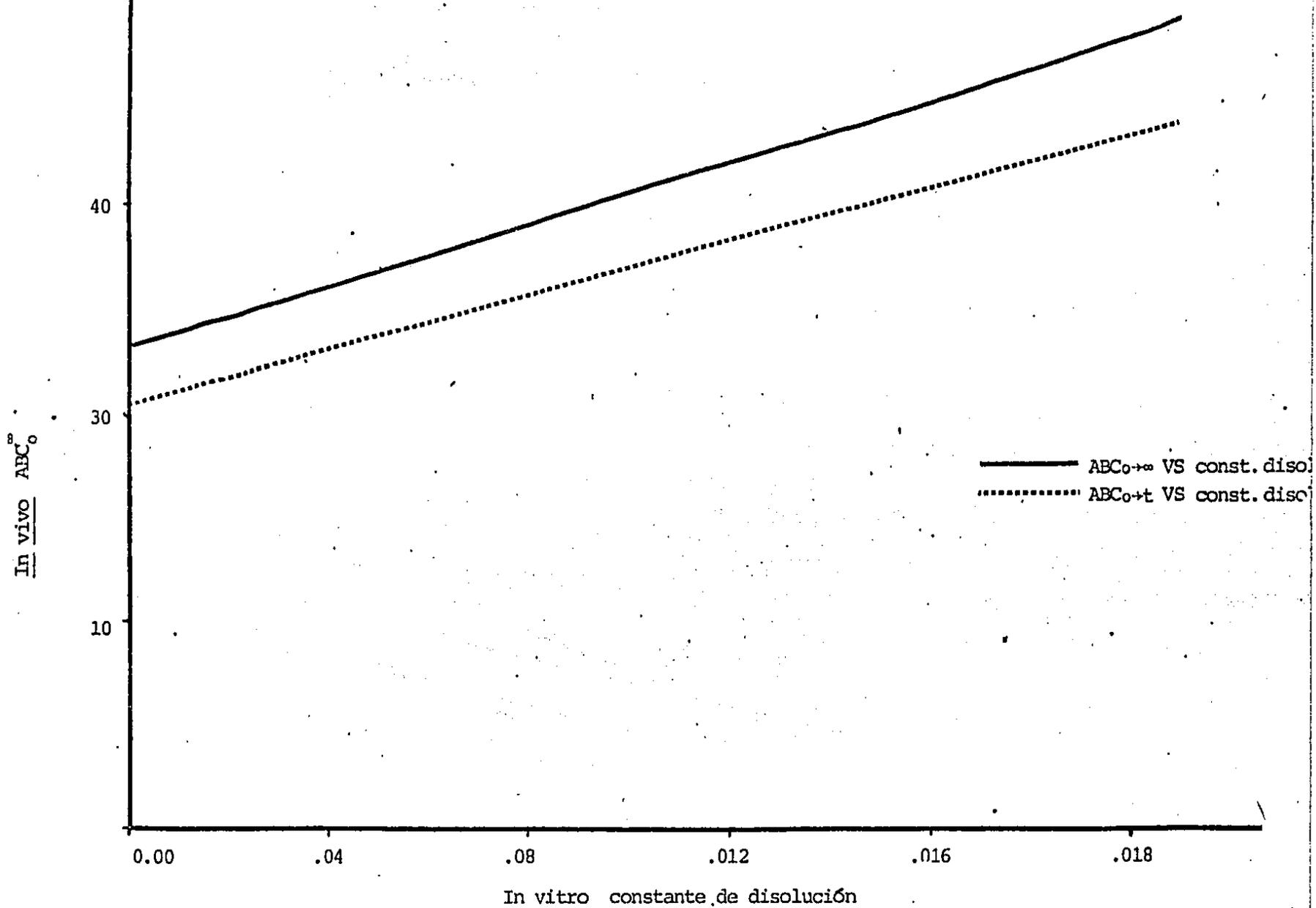


Figura 14. Correlación In vivo/In vitro para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina.

CAPITULO VI

CAPITULO VI

6. Conclusiones.

6.1. Se encontró que los quince productos de clorhidrato de tetraciclina estudiados son farmacéuticamente equivalentes; ya que cumplen satisfactoriamente con las especificaciones de la U.S.P. XX.

6.2. El método espectrofotométrico para la valoración de clorhidrato de tetraciclina en agua destilada mostró una linealidad satisfactoria en el intervalo de 1 a 40 mcg/ml ($r = 0.999$). El coeficiente de variación fue de 3.32 a 0.13% para las concentraciones de 1 y 40 mcg/ml respectivamente.

Por las características de linealidad y precisión, el método espectrofotométrico resultó adecuado, para ser utilizado en las pruebas de disolución para la cuantificación de clorhidrato de tetraciclina.

6.3. Las pruebas de disolución de los trece productos nacionales de clorhidrato de tetraciclina y los 2 productos americanos mostraron diferencias significativas en la cantidad disuelta a 30 y 60 min en agua destilada a 37°C, 75 rpm y utilizando el aparato U.S.P. de disolución No. 2. Los productos 1, 2, 7, 8, 10, 11 y 13 no pasan la especificación de disolución propuesta por la F.D.A. ⁽⁷⁾, ya que su disolución fue inferior al 60% y 85% a los 30 y 60 minutos respectivamente (ver Tabla IX)

La baja disolución de los productos 10, 11 y 13 se

comprobó que correspondía a una baja biodisponibilidad respecto al producto innovador y por lo tanto existe la posibilidad de encontrar problemas de bioequivalencia en los productos 1, 2, 7 y 8 debido a que también presentaron una baja disolución.

6.4. El método Fluorométrico de Kohn⁽³¹⁾ utilizado para la cuantificación de clorhidrato de tetraciclina en plasma, mostró una linealidad satisfactoria de 0.25 a 10.0 mcg/ml con un coeficiente de correlación de 0.998. El coeficiente de variación fue de 4.9 a 0.19% para las concentraciones de 0.1 y 10.0 mcg/ml respectivamente. Por las características de linealidad, sensibilidad, precisión y especificidad, el método fluorométrico de Kohn es adecuado para ser usado en los estudios de biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina para la cuantificación de muestras plasmáticas.

6.5. En base al estudio preliminar en el que se administró por vía oral una dosis de 250 mg del producto innovador se establecieron los horarios utilizados en el estudio de bioequivalencia para la toma de muestras plasmáticas. Se encontró que el intervalo establecido de 0.25-10 mcg/ml en la curva patrón de clorhidrato de tetraciclina en plasma era adecuado para interpolar los datos de las muestras obtenidas durante el estudio y los parámetros farmacocinéticos encontrados para K_d (0.109 hs^{-1}) y $t_{1/2}$ concuerdan con lo reportado en la literatura (79, 80, 81, 82, 83, 84).

6.6. Se realizó el estudio final de bioequivalencia en 3 productos mexicanos de clorhidrato de tetraciclina y el producto innovador, Achromycin V de Lederle, en 12 voluntarios sanos. Se encontró, mediante un análisis estadístico de varianza de cuatro vías que había diferencias altamente significativas entre los productos estudiados de clorhidrato de tetraciclina respecto a los parámetros de $t_{1/2}$, $t_{máx}$, $C_{p máx}$, concentración plasmática a 1, 3, 4 y 5 horas, $ABC_{0 \rightarrow T}$ y $ABC_{0 \rightarrow \infty}$.

Lo cual comprueba que los productos mexicanos estudiados de clorhidrato de tetraciclina de baja disolución pero designados como farmacéuticamente equivalentes; en base a las pruebas de control farmacéutico son "Bioinequivalentes" con respecto al producto de referencia.

6.7. Se calcularon parámetros farmacocinéticos individuales en base al modelo abierto de un compartimiento administración de primer orden (K_d , $t_{1/2 K_d}$, K_a , $t_{1/2 K_a}$, $C_p máx$, $t máx$, ABC_0^+ , ABC_0^∞ y Fr) para los 12 voluntarios que participaron en el estudio.

6.8. Se efectuó un análisis de correlación In vivo/In vitro, de tipo cuantitativo en el cual se correlacionaron datos In vivo, tales como, ABC_0^∞ , ABC_0^+ , $C_p máx$, y concentraciones plasmáticas a 1, 3, 4 y 5 horas contra datos In vitro, tales como: % disuelto a 30 y 60 min y la constante de velocidad de disolución. Los resultados encontrados indican que existe una excelente correlación entre los datos In vivo/In vitro analizados, en este

estudio. Por lo tanto la prueba de disolución podrá ser utilizada para predecir el comportamiento de biodisponibilidad de las cápsulas de clorhidrato de tetraciclina.

6.9. En base a los resultados encontrados en el presente estudio se sugiere; Primero, que el control farmacéutico para cápsulas de tetraciclina sea más riguroso para evitar en lo posible que salgan al mercado productos que no sean farmacéuticamente equivalentes. Segundo, debido a la baja biodisponibilidad del 70.2, 75.5 y 58.2% para los productos mexicanos B, C y D respectivamente que también presentan baja disolución. Se fundamenta la necesidad de considerar una prueba de disolución que pueda evidenciar problemas de bioinequivalencia, como requisito oficial dentro de las pruebas de control farmacéutico para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina. Tercero, se propone que la prueba de disolución para cápsulas de clorhidrato de tetraciclina, se lleve a cabo en agua destilada libre de CO₂ y 75 rpm y utilizando paletas, debido a que bajo esas condiciones fue posible correlacionar productos de baja disolución con productos de baja biodisponibilidad. Y Cuatro, se sugiere, efectuar un estudio con un número mayor de productos nacionales para que los resultados encontrados sean estadísticamente representativos de la situación real de bioequivalencia de este fármaco en nuestro país.

CAPITULO VIII

CAPITULO VII. APENDICES.

7.1. Apéndice I. Cepas reportadas en la fermentación de tetraciclinas⁽¹³⁾.

Antibiótico principal	Cepa	Referencia	
		Patente u otra referencia	Chemical Abstract
CTC	<u>Streptomyces aureofaciens</u>	U.S. 2,482,055 (1949)	<u>44</u> : 8604f (1950)
TC	<u>Streptomyces aureofaciens</u>	U.S. 2,734,018 (1956)	<u>44</u> : 8604f (1950)
TC	<u>S. viridifaciens</u>	U.S. 2,712,517 (1955)	<u>44</u> : 8604f (1950)
DMCTC	<u>S. aureofaciens</u>	U.S. 2,878,289 (1959)	<u>44</u> : 8604f (1950)
OTC	<u>Streptomyces rimosus</u>	U.S. 2,516,080 (1950)	
CTC	<u>S. sayamaensis</u>	<u>Meiji Seika Kenkyer</u> <u>Nempo</u> , 66 (1959)	<u>54</u> : 25025b (1960)
TC	<u>S. sayamaensis</u>	Jap. Pat. 9497 (1959)	<u>54</u> : 10247a (1960)
CTC	<u>S. rimosus</u>	<u>Fermentnaya i</u> <u>Spirit. Prom.</u> , 30, 32 (1964)	<u>61</u> : 7653f (1964)
OTC	<u>S. rimosus</u>	<u>Med. Doswiaderalna</u> <u>i Mikrobiol.</u> , 7, 125 (1955)	<u>49</u> : 11088c (1955)

