



**Química Farmacéutico  
Biológica**

**Módulo de Biofarmacia**

# Farmacocinética in vitro para el Laboratorio de Biofarmacia

**AUTORAS**

**Dra. Leticia Cruz Antonio**

**QFB. Irma Alejandre Razo**

**Dra. Virginia Fragoso Ruiz**



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Carrera de Química Farmacéutico Biológica**

Módulo de Biofarmacia

**Farmacocinética *in vitro* para el  
Laboratorio de Biofarmacia**

**AUTORAS**

Dra. Leticia Cruz Antonio  
QFB. Irma Alejandre Razo  
Dra. Virginia Fragoso Ruiz

PAPIME 206214



### Datos para catalogación bibliográfica

Autoras: Leticia Cruz Antonio, Irma Alejandre Razo, Virginia Fragoso Ruiz.

#### **Farmacocinética *in vitro* para el Laboratorio de Biofarmacia.**

UNAM, FES Zaragoza, 2018.

82 págs.

Aprobado por el Comité Editorial de la FES Zaragoza, UNAM, el 31 de mayo de 2018, con número de registro: 0112-06-2018DPFESZ-A5.

Proyecto PAPIME 206214.

Diseño de portada: Carlos Raziel Leños Castillo.

Detalle del mural "Simbiosis universitaria" del Mtro. Alfredo Nieto.

Formación de interiores: Claudia Ahumada Ballesteros.

---

#### DERECHOS RESERVADOS

Queda prohibida la reproducción o transmisión total o parcial del texto o las ilustraciones de la presente obra bajo cualesquiera formas, electrónicas o mecánicas, incluyendo fotocopiado, almacenamiento en algún sistema de recuperación de información, dispositivo de memoria digital o grabado sin el consentimiento previo y por escrito del editor.

#### **Farmacocinética *in vitro* para el Laboratorio de Biofarmacia.**

**D.R. © Universidad Nacional Autónoma de México**

Av. Universidad # 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México, C.U.,  
Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México.

**Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**

Av. Guelatao # 66, Col. Ejército de Oriente,  
Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09230, Ciudad de México, México.

# Índice

<b>Presentación</b> .....	5
<b>Primera Parte</b>	
Introducción al Laboratorio del módulo de Biofarmacia .....	9
<b>Consideraciones Generales</b> .....	10
1. Políticas .....	10
2. Planificación de actividades generales .....	10
3. Criterios de evaluación .....	13
<b>Segunda Parte</b>	
Objetivo del Manual .....	17
Introducción a la Farmacocinética Compartmental .....	17
<b>Tercera Parte</b>	
<b>Protocolo 1. Farmacocinética <i>in vitro</i> por Modelo Abierto de Un Compartimento para Furosemida por administración intravenosa</b>	21
I. Objetivo general .....	21
II. Objetivos particulares .....	21
III. Sustento teórico .....	22
IV. Recursos materiales .....	24
V. Método y descripción de técnicas .....	25
VI. Presentación de resultados .....	29
VII. Evaluación .....	30
VIII. Referencias .....	31
<b>Protocolo 2. Farmacocinética <i>in vitro</i> por Modelo Abierto de Un Compartimento para Fenazopiridina por administración oral</b>	33
I. Objetivo general .....	33
II. Objetivos particulares .....	33
III. Sustento teórico .....	34
IV. Recursos materiales .....	36
V. Método y descripción de técnicas .....	37
VI. Presentación de resultados .....	41
VII. Evaluación .....	43
VIII. Referencias .....	43

<b>Protocolo 3. Farmacocinética <i>in vitro</i> por Modelo Abierto de Dos Compartimentos para Ciprofloxacino por administración intravenosa</b>	<b>45</b>
I. Objetivo general .....	45
II. Objetivos particulares .....	45
III. Sustento teórico .....	46
IV. Recursos materiales .....	49
V. Método y descripción de técnicas .....	50
VI. Presentación de resultados .....	55
VII. Evaluación .....	57
VIII. Referencias .....	57
<b>Protocolo 4. Farmacocinética <i>in vitro</i> por Modelo Abierto de Dos Compartimentos para Ciprofloxacino en administración por infusión intravenosa corta</b>	<b>59</b>
I. Objetivo general .....	59
II. Objetivos particulares .....	59
III. Sustento teórico .....	60
IV. Recursos materiales .....	63
V. Método y descripción de técnicas .....	65
VI. Presentación de resultados .....	69
VII. Evaluación .....	70
VIII. Referencias .....	70
<b>Anexo A Lista de Cotejo .....</b>	<b>71</b>
<b>Anexo B Cuadros .....</b>	<b>79</b>

# Presentación

El tema de Farmacocinética, está incluido en el programa de estudios del módulo de Biofarmacia del noveno semestre en la carrera de Química Farmacéutico Biológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (FES Zaragoza) UNAM. El tema es especializado y algunas veces complejo para los estudiantes del módulo. La forma tradicional de la enseñanza experimental del tema de Farmacocinética en el laboratorio es a través del uso de modelos *in vivo* (ratas de laboratorio), buscando exponer la aparición temporal de un fármaco en el organismo y mostrar los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco.

Con la finalidad de proponer una enseñanza experimental del tema de Farmacocinética para el laboratorio de Biofarmacia en la FES Zaragoza acorde a las leyes de protección animal y aplicando principio de reemplazar, reducir y refinar, se presenta: **Farmacocinética *in vitro* para el Laboratorio de Biofarmacia**. Este material propone el uso de sistemas *in vitro* para el estudio de Farmacocinética con representación compartimental. Presenta al estudiante la planificación de las actividades generales y comunes aplicables de cuatro propuestas factibles a desarrollarse en el laboratorio, que relacionan los objetivos de aprendizaje con los conocimientos, habilidades, formas y valores a desarrollar en el tema de Farmacocinética. Las propuestas en este material van de lo simple a lo complejo, con sugerencia de diversas actividades formativas para el estudiante, enfatizando puntos críticos a considerar en lograr el aprendizaje deseado. Para el diseño de éstas propuestas fueron considerados además de los contenidos básicos teóricos del tema de farmacocinética, la esencia de la enseñanza modular, que prevalece sistema de enseñanza de los componentes prácticos en la carrera de Química Farmacéutico Biológica de FES Zaragoza, el cual propone que el alumno lleve a la práctica los conocimiento teórico-metodológicos adquiridos en los diferentes cursos que integran el plan de estudios, y que la práctica, a su vez, retroalimente la teoría; estableciéndose una relación dialéctica entre ambas en la construcción del conocimiento por parte del sujeto.

Las autoras agradecemos al Programa de Apoyo para la innovación y Mejoramiento de la enseñanza PAPIME PE 206214, de la Dirección General del Personal Académico de la UNAM, el apoyo para la realización de este material.



# Primera Parte



# Introducción al Laboratorio del Módulo de Biofarmacia

El Laboratorio de Biofarmacia del módulo de Biofarmacia es el componente práctico de carácter obligatorio, para los estudiantes de las salidas terminales Farmacia Industrial y Farmacia Clínica. El módulo de Biofarmacia se ubica en el noveno semestre de la carrera de Química Farmacéutico Biológica (QFB).

El módulo de Biofarmacia es un módulo integrativo y requiere de los conocimientos previamente adquiridos para que el estudiante comprenda y valore la metodología farmacéutica y biofarmacéutica para el estudio de la triada: fármaco-forma farmacéutica-organismo.<sup>1</sup>

El laboratorio de Biofarmacia al igual que los laboratorios antecesores pretende facilitar acciones para que los estudiantes lleven a cabo investigaciones y acciones (desarrollo de destrezas cognitivas, habilidades experimentales, razonamiento científico, resolución de problemas) que contribuyan a desarrollar y reflexionar sobre el tema a tratar. Motivo por el cual, además de lo indicado en este manuscrito, el alumno seguirá y aplicará de manera rutinaria todos los lineamientos marcados en Manual del Laboratorio de Biofarmacia<sup>2</sup> (MLB), que regula los procedimientos experimentales y las normas de convivencia y respeto al interior del laboratorio. Así también el alumno empleará los procedimientos normalizados de operación, instructivos y demás documentación que propicie la aplicación de las buenas prácticas de laboratorio, buenas prácticas de fabricación y de seguridad dentro del laboratorio.

**Farmacocinética para el Laboratorio de Biofarmacia**, está conformado por cuatro protocolos, enfocados al establecer una representación básica y sencilla de modelos para la comprensión del tema de farmacocinética compartimental usando condiciones *in vitro*. En cada protocolo se indican acciones generales a seguir, esperando que el alumno aplique, integre y enriquezca los conceptos matemáticos, farmacéuticos, principios fisiológicos, farmacocinéticos y analíticos fundamentales para el estudio de la farmacocinética de medicamentos, apoyados en los principios de métodos básicos llevados a la práctica.

Los protocolos experimentales centran sus contenidos en los principios matemáticos que describen la velocidad de cambio de las concentraciones de un fármaco con respecto al tiempo, su representación en un organismo (simulado por un sistema *in vitro*), la forma farmacéutica involucrada, la identificación de los procesos farmacocinéticos involucrados y la diferenciación de los procesos cinéticos que pueden describir el modelo farmacocinético experimental estudiado.

<sup>1</sup> Plan de Estudios de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica, 2003 (Modificación al Plan de Estudios de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica de 1998). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México.

<sup>2</sup> Manual del Laboratorio de Biofarmacia, SGC-FESZ-QFB-ML21, Carrera de QFB, Área Farmacéutica, FES Zaragoza, UNAM, 2016.

Cabe señalar que en todo momento y de forma responsable se deberán seguir: las normas de seguridad establecidas en cualquier laboratorio universitario, la aplicación de las buenas prácticas de laboratorio y buenas prácticas de fabricación para el manejo de equipos y el desarrollo de las metodologías y/o técnicas propuestas para alcanzar los objetivos planteados.

## Consideraciones generales

### 1. Políticas

Los laboratorios donde se desarrollan las actividades prácticas del Laboratorio de Biofarmacia, se ubican dentro de las instalaciones de la Planta Piloto Farmacéutica (PPF).

Todos los alumnos que cursen el laboratorio de Biofarmacia: deben conocer, seguir y cumplir con todos los procedimientos normalizados de operación, instructivos y demás documentación que lleve a generar acciones que favorezcan las buenas prácticas que lleven a la eficiencia y eficacia de todas las actividades involucradas en el proceso experimental en el laboratorio. Eliminando el desperdicio de tiempo, esfuerzo y materiales conduciendo a sostener la cultura de la calidad y contribuir al desarrollo adecuado de las operaciones en el laboratorio.

También deberán conocer, seguir y cumplir los lineamientos enmarcados en el Manual del Laboratorio de Biofarmacia<sup>2</sup> (MLB) y cumplir con el horario y lugar asignado para las actividades prácticas.

Los procedimientos normalizados de operación, instructivos y demás documentación referida en el Manual de Gestión de Calidad de la Planta Piloto Farmacéutica incluyendo el MLB, se encuentran en resguardo en la oficina del Laboratorio de Control de Calidad de la PPF y a los cuales se puede tener acceso previa autorización del Técnico Académico del área de Control de Calidad.

### 2. Planificación de actividades generales

Acorde con el Calendario Escolar autorizado por la Comisión del Trabajo Académico del Consejo Universitario y el Colegio de Directores de la UNAM,<sup>3</sup> se contará con 16 sesiones cubriendo cuatro horas por sesión práctica según lo referido en el programa de estudios del módulo de Biofarmacia del Plan de Estudios de la Carrera.

Conforme lo indicado en el MLB el alumno inscrito en el laboratorio de Biofarmacia en la:

*Sesión Introductoria.* En esta sesión inicial, el estudiante:

- Discernirá el funcionamiento general del laboratorio de Biofarmacia para ubicar sus compromisos y alcances durante su estancia y desarrollo experimental a través de la comprensión del MLB.

<sup>3</sup> DGAE, UNAM Actividades Escolares, Calendarios escolares <https://www.dgae-siae.unam.mx/actividades/calendarios/17/04/2017>.

- Reconocerá el número de equipo asignado y el nombre del protocolo(s) de investigación a realizar en el laboratorio por cada equipo de trabajo del cual será responsable.
- Comprenderá las disposiciones enunciadas por el profesor sobre el alcance de los objetivos, el diseño y el protocolo asignado, de acuerdo a las sesiones contempladas para la realización del mismo y los recursos disponibles.
- Atenderá a todas las indicaciones vertidas por el profesor, referentes a los puntos esenciales a ser considerados para la presentación escrita del protocolo a desarrollar en el laboratorio y que serán plasmados en la bitácora general de trabajo para dar cumplimiento a lo estipulado en el MLB, así como las sugerencias vertidas en este material: **Farmacocinética para el Laboratorio de Biofarmacia** para el protocolo asignado.
- Admitirá la vía de comunicación a entablar con su Profesor fuera del horario de clase (presencial y/o electrónica) para establecer cuestionamientos sobre el tema y/o actividades a realizar.
- Actividades fuera de laboratorio. Conforme los términos establecidos por el profesor, el estudiante se encargará de plantear diversos cuestionamientos, resoluciones y/o propuestas que conlleven a obtener un protocolo acorde a los objetivos deseados.

### *Sesión grupal y común*

En una sesión posterior a la sesión introductoria al laboratorio (sesión dos), el estudiante:

- Cumplirá con la exposición oral del protocolo asignado a su equipo de trabajo llamado seminario inicial y atenderá si así procediera puntos sugeridos por el profesor para: corregir, limitar actividades y/o condiciones que no hagan factible la realización del protocolo asignado y/o cuestionamientos que respondan a dudas conceptuales o de metodología planteados por los profesores del laboratorio.
- Considerará que los métodos, técnicas y criterios que proponga sean farmacopeicos cuando así apliquen, de lo contrario éstos cubrirán lo descrito en el MLB (Anexo 1, inciso K, del *Instructivo para la elaboración del protocolo de investigación del laboratorio de Biofarmacia*), dado que la descripción detallada del trabajo experimental es fundamental para todo trabajo científico, el cual debe poder ser reproducido.
- Entregará al profesor el escrito del protocolo a desarrollar en el laboratorio en la bitácora general del laboratorio para su aprobación (contemplando todos los puntos mencionados en el anexo I del MLB, *Instructivo para la elaboración del protocolo de investigación del laboratorio de Biofarmacia*) y en concordancia con el protocolo asignado de este Manual.
- La bitácora general cumplirá con todos los requisitos de forma y contenido que marca el Procedimiento Normalizado de Llenado de bitácoras para Tecnología Farmacéutica (PNO Llenado de bitácoras de TF).<sup>4</sup>

<sup>4</sup> Procedimiento Normalizado para el Llenado de Bitácoras de trabajo para Tecnología Farmacéutica, PNO-0098-11-03, Carrera de QFB, Área Farmacéutica, FES Zaragoza, UNAM, 2011.

- Actividades fuera de laboratorio. Continuará la revisión bibliográfica complementaria y/o correcciones al protocolo sí las hubiera.

### *Sesiones Experimentales*

En las sesiones subsecuentes a la aprobación del protocolo, el estudiante:

- Realizará las actividades prácticas correspondientes a la sesión de acuerdo con el cronograma del protocolo previamente aprobado por el profesor, asumiendo el rol de químico analítica para las mismas y conforme lo menciona el MLB aplicando y cumpliendo las buenas prácticas de laboratorio y/o buenas prácticas de fabricación, dependiendo de la actividad experimental que se esté desarrollando.
- Contará con la supervisión y apoyo por el profesor, para lograr desarrollar sus competencias analíticas de la mejor forma.

