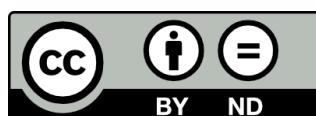




UNIVERSITAT_{DE}
BARCELONA

Aportación al estudio de absorción de una serie de fluoroquinolonas

Elvira Escribano Ferrer



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència *Reconeixement- SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.*

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia *Reconocimiento - SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.*

This doctoral thesis is licensed under the *Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0. Spain License.*

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA
DIVISION DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE FARMACIA
AREA DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA
UNIDAD DE FARMACIA GALENICA
SUBUNIDAD DE BIOFARMACIA Y FARMACOCINETICA**

**APORTACION AL ESTUDIO DE ABSORCION DE UNA
SERIE DE FLUOROQUINOLONAS**

ELVIRA ESCRIBANO FERRER

BARCELONA, Julio 1992

INDICE



INTRODUCCION	1
--------------------	---

CAPITULO 1º

1. CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA DE LAS QUINOLONAS.....	17
1.1. Consideraciones químicas.....	17
1.2. Consideraciones farmacológicas.....	27
1.2.1. Mecanismo de acción.....	27
1.2.2. Espectro antibacteriano.....	30
1.2.3. Resistencia bacteriana.....	31
1.3. Consideraciones farmacocinéticas.....	33
1.3.1. Absorción.....	34
1.3.2. Distribución.....	41
1.3.3. Metabolismo.....	47
1.3.4. Excreción.....	51
1.3.5. Regímenes de dosificación.....	55
1.4. Consideraciones clínicas.....	58
1.4.1. Infecciones de las vías urinarias.....	58
1.4.2. Enfermedades venéreas.....	61
1.4.3. Infecciones de las vías respiratorias superiores.....	61
1.4.4. Infecciones de las vías respiratorias inferiores.....	62
1.4.5. Fibrosis quística.....	63
1.4.6. Diarreas.....	63
1.4.7. Infecciones de estructuras cutáneas, tejidos blandos y huesos.....	64
1.4.8. Otras indicaciones clínicas.....	66
1.4.9. Empleo profiláctico de las quinolonas.....	66
1.4.10. Efectos adversos.....	67
1.5. Consideraciones finales.....	70

1.6. Bibliografía.....	73
------------------------	----

CAPITULO 2º

2. MATERIAL Y METODOS.....	92
2.1. Estimación de la solubilidad.....	92
2.1.1. Material utilizado.....	92
2.1.1.1. Fluroquinolonas ensayadas.....	92
2.1.1.2. Material de laboratorio.....	94
2.1.1.3. Aparatos de medida y auxiliares.....	94
2.1.2. Soluciones para el ensayo de solubilidad.....	95
2.1.2.1. Soluciones reguladoras.....	96
2.1.2.2. Soluciones de las rectas patrón.....	99
2.1.3. Metodología para la estimación de la solubilidad.....	100
2.1.4. Metodología analítica.....	103
2.1.4.1. Descripción.....	103
2.1.4.2. Validación de la metódica analítica...	104
2.2. Estimación del pK_a	108
2.2.1. Fluoroquinolonas que presentan un único valor de pK_a	108
2.2.2. Fluoroquinolonas con dos valores de pK_a	112
2.3. Estimación del coeficiente de reparto.....	124
2.3.1. Material utilizado.....	125
2.3.1.1. Material de laboratorio.....	125
2.3.1.2. Aparatos de medida y auxiliares.....	125
2.3.2. Soluciones para ensayo.....	125
2.3.3. Metodología para la estimación del coeficiente de reparto.....	126
2.3.4. Metodología analítica.....	128
2.4. Estimación del factor de capacidad cromatográfico (k')	129
2.5. Estimación de parámetros teóricos (estructurales y electrónicos).....	130

2.6. Estimación de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).....	131
2.6.1. Material utilizado.....	131
2.6.1.1. Material usual.....	131
2.6.1.2. Material especial.....	132
2.6.1.3. Aparatos de medida y auxiliares.....	134
2.6.2. Soluciones para ensayo.....	135
2.6.2.1. Solución inyectable para anestesia....	135
2.6.2.2. Solución de lavado intestinal.....	135
2.6.2.3. Soluciones de fluoroquinolona para ensayo.....	136
2.6.3. Metodología analítica.....	136
2.6.4. Ensayo de absorción.....	137
2.6.4.1. Animales de experimentación.....	137
2.6.4.2. Técnica biológica.....	137
2.6.4.3. Metodica de cálculo.....	141
2.6.4.3.1. Determinación de la variación de volumen de la solución medicamentosa.....	141
2.6.4.3.2. Estimación de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).....	142
2.6.4.4. Estudio estadístico.....	144
2.7. Bibliografía.....	148

CAPITULO 3º

3. RESULTADOS.....	151
3.1. Estimación de la solubilidad.....	151
3.2. Validación de la metodica analítica.....	160
3.3. Estimación del pK_a	204
3.4. Estimación del coeficiente de reparto.....	205
3.5. Estimación del factor de capacidad cromatográfico (k')	206

3.6. Parámetros estructurales, topológicos, electrónicos y fisicoquímicos.....	207
3.7. Estudio de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).....	214
3.7.1. Determinación de la variación de volumen de la solución medicamentosa (VVR).....	214
3.7.2. Cálculo de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).....	216
3.7.3. Estudio estadístico.....	231

CAPITULO 4º

4. DISCUSION.....	234
4.1. Antecedentes.....	234
4.2. Absorción intestinal relativa de las fluoroquinolonas. 234	
4.2.1. Influencia de los sustituyentes en el carbono7 238	
4.2.2. Correlaciones estructura/absorción..... 248	
4.2.2.1. Los parámetros de lipofilia en el fenómeno de absorción intestinal..... 252	
4.2.2.2. Correlaciones no-lineales simples..... 256	
4.2.2.3. Correlaciones lineales múltiples..... 259	
4.3. Bibliografía.....	266

CAPITULO 5º

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	272
--------------------------------	-----

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La investigación de nuevos fármacos tiene como objetivo fundamental obtener sustancias que tras su administración al organismo enfermo desarrollen una actividad terapéutica que permita curar o paliar un determinado síndrome patológico con los mínimos efectos secundarios. La premisa de conseguir fármacos seguros y eficaces sigue siendo el punto de mira prioritario en el campo de la investigación terapéutica.

Estos estudios, en su conjunto, constituyen una plataforma multidisciplinaria, al precisar un conocimiento a fondo de las distintas propiedades del fármaco potencial y de la máxima información acerca de su futura utilidad terapéutica. Los estudios farmacológicos y toxicológicos permiten determinar las posibilidades de un fármaco potencial en el tratamiento de una patología concreta; sin embargo, la posibilidad de que el fármaco actúe en el lugar de acción, es decir, a nivel de la biofase, dependerá, mayoritariamente, que tras su administración pueda acceder a ella. Por este motivo, cuando un fármaco se administra por vía extravascular, **su absorción**, es decir, el paso del fármaco desde las zonas anatómicas donde se depositó la forma farmacéutica que lo contiene hasta la circulación sistémica, puede ser, en muchos casos, **el factor limitativo** de su actividad farmacológica, o mejor dicho, de su aplicabilidad clínica.

Esta circunstancia explica el gran interés que poseen en la actualidad los **estudios de absorción**, los cuales pretenden coadyuvar en la utilización óptima de los fármacos, tanto desde el punto de vista de la vía de administración más adecuada como de la forma farmacéutica más idónea.

Por otro lado, al sintetizar una serie de sustancias con potencial actividad farmacológica, lo que constituye una serie químicamente homóloga o heteróloga, las diferencias de absorción entre los distintos miembros de la misma constituyen un punto a tener muy en cuenta para su potencial utilización clínica. Los estudios de **absorción** permiten, por una parte, seleccionar aquellos compuestos que poseen una absorción adecuada (al margen de su propia actividad intrínseca) y, por otra, ilustran acerca de cuál puede ser la forma farmacéutica más apropiada para la vía de administración elegida, es decir la vía oral.

La absorción de la mayoría de los fármacos administrados por vía oral se realiza, tras su **liberación** de la forma farmacéutica que los contiene y posterior **disolución** en los líquidos biológicos circundantes a la zona de absorción, por medio de un **proceso pasivo**, a través de las células columnares del epitelio gastrointestinal, fundamentalmente las del intestino delgado, lugar especializado por excelencia para la absorción (1, 2). Sin embargo, los compuestos que por su constitución se asemejan a sustancias endógenas o metabolitos fisiológicos presentan componentes activos en su transporte intestinal. Los

estudios acerca de la absorción de fármacos y otros compuestos exógenos se desarrollan normalmente bajo la hipótesis de que el proceso es pasivo; por este motivo, la **cuantificación del proceso de absorción** se realiza mediante la determinación su **constante de velocidad** (3, 4).

A nivel experimental, son varias las técnicas preconizadas para la determinación de la constante de velocidad de absorción de los fármacos. En general, estas técnicas pueden clasificarse como: métodos "**in vitro**" (5), en los cuales se emplean porciones anatómicas del intestino delgado del animal de experimentación (intestino aislado con perfusión luminal, saco evertido, fracciones aisladas de asas intestinales, etc.), y métodos "**in vivo**", que utilizan el animal de experimentación entero. De los métodos "**in vivo**", los más utilizados son:

a) La técnica descrita por DOLUISIO y col. (6), que emplea la rata como animal de experimentación. En líneas generales, la técnica consiste en aislar en la rata viva anestesiada, un **compartimiento estanco** formado por el intestino delgado, canulado a nivel del cárdias y de la válvula ileocecal. Las cánulas están conectadas a dos jeringas, a partir de las cuales se toman muestras a tiempos prefijados. Se determina la constante de velocidad de absorción, supuesto el proceso de primer orden, a partir de las cantidades de fármaco remanente en el lugar de absorción a los distintos tiempos de toma de muestras.

b) Técnicas de perfusión (7-9), que poseen el mismo fundamento que la técnica de Doluisio, pero que proveen, por medio de una bomba, una circulación continua de la solución medicamentosa a lo largo del intestino delgado.

Mediante estas técnicas puede calcularse la constante de velocidad de absorción "in situ" de los correspondientes fármacos pertenecientes, por ejemplo, a una determinada serie farmacológica y averiguar el valor relativo del parámetro para determinar el fármaco de la serie que posee una absorción más adecuada. Estos estudios con animales de experimentación permiten obtener una información muy interesante acerca de la absorción de los fármacos estudiados, que será de inestimable ayuda en ulteriores estudios en el hombre.

Para la determinación de la constante de velocidad de absorción se ha elegido en la presente Memoria la técnica de perfusión puesto que, por una parte, resulta ser menos traumática que la preconizada por Doluisio y, por otra, por el hecho de que la solución medicamentosa no está en contacto estático con la membrana absorbente, sino que hasta cierto punto simula la dinámica que sufren los fármacos en su tránsito a través del tracto gastroduodenal. La técnica de perfusión, asimismo, permite controlar mejor las variaciones de volumen que sufre la solución medicamentosa a lo largo de la experiencia y evita las excesivas dilataciones que sufre el intestino delgado como compartimiento estanco en la técnica de Doluisio. Cabe comentar, también, que la duración de la experiencia con la técnica

de perfusión puede llegar a ser cuatro veces mayor a la de Doluisio, lo cual permite, en ciertos casos, seguir el proceso de absorción un tiempo suficientemente prolongado para obtener una información fiable al máximo del proceso estudiado.

En otro orden de cosas, los estudios de absorción pretenden, a menudo, averiguar la influencia que pudieran tener, en el paso a través de las membranas absorbentes, las **características fisicoquímicas** de los fármacos en estudio; así, por ejemplo, la influencia que tiene en el proceso de absorción su **lipofilia** (10-12). Como parámetro representativo de la lipofilia de los fármacos se emplea, generalmente, el **coeficiente de reparto** hallado entre disolventes orgánicos adecuadamente seleccionados (octanol, cloroformo, acetato de etilo, etc.), con los cuales se intenta reproducir "in vitro" las propiedades lipofílicas de la membrana intestinal absorbente y soluciones acuosas **de pH análogo** al que se supone prevalece en el lugar de absorción (13-16). La utilización del coeficiente de reparto se debe al hecho de que se ha demostrado la existencia de una correlación lineal entre el coeficiente de reparto experimental y el coeficiente de reparto real entre el lumen intestinal y los lípidos de la membrana absorbente. La influencia de la lipofilia de los fármacos en el proceso de absorción está ampliamente demostrada y es muy numerosa, en este sentido, la bibliografía sobre el tema (17-20); sin embargo, en la actualidad, los estudios en el campo de la absorción se centran en averiguar, además, si aparte de la lipofilia existen otros factores de

carácter fisicoquímico, como por ejemplo la solubilidad intrínseca de los fármacos o su pK_a , que también pudieran influir en la absorción de los fármacos. También es interesante estudiar si los factores relacionados con la estructura molecular (estéricos y electrónicos) influyen en su paso a través de las membranas absorbentes. Se pueden citar, como ejemplo, **los factores de carácter estructural** calculados teóricamente, tales como **los índices de conectividad molecular de valencia**, el volumen molar, etc. (21, 22), o factores de **carácter electrónico**, como la **carga asociada** a un determinado átomo de la molécula, **situación** de los electrones de la última capa de un átomo reactivo, etc.; es decir, todos aquellos factores representativos de la estructura molecular del compuesto que, a través de cambios estructurales sobre un núcleo común, puedan representar un cambio en la absorción del fármaco, al margen de su actividad farmacológica intrínseca.

Entre los recursos de que se dispone para profundizar en el estudio de la influencia de la lipofilia, además de otros parámetros fisicoquímicos y de los factores estructurales y electrónicos en la absorción de los fármacos, cabe citar:

- a) **Establecimiento e interpretación** de posibles **correlaciones simples** entre las constantes de velocidad de absorción intestinal de los componentes de la serie farmacológica sometida a estudio y sus parámetros de lipofilia.

- b) **Establecimiento de correlaciones múltiples** entre constante de absorción (variable dependiente) e índices de lipofilia, parámetros estructurales y parámetros electrónicos (variables independientes) de los fármacos ensayados.

En el primer caso, el objetivo principal es intentar establecer la mejor correlación entre parámetros de lipofilia y constantes de velocidad de absorción para una serie homóloga o heteróloga, a fin de poder predecir posteriormente la constante de velocidad de absorción de un nuevo componente de dicha serie; se procede, generalmente, al establecimiento de correlaciones **no-lineales**, que en muchos casos resulta ser muy útil en la aplicación clínica de nuevas moléculas. Hasta hace recientemente poco tiempo, los criterios generales seguidos en el diseño de nuevos fármacos se basaban, fundamentalmente, en el estudio farmacológico de las series de compuestos, por regla general, homólogos, ignorando, en primera instancia, el estudio de sus características farmacocinéticas; este hecho provocaba, a menudo, la selección de moléculas con elevada actividad farmacológica intrínseca y con la mínima toxicidad, pero, a veces, con **baja o nula absorbabilidad**, lo que, sin duda, limitaba su utilidad terapéutica posterior, al no poder administrarse por vía extravasal, concretamente por vía oral, la vía de elección y más ampliamente utilizada.