TC	<u>S. rimosus</u>	J. Bacteriol., 80, 419 (1960)	54: 25033a (1960)
CTC	<u>S. viridifaciens</u>	Biochem. Biophys. Acta, 58, 635 (1962)	57: 6412c (1962)
TC	<u>S. viridifaciens</u>	Biochem. Biophys. Acta, 58, 635 (1962)	57: 6412c (1962)
TMCTC	<u>S. viridifaciens</u>	Biochem. Biophys. Acta, 58, 635 (1962)	57: 6412c (1962)
CTC	<u>S. lusitanus</u>	Brit. Pat. 936, 313 (1963)	60: 1078c (1954)
CT	<u>S. lusitanus</u>	Belg. Pat. 658,387 (1965)	64: 7328f (1966)
OTC	<u>S. armillatus</u>	Ann. Inst. Pasteur, 87, 580 (1954)	49: 4779g (1955)
OTC	<u>S. rimosus</u> mixed with <u>Saccharomyces fragilis</u>	Czech. Pat. 87, 520 (1957)	55: 1276e (1961)
OTC	<u>Actinomyces varsoviensis</u>	Ger. Pat. 1,213,568 (1966)	65: 1346b (1966)
OTC	<u>Streptomyces henetus</u>	Belg. Pat. 660,294 (1965) U.S. Pat. 3,408,258 (1968)	65: 1346a (1966)
OTC	<u>S. alboflavus</u>	Belg. Pat. 638,881 (1964)	62: 8355c (1965)
OTC	<u>S. capuensis</u>	Noth. Appl. 6,400,925 (1964)	62: 5856a (1965)
OTC	<u>S. ticinensis</u>	Belg. Pat. 632,332 (1963)	61: 7664b (1964)

OTC	<u>S. capuensis</u>	Noth. Appl. 6,400,925 (1964)	<u>62</u> : 5856a (1965)
OTC	<u>S. ticinensis</u>	Belg. Pat. 632,332 (1963)	<u>61</u> : 7664d (1964)
TC	<u>S. psammoticus</u>	<u>Il Farmaco, Ed.</u> <u>Sci.</u> , <u>15</u> , 164 (1960)	<u>54</u> : 14567b (1960)
TC	<u>S. subterraneus</u>	Neth. Appl. 6,509, 680 (1966)	<u>65</u> : 1346d (1966)
TC	<u>Streptomyces mediolanum</u>	Belg. Pat. 649,539 (1964)	<u>64</u> : 11824b (1966)
TC	<u>S. avellaneus</u>	S. Africam Pat. 6,705,025 (1968)	<u>70</u> : 56295n (1969)
TC	<u>S. phenaethylicus</u>	Brit. Pat. 1,286,929 (1972)	<u>77</u> : 124767g (1972)

7.2. Apéndice II. Uso actual de agentes antimicrobianos en la terapéutica de las infecciones.

I. COCCOS POSITIVOS	ENFERMEDADES	ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS			
		1a	2a ¹	3a ¹	
Staphylococcus aureus*	Abscesos Bacteriemia Endocarditis	Penicilina G ² sensibles	Penicilina G	Una cefalosporina ³ Vancomicina	Clindamicina ³
	Neumonía Meningitis	Penicilina G-resistentes	Una penicilina Penicilinas-resistente	Una cefalosporina ³ Vancomicina	
	Osteomielitis Celulitis	Meticilina-resistentes	Vancomicina	Entromicina ⁴ +rifampicina	---
Streptococcus pyogenes	Faringitis Escarlatina Otitis media, sinusitis Celulitis Erisipela Neumonía Bacteriemia Otras infecciones sistémicas		Penicilina G Penicilina V	Una cefalosporina ⁴ Eritromicina	Vancomicina
Streptococcus* (grupo viridans)	Endocarditis bacteriemia		Penicilina G + estretomicina	Una cefalosporina	Vancomicina
Streptococcus agalactiae (grupo B)	Septicemia Meningitis		Ampicilina o pen. G+un aminoglucós.	Una cefalosporina ³ Cloranfenicol	Eritromicina
Streptococcus* (grupo viridans)	Endocarditis Bacteriemia		Penicilina G+ estretomicina	Una cefalosporina	Vancomicina
Streptococcus agalactiae (grupo B)	Septicemia Meningitis		Ampicilina o pen. G+ un aminoglucós.	Una cefalosporina ³ Cloranfenicol	Eritromicina

	Endocarditis		Penicilina G+un aminoglucósido	Vancomicina+un aminoglucósido	—
Streptococcus faecalis*	Infección del tracto urinario Bacteriemia		Ampicilina Penicilina G+un aminoglucósido	Vancomicina	—
Streptococcus bovis	Endocarditis Infección del tracto urinario Bacteriemia		Penicilina G	Una cefalosporina	Vancomicina
Streptococcus* (especies anaerobias)	Bacteriemia Endocarditis Abscesos cerebrales y otros Sinusitis		Penicilina G ⁶	Una cefalosporina ³ Clindamicina ³	Cloranfenicol ⁷
Streptococcus pneumoniae (neumococo)	Neumonía Meningitis Endocarditis Artritis Sinusitis Otitis		Penicilina G	Una cefalosporina ³ Eritromicina	Cloranfenicol ⁷ Clindamicina ³
II. COCOS GRAMNEGATIVOS		ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS			
	ENFERMEDADES		1a	2a ¹	3a ¹
	Infecciones genitales	Penicilina-sensibles	Ampicilina o amoxicilina Penicilina G Una tetraciclina	Eritromicina Espectinomicina ⁸	—
Neisseria gonorrhoeae (gonococo)		Productores de penicilinas	Espectinomicina ⁸	Cefoxitina	Trimotoprima-sulfametaxazol
	Síndrome de artritis-dermatitis		Ampicilina o amoxicilina Penicilina G	Una tetraciclina	—

Neisseria meningitidis (meningococo)	Meningitis Bacteriemia	Penicilina G	Cloranfenicol	—
	Estado de portador	Rifampicina	Minociclina	—
III. BACILOS GRAMPOSITIVOS		ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS		
	ENFERMEDADES	1a	2a ¹	3a ²
Bacillus anthracis*	"Pústula maligna" Neumonía	Penicilina G	Eritromicina Una tetraciclina	Una cefalosporina Cloranfenicol
Corynebacterium diphteriae ⁹	Faringitis Laringotraqueítis Neumonía Otras lesiones locales	Penicilina G	Eritromicina	Una cefalosporina Rifampicina
	Estado de portador	Eritromicina	Penicilina G	—

* Todas las cepas deben examinarse in vitro para determinar su sensibilidad a diferentes agentes antimicrobianos.

¹ Los fármacos incluidos para segunda y tercera opción: a) están indicados en pacientes hipersensibles a agentes tanto o más efectivos; b) son potencialmente más peligrosos que fármacos igualmente activos; c) son menos capaces de producir la respuesta terapéutica deseada, o d) en algunos casos necesitan más estudios con el fin de valorar su eficacia.

Dentro de cada recuadro los fármacos están en orden alfabético porque tienen una eficacia aproximadamente igual.

² La concentración inhibitoria mínima (CIM) es menor de 0.2 µg/ml.

³ Las concentraciones terapéuticas de este fármaco no se logran en el líquido cefalorraquídeo, y deben usarse agentes alternativos para tratar infecciones del sistema nervioso central (SNC).

⁴ La rifampicina es sumamente activa contra casi todas las cepas de Staph. aureus, incluso algunos que son resistentes a la meticilina. Como la resistencia se desarrolla rápidamente (mutación de un solo paso) durante el tratamiento, un segundo fármaco activo como la eritromicina debe usarse simultáneamente.

⁵ Especialmente para bacteriemia.

⁶ Pueden necesitarse grandes dosis de penicilina G.

⁷ El cloranfenicol es el fármaco de elección para la infección del SNC en los pacientes que son alérgicos a la penicilina.

⁸ La espectinomina es útil para infecciones genitales únicamente.

⁹ Los antibióticos por sí solos no alteran el curso clínico de la difteria, pero los fármacos pueden eliminar el estado de portador.

Especies de <i>Corynebacterium</i> , aerobias y anaerobias* (difteroides)	Endocarditis Cuerpos extraños infectados	Penicilina G+un aminoglucósido Vancomicina	Rifampicina+ Penicilina G	—
<i>Listeria monocytogenes</i>	Meningitis Bacteriemia Endocarditis	Ampicilina+un aminoglucósido	Cloranfenicol Una tetraciclina	—
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Erisipeloide	Penicilina G	Eritromicina Una tetraciclina	Cloranfenicol
<i>Clostridium perfringens</i> y otras especies	Gangrena gaseosa ¹⁰	Penicilina G	Cloranfenicol	Una cefalosporina Clindamicina
<i>Clostridium tetani</i>	Tétanos ¹⁰	Penicilina G ¹¹	Una tetraciclina	Eritromicina

ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS

IV. BACILOS GRAMNEGATIVOS ENFERMEDADES

		1a	2a ¹	3a ¹
	Infección del tracto urinario ¹²	Ampicilina Una sulfonamida Trimetoprima-sulfametoxazol	Una cefalosporina Una tetraciclina	Nitrofurantoína
<i>Escherichia coli</i> *	Otras infecciones Bacteriemia	Ampicilina Gentamicina	Una cefalosporina Cloranfenicol	—
<i>Enterobacter aerogenes</i> *	Infecciones del tracto urinario ¹³ y otras	Cefamandol Gentamicina Tobramicina	Carbenicilina Ticarcilina	—

<i>Proteus mirabilis</i> *	Infecciones del tracto urinario ¹³ y otras	Ampicilina Gentamicina Tobramicina	Una cefalosporina	—
<i>Proteus</i> , otras especies*	Infecciones del tracto urinario ¹³ y otras	Gentamicina Tobramicina	Carbenicilina Ticarcilina	Cefaxitin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	Infección del tracto urinario ¹³	Carbenicilina Ticarcilina	Gentamicina Tobramicina	Colistimetato
	Neumonía ¹⁴ Bacteriemia ¹⁴	Carbenicilina o ticarcilina + gentamicina o tobramicina	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	Infección del tracto urinario ¹³	Una cefalosporina ¹⁵	Gentamicina Tobramicina	Cloranfenicol
	Neumonía	Una cefalosporina ¹⁵ + gentamicina o tobramicina	—	—
<i>Salmonella</i> *	Fiebre tifoidea Fiebre paratifoidea Bacteriemia	Ampicilina ¹⁶ Cloranfenicol ¹⁶	Trimetoprima- sulfametoxazol	—
	Gastroenteritis aguda	No hay tratamiento	—	—
<i>Shigella</i> *	Gastroenteritis aguda ¹⁷	Ampicilina Trimetoprima- sulfametoxazol	Cloranfenicol	—
<i>Serratia</i> *	Variiedad de infecciones nosocomiales y oportunistas	Gentamicina	Amicacina	Cefoxitin

Acinetobacter*	Diversas infecciones nosocomiales Bacteriemia	Gentamicina	Amicacina	Cefoxitin
Acinetobacter*	Diversas infecciones nosocomiales Bacteriemia	Gentamicina	Amicacina	Cefoxitin
Haemophilus influenzae*	Otitis media Sinusitis Bronquitis	Amoxicilina Ampicilina	Trimetoprima- sulfametoxazol	—
	Epiglottitis Neumonía Meningitis	Ampicilina ¹⁸ Cloranfenicol	Cefamandol ¹⁹	—
Haemophilus ducreyi	Chancroide	Una tetraciclina	Una sulfonamida	Estreptomicina
Brucella	Brucelosis	Una tetraciclina+ estreptomicina ²⁰	Cloranfenicol estreptomicina ²⁰	Trimetoprima-
Yersinia pestis	Peste	Estreptomicina+ una tetraciclina	Una tetraciclina	Cloranfenicol
Yersinia enterocolitica	Yersiniosis	Trimetoprima- sulfametoxazol ²¹	—	—
Francisella tularensis	Tularemia	Estreptomicina	Una tetraciclina	Cloranfenicol

Pasteur.	Heridas infectadas Abscesos Bacteriemia Meningitis	Penicilina G	Una tetraciclina	—
Vibrio cholerae	Cólera	Una tetraciclina	Trimetoprima- sulfametoxazol	Cloranfenicol