### *Sesión grupal y común*

En una sesión previa a la última asignada para el término del semestre, el estudiante:

- Expondrá oralmente los resultados finales de uno de los protocolos de investigación realizados en el laboratorio en un seminario final, siguiendo lo indicado en el anexo 2 del MLB. Atendiendo sí así procediera, los cuestionamientos emitidos por el profesor(es) para corregir, mejorar o contribuir a lo expuesto por el equipo de trabajo.
- Entregará al profesor la bitácora individual de trabajo y la bitácora general con el registro final de todos los datos de la conclusión del protocolo desarrollado, el informe final y si así hubiera sido acordado con el profesor la impresión del cartel correspondiente. La entrega de los productos anteriormente mencionados será conforme a lo requerido por el MLB, de lo contrario no será recibido por el profesor y provocará el demerito correspondiente en calificación.
- Responderá el examen general de conocimientos para el laboratorio de Biofarmacia que será aplicado por el profesor.
- Actividades fuera de laboratorio. Pedirá al profesor su apoyo para plantear nuevas aportaciones o resolver que contribuyan a la mejora de la propuesta de presentación y entrega de productos, por los integrantes del equipo de trabajo.

### *Sesión grupal y común*

En la sesión final de labores del laboratorio de Biofarmacia en el semestre (última sesión), el estudiante:

- Recibirá por parte de su profesor la calificación final correspondiente al laboratorio de Biofarmacia.
- Asistirá en conjunto con los alumnos restantes y los profesores al seminario general del área farmacéutica y / o jornadas estudiantiles, eventos organizados por los profesores del área farmacéutica y/o coordinador de área farmacéutica, sí así lo hubieran convenido previamente.

**3. Criterios de Evaluación**

Los criterios bajo los cuales se evaluará cada protocolo realizado en el laboratorio bajo este manual, será de acuerdo con:

- A. Lo descrito en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MLB.
- B. Los aspectos contenidos en las listas de cotejo: presentación oral del protocolo (Seminario), bitácora general de trabajo, bitácora individual de trabajo, trabajo individual y cartel (Anexo A de este documento).
- C. La aprobación de la evaluación diagnóstica inicial o final que los profesores requirieran.

El cuadro 1, describe la asignación numérica que será empleada en la asignación de las calificaciones en el laboratorio:

**CUADRO 1.** Descripción de asignación numérica para asignación de calificaciones en el Laboratorio de Biofarmacia.

Calificación Numérica	Descripción
10	Nivel excepcional. Supera lo esperado. El alumno investiga sobre el tema; ubica, relaciona y aplica los conceptos teóricos al desarrollo experimental, aplica las BPL y BPF. Propone y ejecuta mejoras al protocolo de investigación. Cumple con todo lo referido en el apartado “ V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB y demás PNO que apliquen.
9	Sobresaliente. Nivel mínimo de error, cumple con todos los criterios referidos en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB. El alumno investiga sobre el tema; ubica, relaciona y aplica los conceptos teóricos al desarrollo experimental, aplica las BPL y BPF.
8	Nivel notable. Cumple mayoritariamente con los criterios referidos en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB, cumple y aplica las BPL y BPF.
7	Buen desempeño, cumple moderadamente con los criterios referidos en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB y demás PNO que apliquen.
6	Nivel de suficiente. Cumple mínimamente con todo lo referido en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB y demás PNO que apliquen
5	Desempeño por debajo de lo esperado. Tiene una alta frecuencia de errores. No cumple con la mayoría de los puntos referidos en el apartado “V. Evaluación del Laboratorio” del MPLB y demás PNO que apliquen.
NP	No presentado. El alumno está inscrito en el módulo, pero nunca se presenta al laboratorio.



# Segunda Parte



## Objetivo

Promover en los estudiantes del laboratorio de Biofarmacia el desarrollo de conocimiento, habilidades experimentales, razonamiento científico, resolución de problemas y actitudes para el mejoramiento de las actividades experimentales dentro del laboratorio en el tema de Farmacocinética, a través de la indicación de acciones generales a seguir en el protocolo indicado.

## Introducción a la Farmacocinética Compartmental

La Farmacocinética es una disciplina que tiene sus orígenes al inicio del siglo XX,<sup>5</sup> que usa modelos matemáticos para describir y predecir cantidades y concentraciones de fármaco en varios fluidos biológicos y los cambios cuantitativos en función del tiempo.<sup>6</sup> La farmacocinética estudia el destino de cualquier sustancia después de su administración en un organismo vivo, los principios farmacocinéticos usualmente son aplicados a fármacos; sin embargo, los mismos principios pueden ser aplicados a cualquier otro compuesto, tal como nutrientes, hormonas, toxinas y otros.<sup>7</sup>

La farmacocinética es una descripción cuantitativa de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos, procesos que definen los perfiles de concentración a través del tiempo en la circulación sistémica y en los diferentes órganos y tejidos. Es una disciplina cuantitativa, en donde los diferentes procesos que afectan el comportamiento farmacocinético de un fármaco pueden ser descritos matemáticamente y los distintos parámetros pueden ser asociados a ecuaciones matemáticas.<sup>8</sup> El estudio de la farmacocinética puede realizarse a través de modelos, tales como los compartimentales, los fisiológicos, híbridos o no compartimentales.

La interpretación de los datos experimentales obtenidos en un estudio farmacocinético por modelos en compartimientos, supone que el cuerpo está representado matemáticamente en uno o varios compartimientos, no ubicados en cavidades reales dentro del organismo, en el que el paso del

<sup>5</sup> Wagner GJ. The history of Pharmacokinetics. *Annals of Pharmacotherapy* 1997; 11(12):747-748.

<sup>6</sup> Greenblatt DJ, Shader IR. *Pharmacokinetics in Clinical Practice*. Philadelphia: Saunders; 1985.

<sup>7</sup> Hedaya MA. *Basic Pharmacokinetics*. 2da Ed. New York: CRC Press; 2012.

<sup>8</sup> Gibaldi M, Perrier D. *Farmacocinética*. Barcelona: Reverté; 1982.

medicamento de uno a otro está representado por la distribución del fármaco que se hace por medio del flujo sanguíneo.<sup>7</sup> Si se considera que cada fluido, órgano, tejido o cada célula o grupo de células poseen diferentes características fisicoquímicas y distintos grados de afinidad por los fármacos, podemos imaginar que en realidad el organismo humano o animal consiste en múltiples compartimientos en que, cada uno de ellos, actuaría como un compartimiento individual.

# Tercera Parte



# Farmacocinética *in vitro* por Modelo Abierto de Un Compartimento para Furosemida por administración intravenosa

## I. Objetivo general

Obtener la ecuación que describa el comportamiento farmacocinético *in vitro* de furosemida por administración intravenosa, siguiendo un modelo abierto de un compartimento.

## II. Objetivos particulares

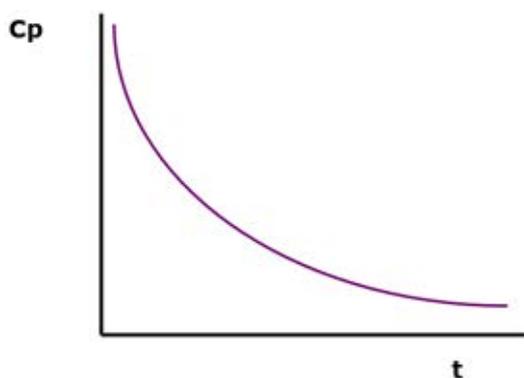
1. Determinar los parámetros de control de calidad como producto terminado de furosemida solución inyectable de 20 mg, de acuerdo a las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).
2. Presentar el protocolo de validación de un método analítico espectrofotométrico aplicado para el estudio farmacocinético de furosemida solución inyectable de acuerdo a los parámetros de validación que apliquen en la NOM 177-SSA1 vigente.
3. Representar un modelo abierto de un compartimento (MAUC) con administración intravenosa, usando un sistema *in vitro*.
4. Definir las condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*, para lograr perfiles farmacocinéticos que representen un MAUC con administración intravenosa.
5. Determinar los parámetros farmacocinéticos de furosemida a partir de los perfiles de concentración en el compartimento central en el sistema *in vitro* en función del tiempo.
6. Analizar y documentar los resultados obtenidos para describir matemáticamente el comportamiento farmacocinético *in vitro* de furosemida por administración intravenosa.

### III. Sustento teórico

La administración de fármaco en un bolo Intravenoso (*iv*) a un organismo involucra la introducción directa del fármaco al sistema circulatorio durante un período muy corto de tiempo. En el sistema circulatorio el fármaco puede unirse a componentes de la sangre principalmente las proteínas plasmáticas y componentes celulares, dejando una fracción de fármaco no unido. El fármaco es distribuido con la circulación sanguínea a todas las partes del cuerpo, incluyendo el sitio o sitios de acción y a todos los órganos incluyendo los órganos de eliminación. El fármaco libre no puede difundir a través de la membrana capilar para llegar al espacio intersticial del tejido. El paso del fármaco a través de la membrana capilar puede ser por difusión pasiva, paracelular a través de la unión entre las células endoteliales capilares o por medio de una proteína de transporte especializada. Una vez en el espacio intersticial del tejido, el fármaco puede atravesar la membrana celular y distribuirse dentro de la célula.

Posterior a la administración de un bolo intravenoso de fármaco, si la velocidad de distribución del fármaco a todos los tejidos es rápida, se alcanza un equilibrio inmediato entre el fármaco en la sangre y el fármaco en todos los tejidos, observándose la disminución rápida en la concentración del fármaco en la sangre, debido al proceso de eliminación del fármaco y proporcional en la concentración del fármaco en todos los tejidos. El perfil de la concentración-tiempo en la sangre y todos los tejidos después de una administración del fármaco por vía *iv*, aunque no igual, disminuirá de la misma forma, como se observa en la Figura 1.

El equilibrio rápido observado entre el fármaco en sangre y en los tejidos, hace que el organismo se visualice como un solo compartimiento homogéneo y con un volumen de distribución ( $V_d$ ) definido. El  $V_d$  del fármaco relaciona la cantidad del fármaco en el cuerpo y la concentración de fármaco en plasma en cualquier momento después de la administración del fármaco.



**FIGURA 1.** Perfil de la concentración plasmática ( $C_p$ ) - tiempo ( $t$ ) en la sangre posterior a la administración de una dosis intravenosa de fármaco.

El fármaco bajo éstas condiciones se dice que sigue un modelo farmacocinético de un compartimiento. El modelo farmacocinético de un solo compartimiento es el modelo más simple y es también llamado *modelo abierto de un compartimiento (MAUC)*. El término “abierto” se refiere al hecho de que existe

un sentido unidireccional de entrada y salida, donde un compartimento (organismo) es un espacio matemático imaginario descrito en la literatura farmacológica como un espacio definido, representado en el esquema 1.



**ESQUEMA 1.** Representación de un modelo abierto de un compartimento, cuando el fármaco se distribuye rápidamente en todas las partes del organismo.

El modelo abierto de un compartimento es el modelo más simple de los modelos farmacocinéticos compartimentales. Asume que una dosis ( $D$ ) conocida de un fármaco que es introducida al organismo, se distribuye a través del organismo y su concentración ( $C$ ) es cuantificada en un fluido biológico, generalmente plasma. El volumen del compartimento, llamado volumen de distribución aparente ( $V_d$ ) puede ser determinado sustituyendo los términos respectivos en la ecuación siguiente:

**Ecuación 1**

$$V_d = \frac{D}{C}$$

- $V_d$       Volumen de distribución aparente
- $D$         Dosis
- $C$         Concentración

Conforme al comportamiento del fármaco en la Figura 1, la ecuación que describe los cambios de la concentración plasmática con respecto al tiempo, puede escribirse como:

**Ecuación 2**

$$C_p = C_{p_0} e^{-K_e t}$$

- $C_p$       Concentración plasmática
- $C_{p_0}$     Concentración plasmática al tiempo cero
- $K_e$       Constante de eliminación de primer orden
- $t$         Tiempo

La ecuación 2, tiene dos parámetros diferentes, la constante de velocidad de eliminación de primer orden y la concentración inicial. La constante de velocidad de eliminación de primer orden  $K_e$ , influye en la caída del perfil de concentración de fármaco–tiempo. Valores altos de  $K_e$  indican una disminución pronunciada

de la concentración plasmática del fármaco, lo que lleva a una mayor velocidad de eliminación del fármaco. El otro parámetro en la ecuación es la concentración inicial de fármaco en plasma, la cual es igual a la relación .

Después de administración de un bolo *iv*, la  $K_e$  puede ser determinada obteniendo una serie de muestras plasmáticas y la determinación de la concentración de fármaco en estas muestras. Un gráfico de  $\ln C_p$  en función del tiempo muestra una línea recta con pendiente igual a la constante de velocidad de eliminación de primer orden, la cual tendrá siempre un valor positivo con unidades de tiempo<sup>-1</sup>.

### IV. RECURSOS MATERIALES

#### 1. Materiales:

- A. Laboratorio asignado para el Módulo de Biofarmacia.
- B. Manual del Laboratorio de Biofarmacia (MLB).
- C. Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado de Bitácoras para Tecnología Farmacéutica (PNO llenado de bitácoras para Tecnología Farmacéutica, vigente).
- D. Procedimientos Normalizados de Operación de cada uno de los instrumentos a utilizar durante la fase experimental del protocolo.

#### 2. Reactivos:

- A. Sustancia de referencia de furosemida.

#### 3. Medicamento:

- A. Solución inyectable de furosemida de 20 mg.

#### 4. Material:

- A. Gradillas.
- B. Tubos de ensayo de 13 x 150 mm.
- C. Jeringas de plástico de 5 mL.
- D. Matraces volumétricos de diferentes capacidades.
- E. Micropipetas de diversos volúmenes.
- F. Pipetas graduadas, diversos volúmenes.
- G. Pipetas volumétricas, diversos volúmenes.

#### IV. RECURSOS MATERIALES

- H. Vasos de precipitados de diferentes capacidades.
  - I. Celdas de cuarzo.
  - J. Probeta de 100 mL.
5. Sistema *in vitro* para un MAUC via intravenosa:
- A. Columna de vidrio de 2 litros.
  - B. Soporte universal.
  - C. Una placa de agitación.
  - D. Vaso de farmacocinética de 600 mL (Vaso de precipitados de 600 mL integrado con un tubo salida lateral).
  - E. Vaso de precipitados de 400 mL.
  - F. Abrazadera.
  - G. Pinza de laboratorio doble nuez.
  - H. Anillo de acero inoxidable.
6. Equipos e instrumentos:
- A. Espectrofotómetro UV/Visible.
  - B. Balanza analítica.

## V. Método y descripción de técnicas

1. Control de calidad del medicamento de estudio.
  - A. Las pruebas correspondientes a: descripción, ensayos de identidad, valoración del principio activo se deberán realizar conforme a lo establecido en la Monografía de furosemda inyectable en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos vigente.

