



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de Química Farmacéutico Biológica

Área Bioquímica Clínica

Manual de Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos I

Fecha de aprobación: 13/01/2023
Vigente hasta: 13/01/2026



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	2/88

Listado de Profesores participantes

Autores primera versión:

QFB. Guadalupe Alejandra Aceves Rosas

M. en C. José Luis Balderas López

QFB. Ángeles García Fernández

MC. Amada López García

M en BRA. Evangelina López Nieto

QFI. Estela Valencia Plata

Autores versión actual:

QFB. Guadalupe Alejandra Aceves Rosas

M. en C. José Luis Balderas López

QFB. Ángeles García Fernández

MC. Amada López García

M en BRA. Evangelina López Nieto

QFI. Estela Valencia Plata

Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez

Revisores:

CD. Virginia Rocha Pérez

Dr. Gustavo Vidal Romero

Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	3/88

Índice

Introducción al Manual del Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos I-----	3
Objetivos del Manual de Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos I-----	4
Contenido-----	5
Práctica 1. Posología -----	5
Práctica 2. Manejo de la rata y ratón en el laboratorio de farmacología-----	10
Práctica 3. Perfil farmacocinético de la sulfacetamida sódica en conejo -----	20
Práctica 4. Distribución de la sulfacetamida sódica en rata -----	28
Práctica 5. Determinación de la ruta de eliminación principal de la sulfacetamida sódica en la rata -----	40
Práctica 6. Bioensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i> L-----	47
Práctica 7. Relación Dosis Respuesta Cuantal -----	55
Práctica 8. Relación Dosis-Respuesta Gradual -----	61
Práctica 9. Interacciones farmacológicas-----	68
Criterios de evaluación -----	74
Reglamento del laboratorio -----	77
Anexos -----	78
Anexo 1. Formularios -----	78
Formulario 1. Parámetros farmacocinéticos -----	78
Formulario 2. Cálculo del K_p Órgano/sangre -----	83
Formulario 3. Método <i>Sigma minus</i> -----	83
Formulario 4. Análisis Probit -----	85
Formulario 5. Índice terapéutico y margen estándar de seguridad-----	86
Formulario 6. Ecuación de Hill -----	87



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	4/88

Introducción al Manual del Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos I

El uso de sustancias para aliviar el sufrimiento ocasionado por padecimientos de enfermedades es inherente a la naturaleza humana. En un principio, los males fueron curados utilizando el pensamiento mágico mediante el uso de conjuros y pócimas. Sin embargo, la observación de algunos de nuestros predecesores los llevo a determinar que algunas plantas, ya sean las hojas, las flores, cortezas o raíces eran de utilidad para tratar algunas enfermedades.

Con el paso de los siglos el conocimiento sobre la utilidad de las sustancias para tratar patologías se fue perfeccionando hasta que surgió una ciencia específica. Así, la farmacología puede definirse como el estudio de las sustancias que interactúan con los seres vivos para alcanzar un efecto terapéutico sobre algún proceso en el paciente.

Durante el desarrollo de un medicamento, en los ensayos preclínicos el fármaco debe someterse a diversas pruebas para evaluar su eficacia y seguridad utilizando diversos modelos. La primera aproximación puede realizarse sobre cultivos celulares u órganos aislados para determinar si el fármaco tiene actividad, además estos modelos contribuyen a dilucidar la farmacodinamia del potencial fármaco. Si los resultados son satisfactorios, el fármaco puede ser escalado al uso en animales de laboratorio para conocer cómo se comporta en procesos como la absorción, distribución y eliminación; procesos conocidos como farmacocinética. Asimismo, se deben realizar exámenes toxicológicos para estudiar los posibles efectos negativos del fármaco durante la administración aguda y crónica.

En el laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos 1, se realizan prácticas que permiten a los alumnos evaluar de forma farmacométrica los procesos farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos involucrados en el desarrollo de fármacos y medicamentos. Además, permite consolidar de manera práctica los conceptos aprendidos en la parte teórica del módulo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	5/88

Objetivos del Manual de Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos I

- Demostrar experimentalmente los procesos farmacocinéticos de absorción, distribución y eliminación de fármacos.
- Demostrar experimentalmente los conceptos farmacodinámicos de eficacia y potencia, así como los tipos de agonistas y de antagonistas.
- Realizar cálculos farmacométricos de los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos utilizados durante la evaluación de fármacos y medicamentos.
- Consolidar los conocimientos adquiridos en la parte teórica del módulo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	6/88

Contenido

Práctica 1. Posología.

Objetivo

Conocer los procedimientos para el cálculo de dosificación de medicamentos, así como las principales vías de administración de fármacos.

Fundamento teórico

Existe una relación entre los efectos farmacológicos, ya sean terapéuticos o tóxicos, y la cantidad administrada del fármaco. Por esta razón, es importante calcular la cantidad necesaria, conocida como dosis, del medicamento para alcanzar un objetivo terapéutico y minimizar la posibilidad de toxicidad. La dosificación es la estimación de la dosis e intervalo de administración de un medicamento para producir o mantener una concentración terapéutica o una efectividad clínica. De este modo, la posología es la rama de la farmacología que estudia la dosificación.

Diversos factores pueden modificar la dosificación, entre los cuales se encuentran el peso corporal, la edad, la raza, el género, la constitución genética, la presencia de enfermedad renal o hepática, etc. También deben considerarse otros factores como los inherentes al fármaco y los inherentes a la vía de administración.

La vía de administración puede definirse como la ruta que se elige para que un fármaco alcance su sitio de acción. Tradicionalmente, se han dividido en dos clases mayores: enteral, referido al intestino, y parenteral, que significa diferente al intestino. Asimismo, se pueden clasificar dependiendo de si alcanzan la circulación sistémica o si actúan de forma local, también conocida como tópica. La vía de administración se elige de acuerdo con la velocidad con la que se quiere que actúe el fármaco, a sus características fisicoquímicas y al sitio de acción del fármaco.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	7/88

Por tanto, es indispensable ejercitarse en la resolución de cálculos comúnmente empleados tanto en el laboratorio de farmacología como en el desarrollo de medicamentos, así como en la práctica clínica. En esta sesión se resolverán problemas relacionados con las dosis a administrar en función de diversos factores como el peso corporal, concentración y especie animal, cálculos usuales en el laboratorio de farmacología. Además, se discutirán las vías de administración.

Material y reactivos

Ninguno.

Equipo

Videoprojector.

Servicios

Energía eléctrica.

Procedimiento

Resuelva el siguiente problemario:

1. Al realizar la lectura de una muestra en el espectrofotómetro, la lectura de esta fuera del margen de la curva estándar, por lo que se tiene que hacer diluciones. Indique como prepararía las diluciones 1:2, 1:5, y 1:10 de la muestra considerando que el volumen mínimo que lee el espectrofotómetro es de 5 mL.
2. Para preparar una solución de sulfacetamida, se disolvieron 2.38 g de sulfacetamida sódica en 100 mL de agua. ¿Cuál es la concentración en %p/v de sulfacetamidalibre?
3. Calcule las diluciones necesarias para obtener 100 mL de una solución de acetilcolina con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$ a partir de 200 mg de acetilcolina en polvo, utilizando agua destilada como disolvente.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	8/88

4. Tiene 3 ratones de 24.3 g, 19.8 g y 21.7 g de peso, y desea administrarles xilacina para anestesarlos. El efecto anestésico de la xilacina en ratones es a 0.2 mg/kg de peso. Indique el volumen y las dosis que se administrarán a cada ratón si se tiene una solución stock de 20 µg/mL y una jeringa de 1 ml con divisiones de 0.02 mL.

5. Calcule la dosis y el volumen que debe administrarse de meperidina como preanestésico a un paciente de 72 kg de peso, tomando en cuenta que:

- a) La dosis usual es de 1 mg/kg de peso
- b) La presentación farmacéutica disponible es en ampolletas de 2 mL de una solución al 2.5% para administración intramuscular.

6. Para realizar un perfil farmacocinético en conejo, se administraron 3.1 mL de una solución de ácido acetilsalicílico con una concentración de 2%. ¿Cuál fue la dosis administrada?

7. Calcule la dosis y el volumen necesario de pentobarbital sódico para un ratón de 28 g. La dosis anestésica es de 50 mg/kg y la presentación farmacéutica es de 63 mg/mL.

- a. ¿Es posible medir el volumen calculado o es necesario hacer alguna dilución?
- b. Si hace la dilución, tome en cuenta que el máximo volumen a administrar es de 10 mL/kg.

8. Tiene tres soluciones de paracetamol cuyas concentraciones son:

- a. 150 µg/mL
- b. 0.0001 M
- c. 0.03%

Sin embargo, para realizar un experimento necesita que todas las soluciones estén en las mismas unidades de concentración. ¿Cuál es la concentración en mg/mL de cada solución?

9. Indique el procedimiento para preparar 100 mL de una solución de acetilcolina a una concentración de 200 µg/mL a partir de:

- a. Cloruro de acetilcolina al 98% depureza



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	9/88

- b. Una solución de acetilcolina a 300 µg/mL.
- c. Dos soluciones de acetilcolina a 250 µg/mL y 50 µg/mL

10. Se tienen dos conejos de 5.4 y 5.7 kg de peso. A dichos conejos se les debe administrar las mismas dosis de sulfadiazina que es de 400 mg. Si se tiene una solución de sulfadiazina de 0.125 g/mL, ¿qué volumen se debe administrar a cada conejo?

Resultados.

Realizar los problemas indicados en la parte de procedimientos y entregar resueltos en hojas separadas, discutir las dudas generadas en su resolución y analizar la importancia de dichos cálculos.

Manejo de los residuos

- No se generan residuos.

Cuestionario previo a la práctica

1. Describe brevemente los siguientes conceptos: fármaco, droga, medicamento y xenobiótico.
2. Indica la diferencia entre los estudios *in vivo*, *in vitro*, *in situ* e *in silico*.
3. Defina los conceptos de posología, dosis y esquema de dosificación.
4. Describe los factores inherentes al fármaco que influyen en la dosificación.
5. Describe los factores inherentes al individuo que influyen en la dosificación.
6. Defina los conceptos de vía de administración, vía de administración parenteral y enteral.
7. Indica las ventajas y desventajas de las principales vías de administración de fármacos en animales.
8. Indica los principales vehículos utilizados para la administración de fármacos en animales.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	10/88

Referencias bibliográficas.

1. Aristil Chéry, PM. Capítulo 5 "Posología. En: Manual de farmacología básica y clínica. Sexta edición. Ciudad de México, México: McGraw Hill; 2013. p. 33-35.
2. Cotillo Zegarra, PA. Atención farmacéutica. Bases farmacológicas. Primera edición. Lima, Perú: Fondo Editorial Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004. p: 71-74.
3. Farré Albaladejo M, Baños Díez JE, Capítulo 2 Conceptos generales de biofarmacia y vías de administración. En: Principios de Farmacología Clínica: Bases científicas de la utilización de medicamentos. Primera edición. Barcelona, España: Masson; 2002.
4. Mangues Bafalluy, I. Capítulo 1. Conversiones y métodos de cálculo de dosis. En: Zabalegui Yarnoz A, Lombraña Mencia M. Administración de medicamentos y cálculo de dosis. Segunda edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2014.p. 1-12.
5. Velasco del Castillo, JJ., Gaínza Artázcaz, C., Genua Goena, E. Cálculos básicos en farmacia hospitalaria. [citado 04 de junio de 2017]. Disponible en: http://ismmformosa.com/apuntes/farmacia_calculos_basicos.pdf
6. Aleixandre A., Puerro M. Capítulo 1 Absorción y distribución de los fármacos. En: Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain I., Leza JC., Moro MA., Portolés A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 19-24.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	11/88

Práctica 2. Manejo de la rata y ratón en el laboratorio de farmacología.

Objetivo

Conocer y aplicar las normas éticas y bioéticas para el manejo adecuado de animales de laboratorio; así como los métodos de sujeción, inmovilización, transporte y administración de fármacos y medicamentos en la rata y ratón.

Fundamento teórico

La investigación científica requiere el uso de animales para experimentación. Asimismo, el uso de sistemas experimentales *in vivo* en investigación permite tener un modelo integrador de procesos fisiológicos y funcionales, que lleva una aplicación más segura en tratamientos médicos para el ser humano. Es evidente que sólo se justifica el uso de animales para experimentación, en investigaciones científicas perfectamente encaminadas a ampliar el saber en beneficio de la sociedad. Por ello es imprescindible que, por un lado, se optimice el uso de animales mediante un manejo correcto de los mismos y, por otro lado, que los animales utilizados sean los adecuados y confiables en las pruebas a las que son sometidos por los investigadores.

Saber manejar a los animales es un aspecto que debe conocer perfectamente el estudiante de ciencias de la salud, ya que durante sus estudios y posteriormente en la práctica profesional, requiere de métodos seguros, útiles, prácticos y rápidos para la sujeción e inmovilización de las diferentes especies animales. El primer paso para el manejo de animales consiste en perder el temor que por ellos sienta, pero no debe volverse confiado y comprometer su seguridad.

Tampoco debemos olvidar, hechos como el celo que muestran algunos machos hacia su derecho de posesión (territorio, hembras), el de las madres por sus crías y viceversa.

Se deben tomar en cuenta muchos factores como son: los hábitos naturales de la especie, sus reacciones ante determinados actos, la raza y la individualidad, estudiando dentro de ellas la



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	12/88

edad, el sexo, el estado de salud o enfermedad y el momento fisiológico (estro, gravidez, estado postoperatorio).

En la actualidad los tranquilizantes y anestésicos, facilitan el manejo de animales, suministrados por vía parenteral o inhalada. Por último, es muy importante que la persona que desarrolla esta actividad tenga control completo de sí mismo como del animal. La tensión o el nerviosismo pueden influir y causar dificultades.

Recordemos, también, que una nueva tendencia de la genética es la de crear animales de fácil manejo y en la actualidad ya se producen nuevas líneas de animales dóciles y apacibles, por lo tanto, fáciles de manejar.