- 10 El buen desbridamiento es absolutamente esencial.
- 11 De 10 a 20 millones de unidades de penicilina G diariamente, con desbridamiento y toxoide tetánico absorbido.
- 12 Las sulfonamidas, la trimetoprima-sulfametoxazol y los antisépticos del tracto urinario son útiles para las infecciones agudas de este último, especialmente cistitis, en el paciente sin uropatía obstructiva o cuya enfermedad no se ha hecho crónica. Estos agentes también son útiles para la terapia supresiva crónica en pacientes con infección recurrente del tracto urinario. Algunos clínicos prefieren reservar los antibióticos como la ampicilina para los casos con manifestaciones sistémicas, particularmente la pielonefritis aguda.
- 13 Las infecciones del tracto urinario causadas por microorganismos que no son E. coli son menos comunes y se producen con frecuencia en el marco de una uropatía obstructiva o catéter urinario, o después de infecciones recurrentes con el uso de antibióticos. El tratamiento debe ser individualizado pero fracasa a menudo si no se corrige la afección subyacente.
- 14 Aunque el tratamiento con un solo fármaco como la carbenicilina, ticarcilina o un aminoglucósido (gentamicina o tobramicina) es adecuada pero casi todas las infecciones causadas por Pseud. aeruginosa, la combinación de las dos clases de fármaco se recomienda para tratar bacteriemia, especialmente en el paciente neutropénico en el individuo con neumonía.
- 15 Un número creciente de cepas se está haciendo resistente a las cefalosporinas. El cefamandol parece ser la cefalosporina de uso actual más activa. Muchos expertos aconsejan una cefalosporina más un aminoglucósido para el tratamiento de la neumonía.
- 16 El cloranfenicol es el fármaco de elección para el tratamiento de la fiebre tifoidea. La ampicilina puede usarse como tratamiento inicial para otros tipos de infecciones por Salmonella, pero muchas cepas de este microorganismo resisten actualmente a una gran variedad de drogas; las pruebas de sensibilidad son obligatorias.
- 17 Muchas cepas de Shigella son ahora resistentes a la ampicilina, y algunas también lo son al cloranfenicol.
- 18 Las cepas ampicilinoresistentes se están haciendo cada vez más comunes, y el cloranfenicol debe administrarse con ampicilina como tratamiento inicial de las infecciones de riesgo mortal, especialmente meningitis, mientras se conocen los resultados de las pruebas de sensibilidad.
- 19 El cefamandol no debe recomendarse para el tratamiento de la meningitis por H. influenzae.
- 20 Este tratamiento combinado es útil en las infecciones severas.
- 21 Los datos sobre el tratamiento son escasos, pero la terapéutica con trimetoprima-sulfametoxazol ha tenido éxito en algunos casos.

Flavobacterium meningosepticum	Meningitis	Eritromicina	Rifampicina	—
Pseudomonas mallei	Muermo	Estreptomicina+ una tetraciclina	Estreptomicina+ cloranfenicol	—
Pseudomonas pseudomallei	Melioidosis	Una tetraciclina+ cloranfenicol	Cloranfenicol	Trimetoprima- sulfametoxazol
	Enteritis	Ningún tratamiento o eritromicina	—	—
Campilobacter fetus*	Bacteriemia	Cloranfenicol ²² Gentamicina	—	—
Especies de Bacteroides (orales, faríngeos)	Enfermedad oral Sinosis Absceso cerebral Absceso pulmonar	Penicilina G	Cloranfenicol Clindamicina ³	Eritromicina Una tetraciclina
Bacteroides fragilis	Absceso cerebral Absceso pulmonar Absceso intraabdominal Empiema Bacteriemia Endocarditis	Cloranfenicol ²³	Carbenicilina o ticarcilina Metronidazol ²⁴ Penicilina G ²⁵	Cefoxitin
Fusobacterium nucleatum	Faringitis ulcerativa Absceso pulmonar, empiema Infecciones genitales Gingivitis	Penicilina G	Cloranfenicol Clindamicina	Una cefalosporina Eritromicina Una tetraciclina
Calymatobacterium granulomatis	Granuloma inguinal	Una tetraciclina	Estreptomicina	—

Streptococcus moniliformis	Bacteriemia Artritis Endocarditis Abscesos	Penicilina G	Estreptomina Una tetraciclina	—
----------------------------	---	--------------	----------------------------------	---

Legionella pneumophila	Enfermedad de los legionarios	Eritromicina	Rifampicina	—
------------------------	-------------------------------	--------------	-------------	---

V. BACILOS ACIDORRESISTENTES	ENFERMEDADES	ORDEN DE ELECCION DE FARMACO		
		1a	2a ¹	3a ¹
	Pulmonar	Isoniazida+etambutol Isoniazida-rifampicina	—	—
Mycobacterium tuberculosis ²⁶	Miliar, renal, meníngea y otras infecciones tuberculo- sas	Isoniazida+rifampicina Isoniazida-rifampicina + estreptomina ²⁷ o etambutol	—	—
Mycobacterium leprae	Lepra	Depsona+rifampici na	Clofazimina Rifampicina	—

VI. ESPIROQUETAS	ENFERMEDADES	ORDEN DE ELECCION DE FARMACO		
		1a	2a ¹	3a ¹
Treponema pallidum	Sífilis	Penicilina G	Una tetraciclina	Eritromicina
Treponema pertenue	Yaws (frambesia, pian)	Penicilina G	Una tetraciclina	—
Borrelia recurrentis	Fiebre recidivante	Una tetraciclina	Penicilina G	—

Leptospira	Enfermedad de Weil Meningitis	Penicilina G	Una tetraciclina ^{2B}	—
VII. ACTINOMICETOS ENFERMEDADES		ORDEN DE ELECCION DE FARMACO		
		1a	2a ¹	3a ¹
Actinomyces israelii	Lesiones cervicofaciales, abdominales, torácicas y otras	Penicilina G	Una tetraciclina	Una cefalosporina Cloranfenicol
Nocardia*	Lesiones pulmonares Absceso cerebral Lesiones de otros órganos	Una sulfonamida+ ampicilina	Una sulfonamida+ minociclina	Una tetraciclina+ cicloserina Trimetoprima-sulfame- toxazol
VIII. AGENTES DIVERSOS ENFERMEDADES		ORDEN DE ELECCION DE FARMACO		
		1a	2a ¹	3a ¹
Ureaplasma urealyticum	Uretritis no específica	Una tetraciclina	—	—
Mycoplasma pneumoniae (agente de Eaton)	"Neumonía atípica"	Eritromicina Una tetraciclina	—	—
Rickettsia	Tifus Tifus murino Enfermedad de Brill Fiebre manchada de las Montañas Rocosas Fiebre "Q" Rickettsiasis purulenta	Cloranfenicol Una tetraciclina	—	—

Chlamydia psittaci	Psitacosis (ornitosis)	Una tetraciclina	Cloranfenicol	—
	Linfogranuloma venéreo	Una tetraciclina	Cloranfenicol	Una sulfonamida
	Tracoma	Una sulfonamida+ una tetraciclina ²⁹	Eritromicina Una tetraciclina	Cloranfenicol

²² Casi todas las cepas son sensibles a los aminoglucósidos, pero el cloranfenicol se recomienda en las infecciones del SNC.

²³ Antibiótico preferido para las infecciones del SNC.

²⁴ El metronidazol es el único fármaco con actividad bactericida contra el B. fragilis y por consiguiente se recomienda en la endocarditis; no obstante, su uso para este propósito todavía no está oficialmente aprobado en los Estados Unidos.

²⁵ Muchas cepas de B. fragilis son resistentes a dosis convencionales de penicilina G. Otras especies de Bacteroides (B. melaninogenicus) son sensibles a la penicilina G.

²⁶ Hay segunda y tercera línea de elección disponibles para el tratamiento de la enfermedad causada por M. tuberculosis; su uso, que es complejo, se explica en el cap. 53. La elección de los fármacos para el tratamiento de infecciones por microbacterias atípicas también se explica en el cap. 53.

²⁷ Recomendada por muchos clínicos para formas más severas de tuberculosis, como meningitis y enfermedad diseminada (miliar). Otros médicos usan únicamente dos de estos agentes combinando isoniazida y rifampicina.

²⁸ Algunos médicos aconsejan una tetraciclina en lugar de penicilina G como fármaco de primera elección.

²⁹ Una tetraciclina puede administrarse por vía oral sola o aplicarse localmente el fondo del saco conjuntival cuando se da una sulfonamida por vía oral.

Chlamydia trachomatis	Conjuntivitis por inclusión	Una tetraciclina ³⁰	Cloranfenicol ³¹	—
	Uretritis no específica	Una tetraciclina	Una sulfonamida	—
Pneumocystis carinii	Neumonía en huésped comprometido	Trimetoprima-sulfametoxazol	Pentamidina	—

ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS

IX. HONGOS	ENFERMEDADES	ORDEN DE ELECCION DE FARMACOS		
		1a	2a ¹	3a ¹
Candida albicans	Lesiones de la piel y de las Membranas mucosas superficiales	Anfotericina B Nistatina	Flucitosina ³²	—
Cryptococcus neoformans	Meningitis	Anfotericina B + Flucitosina ³³	Anfotericina B	—
Candida albicans Aspergillus Coccidioides immitis Histoplasma capsulatum Mucor	Neumonía Meningitis Lesiones cutáneas Lesiones pulmonares aisladas Lesiones óseas Enfermedad diseminada	Anfotericina B	—	—
Blastomyces dermatitidis	Blastomicosis (de Norteamérica)	Anfotericina B	Hidroxiethylbamidina ³⁴	—
Sporothrix schenckii	Esporotricosis	Loduros	Anfotericina B	—

X. VIRUS	ENFERMEDADES	ORDEN DE ELECCION DE FARMACO		
		1a	2a ¹	3a ¹
Virus del herpes simple	Queratoconjuntivitis	Vidarabina ³⁵	Idoxuridina ³⁵	—
	Encefalitis	Vidarabina ³⁶	—	—
Virus de la influenza A	Influenza	Amantadina ³⁷	—	—

³⁰ Administración tópica u oral.

³¹ Aplicación tópica.

³² Un porcentaje significativo de cepas pueden ser resistentes.

³³ La combinación parece dar resultados terapéuticos superiores.

³⁴ Debe usarse únicamente en la blastomycosis cutánea.

³⁵ Tópica.

³⁶ Parenteral.

³⁷ Efectiva como profilaxis para el virus asiático A₂ de influenza. Algunos recomiendan la amantadina para el tratamiento de la enfermedad establecida, pero la eficacia terapéutica comprobada es mínima.

7.3. Apéndice III.

"Contraindicaciones, advertencias, precauciones y reacciones indeseables de las tetraciclinas".

Contraindicaciones: La tetraciclina y sus derivados están contraindicados en personas que hayan demostrado hipersensibilidad o idiosincracia a este fármaco. No debe administrarse conjuntamente con otros fármacos con potencial hepatotóxico⁽¹⁰⁸⁾.

Advertencias: El uso de tetraciclinas durante el desarrollo de la dentición (última mitad del embarazo, infancia y niñez hasta la edad de 8 años), puede causar decoloración permanente de dientes (amarillo-gris-café). Esta reacción adversa es más común durante el uso prolongado del fármaco, pero también se ha observado después de tratamientos cortos repetidos, se ha reportado hipoplasia del esmalte. Por lo tanto las tetraciclinas no deben ser usadas en grupos de esta edad (infantes) a menos que sea poco probable que otros fármacos sean efectivos o que estén contraindicados⁽¹⁰⁸⁾.