En otro orden de cosas, este tipo de correlaciones pretende, asimismo, estudiar el comportamiento de las membranas biológicas de los lugares de absorción frente a

los solutos en contacto con las mismas. Ello equivale, de hecho, a intentar dilucidar el **modelo biofísico de absorción** más probable en la zona del tracto gastrointestinal estudiada de entre los que, en la actualidad, gozan de mayor predicamento (23-25), ya sean probabilísticos o compartimentales (parabólico, hiperbólico o doble hiperbólico); con ello se pretende conocer las propiedades funcionales, e incluso la estructura, de las membranas que delimitan el sector en cuestión.

En el segundo caso, se pretende desarrollar **correlaciones lineales múltiples**, adicionando como variables independientes al parámetro de lipofilia otros parámetros fisicoquímicos, parámetros estructurales y/o electrónicos que permitan establecer si en el proceso de absorción influyen además de la lipofilia. Los ajustados simples no- lineales y múltiples lineales a los resultados experimentales se realizan, en ambos casos, mediante programas de ordenador.

Actualmente se preconiza el establecimiento de las mencionadas correlaciones para investigar "a priori" el efecto que tendrían sobre la absorción modificaciones estructurales potenciales llevadas a cabo en nuevas moléculas de la serie; ello permitiría un diseño más racional de nuevos fármacos, así como una disminución en el tiempo y costo de la investigación.

En la presente Memoria, se pretende realizar un estudio acerca de la influencia de la lipofilia y de los parámetros estructurales y electrónicos sobre la absorción intestinal de una serie de fármacos correspondiente al grupo de las 6-fluoroquinolonas. El motivo principal del trabajo ha sido estudiar las variaciones que se producen en la absorción cuando se modifica la estructura molecular del núcleo principal. El interés del trabajo, creemos, está centrado en el hecho de que el estudio se realiza con moléculas inéditas, obtenidas por síntesis, incluyendo en la serie ciprofloxacino y enrofloxacino, de amplia utilización en clínica, que sirven como fármacos de referencia. En este sentido, la investigación llevada a cabo, cumplimenta uno de los objetivos básicos de la Biofarmacia: una vez contrastada la actividad de los fármacos en estudio, dilucidar la posibilidad de ser administrados clínicamente por vía oral; en último término se pretende ayudar a la obtención de nuevos miembros de la serie que presenten las características más idóneas para esta finalidad.

Para conseguir los objetivos propuestos, el plan de trabajo seguido en la presente Memoria, es el siguiente:

- 1) Determinar las constantes fisicoquímicas de una serie formada por ocho fluoroquinolonas, concretamente: solubilidad intrínseca S_0 , pK_a , factor de capacidad cromatográfico k' y coeficiente de reparto P).

- 2) Calcular los parámetros estructurales (índices de conectividad molecular de valencia, momento dipolar y volumen molar) y electrónicos (carga asociada al N) de cada uno de los elementos de la serie.
- 3) Determinar las constantes aparentes de velocidad de absorción intestinal de todos los elementos de la serie, utilizando la rata como animal de experimentación y una técnica de perfusión "in vivo".
- 4) Intentar establecer correlaciones no-lineales simples entre las constantes aparentes de velocidad de absorción y la lipofilia de los compuestos, representada por el coeficiente de reparto y, alternativamente, establecer correlaciones lineales múltiples entre las constantes de velocidad de absorción y la lipofilia y otros parámetros fisicoquímicos, así como con los parámetros estructurales y electrónicos.
- 5) Interpretación, tras el estudio estadístico correspondiente, de los resultados obtenidos.
- 6) Discusión y conclusiones.

BIBLIOGRAFIA

1. Notari E. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetic. Ed. Marcel Dekker. New York (1987).
2. Shargel L., Andrew B.C. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Ed. Appleton-Century-Crofts. Norwalk, Connecticut (1985).
3. Kaplan S.A., Jack M.L. Principles and perspectives in drug bioavailability. Ed. S. Karger. Basilea (1979).
4. Abdou H.M. Disolution, Bioavailability and Bioequivalence. Ed. Mack Printing Company. Philadelphia, Pennsylvania (1989).
5. Ritschel W.A. Handbook of Basic Pharmacokinetics. Ed. Drug Intelligence Publications. Hamilton (1976).
6. Doluisio M.J.T., Billups N.F., Dittert L.W., Sugita E.T., Swintosky J.V. "Drug Absorption I. An "in situ" rat gut technique yielding realistic

- absorption rates". J. Pharm. Sci. 58, 1196-1200 (1969).
7. Ponz F., Ilundain A., Lluch M. "Method for successive absorptions with intestinal perfusion in vivo". Revista Española de Fisiología 35, 97-104 (1979).
 8. Schurgers N., Budendijk J., Tukker J.J., Crommelin D.J.A. "Comparison of four experimental techniques for studying drug absorption kinetics in the anesthetized rat in situ". J. Pharm. Sci. 75, 117-119 (1986).
 9. Gabus-Sannié C., Buri P. "Etude comparative des méthodes de détermination du volume d'eau absorbé lors de perfusion de l'intestin grêle du rat". S.T.P. Pharma 3, 560-856 (1987).
 10. Lien E.J. "Structure, absorption-distribution relationships: significance for drug design" En "Drug Design" Ed. Academic Press Inc. Londres (1975).

11. Plá Delfina J.M., Moreno Dalmau J. "Intestinal absorption-partition relationships: a tentative functional nonlinear model". J. Pharmacok. Biopharm. 9, 191-215 (1981).
12. Florence A.T., Attwood D. editores. Physicochemical Principles of Pharmacy. Second Ed. Macmillan Press Ltd. Londres (1988).
13. Hogben C.A.M., Tocco D.J., Brodie B.B., Schanker L.S. "On the mechanism of the intestinal absorption of the drugs". J. Pharmacol. Exp. Ther. 125, 275-282 (1974).
14. Houston J.B., Upshall D.G., Bridges J.W. "A reevaluation of the importance of partition coefficients in the gastro-intestinal absorption of anutrients". J. Pharmacol. Exp. Ther. 189, 244-254 (1974).
15. Houston J.B., Upshall D.G., Bridges J.W. "Further studies using carbamate esters as model compounds to investigate the role of lipophilicity in the gastrointestinal absorption of foreign com

- pounds". J. Pharmacol. Exp. Ther. 195, 67-72 (1975).
16. Kakemi K., Arita T., Hori R., Konishi R. "Absorption and excretion of drugs. XXXII. Absorption of barbituric acid derivatives from rat small intestine". Chem. Pharm. Bull. 15, 1883-1887 (1967).
 17. Brodie B.B. "The physiological equivalence of drug dosage forms". Dep. National Health and Welfare. Ottawa (1969).
 18. Crouthamel W.G., Tan G.H., Dittert L.W., Doluisio J.T. "Drug absorption (IV). Influence of pH on absorption kinetics of weakly acidic drugs". J. Pharm. Sci. 60, 1160-1163 (1971).
 19. Shanker L.S., Tocco D.J., Brodie B.B., Hogben C.A.M. "Absorption of drugs from rat small intestine". J. Pharmacol. Exp. Ther. 123, 81-88 (1958).

20. Morishita T., Yamakazi M., Yata N., Kamada A.
"Studies on absorption of drugs. VIII. Physico-chemical factors affecting the absorption of sulfonamides from rat small intestine". Chem. Pharm. Bull. 21, 2309-2322 (1973).
21. Taylor D.C., Grundy R. "An investigation of the rat "in situ" absorption model using practolol and propranolol". J. Pharm. Pharmacol. suppl. 27, 65P (1975).
22. Flynn G.L., Yalkowsky S.H. "Correlation and prediction of mass transport across membranes. I. Influence of alkyl chain length on flux-determining properties of barrier and diffusant". J. Pharm. Sci. 61, 838-852 (1972).
23. Koizumi T., Arita T., Kakemi K. "Absorption and excretion of drugs. XIX. Some pharmacokinetic aspects of absorption and excretion of sulfonamides. 1. Absorption from rat stomach". Chem. Pharm. Bull. 12, 413-420 (1964).

24. Wagner J.G. Sedman A.J. "Quantitation rate of gastrointestinal and buccal absorption of acidic and basic drugs based on extraction theory". J. Pharm. Sci. 61, 23-50 (1973).
25. Ho N.F.H., Higuchi W.I., Turi J. "Theoretical model studies of drug absorption and transport in the gastrointestinal tract (III)". J. Pharm. Sci. 61, 192-197 (1972).

CAPITULO 1º
CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA
DE LAS QUINOLONAS

1. CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA DE LAS QUINOLONAS.

Actualmente, las quinolonas constituyen una familia de agentes antibacterianos ampliamente utilizados en clínica. Inicialmente, las quinolonas únicamente estaban indicadas en el tratamiento de las afecciones del aparato urinario; sin embargo, investigaciones posteriores pusieron de manifiesto su importante contribución en el tratamiento de diversas patologías sistémicas, hecho que despertó, en el campo de la quimioterapia, un gran interés por este grupo de fármacos. En el presente Capítulo se hacen una serie de consideraciones puntuales acerca de algunos de los aspectos más relevantes de estos agentes quimioterápicos.

1.1. CONSIDERACIONES QUIMICAS

Las quinolonas, que constituyen un grupo de fármacos antibacterianos derivados del núcleo central 4-quinolon-3-carboxílico, no son, en realidad, fármacos que puedan considerarse hoy en día como novedades terapéuticas (1); así, hace más de una década que los ácidos nalidíxico y oxolínico fueron incluidos en la práctica clínica como útiles agentes antisépticos urinarios, siendo su utilización actualmente vigente. En estos últimos años se han incorporado al grupo algunos derivados con ciertas características especiales, como los ácidos pipemídico, piromídico, cinoxacino, rosoxacino o flumequina, pero que, de hecho, sus modificaciones estructurales no han comportado, farmacológicamente,

diferencias cualitativas. La investigación química en este campo ha cristalizado en la obtención de una serie de compuestos que bajo la denominación genérica de 4-quinolonas, propuesta por Smith (2) en 1984, configuran un grupo terapéutico de amplia utilización en la práctica clínica diaria.

La estructura química básica de las quinolonas se expone en la Figura 1 y la más simple de ellas corresponde al ácido nalidíxico, que posee un radical metilo en la posición 7, sintetizado por Lesher en el año 1962 (1). A partir del ácido nalidíxico, por modificaciones estructurales en su molécula, se han ido desarrollando nuevas entidades químicas que han dado lugar a distintas quinolonas, las cuales, desde un punto de vista cronológico, pueden clasificarse como sigue:

- quinolonas de primera generación. Se engloban en este grupo: ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido piromídico, ácido piperámico, cinoxacino, rosoxacino y flumequina.

- quinolonas de segunda generación. En 1973, Gester (3) sintetiza la flumequina y, por primera vez, se funcionaliza el carbono C_6 con un átomo de flúor. Con este compuesto se inicia la serie de quinolonas de la segunda generación, cuyos componentes se caracterizan por la introducción de F en C_6 y la inserción, en la posición 7, de un anillo piperazínico. En este grupo se hallan: norfloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino y enoxacino. Estas modificaciones estructurales conllevan

una ampliación del espectro antibacteriano; los compuestos incluso resultan activos frente a Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa. También representan mejores características farmacocinéticas: una buena biodisponibilidad por vía oral, mayor penetración tisular y larga semivida.

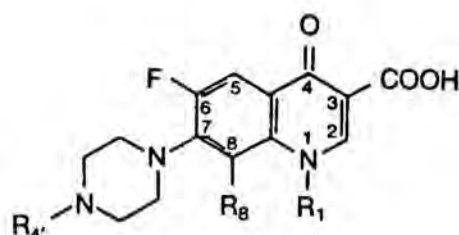
- quinolonas de tercera generación. Koga (4), que en 1980 sintetizó el norfloxacin, inicia el camino hacia las quinolonas de este grupo. Se trata de derivados multifluorados, la mayoría de ellos todavía en fase de ensayos clínicos y que presentan todavía más ventajas respecto a las quinolonas de la segunda generación: ausencia de interferencia con el metabolismo hepático de las metilxantinas y semividas más prolongadas, lo que permite una sola administración al día y la aparición de menos efectos secundarios (5). Dentro de este grupo cabe citar: lomefloxacin, fleroxacin, temafloxacin y tosufloxacin.

En el Cuadro I se exponen las estructuras químicas de algunos de los componentes más representativos de las quinolonas de cada una de las tres generaciones reseñadas.

Se ha llegado a la conclusión de que el grupo carboxílico presente en la molécula, así como los átomos de oxígeno vecinales son los responsables de la actividad antibacteriana (6) y, por esta razón, a partir de esta estructura básica se han ido investigando distintos sustituyentes en la molécula susceptibles de mejorar sus

propiedades farmacológicas, lo que ha comportado la continua aparición de nuevos derivados.

Básicamente, como se ha señalado, desde un punto de vista estructural todas las quinolonas provienen del núcleo fundamental del ácido 4-quinolon-3-carboxílico; sin embargo, entre los numerosos análogos investigados, es frecuente comprobar la inclusión de isómeros en el núcleo, dando lugar a otros núcleos químicamente diferenciados. Los núcleos mayoritariamente ensayados en la síntesis de nuevas quinolonas, se exponen en el Cuadro II (7, 8).



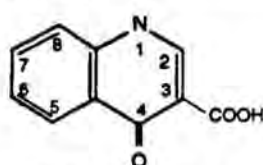
PRODUCTO	ESTRUCTURA QUIMICA		
	R ₁	R ₈	R ₄
AMIFLOXACINA	—NH—CH ₃	H—	—CH ₃
CIPROFLOXACINA	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \end{array}$	H—	—H
ENOXACINA	—CH ₂ —CH ₃	(*)	—H
NORFLOXACINA	—CH ₂ —CH ₃	H—	—H
OFLOXACINA	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—O—} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$		—CH ₃
PEFLOXACINA	—CH ₂ —CH ₃	H—	—CH ₃

NOTA: La enoxacina tiene un núcleo naftidínico, en lugar del quinolinico, diferenciándose de éste por la presencia de un segundo átomo de N, en posición 8. Por este motivo, la enoxacina no tiene posibilidad de sustitución (R₈).

Estructura comparada de las fluoquinolonas.