En los cursos de laboratorio de Farmacología, se llevan a cabo tres tipos de experimentos con los animales: *in vivo*, *in vitro* e *in situ*. Cuando se utiliza al animal íntegro y vivo; cuando se utiliza una muestra de órgano o tejido en condiciones ambientales adecuadas, y; cuando se utiliza algún órgano o tejido en el sitio original, respectivamente.

Los animales de uso común en los experimentos farmacológicos son el conejo, la rata, el ratón y la rana de laboratorio. Esto es, por su costo, tamaño, reproducción y fácil manejo. Para otras investigaciones básicas del área biomédica también se utilizan especies como el perro, el gato, primates, etc. Por lo anterior, es importante tener conocimiento de las técnicas de manejo de los animales y todos los procedimientos durante las prácticas del laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos que han tenido éxito durante los últimos semestres.

Técnicas de marcaje e identificación individual de los animales.

Frecuentemente se utilizan más de un animal en las diferentes investigaciones, por lo que resulta necesario identificar de manera individual a los animales de un grupo. Las técnicas más utilizadas son las siguientes:



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	13/88

1. Marcado con ácido pícrico al 10%, aplicado en la parte dorsal de los animales con un pincel, esta sigue una clave.
2. Marcado de las orejas. Consiste en hacer perforaciones o muescas con unas pinzas especiales, tanto para la rata como el ratón. Esta técnica se recomienda cuando los experimentos son de larga duración y se utilizan grandes cantidades de animales.
3. Marcado con plumón marcador. El marcado se realiza en la cola del animal, siguiendo la clave de una raya por cada número de animal. Esta técnica se recomienda cuando se utilizan pocos animales y en experimentos muy cortos en duración.

Técnicas de sujeción

Conejo

1. En el manejo de esta especie frecuentemente se incurre en prácticas no adecuadas que ocasionan trastornos a los animales y en consecuencia a la exploración.
2. La mayoría de las personas tienden a levantar a los conejos por las orejas por ser una de las partes más sobresalientes en estos animales; esto nunca debe hacerse, pues no sólo se maltratan sino pueden lesionarse las orejas y el oído.
3. Hay dos formas correctas de manejar a los conejos. Con la mano izquierda se suspenden de la piel floja del dorso, arriba de las espaldillas y con la mano derecha se les sujetan las patas.
4. También se pueden manejar (sobre todo cuando se sacan de sus jaulas) en la siguiente forma: con la mano derecha se sujeta de la piel floja de la región dorsal comprendida entre los miembros anteriores y el cuello, después con el brazo y la mano izquierda se inmoviliza el animal.

Rata

1. Junto con el ratón, estos animales ofrecen mayor dificultad en su manejo porque al sentirse capturados con frecuencia muerden.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	14/88

2. Para capturar a la rata dentro de la jaula, la manera más práctica es tomarla con una mano de la cola y con la otra sujetar la piel del cuello, con esto no puede atacar y queda inmovilizada.

3. También puede sujetarse con una sola mano, rodeando el cuello con el pulgar y el índice, cuidando de no ejercer mucha presión y provocar asfixia. Abrazar con la palma de la mano, levantar y voltear la parte ventral hacia el manejador. Esta técnica de sujeción nos servirá para la administración intraperitoneal e intramuscular. Se requiere mucha práctica para perfeccionar la técnica.

Ratón

1. Los ratones facilitan aún más su manejo, bastando con tomarlos de la cola con los dedos medio e índice (como se toma un cigarro) y rodearlo con el resto de la mano.

2. Para inyecciones o inoculaciones deberá tomarse de la piel del dorso con el pulgar y el índice, sosteniéndolo de la cola con el meñique y el anular apoyados en la palma de la mano.

Técnicas para la administración de fármacos o medicamentos

Intravenosa

Durante la práctica de Farmacocinética, se requiere administrar algunas sustancias como tomar muestras de sangre en un conejo. Este procedimiento se lleva a cabo en las venas marginales que se encuentran en la oreja del conejo. Es importante seguir las indicaciones del maestro de mesa.

Intramuscular

La administración intramuscular se aplica en la parte muscular de las patas traseras, en la región glútea, ya sea del conejo, la rata o el ratón.

Intraperitoneal

Después de haber sujetado a la rata y el ratón, por la técnica anteriormente descrita, se divide, de manera imaginaria, la región ventral en cuatro cuadrantes. Se puede elegir cualquiera de los cuadrantes, se coloca la jeringa en un ángulo de 45°, para luego administrar el fármaco. Antes de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	15/88

inyectar se debe verificar que se encuentra en el peritoneo, al jalar el embolo de la jeringa debe entrar aire, si esto no ocurre debemos tratar nuevamente.

Subcutánea

Generalmente se lleva a cabo en el conejo, se toma la piel floja de la espalda, se introduce la jeringa y se administra nuestra sustancia problema.

Intracardiaca

En la práctica de distribución, es necesario obtener una muestra de sangre por punción intracardiaca. Con la ayuda del medio se percibe el pulso cardiaco a un centímetro, aproximadamente, de la última costilla de la rata. Se introduce una jeringa de insulina a 90°, y se toma la muestra de sangre.

Oral

Por otro lado, para la administración oral es necesario sujetar, con la ayuda de dos pedazos de hilo los dientes incisivos y caninos, para mantener el hocico del animal abierto. Luego, se introduce una cánula, que está conectada a una jeringa, por la que se introduce la sustancia prueba.

La anestesia poco profunda que se logra colocando a los animales dentro de un frasco donde previamente se coloca un algodón impregnado en cloroformo, facilita mucho cualquier maniobra dolorosa como las inoculaciones por vía oral o la obtención de sangre por punción intracardiaca.

Todas las técnicas descritas, necesitan para su aplicación, suficiente práctica por parte del alumno, la cual se podrá adquirir en esta sesión.

Técnicas de eutanasia

Eutanasia se define como la opción de favorecer la muerte deliberadamente de algún individuo con una enfermedad incurable o una lesión irreparable. Puede ser de manera activa, con la administración de una sustancia letal, o pasiva, dejando que el individuo muera sin ningún tratamiento.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	16/88

Es importante saber que después de haber utilizado los animales, en experimentos *in vivo*, se deben sacrificar adecuadamente. Los métodos comúnmente aplicados son la sobredosis de algún anestésico por vía intravenosa o intraperitoneal, inhalación de éter, cloroformo, dióxido de carbono, nitrógeno, etc. ¿Cuándo se deben eliminar a los animales? Después de utilizarlos más de una ocasión, por enfermedad o defectos genéticos.

Material y reactivos

Una rata Wistar hembra.

Un ratón hembra CD-1.

Azul de metileno al 5%.

Ajugas de calibre 30 G.

Franela.

Hilo cáñamo.

Jeringas de insulina de 1 mL.

Jeringas de 5 mL.

Jeringas de 10 mL.

Jaula para animales.

Tabla y estuche de disección.

Vaso de precipitados de 50 mL.

Equipo

Ninguno.

Servicios

Energía eléctrica.

Agua.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	17/88

Procedimiento

Manipulación y administración intraperitoneal en ratón

1. Tomar al ratón del primer tercio de la cola para evitar que gire o se desprenda la piel de la cola.
2. Colocar el ratón en una superficie rugosa para someter al ratón a tracción.
3. Coloque la cola del ratón entre el dedo anular y el meñique.
4. Jale un poco hacia atrás al ratón y sujete la piel del cuello con el dedo pulgar e índice.
5. La inmovilización depende de la cantidad de piel que se deje libre en el área del cuello y de la cola del ratón.
6. Una vez inmovilizado, divida de manera imaginaria la región ventral en cuatro cuadrantes y administre 0.1 mL de azul de metileno al 5% en cualquiera de ellos introduciendo la aguja en un ángulo de 45°. Recuerde jalar el embolo, para asegurarse que está en el espacio peritoneal, antes de administrar el azul de metileno.

Manipulación y administración subcutánea en ratón

1. Tómese al ratón del primer tercio de la cola para evitar que gire o se desprenda la piel de la cola.
2. Coloque al ratón sobre la mesa e inmovilícelo dejando libre la piel de la espalda.
3. Tome la piel floja del dorso e introduzca la aguja, jale el embolo y si no sale sangre, administre el azul de metileno.
4. Deje transcurrir 10 minutos y sacrifique al ratón en la cámara de CO₂ (o utilizando alguna otra técnica de eutanasia).
5. Diseccione la cavidad abdominal para corroborar la presencia del azul de metileno en el peritoneo del ratón. Repita la acción en la zona donde administro de forma subcutánea.

Manipulación y administración en rata

1. Transfiera a la rata tomando a la rata de la base o el primer tercio de la cola para evitar que gire o se desprenda la piel de la cola.
2. Con el dedo índice y medio sujete la cabeza de la rata. Utilice el índice y el pulgar sujete el brazo derecho de la rata, mientras que el brazo izquierdo debe ser inmovilizado con dedo medio y el anular.
3. Es importante no ejercer presión sobre la cavidad torácica de la rata para no impedir la respiración.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	18/88

4. Desde esta posición administré 0.1 mL de azul de metileno al 5% por vía intraperitoneal, de la misma manera descrita para los ratones.
5. Desde la misma posición también realice la administración de 0.1 mL de azul de metileno al 5% por vía intramuscular en el muslo de la rata.
6. Deje pasar 10 minutos y sacrifique a la rata utilizando la cámara de CO₂ (o utilizando alguna otra técnica de eutanasia).
7. Diseccione la cavidad abdominal de la rata para corroborar que el azul de metileno se encuentra en el peritoneo. Repita la operación para la administración intramuscular.

Resultados

De acuerdo con los resultados discuta sobre:

- Las técnicas de manipulación de animales.
- Las diferentes vías de administración
- Las técnicas de eutanasia

Manejo de los residuos

- Las agujas utilizadas para la administración de los animales de experimentación serán desechadas en el contenedor rojo para punzocortantes ubicado en el área de confinamiento de residuos.
- Las jeringas que no contengan sangre se deberán desechar en la basura municipal. Mientras que las jeringas con sangre y sin aguja se desecharan en la bolsa roja.
- Los cadáveres serán depositados en la bolsa amarilla que se encuentra localizada en la zona de confinamiento de residuos dentro del laboratorio. Una vez reunidos los cadáveres agregar cal.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	19/88

Cuestionario previo a la práctica

1. Explique la diferencia entre ética y bioética.
2. ¿Qué es un comité de bioética y como está conformado?
3. Defina que es un animal de experimentación, un modelo animal, un animal singénico y un animal transgénico.
4. Indique el marco regulatorio para el manejo ético de los animales de experimentación.
5. Describa la importancia de emplear animales de laboratorio en protocolos de investigación.
6. ¿Qué tipo de investigaciones se realizan con las diferentes especies animales utilizadas en el laboratorio?
7. ¿Cuáles son las características ideales que debe tener un animal para ser incluido en un protocolo de investigación?
8. ¿Qué significa eutanasia?
9. Indique los procedimientos aprobados para dar eutanasia a los animales de investigación.
10. ¿Qué características individuales debemos conocer de las diferentes especies animales?
11. ¿Existen alternativas que permitan evitar el uso de animales de laboratorio en los protocolos de investigación?
12. Describa las diferentes fases de investigación involucradas en el desarrollo de medicamentos, ¿En cuál de ellas se utilizan animales de laboratorio?



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	20/88

Referencias bibliográficas

1. Altamirano A. Manual para el manejo de animales de laboratorio. FES Zaragoza, UNAM, México. 1994.
2. Altamirano Bautista A, Hernández Meza R, Escalera Zuñiga E. Manejo de ratones de laboratorio. FES Zaragoza; 2015 [citado junio 2017]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=5B67NaxNAuU>
3. Altamirano Bautista A, Hernández Meza R, Escalera Zuñiga E. Manejo de ratas de laboratorio. FES Zaragoza; 2015 [citado junio 2017]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=nGEJJsMYkFE>
4. Arrellín Rosas G. Efectos de los factores microambientales sobre la respuesta del animal a la manipulación experimental. Animales de Experimentación. 1996; 1:9-30.
5. Burgos M y Martínez J. La rata de laboratorio. Manual. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México.
6. Oteiza Fernández J. Manejo de animales. UNAM, México; 1979.
7. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Disponible en: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/bioterio.NOM-062.pdf>
8. Short D y Woodnott D (editores). The A.T.A. manual of laboratory animal practice and techniques. Charles C. Thomas-Publisher, EUA; 1993.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	21/88

Práctica 3. Perfil farmacocinético de la sulfacetamida sódica en conejo.

Objetivo

Realizar el estudio farmacocinético de la sulfacetamida sódica en conejo por tres vías de administración para determinar la vía extravascular con mayor absorción.

Fundamento teórico

Cuando se administra un fármaco a un organismo varios procesos como la absorción, distribución, biotransformación y eliminación influirán en la biodisponibilidad del fármaco. Estos procesos tienen lugar durante un período determinado y por esto pueden medirse y expresarse como velocidades. La ciencia que mide las velocidades de absorción, distribución y eliminación de un fármaco se llama Farmacocinética.

La administración de un fármaco tiene por objeto la obtención de un efecto que está estrechamente relacionado con la concentración plasmática por lo tanto es posible predecir que los cambios en la concentración plasmática producirán cambios en el efecto del fármaco. El conocimiento de los parámetros cinéticos que gobiernan las concentraciones plasmáticas es de gran ayuda para elegir la dosis, el intervalo y la vía de administración apropiada para obtener el efecto deseado.

Para la determinación de los parámetros farmacocinéticos existen modelos matemáticos los cuales consideran al organismo como compartimientos y así tenemos el modelo abierto de un compartimiento (MAUC) y el modelo abierto de dos compartimientos ó bicompartimental (MABC).

Para el modelo abierto de un compartimiento se hacen las siguientes consideraciones:

- El fármaco se absorbe siguiendo una cinética de primer orden.
- La distribución del fármaco es instantánea en un compartimiento central que es la sangre.
- La concentración plasmática es representativa de los tejidos por establecerse un equilibrio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	22/88

- d) La eliminación del fármaco ocurre a partir del compartimiento central con una cinética de primer orden.