Usos en el embarazo: Los estudios en animales indican que las tetraciclinas atraviezan la placenta, se localizan en el tejido fetal y pueden tener efectos tóxicos sobre el desarrollo del feto (a menudo relacionados con

retardos en el desarrollo del esqueleto). También se han observado evidencias de embriotoxicidad en animales tratados durante la primera etapa del embarazo. (Ver advertencias acerca del uso durante el desarrollo de los dientes) ⁽²⁰⁾.

Usos en recién nacidos, infantes y niños: Todas las tetraciclinas forman un complejo de calcio estable en cualquier tejido formador de huesos. Se ha observado una disminución de la velocidad de crecimiento en niños prematuros que han recibido dosis orales de tetraciclinas de 25 mg/Kg cada 6 horas. Esta reacción demostró ser reversible cuando dejó de administrarse el fármaco.

Las tetraciclinas se encuentran en la leche de mujeres en períodos de lactación. (Ver advertencias acerca de su uso durante el desarrollo de los dientes) ⁽²⁰⁾.

Precauciones:

Como en otras preparaciones de antibióticos, el uso de este fármaco puede resultar en un crecimiento excesivo de organismos no susceptibles, incluyendo hongos. Si ocurre superinfección, el antibiótico deberá discontinuarse e instituirse una terapia adecuada.

En enfermedades venéreas, cuando se sospecha la coexistencia de sífilis, se deberá efectuar un examen de campo oscuro antes de comenzar la terapia, y la serología sanguínea deberá repetirse mensualmente por lo menos durante cuatro meses.

Debido a que las tetraciclinas han demostrado deprimir la actividad de protrombina plasmática, los pacientes

que estén bajo terapia con anticoagulantes podrán necesitar un ajuste en la dosis de anticoagulante.

En terapias a largo plazo, deberán llevarse a cabo evaluaciones periódicas de laboratorio de los sistemas orgánicos, incluyendo estudios hematopoyéticos, renales y hepáticos. Todas las infecciones debidas a estreptococos beta hemolíticos deberán ser tratados por lo menos durante 10 días.

Debido a que los fármacos bacteriostáticos pueden interferir con la acción bactericida de las penicilinas, es recomendable evitar el uso de tetraciclinas al mismo tiempo que penicilinas⁽¹⁰⁸⁾.

Reacciones Indeseables:

Efectos tóxicos: Todas las tetraciclinas presentan baja toxicidad a las dosis terapéuticas usuales (Kurylowicz 1976⁽¹⁰⁹⁾; Pratt, 1977⁽¹¹⁰⁾, Siegel, 1978⁽¹¹¹⁾). Se presentan algunas evidencias que indican que las tetraciclinas son teratogénicas, pero esto no está bien establecido, sin embargo otros efectos adversos han sido bien documentados y son potencialmente importantes⁽⁷⁹⁾.

Disturbios Gastrointestinales: todas las tetraciclinas producen diversos grados de irritación gastrointestinal en algunas personas, pero no en todas. La incidencia de estos síntomas es dosis dependiente y son mucho más comunes cuando se administran dosis diarias de 2g o más, que cuando las dosis se limitan a 1g diario. Estos efectos son más co

unes después de la administración por vía oral del fármaco. Puede haber ardor, molestias epigástricas y abdominales, náuseas, vómitos, flatulencia y diarrea. Cuanto mayor es la dosis, mayor es la posibilidad de una reacción irritante. Si causan inconvenientes, las molestias gástricas pueden controlarse por la administración de las tetraciclinas junto con alimentos (no leche ni productos lácteos) o antiácidos que no contengan aluminio, magnesio ni calcio. Las náuseas y los vómitos ceden a menudo si continúa la medicación y con frecuencia pueden controlarse con una reducción temporal de la dosis o con el uso de cantidades más pequeñas a intervalos frecuentes, aunque se han producido úlceras esofágicas (Schneider, 1977)⁽¹¹²⁾. Los efectos irritantes de las tetraciclinas tomadas por vía oral también pueden provocar diarrea. En estos casos las heces, frecuentes y líquidas, no contienen sangre ni leucocitos. Es indispensable distinguir prontamente este tipo de diarrea del que resulta de la sobreinfección del intestino por Staphylococcus o de colitis pseudomembranosa causada por crecimiento excesivo de Clostridium difficile, debido a que estos dos son complicaciones de potencial riesgo mortal.

Fototoxicidad: Las tetraciclinas puede producir reacciones leves o severas en la piel de individuos tratados expuestos a la luz solar; manifestada por una exagerada reacción a las quemaduras del sol. Los pacientes que están propensos a la reacción directa a la luz solar o ultravioleta deben ser advertidos de que esta reacción puede ocurrir con las tetraciclinas. El tratamiento deberá ser discontinuado a la pri

mera manifestación de eritema cutáneo. Este fenómeno es una reacción de tipo fototóxico, parece desarrollarse con mayor frecuencia con una dosis diaria de 600 mg, pero también puede ocurrir con menores cantidades. Fiebre alta con o sin eosinofilia puede apreciarse en algunos pacientes. La fototoxicidad se hace evidente sólo cuando la piel se expone a una luz solar que contiene rayos de 270 a 320 nm, que no pasan por el vidrio común de ventanas y solamente en verano existen en la luz solar de las zonas templadas.

Toxicidad hepática: La toxicidad hepática debida a la tetraciclina fue observada primeramente por Lepper (1951)⁽¹¹³⁾ en pacientes que recibían grandes dosis de tetraciclina por vía oral o intravenosa. El estudio microscópico del hígado reveló vacuolas finas, cambios citoplásmicos y aumento lipídico. Casi todas las reacciones de este tipo se desarrollan en los pacientes que reciben 2 g o más de fármaco por día y vía parenteral, pero el efecto también es posible con grandes cantidades administradas por vía oral. Las embarazadas parecen ser particularmente susceptibles a daños hepáticos severos inducidos por tetraciclinas (Schuetz y col., 1963)⁽¹¹⁴⁾. Primero aparece la ictericia, que puede estar seguida de azoemia, acidosis y shock irreversible. El hígado esta difusamente infiltrado de lípidos. Se observó coagulación intravascular diseminada en una embarazada que sufrió insuficiencia hepato-renal después de recibir únicamente dos dosis de 100 mg de tetraciclina por vía intramuscular (Pride y col., 1973)⁽¹¹⁵⁾.

Toxicidad renal: El uso de tetraciclinas para el tratamiento de infecciones renales puede ser particularmente objetable porque disminuye la función renal, reduce la excreción del fármaco y se acumula en concentraciones tóxicas.

La insuficiencia renal establecida puede agravarse con las tetraciclinas y por ello estos fármacos no se recomiendan. Los efectos indeseables tienen relación directa con la dosis de tetraciclina usada, la dosis, la duración del tratamiento y el grado de enfermedad renal. Entre los efectos tóxicos figuran azoemia, hiperfosfatemia, acidosis, pérdida de peso, náuseas y vómitos. Kuzucu (1970) (116) ha señalado la posibilidad del desarrollo de insuficiencia renal severa en los pacientes que reciben tetraciclina después de ser anestesiados con metoxiflurano; en los pacientes que fallecieron, los riñones contenían numerosos cristales de oxalato de calcio.

Efectos sobre tejidos calcificados; los niños que reciben tratamiento a corto o largo plazo con tetraciclina pueden presentar coloración marrón de los dientes.

Cuanto mayor es la dosis con respecto al peso corporal, más severa es la deformidad, más oscuro el color y más intensa la hipoplasia del esmalte. El riesgo de este efecto desfavorable es máximo cuando la tetraciclina se administra a neonatos y bebés antes de la primera dentición, pero puede haber pigmentación de la dentición permanente si el fármaco se toma entre los 2 meses y 5 años de edad, cuando

los dientes se están calcificando. Una de las primeras características de este defecto es una fluorescencia amarilla del pigmento dentario, que tiene un espectro ultravioleta de absorción máxima de 270 nm. El depósito de este fármaco en los dientes y huesos se debe probablemente a su propiedad quelante y a la formación de un complejo tetraciclina-ortofosfato de calcio. Al pasar al tiempo de fluorescencia amarilla da lugar a un color pardo no fluorescente que puede representar un producto de oxidación del antibiótico, cuya formación es acelerada por la luz y esta coloración es permanente.

El tratamiento de pacientes embarazadas con tetraciclina puede producir coloración de los dientes en su proge-
nie. El período de mayor peligro para los dientes es desde la mitad del embarazo hasta 4 a 6 meses del período posnatal.

Las tetraciclinas se depositan en el esqueleto del feto humano y de los niños pequeños. Un retraso del 40% en el crecimiento óseo, se ha demostrado en niños prematuros tratados con estos agentes (Cahlan y col., 1963) ⁽¹¹⁷⁾.

Efectos diversos: Las tetraciclinas ejercen un efecto catabólico, debido quizás a una inhibición generalizada de la síntesis de proteínas en las células de los mamíferos. La severidad de este efecto es proporcional a la concentración del fármaco y tiene correlación con la dosis, duración del tratamiento e insuficiencia renal (Shils, 1963) ⁽¹¹⁸⁾. La administración de 2.5 a 3 g de clortetraciclina a adultos

desnutridos provoca pérdida de peso, aumento de la excreción urinaria, pero no fecal, balance negativo de nitrógeno y elevación de las concentraciones séricas de nitrógeno no protéico (Gabuzda y col., 1958) (119).

La administración por vía intravenosa de las tetraciclinas está seguida a menudo de tromboflebitis, especialmente cuando la misma vena se usa repetidamente para infusiones. Los efectos sumamente irritantes de estos agentes se hacen más pronunciados por el gran dolor que producen cuando se inyectan por vía intramuscular sin anestesia local.

El tratamiento a largo plazo con tetraciclina puede producir cambios en la sangre periférica. Se han observado leucocitosis, linfocitos atípicos, granulación tóxica de granulocitos y púrpura trombopénica.

Las tetraciclinas pueden causar aumento de presión intracraneal y abultamiento tenso de las fontanelas en niños pequeños, aún a dosis terapéuticas normales. Excepto por la presión elevada, el líquido cefalorraquídeo es normal. La suspensión del tratamiento produce el rápido retorno de la presión a la normalidad. Esta complicación puede producirse rara vez en personas mayores (Stuart y Litt, 1978) (32).

Reacciones de hipersensibilidad: Diversas reacciones de la piel, incluso comezón - , urticaria, erupciones fijas por fármaco y dermatitis exfoliativa generalizada pueden seguir al curso de cualquier tetraciclina. Entre las

respuestas alérgicas más severas figuran angioedema y anafilaxia. Otros efectos atribuidos a hipersensibilidad son ardor en los ojos, queilosis, glositis atrófica o hipertrófica, prurito anal o vulvar y vaginitis; estos efectos persisten a menudo durante semanas o meses después de suspender el tratamiento con tetraciclinas. La causa exacta de estas reacciones es desconocida, pero debe destacar que la sensibilización cruzada entre las diferentes tetraciclinas es sumamente común si no universal (33,34,35).

Efectos biológicos distintos de los tóxicos y alérgicos:

Como todos los agentes antimicrobianos, las tetraciclinas administradas por vía oral o parenteral pueden provocar sobreinfecciones debidas por lo general a cepas de bacterias o levaduras resistentes a estos agentes. Las infecciones vaginales, orales, faríngeas y aún sistémicas por levaduras y hongos, particularmente candida, no son raras; tienden a ocurrir más a menudo en los individuos con trastornos como diabetes, leucemia, lupus eritomatoso sistémico, vasculitis difusa y linfoma, especialmente si también se administran esteroides.

Entre las sobreinfecciones más importantes asociadas con la administración de las tetraciclinas figuran las que afectan el tracto intestinal, que pueden producirse con tratamiento por vía oral o parenteral. La posibilidad de que la diarrea fármaco-inducido se deba a infección activa del intestino merece considerarse seriamente en todos los casos (3,120,121,122).