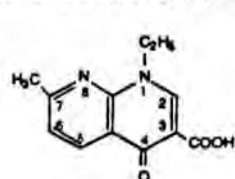
FIGURA 1

Basic structure

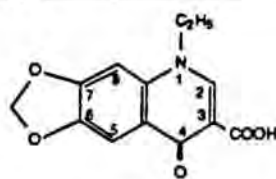


Basic quinolone structure

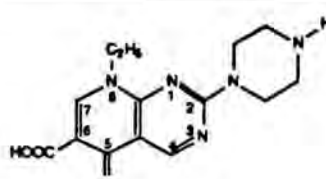
1. Generation quinolones



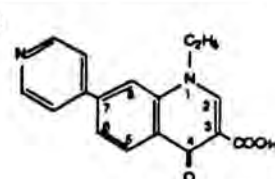
Nalidixic acid



Oxolinic acid

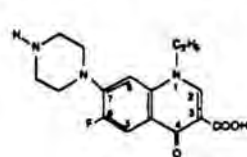


Pipemidic acid

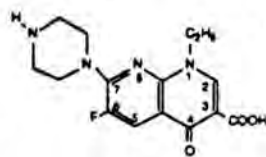


Rosoxacin

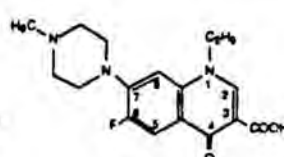
2. Generation quinolones (single fluorinated)



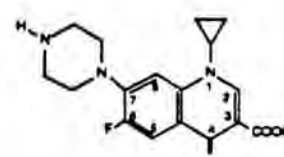
Norfloxacin



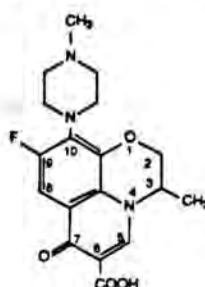
Enoxacin



Pefloxacin

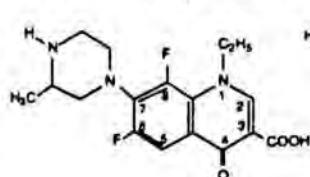


Ciprofloxacin

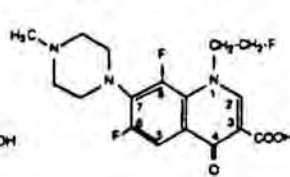


Ofloxacin

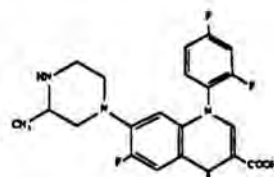
3. Generation quinolones (multiple fluorinated)



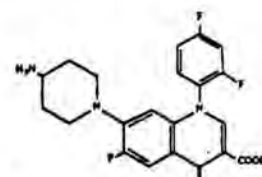
Lomefloxacin



Fleroxacin



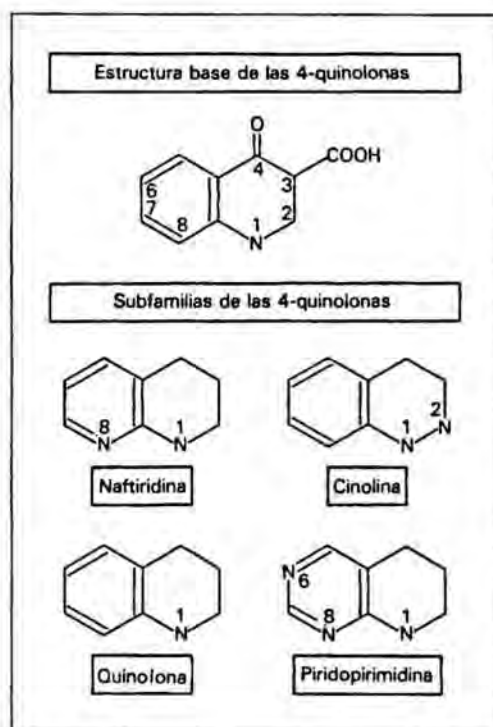
Temafloxacin



Tosufloxacin

Estructuras químicas de algunos de los componentes más representativos de las quinolonas de cada una de las tres generaciones.

CUADRO I



Núcleos de sustitución mayoritariamente utilizados en la síntesis de las quinolonas.

CUADRO II

Debe señalarse que, con mucho, el núcleo más utilizado corresponde al más básico, el de la quinoleína, especialmente dentro del grupo de las fluoroquinolonas, al cual pertenecen los compuestos motivo de la presente Memoria.

Respecto a los radicales sustituyentes, es importante considerarlos de forma separada, teniendo en cuenta su situación en uno u otro ciclo aromático del doble anillo que poseen las quinolonas (véase Figura 1).

Los correspondientes al anillo piridínico son esenciales para la actividad terapéutica de estos compuestos y resultan, por lo tanto, insustituibles; esta premisa es válida para los siguientes radicales: el grupo carbonílico en la posición 4, el grupo carboxílico en la posición 3 y la N- alquilsustitución (un grupo alifático de pocos eslabones).

Los sustituyentes del anillo aromático adyacente son, por el contrario, moduladores de la actividad antibacteriana. Un aspecto extremadamente interesante de estas sustituciones es que sus repercusiones farmacológicas vienen determinadas de forma acoplada. En este sentido, las posiciones 6 y 7 son las que en la mayoría de los casos determinan la amplitud del espectro antibacteriano y la potencia de la actividad bactericida; así, la introducción de un átomo de flúor en la posición 6, responsable de un marcado incremento del espectro antibacteriano, de poco o nada sirve sino va acompañada de la sustitución en la posición 7 de un heterociclo nitrogenado (preferiblemente piperazina, N-metilada o no) (9). La operación inversa produce exactamente el mismo efecto. Se pueden citar, al respecto, ejemplos en los dos sentidos: la flumequina dispone de un flúor en posición 6 y, sin embargo, su espectro antibacteriano no es cualitativamente diferente del correspondiente al ácido nalidíxico. Tampoco existen diferencias esenciales con los ácidos pipemídico y piromídico, que tienen en la posición 7 agrupaciones piperazínicas y pirrolidínicas, respectivamente.



Las sustituciones isostéricas en el núcleo fundamental quinoleínico no afectan prácticamente al efecto farmacológico. Incluso la introducción de un segundo y un tercer átomo de nitrógeno suponen una reducción del efecto, aunque no del espectro. Sin embargo, en algún caso, tales sustituciones isostéricas conducen a mejoras de carácter farmacocinético. Este es el caso de cinoxacino, un isómero en posición 2 del ácido oxolínico, al que supera ampliamente en términos de biodisponibilidad oral, un aspecto altamente interesante desde la perspectiva terapéutica (10).

También tiene interés desde un punto de vista estructural la formación de moléculas rígidas (que no permiten las fluctuaciones en vaivén ni las rotaciones de los radicales), en la medida en que posibilitan conocer los condicionamientos y las necesidades estructurales indispensables para el desarrollo de la actividad antibacteriana. En este sentido, cabe citar a sustancias como la flumequina y algunos derivados (s-25930 y s-25932) y al ofloxacino.

Las características estructurales de algunas quinolonas confieren a sus moléculas carácter anfotérico, hecho que se traduce en un cierto grado de variabilidad en relación al efecto bactericida, en función del pH del medio. Puede afirmarse, en términos generales, que estos productos son más activos en medio alcalino que en medio ácido; esto es especialmente cierto en el caso de norfloxacino y ciprofloxacino, cuya máxima actividad bactericida se produce a pH 8, mientras que en el resto

de fluoquinolonas se produce a pH 7.2 (11). Entre los nuevos productos, difloxacino, irtoxacino y E-3499 son más activos en medio ácido (pH alrededor de 6.4), motivo por el cual su actividad es mayor en orina (normalmente de débil reacción ácida) (12).

Finalmente, se pueden establecer dentro de la serie de fluoroquinolonas, algunas relaciones estructura química/actividad antimicrobiana ilustrativas y de gran interés en la búsqueda de nuevos elementos de la serie. Estas relaciones pueden concretarse en los siguientes puntos (13):

- norfloxacino/enoxacino: Isómeros respecto a la posición 8. Presentan similar espectro y potencia. Mejores características farmacocinéticas con el anillo naftiridínico (enoxacino).

- amifloxacino/pefloxacino: Sustitución del grupo N-metilo por un grupo de tipo hidrazínico (amifloxacino) en posición 1. Pérdida de potencia bactericida y empeoramiento farmacocinético.

- norfloxacino/pefloxacino: N-metilación del N₄ del radical piperazínico en 7. Aumento de la actividad bactericida y notoria mejora de las características farmacocinéticas. Como ocurre en otros casos, el efecto sobre la actividad bactericida no se produce siempre en este sentido, por lo que parece tratarse, de hecho, de un fenómeno de acoplamiento de varios radicales.

- pefloxacino/fleroxacino: Introducción de dos átomos adicionales de flúor (en el carbono terminal del N₁-etilo y en la posición 8). Supone un aumento de la potencia bactericida.
- norfloxacino/ciprofloxacino: Sustitución del radical etilo en posición 1 por un ciclopropilo. Se traduce en un considerable incremento del espectro y de la potencia bactericida. Las características farmacocinéticas mejoran ligeramente.

Existen otras modificaciones estructurales de interés, como la sustitución en posición 1 de un radical 4-fluorofenilo (difloxacino), o núcleos pirrolidínicos polisustituídos en posición 7 (AT-3295, AT-3765, CI-934), o heterociclos nitrogenados insaturados (pirrol: irloxacino, E-3499; imidazol: S-25932); sin embargo, no parece, a tenor de los datos disponibles, que dichas sustituciones se traduzcan en mejoras farmacodinámicas o farmacocinéticas significativas.

1.2. CONSIDERACIONES FARMACOLOGICAS.

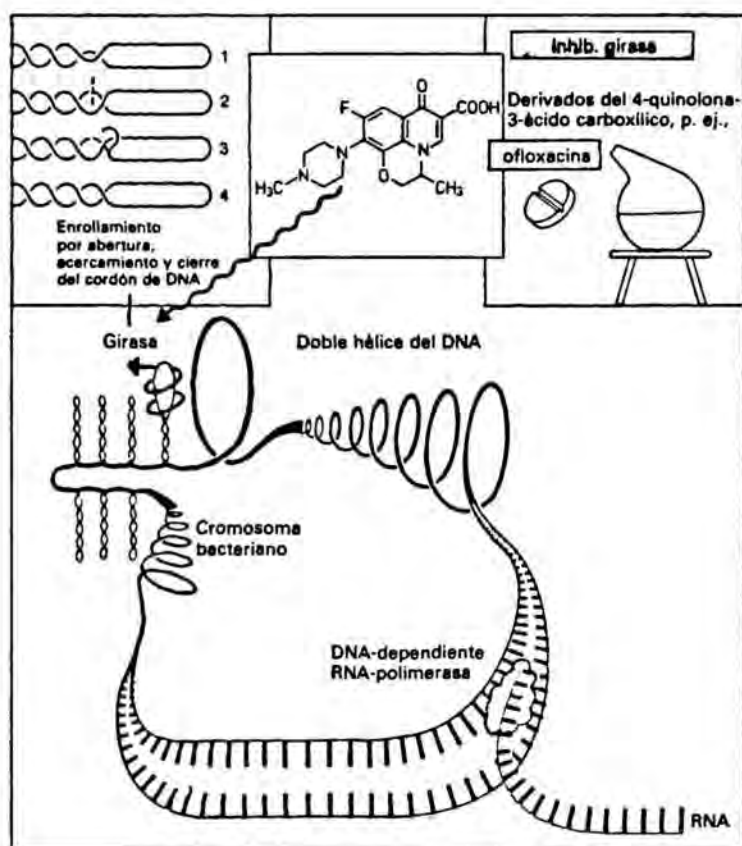
1.2.1 Mecanismo de acción.

La actividad farmacológica de las quinolonas se centra, básicamente, en el bloqueo de un enzima implicado en el control de la topología del ADN bacteriano (véase Figura 2). El control viene gobernado por topoisomerasas bacterianas, de las cuales la topoisomerasa II o ADN girasa es la verdadera diana o biofase de estos agentes (14 - 17). La ADN girasa tiene como función especial catalizar la conversión de la estructura en "reposo" del ADN bacteriano, consistente en un anillo cerrado por enlaces covalentes, en la forma adecuada para la replicación del material nuclear. El bloqueo consiste en la introducción en la doble cadena de ADN de arrollamientos superhelicoidales negativos. Esta reacción genera tensión en la doble hélice, favoreciendo el desenrollamiento de las dos cadenas del ADN; asimismo, la ADN girasa permite la apertura y el cierre de los dos dobles círculos de ADN que se encuentran enganchados. Todos estos procesos requieren un importante aporte de energía que proviene de la degradación de ATP. Se ha sugerido también que el enzima permite reducir la tensión topológica acumulada durante el proceso de replicación (18).

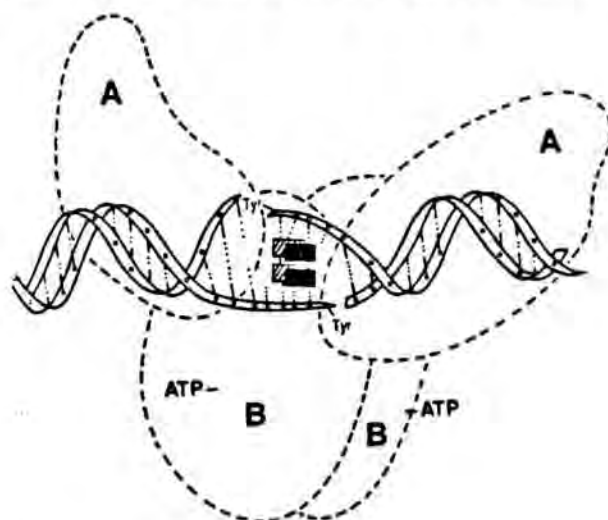
La ADN-girasa, está formada por cuatro subunidades, dos subunidades A (cada una de un peso molecular de 100 kilodaltons) y dos subunidades B (cada una de 90 kilodaltons). Se postula, que las quinolonas se unen selectivamente a las subunidades A, cuya función es

formar un enlace covalente con el ADN bacteriano y, consecuentemente, impiden su desenrollamiento. Las subunidades B del enzima están implicadas en el aporte energético del proceso, mediante la degradación de ATP. Estas subunidades B son el punto de actuación de algunos antibióticos como novobiocina o cumermicina.

Algunos autores han sugerido (19) que las fluoroquinolonas podrían actuar como bactericidas más como consecuencia de una sobreactividad de la topoisomerasa I, provocada por el bloqueo de la topoisomerasa II (ADN-girasa), que directamente por este efecto. También se ha sugerido, a través de ciertas evidencias experimentales obtenidas sobre cultivos de Staphylococcus aureus, que las fluoroquinolonas podrían unirse directamente a la propia cadena de ADN, justamente en los puntos donde se une la ADN-girasa. (20, 21). Es importante tener presente que el centro de acción de estos fármacos es un enzima exclusivamente bacteriano, lo que supone la ausencia del correspondiente efecto en las células humanas (no obstante, hay un enzima celular humano que realiza alguna de las funciones de la ADN-girasa bacteriana, pero es estructural y funcionalmente diferente; de hecho no se ha observado ningún tipo de unión entre las quinolonas y este enzima humano).



Quinolone-DNA Binding Model for Gyrase Inhibition



Mecanismo de acción de las quinolonas

FIGURA 2

1.2.2. Espectro antibacteriano.

La síntesis de las fluoroquinolonas supuso un importante incremento del espectro antibacteriano (22, 23). Las quinolonas de la segunda y tercera generaciones son muy activas frente a prácticamente todos los microorganismos gram-negativos implicados en las infecciones del tracto urinario y en las gastroenteritis. Estos fármacos actúan también sobre diversas especies de enterobacteriáceas poco sensibles a las quinolonas convencionales, tales como *Klebsiella* y *Serratia*. Actúan también sobre otras bacterias gram-negativas aerobias poco sensibles, como *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter*. También son activas sobre bacterias y cocos gram-positivos, aunque con menos intensidad que sobre los gram-negativos; otro tanto ocurre con los microorganismos anaerobios, cuya sensibilidad a las fluoroquinolonas puede catalogarse como de moderada. Algunas fluoroquinolonas presentan una estimable actividad frente a *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Nocardia* y *Legionella*.

Entre las fluoroquinolonas, las que presentan un espectro más amplio y mayor potencia son ofloxacino y ciprofloxacino. En términos comparativos, las fluoroquinolonas constituyen uno de los grupos de agentes antiinfecciosos con más amplio espectro, equiparable al de antibióticos de tanta importancia terapéutica como imipenem o ceftazidima. Las concentraciones mínimas bactericidas (MBC) de las fluoroquinolonas son sólo de 1 a 4 veces más elevadas que las correspondientes concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) (24). Una

evaluación del espectro antibacteriano de las fluoroquinolonas se expone en el Cuadro III.