Para el modelo abierto de dos compartimientos:

- a) El fármaco se absorbe con una cinética de primer orden.
- b) El fármaco se distribuye del compartimiento central a un segundo compartimiento llamado periférico.
- c) La eliminación del fármaco es a través del compartimiento central con una cinética de primer orden.

En la presente práctica se realizará el perfil farmacocinético de la sulfacetamida sódica para determinar la vía de administración extravascular con mayor absorción.

Material y reactivos

Ácido tricloroacético al 25%

Algodón.

1 balanza de dos platillos.

1 balanza digital.

1 cepo para conejo.

Conejo de 2.0 a 2.5 kg con 12 horas de ayuno.

1 gradilla.

Heparina (disolución 5000 UI/mL).

8 jeringas para insulina de 1 mL.

1 jeringas de 3 mL.

Nitrito de sodio al 0.5%

N-naftiletildiamina al 0.05%.

Matraces volumétricos.

Papel *Parafilm*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	23/88

Pipetas volumétricas de 1 y 2 mL

1 rastrillo sin lubricante.

Sulfacetamida sódica (disolución al 10%).

Sulfamato de amonio al 0.5%.

10 tubos de ensaye de 13 x 100 mm.

10 tubos de ensaye de 15 x 150 mm.

12 tubos cónicos de plástico de 15 mL.

Equipos

Centrifuga.

Espectrofotómetro.

Refrigerador.

Servicios

Agua

Energía eléctrica.

Procedimiento

Preparación de la curva patrón de sulfacetamida sódica

1. Pesar 0.2 g. de sulfacetamida sódica, disolver con agua destilada, llevar al aforo en un matraz volumétrico de 100 mL para obtener una concentración de 2 mg/mL.
2. De la solución anterior tomar 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, y 2.0 mL y llevar al aforo en matraces de 100 mL empleando agua destilada para obtener concentraciones finales de 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 20.0 y 40.0 µg/mL.
3. Mida 2.0 mL de cada una de las disoluciones y siga la técnica de Bratton-Marshall para determinar las absorbancias.
4. Con las absorbancias construya una gráfica colocando las concentraciones en las abscisas y las absorbancias en el eje de las ordenadas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	24/88

Manejo del conejo y administración del fármaco

1. Pese al conejo y proceda a rasurar ambas orejas. No utilizar rastrillo con lubricante o jabón.
2. A continuación, administre una dosis de heparina de 1500 U/kg por vía subcutánea.
3. Deje transcurrir 5 minutos y tome una muestra de 0.2 mL de sangre de las venas marginales (muestra blanco t=0).
4. Calcule la dosis y el volumen a administrar de la sulfacetamida sódica de acuerdo al peso del conejo, utilice una dosis de 75 mg/kg. La solución de sulfacetamida sódica se encuentra al 10%.
5. Administre la sulfacetamida sódica de acuerdo con la vía de administración asignada al equipo. Para la vía intravenosa utilice la vena marginal de la oreja. Para la vía intramuscular utilice el muslo de la pata trasera y para la vía subcutánea utilice el lomo de conejo. Registre el tiempo de inicio tras ser administrado el fármaco.
6. Tomar 0.2 mL de sangre de la vena marginal de la oreja a los siguientes tiempos: 5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos. Coloque cada muestra de sangre en un tubo de 13X100 previamente heparinizado y procesar las muestras siguiendo la técnica de Bratton-Marshall.

Determinación colorimétrica de sulfoamidas en sangre total (técnica de Bratton-Marshall)

1. Medir 0.2 mL de sangre y añadir 1.8 mL de agua destilada, mezclar y deje reposar 5 minutos.
2. Agregar 0.6 mL de ácido tricloroacético al 25 % agitar y reposar 5 minutos. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos.
3. Observe que el sobrenadante esté transparente, si presenta turbidez centrifugue 5 minutos más.
4. Tome 2 mL del sobrenadante y transfíralo a otro tubo de 13 X 100, tapé con parafilm y guardar los tubos en el refrigerador hasta la siguiente sesión.
5. A los 2 mL del sobrenadante obtenido de cada tiempo de muestreo, adicione dos gotas de nitrito de sodio al 0.5% mezclar y dejar en reposo 2 minutos.
6. Añadir 1.0 mL de sulfamato de amonio al 0.5%, mezclar y reposar 2 minutos. Es necesario tener cuidado en el tiempo,
7. Para desarrollar el complejo colorido, adicionar 2 mL de N-naftiletildiamina al 0.05% y mezclar, leer las absorbancias inmediatamente después de haber desarrollado el color.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	25/88

8. Se obtiene una coloración rosa. Leer a 540 nm la absorbancia.

9. Interpole las absorbancias en la curva patrón para determinar la concentración de la sulfacetamida en cada una de las muestras y recopile los resultados de todos los equipos de trabajo llenando cada uno de los cuadros de resultados.

Resultados

A partir de los resultados obtenidos construya las gráficas de concentración contra tiempo y aplique las ecuaciones de acuerdo con el modelo matemático (ver formulario anexo) y calcule para cada vía de administración:

- Área bajo la curva (ABC).
- Concentración máxima (C_{max}).
- Tiempo de concentración máxima (T_{max}).
- Constante de absorción (K_a)
- Constante de eliminación (K_e)
- Volumen aparente de distribución (V_d)
- Tiempo de vida media biológica ($t_{1/2}$)
- Biodisponibilidad absoluta (F_{abs})
- Biodisponibilidad relativa (F_{rel})

Con los parámetros anteriores analice y determine:

- El régimen de dosificación por cada vía de administración.
- La vía extravascular con mayor absorción.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	26/88

Manejo de los residuos

- Las agujas utilizadas para la administración de los fármacos y para la toma de muestras del conejo serán desechadas en el contenedor rojo para punzocortantes ubicado en el área de confinamiento de residuos.
- Las jeringas que no contengan sangre se deberán desechar en la basura municipal, mientras que las jeringas con sangre y sin aguja se desecharán en la bolsa roja.
- Los cadáveres serán depositados en la bolsa amarilla que se encuentra localizada en la zona de confinamiento de residuos dentro del laboratorio.
- Los residuos de la reacción de Bratton-Marshall serán colectados en un frasco de vidrio, se etiquetarán y serán colocados en el área de confinamiento de residuos.

Cuestionario previo a la practica

1. Describe brevemente los conceptos de farmacocinética y farmacodinamia.
2. Describe las fases que comprende el proceso LADBE.
3. Indica el concepto de Compartimento y su utilidad en la descripción de los parámetros farmacocinéticos.
4. Indica y localiza los principales parámetros farmacocinéticos en una curva $C_p = f(t)$.
5. Describe brevemente los conceptos de concentración mínima efectiva (CME) y concentración máxima tolerada (CMT).
6. Indica las propiedades físicas, químicas, farmacológicas y toxicológicas de la sulfacetamida sódica.
7. Indica el valor de CME de la sulfacetamida sódica.
8. Indica el procedimiento para elaborar un Régimen de dosificación.
9. Describe el fundamento químico de la determinación colorimétrica de sulfonamidas.
10. Indica el procedimiento para el cálculo de la biodisponibilidad relativa y biodisponibilidad absoluta y utilidad de dichos parámetros.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	27/88

Referencias bibliográficas

1. Aguilar Ros A, Caamaño Somoza M, Martín Martín FR, Montejo Rubio MC. Biofarmacia y Farmacocinética: Ejercicios y problemas resueltos. Segunda edición. Barcelona, España: Elsevier; 2014.
2. Aleixandre A, Puerro M. Capítulo 1 Absorción y distribución de fármacos. En: Lorenzo P, Moreno, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A, editores. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª Edición. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2008. p. 13-35.
3. Birkett DJ. Farmacocinética Fácil. Primera edición. Madrid, España: McGraw-Hill/Interamericana de España; 2005.
4. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12ª edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2011.
5. Clark B, Smith D. Introducción a la farmacocinética. Primera edición. España: Acribia; 1989.
6. Clark MA, Harvey RA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. Pharmacokinetics. En: Pharmacology. Quinta edición. Baltimore, EUA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 1-24.
7. Curry SH, Whelpton R. Drug Disposition and Pharmacokinetics: From Principles to Applications. Primera edición. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011.
8. Curry SH, Whelpton R. Introduction to Drug Disposition and Pharmacokinetics. Primera edición. London, United Kingdom: Wiley; 2017.
9. Flores J, Armijo JA, Mediavilla A. Farmacología humana. Cuarta edición. Barcelona, España: Masson; 2005.
10. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Primera edición. Barcelona, España: Editorial Reverté; 1982.
11. Hladky S. Pharmacokinetics. Primera edición. Manchester, Reino Unido: Manchester University Press; 1990.
12. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Pharmacology. 13ª edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.
13. Smith DA, Allerton C, Kalgutkar A, van de Waterbeemd H, Walker D. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design. Volumen 51. Tercera edición. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2012.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	28/88

PRÁCTICA: FARMACOCINÉTICA - ABSORCIÓN DE FÁRMACOS

Especie animal:

Vehículo:

Fecha y hora del experimento:

Equipo que realizó:

Fármaco:

Vía:

Via:

Equipo:

Equipo:

Dosis (mg):

Dosis (mg):

Tiempo	Absorbancia	Dilución	Concentración

Vía:

Via:

Equipo:

Equipo:

Dosis (mg):

Dosis (mg):

Tiempo	Absorbancia	Dilución	Concentración

Vía:

Via:

Equipo:

Equipo:

Dosis (mg):

Dosis (mg):

Tiempo	Absorbancia	Dilución	Concentración

Vía:

Via:

Equipo:

Equipo:

Dosis (mg):

Dosis (mg):

Tiempo	Absorbancia	Dilución	Concentración



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	29/88

Práctica 4. Distribución de la sulfacetamida sódica en rata.

Objetivo

Determinar el perfil de distribución de la sulfacetamida sódica en rata Wistar.

Fundamento teórico

La Farmacología puede ser definida como la ciencia de los fármacos. Incluye el estudio de sus fuentes (materia médica); sus acciones en los organismos animales vivos (farmacodinamia), la manera en la cual son absorbidos, transportados a través del cuerpo, y excretados (farmacocinética); su uso en medicina (terapéutica); y sus efectos adversos (toxicología).

Uno de los objetivos de la farmacocinética es describir en términos relativamente simples el fenómeno complejo que involucra la disposición del fármaco y la respuesta. Lo último incluye la cinética de la absorción de la droga, distribución y eliminación, así como la cinética de la respuesta farmacológica. Están implicados varios procesos físicoquímicos, bioquímicos y fisiológicos en la disposición del fármaco y pueden ser descritos por algunas relaciones matemáticas. La aplicación de los principios básicos de la farmacocinética en la terapéutica es estudiada por la Farmacocinética Clínica.

Las tres etapas que se muestran en la Figura 1, biodisponibilidad, distribución y depuración son las principales variables farmacocinéticas. Varios procesos fisiológicos (maduración de la función de órganos en infantes) y patológicos (daño cardíaco y renal) sugieren el ajuste de dosis en pacientes de manera individual. Basado en la modificación de parámetros farmacocinéticos específicos. Las dos variables básicas en la farmacocinética son la depuración, parámetro para medir la forma de eliminar la droga del organismo; y el volumen de distribución, parámetro para calcular el fármaco disponible en el organismo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	30/88

El proceso de extrapolación requiere del avance de muchas disciplinas diferentes que podrían incluir la ingeniería, física, biología, química, patología, farmacología, fisiología, salud pública, inmunología, epidemiología, bioestadística y salud ocupacional.

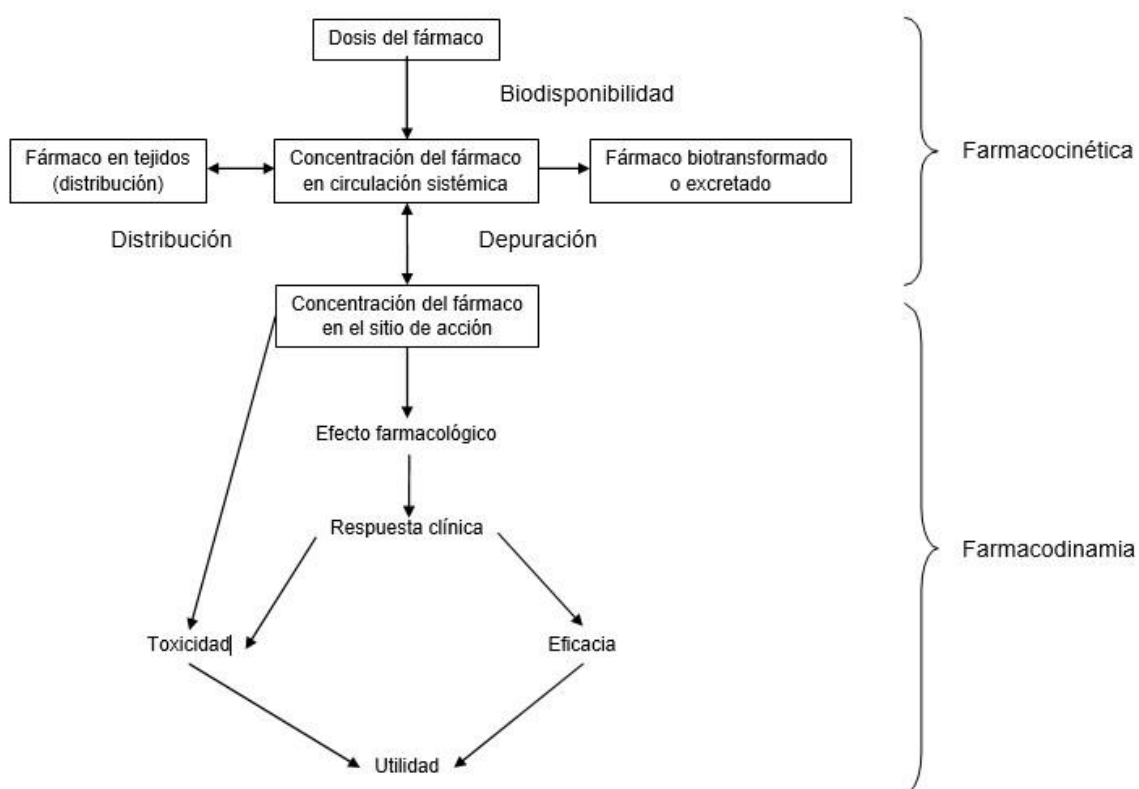


Figura 1. Representación esquemática del proceso farmacocinético y farmacodinámico que vincula la administración del fármaco y sus efectos.