7.4. Apéndice IV.

"Carta de consentimiento para participar como voluntario" en el estudio de Bioequivalencia de clorhidrato de Tetraciclina.

Nombre:

Dirección:

Teléfono:

Edad:

Estatura:

Sexo:

Peso:

En forma voluntaria y en pleno uso de mis facultades mentales, hago constar que he sido informado sobre los peligros en que puedo incurrir al participar en esta investigación sobre bioequivalencia de productos comerciales de clorhidrato de tetraciclina.

La información recibida y la cual he leído cuidadosamente se anexa a este documento.

Igualmente hago constar que seguiré fielmente todas las instrucciones recibidas con respecto a la toma del medicamento y colección de muestras biológicas.

Firma

Fecha

7.5. Apéndice V.

Características de los voluntarios del estudio cruzado de cuadrado latino de 4 vías: producto innovador y tres productos mexicanos.

Sujeto	Peso	Estatura	Edad	Sexo
1	75	1.66	29	M
2	72	1.84	23	M
3	54	1.62	27	F
4	65	1.86	25	M
5	65	1.78	26	M
6	53	1.60	24	F
7	62	1.64	25	M
8	54	1.62	23	F
9	57	1.65	28	F
10	60	1.65	25	M
11	62	1.72	23	M
12	48	1.54	26	F
Promedio	60.58(7.96)	1.68(0.098)	25.33(1.96)	-

() = desviación estándar.

7.6. Apéndice VI.

Tablas de cálculos generales y resultados del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los diferentes parámetros obtenidos durante el estudio de Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina.

<u>Tablas de Cálculos</u>	<u>Tablas de Resultados</u>
1. Datos de $t_{1/2} K_d$	2. Datos de $t_{1/2} K_d$
3. Datos de $t_{\text{máx}}$	4. Datos de $T_{\text{máx}}$
5. Datos de $C_p \text{ máx}$	6. Datos de $C_p \text{ máx}$
7. Datos de conc. plasm. a 1h	8. Datos de conc plasm. a 1h
9. Datos de conc. plasm. a 3hs	10. Datos de conc. plasm. a 3h
11. Datos de conc. plasm. a 5hs	12. Datos de conc. plasm. a 4hs
13. Datos de conc. plasm. a 5 hs	14. Datos de conc. plasm. a 5hs
15. Datos de ABC_{O}^{24}	16. Datos de ABC_{O}^{24}
17. Datos de ABC_{O}^{∞}	18. Datos de ABC_{O}^{∞}

Tabla 1. Cálculos de análisis de varianza del estudio de 4 vías para datos de t1/2 Kd.

Grupo	Sujetos	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	8.72 (1)	8.73 (2)	9.06 (3)	9.26 (4)	35.77	93.29
	2	8.13 22.82	7.55 22.44	8.17 23.35	8.65 24.68	32.50	
	3	5.97	6.16	6.12	6.77	25.02	
2	4	8.88 (4)	8.33 (1)	8.74 (2)	9.18 (3)	35.13	99.90
	5	8.36 24.69	8.59 24.45	8.45 24.74	9.0 26.02	34.40	
	6	7.45	7.53	7.55	7.84	30.37	
3	7	7.96 (3)	7.89 (4)	8.23 (1)	8.66 (2)	32.74	88.73
	8	7.14 21.82	7.43 21.88	7.05 21.61	7.46 23.42	29.08	
	9	6.72	6.56	6.33	7.30	26.91	
4	10	7.07 (2)	7.42 (3)	7.69 (4)	8.06 (1)	30.24	86.65
	11	7.37 20.79	7.69 21.23	7.76 21.76	7.74 22.87	30.56	
	12	6.35	6.12	6.31	7.07	25.85	

Tratam. totales $t_1 = 90.12$ $t_2 = 90.0$ $t_3 = 91.46$ $t_4 = 96.99$ $N = 368.57$ 368.57

Periodos de Tratam. $W_1 = 22.82 + 24.45 + 21.61 + 22.87 = 91.75$ $n = 3$ $\Sigma Xi^2 = 2873.56$
 $W_2 = 20.79 + 22.44 + 24.74 + 23.42 = 91.39$ $t = 4$ $C.F. = \frac{(368.57)^2}{48} = 2830.08$
 $W_3 = 21.82 + 21.23 + 23.35 + 26.02 = 92.42$ $g = 4$
 $W_4 = 24.69 + 21.88 + 21.76 + 24.68 = 93.01$ $w = 3$
 $gn = 12$

SS total = 2873.56 = 2830.08 = 43.48

SS sujetos = $(35.77)^2 + (32.50)^2 + (25.02)^2 + \text{etc.}$ $11459.86/4 - 2830.08 = 34.89$

SS grupo = $(26.5)^2 + (25.95)^2 + (25.78)^2 + (26.48)^2/12 - 2830.08 = 8.61$

SS suj/grupo = $34.89 - 8.61 = 26.28$

SS semana = $(91.75)^2 + (91.39)^2 + (92.42)^2 + (93.01)^2/12 - 2830.08 = 0.2833$

SS tratam = $(90.12)^2 + (90)^2 + (91.46)^2 + (96.99)^2/12 - 2830.08 = 2.72$

SS residual = $43.48 - (34.89 + 0.2833 + 2.72) = 5.59$

Tabla 2. Análisis de varianza para el estudio cruzado de 4 vías para datos de t1/2

Fuentes de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	43.48	-	-	-
Sujetos	11	34.89	3.17	17.04	p<0.05*
Grupos	3	8.61	2.87	15.43	p<0.05*
Sujetos/grupo	8	26.28	3.285	17.66	p<0.05*
Semanas	2	0.2833	0.141	0.758	p>0.05
Tratamiento	3	2.72	0.906	4.870	p>0.05
Residual	30	5.59	0.186	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

Tabla 3. Cálculos de varianza del estudio de 4 vías para los datos de T máx.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	3.0 (1)	3.0 (2)	3.5 (3)	4.0 (4)	13.5	38.5
	2	2.5 8.5	2.5 9.0	3.5 10.0	3.5 10.0	12.0	
	3	3.0	3.5	3.0	3.5	13.0	
2	4	2.5	2.5	3.5	3.5	12.0	38.0
	5	2.5 8.0	3.0 8.5	3.5 10.5	3.5 11.0	12.5	
	6	3.0 (4)	3.0 (1)	3.5 (2)	4.0 (3)	13.5	
3	7	2.5	3.5	3.5	4.0	13.5	40.0
	8	2.5 7.5	3.5 10.5	3.5 10.5	3.5 11.5	13.0	
	9	2.5 (3)	3.5 (4)	3.5 (1)	4.0 (2)	13.5	
4	10	2.5	3.0	3.0	3.5	12.0	38.5
	11	2.5 7.5	3.5 10.0	4.0 10.0	3.5 11.0	13.5	
	12	2.5 (2)	3.5 (3)	3.0 (4)	4.0 (1)	13.0	

Tratamientos tot. $t_1 = 31.5$ $t_2 = 38.0$ $t_3 = 40$ $t_4 = 44.5$ $N = 155$ sum - 155

Períodos tratam. $W_1 = 38.5$ $W_2 = 38.5$ $W_3 = 38.5$ $W_4 = 39.5$

$n = 3$

$t = 4$

$g = 4$

$$C.F. = \frac{N^2}{nGt} = \frac{(155)^2}{48} = 500.52$$

$W = 3$

$gn = 12$

$$\sum X_i^2 = 512$$

$$SS_{total} = 512 - 500.25 = 11.75$$

$$SS_{sujeto} = (13.5)^2 + (12)^2 + (13)^2 + (12)^2 + (12.5)^2 + (12.5)^2 + (13.5)^2 + (13.5)^2 + (13)^2 + (13.5)^2 + (12)^2 + (13.5)^2 + (13)^2 = 2066.5 - 500.52 = 1.105$$

$$SS_{grupo} = (38.5)^2 + (38)^2 + (40.0)^2 + (38.5)^2 = \frac{6008.5}{12} - 500.52 = 0.188$$

$$SS_{suj/grupo} = 1.105 - 0.188 = 0.917$$

$$SS_{sem} = (38.5)^2 + (38.5)^2 + (38.5)^2 + (39.5)^2 = \frac{6007}{12} - 500.52 = 0.063$$

$$SS_{tratam.} = (31.5)^2 + (38)^2 + (40)^2 + (44.5)^2 / 12 = 501.38 - 500.52 = 0.86$$

$$SS_{residual} = (1.105 + 0.063 + 0.86) = 9.722$$

Tabla 4. Análisis de varianza para el estudio cruzado de 4 vías para datos de t máx

ente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	11.75	-	-	-
Sujetos	11	1.105	0.100	0.309	p>0.05
Grupos	3	0.188	0.063	0.194	p>0.05
Sujetos/grupo	8	0.917	0.115	0.355	p>0.05
Semanas	2	0.063	0.032	0.099	p>0.05
Tratamiento	3	0.860	0.287	0.886	p>0.05
Residual	30	9.72	0.324	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = promedio de cuadrados o varianza

F = razón F calculada

Tabla 5. Cálculos del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de Cp max.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	2.67 (1)	2.00 (2)	2.04 (3)	1.44 (4)	8.15	25.6
	2	2.65 8.25	2.01 6.44	2.18 6.42	1.59 4.49	9.13	
	3	2.93	2.43	2.18	1.59	9.13	
2	4	2.73	1.97	2.01	1.53	8.24	25.95
	5	2.79 (4)	1.95 (1)	2.15 (2)	1.74 (3)	8.63	
	6	3.20 8.72	2.08 6.0	2.19 6.35	1.61 4.88	9.08	
3	7	3.05	1.87	2.08	1.39	8.39	25.78
	8	2.92 (4)	2.07 (4)	2.15 (1)	1.48 (2)	8.62	
	9	2.88 8.85	2.04 5.98	2.20 6.43	1.65 4.52	8.77	
4	10	2.82	2.08	2.28	1.58	8.76	26.48
	11	2.91 (2)	2.27 (3)	2.23 (4)	1.49 (1)	8.90	
	12	3.03 8.76	2.15 6.5	2.02 6.53	1.62 4.69	8.82	

$$t_1 = 34.58 \quad t_2 = 24.92 \quad t_3 = 25.73 \quad t_4 = 18.58 \quad N = 103.81$$

$$W_1 = 8.25 + 6.0 + 6.43 + 4.92 = 25.37 \quad n = 3$$

$$n = 3$$

$$\sum Xi^2 = 236.07$$

$$W_2 = 8.76 + 6.44 + 6.35 + 4.52 = 26.07 \quad t = 4$$

$$t = 4$$

$$C.F. \frac{(103.8)^2}{48} = 224.51$$

$$W_3 = 8.85 + 6.5 + 6.42 + 4.88 = 26.65 \quad g = 4$$

$$g = 4$$

$$W_4 = 8.72 + 5.98 + 6.53 + 4.49 = 25.72 \quad W = 3$$

$$W = 3$$

$$gn = 12$$

$$SS \text{ total} = \frac{236.07 - 224.51}{4} = 11.56$$

$$SS \text{ sujetos} = \frac{899.17}{4} - 224.51 = 0.283$$

$$SS \text{ grupo} = \frac{(25.6)^2 + (25.95)^2 + (25.78)^2 + (26.48)^2}{12} - 224.51 = 0.0368$$

$$SS \text{ suj/grupo} = 0.283 - 0.037 = 0.246$$

$$SS \text{ semanas} = \frac{(25.37)^2 + (26.07)^2 + (26.65)^2 + (25.72)^2}{12} - 224.51 = 0.075$$

$$SS \text{ tratam} = \frac{(34.58)^2 + (24.92)^2 + (25.73)^2 + (18.58)^2}{12} - 224.51 = 10.82$$

$$SS \text{ residual} = 11.56 - (0.283 + 0.075 + 10.82) = 0.382$$

Tabla 6. Análisis de Varianza para el estudio cruzado de 4 vías para datos de Cp máx.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	11.56	-	-	-
Sujetos	11	0.283	0.026	2.16	p>0.05
Grupos	3	0.037	0.012	1.0	p>0.05
Sujetos/grupo	8	0.246	0.031	2.38	p>0.05
Semanas	2	0.075	0.038	2.92	p>0.05
Tratamientos	3	10.82	3.607	277.46	p<0.05*
Residual	30	0.382	0.013	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