### 2. Método analítico para cuantificar al fármaco.

El método analítico para cuantificar el fármaco en el estudio farmacocinético será aplicando espectrofotometría ultravioleta-visible y la validación del mismo se realiza en cumplimiento a la NOM-177 vigente. En el protocolo para la validación definir y establecer la metodología experimental a desarrollar para los siguientes parámetros:

#### A. Curva de calibración

- a) Establecer el intervalo de la curva de calibración en función a las concentraciones esperadas del fármaco a cuantificar durante el análisis de las muestras, por lo menos seis concentraciones distintas sin incluir la muestra blanco. Las concentraciones contemplaran absorbancias dentro del rango de 0.2 a 0.8, a la longitud de onda definida posterior a la realización de un barrido de absorción.

#### B. Precisión.

- a) Repetibilidad.
- b) Reproducibilidad.

#### C. Exactitud

#### D. Estabilidad de la muestra

### 3. Montaje del sistema.

A. Colocar una placa de agitación sobre la base del soporte universal.

B. Fijar al soporte universal dos pinzas de laboratorio doble nuez a una distancia entre ellas de 50 cm aproximadamente.

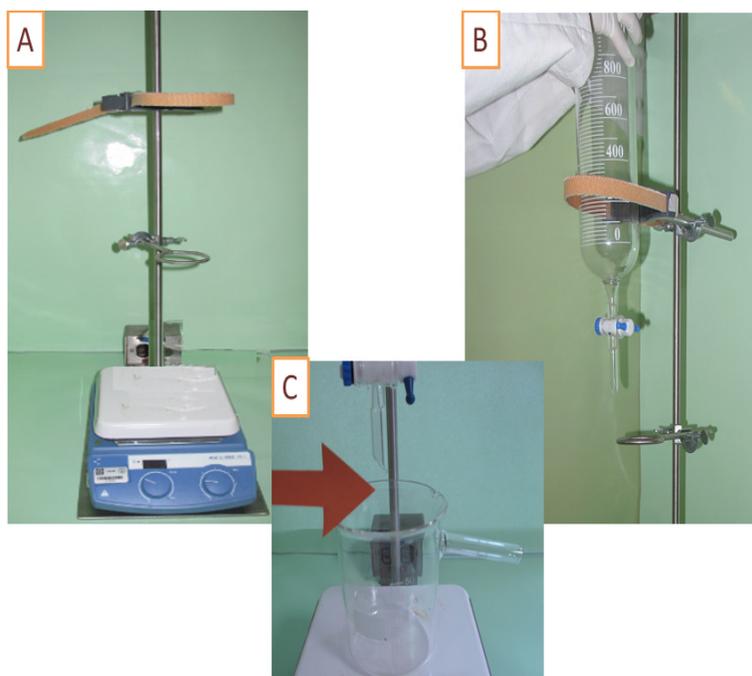
C. Sujetar con una de las pinzas doble nuez el anillo de acero inoxidable, y en la otra la abrazadera, ver Figura 2A.

D. Sostener la columna de 2L con ambas manos e introducirla por la abrazadera y por el anillo de acero inoxidable (Figura 2B).

E. Colocar el vaso de farmacocinética de 600 ml (compartimento central) por debajo de la salida de la columna y sobre una placa de agitación, Figura 2C.

F. Situar a un costado de la placa un vaso de precipitados de 400 mL (B), verificando que su altura sea la adecuada para que el tubo lateral de desplazamiento del vaso de farmacocinética, quede ubicado por debajo de la boca del vaso de precipitados, como se observa en la Figura 3.

G. Depositar una barra magnética en el vaso A (Figura 3) y agregar agua destilada, hasta alcanzar el borde inferior del tubo de salida del vaso de farmacocinética. Iniciar la agitación y verificar que no haya desplazamiento de volumen de agua del vaso A al B.



**FIGURA 2.** A. abrazadera y anillo de acero inoxidable fijados al soporte universal con pinzas doble nuez. B. Colocación de la columna sobre el anillo de acero y fijado con la abrazadera. C, colocación del vaso de farmacocinética.



**FIGURA 3.** Ubicación del vaso de farmacocinética: comportamiento central (A) y el vaso de precipitados donde se recolectara el fluido desplazado (B), en el sistema de modelo abierto de un compartimento administración intravenosa.

H. Llenar la columna con agua destilada y abrir la llave para dejar fluir el líquido hasta alcanzar una velocidad de desplazamiento de 50 mL/min.

### 4. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.

- A. Una vez que se haya alcanzado la velocidad indicada en el inciso H del punto 3, Con ayuda de una jeringa, coleccionar un volumen de 5 mL de fluido del vaso A y del volumen desplazado en el vaso B. Depositar lo coleccionado en tubos de ensayo previamente etiquetados como tiempo cero.
- B. Depositar una dosis *iv* en el vaso A e iniciar el registro del tiempo. Simultáneamente iniciar la recolección del líquido desplazado al vaso B.
- C. Coleccionar un volumen de 5 mL del vaso A y B con ayuda de las jeringas de 5 mL (previa medición del volumen acumulado en el vaso B) y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados en los siguientes intervalos de tiempo: cada tres minutos en los primeros 15 minutos, cada cinco en los siguientes 45 minutos y posteriormente cada 10 minutos hasta completar 140 minutos.
- D. Registrar el volumen recoleccionado en el vaso B en cada intervalo de tiempo de muestreo.
- E. Determinar en el espectrofotómetro las absorbancias de las diferentes muestras recoleccionadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- F. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recoleccionadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.
- G. Graficar los datos (concentración de furosemida vs tiempo) correspondientes para verificar si las condiciones de agitación y velocidad de desplazamiento de volumen son los adecuados para la descripción del modelo, de lo contrario realizar los ajustes necesarios en la agitación, velocidad de desplazamiento de agua y/o tiempos de muestreo, hasta alcanzar el objetivo.

### 5. Estudio Farmacocinético.

- A. Montar el sistema *in vitro* con las condiciones de flujo y agitación definidas en los puntos 3 y 4 descritos anteriormente.
- B. Tiempo cero. Coleccionar un volumen de 5 mL del vaso A y B con ayuda de la jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados antes de colocar la dosis *iv* del medicamento en el compartimento central: vaso A de la Figura 3.
- C. Depositar la dosis *iv* del medicamento en el vaso A e iniciar el registro del tiempo y recolección del volumen desplazado en el vaso B.
- D. Coleccionar un volumen de 5 mL del vaso A y B con ayuda de las jeringas y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados en *tiempos definidos* en el punto 4 de esta metodología.
- E. Registrar el volumen recoleccionado en el vaso B en cada tiempo de muestreo antes de tomar la muestra indicada en el inciso D.

- F. Determinar en el espectrofotómetro las absorbancias de las diferentes muestras recolectadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- G. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.

## VI. Presentación de resultados

1. Control de calidad del medicamento de estudio.
  - A. Se realizará a través de concentrar los resultados de las pruebas de control de calidad, en un cuadro como el presentado en el anexo B de este manual (Cuadro B1. Resumen de Control de calidad).
2. Método analítico para cuantificar al fármaco.
  - A. Se mostrará la gráfica de la concentración del fármaco en función a la respuesta medida (absorbancia) del método analítico para cuantificar el principio activo. Así también, un cuadro con los parámetros validados donde se muestran los resultados obtenidos y la especificación que debe cumplir. Ver anexo B, Cuadro B2. Resumen de Validación.
3. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.
  - A. Registrar las condiciones finales de velocidad de desplazamiento de volumen, agitación y volumen contenido en el vaso A y B, establecidas para el estudio farmacocinético.
4. Estudio Farmacocinético.
  - A. Para el vaso A, presentar:
    - a) Los registros tabulados de las absorbancias correspondientes a cada tiempo de la recolecta de muestra en el vaso A.
    - b) Las concentraciones de fármaco obtenidas que corresponden a los tiempos muestreados en el vaso A.
    - c) El gráfico de concentración de fármaco contra tiempo.
    - d) El gráfico de logaritmo natural de concentración fármaco contra tiempo.
    - e) El cálculo de los siguientes parámetros: constante de eliminación, concentración al tiempo cero, tiempo de vida media de eliminación, volumen de distribución aparente, depuración, área bajo la curva del tiempo cero al tiempo t, el área bajo la curva del tiempo cero al infinito, conforme las fórmulas previamente propuestas y autorizadas por el profesor.

- f) La ecuación que describa el comportamiento farmacocinético de los datos experimentales obtenidos.
- B. Para los datos de excreción (vaso B) presentar:
- a) Los registros tabulados de la absorbancia y volumen recolectados correspondientes a cada intervalo de tiempo en el vaso B.
  - b) Las concentraciones de fármaco correspondientes a los tiempos muestreados en el vaso B.
  - c) Las cantidades excretadas de fármaco correspondientes a los tiempos muestreados en el vaso B.
  - d) El gráfico de cantidad excretada de fármaco contra tiempo.
  - e) El gráfico de cantidad excretada de fármaco acumulativa contra tiempo.
  - f) El cálculo de las constantes de eliminación y excreción, usando el método de sigma menos y velocidades promedio.
  - g) El cálculo de los siguientes parámetros: constante de eliminación, cantidad excreta al tiempo cero, tiempo de vida media de eliminación, área bajo la curva del tiempo cero al tiempo t.
  - h) La ecuación que describa el comportamiento farmacocinético de los datos experimentales, descrito por el método de sigma menos y velocidades promedio.

## VI. Evaluación

La evaluación para este protocolo contemplará:

1. Lo descrito en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MLB.
2. La entrega de la evaluación diagnóstica específica para este proyecto antes de iniciar las sesiones prácticas.
3. Los aspectos contenidos en las listas de cotejo: presentación oral de proyectos (Seminarios), bitácora general de trabajo, bitácora individual de trabajo, trabajo individual y cartel que se indican en el Anexo A de este manual.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Dhillon S, Kostrzewski. Clinical Pharmacokinetics. Pharmaceutical Press, London; 2006.
2. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Reverté, España; 1982.
3. Greenblatt JD, Shader RI. Pharmacokinetics in Clinical Practice. Saunders Company: Philadelphia; 1985.
4. Gumtow RH, Proudfoot J, Talada A. An *in vitro* pharmacokinetic system for use in the undergraduate pharmaceuticals laboratory - a one-compartment and 2-compartment pharmacokinetic Bench Model, the glassman patient. American Journal of Pharmaceutical Education 1998; 52(2): 117-121.
5. Hedaya MA. Basic Pharmacokinetics. 2th Ed. CRC Press: New York; 2012.
6. Shargel L, Yu A, Wu-Pong s. Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Sixth Edition. McGraw-Hill Education / Medical, USA; 2012.
7. Smith DA, van de Waterbeemd H, Walker DK. Pharmacokinetics and metabolism in drug design. Wiley-VCH: Weinheim; 2001.



# Farmacocinética *in vitro* por Modelo Abierto de Un Compartimento para Fenazopiridina por administración oral

## I. Objetivo general

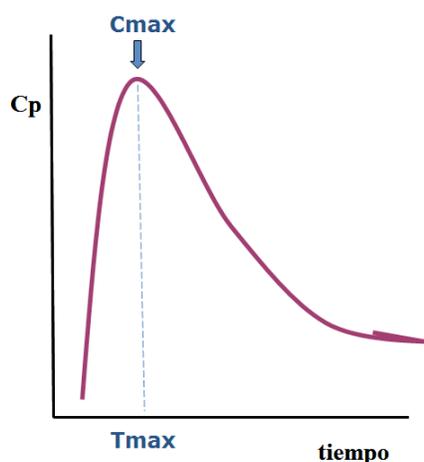
Obtener la ecuación que describa el comportamiento farmacocinético *in vitro* de Fenazopiridina tabletas por administración oral, siguiendo un modelo abierto de un compartimento.

## II. Objetivos particulares

1. Determinar los parámetros de control de calidad como producto terminado de tabletas de Fenazopiridina de 100 mg, de acuerdo a las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y/u otras farmacopeas disponibles que así lo estipularan.
2. Plantear el protocolo de validación del método analítico espectrofotométrico aplicado para el estudio farmacocinético del fármaco de acuerdo a los parámetros de validación que apliquen en la NOM 177-SSA1 vigente.
3. Representar un modelo abierto de un compartimento (MAUC) con administración oral, usando un sistema *in vitro*.
4. Definir las condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*, para lograr perfiles farmacocinéticos que representen un MAUC con administración oral.
5. Determinar los parámetros farmacocinéticos de la Fenazopiridina a partir de los perfiles de concentración en el compartimento central ( $C_p$ ) en el sistema *in vitro* en función del tiempo.
6. Analizar y documentar los resultados obtenidos para describir matemáticamente el comportamiento farmacocinético *in vitro* de Fenazopiridina por administración oral.

### III. Sustento teórico

Cuando se toma una dosis de fármaco por vía oral, si es sólida necesitará ser disuelta para que se presente el proceso de absorción. La absorción del fármaco tiene lugar a través del tracto gastrointestinal, y entonces podrá difundir a través de la mucosa a la sangre. Lo anterior puede visualizarse, como un aumento rápido de la concentración del fármaco en el organismo hasta alcanzar un máximo en la concentración ( $C_{max}$ ) a un determinado tiempo, llamado tiempo máximo ( $t_{max}$ ). Posterior a alcanzar la concentración máxima se observara disminución constante de la concentración plasmática del fármaco, el cual es eliminado debido a los procesos de metabolismo y excreción (figura 1).



**FIGURA 1.** Representación del perfil plasmático un fármaco administrado en cualquier sitio extravascular, en el cual puede observarse la concentración máxima alcanzada ( $C_{max}$ ) en un tiempo determinado ( $T_{max}$ ).

El modelo abierto de un compartimiento con administración oral única, supone al organismo como un todo homogéneo en el cual se distribuye el fármaco en forma semejante y casi instantánea cuando entra por un proceso de absorción. Al igual que el modelo abierto de un compartimiento con administración de un bolo intravenoso, este tipo de compartimiento está formado principalmente por el volumen sanguíneo y los tejidos altamente irrigados, tales como el hígado, los pulmones, los riñones, etc. Este modelo supone también que las velocidades de intercambio entre las diferentes partes del mismo compartimiento, por ejemplo, desde la sangre hacia el hígado, así como el proceso inverso, serían idénticas. Para una administración oral, la constante de velocidad de absorción ( $K_a$ ), está presente además de la constante de eliminación ( $K_e$ ).

Acorde al esquema 1, el organismo se encuentra representado por un compartimiento homogéneo en el cual el fármaco se distribuye uniformemente conforme a un comportamiento. Esto implica que el fármaco que entra al organismo a una velocidad de absorción desde el sitio de administración, es rápidamente equilibrado en los fluidos de distribución y al igual que en una administración intravenosa la distribución del fármaco en el organismo es lo suficientemente rápida, en relación con su velocidad de eliminación, como para permitir considerar al cuerpo como una solución uniforme del fármaco.



**ESQUEMA 1.** Representación de un fármaco administrado en forma oral (sitio extravascular), el cual involucra la constante de velocidad de absorción ( $K_a$ ) y la constante de velocidad de eliminación o disposición total del fármaco ( $K_e$ ).

La ecuación matemática que describe el esquema 1, involucra las constantes de velocidad de absorción y de eliminación, además del parámetro de biodisponibilidad ( $F$ ).