Distribución

Una vez absorbido, el fármaco puede ser distribuido a través de varios compartimientos en el cuerpo. La distribución de un fármaco depende de sus características físico-químicas y de las propiedades de los compartimentos corporales. Además de su afinidad por los tejidos, su hidrosolubilidad, liposolubilidad, unión a sustancias extracelulares y captación intracelular.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	31/88

La albúmina sérica posee muchos sitios de unión no-específicos para los xenobióticos, y por lo tanto llega ser un sistema de transporte para muchas sustancias. La albúmina es la principal proteína del plasma (50% del total). La mayor parte de los procedimientos rutinarios para la determinación de las concentraciones del fármaco comienzan con la desproteinización. Invariablemente este paso es una precipitación (ejemplo, con el ácido tricloroacético), seguido por la separación de las proteínas por filtración o centrifugación. En tales procedimientos de datos analíticos representarán las concentraciones totales de fármaco debido a que el fármaco unido a la proteína se libera a la solución sobrenadante o filtrado.

El balance entre los estados disociados (polar) y no disociados (no polar) afecta la distribución de un químico, porque el pH cambia del fluido extracelular (pH 7) al del plasma (pH 7.4). El coeficiente de partición de una sustancia también influye en su distribución, determinando, por ejemplo, el grado de secuestro en la grasa. Las sustancias altamente liposolubles serán secuestradas en el tejido adiposo por largo tiempo. La cantidad varía de acuerdo con la edad y a la localización.

La velocidad de entrada de un fármaco a los diferentes tejidos del cuerpo depende obviamente de las velocidades relativas del flujo sanguíneo a través de los lechos capilares respectivos y de la permeabilidad de los capilares a las moléculas del fármaco en particular.

El equilibrio de distribución del fármaco en la sangre y los tejidos depende del riego sanguíneo que llega al órgano. Este equilibrio se ve influido por el “Volumen aparente de distribución” de cada fármaco, que se considera como “el volumen líquido en cual parece distribuirse un fármaco (Vd)”.

El rango de distribución de una sustancia está en función del flujo sanguíneo a través de los tejidos (irrigación de tejidos). Primero se acumulará en los órganos más irrigados, y al último, en los menos irrigados. Entonces se establece un equilibrio, luego se distribuirá en base a su solubilidad. En seguida de la administración intravenosa de una sustancia con un alto coeficiente de partición, el



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	32/88

equilibrio se alcanza instantáneamente en el riñón y el hígado por su alta vascularidad, casi inmediatamente en el cerebro, a los 30 minutos en el músculo, y a las 3 horas en el tejido graso.

Los fármacos actúan sobre la superficie de la membrana externa, para luego pasar a través de ella. Se debe tomar en cuenta las propiedades bioeléctricas, las funciones bioquímicas, los receptores superficiales y el mecanismo para el paso de los fármacos al interior de las células. Para las células secretoras y las neuronas es importante no olvidar la salida de sustancias.

El fármaco puede entrar a los tejidos del sistema nervioso central por dos vías distintas: la circulación capilar y el líquido cefalorraquídeo (LCR). Las membranas que rodean al cerebro y las separan de los vasos sanguíneos constituyen la barrera hematoencefálica, solo dejará pasar agentes liposolubles, tales como los anestésicos.

El intercambio de alimentos, oxígeno y bióxido de carbono, así como de los fármacos, debe ocurrir principalmente a través de la placenta, de la sangre arterial materna por medio de los espacios intervellosos a los capilares fetales en las vellosidades y por último a la sangre venosa principal.

Volumen de distribución.

El volumen de distribución puede modificarse en función de factores inherentes al individuo y al fármaco. Factores del individuo como sexo, edad, enfermedad, grasa corporal, influyen en el volumen de los diversos compartimentos. Factores inherentes al fármaco como el pKa, pH, grado de unión a proteínas del plasma, coeficiente de reparto lípido/agua y grado de unión de la molécula, activan a otros tejidos del organismo.

Volumen aparente de distribución.

El volumen aparente de distribución (Vd) de un fármaco es el volumen líquido en que aparentemente se disuelve. La determinación del Vd es un principio simple. Una cantidad conocida de fármacos se inyecta por vía intravascular y después de suficiente tiempo para su distribución se



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	33/88

toma una muestra de sangre en la que se determina la concentración de fármaco en el agua plasmática.

El volumen de distribución (Vd) relaciona la cantidad de fármaco administrado y la cantidad de fármaco (C) en sangre o plasma:

$$V_d = \frac{\text{Cantidad total del fármaco administrado (mg)}}{\text{Concentración de fármaco en el plasma (mg/L)}}$$

Una gran cantidad de sustancias se distribuye aproximadamente en el volumen de líquido extravascular. Un problema práctico al calcular el Vd es el hecho de que a menudo los fármacos no tienen un compartimiento ideal. Se biotransforman, se excretan o se secuestran, de tal manera que nunca se obtiene la meseta real de distribución. Primero, la concentración plasmática disminuye rápidamente, después con más lentitud, para que después continúe disminuyendo. Lo que se necesita hacer es tratar de determinar cuál sería la concentración plasmática si no estuviera presente el proceso responsable de la disminución continua. Esta determinación se obtiene por extrapolación de la que finalmente sería la velocidad de declinación, retrocediendo hasta el momento de la inyección. Naturalmente, esto se tiene que hacer en una gráfica semilogarítmica, suponiendo que las diferentes fases de desaparición del fármaco del plasma son de primer orden.

Las moléculas del fármaco son distribuidas a través del cuerpo por la circulación sanguínea. El volumen de sangre total (cerca de 6 litros) es bombeado a través del corazón cada minuto; después de unos minutos la droga entra al sistema circulatorio y es diluido en el total de la sangre. El fármaco se restringe al espacio vascular y puede penetrar libremente a los eritrocitos que tiene un volumen de distribución de 6 litros. Si el fármaco no logra atravesar los vasos sanguíneos el volumen se disminuye a 3 litros (volumen plasmático).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	34/88

El volumen total de los compartimentos líquidos de un individuo de 70 kg es de aproximadamente 40 L, y constituye el 60% del peso del sujeto. El volumen relativo de cada compartimento es como sigue:

- Líquido plasmático 5 litros
- Líquido intersticial 12 litros
- Líquido intracelular 23 litros

En la presente práctica se determinará el perfil de distribución de la sulfacetamida sódica en rata Wistar.

Materiales y reactivos

6 ratas hembra Wistar.

2 jeringas de insulina.

10 tubos de ensaye 13 x100.

10 tubos de ensaye 18 X150.

10 pipetas volumétricas de 1 mL.

3 pipetas volumétricas de 5 mL.

2 vasos de precipitados de 20 mL.

8 morteros.

Algodón.

Ácido tricloroacético al 25%.

Éter etílico.

Hidróxido de sodio al 0.1 N.

Nitrito de sodio al 0.5 %.

N-naftiletilendiamina al 0.05%.

Sulfacetamida sódica al 10%.

Sulfamato de amonio al 0.5 %.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	35/88

Equipo

Balanza digital.
Balanza de 2 platos.
Centrífuga.
Espectrofotómetro.
Refrigerador

Servicios

Agua.
Energía eléctrica.

Procedimiento

1. Cada equipo pesará a su rata para administrar sulfacetamida sódica, a una dosis de 0.1 g/kg de peso.
2. A cada equipo se le asignará un tiempo para sacrificar a su rata. Los tiempos son 5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos. Se recomienda que inicien los equipos con los últimos tiempos.
3. Antes de sacrificar a la rata, es necesario anestesiarse a la rata en la cámara de éter para posteriormente tomar una muestra de 0.2 mL sangre por punción cardiaca. Una vez tomada la muestra, sacrifique a la rata por dislocación cervical. La muestra sanguínea se procesa utilizando la técnica modificada de Bratton-Marshall.
4. Una vez sacrificada la rata, abrir la cavidad abdominal para obtener muestras de 0.5 g de los siguientes órganos: hígado, riñón, bazo y duodeno; de la cavidad torácica, corazón y pulmón; de la pierna, músculo esquelético; y de la cavidad craneana, cerebro.
5. Las muestras se pesan sobre un portaobjetos con ayuda de la balanza de dos platos y posteriormente son trituradas en un mortero.
6. Inmediatamente después se colocan en tubos de ensaye que contiene un volumen de 5 mL de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	36/88

hidróxido de sodio 0.1 N. A la muestra sanguínea no se le agrega NaOH.

7. Dejar reposar la mezcla por al menos 5 minutos, para después centrifugar a 3000 rpm por 5 minutos. Si el sobrenadante es transparente, tome 2 mL y transfíeralos a otro tubo. Si el sobrenadante es turbio, agite vigorosamente y centrifugue nuevamente. Repita las veces que sea necesario hasta que el sobrenadante sea transparente.
8. A los 2 mL de sobrenadante obtenidos de cada órgano, se les realiza la reacción colorimétrica siguiendo la técnica modificada de Bratton-Marshall descrita en la práctica anterior.
9. Leer las absorbancias en el espectrofotómetro a una λ 540 nm. En caso de que los valores de absorbancia excedan la curva patrón, realizar las diluciones necesarias.
10. Interpolar el valor de absorbancia en la curva patrón para obtener la concentración de la sulfacetamida sódica considerando las diluciones realizadas.

Resultados

Con los resultados obtenidos:

Calcule las concentraciones a cada tiempo de sulfacetamida sódica por cada órgano o tejido.

Realice la gráfica tiempo vs concentración para cada órgano o tejido.

Calcula el ABC y el Kp para cada órgano o tejido.

Con las gráficas realizadas y los valores calculados, analice y determine:

Los órganos en los cuales se presenta actividad de la sulfacetamida sódica.

Los órganos donde se distribuye la sulfacetamida sódica.

Compare con la información de la literatura sobre las sulfonamidas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	37/88

Cuestionario previo a la práctica

1. Defina brevemente la Distribución de fármacos.
2. Describa brevemente los mecanismos de transporte que se llevan a cabo en las membranas celulares.
3. Describa brevemente las propiedades y constitución de las principales barreras del organismo (hematoencefálica y placentaria).
4. Indique las propiedades fisicoquímicas los fármacos que influyen para atravesar cada una de las barreras.
5. Indique las proteínas principales que se unen a los fármacos y la influencia de la estructura de éstos últimos en la unión.
6. Describa brevemente la relación entre la estructura química de un fármaco y su distribución en el organismo.
7. Defina brevemente el concepto de volumen aparente de distribución.
8. Describa los factores que afectan el valor de volumen aparente de distribución.
9. Describa el perfil de distribución en el organismo de las sulfonamidas.
10. Indique el procedimiento para el cálculo de K_p (constante de reparto) para cada órgano y significado de este.

Manejo de residuos

- Las agujas utilizadas para la administración de los fármacos y para la toma de muestras del conejo serán desechadas en el contenedor rojo para punzocortantes ubicado en el área de confinamiento de residuos.
- Las jeringas que no contengan sangre se deberán desechar en la basura municipal, mientras que las jeringas con sangre y sin aguja se desecharán en la bolsa roja.
- Los cadáveres y los residuos de órganos macerados serán depositados en la bolsa amarilla que se encuentra localizada en la zona de confinamiento de residuos dentro del laboratorio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	38/88

- Los residuos de la reacción de Bratton-Marshall serán colectados en un frasco de vidrio, se etiquetarán y serán colocados en el área de confinamiento de residuos.

Referencias bibliográficas

1. Aguilar Ros A, Caamaño Somoza M, Martín Martín FR, Montejo Rubio MC. Biofarmacia y Farmacocinética: Ejercicios y problemas resueltos. Segunda edición. Barcelona, España: Elsevier; 2014.
2. Aleixandre A, Puerro M. Capítulo 1 Absorción y distribución de fármacos. En: Lorenzo P, Moreno, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A, editores. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª Edición. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2008. p. 13-35.
3. Birkett DJ. Farmacocinética Fácil. Primera edición. Madrid, España: McGraw-Hill/Interamericana de España; 2005.
4. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12ª edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2011.
5. Clark B, Smith D. Introducción a la farmacocinética. Primera edición. España: Acribia; 1989.
6. Clark MA, Harvey RA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. Pharmacokinetics. En: Pharmacology. Quinta edición. Baltimore, EUA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 1-24
7. Curry SH, Whelpton R. Drug Disposition and Pharmacokinetics: From Principles to Applications. Primera edición. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011.
8. Curry SH, Whelpton R. Introduction to Drug Disposition and Pharmacokinetics. Primera edición. London, United Kingdom: Wiley; 2017.
9. Flores J, Armijo JA, Mediavilla A. Farmacología humana. Cuarta edición. Barcelona, España: Masson; 2005.
10. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Primera edición. Barcelona, España: Editorial Reverté; 1982.
11. Hladky S. Pharmacokinetics. Primera edición. Manchester, Reino Unido: Manchester University Press; 1990.
12. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Pharmacology. 13ª edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	39/88

13. Smith DA, Allerton C, Kalgutkar A, van de Waterbeemd H, Walker D. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design. Volumen 51. Tercera edición. Weinbeim, Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2012.

Liseno, Luis Balderas 2006



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	41/88

Práctica 5. Determinación de la ruta de eliminación principal de la sulfacetamida sódica en la rata.

Objetivo

Determinar la ruta principal de eliminación de la sulfacetamida sódica en rata mediante la medición de las concentraciones del fármaco en orina.

Fundamento teórico

El último paso para la determinación de las propiedades farmacocinéticas de los fármacos corresponde a la determinación de las rutas de eliminación y sus posibles consecuencias tanto en los efectos terapéuticos como en los tóxicos. La eliminación es el proceso por el que un fármaco pasa del medio interno al exterior. Existen dos mecanismos de eliminación: excreción y biotransformación (Metabolismo). Todas las rutas de eliminación siguen forzosamente alguno de estos dos mecanismos o incluso combinación de éstas.