Tabla 7. Cálculos del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 1 hora.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	1.55 (1)	0.89 (2)	0.48 (3)	0.52 (4)	3.44	11.55
	2	1.85 4.81	0.77 2.25	1.37 2.94	0.47 1.55	4.46	
	3	1.41	0.59	1.09	0.56	3.65	
2	4	1.98 (4)	0.85 (1)	0.54 (2)	0.24 (3)	3.61	11.19
	5	2.14 5.53	0.70 2.66	0.26 1.65	0.90 1.35	4.0	
	6	1.41	1.11	0.85	0.21	3.58	
3	7	1.30 (3)	0.99 (4)	0.57 (1)	0.40 (2)	3.26	11.33
	8	1.66 4.29	0.57 2.72	0.71 2.17	1.06 2.15	4.0	
	9	1.33	1.16	0.89	0.69	4.07	
4	10	1.55 (2)	1.10 (3)	1.35 (4)	0.47 (1)	4.47	11.81
	11	1.60 4.97	0.64 2.41	0.90 2.89	0.57 1.54	3.71	
	12	1.82	0.67	0.64	0.50	3.63	

Tratam. totales $t_1 = 19.6$ $t_2 = 10.04$ $t_3 = 9.65$ $t_4 = 6.59$ $N = 45.88$

Período Tratams. $W_1 = 11.02$ $W_2 = 11.02$ $W_3 = 10.99$ $W_4 = 12.69$

$n = 3$

$\Sigma X i^2 = 54.99$

$t = 4$

$g = 4$

$C.F. = \frac{(45.88)^2}{48} = 43.85$

$W = 3$

$gn = 12$

SS total = $54.99 - 43.85 = 11.14$

3 sujetos = $(3.44)^2 + (4.46)^2 + (3.65)^2 \dots \text{etc.} | 177/4 - 43.85 | = 0.403$

SS grupo = $| (11.55)^2 + (11.19)^2 + (11.33)^2 + (11.81)^2 / 12 | - 43.85 = 0.022$

SS suj./grupo = $0.403 - 0.022 = 0.381$

SS semanas = $| (11.18)^2 + (11.02)^2 + (10.99)^2 + (12.69)^2 / 12 | - 43.85 = 0.171$

SS tratamientos = $| (19.6)^2 + (10.04)^2 + (9.65)^2 + (6.59)^2 / 12 | - 43.85 = 7.94$

SS residual = $11.14 - (0.403 + 0.171 + 7.94) = 2.63$

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de 4 vías más para los datos de concentración plasmática a 1 hora.

fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de significancia
Total	47	11.14	-	-	-
Sujetos	11	0.403	0.037	0.420	p>0.05
Grupos	3	0.022	0.007	0.080	p>0.05
Sujetos/grupo.	8	0.381	0.048	0.545	p>0.05
Semanas	2	0.171	0.086	0.977	p>0.05
Tratamiento	3	7.94	2.646	30.07	p<0.05*
Residual	30	2.63	0.088	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferentes significativas

Tabla 9. Cálculos del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de concentración plasmática a las 3 horas.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	2.67 (1)	2.00 (2)	1.89 (3)	1.28 (4)	7.84	24.51
	2	2.58 8.18	1.93 5.92	2.10 6.17	1.40 4.24	8.01	
	3	2.93	1.99	2.18	1.56	8.66	
2	4	2.66 (4)	1.90 (1)	1.92 (2)	1.20 (3)	7.68	24.72
	5	2.73 8.59	1.95 5.93	2.0 6.03	1.70 4.17	8.38	
	6	3.20	2.08	2.11	1.27	8.66	
3	7	2.89 (3)	1.71 (4)	2.01 (1)	1.27 (2)	7.88	24.42
	8	2.75 8.38	1.98 5.72	2.05 6.05	1.39 4.27	8.17	
	9	2.74	2.03	1.99	1.61	8.37	
4	10	2.57 (2)	2.08 (3)	2.28 (4)	1.41 (1)	8.34	25.01
	11	2.77 8.08	2.10 6.18	2.08 6.38	1.42 4.37	8.37	
	12	2.74	2.00	2.02	1.54	8.30	

Tratam. totales $t_1 = 33.23$ $t_2 = 23.75$ $t_3 = 24.63$ $t_4 = 17.05$ $N = 98.66$

Periodos Tratams. $W_1 = 24.53$ $W_2 = 24.3$ $W_3 = 24.9$ $W_4 = 24.93$

$$n = 3 \quad \Sigma X i^2 = 214.64$$

$$t = 4$$

$$g = 4 \quad C.F. \frac{(98.66)^2}{48} = 202.78$$

$$W = 3$$

$$48$$

$$gn = 12$$

$$-SS_{total} = 214.64 - 202.78 - 11.86$$

$$SS_{sujetos} = (7.84)^2 + (8.01)^2 + (8.66)^2 \dots etc. \quad 812.23/4 - 202.78 - 0.2766$$

$$SS_{grupo} = | (24.51)^2 + (24.72)^2 + (24.42)^2 + (25.01)^2 / 12 | - 202.78 = 0.025$$

$$SS_{suj./grupo} = 0.2766 - 0.025 = 0.252$$

$$SS_{semanas} = | (24.53)^2 + (24.3)^2 + (24.9)^2 + (24.93)^2 / 12 | - 202.78 - 0.030$$

$$SS_{tratamientos} = | (33.23)^2 + (23.75)^2 + (24.63)^2 + (17.05)^2 / 12 | - 202.78 - 11.023$$

$$SS_{residual} = 11.86 - (0.2766 + 0.030 + 11.023) = 0.5304$$

Tabla 10. Resultados del análisis de varianza de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 3 horas.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de significancia
Total	47	11.86	-	-	-
Sujetos	11	0.277	0.025	1.42	p>0.05
Grupos	3	0.025	0.008	0.454	p>0.05
Sujetos/grupo	8	0.252	0.032	1.82	p>0.05
Semanas	2	0.030	0.015	0.852	p>0.05
Tratamiento	3	11.023	3.67	208.52	p<0.05*
Residual	30	0.530	0.0176	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativa

Tabla 11. Cálculos del análisis de varianha del estudio de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 4 horas.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	2.35 (1)	1.78 (2)	1.93 (3)	1.44 (4)	7.5	23.0
	2	2.33 7.08	1.79 5.62	2.14 5.94	1.38 4.36	7.64	
	3	2.40	2.05	1.87	1.54	7.86	
2	4	2.48 (4)	1.69 (1)	1.96 (2)	1.50 (3)	7.63	23.93
	5	2.45 7.66	1.87 5.46	1.99 6.02	1.68 4.79	7.99	
	6	2.73	1.90	2.07	1.61	8.31	
3	7	2.53 (3)	1.83 (4)	2.03 (1)	1.39 (2)	7.78	24.02
	8	2.56 7.57	1.97 5.79	2.07 6.28	1.34 4.38	7.94	
	9	2.48	1.99	2.18	1.65	8.3	
4	10	2.39 (2)	1.86 (3)	2.06 (4)	1.51 (1)	7.82	24.03
	11	2.40 7.28	2.17 6.1	2.23 6.09	1.43 4.56	8.23	
	12	2.49	2.07	1.80	1.62	7.98	

Tratam. totales $t_1 = 29.59$ $t_2 = 22.97$ $t_3 = 24.33$ $t_4 = 18.09$ $N = 94.98$
 Período Tratams. $W_1 = 23.38$ $W_2 = 23.3$ $W_3 = 24.4$ $W_4 = 23.9$

$n = 3$ $\Sigma X i^2 = 194.19$
 $t = 4$
 $g = 4$ $C.F. = \frac{(94.98)^2}{48} = 187.94$
 $W = 3$
 $gn = 12$

$SS_{total} = 194.19 - 187.94 = 6.25$
 $SS_{sujetos} = (7.5)^2 + (7.64)^2 + (7.86)^2 \dots etc. | 7.52.38/4 - 187.94 | = 0.157$
 $SS_{grupo} = | (23.0)^2 + (23.93)^2 + (24.02)^2 + (24.03)^2/12 | - 187.94 = 0.064$
 $SS_{suj./grupo} = 0.157 - 0.064 = 0.093$
 $SS_{semanas} = | (23.38)^2 + (23.3)^2 + (24.4)^2 + (23.9)^2/12 | - 187.94 = 0.067$
 $SS_{tratamientos} = | (29.59)^2 + (22.97)^2 + (23.33)^2 + (18.09)^2/12 | - 187.94 = 5.59$
 $SS_{residual} = 6.25 - (0.157 + 0.067 + 5.59) = 0.436$

Tabla 12. Resultados del análisis de varianza de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 4 horas.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de significancia
Total	47	6.25	-	-	-
Sujetos	11	0.157	0.014	0.933	p>0.05
Grupos	3	0.064	0.012	1.40	p>0.05
Sujetos/grupo	8	0.093	0.012	0.80	p>0.05
Semanas	2	0.067	0.034	2.26	p>0.05
Tratamientos	3	5.59	1.863	124.20	p<0.05*
Residual	30	0.436	0.015	-	-

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

Tabla 13. Cálculos del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 5 horas.

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	2.28 (1)	1.70 (2)	1.78 (3)	1.38 (4)	7.14	21.09
	2	2.06 6.49	1.67 5.14	1.96 5.34	1.36 4.12	7.05	
	3	2.15	1.77	1.60	1.38	6.90	
2	4	2.29 (4)	1.64 (1)	1.88 (2)	1.46 (3)	7.27	22.34
	5	2.19 7.03	1.76 5.05	1.93 5.72	1.61 4.54	7.49	
	6	2.55	1.65	1.91	1.47	7.58	
3	7	2.39 (3)	1.71 (4)	1.84 (1)	1.20 (2)	7.14	21.76
	8	2.27 6.89	1.85 5.38	1.88 5.61	1.14 3.88	7.14	
	9	2.23	1.82	1.89	1.54	7.48	
4	10	2.22 (2)	1.54 (3)	1.91 (4)	1.42 (1)	7.09	21.93
	11	2.30 6.9	1.96 5.37	2.00 5.47	1.33 4.19	7.59	
	12	2.38	1.87	1.56	1.44	7.25	

Tratam. totales $t_1 = 27.31$ $t_2 = 20.94$ $t_3 = 22.14$ $t_4 = 16.73$ $N = 87.12$

Periodos Tratams. $W_1 = 21.34$ $W_2 = 21.64$ $W_3 = 22.14$ $W_4 = 22.0$

$$n = 3 \quad \Sigma X i^2 = 163.58$$

$$t = 4$$

$$g = 4 \quad C.F. = \frac{(87.12)^2}{48} = 158.12$$

$$W = 3$$

$$gn = 12$$

$$SS_{total} = 163.58 - 158.12 = 5.46$$

$$SS_{sujetos} = (7.14)^2 + (7.05)^2 + (6.9)^2 \dots etc. \mid 6.33.05/4 - 158.12 \mid = 0.142$$

$$SS_{grupo} = \mid (21.09)^2 + (22.34)^2 + (21.76)^2 + (21.93)^2/12 \mid - 158.12 = 0.071$$

$$SS_{suj./grupo} = 0.142 - 0.071 - 0.071$$

$$SS_{semanas} = \mid (21.34)^2 + (21.64)^2 + (22.14)^2 + (22.0)^2/12 \mid - 158.12 = 0.035$$

$$SS_{tratamientos} = \mid (27.31)^2 + (20.94)^2 + (22.14)^2 + (16.73)^2/12 \mid - 158.12 = 4.75$$

$$SS_{residual} = 5.46 - (0.142 + 0.071 + 4.75) = 0.497$$

Tabla 14. Resultados del análisis de varianza de 4 vías para los datos de concentración plasmática a 5 horas