**Ecuación 1**

$$C_p = \frac{FM_0}{V_d} \frac{K_a}{K_a - K_e} (e^{-K_e t} - e^{-K_a t})$$

- $C_p$  Concentración plasmática
- $M_0$  Cantidad plasmática al tiempo cero
- $F$  Biodisponibilidad
- $K_a$  Constante de absorción de primer orden
- $K_e$  Constante de eliminación de primer orden
- $t$  Tiempo

Para la ecuación 1, se puede aplicar el principio de aditividad, así la ecuación del modelo compartimental con administración diferente a la intravenosa puede escribirse como:

**Ecuación 2**

$$C_p = A e^{-K_e t} + B e^{-K_a t}$$

Las constantes A y B sustituyen a

$$C_p = \frac{FM_0}{V_d} \frac{K_a}{K_a - K_e}$$

La biodisponibilidad de una administración oral describe que tan rápido y en que magnitud se alcanza la circulación sistémica después de la administración oral.

La biodisponibilidad depende de la secuencia de procesos fisiológicos y farmacológicos que están presentes. Primeramente cuando la forma farmacéutica se desplaza desde el sitio de administración oral hasta el lumen del estómago. Fármacos en forma líquida o en solución no necesitan solubilizarse, pero formas farmacéuticas tales como comprimidos, cápsulas o en suspensión, deben entrar en solución en los contenidos acuosos normalmente ácidos del estómago. Simultáneamente, la motilidad fisiológica normal del estómago comienza a vaciar su contenido en el duodeno y en el intestino delgado proximal, donde la mayoría de los productos químicos extraños son absorbidos. A menos que el fármaco tenga un peso molecular inusualmente bajo, debe atravesar las barreras de membrana que recubren el lumen del intestino delgado proximal para alcanzar la circulación portal. Sólo después de atravesar la vasculatura hepática las moléculas del fármaco contenidas en la sangre portal llegarán finalmente a la circulación venosa sistémica.

### IV. RECURSOS MATERIALES

#### 1. Materiales:

- A. Laboratorio asignado para el Módulo de Biofarmacia.
- B. Manual del Laboratorio de Biofarmacia (MLB).
- C. Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado de Bitácoras para Tecnología Farmacéutica (PNO llenado de bitácoras para Tecnología Farmacéutica, vigente).
- D. Procedimientos Normalizados de Operación de cada uno de los instrumentos a utilizar durante la fase experimental del protocolo.

#### 2. Reactivos:

- A. Sustancia de referencia de Clorhidrato de Fenazopiridina.

#### 3. Medicamento:

- A. Tabletas de Clorhidrato de Fenazopiridina de 100 mg.

#### 4. Material:

- A. Gradillas.
- B. Tubos de ensayo de 13 x 150 mm.
- C. Jeringas de plástico de 5 mL.
- D. Pipetas graduadas, diversos volúmenes.
- E. Pipetas volumétricas, diversos volúmenes.

#### IV. RECURSOS MATERIALES

- F. Vasos de precipitados de diferentes capacidades.
  - G. Celdas de cuarzo.
  - H. Probeta de 100 mL.
5. Sistema *in vitro* para un MAUC vía oral.
- A. Columna de vidrio de 2 litros.
  - B. Soporte universal.
  - C. Dos placas de agitación.
  - D. Vaso de farmacocinética de 400 mL (vaso de precipitados de 400 mL con un tubo lateral para desplazamiento de volumen).
  - E. Vaso de farmacocinética de 600 mL (vaso de precipitados de 600 mL con tubo lateral para desplazamiento de volumen).
  - F. Vaso de precipitados de 600 mL.
  - G. Gato mecánico para laboratorio.
  - H. Abrazadera.
  - I. Anillo de acero inoxidable con nuez.

## V. Método y descripción de técnicas

1. Control de calidad al fármaco en estudio.
  - A. Las pruebas correspondientes a la descripción, ensayos de identidad, valoración del principio activo, dureza, desintegración y friabilidad se deberán realizar conforme a lo establecido en la monografía del Fenazopiridina tabletas en la FEUM vigente.

2. Método analítico para cuantificar al fármaco.

El método analítico para cuantificar el fármaco será espectrofotométrico y para la validación del mismo, se debe elaborar un protocolo de validación el cual debe estar documentado en la bitácora general de trabajo de acuerdo con lo establecido en el Manual del laboratorio de Biofarmacia (MLB), que contemple lo siguiente:

### A. Curva de calibración

- a) Contemplara al menos seis concentraciones distintas sin incluir la muestra blanco, el intervalo de concentraciones estará definido en función a las concentraciones esperadas del fármaco a cuantificar durante el análisis de las muestras. Las concentraciones contemplaran absorbancias dentro del rango de 0.2 a 0.8, a la longitud de onda definida posterior a la realización de un barrido de absorción.

### B. Precisión

- a) Repetibilidad
- b) Reproducibilidad

### C. Exactitud

### D. Estabilidad de la muestra

## 3. Montaje del sistema.

A. Colocar un gato mecánico sobre la base del soporte universal.

B. Colocar una placa de agitación sobre la base del gato mecánico.

C. Colocar el vaso de farmacocinética de 400 ml (sitio de absorción, vaso B la figura 2) sobre una placa de agitación.

D. Colocar a un costado, la segunda placa de agitación y sobre ésta el vaso de farmacocinética de 600 mL (compartimento central, vaso A en la figura 2). Verificar que su altura sea la adecuada para que el tubo lateral de desplazamiento quede por encima de la boca del vaso de farmacocinética de 400 mL (Figura 2). Usar el gato mecánico de laboratorio si es necesario.



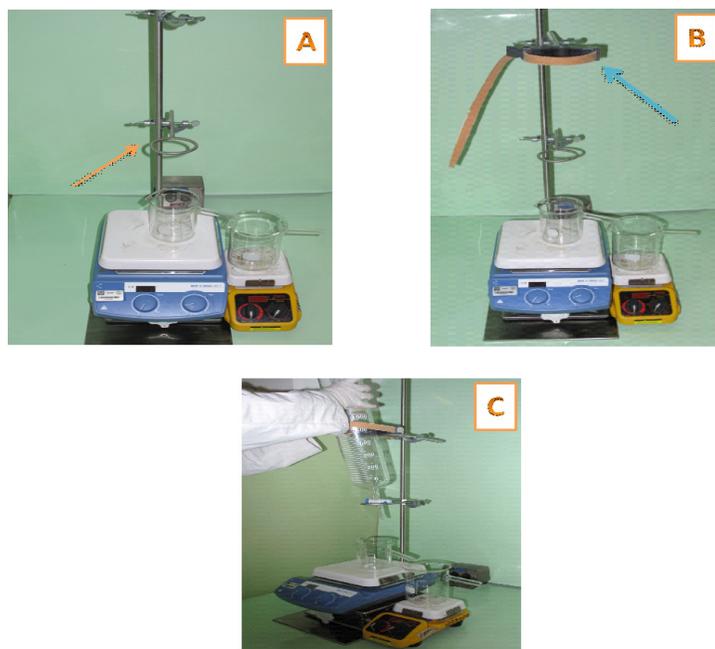
**FIGURA 2.** Ubicación de vasos de farmacocinética, para un MAUC vía oral.

E. Fijar al soporte universal dos pinzas de laboratorio doble nuez a una distancia de 50 cm aproximadamente entre ellas (figura 3).



**FIGURA 3.** Ubicación de las pinzas nuez para fijación de la columna, en un modelo abierto de un compartimento con administración oral.

F. Tomar el anillo de acero inoxidable y sujetarlo del mango con la pinza doble inferior. La abrazadera asegurarla del mango con la pinza restante. Ver Figura 4A y 4B.



**FIGURA 4.** A: ubicación de nueces. B: ubicación de anillo de acero y abrazadera. C: colocación de columna en el sistema *in vitro* en un modelo abierto de un compartimento con administración oral.

- G. Sostener la columna de 2 L con ambas manos e introducirla por la abrazadera y por el anillo de acero inoxidable verificando que la punta de la columna quede por encima del vaso de farmacocinética de 400 mL. Ver Figura 4C.
- H. Colocar un vaso de precipitados (reservorio de colecta de excretas, vaso C en la figura 5) por debajo del vaso de farmacocinética de 400 mL (compartimento central, vaso B en la figura 5). Agregar agua destilada a los vasos A y B y depositar una barra magnética en cada uno. Iniciar la agitación y verificar que no haya desplazamiento de volumen en ninguno de los dos vasos.
- I. Llenar la columna con agua destilada y abrir la llave hasta alcanzar una velocidad de desplazamiento de 60 mL/min.



**FIGURA 5.** Montaje final para el sistema *in vitro* en un modelo abierto de un compartimento con administración oral. Vaso A: sitio de absorción, Vaso B: Compartimento Central, Vaso C: Reservorio de excretas.

4. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.
  - A. Una vez que se haya alcanzado la velocidad indicada en el inciso H del punto 3. Colectar un volumen de 5 mL del vaso B y del vaso de C (excretas), con ayuda de la jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados como tiempo cero.
  - B. Depositar la dosis oral en el vaso A e iniciar el registro del tiempo.
  - C. Colectar un volumen de 5 mL del vaso B y C con ayuda de las jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados en los siguientes intervalos de tiempo: cada tres minutos en los primeros 15 minutos, cada cinco en los siguientes 45 minutos y posteriormente cada 10 minutos hasta completar 120 minutos.
  - D. Registrar el volumen recolectado en el vaso de excretas en cada intervalo de tiempo de muestreo.

- E. Determinar las absorbancias de las diferentes muestras recolectadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- F. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.
- G. Graficar concentración de fenazopiridina en función del tiempo obtenidas del vaso B. Verificar sí las condiciones de agitación y velocidad de desplazamiento de volumen de agua, son los adecuados para la descripción del modelo. De lo contrario realizar los ajustes necesarios en la agitación, velocidad de desplazamiento de agua y/o tiempos de muestreo, hasta alcanzar el objetivo.

#### 5. Estudio Farmacocinético.

- A. Hacer el montaje del sistema *in vitro* con las condiciones de flujo y agitación definidas en el punto 4 de esta metodología.
- B. Colectar un volumen de 5 mL del vaso B y C con ayuda de la jeringas de 5 mL y depositar el volumen en un tubo de ensayo previamente etiquetado como tiempo cero, antes de colocar la tableta en el compartimento central.
- C. Depositar la dosis oral en el vaso A e iniciar el registro del tiempo.
- D. Colectar un volumen de 5 mL del vaso B y C con ayuda de las jeringas de 5 mL, depositar lo recolectado en tubos de ensayo previamente etiquetados en tiempos definidos en el punto 4 de esta metodología.
- E. Registrar el volumen recolectado en el vaso C en cada tiempo de muestreo.
- F. Determinar en el espectrofotómetro las absorbancias de las diferentes muestras recolectadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- G. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.

## VI. Presentación de resultados

1. Control de calidad de las tabletas.
  - A. Los resultados de este apartado se presentarán conforme a la información solicitada en el cuadro CB1 “Resumen de Control de Calidad” del anexo B de este manual.
2. Método analítico para cuantificar al fármaco disuelto.

- A. Presentar el gráfico promedio de las respuestas (absorbancias) en función de la concentración de fenazopiridina, obtenidas del parámetro: curva de calibración del método analítico para cuantificar el principio activo.
  - B. Presentar el concentrado de los resultados de la validación del método analítico, conforme al cuadro CB2. Resumen de Validación del anexo B de este manual.
3. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.
- A. Reportar las condiciones finales de velocidad de desplazamiento, agitación y volumen contenido en el vaso B y C establecidas para el estudio farmacocinético.
4. Estudio Farmacocinético.
- A. Para el compartimento central (vaso B) presentar:
    - a) El gráfico de concentración de fenazopiridina contra tiempo.
    - b) El gráfico de logaritmo natural de fenazopiridina contra tiempo.
    - c) El valor de la constante de eliminación del fármaco.
    - d) El valor de la constante de absorción del fármaco, calculado a través del método de residuales.
    - e) La ecuación que describa el comportamiento farmacocinético de los datos experimentales obtenidos, con el valor de sus respectivas constantes.
    - f) El cálculo de los siguientes parámetros: tiempo de vida media de eliminación, tiempo de vida media de absorción, área bajo la curva del tiempo cero al tiempo t, el área bajo la curva del tiempo cero al infinito, conforme las fórmulas previamente propuestas y autorizadas por el profesor.
  - B. Para los datos de excreción (vaso C) presentar:
    - a) El grafico de cantidad excretada contra tiempo.
    - b) El gráfico de cantidad excretada acumulativa contra tiempo.
    - c) El valor de las constantes de: eliminación, excreción y absorción obtenidas a través del método de sigma menos y velocidades promedio.
    - d) La ecuación que describa el comportamiento farmacocinético de los datos experimentales por el método de sigma menos y velocidades promedio.
    - e) El cálculo de los siguientes parámetros: tiempo de vida media de eliminación, tiempo de vida media de absorción, área bajo la curva del tiempo cero al tiempo t, el área bajo la curva del tiempo cero al infinito, conforme las fórmulas previamente propuestas y autorizadas por el profesor.

## VII. Evaluación

La evaluación para este proyecto de investigación contemplará:

1. Lo descrito en el punto “V. Evaluación del Laboratorio” del MLB.
2. La entrega de la evaluación diagnóstica específica para este proyecto antes de iniciar las sesiones prácticas.
3. Los aspectos contenidos en las rubricas: presentación oral de proyectos (Seminarios), bitácora general de trabajo, bitácora individual de trabajo, trabajo individual y cartel (Anexo A de este manual).

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Clark B. Introducción a la farmacocinética. Acribia: España; 1989.
2. Dhillon S, Kostrzewski. Clinical Pharmacokinetics. Pharmaceutical Press,, London; 2006.
3. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Reverté: España; 1982.
4. Greenblatt JD, Shader RI. Pharmacokinetics in Clinical Practice. Philadelphia: Saunders Company; 1985.
5. Gumtow RH, Proudfoot J, Talada A. An *in vitro* pharmacokinetic system for use in the undergraduate pharmaceuticals laboratory -a one-compartment and 2-compartment pharmacokinetic Bench Model, the glassman patient. American Journal of Pharmaceutical Education 1998; 52(2): 117-121.
6. Hedaya MA. Basic Pharmacokinetics, 2th Ed. CRC Press: New York; 2012.
7. Smith DA, van de Waterbeemd H, & Walker DK. Pharmacokinetics and metabolism in drug design. Woley-VCH: Weinheim; 2001.



# Farmacocinética *in vitro* por Modelo Abierto de Dos Compartimentos para ciprofloxacino por administración intravenosa

## I. Objetivo general

Comprender y determinar la ecuación el comportamiento farmacocinético *in vitro* por modelo abierto de dos compartimento para una administración intravenosa.

## II. Objetivos particulares

1. Estimar la calidad farmacéutica como producto terminado de ciprofloxacino solución inyectable, de acuerdo a las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).
2. Determinar la confiabilidad del método espectrofotométrico para la cuantificación de ciprofloxacino en forma farmacéutica intravenosa, conforme lo establece la NOM 177-SSA1 vigente
3. Representar un modelo abierto de dos compartimentos (MADC) con administración intravenosa, usando un sistema *in vitro*.
4. Definir las condiciones de flujo y muestreo óptimas en el sistema *in vitro*, para lograr perfiles farmacocinéticos que representen un MADC con administración intravenosa.
5. Obtener los parámetros farmacocinéticos de los cursos temporales de concentración de ciprofloxacino en función del tiempo obtenidos a partir del compartimento central (Cp) en el sistema *in vitro*.
6. Obtener la ecuación que describa el comportamiento del fármaco como un modelo de dos compartimentos, para datos del compartimento central (datos plasmáticos) y del reservorio de eliminación (datos urinarios).