En la práctica clínica, la administración conjunta de fluoroquinolonas y otros agentes antibacterianos puede ser, en algunos casos, de gran utilidad; así, combinaciones de lomefloxacino y metronidazol producen un efecto aditivo o sinérgico (Bacteroides spp, Fusobacterium spp, Clostridia spp, Peptococcus spp) que puede resultar de gran interés en el tratamiento de infecciones en los pies de diabéticos (25).

1.2.3. Resistencia bacteriana.

Respecto a la resistencia bacteriana, cabe comentar que las fluoroquinolonas no presentan resistencia cruzada con las quinolonas convencionales, aunque sí entre ellas. Esta resistencia parece estar exclusivamente mediada por mutaciones cromosómicas de la bacteria, justamente en el gen que codifica la síntesis de las subunidades A de la ADN-girasa. No se han observado plásmidos codificadores de resistencia, ni otros procesos de transferencia de la resistencia bacteriana. Se han descrito, ocasionalmente, procesos de resistencia bacteriana debidos a una reducción de la permeabilidad de la pared y membrana bacterianas a las fluoroquinolonas; se trata, no obstante, de casos observados en cepas bacterianas resistentes a otros antibióticos. Pero lo que no ha sido observado, en ningún caso, es una inactivación enzimática al estilo de la registrada por los antibióti-

cos β -lactámicos, aminoglucosídicos, etc. Generalmente se han observado resistencias en cepas bacterianas también resistentes a otros antibióticos, pero no una inactivación enzimática por parte de ninguna bacteria (26, 27).

Microorganismo	Amifloxacina	Ciprofloxacina	Enoxacina	Norfloxacina	Ofloxacina	Pefloxacina	Acido nalidixico
Enterobacteriaceas: (1)							
- <i>Enterobacter cloacae</i> (3)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,6
- <i>Escherichia coli</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,0	1,0	0,6	1,0	1,0	0,6	0,1
- <i>Proteus vulgaris</i>	0,6	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,6
- <i>Salmonella typhi</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,3
- <i>Serratia marcescens</i> (3)	0,6	1,0	1,0	0,6	1,0	0,6	0,1
VALOR ESPECTRAL PARCIAL (2)	79	100	94	84	100	64	30
Otros bacilos y cocos Gram (-), aeróbicos y anaeróbicos facultativos:							
- <i>Acinetobacter</i> sp.	0,6	0,6	0,3	0,3	0,6	0,6	0,6
- <i>Haemophilus influenzae</i> (3)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
- <i>Legionella pneumophila</i>	0,6	1,0	0,6	0,6	1,0	0,6	0,6
- <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0,6	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (3)	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,0
VALOR ESPECTRAL PARCIAL (2)	69	78	62	62	78	66	40
Cocos y bacilos Gram (+) aeróbicos y anaeróbicos facultativos:							
- <i>Staphylococcus aureus</i> (3)	0,6	1,0	0,6	0,6	1,0	1,0	0,0
- <i>Streptococcus faecalis</i> (3)	0,3	1,0	0,3	0,3	0,6	0,6	0,0
- <i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,3	0,6	0,3	0,3	0,6	0,1	0,0
- <i>Streptococcus pyogenes</i>	0,0	0,6	0,1	0,1	0,6	0,1	0,0
- <i>Streptococcus viridans</i>	0,1	0,6	0,1	0,3	0,6	0,6	0,0
VALOR ESPECTRAL PARCIAL (2)	29	82	31	33	69	48	0
Bacilos y cocos anaeróbicos:							
- <i>Bacteroides fragilis</i> (3)	0,0	0,3	0,0	0,0	0,6	0,3	0,0
- <i>Clostridium</i> sp.	0,3	0,3	0,6	0,0	0,3	0,6	0,0
- <i>Fusobacterium</i> sp.	0,3	0,3	0,1	0,0	0,3	0,1	0,0
- <i>Peptostreptococcus</i> sp.	0,3	0,3	0,3	0,0	0,6	0,3	0,0
VALOR ESPECTRAL PARCIAL (2)	10	30	10	0	47	27	0
Actinomicetos:							
- <i>Nocardia asteroides</i>	0,0	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0
VALOR ESPECTRAL PARCIAL (2)	0	30	10	0	10	0	0
VALOR ESPECTRAL GLOBAL (2)	52	76	55	52	76	57	24

(1) La asignación de los coeficientes individuales de actividad antibacteriana se ha hecho de acuerdo con la siguiente tabla de valores; según la distribución modal de los valores de C.M.I. 90 por 100 (expresada en mcg/ml):

CM190	<	1 mcg/ml	=	1,0
"	<	8 "	=	0,6
"	<	32 "	=	0,3
"	=	32 "	=	0,1
"	>	32 "	=	0,0

(2) El cálculo de los valores espectrales (parciales y global) se ha realizado de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$VE = \left[\frac{\sum x_i - 2 \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{N}}}{N} \right] \cdot 100$$

(3) El coeficiente de actividad antibacteriana frente a estos microorganismos pondera el triple, en razón de su trascendencia patológica y diferencial.

Valoración espectral de fluoroquinolonas.

CUADRO III

1.3. CONSIDERACIONES FARMACOCINETICAS

En estos últimos años, la Farmacocinética se ha ido incorporando progresivamente a los criterios clínicos y microbiológicos que tradicionalmente presidían (y presiden) la implantación de una terapéutica antiinfecciosa, de tal forma que actualmente no es posible un diseño racional de los regímenes de dosificación de agentes antimicrobianos, y, en general, de cualquier fármaco, sin conocer los parámetros que definen su cinética de disposición.

Las fluoroquinolonas representan una mejora considerable, en cuanto a las características farmacocinéticas, respecto a los antibióticos β -lactámicos y aminoglucosídicos; presentan semividas muy largas y elevados valores del volumen aparente de distribución, características que distinguen a todos los miembros de esta serie farmacológica; también presentan una elevada biodisponibilidad en magnitud, lo que permite su administración por vía oral.

A continuación se revisa, de forma breve, la disposición (absorción, distribución, metabolismo y excreción, conocido con las siglas ADME) de las fluoroquinolonas, o sea, los aspectos más sobresalientes del perfil farmacocinético de estos agentes antiinfecciosos.

1.3.1. Absorción.

Característica común de las nuevas quinolonas es su buena absorción a nivel gastrointestinal, lo que permite su administración por vía oral (28). La absorción oral de las quinolonas se realiza por medio de un proceso pasivo, es decir, de acuerdo con una cinética de primer orden. La absorción resulta óptima, en general, cuando estos fármacos se hallan disueltos en el lumen intestinal a un pH comprendido entre 6.5 y 7.0 (29).

La biodisponibilidad absoluta en magnitud de las quinolonas presenta un valor promedio del 80%, con valores superiores en el caso de enoxacino (90%), fleroxacino (100%), ofloxacino (95%) y pefloxacino (100%), siendo norfloxacino el que presenta un valor más bajo (40%) (30).

Un resumen de la biodisponibilidad de algunas quinolonas, formuladas en formas farmacéuticas sólidas de administración oral se expone en el CUADRO IV (31, 32).

Asumiendo que en la absorción oral de las quinolonas no influyen los factores inherentes al diseño biofarmacéutico de la formulación, las diferencias en la absorción es posible se deban a sus distintas características fisicoquímicas, tales como pK_a y lipofilia, etc. (29).

Respecto a la biodisponibilidad en velocidad, cabe señalar que la absorción es generalmente rápida, alcanzándose la concentración plasmática máxima ($C_{\max}$) entre 1 y 3 horas de la administración oral. Para dosis equivalentes, norfloxacinó y ciprofloxacino son las quinolonas que presentan valores inferiores de $C_{\max}$, pefloxacino y enoxacino valores intermedios y ofloxacino el valor más elevado, entre 10-11 $\mu\text{g/ml}$ para una dosis de 600 mg, lo que representa un valor para este parámetro del orden de cuatro o cinco veces superior al de los otros derivados considerados en el CUADRO V (33, 34).

Fármaco	Dosis (mg)	Formulación	F%
Ciprofloxacino	200	comprimidos	69 $\pm$ 7
	500	comprimidos	59.6 $\pm$ 12.4
Enoxacino	400	comprimidos	79.5 $\pm$ 18.4
	200	cápsulas	87
Fleroxacino	400	comprimidos	99 $\pm$ 14
Norfloxacino	400	comprimidos	30-40
Ofloxacino	200	comprimidos	96
Pefloxacino	400	comprimidos	98 $\pm$ 20
	600	comprimidos	91.0 $\pm$ 13.3
Ac. pipemídico	100	comprimidos	93.1 $\pm$ 11.4

Biodisponibilidad de las quinolonas tras su administración oral.

CUADRO IV

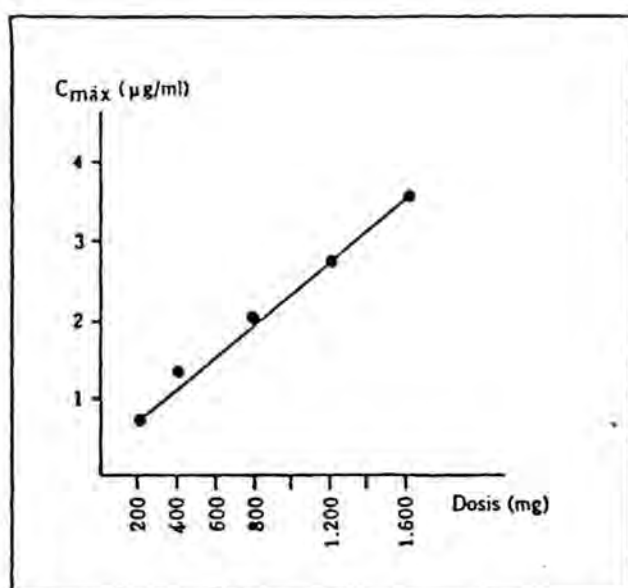
Fármaco	Dosis(mg)	C _{max} (μ g/ml)	T _{max} (h)
Ciprofloxacino	500	1.9 - 2.9	1
Enoxacino	600	3.7	1 - 3
Norfloxacino	400	1.5	1 - 2
Ofloxacino	600	10 - 11	1 - 2
Pefloxacino	400	3.8	1 - 3

Niveles séricos de quinolonas en humanos.

CUADRO V

En diversos estudios llevados a cabo, se ha comprobado que la constante de velocidad de absorción de primer orden (k_{abs}) era similar para todas las quinolonas ensayadas, concretándose sus valores entre 2.1 y 3.2 h⁻¹ (35). El valor de t_{max} , como se ha comentado anteriormente, es similar para todas las formulaciones estudiadas, que resulta ser de alrededor de dos horas. Las diferencias en las concentraciones plasmáticas máximas alcanzadas reflejan, aunque sólo sea parcialmente, el grado de absorción gastrointestinal, correspondiendo los valores más elevados de biodisponibilidad a las que presentan concentraciones plasmáticas máximas más elevadas cuando se administran por vía oral. Por otra parte, aquellos derivados a los que corresponden valores inferiores de C_{max} son los que alcanzan concentraciones más elevadas en

heces (norfloxacino: 773 $\mu\text{g/g}$ y ciprofloxacino: 891 $\mu\text{g/g}$) (36), lo que, en principio, sugiere que un elevado porcentaje de la dosis administrada no se absorbe; sin embargo, no hay que olvidar que la excreción biliar puede contribuir, en mayor o menor grado, a la elevada presencia de ciprofloxacino y norfloxacino en heces. Es importante resaltar que el grado de absorción de estos compuestos, administrados por vía oral, resulta independiente de la dosis administrada (37, 38); así, en la Figura 3 se expone la relación lineal establecida entre el $C_{\text{máx}}$ y la dosis administrada de norfloxacino. El ámbito de dosis estudiado corresponde a 200 - 1600 mg. Para otras quinolonas se han establecido relaciones análogas que permiten predecir el incremento que experimentarán los niveles en plasma en función de la dosis administrada.



Relación entre la concentración plasmática máxima y la dosis administrada de norfloxacino.

FIGURA 3

Respecto a las interacciones farmacocinéticas de las quinolonas a nivel de la absorción, cabe comentar que la administración conjunta de estos agentes antibacterianos con alimentos produce un retraso en su absorción (39) de forma similar a lo que ocurre con otros antibióticos. Un ejemplo representativo de este hecho se expone en el Cuadro VI. Pueden observarse los valores de $C_{\max}$ y $t_{\max}$ de ofloxacino cuando se administra a la dosis de 200 mg con y sin alimentos. Se pone de manifiesto un retraso en la absorción; $t_{\max}$ pasa de 0.83 a 1.85 horas con la consiguiente disminución del valor de $C_{\max}$. Para el resto de quinolonas se han observado variaciones similares (5).

	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$T_{\max}$ (h)
Administración en ayunas	2.24	0.83
Administración junto con alimentos	1.56	1.85

Influencia de los alimentos en la absorción de ofloxacino.

CUADRO VI

Cuando se administran conjuntamente derivados quinolónicos y antiácidos cuya composición química incluye iones Mg^{2+} y Al^{3+} , se produce una disminución importante en el grado de absorción (40-43), posiblemente como consecuencia de la formación de complejos en los que intervienen los grupos carbonilo y carboxilo, presentes en todas las quinolonas. No obstante, este efecto varía considerablemente en función del compuesto considerado; en el caso de ciprofloxacino, pueden llegarse a descensos de la concentración plasmática de hasta diez veces, mientras que para fleroxacino y lomefloxacino la influencia de estos cationes en la absorción de la quinolona es mucho menor, de manera que un intervalo de dos horas entre la administración del antiácido y de la quinolona es suficiente para evitar la interacción (44). Por otro lado, cabe señalar que los iones Ca^{++} carecen de influencia sobre la absorción de ciprofloxacino (45). Esta interacción había sido ya descrita para el ácido nalidíxico, comprobándose además que estos compuestos pierden actividad en presencia de cationes inorgánicos (46). Tal como se detalla en el Cuadro VII, los niveles séricos y el grado de excreción urinaria de ciprofloxacino y ofloxacino disminuyen significativamente cuando el antiácido administrado conjuntamente es hidróxido magnésico o de aluminio y no se modifica en absoluto cuando el antiácido asociado es ranitidina o pirencipina, por lo que no se descarta la posibilidad de que sea la variación de pH la causa de esta modificación en la absorción. El descenso observado en el porcentaje de dosis excretado en orina refleja la disminución de la fracción de dosis absorbida como consecuencia, posible

mente, de la formación de complejos no absorbibles.

La absorción de ciprofloxacino, lomefloxacino y ofloxacino no se modifica por la presencia de antagonistas- H_2 (47 - 49). Sin embargo, en el caso de la administración conjunta de enoxacino y ranitidina, se observa una disminución considerable de la magnitud de la absorción; para pefloxacino y cimetidina, la interacción se traduce en una prolongación de la semivida de la quinolona (50, 51).