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de significancia
Total	47	5.46	-	-	-
Sujetos	11	0.142	0.013	0.765	p>0.05
Grupos	3	0.071	0.024	1.412	p>0.05
Sujetos/grupo	8	0.071	0.009	0.529	p>0.05
Semanas	2	0.035	0.018	1.058	p>0.05
Tratamiento	3	4.75	1.58	92.94	p<0.05*
Residual	30	0.497	0.017	-	

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

Tabla 15. Cálculos de análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de ABC₀₋₂₄

Grupo	Sujeto	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	32.98 (1)	24.08 (2)	25.11 (3)	15.77 (4)	97.94	284.57
	2	30.49 91.3	22.87 67.44	26.72 72.53	19.46 53.27	99.54	
	3	27.83	20.52	20.70	18.04	87.09	
2	4	35.44 (4)	24.21 (1)	26.00 (2)	19.92 (3)	105.57	321.17
	5	40.31 110.75	24.73 72.32	26.11 77.0	22.96 61.10	114.11	
	6	35.00	23.38	24.89	18.22	101.49	
3	7	33.70 (3)	22.39 (4)	25.75 (1)	17.03 (2)	98.87	286.53
	8	31.54 95.15	23.34 66.96	24.18 72.08	16.04 52.34	95.10	
	9	29.91	21.23	22.15	17.27	92.56	
4	10	34.22 (2)	21.39 (3)	25.61 (4)	19.67 (1)	100.89	291.79
	11	32.36 99.13	24.27 66.76	25.34 70.89	17.27 55.17	99.24	
	12	32.55	21.10	19.94	18.23	91.82	

Tr. tam. totales $t_1 = 396.33$ $t_2 = 273.51$ $t_3 = 292.50$ $t_4 = 221.88$ $N = 1184.22$
 Período Tratams. $W_1 = 290.87$ $W_2 = 295.94$ $W_3 = 295.54$ $W_4 = 301.87$

$$n = 3 \quad \sum X_i^2 = 30791.069$$

$$t = 4$$

$$g = 4 \quad C.F. = \frac{(1184.22)^2}{48} = 29216.188$$

$$W = 3$$

$$gn = 12$$

$$SS_{\text{total}} = 30791.069 - 29216.188 = 1574.881$$

$$SS_{\text{sujetos}} = (97.94)^2 + (99.54)^2 + (87.09)^2 \dots \text{etc.} \quad 117396.38/4 - 29216.188 = 132.907$$

$$SS_{\text{grupo}} = (284.57)^2 + (321.17)^2 - (286.53)^2 + (291.79)^2/12 - 29216.88 - 64.737$$

$$SS_{\text{suj./grupo}} = 132.907 - 64.737 = 68.17$$

$$SS_{\text{semanas}} = (290.87)^2 + (295.54)^2 - (295.54)^2 + (301.87)/12 - 29216.188 = 5.081$$

$$SS_{\text{tratamientos}} = (396.33)^2 - (273.51)^2 + (292.50)^2 + (221.88)^2/12 - 29216.188 = 1339.826$$

$$SS_{\text{residual}} = 1574.881 - (132.907 + 5081 + 1339.826) = 97.067$$

Tabla 16. Resultado del análisis de varianza de 4 vías para los datos de ABC₀₊₂₄

fuente de variación	g.l.	SS	MS	Fcal	Nivel de Significancia
Total	47	1574.88	-	-	-
Sujetos	11	132.91	12.08	3.73	p<0.05*
Grupos	3	64.74	21.58	6.66	p<0.05*
Sujetos/grupo	8	68.17	8.52	2.63	p>0.05
Semanas	2	5.08	2.54	0.78	p>0.05
Tratamientos	3	1339.83	446.61	137.84	p<0.05*
Residual	30	97.07	3.24	-	

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

Tabla 17. Cálculos del análisis de varianza del estudio de 4 vías para los datos de ABC_{0→∞}

Grupo	Sujetos	A	B	C	D	Sujetos total	Grupos total
1	1	39.31	28.76	30.64	30.04	118.74	328.86
	2	35.31 (1)	25.95 (2)	31.48 (3)	22.34 (4)	115.08	
	3	29.99 104.16	22.57 77.28	22.47 84.49	20.00 62.38	95.03	
2	4	41.98 (4)	28.07 (1)	31.06 (2)	24.32 (3)	125.43	375.72
	5	46.04 127.75	29.23 84.05	30.87 90.56	27.64 73.36	133.78	
	6	39.73	26.75	28.63	21.40	116.51	
3	7	38.87 (3)	26.07 (4)	30.15 (1)	20.42 (2)	115.51	325.56
	8	35.15 107.04	26.67 76.26	27.14 81.64	18.30 60.62	107.26	
	9	33.02	23.52	24.35	21.90	102.79	
4	10	37.49 (2)	24.51 (3)	29.50 (4)	22.85 (1)	114.35	329.23
	11	36.40 109.01	28.38 75.94	29.61 80.88	19.97 63.4	114.36	
	12	35.12	23.05	21.77	20.58	100.52	

Tratam. totales $t_1 = 448.41$ $t_2 = 313.53$ $t_3 = 337.67$ $t_4 = 259.76$ $N = 1359.37$ 1359.37
 Periodos de tratam. $W_1 = 333.70$ $W_2 = 337.47$ $W_3 = 340.93$ $W_4 = 347.27$

$$\Sigma X_i^2 = 40523.48$$

$$C.F. = \frac{(1359.37)^2}{48} = 38497.64$$

$$SS \text{ total} = 40523.48 - 38497.64 = 2025.84$$

$$SS \text{ sujetos} = (118.75)^2 + (115.08)^2 + (95.03)^2 + \dots \text{ etc. } 155251.48/4 - 38497.64 = 315.23$$

$$SS \text{ grupo} = (328.86)^2 + (375.72)^2 + (325.56)^2 + (329.23)^2/12 - 38497.64 = 143.70$$

$$SS \text{ suj/grupo} = 315.23 - 143.70 = 171.53$$

$$SS \text{ semanas} = (333.70)^2 + (337.47)^2 + (340.93)^2 + (347.27)^2/12 - 38497.64 = 8.310$$

$$SS \text{ tratam.} = (448.41)^2 + (313.53)^2 + (337.67)^2 + (259.76)^2/12 - 38497.64 = 1574.77$$

$$SS \text{ residual} = 2025.84 - (315.23 + 8.310 + 1574.77) = 127.53$$

Tabla 18. Análisis de varianza para el estudio cruzado de 4 vías para utilizando $ABC_{0 \rightarrow \infty}$

Puente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Total	47	2025.84	-	-	-
Sujetos	11	315.23	28.66	6.74	$P < 0.05^*$
Grupos	3	143.70	47.90	11.27	$p < 0.05^*$
Sujetos/grupo	8	171.53	21.44	5.04	$p < 0.05^*$
Semanas	2	8.310	4.16	1.02	$p > 0.05$
Tratamientos	3	1574.77	524.92	123.51	$p < 0.05$
Residual	30	127.53	4.25	-	

g.l. = grados de libertad

SS = suma de cuadrados corregidos

MS = cuadrado medio o varianza

F = razón F calculada

* = sí hay diferencias significativas

CAPITULO VII

CAPITULO VIII

Bibliografía:

1. "The Index Merck", Ninth Edition, Published by Merck & Co., INC, Rahway, New Jersey, (1976).
2. "British Pharmacopeia", London Her Majesty's Stationery Office, (1973).
3. Goodman, L. Y. y Gilman, A. "Bases Farmacológicas de la terapéutica", 4a. edición, MacMillan Publishing Co., INC, New York, (1970).
4. "The United States Pharmacopeia, XIX", 19 ed. Mack Pub. Co. Easton Pennsylvania, (1975).
5. "The United States Pharmacopeia XX" 20 ed. Mack Pub. Co. Easton Pennsylvania, (1980).
- 5a. C.F.R.
6. Meyers, F.H., Jawetz, E., Goldfien, A, "Review of Medical Pharmacology", 6th. Edition. Louge Medical Publications, 1976).
7. "The United States Dispensatory", Osdl-Farror, 27th Edition J.B. Lippincolt Co., Philadelphia p . 1151-1158, (1973).
8. Mc Cormick, J.R., J. Am. Chem. Soc., 79, p. 2849, (1975).
9. "Evaluación de la calidad de los preparados farmacéuticos en suspensiones de tetraciclina en el mercado na-

cional", Tesis presentada por Marcela Ramírez Campos, I.P.N., Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, (1978).

10. Goth, A.A. "Farmacología Médica. Principios y conceptos", 6a. Ed., Edit. Interamericana p. 1151-1158 (1973).
11. Wilson, CH. O., Gisvold, O, Doerge, R.F., "Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry", 6th Edition, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, (1976).
12. Stephens, C.R., et. al., J. Am. Chem. Soc., 78: 4155, (1956).
13. Mitscher, L.A., "The Chemistry of the Tetracycline Antibiotics", Marcel Dekker, Inc., New York and Basel (1978).
14. Mc Cormick, J.R., Syolander, N.O., J. Am. Chem. Soc.: 79, p. 4561, (1957).
15. Gutsche, D.C., and Pasto, D.J., "Fundamentals of Organic Chemistry, Prentice Hall p. 542, New Jersey, (1975).
16. Schlecht, K.D., Frank, C.W., J. Pharm. Sci: 64, p. 352 (1975).
17. Walton, V.C. et al., J. Pharm. Sci: 59 p. 1160, (1970).
18. Parker, E.A., Am. J. Hosp. Pharm.: 24, p. 434, (1967).
19. Gallelli, J.F., et al., Am. J. Hosp. Pharm.: 26 p. 630, (1969).
20. Nedich, R.L., Bull parent Drug Ass: 27, p. 228, (1973).

21. Hughes, D.W., and Wilson, W.L., Can. J. Pharm. Sci.: 8 p. 67, (1973).
22. Lenine, J., Garlock, Jr. E. A., and Fishbach, H.J., J. Am. Pharm. Ass., Sci. Ed.; 38, p. 473, (1949).
23. Monastero, F., Means, J.A., Greenfell, T.C., and Hedger, H.F., J. Am. Pharm. Ass. Sci., Ed. 40, 241, (1951).
24. Chiccarelli, F.S., Woolford Jr., M.H., and Anery, M.E. J., J. Am. Pharm. Ass. Sci., Ed., 48, 263, (1959).
25. Chiccarelli, F.S. J. Pharm. Sci., 57 p. 1046, (1968).
26. Chatten, L.G., and Krause, S.I., J. Pharm. Sci., 60, 107, (1971).
27. Mahgoub A.E.S., Khairy, E.M., and Kasem A., J. Pharm. Sci., 63 p. 1451, (1974).
28. Walton, V.C., Howlett, M.R., and Selzer, G.V., J. Pharm. Sci., 59, 1160, (1970).
29. McCormick, J.R., Fox, S.M., Smith, L.L., Bitter, B.A., J. Am. Chem. Soc.: 79 p. 2849, (1957).
30. Pernarowski, M., Searl, R.O., and Naylor, J., J. Pharm. Sci., 58, 470, (1969).
31. Kohn K.W., Anal. Chem., 33, 862, (1961).
32. Wilson, D.M., Lever M., Bronsuan E.A., and Stillwell A., Clin. Chem. Acta: 36, 260, (1972).
33. Ibsen, K.H., Saunders, R.L., and Urist M.R., Anal. Biochem.: 5, 505, (1963).