### III. Sustento teórico

El modelo de farmacocinética multicompartmental consiste en describir el destino de un fármaco en el organismo, representado como una entidad dividida en compartimentos. El fármaco que ingresa a un compartimento central (con o sin un proceso de absorción) se intercambia con compartimentos periféricos y se elimina irreversiblemente. La distribución del fármaco de un compartimento a otro se caracteriza por constantes de velocidad de transferencia. Cada compartimento, está caracterizado por su propio volumen de distribución. Los compartimentos, volúmenes y constantes no tienen una significación anatómica o fisiológica directa. Un compartimento implica varios órganos o tejidos y es cinéticamente homogéneo.

La distribución de un fármaco está relacionada con el flujo sanguíneo, los órganos y tejidos muy irrigados, alcanzan con gran rapidez su equilibrio de distribución con la sangre. Frecuentemente, la sangre y todos los fluidos y tejidos accesibles rápidamente por el fármaco, pueden tratarse cinéticamente como una unidad homogénea común, conocida como compartimento central. Los tejidos con poca perfusión sanguínea, sí se agrupan en un compartimento único son llamados compartimento periférico.

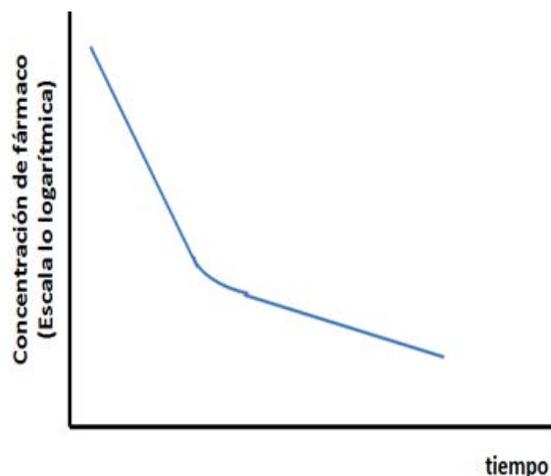
Un modelo abierto de dos compartimentos (MADC) con administración intravenosa, supone que los medicamentos se difunden con rapidez al compartimento central y con más lentitud al compartimento periférico, alcanzando un equilibrio entre éstos y presentando el proceso de eliminación a partir del compartimento central, tal como puede visualizarse en esquema 1.



**ESQUEMA 1.** Representación de un modelo abierto de dos compartimento, cuando la distribución del fármaco se presenta en un compartimento central y un compartimento periférico.

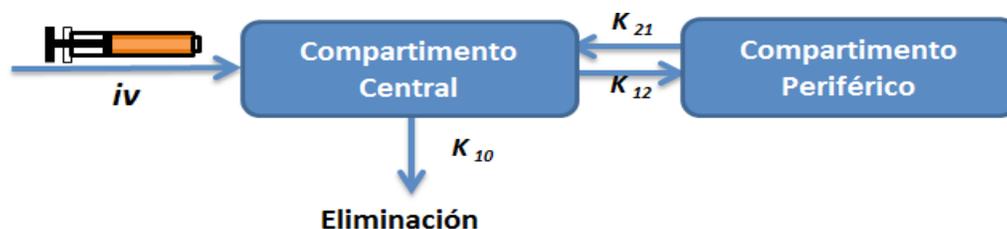
El perfil de concentración plasmática en función del tiempo del esquema 1, graficado en escala logarítmica, ilustrará una primera fase de descenso rápido de la concentración plasmática en el organismo; en este período, el descenso de los niveles plasmáticos es debido casi exclusivamente a la distribución del fármaco hacia los diferentes órganos más perfundidos (compartimento central), redistribuyéndose luego a los menos (compartimento periférico) que darán pauta a la visualización de la segunda fase, generando una función biexponencial (Figura 1). Los factores principales que gobiernan la velocidad de distribución de un fármaco y los lugares a los cuales se distribuye son el grado de unión a proteínas, características fisicoquímicas del fármaco y masa tisular y perfusión tisular.

Similar al modelo monocompartmental, se da por supuesto que la eliminación del fármaco, en los sistemas de dos compartimentos, ocurre con una cinética de primer orden a partir del compartimento central y presupone que la transferencia de fármaco entre los compartimentos corporales también se realiza mediante procesos de primer orden.



**FIGURA 1.** Perfil de la concentración plasmática en función del tiempo posterior a una administración intravenosa de fármaco, en un Modelo Abierto de Dos Compartimentos.

Las constantes de velocidad  $k_{12}$  y  $k_{21}$  del esquema 2, representan las constantes de velocidad de transferencia para el movimiento del fármaco del compartimento central 1 al compartimento periférico 2 y del compartimento periférico al compartimento central, respectivamente. Las constantes de transferencia son llamadas microconstantes y sus valores no pueden ser estimados directamente.



**ESQUEMA 2.** MADC, la velocidad de transferencia del compartimento 1 al compartimento 2 y del compartimento 2 al 1 se representan por las microconstantes  $K_{12}$  y  $K_{21}$ , respectivamente. La eliminación se realiza desde el compartimento central y su velocidad se describe por la constante  $K_{10}$ .

Para este modelo farmacocinético, las diferencias en la concentración de fármaco se refleja en la razón de  $k_{12}/k_{21}$ . Por lo tanto, la concentración en el compartimento periférico puede ser más alta o más baja que la concentración en plasma.

Existen tres tipos posibles de sistemas bicompartimentales, se diferencian entre sí por el hecho de que la eliminación se realiza en el compartimento central, en el compartimento periférico o en ambos, sin embargo, basándose en los datos experimentales de los que normalmente se dispone, estos modelos son matemáticamente indistinguibles, y el tratamiento matemático se realiza suponiendo que la eliminación se da solo por el compartimento central (esquema 2) como se mencionó anteriormente.

La constante de velocidad de eliminación del compartimento central es designada como  $k_{10}$  y la ecuación matemática que describe un modelo abierto de dos compartimentos es la ecuación 1.

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

Siendo:

$$A = \frac{D(\alpha - k_{21})}{V_{dc}(\alpha - \beta)} \quad \text{Ecuación 2}$$

y

$$B = \frac{D(k_{21} - \beta)}{V_{dc}(\alpha - \beta)} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$D$  = Dosis intravenosa.

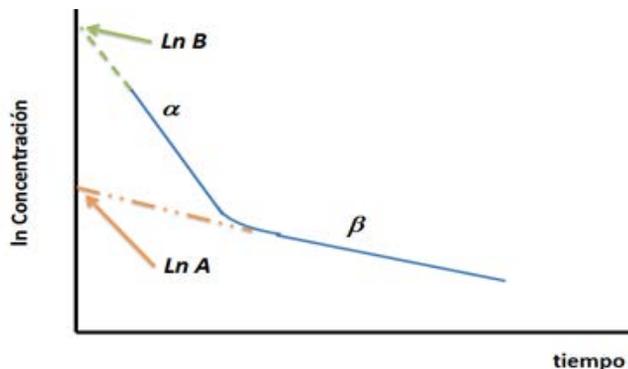
$V_{dc}$  = Volumen de distribución aparente en el compartimento central.

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

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

Las constantes  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de velocidad de la fase de distribución y disposición, respectivamente. La constante  $\beta$ , es función tanto de la eliminación ( $k_{10}$ ) como de la distribución y por definición la constante  $\alpha$  es mayor que  $\beta$ .

Las constantes  $B$  y  $\beta$ , son términos que pueden ser calculados directamente a partir del gráfico de concentración logarítmica en función del tiempo, como puede observarse en la figura 2. En tanto el valor de  $A$  y  $\alpha$  pueden ser determinados aplicando el método de residuales.



**FIGURA 2.** Perfil del logaritmo natural de la concentración plasmática en función del tiempo posterior a una administración intravenosa de fármaco en un MADC, a partir del cual se pueden determinar las constantes  $A$ ,  $B$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ .

La determinación de las constantes de la contribución relativa de los procesos de distribución y de eliminación del perfil de la concentración de un medicamento respecto al tiempo  $K_{12}$ ,  $K_{21}$  y  $K_{10}$ , pueden ser determinadas con las siguientes ecuaciones:

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{10} \quad \text{Ecuación 4}$$

$$k_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A+B} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$k_{10} = \frac{\alpha\beta}{k_{21}} \quad \text{Ecuación 6}$$

#### IV. RECURSOS MATERIALES

1. Reactivo:
  - A. Sustancia de Referencia de clorhidrato de ciprofloxacino.
2. Medicamento:
  - A. Solución inyectable de 200 mg/100 mL de clorhidrato de ciprofloxacino.
3. Materiales:
  - A. Gradilla para tubo de ensaye.
  - B. Tubos de ensayo 13 x 150 mm.
  - C. Dos agitadores magnéticos de ½ pulgada.
  - D. Matraces volumétricos de diversos volúmenes.
  - E. Vasos de precipitados de diversos volúmenes.
  - F. Pipetas graduadas de diversos volúmenes.
  - G. Probetas de vidrio de 1000 mL
  - H. Micropipeta de volumen variable de 200-1000 µL.
  - I. Puntas para micropipeta.

#### IV. RECURSOS MATERIALES

- J. Celdas para espectrofotómetro.
  - K. Jeringas 5 mL.
4. Sistema *in vitro* para MADC por vía *iv*.
- A. Una columna de vidrio de 2 litros.
  - B. Un Soporte universal.
  - C. Dos placas de agitación.
  - D. Un vaso de farmacocinética de 1000 mL (Vaso de precipitados de 1000 mL con salida lateral).
  - E. Un vaso de farmacocinética de 600 mL (Vaso de precipitados de 600 mL con salida lateral).
  - F. Vaso de precipitados de 400 mL.
  - G. Abrazadera con pinza de nuez.
  - H. Anillo de acero inoxidable con pinza de nuez.
  - I. Gato mecánico para laboratorio.
  - J. Bomba peristáltica Master Flex®.
5. Equipos e Instrumentos:
- A. Balanza analítica.
  - B. Espectrofotómetro Ultravioleta Visible.

## V. Método y descripción de técnicas

1. Control de calidad para la solución inyectable.

Las pruebas de control de calidad del medicamento en estudio, deben incluir mínimamente: aspecto y valoración del principio activo mismas que deben realizarse siguiendo los métodos descritos en la FEUM vigente. La metodología detallada para la ejecución de cada una de ellas debe incluirse en la bitácora general de trabajo y en las bitácoras individuales las que correspondan a cada estudiante integrante del equipo. El método de valoración deberá ser un método espectrofotométrico.

2. **Método** analítico para cuantificar el fármaco en estudio.

Describir en la bitácora general de trabajo, la metodología experimental para realizar la cuantificación del **fármaco** en el estudio de farmacocinética, el cual debe ser espectrofotométrico y planteado conforme a lo estipulado en la Norma NOM-177-SSA1 vigente. La metodología debe contemplar al menos los siguientes parámetros de desempeño:

A. Curva de calibración

B. Precisión

a) Repetibilidad

b) Reproducibilidad

C. Exactitud

D. Estabilidad de la muestra

Considerar que el intervalo de concentraciones propuesto para la curva de calibración, proporcione respuestas preferentemente entre 0.2 a 0.8 de absorbancia.

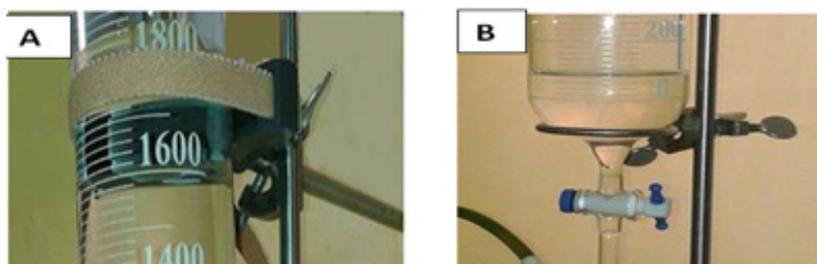
3. Montaje del sistema.

A. Colocar una placa de agitación sobre la base del gato mecánico y sobre ésta un vaso de farmacocinética de 600 mL que representará el compartimento periférico (vaso II de la figura 3).



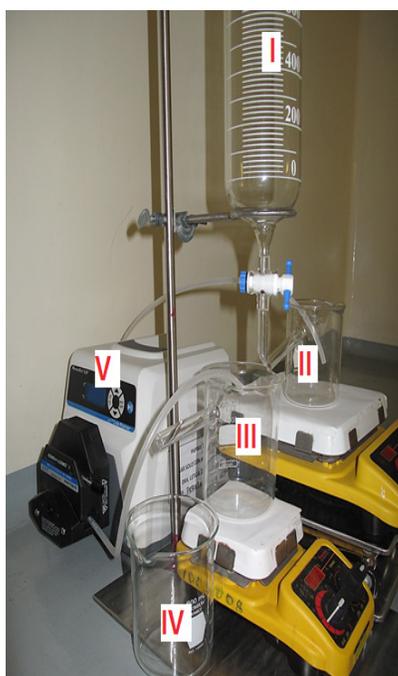
**FIGURA 3.** Compartimento periférico (vaso II) y compartimento central (vaso III) en el sistema *in vitro* para representar un MADC con administración intravenosa.

- B. Situar a un costado sobre el soporte universal la segunda placa de agitación y sobre ésta el vaso de farmacocinética de 1000 mL (compartimento central, vaso III en la figura 3). Verificar que su altura sea la adecuada para que el tubo lateral de desplazamiento quede por encima de la boca del vaso de farmacocinética de 600 mL (Figura 3). Usar el gato mecánico si es necesario.
- C. Fijar al soporte universal dos pinzas de laboratorio doble nuez a una distancia de 50 cm aproximadamente entre ellas. Colocar el anillo de acero inoxidable en la pinza doble inferior y la abrazadera asegurarla del mango con pinza restante. Sostener la columna de vidrio de 2 L con ambas manos e introducirla por la abrazadera y por el anillo de acero inoxidable, verificando que este fijamente sostenida (Figura 4).



**FIGURA 4.** Montaje de la columna en el soporte universal, usando la abrazadera (A) y el anillo de acero (B).

- D. Colocar la bomba peristáltica detrás de las placas de agitación e introducir los extremos de la manguera de la bomba, en los vasos de farmacocinética y situar un vaso de precipitados para recolecta de las excretas por debajo del compartimento central, como se observa en la figura 5.



**FIGURA 5.** Montaje del sistema *in vitro* para un MADC con administración intravenosa. Columna (I), permite la entrada de líquido en el compartimento central (III). Bomba peristáltica (V), que permite el flujo entre el compartimento central (III) y el compartimento periférico (II). Vaso de recolecta del fluido excretado del compartimento central (IV).

- E. Depositar una barra magnética en el vaso “II” y “III”. Agregar agua destilada en ambos vasos hasta el borde inferior de las respectivas salidas. Iniciar la agitación y verificar que no haya desplazamiento de volumen del vaso “II” a “III” y de “III” a “IV”.
- F. Iniciar el funcionamiento de la bomba peristáltica, como lo indica el PNO para el manejo y operación de la bomba peristáltica Master Flex®. Incrementar la velocidad de la bomba paulatinamente para que una vez que se encuentre recirculando el agua del vaso “II” al “III”, haya desplazamiento de agua entre ambos compartimentos, pero no haya desplazamiento de agua de “III” a “IV”.
- G. Llenar la columna con agua destilada y abrir la llave hasta alcanzar una velocidad de desplazamiento de 30 mL/min. Al iniciar la velocidad se observará el desplazamiento de fluido del compartimento central (vaso III) al reservorio de eliminación (vaso IV).

4. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.

- A. Una vez que se haya alcanzado la velocidad indicada en el inciso G del numeral anterior, coleccionar un volumen de 5 mL del vaso “III” y “IV” con ayuda de las jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados como tiempo cero del compartimento central y periférico respectivamente.
- B. Administrar la dosis intravenosa del fármaco (6 mL de solución inyectable de ciprofloxacino 200 mg/100 mL) en el compartimento central Figura 6). E iniciar el registro del tiempo.



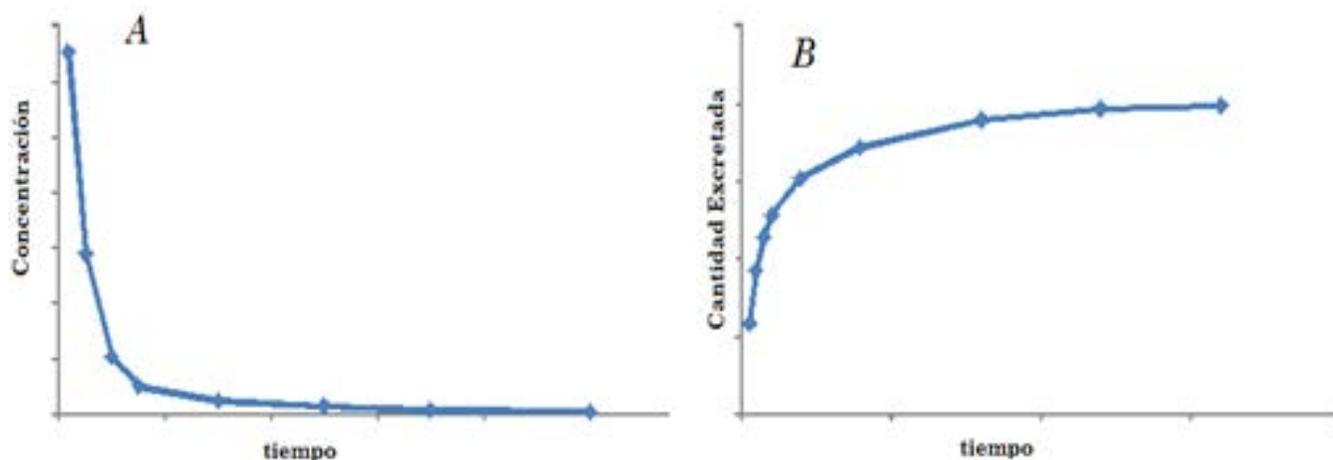
**FIGURA 6.** Administración de la dosis intravenosa en el compartimento central (vaso III) del sistema *in vitro* para un MADC.

- C. Colectar un volumen de 5 mL del vaso “III” y “IV” con ayuda de las jeringas de 5 mL (figura 7) y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados en los siguientes intervalos de tiempo: cada cinco en los siguientes 30 minutos y posteriormente cada 10 minutos hasta completar 120 minutos.
- D. Determinar la absorbancia de todas las muestras a la longitud de onda determinada en el método analítico previamente validado, haciendo y registrando las respectivas diluciones si fuera necesario. Obtener la concentración de ciprofloxacino en cada muestra por interpolación de la absorbancia en la curva de calibración respectiva.



**FIGURA 7.** Toma de muestra del compartimento del compartimento central y del vaso de excretas, con ayuda de jeringas, en un sistema *in vitro* para un MADC.

E. Graficar los datos correspondientes para el compartimento central (vaso III) y el reservorio de eliminación (vaso IV); para verificar si las condiciones de agitación y velocidad de desplazamiento de volumen son los adecuados para la descripción de un MADC con administración intravenosa (ver figura 8). De lo contrario realizar los ajustes necesarios en la velocidad de desplazamiento de agua y/o tiempos de muestreo.



**FIGURA 8.** Representación gráfica general de la concentración de fármaco (A) o cantidad excretada de fármaco (B) en función del tiempo para un MADC con administración intravenosa, obtenidos a partir de los muestreos realizados en el compartimento central (III) y el reservorio de eliminación(IV) respectivamente.

##### 5. Estudio Farmacocinético.

Posterior a realizar un nuevo montaje del sistema *in vitro* con las condiciones de flujo, agitación y tiempo de muestreo, definidas conforme lo descrito en los puntos 3 y 4 de este apartado respectivamente:

- A. Colectar un volumen de 5 mL del compartimento central y reservorio de eliminación con ayuda de la jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados como tiempo cero, antes de colocar la dosis del medicamento en el compartimento central.
- B. Depositar la dosis intravenosa del medicamento en el compartimento central e iniciar el registro del tiempo.
- C. Colectar volúmenes de 5 mL del compartimento central y del reservorio de eliminación, en tiempos definidos en el punto 4 de esta metodología y conforme se indica en el inciso A.
- D. Medir entre cada muestreo (intervalos de tiempo), el volumen total excretado en el reservorio de eliminación (vaso IV).
- E. Determinar las absorbancias de las diferentes muestras recolectadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- F. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada para las muestras recolectadas en el compartimento central y las cantidades de fármaco excretado para las muestras recolectadas en el compartimento de eliminación.

## VI. Presentación de resultados

Todos los resultados individuales obtenidos en cada etapa de desarrollo experimental deberán estar registrados en las bitácoras respectivas. Los resultados finales se concentrarán y presentarán en tablas y/o gráficos para facilitar la interpretación de los mismos en la bitácora general e informe final. La bitácora general, bitácoras individuales e informe serán entregados al profesor el término del proyecto, conforme a lo estipulado en el MLB numeral IV, número.

### 1. Control de Calidad.

- A. El concentrado de los resultados se presentará en forma tabulada, conteniendo información acerca del nombre del ensayo, su resultado y su respectiva especificación (la cual deberá estar correctamente referenciada).
- B. Deben anexarse los respectivos espectogramas, imagen de la cromatoplacas y/u otra imagen que soporte cuando aplique el resultado presentado. El cuadro B1 del anexo B, puede ser usado como guía para la presentación de resultados de este numeral.

### 2. Método analítico para cuantificar el fármaco.

- A. Presentar el concentrado de los resultados conforme al cuadro B2 del Anexo B.
- B. Presentar el gráfico de respuesta medida versus concentración de clorhidrato de ciprofloxacino y los espectogramas correspondiente para la evaluación del parámetro de selectividad.

### 3. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.

Presentar el registro de:

- A. Las condiciones finales de velocidad de desplazamiento de volumen a partir de la columna.
- B. El volumen final contenido en el compartimento central y periférico establecidas para el estudio farmacocinético.
- C. La velocidad usada en la bomba peristáltica para la entrada/salida de volumen entre el compartimento central y periférico.
- D. Los tiempos de muestreo.

### 4. Estudio Farmacocinético.

A. Para los datos del compartimento central (vaso III) presentar:

- a) Los registros tabulados de las absorbancias correspondientes a cada tiempo.
- b) Las concentraciones de fármaco obtenidas correspondientes a los tiempos muestreados.
- c) El gráfico de concentración de fármaco contra tiempo.
- d) El gráfico de logaritmo natural de fármaco contra tiempo.
- e) El cálculo de las siguientes constante  $\beta$  y  $\alpha$ , el valor de B y A correspondientes al intercepto de la líneas rectas al obtener las constantes  $\beta$  y  $\alpha$  respectivamente demás parámetros farmacocinéticos que apliquen.

B. Para los datos del reservorio de eliminación (vaso IV) presentar:

- a) Los registros tabulados de las absorbancias correspondientes a cada tiempo.
- b) Las concentraciones de fármaco obtenidas correspondientes a los tiempos muestreados.
- c) Los registros tabulados de tiempo, concentración y volumen recolectado en cada tiempo de muestreo.
- d) El grafico de concentración de fármaco contra tiempo.
- e) El gráfico de cantidad excretada en función del tiempo.
- f) El cálculo de las constante;  $K_{12}$ ,  $K_{21}$ ,  $K_{10}$  y constante de excreción obtenidas por el método de sigma menos y/o velocidades promedio según aplique.

## VII. Evaluación

La evaluación al cumplimiento de este protocolo se realizará de acuerdo a lo establecido en la Segunda Parte de las Consideraciones Generales, de este Manual, en el numeral 3. Criterios de Evaluación, los cuales incluyen:

1. Lo descrito en el punto “V. *Evaluación del Laboratorio*” del MLB.
2. La entrega de la evaluación diagnóstica específica para este proyecto antes de iniciar las sesiones prácticas.
3. Los aspectos contenidos en las rubricas: presentación oral de proyectos (Seminarios), bitácora general de trabajo, bitácora individual de trabajo, trabajo individual y cartel (Anexo A de este manual).

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Clark B, Smith AD. Introducción a la farmacocinética. Acribia: España; 1989.
2. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Reverté, España; 1982.
3. Greenblatt JD, Shader RI. Pharmacokinetics in Clinical Practice. Saunders Company: Philadelphia; 1985.
4. Gumtow RH, Proudfoot J, Talada A. An *in vitro* pharmacokinetic system for use in the undergraduate pharmaceuticals laboratory -a one-compartment and 2-compartment pharmacokinetic Bench Model, the glassman patient. American Journal of Pharmaceutical Education 1998; 52(2): 117-121.
5. Hedaya MA. Basic Pharmacokinetics, 2th Ed. CRC Press: New York; 2012.
6. Shargel L, Yu BCA. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 3th Ed. Appleton & Lange: Connecticut; 1992.
7. Smith DA, van de Waterbeemd H, & Walker DK. Pharmacokinetics and metabolism in drug design. Wiley-VCH: Weinheim ; 2001.
8. Wagner GJ. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist. Technomic Publishing Company: Lancaster; 1993.



# Farmacocinética *in vitro* por Modelo Abierto de Dos Compartimentos para Ciprofloxacino en administración por infusión intravenosa corta

## I. Objetivo general

Determinar el comportamiento farmacocinético *in vitro* por modelo abierto de dos compartimento para una administración intravenosa por infusión corta de ciprofloxacino.

## II. Objetivos particulares

1. Estimar los requisitos mínimos de calidad farmacéutica como producto terminado de la forma farmacéutica intravenosa.
2. Determinar la confiabilidad del método espectrofotométrico para la cuantificación del principio activo de interés contenido en forma farmacéutica intravenosa.
3. Representar en un sistema *in vitro* el modelo farmacocinético dos compartimentos, para una administración intravenosa por infusión corta.
4. Definir las condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*, para lograr perfiles farmacocinéticos que representen un modelo abierto de dos compartimentos (MADC) para una administración intravenosa por infusión corta.
5. Obtener el perfil de concentración contra tiempo del principio en posterior a una administración intravenosa por infusión corta.
6. Concluir al respecto de los resultados obtenidos.

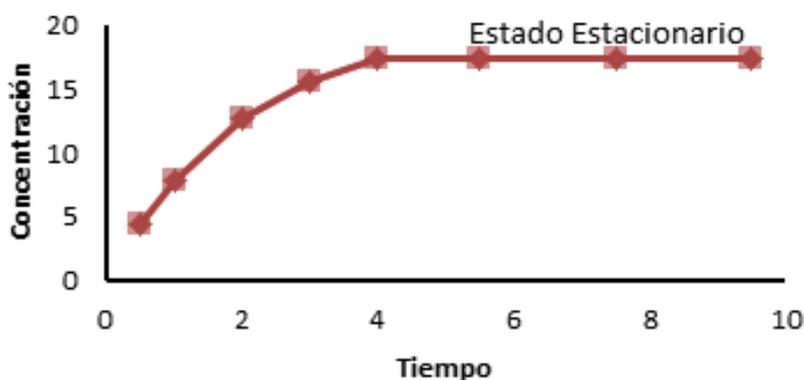
### III. Sustento teórico

Cuando la administración de un fármaco se realiza de forma repetida ya sea por vía intravenosa u oral, las concentraciones plasmáticas de fármaco en el organismo presentan fluctuaciones, que pueden provocar situaciones desfavorables. Una alternativa ante esta situación es administrar el medicamento por vía intravenosa de forma continua y así lograr mantener constante la concentración de fármaco en el organismo.

La administración de un medicamento por infusión intravenosa (*iv*) a velocidad constante se utiliza generalmente en pacientes hospitalizados para producir el efecto terapéutico de los fármacos durante un período de tiempo prolongado. Tal es el caso de fármacos anestésicos o para estabilizar las condiciones del paciente, como en el caso de los fármacos vasodilatadores, broncodilatadores inotrópicos.

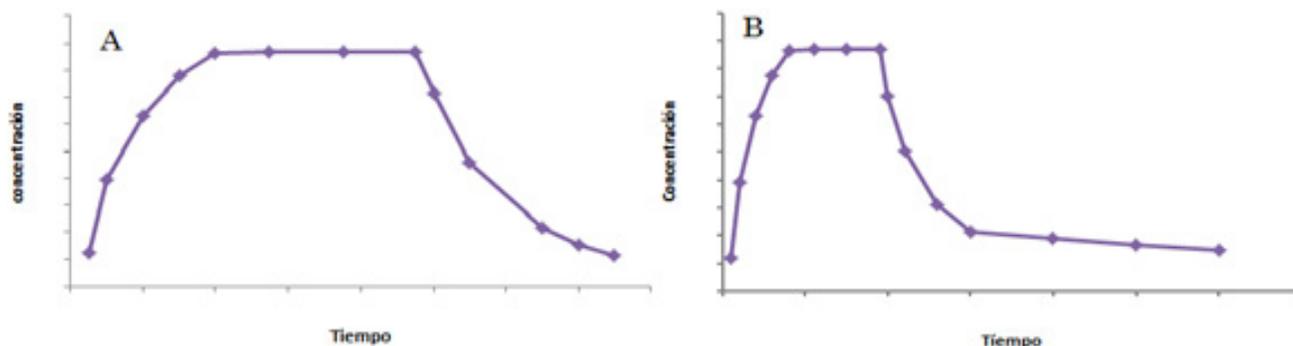
La administración de un fármaco por infusión *iv* puede realizarse de forma corta: con un tiempo de administración menor al valor de cinco vidas medias del fármaco o prolongada: con un tiempo de administración mayor al valor de cinco vidas medias del fármaco.

En la administración de fármaco por infusión *iv*, el proceso de entrada del fármaco una vez que inicia la administración es un proceso de orden cero y la eliminación del organismo es un proceso de orden uno. Observándose en el organismo que, si la administración del fármaco se prolonga por más de cinco a seis veces de la vida media de eliminación del fármaco, se alcanza el estado de equilibrio, llamado también estado estacionario (EE). El EE es el resultado de la entrada del fármaco al organismo con un proceso de orden cero y la eliminación del mismo en un proceso de orden uno. Donde la concentración plasmática del fármaco aumenta uniformemente y la eliminación al inicio de la administración es lenta, debido a la baja concentración plasmática ( $C_p$ ) del fármaco, pero luego aumentara hasta alcanzar una velocidad máxima igual a la velocidad de entrada ( $K_0$ ). En este punto se alcanza el estado de equilibrio estacionario (Figura 1), donde la  $C_p$  permanecerá constante tanto tiempo como dure la infusión y no se altere la  $K_0$ .