		Ciprofloxacino	Ofloxacino
$C_{max} (\mu g/ml)$		1.9	2.2
excreción e.o.		24%	74%
Con antiácido			
(Al^{3+}, Mg^{2+})			
$C_{max} (\mu g/ml)$		0.1	0.5
excreción e.o.		2.1%	26%
Con ranitidina			
$C_{max} (\mu g/ml)$		2.1	2.2
excreción e.o.		29%	76%

excreción e.o. = excreción en orina

Interacción quinolonas-antiácidos

CUADRO VII

1.3.2. DISTRIBUCION

Todas las quinolonas parecen distribuirse ampliamente por los diferentes órganos y tejidos del organismo, presentando un valor del volumen de distribución superior al volumen corporal total; así, por ejemplo, presentan volúmenes aparentes de distribución de 90 a 110 litros, en comparación a los que corresponden a los antibióticos β -lactámicos y aminoglucosídicos que son de 25 litros de promedio. En general, los elevados volúmenes aparentes de distribución que poseen las quinolonas les confieren una característica farmacocinética muy favorable, debido a que permiten que se alcancen concentraciones eficaces de fármaco en las zonas anatómicas en las cuales se ha instaurado la infección. La relación de concentraciones de quinolona en tejidos y plasma presenta un valor comprendido entre 1 y 2 (52). Las concentraciones de quinolona en el líquido de una vesícula inducida experimentalmente (fluído "blister"), que se considera fluído intersticial hístico, equivalen a las concentraciones séricas que surgen transcurridas dos horas de la administración oral de estos agentes antibacterianos. Ofloxacino accede más lentamente a este compartimiento (28), manteniendo durante más tiempo los niveles alcanzados; un resumen del porcentaje de penetración de las quinolonas en fluído blister se expone en el Cuadro VIII (33). Un estudio comparativo del volumen aparente de distribución de las fluoquinolonas se representa en la Figura 4.

	$C_{\max}$ plasma/ $C_{\max}$ fluido	$AUC_{\text{plasma}}/AUC_{\text{fluido}}$
Enoxacino	81%	---
Norfloxacino	67%	106%
Ciprofloxacino	57%	116%
Ofloxacino	57%	125%

Porcentaje de penetración en fluido blister.

CUADRO VIII

Las concentraciones en pulmón, hígado, corazón, hueso y próstata, tras la administración de una dosis usual, son superiores a las concentraciones inhibitorias de muchas Enterobacteriaceae, Hemophilus, Neisseria y Staphilococcus, pero se sitúan por debajo de las concentraciones mínimas de muchos estreptococos hemolíticos y de S. pneumoniae. Ciprofloxacino y ofloxacino son eficaces contra algunas cepas y producen siempre concentraciones tisulares elevadas, que inhiben diversas cepas aisladas de P. aeruginosa.

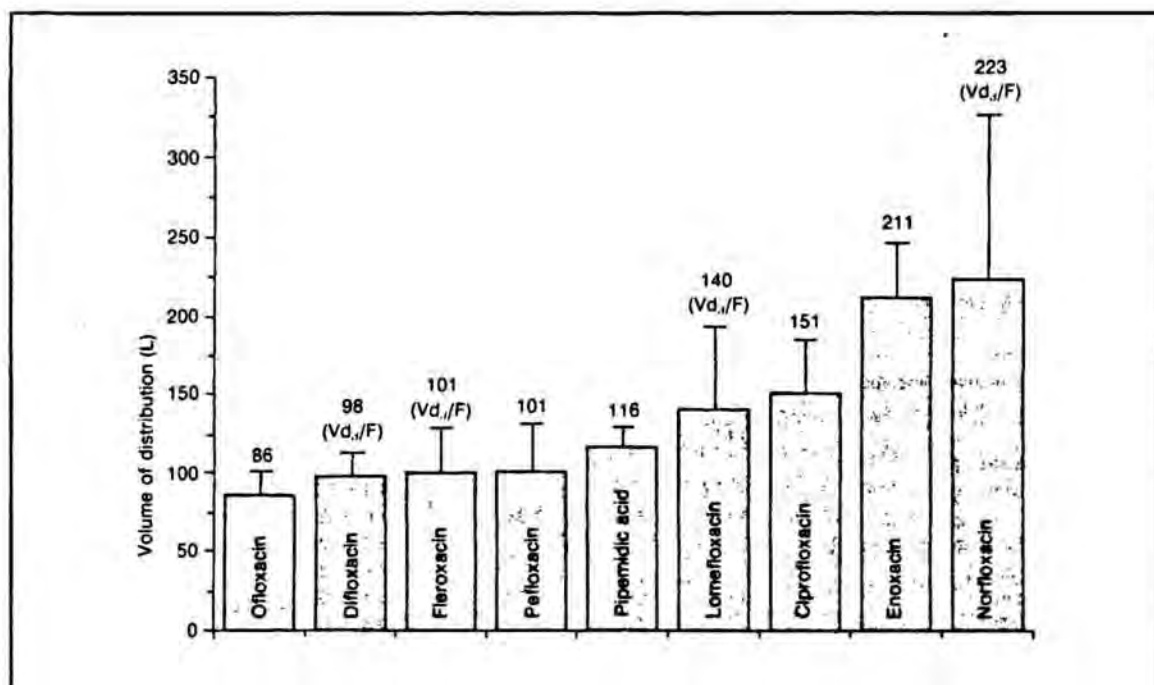
Volumen de distribución (V_{dB}) de las quinolonas.

FIGURA 4

De particular interés son las concentraciones elevadas de quinolonas que se logran alcanzar en secreciones salivares, mucosas nasales y epitelio bronquial. Estos agentes antimicrobianos penetran en los macrófagos alveolares y en los polimorfonucleares y destruyen las bacterias intracelulares en dichas localizaciones. Se ha detectado en líquido cefalorraquídeo de sujetos con meningitis, ciprofloxacino, ofloxacino y pefloxacino. En términos generales, las concentraciones han sido menores de $0.5 \mu\text{g/ml}$ para ciprofloxacino, de $4 \mu\text{g/ml}$ para pefloxacino y de $2 \mu\text{g/ml}$ para ofloxacino (53 - 55). Estas concentraciones inhibían *Hemophilus*, *Neisseria* y muchas

Enterobacteriaceae, pero serían inadecuadas frente a S. pneumoniae y a casi todas las cepas de P. aeruginosa.

El porcentaje de unión de las fluoroquinolonas a las proteínas plasmáticas es, generalmente, bastante baja (10 - 40 %) (56), al contrario de lo que sucede con las quinolonas convencionales; así, por ejemplo, el ácido nalidíxico se une a las proteínas plasmáticas en un 93% - fenómeno responsable de interacciones farmacocinéticas con distintos fármacos - y las fluoroquinolonas no supera, normalmente, el 25% (la excepción la constituye amifloxacino, con un porcentaje de unión del 50%) no llegando apenas, en algunos casos, al 15% (norfloxacino). El porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas posee una relevante importancia terapéutica, puesto que sólo la fracción plasmática libre (no unida a las proteínas plasmáticas) es capaz de actuar farmacológicamente y distribuirse por los tejidos, amén de introducirse a través de la pared y membrana bacterianas; de ahí que los elevados niveles plasmáticos alcanzados por el ácido nalidíxico sirvan de bien poco en el plano terapéutico: sólo la décima parte de esta concentración plasmática es útil farmacológicamente. En el CUADRO IX, se consignan los valores de los porcentajes de unión a las proteínas de distintas quinolonas (32).



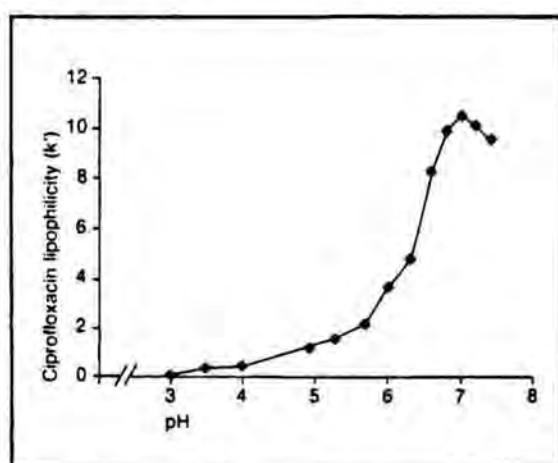
Fármaco	Unión a proteínas (%)
Ciprofloxacino	39.6
Difloxacino	42
Enoxacino	51.2 ± 10.6
Fleroxacino	23.0 ± 1.0
Norfloxacino	14
Ofloxacino	25.0 ± 5.7
Pefloxacino	20-30
Ac. pipemídico	15-39

Unión a las proteínas plasmáticas de distintas quinolonas.

CUADRO IX

Las fluoroquinolonas pueden inhibir, solas o en combinación con antiinflamatorios no esteroideos (fenbufeno), la unión del ácido γ -aminobutírico (GABA) a sus receptores, lo que conlleva efectos negativos sobre el sistema nervioso central, tal como un incremento de las convulsiones y síntomas de neurotoxicidad (57).

Los estudios realizados mediante cromatografía líquida de alta resolución ponen de manifiesto que la lipofilia de las quinolonas es elevada a pH neutro, tal como se expone en la Figura 5 (58); por este motivo, se sugiere que el hecho de que el pH sanguíneo sea de alrededor de 7.4 facilita el paso de estos compuestos a través de las membranas capilares. Al ser la lipofilia de estos fármacos dependiente del pH, este fenómeno puede ser la causa del efecto "ion-trapping" que sufren las quinolonas en los fluidos y tejidos orgánicos con valores de pH ligeramente ácidos o básicos (por ejemplo, en los tejidos inflamados), debido a que las moléculas de estos fármacos están más ionizadas en estos compartimientos y reducen el retorno del fármaco a la circulación sistémica. Por este motivo, las concentraciones de estos fármacos en los tejidos son más elevadas que las halladas en plasma. En resumen, puede concluirse que la escasa unión a las proteínas plasmáticas, la elevada lipofilia al pH plasmático y el tamaño molecular relativamente pequeño son los factores mayoritarios que influyen en la distribución de las quinolonas.



Lipofilia de ciprofloxacino (k') en función del pH.

FIGURA 5

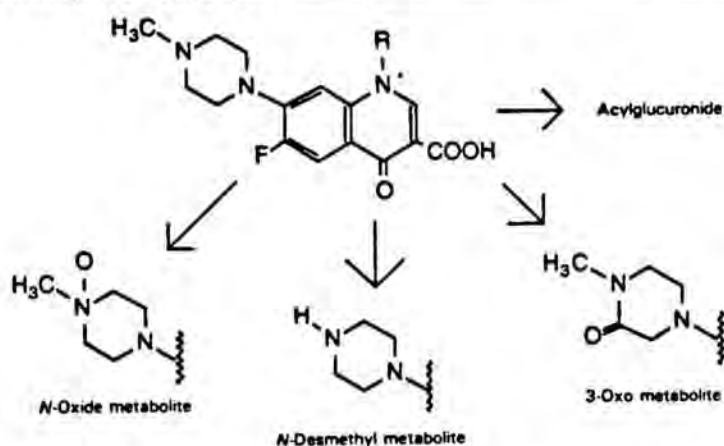
1.3.3. METABOLISMO

Respecto al metabolismo, puede afirmarse que todas las quinolonas sufren un proceso de biotransformación hepático; sin embargo, el grado del mismo difiere grandemente entre los distintos derivados.

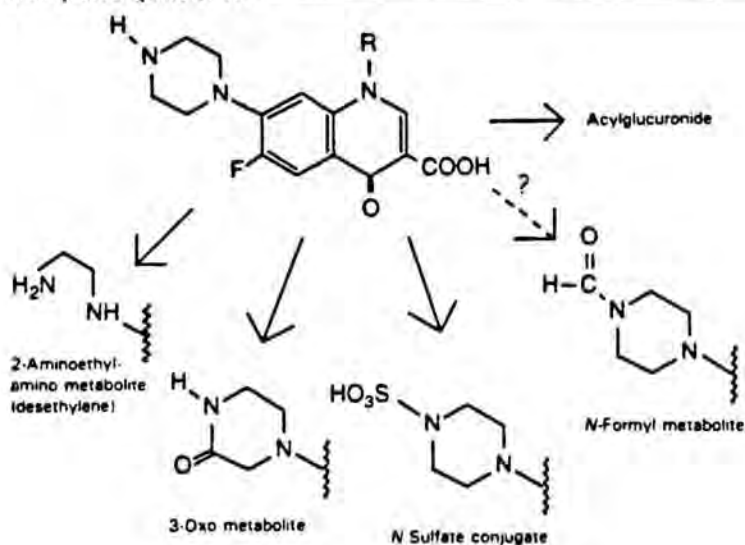
Las quinolonas pueden experimentar diferentes reacciones metabólicas, como glucuronidación, hidroxilación y oxidación, según el compuesto participante (59). Las principales vías metabólicas de las quinolonas se detallan en la Figura 6, en la que se hace una distinción entre quinolonas N-metiladas y no N-metiladas. La mayoría de procesos metabólicos afectan al grupo 3-carboxílico y al anillo piperazínico de la posición 7; concretamente, en los derivados N-metilados (amifloxacin, ofloxacin y pefloxacin), la primera modificación suele consistir en una N-desmetilación, lo cual no supone perder la actividad antibacteriana de forma significativa; a continuación suele producirse el derivado N-oxidado. En términos generales, los metabolitos poseen menor actividad antibacteriana que los compuestos de origen. Los derivados oxo y formilo tienen la máxima actividad, en tanto que los N-óxido y los glucurónidos son inactivos (60). Entre un 10 y un 23 % de ciprofloxacino, enoxacin, fleroxacin y norfloxacino se encuentran en la orina en forma de metabolitos (59); ofloxacin se metaboliza en pequeña proporción, alrededor de un 3%, pero en cuanto a pefloxacin se excreta en forma de metabolitos en un 60%.

Se han identificado cinco metabolitos de norfloxacin, siendo el mayoritario el oxometabolito, que equivale al 50% del total de los metabolitos y que posee sólo un 10% de la actividad antibacteriana del fármaco original. El segundo metabolito en importancia del norfloxacin es el derivado etilendiamínico.

N-Methylated quinolones



Non-N-methylated quinolones



Principales vías metabólicas de las quinolonas.

FIGURA 6

Enoxacino presenta cuatro metabolitos: oxo, amino, formilo y acetilo. El metabolito mayoritario es el oxo-enoxacino, el cual es de 10 a 20 veces menos activo. También para pefloxacino se han identificado cuatro metabolitos: desmetilpefloxacino, el N-óxido, el oxodesmetilpefloxacino y el oxopefloxacilmetabolito. El metabolito mayoritario, como en el caso de norfloxacino, es el N-óxido, que también posee menor actividad antibacteriana. Tras la administración oral de pefloxacino, el fármaco no sufre efecto de primer paso hepático. Ofloxacino y lomefloxacino no generan metabolitos, a diferencia de las otras quinolonas, excepto los producidos por glucuroconjugación.

Respecto a ciprofloxacino, cuando se administra por vía oral, sólo el 30% del fármaco se excreta sin metabolizar; sin embargo, cuando se administra por vía intravenosa se encuentra en orina aproximadamente el 57.4% de la dosis. Este hecho pone de manifiesto el efecto de primer paso hepático que sufre el fármaco tras su administración oral. Los cuatro metabolitos identificados de ciprofloxacino son los derivados desmetilén, sulfo, oxo y formilo, siendo oxociprofloxacino el metabolito mayoritario, el cual presenta, aproximadamente, un 10% del efecto terapéutico de su precursor (61, 62).

El metabolito mayoritario de amifloxacino es el piperazinil-N-desmetil-compuesto que, como con otras quinolonas, posee una actividad antimicrobiana considerablemente menor que el compuesto original (63).