34. Kelly R.G., Peets L.M., and Hoyt, K.D., Anal. Biochem.: 28, 222, (1969).

35. Caplis, M.E., Raghels, and Scholl, E.D., J. Pharm. Sci.: 54, 694, (1965).

36. Silvestri, S., Pharm. Acta. Helv., 47, 209, (1972).

37. Yakoyama F., Chatten, L.G., J. Am. Pharm. Ass. Sci., Ed., 47, 548, (1958).

38. Wagman, G.H., and Weinstein, M.J., Tetracyclines in "Chromatography of Antibiotics", Esvier, New York, (1973).

39. Keely, R.G., and Buyske, D.A., Antib. and Chemother., 10, 604, (1960).

40. Ascione, P.P. Zagar J.B., and Chrekian G.P., J. Pharm. Sci.: 56, 1393, (1967).

41. Fike, W.W., and Broke, N.W., J. Pharm. Sci.: 61, 615, (1972).

42. Kelly, R.G., J. Pharm. Sci., 53, 1551, (1964).

43. Boiley F., J. Pharm. Pharmacol., 121, 405, (1969).

44. Ascione, P.P., Zagar, J.B., Chrekian, G.P., J. Pharm. Sci.: 56, 1396, (1967).

45. Ascione, P.P., Zagar, J.B., and Chrekian, G.P., J. Chromatog.: 65, 377, (1972).

46. Lesson, L.J., and Weidenheimer, J.F., J. Pharm. Sci.: 58, 355, (1969).

47. Griffiths, B.W., J. Pharm. Sci.: 55, 353, (1966).
48. Griffiths, B.W., J. Chromatog.: 38, 41, (1968).
49. Butterfield, A.G., Hughes, D.W., Pound N.J., and Wilson W.L., Antimicrob. Agts. Chromatog., 4, 11, (1973).
50. Tsuji, K., Robertson, J.H., and Beyer, W.F., Anal Chem. 46, 539, (1974)
51. Butterfield A.G., Hughes D.W., Wilson W.L., and Pound W.L., J. Pharm. Sci., 64, 316, (1975).
52. White E.R., Carroll M.A., Zarembo, and Bender A.D., J. Antibiot., 28, 205, (1975).
53. Barzo M., and Sheife R.T., J. Maine Med Assoc., 68, 194, (1977).
54. Pindell M.H., J. Pharm. Pharmacol, 125, 287, (1959).
55. Neuvonen P.J., Drugs 11 (1): 45, (1976).
56. Barr W.H., J. Pharmacok & Biopharm. 6, 99, (1978).
57. Andersson K., Europ. J. Clin. Pharmacol.: 10, 59, (1976).
58. Barr W.H., Clin. Pharmacol. Ther., 13, 97, (1972).
59. Dolusio J. T., Clin. Pharmacol. Ther. 10, 690, (1969).
60. Dearborn E.H., Litchfield J.T. Jr., Eisner, H.J. Corbett J.J., and Dunnett C.W., Antibiot. Med., 4, 627, (1957).
61. Green R.G., J. Pharm. Pharmacol. 28 (6); 514, (1976).
62. Neuvonen P.J., Gothoni G., Hackman R., and Bjorksten

- K., Br. Med. J., 4, 532, (1970).
63. Barr W.H., Adir J., and Gorneston L., Clin. Pharmacol. Ther. 12, 779, (1971).
64. Leibowitz B.J., Hakes J.L., Cohn M.M., and Levy E.J., Curr. Ther. Res.: 15, 820, (1972).
65. Sweeney, W.W., Hardy, S.M. Dornbush, A. Cand Ruegsegger, J. M., Antibiot. Med.: 4, 642, (1957).
66. Welch, H., Lewis, C.N., Staffa, A.W., and Wright, W.W., Antibiot. Med.: 4, 215, (1957).
67. Spitzi C., Antibiotics Annual 996: 1957, (1958).
68. Chulski, T.; Nature 198: 450, (1963).
69. Acocella, G., Mattinssi, R., Nieolis, F.B., Pallanza, R., and Tenconi, L.T., J. Br. Soc. Gastroenterol 9, 536, (1968).
70. Parker R.H., and Schmid F., Arthritis Rheum. 14, 96, (1971).
71. Lundberg C., Malmburg A., and Ivemark B.I., Scand. J. Infect Dis. 6, 187, (1974).
72. Hoeprich, P.D., and Warshauer, D.M., Antimicrob agents Chemother.: 5, 330, (1974).
73. Kakemi, K., Sezaki, H., Ogata, H., and Nadai, T., Chem. Pharm. Bull (16, 11) 2200, (1968).
74. Sukaloski, N., J. Am. Pharm. Ass. N.S. 15 709, (1975).

75. Meyer, MC., J. Pharmacok and Biopharm. 2, 287, (1974).
76. Steigbigel, N.H., Am. J. Med. Sci: 255, 296, (1968).
77. Jaffe, D., J. Pharmacok and Biopharm.: 1, 267, (1973).
78. "Farmacocinética y Biodisponibilidad de clorhidrato de tetraciclina", tesis presentada por Ma. Guadalupe Bustamante, Facultad de Química, UNAM., (1978).
79. A.M.A. "Ama Drug Evaluations", (Fourth Edition), American Medical Association, John Wiley & Sons, Inc. New York, (1976).
80. Dolusio, J.T., and Dittert, L.W., Clinical Pharmacology and Therapeutics: 10, 690, (1978).
81. Weinstein, L. "The Pharmacological Basis of Therapeutics", edited by Goodman, L.S., and Gilman A., pp. 1150-1176 4th., ed., MacMillan, London., (1980).
82. Mc Donald, H., Heely, R.G. Allen, E.S., Noble, J.F., and Kenegis, L.A., Clinical Pharmacology and Therapeutics: 14, 852, , (1973).
83. Brogden, R.N., Speight, T.M., and Avery, G.S., Drugs: 9, 251, (1975).
84. Kunin C.M., Clin. Pharm. Ther: 16, 251, (1974).
85. Lew, M.A., Beckelt, K.M., and Lenin, M.J., J. Infect. Dis. 36, 263, (1977).
86. Drug Information Bulletin Jan/June 1969, "Symposium on

Formulation Factors affecting therapeutic Performance of Drug Products", Drug Information Association (1969).

87. Chodo, D.J., Di Santo, A.R., "Basics of Bioavailability" Published by the Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, (1974).
88. Report of "The Ad Hoc Committee on Drug Product Selection of the Academy of General Practice of Pharmacy and the Academy of Pharmaceutical Sciences", J. Am. Pharm. Assoc. N 513, (1973).
89. Schneiler, G.H., J. Am. Pharm. Assoc.: 9, 455, (1969).
90. Mac Donald, H., Pisano, F., Burger, J., Dornbush, A., Pelack E., Clin. Med., 76, 30, (1969).
91. Barr, W., Gerbracht, L.M. Letcher, K., Plant, M. Strahi, N., Clin. Pharmacol. Ther., 13, 97, (1972).
92. Lovering, E.G., Can. J. Pharm. Sci., 10: 36, (1975).
93. Meyer, M.C., Dann, R.E. Whyatt, P.L., Slywka, G.W.A., Pharmacokinetic and Biopharm. 2, 287, (1974).
94. De Sante, K.A., Di Santo, A.R., Chodos, D.J., Stall, R.G., J. Am. Med. Ass.: 232, 1349, (1975).
95. Woodward, R.B., Angew Chem., 68, 13, (1956).
96. Kirby, W.M.M., Roberts, C.E., and Bardick, R.E., "Antimicrobial agents and Chemotherapy" American Society for Microbiology p. 286, (1961).
97. Kaplan, S., Antibiot. Med. and Clin. Ther. 4 (2): 99, (1957).

98. Bunn, D.A., Antibiot Med. and Clin. Ther.: 5 (6): 379, (1958).
99. Carlozzi, W., Proc Soc. Exp. Biol. and Med., 88: 251 (1951).
100. Swarbrick J., "Current concepts in the Pharmaceutical Sciences: "Biopharmaceutics", Lea & Febiger Philadelphia, (1970).
101. Neuvonen P.J., Drugs 11 (1): 45, (1976).
102. Gibaldi, M., and Perrier D., "Pharmacokinetics Drug and the Pharmaceutical Sciences", Marcel Dekker INC. U.S.A., (1975).
103. Wagner, J.G., "Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Inc. Illinois, E.U.A., (1975).
104. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salubridad y Asistencia, Cuarta Edición, México, (1974).
105. Shah U.P., et al. The APHA Academy of Pharmaceutical Sciences 22 ND National Meeting, May 18, 1977, New York, New York., (1977)
106. Nelson, E., J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 49, 54-56, (1960).
107. Mac Donald, H., Pisano, E., et al. Drug Information Bull 3: 76, (1969).
108. MDE/13 "Modern Drug Encyclopedia and therapeutic Index Arthur, J. Lewis, M.D. L. Editor, (1976).
109. Kurylowicz, W., Antibiotics: a critical Review, Warsaw Polish Medical Publishers, (1976).

110. Pratt, W.B., *Chemotherapy of Infection*, New York, Oxford University Press, (1977).
111. Seigel, D., *Tetracyclines: State J. Med.* 78, 950-956, 1115-1120, 1978.
112. Schneider, R., *Am. J. Dig. Dis.* 22 805, (1977).
113. Leeper, M.H., *Arch Intern. Med.*, 88, 271, (1951).
114. Schultz, J.C., Adamson, J.S., Jr., Workman, W.W., and Norman, T.D., *N. Engl. J. Med.*: 269, 999, (1963).
115. Pride, G.L. Cleary, R.E., and Hamburger R.J., *J. Obstet. Gynecol* 115, 585-886, (1973).
116. Kuzucu E.Y., *J.A.M.A.*, 211, 1162, (1970).
117. Cohan, S.Q., Benelander, G., and Fiamsie, T., *Am. J. Dis. Child*; 105, 453, (1963).
118. Shils, M.E., *Ann. Intern. Med.*, 58, 389, (1963).
119. Stuart, B.H., and Litt, T.F., *J. Pediatr.* 92, 679, (1978).
120. Wartindale "The Extra Pharmacopeia", Twenty seventh Edition, the Pharmaceutical Press, London, 197.
121. Garrod, L.P., Lambert, H.P., O'Frady F., "Antibiotic and Chemotherapy", Fourth Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, (1973).
122. Meyers, F.H., Jawety E., and Goldfien A. "Review of Medical Pharmacology" 6th Edition "Lauge Medical Publications, (1977).

123. Guidelines for Biopharmaceutical studies in Man, A.Ph.A. Academy of Pharmaceutical Sciences, Washington, D.C., (1972).
124. Food and Drug Administration. Federal Register, Part 320: Bioavailability and Bioequivalency Requirements, Enero 7, (1977).
125. Deasy, P.B. and Timoney, R.F., "The Quality Control of Medicine", Proceeding of the 35th International Congress of Pharmaceutical Sciences, Dublin, (1975), Elsevier, Scientific Publishing Co. Amsterdam the Netherlands, (1976).
126. Federal Register 42, 1624, (1977).
127. Proyecto Especial de Valoraciones Biofarmacéticas, PEVAB (O.E.A.), Programa Multinacional, (1976-1979).
128. Shargel, L. and Ju, A.B.C., "Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics", Appleton-Century-Crafts, New York, (1980).
129. Cid Carcamo E., "Introducción a la Farmacocinética" No. 25 Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D.C., (1982).