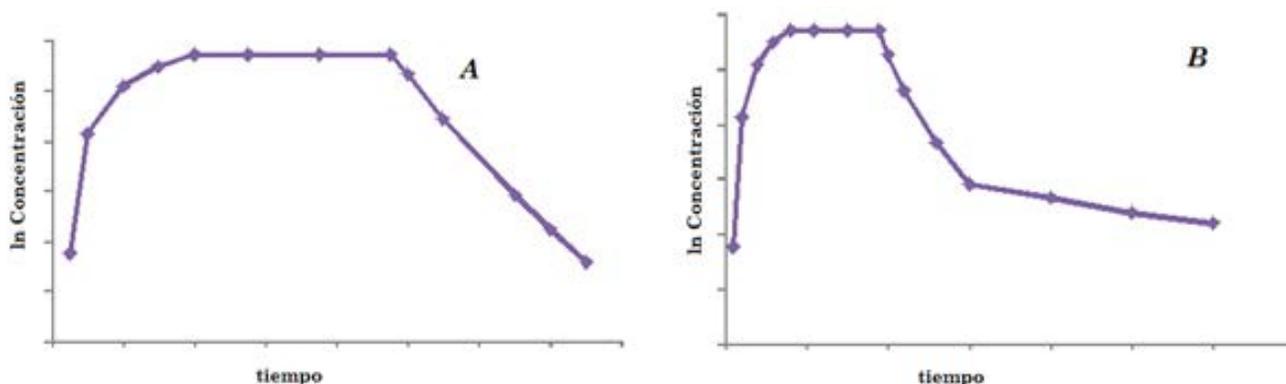
**FIGURA 1.** Representación del estado de equilibrio de las concentraciones plasmáticas de un fármaco en función del tiempo, observado cuando el fármaco es administrado por una infusión intravenosa larga.

Tras el término de la infusión *iv* se logre o no el EE, se inicia la disminución de la concentración del fármaco ( $C_p$ ) a una velocidad dependiente de la velocidad de eliminación del fármaco. Como la velocidad de eliminación del fármaco sigue una cinética de orden uno, las  $C_p$  de éste disminuyen en forma exponencial para un comportamiento farmacocinético de un compartimento (Figura 2A) o biexponencial para un fármaco que se tiene una farmacocinética de dos compartimentos. (Figura 2B).



**FIGURA 2.** Perfil de concentración plasmática contra tiempo durante y después de la terminación de un fármaco por infusión intravenosa continua, en un modelo de un compartimento (A) y un modelo de dos compartimentos (B).

Si las concentraciones de fármaco en función del tiempo se presentan en una escala logarítmica (figura 3), la fase de eliminación del fármaco se mostrara de forma lineal, pudiendo estimarse la constante de velocidad de eliminación del fármaco y su correspondiente vida media, para un fármaco en un modelo de un compartimento (figura 3A). En tanto para un fármaco con comportamiento bicompartimental la  $C_p$  reflejara dos cambios de fases o tramos, donde en la primera fase todavía no se visualiza una relación lineal y se conoce como la fase distributiva (también llamada de disposición rápida del fármaco) de la curva y la segunda fase en la cual sí existe una relación lineal (figura 3B), es denominada fase post-distributiva de la curva o fase de disposición lenta del fármaco.



**FIGURA 3.** Perfil del logaritmo natural de la concentración en función del tiempo durante y después de la terminación de la administración por infusión intravenosa continua de un fármaco en un modelo de un compartimento (A) y en un modelo de dos compartimentos (B).

El MADC con administración por infusión intravenosa podemos representarlo como el esquema 1.



**ESQUEMA 1.** MADC con administración por infusión intravenosa a una velocidad  $K_0$ . La velocidad de transferencia del compartimento 1 (central) al compartimento 2 (periférico) y del compartimento 2 al 1 se representan por las microconstantes  $K_{12}$  y  $K_{21}$ , respectivamente. La eliminación se realiza desde el compartimento central y su velocidad se describe por la constante  $K_{10}$ .

Conforme al esquema 1, la eliminación del fármaco ( $K_{10}$ ), ocurre con una cinética de primer orden solo a partir del compartimento central y presupone que la transferencia de fármaco entre los compartimentos corporales también se realiza mediante procesos de primer orden. Las constantes de velocidad  $k_{12}$  y  $k_{21}$ , representan las constantes de velocidad de transferencia para el movimiento del fármaco del compartimento central 1 al compartimento periférico 2 y del compartimento periférico al compartimento central, respectivamente, dichas constantes de transferencia son llamadas microconstantes y sus valores no pueden ser estimados directamente. En tanto la velocidad de entrada del fármaco al organismo, está representada por la constante de infusión  $K_0$ .

La ecuación que describe la evolución temporal del fármaco en el plasma durante una infusión intravenosa y después de terminada ésta. Para un MADC con una velocidad de administración por infusión se presenta en su forma desarrollada en la ecuación 1, y en forma resumida en la ecuación 2.

$$C_p = \frac{K_0(K_{21} - \alpha)(1 - e^{-\alpha\tau})}{Vd_c\alpha(\alpha - \beta)} e^{-\alpha\tau} + \frac{K_0(\beta - K_{21})(1 - e^{-\beta\tau})}{Vd_c\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta\tau} \quad \text{Ecuación 1}$$

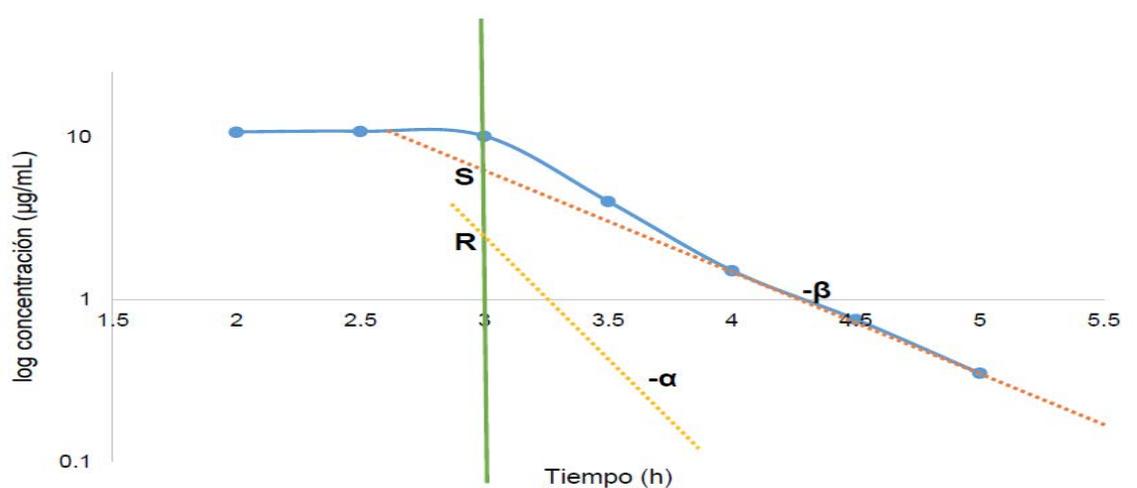
$$C_p = R e^{-\alpha\tau} + S e^{-\beta\tau} \quad \text{Ecuación 2}$$

Siendo

$$R = \frac{K_0(\alpha - K_{21})}{Vd_c(\alpha - \beta)} \frac{(1 - e^{-\alpha\tau})}{\alpha} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$S = \frac{K_0(K_{21} - \beta)}{Vd_c(\alpha - \beta)} \frac{(1 - e^{-\beta\tau})}{\beta} \quad \text{Ecuación 4}$$

La determinación de las constantes  $\alpha$  y  $\beta$ , R y S puede realizarse a partir de los datos de la fase posterior a la infusión *iv* de la manera habitual, es decir, por el método de los residuales en la representación gráfica del logaritmo natural de las concentraciones en función del tiempo, como puede observarse en la Figura 4.



**FIGURA 4.** Representación de la fase posterior a la administración del fármaco por infusión intravenosa en un MADC, a partir de la cual, se pueden obtener las constantes  $\alpha$  y  $\beta$ , R y S.

#### IV. RECURSOS MATERIALES

1. Reactivo:
  - A. Sustancia de Referencia de clorhidrato de ciprofloxacino.
2. Medicamento:
  - A. Solución inyectable de clorhidrato de ciprofloxacino de 200 mg/100 mL.
3. Materiales:
  - A. Gradilla para tubo de ensayo.
  - B. Tubos de ensayo 13 x 150 mm.
  - C. Dos agitadores magnéticos de ½ pulgada.
  - D. Matracas volumétricos de diversos volúmenes.
  - E. Vasos de precipitados de diversos volúmenes.

#### IV. RECURSOS MATERIALES

- F. Probetas de vidrio de 1000 mL.
  - G. Micropipeta de volumen variable de 200-1000  $\mu$ L.
  - H. Puntas para micropipeta.
  - I. Celdas para espectrofotómetro.
  - J. Jeringas 5 mL.
4. Sistema *in vitro* para un MADC con administración por infusión *iv*.
- A. Columna de vidrio de 2 litros.
  - B. Soporte universal.
  - C. Dos placas de agitación.
  - D. Dos agitadores magnéticos de  $\frac{1}{2}$  pulgada.
  - E. Vaso de farmacocinética de 1000 mL (vaso de precipitados de 1000 mL con salida lateral).
  - F. Vaso de farmacocinética de 600 mL (vaso de precipitados de 600 mL con salida lateral).
  - G. Vaso de precipitados de 400 mL.
  - H. Abrazadera con pinza de nuez.
  - I. Anillo de acero inoxidable con pinza de nuez.
  - J. Bomba peristáltica Master Flex®.
  - K. Bomba de infusión Kd Scientific®.
5. Equipos e Instrumentos:
- A. Balanza analítica.
  - B. Espectrofotómetro ultravioleta visible.

## V. Método y descripción de técnicas

La descripción detallada para la ejecución de todos los métodos y/o técnicas que se empleen en este proyecto debe estar incluida en la bitácora general de trabajo y/o en las bitácoras individuales de cada estudiante, según corresponda. El método de valoración y cuantificación del principio activo en el estudio farmacocinético deberá ser un método espectrofotométrico.

### 1. Control de calidad para la solución inyectable.

Las pruebas de control de calidad del medicamento en estudio, deben incluir mínimamente: aspecto y valoración del principio activo mismas que deben realizarse siguiendo los métodos descritos en la FEUM vigente.

### 2. Método analítico para cuantificar el fármaco en estudio.

Describir en la bitácora general de trabajo la metodología experimental a realizar para la cuantificación el fármaco en el estudio de farmacocinética, el cual debe ser espectrofotométrico y planteado conforme a lo estipulado en la Norma NOM-177-SSA1 vigente. La metodología debe contemplar al menos los siguientes parámetros de desempeño:

#### A. Curva de calibración

#### B. Precisión

a) Repetibilidad

b) Reproducibilidad

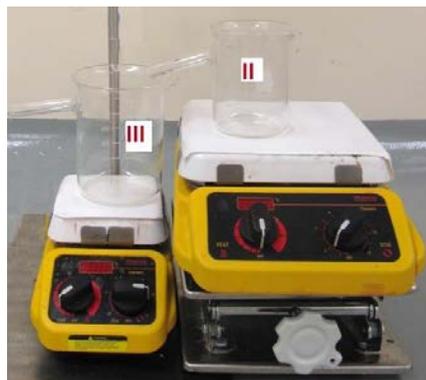
#### C. Exactitud

Tener presente que el intervalo de concentraciones para la curva de calibración, proporcione respuesta preferentemente entre 0.2 a 0.8 de absorbancia.

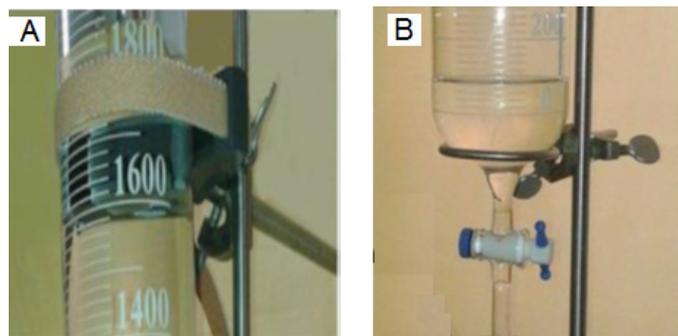
### 3. Montaje del sistema.

A. Situar los vasos de farmacocinética de 600 y 100 mL (compartimento periférico y central respectivamente) sobre las placa de agitación, gato mecánico y soporte universal como se muestra en la Figura 5. Verificar que el tubo lateral de desplazamiento del vaso de farmacocinética de 600 mL (compartimento periférico) quede por encima de la boca del vaso de farmacocinética de 1000 mL (compartimento central). Usar el gato mecánico si es necesario.

B. En el soporte universal fijar dos pinzas de laboratorio doble nuez a una distancia entre ellas de 50 cm aproximadamente. Sostener en la pinza superior la abrazadera y en la inferior el anillo de acero inoxidable. Colocar la columna de 2 L introduciendo la misma por la abrazadera y por el anillo de acero inoxidable, con la finalidad que quede sostenida sobre éstos, como se muestra en la figura 6.

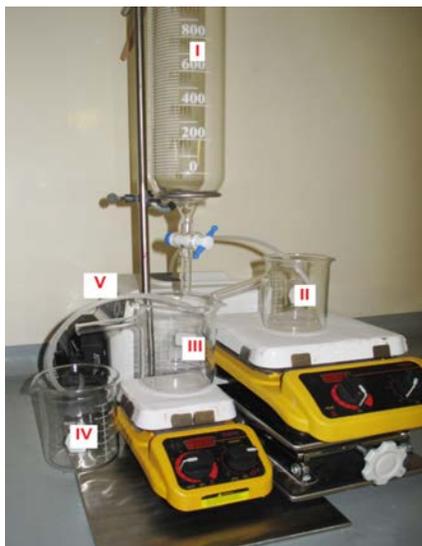


**FIGURA 5.** Compartimento periférico (vaso II) y compartimento central (vaso III) en el sistema *in vitro* para representar un MADC con administración intravenosa.



**FIGURA 6.** Montaje de la columna en el soporte universal, usando la abrazadera (A) y el anillo de acero (B).

- C. Introducir los extremos de la manguera de la bomba peristáltica, en los vasos de farmacocinética y colocar un vaso de precipitados de 400 ml por debajo de la salida del vaso de farmacocinética de 1000 mL, como se observa en la figura 7.
- D. Depositar una barra magnética en el vaso “II” y “III”. Agregar agua destilada en ambos vasos hasta el borde inferior de las respectivas salidas. Iniciar la agitación y verificar que no haya desplazamiento de volumen del vaso “II” a “III” y de “III” a “IV”.
- E. Iniciar el funcionamiento de la bomba peristáltica, como lo indica el PNO para el manejo y operación de la bomba peristáltica Master Flex®. Incrementar la velocidad de la bomba paulatinamente para que una vez que se encuentre recirculando el agua del vaso “II” al “III”, haya desplazamiento de agua entre ambos, pero no haya desplazamiento de agua del vaso “III” al vaso “IV”.
- G. Llenar la columna con agua destilada y abrir la llave hasta alcanzar una velocidad de desplazamiento de 30 mL/min. Al iniciar la velocidad se observará el desplazamiento de fluido del compartimento central (vaso III) al reservorio de eliminación (vaso IV).