En relación a las interacciones de las quinolonas a nivel del metabolismo, cabe señalar que pueden inhibir el metabolismo de otros fármacos; el ejemplo más relevante, por sus implicaciones clínicas, es quizás la inhibición del metabolismo de la teofilina. Esta interacción fue descrita, en primer lugar, para enoxacino (64), pero también se da, aunque en menor grado, con ofloxacino (65) y norfloxacino (66). Para lomefloxacino, el efecto es prácticamente inexistente (67). La influencia de la interacción quinolona - teofilina en los parámetros farmacocinéticos del broncodilatador se expone en el Cuadro X.

Enoxacino reacciona también con cafeína y antipirina. En el caso de la cafeína, la interacción es similar a la de la teofilina (68); sin embargo, para lomefloxacino la interacción es prácticamente nula (69). Se ha descrito que la cimetidina interacciona, a nivel del metabolismo, con pefloxacino (70, 71).

Finalmente, cabe señalar que los metabolitos de las quinolonas no se acumulan en cantidades importantes en los tejidos corporales y que poseen una semivida biológica semejante a los compuestos de partida, siendo el metabolismo un proceso que, en general, comporta la disminución de la actividad farmacológica de estos agentes antiinfecciosos.

	$T_{1/2}$ (horas)	CL(ml/min)	CL _R (ml/min)
Control	5.9(2.5)	85.9(33.4)	7.6(1.5)
Enoxacino	15.3(5.3)	31.3(7.8)	7.2(1.8)
Pefloxacino	8.6(3.6)	60.6(23.8)	7.5(1.7)
Ciprofloxacino	8.4(2.4)	59.8(27.4)	7.0(1.6)
Ofloxacino	6.0(2.1)	81.5(31.1)	6.6(1.0)
Ac. nalidíxico	5.7(2.3)	82.4(15.9)	8.0(2.7)

*Parámetros farmacocinéticos de teofilina administrada sola
(control) y conjuntamente con diferentes quinolonas.
Parámetros medios (desviación estándar).

Interacción quinolonas-teofilina*.

CUADRO X

1.3.4. EXCRECION

Las quinolonas se excretan a nivel renal, lo cual, junto con el metabolismo hepático y una probable secreción gastrointestinal, configuran su proceso de eliminación. Como ocurre con la mayoría de fármacos, el régimen usual de dosificación de las quinolonas se basa en su semivida biológica, valor que depende del proceso global de eliminación (metabolismo y excreción); de acuerdo con el valor de la semivida biológica, las quinolonas pueden clasificarse en cinco grupos tal como

se expone en el Cuadro XI (72, 73). Debe señalarse que la eliminación de las quinolonas depende en buena parte de la biodisponibilidad oral del fármaco y de su tasa de biotransformación; así, norfloxacino y ciprofloxacino, con una baja tasa de absorción oral, presentan un porcentaje relativamente elevado de eliminación fecal (20-30%), mientras que ofloxacino se excreta por la orina de forma inalterada en más de un 80%. Dada la extraordinaria potencia de estos compuestos, las diferencias en cuanto a las vías de eliminación y las concentraciones activas alcanzadas en las mismas no suelen tener transcendencia terapéutica.

Puede concluirse que la excreción renal es la vía más importante de eliminación de las quinolonas y sus metabolitos. Así, ciprofloxacino, enoxacino, fleroxacino, lomefloxacino, norfloxacino, ofloxacino y temafloxacino se excretan en elevada proporción sin metabolizar; sin embargo, sólo se excreta inalterado un 7.6% de la dosis administrada de pefloxacino y un 9.6% de difloxacino (74, 75). Como consecuencia del relativo bajo peso molecular de estos fármacos y su escaso porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas, tanto de las quinolonas como de sus metabolitos, la excreción de estas sustancias a nivel renal se realiza mayoritariamente por filtración glomerular, pero su elevado aclaramiento renal, respecto a la velocidad de filtración glomerular (80-120 ml/min), sugiere un proceso adicional de excreción por secreción tubular; sin embargo, el aclaramiento renal de estas sustancias, considerado en valor absoluto, es decir, filtración glomerular y secreción tubular, es bajo, hecho

que permite considerar la presencia de un proceso de reabsorción tubular activa (72, 74, 75).

$t_{1/2}$ (h)	Quinolona
< 4	Ciprofloxacino Ac. pipemídico
4 - 6	Enoxacino Norfloxacino Ofloxacino
6 - 8	Lomefloxacino Temafloxacino
9 - 11	Fleroxacino Pefloxacino
> 25	Difloxacino

Semivida biológica de diferentes quinolonas.

CUADRO XI

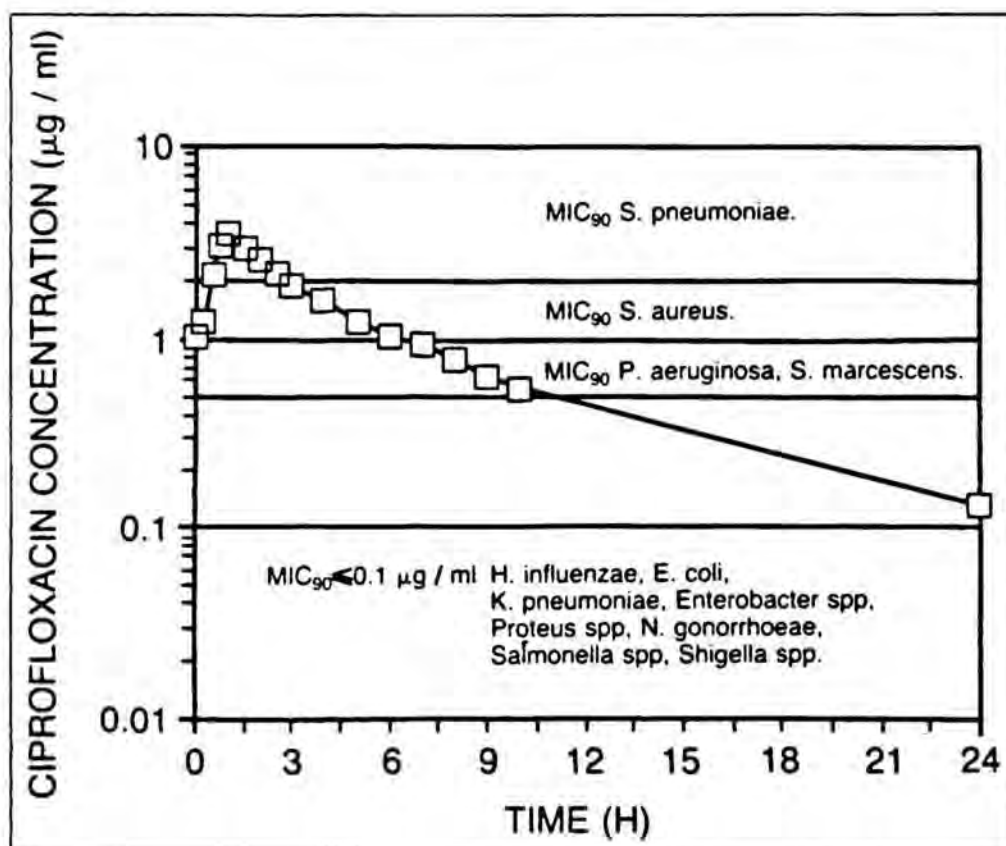
El aclaramiento renal de los metabolitos de las quinolonas es más elevado que el correspondiente a los productos de partida, lo que permite sugerir que los metabolitos poseen una mayor secreción y una menor reabsorción respecto a sus predecesores. Cabe comentar, finalmente, que en presencia de una función renal disminuída, se observa un incremento mínimo en la semivida de norfloxacino y pefloxacino, un incremento leve de la semivida de ciprofloxacino y un notable aumento de este parámetro en el caso de oxofloxacino (76). La hemodiálisis y la diálisis peritoneal disminuyen

la semivida de las quinolonas; por ejemplo, la semivida de ciprofloxacino disminuye de 12 a 5 horas durante la hemodiálisis y a 7 horas durante la diálisis peritoneal, pasando su aclaramiento de 2.42 a 0.18 l/h (77) en hemodiálisis y de 2.1 a 3.6 l/h en diálisis peritoneal. En estos casos resulta recomendable monitorizar las quinolonas.

La eliminación no-renal de las quinolonas es cuantitativamente poco importante. La excreción biliar, en general, es poco significativa; representa, en la mayoría de los casos, un 5 % de la dosis administrada (78, 79). Por ejemplo, pefloxacino, ciprofloxacino y norfloxacino utilizan esta vía, alcanzándose concentraciones en bilis del orden de 5-30 $\mu\text{g/ml}$ (60). Las concentraciones de las quinolonas en bilis son elevadas respecto a las que se alcanzan en plasma, concretamente de 2 a 10 veces más altas (80). A nivel de la excreción se han encontrado interacciones de las quinolonas en la secreción tubular, proceso que resulta inhibido por probenecid (81). Ciprofloxacino y norfloxacino disminuyen la excreción renal en un 50 y 60 %, respectivamente (82, 83).

1.3.5. REGIMENES DE DOSIFICACION

En general, para establecer los regímenes de dosificación de las fluoroquinolonas se sigue el procedimiento habitual. A partir de los parámetros obtenidos con el estudio farmacocinético a dosis única y mediante la aplicación de las correspondientes ecuaciones se determinan las dosis y las pautas de dosificación más apropiadas. Para determinar el intervalo de dosificación óptimo, debe tenerse en cuenta el tiempo que las concentraciones plasmáticas del fármaco se mantienen por encima del valor MIC_{90} (concentración mínima inhibitoria para el 90% de las cepas patógenas); así, por ejemplo, en la Figura 7 se exponen las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino representativas de un bucle en estado de equilibrio estacionario, consecutivamente a una administración oral de 500 mg cada ocho horas, en relación con los valores MIC_{90} para las bacterias tratadas. De acuerdo con esta experiencia, se puede concretar que un régimen posológico de 500 mg de ciprofloxacino cada 12 horas sería adecuado para el tratamiento de infecciones producidas por estas bacterias. Algunos autores, sin embargo, sugieren dosis más elevadas o intervalos de dosificación más cortos en el tratamiento de infecciones sistémicas producidas por gérmenes resistentes (Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa) (84).



Curva de concentraciones plasmáticas-tiempo de ciprofloxacino (500 mg cada 8 h, 13 dosis) con valores de MIC₉₀ para diversas bacterias.

FIGURA 7

Un resumen de las principales características farmacocinéticas de las quinolonas se expone en el Cuadro XII (29).

Parámetro	Quinolona (dosis oral)						
	Ac.Nali- dixico (1000 mg)	Cipro- floxacino (500 mg)	Eno- xacino (400 mg)	Flero- xacino (400 mg)	Nor- floxacino (400 mg)	Oflo- xacino (400 mg)	Pe- floxacino (400 mg)
Biodisponibilidad absoluta	(100%)	65-85%	90%	100%	(30-40%)	95-100%	100%
C _{max} , µg/ml	15-30	2.0-2.8	2.4-3.0	4.2-6.1	1.5-2.0	3.5-5.6	3.8-6.6
T _{max} , h	1.5	1.2	1.5	1.1	1.5	1.2	1.2
Unión a proteínas plasmáticas, %	93	20-40	32	23	14	10-20	20-30
Volumen distribución, l/kg	0.5	3.0	2.5	1.4	1.5	1.5	1.8
Metabolismo							
Nº de metabolitos (activos)	4 (1)	3 (3)	1 (1)	2 (1)	6 (3)	2 (1)	3 (1)
% de dosis oral	90	19	10-15	10	23	3	60
Semivida(t _{1/2α}), h	3-8	3-5	4.5-7	9-13	3.5-5.5	5-8	9-12
Aclaramiento total ml/min	50	400-700	450-600	90-140	400	230-290	120-150
Aclaramiento renal ml/min	--	300	200-300	50-80	285	185-245	7.5
Vía de eliminación, % de dosis oral							
Renal	96	40-60	45-55	50-65	30-40	70-80	10-50
Gastrointestinal	4	30	18	10	29	5-10	?

Los paréntesis indican biodisponibilidad relativa, por no ser posible la formulación intravenosa.

Parámetros farmacocinéticos comparativos de distintas quinolonas.

CUADRO XII

1.4. CONSIDERACIONES CLINICAS

El perfil farmacocinético que presentan las quinolonas, así como su elevada actividad antibacteriana y el amplio espectro que poseen, permite que sean utilizadas en el tratamiento de gran variedad de infecciones, tanto a nivel hospitalario como en la práctica clínica ambulatoria. Tomando como base numerosos estudios clínicos controlados (85, 86), se han puesto de manifiesto distintas indicaciones clínicas, algunas de las cuales se reseñan a continuación.

1.4.1. INFECCIONES DE LAS VIAS URINARIAS

Las nuevas quinolonas son agentes excelentes para tratar infecciones específicas de vías urinarias porque inhiben Enterobacteriaceae y P. aeruginosa, incluidos microorganismos resistentes a antibióticos β -lactámicos, aminoglucosídicos y trimetoprim (Cuadro XIII) (87, 88). Las concentraciones en orina aminoran el riesgo de resistencia espontánea y las que se alcanzan en intestino eliminan a uropatógenos potenciales, disminuyendo así la posibilidad de reinfección o infección sobreañadida en el individuo inválido encamado u hospitalizado. Aparecen niveles inhibitorios adecuados en orina incluso si la función renal ha disminuido de forma extraordinaria.

La administración oral de lomefloxacinó ha demostrado ser más eficaz que la parenteral de cefotaxima en la prevención de infecciones postquirúrgicas del tracto urinario de pacientes que han sufrido una intervención transuretral (89).

Entidades patológicas	
<i>Infecciones de vías respiratorias</i>	
Faringitis	No apropiada
Otitis media	No apropiada
Otitis necrosante	Ciprofloxacina contra <i>P. aeruginosa</i>
Sinusitis	Contra <i>Hemophilus</i>
Bronquitis bacteriana	Ciprofloxacina u ofloxacina
Neumonía extrahospitalaria	Rara vez apropiada
Neumonía por aspiración	
extrahospitalaria	No apropiada
nosocomial	Ciprofloxacina u ofloxacina
Fibrosis quística	Ciprofloxacina
<i>Infecciones de vías urinarias</i>	
Cistitis	Eficaces, pero otros agentes son de primera línea
Pielonefritis	Todos son eficaces
Prostatitis nosocomial	Todos son eficaces
<i>Infecciones de estructuras cutáneas</i>	
Piodermia	No son apropiadas
Úlceras por decúbito	Ciprofloxacina, ofloxacina
<i>Osteomielitis</i>	
Hematógena en niños	No apropiados
Infecciones crónicas	Ciprofloxacina, ofloxacina y a veces norfloxacina
<i>Diarreas</i>	Todas son eficaces
<i>Enfermedades venéreas</i>	
Gonorrea	Norfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina
Chlamydia	Ofloxacina o ciprofloxacina
Chancroide	Todas son eficaces
Mycoplasma	Ofloxacina o ciprofloxacina
Sífilis	No son apropiadas

Empleo clínico de las quinolonas.

CUADRO XIII

Las quinolonas no constituyen los agentes de primera línea para combatir la cistitis simple, resultando conveniente en estos casos usar otros fármacos. Existe mayor posibilidad de que norfloxacin, ciprofloxacino u ofloxacino sean más eficaces que dosis únicas de amoxicilina o trimetoprim-sulfametoxazol (TMP/SMX) en el tratamiento de pacientes con síntomas que han persistido por más de 48 horas o con cistitis hemorrágica. Entre las afecciones en las que pueden emplearse con ventaja las nuevas quinolonas (87, 90, 91), cabe citar las infecciones nosocomiales de vías urinarias, pielonefritis (enfermedades de la porción superior de las vías urinarias) y las infecciones complicadas de dichas vías.