La excreción renal de los fármacos desempeña una función fundamental para dar por terminada la actividad biológica. Los fármacos con tamaño molecular pequeño y/o grupos funcionales que son totalmente ionizados a pH fisiológicos tienen características hidrosolubles que les permiten eliminarse sin sufrir biotransformación. No obstante, los fármacos poco ionizados y, por tanto, más liposolubles que, aunque se filtren por el riñón, pueden reabsorberse por difusión a través de las células tubulorenales. Para eliminar estas sustancias, es necesaria su transformación en compuestos más polares, que son conocidos como metabolitos. Así, se denomina metabolismo o biotransformación a los cambios bioquímicos que los xenobióticos sufren para poder ser eliminados. Con frecuencia la biotransformación produce la inactivación del fármaco. Sin embargo, en algunos casos el metabolito es igual de activo o más que el fármaco del cual deriva.

Además de la excreción renal, los fármacos pueden ser eliminados a través por otras vías de eliminación. La excreción pulmonar es importante para la eliminación de los anestésicos generales inhalados. Los fármacos también pueden ser excretados en el tubo digestivo por las



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	42/88

glándulas salivales, el estómago, el sistema hepatobiliar y colon. El sistema hepatobiliar es el segundo en importancia como vía de excreción después de la renal. Otras vías de eliminación incluyen al sudor, las lágrimas y la leche materna. En esta práctica evaluaremos la vía principal de la eliminación de la sulfacetamida sódica mediante el análisis de datos urinarios del fármaco analizados por el método de *sigma minus*.

Material y reactivos

- 1 rata Wistar hembra.
- 1 jaula metabólica.
- 1 caja Petri.
- 10 tubos de ensayo de 10 x 100.
- 10 tubos de ensayo de 13 x 150.
- Balanza de dos platos.
- Celdas para espectrofotómetro.
- Gradilla.
- 2 jeringas de 5 mL.
- 1 jeringa de insulina.
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Ácido tricloroacético al 25%.
- Furosemida inyectable.
- Nitrito de sodio al 0.5%.
- N-naftiletildiamina al 0.05%.
- Sulfacetamida sódica al 10%.
- Sulfamato de amonio al 0.5%.

Equipo

- Centrifuga.
- Espectrofotómetro.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	43/88

Servicios

Agua

Energía eléctrica.

Procedimiento

1. Cada equipo debe hidratar a su rata administrando solución salina isotónica a una dosis de 25 mL/kg por vía intraperitoneal.
2. Tras la hidratación, se coloca a la rata en la jaula metabólica para tomar la muestra de orina al tiempo cero, colecte toda la orina. Si después de 10 min no orina, se omite la muestra.
3. Transcurrido el tiempo, administre la sulfacetamida sódica a una dosis de 0.1 g/kg por vía intraperitoneal en conjunto con 0.5 mL de furosemida.
4. Se coloca nuevamente la rata en la jaula metabólica y se colecta toda la orina en los siguientes intervalos:
 - 0-10 min
 - 10-20 min
 - 20-30 min
 - 30-60 min
 - 60-90 min
 - 90-120 min
5. Se debe medir exactamente el volumen total de orina miccionada en cada intervalo y se toma una muestra de 0.2 mL por cada lapso para realizar la determinación colorimétrica.
6. Determine las concentraciones de las muestras por medio de la técnica modificada de Bratton-Marshall descrita en las prácticas anteriores.
7. En caso de que las absorbancias no entren en la curva patrón, realice las diluciones necesarias para obtener una lectura de absorbancia dentro de la curva.
8. Obtenga las concentraciones de sulfonamidas. De haberse realizado diluciones, considere el



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	44/88

factor de dilución para obtener la concentración.

9. Una vez concluida la práctica, las ratas serán sacrificadas en la cámara de CO₂.

Resultados

Con los resultados construya las gráficas de cantidad acumulada contra tiempo promedio y aplique el método *Sigma minus* para determinar los siguientes parámetros:

- Constante de eliminación total (K_e)
- Constante de eliminación renal (K_r)
- Constante de eliminación no renal (K_{nr})
- Depuración total (Cl_T)
- Depuración renal (Cl_R)
- Depuración hepática (Cl_H)

Con los parámetros anteriores analice y determine:

- La vía principal de eliminación de la sulfacetamida sódica.
- Los metabolitos principales de la sulfacetamida sódica y su relación con los resultados obtenidos.
- Los resultados obtenidos en comparación con los informados para otras sulfonamidas.
- Los resultados obtenidos en las tres últimas prácticas y su relación con las presentaciones comerciales existentes de la sulfacetamida sódica.

Manejo de residuos

- Las agujas utilizadas tanto para la administración de los fármacos y como para la hidratación de la rata serán desechadas en el contenedor rojo para punzocortantes ubicado en el área de confinamiento de residuos.
- Las jeringas que no contengan sangre se deberán desechar en la basura municipal, mientras que las jeringas con sangre y sin aguja se desecharán en la bolsa roja.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	45/88

- Los cadáveres serán depositados en la bolsa amarilla que se encuentra localizada en la zona de confinamiento de residuos dentro del laboratorio.
- Los residuos de la reacción de Bratton-Marshall serán colectados en un frasco de vidrio, se etiquetarán y serán colocados en el área de confinamiento de residuos.

Cuestionario previo a la práctica

1. Indique la diferencia entre Eliminación, Excreción y Biotransformación.
2. Describa las principales vías de excreción del organismo.
3. Describa el concepto de Xenobiótico.
4. Describa brevemente la diferencia entre metabolismo y biotransformación.
5. Describa brevemente el concepto de Depuración.
6. Indique el procedimiento para calcular Cl_R , Cl_H , Cl_T , ke_{renal} , $ke_{hepática}$ y ke_{total} .
7. Describa el significado biológico de cada uno de los parámetros anteriores.
8. Describa las fases de la biotransformación de xenobióticos y en qué consisten cada una de ellas.
9. Indique las principales rutas de eliminación de las sulfonamidas.
10. Indique los metabolitos principales de la biotransformación de las sulfonamidas.

Referencias bibliográficas

1. Aguilar Ros A, Caamaño Somoza M, Martín Martín FR, Montejo Rubio MC. Biofarmacia y Farmacocinética: Ejercicios y problemas resueltos. Segunda edición. Barcelona, España: Elsevier; 2014.
2. Aleixandre A, Puerro M. Capítulo 2 Metabolismo y excreción de fármacos. En: Lorenzo P, Moreno, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A, editores. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª Edición. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2008. p. 37-55.
3. Birkett DJ. Farmacocinética Fácil. Primera edición. Madrid, España: McGraw-Hill/Interamericana de España; 2005.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	46/88

4. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12a edición. EUA: McGraw Hill Professional, 2011.
5. Clark B, Smith D. Introducción a la farmacocinética. Primera edición. España: Acribia; 1989.
6. Clark MA, Harvey RA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. Pharmacokinetics. En: Pharmacology. Quinta edición. Baltimore, EUA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 1-24.
7. Curry SH, Whelpton R. Drug Disposition and Pharmacokinetics: From Principles to Applications. Primera edición. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011.
8. Curry SH, Whelpton R. Introduction to Drug Disposition and Pharmacokinetics. Primera edición. London, United Kingdom: Wiley; 2017.
9. Flores J, Armijo JA, Mediavilla A. Farmacología humana. Cuarta edición. Barcelona, España: Masson; 2005.
10. Gibaldi M, Perrier D. Farmacocinética. Primera edición. Barcelona, España: Editorial Reverté; 1982.
11. Hladky S. Pharmacokinetics. Primera edición. Manchester, Reino Unido: Manchester University Press; 1990.
12. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Pharmacology. 13a edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.
13. Smith DA, Allerton C, Kalgutkar A, van de Waterbeemd H, Walker D. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design. Volumen 51. Tercera edición. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2012.
14. Winter ME. Farmacocinética clínica básica. Segunda edición. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos; 1994.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	48/88

Práctica 6. Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* L.

Objetivo

Determinar la toxicidad de diferentes sustancias mediante el cálculo de su potencia en un bioensayo en *Artemia salina* L.

Fundamento teórico

Un bioensayo de toxicidad es una herramienta fundamental en ecotoxicología, un campo de la farmacología, que combina las técnicas ecológicas y la química para determinar los efectos de que una sustancia puede tener en un organismo. Los bioensayos de toxicidad involucran la exposición de organismos a una serie de diferentes concentraciones de la sustancia y determinando la respuesta del organismo. La respuesta del organismo usualmente depende de la especie y el tipo de prueba, y puede incluir una reducción del crecimiento o supervivencia.

Las especies o estadios de vida que son especialmente sensitivos a las sustancias son ideales para las pruebas de toxicidad. Por ejemplo, los estados de desarrollo temprano de organismos marinos son más sensitivos que sus equivalentes adultos. Porque el estrés del medio ambiente que afecta el desarrollo larvario puede tener serias consecuencias potenciales para la población del ecosistema, esos estados de vida tempranos son muy útiles para identificar el efecto dañino del medio ambiente. También ayuda si el organismo de prueba tiene una amplia distribución geográfica, es una parte importante del ecosistema, es económico, o fácilmente cultivable, y puede ser colectado a lo largo del año o puede ser mantenido bajo condiciones de laboratorio.

Opciones de pruebas de toxicidad

Los bioensayos de toxicidad aguda son pruebas rápidas diseñadas para medir los efectos de sustancias en especies durante un corto tiempo. Los bioensayos, los cuales típicamente tardan de 48 a 96 horas, usualmente miden los efectos de sustancias en la supervivencia de la especie. Los resultados de esas pruebas son reportados como CE_{50} , la cual es la concentración efectiva de una



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	49/88

muestra de prueba que causa un efecto específico (aquí un 50% de la reducción de la supervivencia). Sin embargo, los ensayos de toxicidad crónica son usados para sustancias de bajo nivel en situaciones de alto riesgo. Estas son pruebas de largo tiempo relativo a la vida de la especie utilizada y son diseñados para medir el desarrollo larvario o crecimiento y el éxito o falla de la reproducción.

En esta práctica se realizará un bioensayo de toxicidad aguda utilizando el crustáceo *Artemia salina* L., el cual es muy utilizado para pruebas ecotoxicológicas, o como pruebas de screening para la búsqueda de sustancias citotóxicas.

Material y reactivos

Huevecillos liofilizados de *Artemia salina* L.

Pecera de vidrio capacidad 2 L.

10 tubos de ensaye.

Pipetas de vidrio.

Jeringas de 1 mL.

Foco sumergible de 5 W.

Termómetro para pecera.

Pecera de 500 mL.

Matraz Erlenmeyer de 1 L.

Vasos de precipitados de 100, 500 mL.

5 pipetas Pasteur con bulbo.

Balanza.

Gradilla.

Agua de mar artificial.

Anticloro (tiosulfato de sodio al 1 %).

Solución de cloruro de mercurio (II) al 1%.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	50/88

Solución de sulfato de plata al 1%.

Solución de nicotina al 1%.

Solución de acetato de plomo al 1%.

Solución de tiocianato de potasio al 1%.

Solución de dicromato de potasio al 1%.

Equipo

Aereador con manguera y filtro.

Balanza analítica.

Servicios

Agua.

Energía eléctrica.

Procedimiento

Incubación de los huevecillos

1. El dispositivo de incubación se arma como se muestra en la Figura 2.
2. Preparé 400 mL de agua de mar artificial, pesando 12.2 g de sal marina y disolver en un volumen final de 400 mL. Adicionar una gota de anticloro y dejar reposar durante 5 minutos.
3. De la solución anterior se colocan 300 ml en la pecera de incubación.
4. Coloque una cantidad de agua corriente en la pecera mayor, aproximadamente a una temperatura de 26 a 28 °C y dejar que alcance el equilibrio con el agua de la pecera de incubación.
5. Conectar los dispositivos de aeración y luz. Incube a 37 °C por 1 hora.
6. Adicioné los huevecillos en la pecera de incubación con una espátula limpia y seca (aproximadamente 10 µg de huevecillos), colocar en la zona oscura de la pecera de 500 mL. Incubé durante 24 h.

Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	51/88

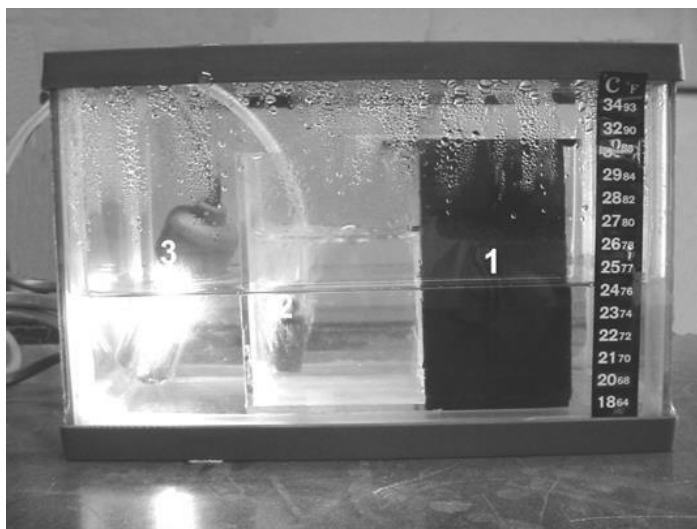


Figura 2. Pecera con dispositivos de incubación (1), aeración (2) e iluminación (3).