**FIGURA 7.** Montaje del sistema *in vitro* para un MADC. Columna (I), permite la entrada de líquido en el compartimento central (III). Bomba peristáltica (V), que permite el flujo entre el compartimento central (III) y el compartimento periférico (II). Vaso de recolecta del fluido excretado del compartimento central (IV).

H. Verificar antes de incorporar al sistema, el funcionamiento y velocidad de infusión seleccionada para la administración del fármaco (12 mg de ciprofloxacino en 30 min) en la bomba de infusión Kd Scientific®, ®, siguiendo las instrucciones indicadas en el PNO de la bomba de infusión Kd Scientific®).

4. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.

A. Una vez que se haya alcanzado la velocidad indicada en el inciso G del numeral anterior, colectar un volumen de 5 mL del vaso “III” con ayuda de las jeringas de 5 mL y depositar el volumen en tubos de ensayo previamente etiquetados como tiempo cero del compartimento central.

B. Incorporar al sistema la bomba de infusión (previamente programada con la velocidad de infusión definida en inciso H del numeral 3, montaje del sistema), al ubicar ésta lo más cercano posible del compartimento central, de tal forma que la manguera que dispensará el medicamento quede introducida dentro del compartimento central, tal como se visualiza en la figura 8.

C. Una vez montado todo el sistema *in vitro*, administrar por infusión a una velocidad de 20 mL/h la dosis del fármaco en el compartimento central (vaso III en la figura 8) e iniciar el registro del tiempo.

D. A los 2 minutos de iniciada la administración del fármaco recolectar un volumen de 5 mL del compartimento central (vaso III de la figura 8) y depositar el volumen en el tubo de ensayo previamente etiquetado. Proseguir los muestreos cada dos minutos hasta complementar 30 minutos, cada cinco minutos en los siguientes 20 minutos y posteriormente cada 10 minutos hasta completar 120 minutos.



**FIGURA 8.** Administración del fármaco por infusión a través de la bomba de infusión (VI), al compartimento central (III).

- E. Determinar las absorbancias de las diferentes muestras recolectadas en el espectrofotómetro en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
  - F. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.
  - G. Graficar los datos (concentración de ciprofloxacino vs tiempo) correspondientes. Verificar si las condiciones de agitación y velocidad de desplazamiento de volumen de agua del vaso III al IV, la velocidad recirculación entre los vasos II y II y la velocidad de infusión, son los adecuados para la descripción del modelo, es decir un comportamiento similar al mostrado en la figura 2B. De no ser así, realizar los ajustes necesarios en la agitación, velocidad de desplazamiento de agua, tiempos de muestreo y/o velocidad de infusión, hasta alcanzar el objetivo.
5. Estudio Farmacocinético
- A. Posterior a realizar el montaje del sistema *in vitro* con las condiciones de flujo y agitación definidas conforme lo descrito en los puntos 3 y 4 de este apartado respectivamente.
  - B. Colectar un volumen de 5 mL del vaso “III” con ayuda de la jeringas de 5 mL y depositar el volumen en el tubo de ensayo etiquetado como tiempo cero, antes de iniciar la administración del medicamento por infusión en el compartimento central “III”.
  - C. Iniciar la infusión de la dosis intravenosa del medicamento (12 mg/30 min) a la velocidad definida en el punto cuatro de este apartado, e iniciar el registro del tiempo.
  - D. Colectar en los tiempos estipulados un volumen de 5 mL del compartimento central I con ayuda de las jeringas de 5 mL. Depositar los volúmenes recolectados en tubos de ensayo previamente etiquetados

- E. Determinar las absorbancias en el espectrofotómetro de las diferentes muestras recolectadas, en la longitud de onda establecida en el punto 2 de esta metodología, usando agua como blanco de ajuste.
- F. Obtener las concentraciones de las diferentes muestras recolectadas, haciendo uso de la curva de calibración previamente validada.

## VI. Presentación de resultados

Una vez obtenido los resultados individuales de cada etapa de desarrollo experimental, concentrar y presentar los mismos en tablas y/o gráficos, para facilitar la interpretación de los mismos. Cuando los datos numéricos sean el promedio de “n” determinaciones, presentar sus respectivas dispersiones para cada punto graficado, ya sea como desviación estándar o por ciento de coeficiente de variación. Para el caso de:

### 1. Control de Calidad.

El concentrado de los resultados sí se presenta acorde al cuadro 1 del anexo A de este manual. También deberán anexarse cuando aplique, los respectivos espectogramas, imagen de la cromatoplacas y/u otra imagen que soporte el resultado presentado.

### 2. Método analítico para cuantificar el fármaco disuelto.

Además de presentar el concentrado de los resultados conforme al cuadro B2 del anexo B de este manual, se deberán presentar los datos de linealidad en gráficos de Concentración de ciprofloxacino versus respuesta medida y el o los espectogramas correspondientes para la evaluación de la selectividad, si fue realizada.

### 3. Condiciones de flujo y muestreo en el sistema *in vitro*.

Presentar el registro de:

- A. Las condiciones finales de velocidad de desplazamiento de volumen a partir de la columna.
- B. El volumen final contenido en el vaso “III” y “II” establecidas para el estudio farmacocinético.
- C. La velocidad usada en la bomba peristáltica para la entrada/salida de volumen entre el compartimento central y periférico
- D. La velocidad de infusión usada para la administración del fármaco y la dosis del mismo.
- E. Los tiempos de muestreo.

### 4. Estudio Farmacocinético.

Para el compartimento central (vaso “III”) presentar:

- A. Los registros tabulados de las absorbancias correspondientes a cada tiempo.
- B. Las concentraciones de fármaco obtenidas correspondientes a los tiempos muestreados.
- C. El gráfico de concentración de fármaco contra tiempo, obtenidas en todos los tiempos muestreados (de 0 a 120 minutos).
- D. El gráfico de concentraciones de fármaco contra tiempo, obtenidas al término de la infusión (de 30 a 120 minutos).
- E. El gráfico del logaritmo natural de las concentraciones de fármaco contra tiempo, obtenidas al término de la infusión (de 30 a 120 minutos).
- F. El cálculo de los siguientes parámetros obtenidos a partir de los datos al término de la infusión: constante  $\beta$ , constante  $\alpha$ , vida media de  $\beta$  y vida media de  $\alpha$  y los términos R y S.

## VII. Evaluación

La evaluación al cumplimiento de este protocolo se realizará de acuerdo a lo establecido en la Segunda Parte de las Consideraciones Generales, de este Manual, en el numeral 3. Criterios de Evaluación.

### VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bonate LP, Howard RD. Pharmacokinetics in Drug Development. Clinical Study Design and Analysis. AAPA, USA, 2004.
2. Dhillon S, Kostrzewski. Clinical Pharmacokinetics. Pharmaceutical Press, London; 2006.
3. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Reverté, España; 1982.
4. Shargel L, Yu A, Wu-Pong s. Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Sixth Edition. McGraw-Hill Education / Medical, USA; 2012.
5. Smith DA, van de Waterbeemd H, Walker DK. Pharmacokinetics and metabolism in drug design. Wiley-VCH: Weinheim; 2001.
6. Wagner GJ. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist. Technomic Publishing Company, Lancaster; 1993.

## **Anexo A Lista de cotejo**





Universidad Nacional Autónoma de México  
 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
**Proyectos Experimentales de Farmacocinética *in vitro***  
**en el Laboratorio de Biofarmacia**



Lista de Cotejo para Presentación Oral del Protocolo (Seminario)

No. de equipo \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Integrantes: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Evalúe de acuerdo a la siguiente ponderación, los aspectos observados en la presentación oral del protocolo en el Seminario.

Ponderación: 5 = No cumple, 6-7 = Suficiente, 8-9 = Bien, 10 = Muy Bien.

Aspectos a observar y evaluar	Calificación	Comentarios
Presentación del "resumen de presentación" de acuerdo a lo estipulado (anexo 2 del MPLB) en fecha y hora establecida.		
Formato establecido (anexo 2 de MPLB).		
Relevancia del proyecto.		
Datos relevantes y trascendentes del tema.		
Secuencia lógica del tema.		
Análisis de los resultados.		
Ortografía.		
Ilustraciones y referencias bibliográficas.		

**A1** Lista de Cotejo para la presentación oral de proyecto.



Universidad Nacional Autónoma de México  
 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
**Proyectos Experimentales de Farmacocinética *in vitro***  
**en el Laboratorio de Biofarmacia**



Lista de Cotejo para Bitácora General de Trabajo (Equipo)

No. de equipo \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Integrantes: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Evalúe de acuerdo a la siguiente ponderación los aspectos observados en la presentación de la Bitácora general de trabajo por equipo.

Ponderación: 5 = No cumple, 6-7 = Suficiente, 8-9 = Bien, 10 = Muy Bien.

Aspectos a observar y evaluar	Calificación	Comentarios
Presentación en la fecha y hora establecida.		
Cumple con el formato establecido en el MPLB y lo especificado para bitácoras de trabajo según el PNO llenado de bitácoras de TF.		
Contiene información actualizada, relevante, trascendente y de profundidad requerida para el proyecto asignado.		
Cuenta con revisión bibliográfica reciente y acorde al proyecto asignado.		
Existe orden en el documento.		
Hay congruencia del contenido y desarrollo del proyecto con los objetivos a desarrollar.		
Ortografía.		

**A2** Lista de Cotejo para la Bitácora General de Trabajo.



Universidad Nacional Autónoma de México  
 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
**Proyectos Experimentales de Farmacocinética *in vitro***  
**en el Laboratorio de Biofarmacia**



Lista de Cotejo para Bitácora Individual de Trabajo

No. del alumno \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Evalúe de acuerdo a la siguiente ponderación los aspectos observados en la presentación de la Bitácora individual de trabajo.

Ponderación: 5 = No cumple, 6-7 = Suficiente, 8-9 = Bien, 10 = Muy Bien.

Aspectos a observar y evaluar	Calificación	Comentarios
Se le presenta al profesor cada que le es requerida.		
Cumple con el formato establecido en el MPLB y lo especificado para bitácoras de trabajo según el PNO llenado de bitácoras de TF.		
Presenta la información mínima requerida para sustentar el registro de la actividad experimental a desarrollar.		
Registro adecuado de fecha, observaciones, datos o resultados en la bitácora de trabajo.		
Relevancia y trascendencia para las actividades experimentales asignadas en el proyecto de las observaciones, datos o resultados.		
Registros claros y con ortografía correcta.		

**A3** Lista de Cotejo para la Bitácora Individual de Trabajo.



Universidad Nacional Autónoma de México  
 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
**Proyectos Experimentales de Farmacocinética *in vitro***  
**en el Laboratorio de Biofarmacia**  
 Lista de Cotejo para el Trabajo Individual



No. del alumno \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Evalúe de acuerdo a la siguiente ponderación los aspectos observados en la sesión experimental correspondiente dentro del laboratorio.

Ponderación: 5 = No cumple, 6-7 = Suficiente, 8-9 = Bien, 10 = Muy Bien.

Aspectos a observar y evaluar	Calificación					Observaciones
	Sesión					
	1	2	3	4	5	
Cumple con las medidas de seguridad.						
Utiliza adecuadamente los materiales y reactivos de laboratorio y/o planta piloto.						
Muestra conocimiento, habilidad y destreza en el uso correcto de equipos e instrumentos de laboratorio y/o planta piloto.						
El área de trabajo está identificada, ordenada y limpia.						
Muestra capacidad de trabajo en equipo.						
Responde a cuestionamientos sobre el por qué de diferentes actividades con sustento científico, apoyados en objetivos y conocimientos teóricos.						
Registra los resultados y/o cálculos obtenidos de forma adecuada y oportuna en la sesión de trabajo.						
Promedio						
Promedio final						

**A4** Lista de cotejo el Trabajo Individual en el laboratorio.



Universidad Nacional Autónoma de México  
 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
**Proyectos Experimentales de Farmacocinética *in vitro***  
**en el Laboratorio de Biofarmacia**



Lista de Cotejo para Cartel

No. de equipo \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Integrantes: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Evalúe de acuerdo a la siguiente ponderación los aspectos observados en la presentación del Cartel.

Ponderación: 5 = No cumple, 6-7 = Suficiente, 8-9 = Bien, 10 = Muy Bien.

Aspectos a observar y evaluar	Calificación	Comentarios
Cumple con el formato para la realización de un cartel según el procedimiento normalizado correspondiente.		
Presenta los resultados relevantes y concluyentes del protocolo.		
Expone la relevancia del protocolo a través del contenido y el diseño de éste es atractivo al lector.		
Presenta secuencia lógica y ordenada de la información.		
Presenta ortografía correcta.		

**A5** Lista de Cotejo para el cartel.



## **Anexo B Cuadros**



## CB1 Resumen de Control de Calidad.

Control de Calidad		
<b>Activo</b>		<b>Forma farmacéutica</b>
<b>Lote</b>		<b>Marca comercial</b>
<b>Fecha de caducidad</b>		<b>Referencia</b>
<b>Observaciones</b>		
<b>Ensayo</b>	<b>Resultado</b>	<b>Especificación</b>
<b>Analista (s)</b>	Indique el nombre o nombre de los analistas involucrados.	
<b>Fecha de realización</b>	Indique el intervalo de fechas en que fue realizada la validación.	
<b>Lugar de Realización</b>	<b>Laboratorio de Biofarmacia, Planta Piloto Farmacéutica, FES Zaragoza.</b>	

**CB2** Resumen de Validación.

Validación			
<b>Método</b>	Indicar el nombre del método analítico		
Instrumento/Equipo	Indique el nombre del instrumento o equipo volumétrico usado en la validación		
Referencia	Indique que la referencia bibliográfica del método involucrado		
Observaciones	Indique alguna observación, cuando aplique		
<b>Condiciones</b>	<b>Sustancia de Referencia</b>	<b>Medicamento</b>	
Indique el intervalo de concentraciones a realizar:	Nombre:	Nombre genérico:	
	Pureza:	Nombre comercial:	
	Número de lote:	Número de lote:	Fabricante:
<b>Validación</b>			
	<b>Criterio de Aceptación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Cumple*</b>
Curva de Calibración			
Precisión			
a. Repetibilidad LIC, MCB, MCM, MCA MCD			
b. Reproducibilidad LIC, MCB, MCM, MCA			
Exactitud LIC, MCB, MCM, MCA			
Selectividad			
* Si el parámetro se cumplió marque una "✓", de lo contrario marque una "X".			
<b>Analista (s)</b>	Indique el nombre o nombre de los analistas involucrados.		
<b>Fecha de realización</b>	Indique el intervalo de fechas en que fue realizada la validación.		
<b>Lugar de Realización</b>	<b>Laboratorio de Biofarmacia, Planta Piloto Farmacéutica, FES Zaragoza.</b>		



# Farmacocinética in vitro para el Laboratorio de Biofarmacia

**Dra. Leticia Cruz Antonio**  
**QFB. Irma Alejandre Razo**  
**Dra. Virginia Fragoso Ruiz**



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza,  
Campus I. Av. Guelatao No. 66 Col. Ejército de Oriente,  
Campus II. Batalla 5 de Mayo s/n Esq. Fuerte de Loreto. Col. Ejército de Oriente.  
Iztapalapa, C.P. 09230 México D.F.  
Campus III. Ex fábrica de San Manuel s/n, Col. San Manuel entre Corregidora y  
Camino a Zautla, San Miguel Contla, Santa Cruz Tlaxcala.

<http://www.zaragoza.unam.mx>