Las quinolonas no deben usarse con fines profilácticos en varones ancianos con lesiones renales obstructivas, o en forma crónica en pacientes con calculopatías renales, porque en estas situaciones surge rápidamente resistencia. Hay que cambiar las sondas vesicales a permanencia y recurrir a cateterismo directo intermitente para evitar que surjan problemas de resistencia.

Las quinolonas son eficaces para combatir la prostatitis aguda, causada mayoritariamente por Escherichia coli. Existe evidencia de que la prostatitis crónica por E. coli se cura con ciprofloxacino, pero se advierten recaídas en pacientes infectados con P. aeruginosa o enterococos (92). Es posible usar las quinolonas en cualquier caso de prostatitis, dado que tienen la misma posibilidad de ser eficaces que los otros agentes de los que se dispone actualmente.

1.4.2. ENFERMEDADES VENEREAS

Todas las quinolonas resultan eficaces, con una sola dosis, contra la gonorrea, incluidas las cepas de Neisseria gonorrhoeae productoras de penicilinas. Pero, ninguna de las quinolonas actuales son eficaces, con una sola dosis, contra Chlamydia ni tampoco lo son 400 mg de norfloxacinó dos veces al día durante 10 días (93). Con ciprofloxacino se obtienen tasas menores de curación de la uretritis por Chlamydia que con doxiciclina (94). Se precisan más datos sobre la eficacia de las quinolonas en infecciones genitales por micoplasma o ureaplasma (95). Se han utilizado dichos compuestos para combatir el chancroide por H. ducreyi.

1.4.3. INFECCIONES DE LAS VIAS RESPIRATORIAS SUPERIORES

No se ha aprobado en Estados Unidos el uso de norfloxacinó para tratar infecciones respiratorias; en caso de Haemofilus, generaría niveles adecuados en los senos paranasales, pero no en el caso de otros microorganismos. Se han tratado satisfactoriamente con ciprofloxacino y ofloxacino otitis y sinusitis, pero, al parecer, dichos agentes no constituyen fármacos de primera línea, siendo más apropiados como tratamiento inicial los antibióticos β -lactámicos, macrólidos o la combinación de trimetoprim con sulfametoxazol. Ciprofloxacino puede utilizarse apropiadamente para tratar la otitis externa necrosante del diabético causada por P. aeruginosa.

1.4.4. INFECCIONES DE LAS VIAS RESPIRATORIAS INFERIORES

En las exacerbaciones agudas de las bronquitis, que son menos susceptibles a las quinolonas, predominan los neumococos. Debe utilizarse un antibiótico betalactámico si en el frotis de esputo se detectan diplococos gram-positivos, pero si en la tinción de Gram se advierte un predominio de cocobacilos gram-negativos, que indican presencia de H. influenzae o B. catarrhalis, o si se han administrado ampicilina, amoxicilina o eritromicina sin éxito, resultan opciones razonables ciprofloxacino y ofloxacino (96 - 98).

La neumonía puede dividirse en infecciones extranosocomiales y nosocomiales. Ciprofloxacino y ofloxacino son alternativas a los antibióticos betalactámicos, pero otros agentes deben ser los de primera elección, especialmente si el agente patógeno más probable es S. pneumoniae. La neumonitis por aspiración, en la comunidad, es causada por la flora de anaerobios y microaerófilos bucales, concretamente por estreptococos microaerófilos, Bacteroides melaninogenicus y especies de Fusobacterium; las quinolonas no son agentes apropiados contra dichas infecciones. Sin embargo, en los hospitales en que los agentes patógenos más importantes son algunos aerobios gram-negativos como Pseudomonas, Enterobacter, Klebsiella y Serratia, pueden utilizarse inicialmente quinolonas dentro de un plan de control, o como agente ingerible (99 - 101).

1.4.5. FIBROSIS QUISTICA

El tratamiento de la fibrosis quística con quinolonas debe limitarse a ciprofloxacino en pacientes de más de 14 años de edad. El uso de dicha quinolona por más de dos a cuatro semanas no ha incrementado la mejoría clínica y ha ocasionado una "selección" de microorganismos resistentes (102). Debe alternarse ciprofloxacino con otros agentes como penicilinas antipseudomonas, ceftacidima o aztreonam, o con una combinación de dichos antibióticos si se demuestra sinergia. La quinolona mencionada no debe usarse durante un largo plazo, porque hará que surja rápidamente resistencia en algunas bacterias.

1.4.6. DIARREAS

Norfloxacino, ciprofloxacino u ofloxacino curarán la diarrea por *Shigella*; por *E. coli* toxígena; por *Salmonella*, incluida *S. typhi*; por *Campylobacter*; *Aeromonas*, *Vibrio parahemolyticus* y *Vibrio cholerae* (103). La elevada concentración intraluminal de estos fármacos y las excelentes concentraciones en tejidos, macrófagos y mucosa intestinal constituyen aspectos importantes que contribuyen a la erradicación de bacterias patógenas intestinales en menos de 48 horas. Los elevados niveles del fármaco en intestino aminoran el peligro de que surja resistencia y su actividad frente

a Bacteroides, especies de Clostridium y estreptococos disminuye el peligro de síndromes de proliferación bacteriana excesiva. Sin embargo, no inhibe C. difficile y rara vez ha causado colitis. Norfloxacin y ciprofloxacino, al parecer, son eficaces en el estado portador de fiebre tifoidea (104).

Las nuevas fluoroquinolonas se excretan parcialmente por secreción transintestinal (105, 106) a través de la mucosa del intestino delgado, con lo que las concentraciones de fármaco en el lumen intestinal son elevadas; ello hace que este grupo de fármacos resulten de interés especial en quimioprofilaxis de pacientes con granulocitopenia.

1.4.7. INFECCIONES DE ESTRUCTURAS CUTANEAS, TEJIDOS BLANDOS Y HUESOS.

No deben usarse norfloxacin y otras nuevas quinolonas en la piodermia causada por estreptococos y en infecciones cutáneas por estafilococos; los agentes de primera elección continúan siendo los antibióticos betalactámicos. Sin embargo, las nuevas quinolonas, en particular ofloxacin y ciprofloxacino, son apropiadas en algunos casos; incluso, norfloxacin constituye una forma alternativa de tratamiento. En infecciones mixtas por gram-negativos aerobios durante la hospitalización, como en úlceras por decúbito, es posible que el paciente retorne a su hogar o a una especie de anexo para situa-

ciones intermedias, mientras sigue recibiendo una quinolona oral. A pesar de que la concentración inhibitoria mínima para estafilococos y P. aeruginosa haya aumentado durante el tratamiento de las infecciones cutáneas, ello no conducirá, obligatoriamente a un fracaso clínico (107). Ciprofloxacino ha demostrado ser eficaz en la erradicación de Staphilococcus aureus meticilin-resistente de la piel (108).

La osteomielitis por infección continuada o la que surge tras un traumatismo o cirugía es una situación en la que puede utilizarse una quinolona, porque permite el tratamiento en el hogar por períodos más duraderos (109). Se han logrado resultados clínicos mejores con ciprofloxacino y ofloxacino que con el tratamiento parenteral y dichos agentes han sido útiles para combatir las infecciones de esternotomía causadas por S. epidermidis y S. aureus resistentes a meticilina y por bacterias gram-negativas como Serratia y P. aeruginosa.

Las quinolonas, en particular ofloxacino y ciprofloxacino, inhiben algunas especies de micobacterias atípicas que causan infecciones de la piel y de los huesos (110). Se necesitan más estudios para saber si estos agentes tendrán utilidad clínica. En el caso de tratamiento pediátrico, dado que las fluoroquinolonas producen lesión del cartílago, deben utilizarse penicilinas orales.

1.4.8. OTRAS INDICACIONES CLINICAS

Otro uso posible e interesante de las quinolonas sería el tratamiento de la gastritis antral de tipo B por Campylobacter pyloridis. Al parecer, algunos de estos compuestos pueden excretarse por la mucosa gástrica. Las quinolonas poseen características que les permiten penetrar en la capa de moco gástrico en la que vive Campylobacter. Se necesitan estudios a largo plazo para conocer el porcentaje final de recaída en la gastritis por Campylobacter cuando el paciente recibe una quinolona, porque se han observado fracasos con ofloxacino.

1.4.9. EMPLEO PROFILACTICO DE LAS QUINOLONAS

Ciprofloxacino ha sido eficaz para eliminar el estado de portador en vías nasales de S. aureus resistente a meticilina, en pacientes hospitalizados y en personal del nosocomio. Con ciprofloxacino puede eliminarse Neisseria meningitidis presente en vías nasales y en faringe; en este sentido, no se cuenta con estudios con otras quinolonas.

Uno de los aspectos más interesantes del empleo profiláctico de quinolonas se refiere al tratamiento de pacientes neutropénicos que reciben quimioterapia o después de transplante de médula ósea (111); con ellas, el contenido fecal de estafilococos y enterococos disminuye hasta el mínimo, en tanto que no se altera la

flora de anaerobios. Los pacientes con fibrosis quística que presentaron resistencia de *Pseudomonas* en su esputo no mostraron microorganismos resistentes en su flora fecal. Se necesitan más estudios para saber exactamente en que situaciones pueden utilizarse provechosamente las quinolonas en pacientes neutropénicos.

1.4.10. EFFECTOS ADVERSOS

El uso clínico de las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, enoxacino, norfloxacino, ofloxacino, pefloxacino ...) cubre aproximadamente un 10 % de las prescripciones de antibióticos en U.S.A. (112) y su tendencia es ir aumentando. En general, estos fármacos son bien tolerados y sólo un 4.5 - 10.2 % de los pacientes presentan reacciones adversas menores (113), localizándose el efecto adverso más frecuente en el tracto gastrointestinal (3.0 - 8.4 %). Con todos estos agentes, un fenómeno siempre presente es la náusea, que afecta del 1 al 5% de los pacientes que las reciben y que aparece con mayor frecuencia cuando se administran dosis elevadas. Otros efectos gastrointestinales incluyen dolor abdominal, emesis y diarrea. Se ha observado colitis pseudomembranosa, pero es poco frecuente.

Los efectos adversos sobre el sistema nervioso central representan una frecuencia del orden del 0.9 - 4.4 % (114), traduciéndose en forma de mareos, cefalalgia, inquietud, depresión, insomnio y somnolencia. En pacientes que recibieron enoxacino y teofilina se han

descrito convulsiones (115). Otros efectos adversos descritos son reacciones alérgicas y de hipersensibilidad en la piel (0.4 - 2.2 %), acompañadas de fotosensibilidad y alteraciones del sistema cardiovascular (< 0.1 %), que se manifiestan en forma de taquicardia, descenso de la presión sanguínea tras un bolus intravenoso y alteraciones en los recuentos de células sanguíneas (114).

La toxicidad renal no ha constituido un problema, aunque se ha observado cristaluria en pacientes que recibieron 800 ó 1600 mg de norfloxacin, siendo un fenómeno raro en el caso de ciprofloxacino. No hay evidencia de que la cristaluria haya ocasionado toxicidad renal. No se ha señalado toxicidad en ojos en los pacientes que han recibido norfloxacin, ofloxacino o ciprofloxacino, incluso habiéndoseles administrado los agentes durante largo tiempo (algunas quinolonas producen cataratas en animales, tras un empleo duradero). Con todos estos agentes se han observado reacciones de fotosensibilidad cutánea, que han sido raras tras el uso de norfloxacin o ciprofloxacino. También es poco frecuente la aparición de eosinofilia, fiebre o urticaria, pero se han observado de forma análoga a como se producen con cualquier otro tipo de fármacos.

Las quinolonas administradas durante largo tiempo, a perros inmaduros, en dosis seis veces mayores de las usuales en el hombre, producen erosiones del cartílago de las articulaciones que soportan el peso corporal y daño permanente en ellas. Con todas las quinolonas se han señalado casos ocasionales de altral-

gia, pero ha sido transitoria y no ha producido problemas articulares permanentes en adultos. La preocupación por el posible daño articular es la razón por la que no se recomienda el uso de quinolonas para combatir infecciones en niños; sin embargo, cien niños con fibrosis quística que recibieron ciprofloxacino no presentaron problemas articulares.

Las anormalidades observadas en pruebas de funcionamiento hepático o en estudios hematológicos son poco frecuentes. Como ocurre con otros agentes, pacientes ocasionales muestran elevaciones del nivel de transaminasas y neutropenia, anormalidades que cedieron cuando se interrumpió el uso de quinolonas.

Un resumen de las posibles interacciones de las fluoroquinolonas, mencionadas anteriormente en los correspondientes apartados, se expone en el CUADRO XIV.

Reducción de la actividad antimicrobiana

- * pH bajos (fagolisosomas)
- * elevadas concentraciones Mg^{2+} (quelatos)

Metabolismo hepático

- * Teofilina, cafeína
- * Antagonistas- H_2 (cimetidina)
- * AINE (fenbufeno)

Absorción intestinal

- * Alimentos (?)
- * Antiácidos

Posibles interacciones de las quinolonas

CUADRO XIV

1.5. CONSIDERACIONES FINALES.

La administración oral es la vía más empleada en la utilización terapéutica de fluoroquinolonas, resultando de elección, en la mayoría de los casos, por ser la más fisiológica; por este motivo, la búsqueda de nuevos compuestos en este grupo de quimioterápicos se centra en la obtención de nuevas moléculas que, por un lado, amplíen al máximo su espectro antibacteriano y, por otro, mejoren sus características farmacocinéticas en general y en particular su absorción. Por lo que se refiere al proceso de absorción, independientemente del diseño biofarmacéutico adoptado en la formulación, que obviamente modulará a su vez el proceso, la investigación farmacocinética y biofarmacéutica se interesa de manera prioritaria por las características fisicoquímicas de las nuevas moléculas, en especial por la solubilidad, los valores pK_a y los parámetros de lipofilia, factores todos ellos que probablemente juegan un papel más o menos importante en la absorción intestinal de los fármacos, proceso que, en el caso de las fluoroquinolonas administradas por vía oral, se desarrolla a nivel de la mucosa duodenal. En esta línea de actuación se sitúa el trabajo de la presente Memoria, cuyos objetivos, enunciados en la Introducción, tienen como punto de partida el hecho, contrastado en la bibliografía especializada, de haberse obtenido mejoras en la absorción de nuevos fármacos de la serie por modificación de la estructura molecular de partida; así por ejemplo, la metilación del nitrógeno del radical piperazínico en posición 4 confiere a la molécula una mayor biodisponibilidad (1,2). En general, las

modificaciones estructurales en las posiciones 1 y 7 del núcleo quinolónico son las que más se han ensayado con el fin de modificar las características fisicoquímicas de estas sustancias, en especial su lipofilia, orientadas, en todo caso, a mejorar la absorción. A partir de la molécula de ciprofloxacino, que ha puesto de manifiesto tras su dilatada experimentación clínica excelentes resultados terapéuticos, y manteniendo constante el grupo ciclopropilo en la posición 1, se investigan en la presente Memoria las características de absorción de una serie de nuevas moléculas (cuya actividad antibacteriana ha sido previamente verificada), mediante un modelo de perfusión "in situ" que utiliza la rata como animal de experimentación. Las variaciones estructurales de los compuestos sometidos a estudio se centran en el sustituyente en posición 7, de acuerdo con las siguientes consideraciones:

- 1ª Por una parte, a partir del núcleo piperazínico, radical básico en la posición 7 de ciprofloxacino, introducción en el grupo amino de la posición 4 de sustituyentes hidrocarbonados. Se tienen, de esta forma, cuatro compuestos homólogos respecto al grupo metileno (-CH₂-): ciprofloxacino, el compuesto ITV 8902, enrofloxacin y el compuesto ITV 9203. Con esta serie se pretende averiguar si el aumento en la lipofilia que confiere la adición de grupos - CH₂- en aquella posición presenta alguna correlación significativa con los valores de sus correspondientes constantes de velocidad de absorción. También se intentará verificar, mediante el esta

blecimiento de correlaciones múltiples, si además de la lipofilia existen otros parámetros estructurales y/o electrónicos de la molécula que influyan en la absorción de esta serie de fluoroquinolonas. Cabe puntualizar en este punto, que los sustituyentes en el grupo amino de la posición 4 que comportan una cadena alifática superior a 3 átomos de carbono son la causa de que los compuestos obtenidos sean prácticamente insolubles en el medio acuoso intestinal.