Preparación de las muestras

Las muestras se prepararán de acuerdo con la siguiente tabla:

Muestra	Volumen de solución de HgCl_2 ó Ag_2SO_4 (mL)	Volumen de agua de mar artificial (mL)	Concentración (mg/mL)
1	0	2	
2	0.2	1.8	
3	0.4	1.6	
4	0.6	1.4	
5	0.8	1.2	
6	1	1	
7	1.2	0.8	
8	1.4	0.6	
9	1.6	0.4	
10	1.8	0.2	
11	2	0	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	52/88

Realización del bioensayo

1. A cada equipo se le asignará una solución de prueba.
2. Marque los tubos de ensaye a un volumen de 2 mL. A cada tubo adicione el volumen correspondiente de la solución de prueba en cada tubo de ensaye previamente marcado.
2. Se colocarán 10 nauplios de *Artemia salina* L. por cada uno de los tubos de ensaye, evitando agregar demasiada agua de mar artificial.
3. Se colocará el volumen de agua de mar artificial necesario para completar a un volumen total de 2 mL.
4. Se observará el movimiento de los organismos por un periodo de 60 minutos.
5. Al término del periodo de observación se contarán los nauplios de *Artemia salina* L. que sobrevivieron de la siguiente manera:
 - a. Los nauplios que presentan movimiento, aunque sea este mínimo, se consideran vivos.
 - b. Los nauplios que permanecen inmóviles se consideran muertos.

Resultados

Realice la curva dosis-respuesta cuantitativa para las sustancias probadas, utilizando los datos de todos los equipos del grupo.

Calcule la CL_{50} de cada una de las sustancias probadas por medio del análisis Probit.

Calcule la potencia relativa de cada una de las sustancias probadas tomando al cloruro de mercurio (II) como referencia.

Con la gráfica realizada y los valores calculados, analice:

- Los datos encontrados con respecto a los datos informados en la literatura.
- Las ventajas y desventajas de los bioensayos con respecto a los ensayos con organismos superiores.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	53/88

Manejo de residuos

- Los residuos cada sustancia tóxica serán reunidos en un frasco de plástico, etiquetados y colocados en la zona de confinamiento de residuos.

Cuestionario previo a la práctica

1. Indique las diferencias principales entre DL_{50} y CL_{50} .
2. Indique los organismos utilizados para las pruebas de toxicidad.
3. Describa las características del crustáceo *Artemia salina* L.
4. Indique los campos de aplicación de las pruebas de toxicidad.
5. Indique las ventajas de utilizar organismos inferiores en las pruebas farmacológicas.
6. Defina el concepto de pruebas de *screening* farmacológico.
7. Indique los organismos utilizados para las pruebas de *screening* farmacológico.

Referencias bibliográficas

1. Díaz Báez MC, Bustos López MC, Espinosa Ramírez AJ. Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos. Primera edición. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2004.
2. Finney D. Statistical method in biological assay. 3rd edition. USA: Mc Millan Pub. Co; 1978.
3. Kumar D, Roy R, Parashar A, Raichur AM, Chandrasekaran N, Mukherjee A, *et al.* Toxicity assessment of zero valent iron nanoparticles on *Artemia salina*. *Environ Toxicol.* 2017; 32(5):1617-1627.
4. Leos-Rivas C, Rivas-Morales C, García-Hernández DG. Capítulo 2 Actividad antioxidante y toxicidad. En: Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ. Investigación en plantas de importancia médica. Primera edición. Nuevo León, México: OmniaScience; 2016. p. 55-75.
5. McLaughlin JL. Crown-gall tumors in potato discs and brine shrimp lethality: Two simple bioassays for higher plant screening and fractionation. En: Hostettmann K, ed. Methods in Plant Biochemistry. London: Academic Press; 1991; 6:1-31.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	54/88

6. Meyer BN, Ferrigni NA, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med.* 1982; 45(5):31-4.
7. Ramírez Romero P, Mendoza Cantú A. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México. Primera edición. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología; 2008.
8. Sánchez-Fortún S, Barahona MV. Toxicity and characterization of cholinesterase-inhibitions induced by diisopropyl fluorophosphate in *Artemia salina* larvae. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2009; 72(3):755-80.
9. Serrano Gallego R. Diseño experimental y tratamiento de datos en bioensayos. En: Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos. Primera edición. España: Universitat Jaume; 2003.
10. Weber CI. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwaters and marine organism. Primera edición. Cincinnati, EUA: U.S. Environmental Protection Agency; 1993.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	56/88

Práctica 7. Relación Dosis Respuesta Cuantal.

Objetivo

Comprender la relación dosis respuesta cuantal mediante la determinación de la dosis efectiva 50 (DE_{50}), dosis letal 50 (DL_{50}), índice terapéutico (IT) y margen estándar de seguridad (MS) del pentobarbital sódico en ratones CD-1.

Fundamento teórico

A la farmacología le interesan los efectos de los fármacos sobre los sistemas vivos o sobre los componentes íntimamente relacionados, como células, membranas o enzimas. En consecuencia, pueden estudiarse muchos niveles de organización o complejidad de los sistemas, que abarcan desde la interacción molecular de los fármacos hasta su efecto sobre las poblaciones. Como en todas las disciplinas científicas, la farmacología tiene su vocabulario y lenguaje propios. Estos términos comprenden entre otros; farmacodinamia, farmacocinética, farmacoterapia, farmacoepidemiología, farmacoeconomía, toxicología, relación riesgo-beneficio, etc.

La farmacodinamia describe la acción que realiza un fármaco. En los estudios farmacodinámicos, que vienen a ser el estudio detallado de cómo actúan los fármacos, suelen emplearse métodos cuantitativos y análisis matemáticos para comparar los efectos de los fármacos y para asegurar una descripción exacta y completa de ellos. Esta clase de estudios incluyen la medida de los efectos del fármaco a diferentes concentraciones del mismo y esta información suele presentarse en forma de gráfico como Curva Dosis-Respuesta. Las curvas de dosis-respuesta pueden ser representadas y analizadas de diferentes formas para que los fármacos y sus efectos puedan analizarse y compararse.

Existen dos tipos de curva de dosis-respuesta: las Dosis-Respuesta Gradual y las Curvas Dosis-Respuesta Cuantal. Esta última, involucra la proporción de individuos en los que tiene lugar un efecto determinado que ha sido inducida por una determinada dosis. La curva suele



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	57/88

corresponder a una distribución estadística normal, y es representada como la proporción acumulada de individuos que responden graficada en contra del logaritmo de la dosis, el resultado es una gráfica sigmoidea de la que se obtiene la dosis efectiva 50.

Material y reactivos

36 ratones hembra CD-1.

8 jeringas de un 1 mL.

Balanza granataria para animales.

Marcador de tinta indeleble

Solución salina fisiológica

Disoluciones de pentobarbital sódico a 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/mL.

Equipo

Ninguno

Servicios

Agua.

Energía eléctrica.

Procedimiento

1. Cada equipo, recibirá 6 ratones, los cuales se pesarán y se marcarán de acuerdo a la técnica de marcado conveniente para este experimento. Los datos del peso de cada ratón deberán ser registrados para así poder calcular la dosis para cada uno de ellos.
2. De acuerdo con el peso de cada ratón se procede a calcular la cantidad de fármaco que deberá ser administrada a cada uno de ellos, recuerde siempre anotar todos los datos. Las dosis que se utilizarán serán 10, 20, 40, 80, 160 y 320 mg/kg. Se sugiere utilizar los ratones más grandes para las dosis mayores.
3. Administrar la dosis correspondiente de pentobarbital para cada uno de los ratones,



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	58/88

administré el fármaco por vía intraperitoneal.

- Una vez administrado el fármaco, se observa el comportamiento de cada uno de los ratones, durante 30 minutos a partir del momento de la aplicación del pentobarbital.
- Debe registrar el efecto farmacológico presentado en cada uno de los animales de experimentación (sedación, hipnosis o muerte).
- Una vez concluidas sus observaciones, procederá a sacrificar los ratones en la cámara de CO₂.

Resultados

- Construya una curva dosis-respuesta cuantál para el pentobarbital sódico.
- Calcule la DE₅₀ para los efectos de sedación e hipnosis del pentobarbital sódico por medio de:
 - Por interpolación en la curva dosis-respuesta
 - Por unidades Probit
- Calcule la DL₅₀ para el efecto muerte del pentobarbital sódico por los dos métodos anteriores.
- Calcule el Índice Terapéutico y el Margen Estándar de Seguridad para cada uno de los efectos medidos.

Con la gráfica realizada y los valores calculados, analice:

- La seguridad, efectividad y selectividad de los efectos del pentobarbital sódico.
- La importancia de las curvas dosis-respuesta cuantales.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	59/88

Manejo de residuos

- Las agujas utilizadas para la administración de los fármacos y para la toma de muestras del conejo serán desechadas en el contenedor rojo para punzocortantes ubicado en el área de confinamiento de residuos.
- Las jeringas que no contengan sangre se deberán desechar en la basura municipal, mientras que las jeringas con sangre y sin aguja se desecharán en la bolsa roja.
- Los cadáveres serán depositados en la bolsa amarilla que se encuentra localizada en la zona de confinamiento de residuos dentro del laboratorio.

Cuestionario previo a la práctica

1. Describa el concepto de *Farmacometría*.
2. Explique la diferencia entre una *Respuesta Gradual* y una *Respuesta Cuantal*.
3. Describa las características que componen a una curva Dosis-Respuesta.
4. Indique el procedimiento gráfico que se utiliza para calcular DL_{50} y DE_{50} .
5. Indique el procedimiento utilizando unidades Probit que se utiliza para calcular DL_{50} y DE_{50} .
6. Indique los principales organismos utilizados para el cálculo de DL_{50} , DE_{50} , DT_{50} .
7. Describa la utilidad de los estudios dosis-respuesta cuantal en diversas áreas o campos.
8. Indique las propiedades farmacológicas y toxicológicas del pentobarbital.
9. Indique los mecanismos de acción del pentobarbital.
10. Describa el procedimiento para calcular el *Índice Terapéutico* y el *Margen Estándar de Seguridad* e indique la utilidad de cada parámetro.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	60/88

Referencias bibliográficas.

1. Arias TD. Glosario de Medicamentos: Desarrollo, evaluación y uso. Primera edición. Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 1999.
2. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12a edición. EUA: McGraw Hill Professional, 2011.
3. Camarasa J, Escubedo E, Laguna JC, Pallas M, Camins A, Sureda FX. La interacción Fármaco-receptor. Primera edición. Barcelona, España: Edicions Universitat de Barcelona; 1997.
4. Gleason JA. Capítulo 1. Principios básicos farmacodinámica. En: Farmacología. Primera edición. México: Editorial El Manual Moderno; 2011.
5. Finney D. Statistical method in biological assay. 3rd edition. USA: Mc Millan Pub. Co; 1978.
6. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Pharmacology. 13a edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.
7. Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJA, Hoffman BB. Cuantificación de la acción farmacológica. En: Farmacología integrada. . Madrid, España: Harcourt; 1998. p. 53-70.
8. Mendoza Patiño N. Farmacometría. En: Farmacología Médica. Primera edición. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 102-110.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	62/88

Práctica 8. Relación Dosis-Respuesta Gradual.

Objetivo

Comprender la relación dosis respuesta gradual mediante la determinación la CE_{50} de la acetilcolina, carbacol y pilocarpina en músculo liso de cobayo con ayuda de un simulador.

Fundamento teórico

Aquellas respuestas de un organismo que, dentro de ciertos límites, aumentan en magnitud a medida que se incrementa la dosis del medicamento se denomina de tipo gradual. Cuando tales respuestas se analizan en un tipo de coordenadas cartesianas, en el cual las ordenadas representan la magnitud de las respuestas y las abscisas las dosis o los logaritmos de las dosis, se obtiene un trazo hiperbólico o una curva sigmoidea, que para fines prácticos puede considerarse como una línea recta.

Para que los fármacos actúen se requiere de sus mecanismos de acción: los efectos de los fármacos se ven influenciados por la interacción que presentan con las macromoléculas del organismo, ya que el interactuar modifica la función del componente y con ello se dan los cambios bioquímicos y fisiológicos que determinan la respuesta al fármaco. Entre una de las consecuencias más importantes, consiste en que el medicamento es capaz de modificar la velocidad con que ocurre cualquier función corporal, y no genera efectos sino modula funciones.

Mecanismos de acción de un fármaco

Una vez que el fármaco agonista se une a su receptor, algún mecanismo efector se activa, este efecto se localiza dentro de la célula o modifica algún efecto intracelular. Se han definido cuatro mecanismos de acción:

1. Fármacos liposolubles (hormonas esteroides) pueden cruzar las membranas y mezclarse con un receptor intracelular
2. Los fármacos que regulan los conductos iónicos (acetilcolina en el receptor nicotínico) pueden accionarse en forma directa la apertura de un conducto iónico.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	63/88

3. Los fármacos que actúan enzimáticamente (insulina) pueden accionarse en la porción extracelular de enzimas que se expanden a través de la membrana y modificar su actividad intracelular.
4. Fármacos que pueden unirse a receptores que se enlazan por medio de proteínas acopladoras a efectores intracelulares.

Tipos de receptores de fármacos

Tipo 1: se encuentran en la superficie externa de la membrana plasmática de las células diana e interactúan con fármacos que imitan o bloquean las acciones de mediadores autónomos como las catecolaminas, algunas hormonas peptídicas y ciertos factores liberadores.

Tipo 2.- Están situados en el protoplasma de las células diana y se combinan con fármacos que imitan o bloquean las acciones de hormonas esteroideas. La combinación fármaco receptor puede ser modificada y trasladada al núcleo, donde quizá regule la concentración de un ácido ribonucleico (RNA) mensajero específico y la síntesis de proteínas

Tipo 3.- Se encuentra en el núcleo celular. La hormona tiroidea representa el mejor ejemplo.

Para que un fármaco llegue al sitio de acción, es necesario que atraviese por varias membranas celulares del organismo, en donde la absorción, transporte capilar, penetración en dicha célula y excreción son los movimientos básicos de los fármacos a través de las membranas.

Debido a su naturaleza lipídica, la membrana celular es muy permeable a las sustancias liposolubles, por lo que se cree, que la membrana lipídica tiene poros que permiten el pasaje de las moléculas insolubles en lípidos. Además del movimiento pasivo a través de las membranas, también hay procesos más complejos para el pasaje de glucosa, aminoácidos, algunos iones inorgánicos y algunos fármacos; entre estos mecanismos se encuentran:

- 1.-Transporte pasivo: a) Difusión simple y b) Filtración.
- 2.-Transporte especializado: a) Transporte activo, b) Difusión facilitada y c) Pinocitosis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	64/88

Los medicamentos actúan por medio de receptores, en muchos de los casos, pero no siempre. El receptor es un sitio específico de una macromolécula en una membrana celular, a las cuales necesita unirse o debe interactuar un neurotransmisor o fármaco para producir su respuesta biológica característica.

Los receptores metabotrópicos no actúan sobre conducto iónicos, sino sobre enzimas intracelulares, son activados de manera selectiva por trans-1-amino-ciclopentil-1,3-dicarboxilato (ACPD): están acoplados a proteínas G y se acoplan positivamente a fosfolipasa C (la estimulan) o negativamente a adenilciclasa.

Los medicamentos para unirse a su receptor necesitan tener afinidad y eficacia, la afinidad es la capacidad de un fármaco de unirse a su receptor y formar con él un complejo estable, depende de la estructura química del fármaco y del receptor, por lo menos del grupo de anclaje del agonista o antagonista y la eficacia: es la capacidad de estímulo para un grado determinado de ocupación del receptor.

Otras características del fármaco según su estructura química es que sea: agonista, agonista parcial, agonista completo, agonista inverso, antagonista, antagonista competitivo, no competitivo. Agonista: fármacos que interactúan con el receptor y desencadenan una respuesta. Agonista parcial: tiene afinidad, pero menor eficacia que el agonista. Agonista completo: los compuestos que interactúan con los receptores previniendo la acción de los agonistas. Agonista inverso: no se puede hablar de un antagonismo clásico por la falta de un receptor, como el caso de las benzodiazepinas donde no se demuestra un agonista endógeno, un agonista de receptor a benzodiazepinas que antagoniza un efecto. Antagonista: fármaco que tiene afinidad y carece de eficacia. Antagonista competitivo: se produce cuando es posible revertir el efecto de un fármaco antagonista por un incremento en la dosis del agonista, que compite por el mismo receptor. Antagonista no competitivo: un antagonista se une fuertemente, casi de forma irreversible con uniones químicas de alta energía, a un receptor, tal unión no se revierte aumentando la dosis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	65/88

Equipo

Computadora personal con el programa Organ Bath Simulation v2.6.

Videoprojector.

Servicios

Energía eléctrica.

Procedimiento

Para iniciar la práctica es necesario que cada equipo cuente con al menos una computadora con el programa Organ Bath Simulation v2.6.

Para iniciar un experimento

1. Presionar el botón new experiment, y seleccionar el tipo de tejido. Existen cuatro tipos de tejidos dentro del simulador, seleccionar *guinea pig ileum*.
2. Seleccionar acetilcolina de la lista de fármacos disponibles en la sección de agonistas.
3. Presionar el botón Record para iniciar el registro. El cuadro del experimento gráfica el tiempo en segundos de la contracción muscular y la fuerza de contracción medida en gramos. Registrar el estado basal del musculo durante 1 minuto.

Adicionando el agonista

4. Seleccionar la concentración stock del agonista. Iniciar con la menor concentración.
5. Ingresar un mililitro en el espacio denominado volumen.
6. Presionar el botón Add to Organ Bath. Registrar la reacción durante 20 segundos.
7. Lavar el músculo para retirar la acetilcolina presionando el botón Flush Reservoir Bath.
8. Permitir que el musculo regrese a su estado basal y permitir que se estabilice por 10 segundos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	66/88

Medición de la respuesta del músculo

9. Presionar el botón stop para detener el registro.
10. Medir la contracción del músculo recorriendo la barra central al sitio donde se estabiliza la respuesta del músculo. Realizar tres mediciones y calcular el promedio de respuesta.

Construcción de la curva dosis-respuesta

11. Repetir los pasos 4 al 10 para cada una de las soluciones stock de acetilcolina y registrar el promedio de respuesta para cada una de ellas.
12. Calcular la concentración final en el baño (CFB) donde se encuentra el órgano para cada concentración de acetilcolina adicionada al baño, utilice la siguiente fórmula:

$$[CFB] = \frac{[stock\ de\ acetilcolina] \times Volumen\ adicionado}{Volumen\ del\ baño}$$

El volumen del baño es de 10 mL.

13. Calcule el porcentaje del efecto obtenido de cada concentración de acetilcolina, utilice la respuesta máxima observada como el 100% del efecto.

Respuesta graduada de carbacol y pilocarpina

12. Repita el procedimiento para los fármacos carbacol y pilocarpina.

Resultados

1. Construir la curva dosis-respuesta gradual para acetilcolina, carbacol y pilocarpina.
2. Calcular mediante el método probit la CE_{50} para acetilcolina, carbacol y pilocarpina.
3. Calcular la potencia relativa del carbacol y de la pilocarpina para contraer el musculo liso de cobayo con respecto a la acetilcolina.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	67/88

Manejo de residuos

- No se generan residuos.

Cuestionario previo a la práctica.

1. Describa los conceptos de Neurotransmisor, Hormona, Ligando y Receptor.
2. Indique los principales tipos de ligandos y describa las diferencias entre ellos.
3. Describa brevemente las principales características de los ligandos.
4. Elabore una curva dosis-respuesta en la que se ilustre la forma de las curvas de los tipos de ligandos.
5. Describa los principales tipos de receptores que se conocen actualmente.
6. Describa brevemente el mecanismo de transducción de señales de la acetilcolina.
7. Indique los tipos y subtipos de receptores de la acetilcolina, así como la función en el organismo de cada uno de ellos.
8. Indique los usos terapéuticos de los principales agonistas de la acetilcolina.
9. Indique el procedimiento para ajustar una curva dosis-respuesta por medio de la Ecuación de Hill.
10. Indique el procedimiento para el cálculo de la potencia relativa.

Referencias bibliográficas

1. Arias TD. Glosario de Medicamentos: Desarrollo, evaluación y uso. Primera edición. Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 1999.
2. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12a edición. EUA: McGraw Hill Professional, 2011.
3. Camarasa J, Escubedo E, Laguna JC, Pallas M, Camins A, Sureda FX. La interacción Fármaco-receptor. Primera edición. Barcelona, España: Edicions Universitat de Barcelona; 1997.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	68/88

4. Clark MA, Harvey RA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. Drug-receptor interactions and Pharmacodynamics. En: Pharmacology. Quinta edición. Baltimore, EUA: Wolters Klumer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 24-36.
5. Gago F. Capítulo 3 Fundamentos de la interacción fármaco-receptor. En: Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A, editores. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 57-70.
6. Gleason JA. Capítulo 1. Principios básicos farmacodinámica. En: Farmacología. Primera edición. México: Editorial El Manual Moderno; 2011.
7. Finney D. Statistical method in biological assay. 3rd edition. USA: Mc Millan Pub. Co; 1978.
8. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Phamacology. 13a edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.
9. Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJA, Hoffman BB. Cuantificación de la acción farmacológica. En: Farmacología integrada. . Madrid, España: Harcourt; 1998. p. 53-70.
10. Mendoza Patiño N. Farmacometría. En: Farmacología Médica. Primera edición. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 102-110.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	69/88

Práctica 9. Interacciones farmacológicas.

Objetivo

Comprender las interacciones farmacológicas mediante la determinación del tipo de interacción farmacológica entre la acetilcolina y la atropina en músculo liso de cobayo con ayuda de un simulador.

Fundamento teórico

Es la relación que tienen dos o más medicamentos al administrarse para tratar enfermedades coexistentes, provocando la probabilidad de que algunas veces uno de los medicamentos altere la intensidad del efecto farmacológico del otro medicamento que se administra en forma concurrente: Esto puede causar el aumento o la disminución de los efectos de uno o de ambos medicamentos, la aparición de un nuevo efecto que no presente ninguno de los medicamentos administrados. Las interacciones pueden deberse a alteraciones en la fase farmacéutica, farmacocinética y farmacodinámica.

Interacciones Farmacéuticas

El término disposición hace referencia a que el medicamento tenga buena calidad, para que esté disponible y no se tarde más en absorber y pueda interactuar con otros medicamentos. Disolución: en general, agentes en solución se absorben más de prisa que en suspensión, el tiempo de disolución afecta la velocidad de absorción, el inicio de la acción de agentes poco solubles se retrasa debido a que tarda en disolverse.

Interacciones Farmacocinéticas

1. Absorción: la absorción de sitios subcutáneos puede hacerse lenta por la administración simultánea de vasoconstrictores, por ejemplo: anestésicos locales y adrenalina



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	70/88

2. Distribución: puede ser alterada por medicamentos que compiten por los sitios de fijación: por ejemplo, la quinidina puede desplazar a la digoxina; o alterar el compartimento físico en el cual otro medicamento se distribuye: por ejemplo, los diuréticos pueden reducir el agua corporal total en la que se distribuyen los aminoglucósidos
3. Biotransformación: puede ser acelerado por agentes: por ejemplo, barbitúricos que son inductores de las enzimas hepáticas, o pueden ser inhibido por agentes como cimetidina, inhibidora de la MAO.
4. Eliminación: la excreción de medicamentos por el riñón puede cambiar por la presencia de medicamentos que reducen el flujo sanguíneo renal, por ejemplo, agentes β -bloqueadores, o que inhiben mecanismos específicos de transporte renal, por ejemplo, la acción de la aspirina sobre la secreción del ácido úrico.

Interacciones Farmacodinámicas

1. Antagonismo: es un medicamento que se une a los receptores, pero no los activa. Los efectos de los antagonistas son el resultado de impedir la acción de los agonistas y éstos pueden ser competitivos y no competitivos.
2. Sinergismo: es cuando el efecto conjunto de dos medicamentos es superior a la suma algebraica de los efectos individuales.
3. Adición: el efecto aditivo se refiere a la misma adición, pero cuando ambos tienen el mismo mecanismo de acción.
4. Sumación: es cuando ambos medicamentos evocan la misma respuesta aparente sea cual fuere el mecanismo de acción y su efecto combinado es la suma algebraica de los efectos individuales

Siempre hay que tener presentes éstas interacciones ya que nos pueden dar efectos que a veces son convenientes, pero a veces son contraproducentes. En esta práctica, se determinará el tipo de interacción entre la acetilcolina y la atropina en musculo liso de cobayo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	71/88

Equipo

Computadora personal con el programa Organ Bath Simulation v2.6.

Videoprojector.

Servicios

Energía eléctrica.

Procedimiento

Para iniciar la práctica es necesario que cada equipo cuente con al menos una computadora con el programa Organ Bath Simulation v2.6.

Para iniciar un experimento

1. Presionar el botón new experiment, y seleccionar el tipo de tejido. Existen cuatro tipos de tejidos dentro del simulador, seleccionar *guinea pig ileum*.
2. Seleccionar acetilcolina de la lista de fármacos disponibles en la sección de agonistas.
3. Seleccionar atropina de la lista de antagonistas disponibles.
4. Presionar el botón Record para iniciar el registro. El cuadro del experimento gráfica el tiempo en segundos de la contracción muscular y la fuerza de contracción medida en gramos. Registrar el estado basal del musculo durante 1 minuto.

Adicionar los fármacos

4. Seleccione la concentración stock del agonista (acetilcolina). Iniciar con la menor concentración. Ingresar un mililitro en el espacio denominado volumen.
5. Seleccione la concentración de 1×10^{-2} M del antagonista (atropina). Ingrese un mililitro en el espacio denominado volumen.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	72/88

6. Adicionar el agonista al baño presionando el botón Add to Organ Bath. Registrar la reacción durante 20 segundos.

7. Transcurrido el tiempo, adicione al antagonista presionando el botón Add to Organ Bath. Registre la contracción durante 20 segundos.

8. Lave el músculo para retirar los fármacos presionando el botón Flush Reservoir Bath.

9. Permita que el musculo regrese a su estado basal y que se estabilice por 10 segundos

Medición de la respuesta del músculo

10. Presionar el botón stop para detener el registro.

11. Mida la contracción del músculo recorriendo la barra central al sitio donde se estabiliza la respuesta del músculo tanto para la acetilcolina como para la acetilcolina con atropina. Realizar tres mediciones y calcular el promedio de respuesta.

Construcción de la curva dosis-respuesta

12. Repetir los pasos 4 al 10 para cada una de las soluciones stock de acetilcolina y registrar el promedio. La concentración de atropina permanece constante.

13. Calcular la concentración final en el baño (CFB) donde se encuentra el órgano para cada concentración de acetilcolina adicionada al baño, utilice la siguiente fórmula:

$$[CFB] = \frac{[stock\ de\ acetilcolina] \times Volumen\ adicionado}{Volumen\ del\ baño}$$

El volumen del baño es de 10 mL.

14. Calcule el porcentaje del efecto obtenido de cada concentración de acetilcolina, utilice la respuesta máxima observada como el 100% del efecto.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	73/88

15. Repita los pasos 4 al 13 utilizando las concentraciones constantes de atropina de 10^{-6} y 10^{-4} M.

Resultados

1. Construir la curva dosis-respuesta gradual para la acetilcolina, así como para la interacción entre acetilcolina y atropina.
2. Calcule mediante el método probit la CE_{50} para la acetilcolina, así como para la interacción entre acetilcolina y las concentraciones de atropina 10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6} M.
3. Calcule la potencia relativa de la combinación de acetilcolina con cada una de las concentraciones de atropina con respecto a la acetilcolina.

Manejo de los residuos

- No se generan residuos.

Cuestionario previo a la práctica.

1. Describa los principales tipos de antagonismo que se conocen actualmente.
2. Indique la diferencia entre antagonismo y antagonista.
3. Indique la diferencia entre una interacción farmacodinámica y una interacción farmacocinética.
4. Describa los principales mecanismos de interacciones farmacológicas por interacción con receptores.
5. Describa los principales mecanismos de interacciones farmacocinéticas.
6. Indique los diferentes tipos de antagonistas y las diferencias entre cada uno de ellos.
7. Describa en qué consiste el Modelo del Complejo Ternario para los receptores Metabotrópicos.
8. Describa el procedimiento experimental para diferenciar los diferentes tipos de agonistas y antagonistas.
9. Describa los mecanismos de acción propuestos para antagonistas no competitivos.
10. Indique los principales agonistas y antagonistas nicotínicos, así como sus propiedades y usos.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	74/88

Referencias bibliográficas

1. Arias TD. Glosario de Medicamentos: Desarrollo, evaluación y uso. Primera edición. Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 1999.
2. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12a edición. EUA: McGraw Hill Professional, 2011.
3. Camarasa J, Escubedo E, Laguna JC, Pallas M, Camins A, Sureda FX. La interacción Fármaco-receptor. Primera edición. Barcelona, España: Edicions Universitat de Barcelona; 1997.
4. Clark MA, Harvey RA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. Drug-receptor interactions and Pharmacodynamics. En: Pharmacology. Quinta edición. Baltimore, EUA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 24-36.
5. Gago F. Capítulo 3 Fundamentos de la interacción fármaco-receptor. En: Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A, editores. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 57-70.
6. Gleason JA. Capítulo 1. Principios básicos farmacodinámica. En: Farmacología. Primera edición. México: Editorial El Manual Moderno; 2011.
7. Figueroa Hernández JL. Interacciones farmacológicas. En: Mendoza Patiño N, editor. Farmacología Médica. Primera edición. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 177-110.
8. Finney D. Statistical method in biological assay. 3rd edition. EUA: Mc Millan Pub. Co; 1978.
9. Katzung B, Trevor A. Basic & Clinical Pharmacology. 13a edición. EUA: McGraw Hill Professional; 2014.
10. Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJA, Hoffman BB. Cuantificación de la acción farmacológica. En: Farmacología integrada. Madrid, España: Harcourt; 1998. p. 53-70.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	75/88

Criterios de evaluación

- El Laboratorio de Evaluación de Fármacos y Medicamentos corresponde al 40% de la calificación del módulo Evaluación de Fármacos y Medicamentos 1.
- El laboratorio se acredita con una calificación mínima de seis (6).
- No se guarda calificaciones para otro semestre o para examen extraordinario.
- El alumno deberá cumplir con el 80% de asistencias para poder ser evaluado.
- El laboratorio está dividido en dos bloques. El primer bloque consta de la practica 1 a la 5, mientras que el segundo está conformado de las practicas 6 a 9.

La calificación final del laboratorio se obtiene promediando los siguientes rubros para un total de 100%:

- **Examen** individual (50%)
- **Seminario** por equipo (10%)
- **Trabajo en el laboratorio** individual (20%)
- **Reporte** de la práctica, por equipo (20%)

Características de cada Rubro

- ♦ **Examen** (individual) el examen se elabora con base en los métodos y fundamento teórico descritos en cada una de las prácticas, así como los conceptos investigados en los cuestionarios previos a la práctica. Asimismo, se incluyen en los exámenes cálculos de farmacometría. Se realizan dos exámenes, uno después de cada bloque de prácticas. El promedio de los exámenes debe ser aprobatorio para poder promediar los demás rubros.
- ♦ **Seminario** (por equipo) consta de dos exposiciones. La primera exposición se realiza antes de iniciar la sesión práctica, deben participar todos los integrantes del equipo, explicando los contenidos (no leyendo la información y cuidar incluir imágenes, cuadros sinópticos, etc.); en



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	76/88

este seminario se hace énfasis en la metodología de la práctica. El segundo se presenta el día del seminario correspondiente al bloque de prácticas; en este seminario se profundiza en los resultados obtenidos en la práctica y en la discusión de estos.

- El seminario deberá contener los siguientes puntos: introducción, marco teórico, objetivos, desarrollo experimental, resultados, discusión de resultados, conclusiones y sugerencias.
 - No se permitirá que el expositor sólo lea su información: deberá explicarla y entender. Además, siempre deberá estar frente al grupo y hablar apropiadamente.
 - El tema debe de ser dominado por todos los integrantes del equipo. El material debe ser legible a una distancia mínima de 5 m.
 - Al final de cada exposición habrá una sesión de preguntas, donde, tanto alumnos y profesores harán las mismas.
 - Todos los equipos receptores están obligados a expresar sus dudas y/o sugerencias al final de la exposición.
 - No se permitirá que los alumnos realicen otras actividades en el momento de la exposición. Además, no se permitirá que se sienten en las últimas filas si las primeras están desocupadas.
 - La evaluación correrá a cargo de todos los profesores. Cada uno dará una calificación a cada uno de los integrantes de los equipos, las cuales se promediarán para dar la calificación de la exposición.
 - Por ningún motivo habrá prórrogas o segundas oportunidades, *sin excepción*.
- ♦ **Trabajo en el laboratorio** (se califica por equipo) evaluando: trabajo colaborativo, normatividad, organización, responsabilidad y limpieza. Dentro del trabajo de laboratorio se evalúa la **Bitácora individual** que consta de una libreta exclusiva para el laboratorio, debidamente identificada con una portada de inicio que incluya; nombre de la institución, nombre del módulo, nombre del alumno y datos de contacto, número de equipo asignado,



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	77/88

semestre y el nombre del asesor asignado. En la segunda hoja de la bitácora, se sugiere escribir la misión y visión, así como los objetivos del Sistema de Gestión de Calidad. A partir de la tercera hoja se dará inicio al trabajo de laboratorio donde se incluye por práctica: título de la práctica, objetivo, diagrama de flujo del método, cuestionario pesadas, cálculos, resultados, notas y comentarios que se generen durante el trabajo de laboratorio. Se califica como parte del trabajo en el laboratorio.

- ♦ **Reporte** se realiza por equipo y se entrega una semana después de concluir la práctica (tener resultados completos). Se elabora en formato de cartel en una hoja tamaño carta, el reporte de contener:

1. **Título de la práctica e integrantes del equipo.**
2. **Introducción:** debe ser una introducción de la práctica correspondiente y no únicamente de aspectos teóricos relacionados con el tema.
3. **Objetivo.**
4. **Metodología:** describir la metodología utilizada. Se pueden emplear diagramas de flujo o de otro tipo de diagrama (elaborar un diagrama no significa poner el método en cuadritos).
5. **Resultados:** Los resultados deben expresarse en gráficas, esquemas o cuadros. Las gráficas deberán contener los valores, unidades y nombres de los ejes, así como un título y pie de figura. Los cuadros deberán contener un título, los valores informados deberán tener las unidades respectivas. No es necesario que se coloquen los cálculos realizados. En las prácticas grupales se debe incluir los resultados de todos los equipos.
6. **Discusión de resultados:** hacer un análisis de los resultados obtenidos en la práctica y no sólo una descripción de resultados. El análisis debe realizarse preguntándose el ¿porque? De los resultados obtenidos. Además, se deberá contrastar los resultados obtenidos con la información descrita previamente. En el análisis omitir frases como “los reactivos no servían”, “los equipos no estaban calibrados o no sirven”, “no trabaje bien”, “el clima influyó en la determinación”, etc.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	78/88

7. **Conclusión:** deben ser concretas y estar relacionadas con el objetivo de la práctica, así como con los resultados obtenidos. Evite la frase “se cumplió con el objetivo y la hipótesis fue cierta”.
8. **Referencias:** Deben incluir al menos 4 referencias escritas con base en los criterios de Vancouver. No incluir al manual de prácticas.

Reglamento del laboratorio

- Durante la práctica los alumnos deberán portar una bata blanca larga, de manga hasta el puño y deberá estar abotonada.
- Los alumnos deberán calzar zapatos cerrados con suela antiderrapante.
- Se prohíbe fumar, comer o beber dentro del laboratorio, así como el uso del teléfono celular.
- Se prohíbe jugar dentro del laboratorio.
- En caso de tener el pelo largo, deberán recogerlo.
- Quedan prohibidas las visitas dentro del laboratorio.
- Una vez iniciado el seminario, ningún alumno puede entrar al laboratorio.
- Cada equipo es responsable de su material, la limpieza del mismo y de su mesa de trabajo.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	79/88

Anexos

Anexo 1. Formularios

Formulario 1. Parámetros farmacocinéticos

Modelo de Un Compartimento (Administración Intravascular)

Ecuación general: $C_p = C_p^0 * e^{-k_e * t}$

$$V_d = \frac{D}{C_p^0} = \frac{Cl}{K_e}$$

$$V_{d_{\text{area}}} = \frac{D}{k_e * ABC}$$

$$Cl = \frac{D}{ABC}$$

$$ABC|_0^{\infty} = \frac{C_p^0}{K_e}$$

$$ABC|_0^t = \sum_{n=1}^k (t_{n+1} - t_n) \left(\frac{C_{n+1} + C_n}{2} \right)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	80/88

Modelo de un compartimiento (Administración extravascular)

Ecuación general: $Cp = Cp^0 * (e^{-k_e * t} - e^{-k_a * t})$

$$V_d = \frac{Cl}{k_e}$$

$$V_{d\text{área}} = \frac{F * D}{k_e * ABC}$$

$$Cl = \frac{F * D}{ABC}$$

$$ABC \Big|_0^\infty = \frac{Cp^0}{k_e} - \frac{Cp^0}{k_a}$$

$$F_{absoluta} = \frac{ABC_{EV} * D_{IV}}{ABC_{IV} * D_{EV}}$$

$$F_{relativa} = \frac{ABC_{problema} * D_{estándar}}{ABC_{estándar} * D_{problema}}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	81/88

Modelo de dos compartimientos (Administración intravascular)

Ecuación general: $C_p = A * e^{-\alpha * t} - B * e^{-\beta * t}$

$$C_p^0 = A + B$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\beta}$$

$$V_c = \frac{D}{C_p^0}$$

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

$$V_{d_{\text{área}}} = \frac{D}{\beta * ABC}$$

$$V_{d_{\text{área}}} = V_{d_{ss}} + D * \frac{A * \beta * (\alpha - \beta)}{(A * \beta + \alpha * B)^2}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	82/88

$$V_{d_{ss}} = V_c \frac{(k_{12} + k_{21})}{k_{21}}$$

$$V_{d\beta} = \frac{k_e * V_d}{\beta} = \frac{Cl}{\beta} = \frac{D * \alpha}{(B * \alpha + A * \beta)}$$

$$Cl = \beta * V_{d\beta} = V_c * k_e = \frac{D}{ABC}$$

$$ABC = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}$$

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_e$$

$$\alpha * \beta = k_{21} * k_e$$

$$k_{10} = k_e = \frac{\alpha * \beta}{k_{21}}$$

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{10}$$

$$k_{21} = \frac{(A * \beta) + (B * \alpha)}{Cp^0}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	83/88

Modelo de dos compartimientos (Administración extravascular)

Ecuación general: $C_p = A * e^{-\alpha * t} + B * e^{-\beta * t} - C * e^{-k_a * t}$

$$V_{d_{\text{área}}} = \frac{F * D}{\beta * ABC}$$

$$V_{d_{\text{área}}} = V_{d_{ss}} + D * F * \frac{(A * \beta) * (\alpha - \beta)}{(A * \beta + \alpha * B)^2}$$

$$V_{d_{ss}} = V_c * \frac{k_{12} + k_{21}}{k_{21}}$$

$$V_{d\beta} = \frac{k_e * V_c}{\beta} = \frac{Cl}{\beta}$$

$$Cl = \frac{F * D}{ABC} = \beta * V_{d\beta}$$

$$ABC = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} - \frac{Cp^0}{k_a}$$



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	84/88

Formulario 2. Cálculo del K_p Órgano/sangre

Cálculo de la constante de reparto órgano/sangre (K_p):

$$Kp_{\text{órgano}} = \frac{ABC \Big|_0^t_{\text{órgano}}}{ABC \Big|_0^t_{\text{sangre}}}$$

$$ABC \Big|_0^t = \sum_{n=1}^k (t_{n+1} - t_n) \left(\frac{C_{n+1} + C_n}{2} \right)$$

Formulario 3. Método *Sigma minus*

Ecuación general: $\ln(Du^{\infty} - Du) = -k * t + \ln(Du^{\infty})$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$[ABC]_0^{\infty} = \frac{Cp^0}{Ke}$$



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
MANUAL DE LABORATORIO DE EVALUACIÓN DE FARMACOS
Y MEDICAMENTOS I



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	85/88

Cálculo de constantes de eliminación:

$$k = k_{nr} + k_e$$

$$k_e = \frac{Du^\infty \cdot k}{D_0}$$

$$k_m \approx k_{nr}$$

Cálculo de depuraciones:

$$Cl_T = \frac{D_0}{[ABC]_0^\infty}$$

$$Cl_R = \frac{Du^\infty}{[ABC]_0^\infty}$$

$$Cl_{NR} = Cl_T - Cl_R$$

$$Cl_H \approx Cl_{NR}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	86/88

Formulario 4. Análisis Probit.

Ecuación general: $UP = \beta * \log C + \alpha$

Cálculo de DE_{50} ó DL_{50} :

$$\mu_{50} = \frac{5 - \alpha}{\beta} \quad DL_{50} = 10^{\mu_{50}}$$

Cálculo de una DE ó DL específica:

$$\mu_n = \frac{UP - \alpha}{\beta} \quad DL_n = 10^{\mu_n}$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	87/88

Tabla de transformación de Probabilidad a Unidades Probit										
Probabilidad	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.00	---	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
0.10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
0.20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
0.30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
0.40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
0.50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
0.60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
0.70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
0.80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
0.90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
Probabilidad	0.000	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.007	0.008	0.009
0.97	6.88	6.90	6.91	6.93	6.94	6.96	6.98	7.00	7.01	7.03
0.98	7.05	7.07	7.10	7.12	7.14	7.17	7.20	7.23	7.26	7.29
0.99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Formulario 5. Índice terapéutico y margen estándar de seguridad

Cálculo del Índice Terapéutico (IT):

$$IT = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$$

Cálculo del Margen Estándar de Seguridad (MS):

$$MS = \frac{DL_1 - DE_{99}}{DE_{99}} * 100$$



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML16	13/01/2023	2	88/88

Formulario 6. Ecuación de Hill

Ecuación general: $\log\left(\frac{E}{E_{\max} - E}\right) = h * \log C - h * \log CE_{50}$

$$Y = \log\left(\frac{E}{E_{\max} - E}\right)$$

$$E_{\text{calculado}} = \frac{E_{\max}}{10^{-Y} + 1}$$

$$CE_{50} = 10^{-b/h}$$