- 2a Estudio de la influencia en la absorción intestinal de los derivados fluoroquinolónicos cuyo sustituyente en posición 7 sea, por una parte, una molécula más hidrófila que las contempladas en el primer apartado (compuesto ITV 8706) y, por otra, estudio de dicha influencia cuando el sustituyente corresponde a un grupo químico distinto del piperazínico (compuesto ITV 8919, con un grupo tiomorfolínico; compuesto ITV 8804, con un grupo morfolínico y compuesto ITV 9201, con un grupo piperidínico).
- 3a Para la serie homóloga, estudio comparativo de los parámetros de solubilidad en el medio de trabajo (solución tamponada a pH 7.4).

Sirvan estas consideraciones finales para concretar al máximo los objetivos pretendidos con el trabajo realizado en la presente Memoria.

1.6. BIBLIOGRAFIA.

1. LESHER G.Y., FROELICH E.J., GRUETT M.D., BAILEY J.H. J. Med. Pharm. Chem. 5, 1063 (1962).
2. SMITH J.T. "Awakening the slumbering potential of the 4-quinolone antibacterials". Pharm. J. 233, 299-305 (1984).
3. GERSTER J.F. Ger. Pat. 2.264.163 Ricker (1973).
4. KOGA H. J. Med. Chem. 23, 1356 (1980).
5. JANKNEGHT R., HEKSTER Y.A. "Developments in quinolones". Pharm. Weekbl. Sci. Ed. 11, 33-43 (1989)
6. NEUMAN M. "Clinical Pharmacokinetics of 4-quinolones". Clinical Pharmacokinetics, 14, 97-121 (1988).
7. BRYSKIER A., CHANTOT J.F. "Classification and structure-activity relationships of pyridione- β -carboxylic and derivatives. Abstract WS-9-4 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto" (1985).
8. HAYAKAWA I., HIRAMITSU T., IMAMURA M., EBATA T., et al. "Structure-activity relationships of quinolone antibacterial agents including ofloxacin. Abstract. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto" (1985).

9. JACK D.B. "Recent advances in pharmaceutical chemistry: the 4-quinolone antibiotics". J. Clin. Hosp. Pharm. 11, 75-93 (1987).
10. JANKNEGT R. "Fluorinated quinolones: a review of their mode of action, antimicrobial activity, pharmacokinetics and clinical efficacy". Pharm. Weekblad Sci. Ed. 8, 1-21 (1986).
11. Panorama Actual del Medicamento 118, 354-355 (-1988).
12. SMITH J.T., RATCLIFFE N.T. "Einfluss von pH-Wert und magnesium auf die antibakterielle Aktivität von Chinolonpräparaten". Infection 14 (Suppl. 1), 31-33 (1986).
13. CUELLAR S. "Evaluación empírica de fluoquinolonas". Industria Farmacéutica, Sept./Oct. 67-75 (1988).
14. HOOPER D.C., WOLFSON J.S., SOUZA K.S., TUNG C., MCHUGH G.L. "Resistance in Escherichia coli". Antimicrob. Agents Chemother. 29, 639-644 (1986).
15. SATO K., INOUE Y., FUJII T., AOYAMA H., INOUE M. "Purification and properties of DNA gyrase from a fluoquinolone-resistant strain of Escherichia coli". Antimicrob. Agents Chemother. 30, 777-780 (1986).

16. SMITH J.T. "The mode of action of 4-quinolones and possible mechanisms of resistance". J. Antimicrob. Chemother. 18 (Suppl. D), 21-29 (1986).
17. SMITH J.T., RATCLIFFE N.T. "Ciprofloxacin and ofloxacin possess an extra bactericidal action absent from other 4-quinolone antibacterial agents". 24th Inter-Science Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington D.C. 1984, pp. 45-50, Excerpta Medica. Tokyo 1985.
18. WANG J.C. "DNA topoisomerases". Annu. Rev. Biochem. 54, 655-697 (1985).
19. ZWEERINK M.M., EDISON A. "Inhibition of micrococcus DNA-gyrase by norfloxacin and 10 other quinolone carboxylic acids". Antimicrob. Agents Chemother. 29, 59-63 (1986).
20. COZZARELLI N.R. "DNA gyrase and the supercoiling of DNA". Science 207, 953-960 (1980).
21. SHEN L.L., KOHLBRENNER W.E., WEIGL D., BARANOWSKI J. "Mechanism of quinolone inhibition of DNA gyrase". J. Biol. Chem. 264, 2973-2978 (1989).
22. MITSUHASHI S. "Comparative antibacterial activity of new quinolone-carboxylic acid derivatives". Rev. Infect. Dis. 10 (Suppl. 1), 27-31 (1988).

23. ELIOPOULOS G.M., ELIOPOULOS C.T. "Quinolone anti microbial agents: Activity in vitro". En: Quinolone Antimicrobial Agents. Wolfson J.S., Hooper D.C. ed. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1989), pp. 35-70.
24. GANDERS C.C., SANDERS V.E., GOERING R.V., WERNER V. "Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, β -lactams and aminoglycosides with special reference to cross-resistance between unrelated drug-classes". Antimicrob. Agents Chemoter. 26, 797-801 (1984).
25. STRATTON Ch.W. "Evaluation of the effect (indifferent, additive, synergistic, or antagonistic) of lomefloxacin on the bactericidal activity of metronidazole against selected anaerobic bacteria as determined by time-kill kinetic methodology". 16th Int. Cong. Chemother. (June 11-16, Jerusalem) (1989), Abstr. 302.
26. CAMPOS P., VERA A., MATIN-LUENGO F. "Isolation of mutants of Pseudomonas aeruginosa PA01 resistant to ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin and incomplete cross-resistance with nalidixic acid". 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto (1985). Abstr. P-37-81.
27. COURVALIN P., DERLOT E., CHABBERT Y.A. "Growth deficiency of quinolone-resistant mutants". 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto (1985). Abstr. S-31-7.

28. HOOPER D.C., WOLFSON J.S. "The fluoroquinolones: pharmacology clinical uses and toxicities in humans". Antimicrob. Agents Chemother. 28, 716-721 (1985).
29. LE BEL M. "Pharmacokinetics of oral fluoroquinolones". ISI Atlas of Science: Pharmacology, 196-201 (1988).
30. JAEHDE U., MALTER U. SÖRGEL F., GOTTSCHALK B., WEISEMANN H. "Individual factors affecting in pharmacokinetics of pefloxacin. Proc. 15th Int. Cong. Chemother. (July 19-24, Istanbul, Turquia) (1987). En: Progress and antimicrobial and anti-cancer chemotherapy. Vol. I. Bekarda, Kuemmerle (ed.) Ecomed-Verlag, Landsberg. (1987), pp. 883-885.
31. DRUSANO G.L., STANDIFORD H.C., PLAISANCE K., FORREST A., LESLIE J. "Absolute oral bioavailability of ciprofloxacin". Antimicrob. Agents Chemother. 30, 444-446 (1986).
32. SÖRGEL F., JAEHDE U., NABER K., STEPHAN U. "Pharmacokinetic Disposition of Quinolones in Human Body Fluids and Tissues". Clin. Pharmacok. 16 (Suppl. 1), 5-24 (1989).
33. LOCKLEY M.R., WISE R., DENT J. "The pharmacokinetics and tissue penetration of ofloxacin". J. Antimicrob. Chemother. 14, 647-652 (1984).

34. WISE R., LOCKLEY M.R., DENT J., WEBBERLEY M. "-Pharmacokinetics and tissue penetration of enoxacin". Antimicrob. Agents Chemother. 26, 17-19 (1984).
35. WISE R., LISTER D., McNULTY C., GRIGGS D., ANDREWS J.M. "The comparative pharmacokinetics of five quinolones". J. Antimicrob. Chemother. 8 (Suppl. D), 71-81 (1986).
36. GILFILLAN E.C., PELAK B.A., BLAND L.A., MALATESTA P.F., GADEBUSCH H.H. "Pharmacokinetic studies of norfloxacin in laboratory animals". Chemother. 30, 288-296 (1984).
37. BARRE J., HOUIN G., TILLEMENT J.P. "Dose-dependant pharmacokinetics study of pefloxacin, a new antibacterial agent in humans". J. Pharm. Sci. 73, 1379-1382 (1984).
38. LEROY A., BORSA F., HUMBERT G., BERNADET P., FILLASTRE J.P. "The pharmacokinetics of ofloxacin in healthy adult male volunteers". Eur. J. Clin. Pharmacol. 31, 629-630 (1987).
39. SHAH P.M. "Effect of co-medication on absorption of ciprofloxacin from gastro-intestinal tract". Quinolones Bulletin 2, 12 (1986).

40. HÖFFKEN G., BORNER K., GLATZEL P.D., KOEPPE P.,
LODE H. "Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antiacids". Eur. J. Clin. Pharmacol. 4, 345-347 (1985).
41. HÖFFKEN G., LODE H., OLSCHESKI P., SIEVERS B.,
BORNER K., KOEPPE P. "Interaktionen in der gastrointestinalen resorption von ofloxacin". Wiesbaden Klin. Woch. 64, 162-165 (1986).
42. GOLPER T.A., HARTSTEIN A.I., MORTHLAND V.H., CHRISTENSEN J.M. "Effects of antacids and dialysate dwell times on multiple-dose pharmacokinetics of oral ciprofloxacin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis". Antimicrob. Agents Chemother. 31, 375-378 (1987).
43. RUBINSTEIN E., SEGEV S. "Drug interactions of ciprofloxacin with other non-antibiotic agents". Amer. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 119-123 (1987).
44. FOSTER T.S., BLOUIN R.A. "The effect of antacid timing on lomefloxacin bioavailability". 29th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, Houston, Texas) (1989). Abstr. 1277.
45. FLEMING L.W., MORELAND T.A., STEWART W.K., SCOTT A.C. "Ciprofloxacin and antacids". Lancet II, 294 (1986).

46. RATCLIFE N.T., SMITH J.T. "Effects of magnesium on the activity of 4-quinolone antibacterial agents". Brit. J. Clin. Pharmacol. 15, 61-63 (-1980).
47. HÖFFKEN G., LODE H., WILEY R. et al. "Pharmacokinetics and interaction in the bioavailability of new quinolones". 1st Int. Symp. New Quinolones (July 17-19, Geneva) (1986). Abstr. 141.
48. NIX D.E., SCHENTAG J.J. "Absorption of lomefloxacin when administered with ranitidine and sucralfate". 29th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, Houston, Texas) (1989). Abstr. 1276.
49. HÖFFKEN G., OLSCHESKI P., SIEVERS B., LODE H., BORNER K., KOEPPE P. "Absolute bioavailability and interactions in the pharmacology of ofloxacin". 26th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 28- Oct. 1, New Orleans, Louisiana) (1986). Abstr. 485.
50. SCHENTAG J.J., SEDMAN A.J., WILTON J.H. et al. "Interactions between enoxacin, ranitidine and antacids". 3rd Eur. Cong. Clin. Microbiol. (May 11-15, The Hague, Holanda) (1987). Abstr. 234.
51. SÖRGE F. et al. "Effects of cimetidine on the pharmacokinetics of pefloxacin in healthy volunteers". Rev. Infect. Dis. 10 (Suppl.1) S137 (1988).

52. ADAM D. "Gewebekonzentrationen von gyrase Hemmern-Eine Übersicht". En: FAC Band 6-10 Fortschr. Antimikr. Anti-neoplast. Chemother. Futuramed Verlag: München, 2015-2021 (1984).
53. STAHL J.P., CROIZE J., AKBARAL J.P. "Diffusion of ofloxacin into cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis". Infection 18 (Suppl. 4), 256-258 (1986).
54. VALAINIS G., THOMAS D., PANKEY G. "Penetration of ciprofloxacin into cerebrospinal fluid". Eur. J. Clin. Microbiol. 5, 206-207 (1986).
55. WOLFF M., REGINIER B., DALDOSS C. "Penetration of pefloxacin into cerebrospinal fluid of patients with meningitis". Antimicrob. Agents Chemother. 26, 289-291 (1984).
56. VERGIN H., METZ R. "Review of developments in fluoroquinolones". Drugs Today 27, 177-192 (-1991).
57. HORI S., SHIMADA J., SAITO A., MIYAHARA T., KURIOKA S., MATSUDA M. "Study on enhanced epileptogenicity of new quinolones in the presence of anti-inflammatory drugs". 27th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Oct. 4-7, New York) (1987). Abstr. 30.

58. GRUBER G., JAEDHE U., SÖRGEL F., HEISS R., SCHUNAK W. "Relationships between the chemical structure and the HPLC capacity factor of gyrase inhibitors and their metabolites in different methanol-water eluents". *Fresenius Zeitschr. Anal. Chem.* 330, 338-339 (1988).
59. WHITE L.O. "Metabolism of 4-Quinolones". *Quinolones Bull.* 3, 1-4 (1987).
60. MONSTAY G., GOUEFFON Y., ROQUET F. "Absorption, distribution metabolic fate and elimination of pefloxacin mesylate in mice, rats, dogs, monkeys and humans". *Antimicrob. Agents Chemother.* 25, 463-472 (1984).
61. BEERMANN D., SCHOLL H., WINGENDER W., FÖRSTER D. "Metabolism of ciprofloxacin in man". 1st International Ciprofloxacin Workshop, (1985). *Experta Medica.* Amsterdam, pp. 141-146
62. BORNER K., HÖFFKEN G., LODE H., PRINZING G., LODE R. "Remote Ausscheidung von Ciprofloxacin und einigen metaboliten nach einmaliger Oraler oder Intravenöser Applikation von 50 mg". *Forsch. Antimikr. Chemother.* 3-5, 695-699 (1984).
63. JOHNSON M., BENZIGER D. "Metabolism and disposition of amifloxacin in laboratory animals". *Antimicrob. Agents Chemother.* 27, 774-781 (1985).

64. WIJNANDS W.J.A., VREE T.B., Van HERWAARDEN C.L.A.
"Enoxacin decreases the clearance of theophylline in man". Brit. J. Clin. Pharmacol. 20, 583-588 (1985).
65. FOURTILLAN J.B., GRANIER J., SAINT-SALVI B. et al.
"Pharmacokinetics of ofloxacin and theophylline alone and in combination". Chest 92, 663-669 (1987).
66. BOWLES S.K., POPOVSKI Z., RYBAK M.J., BECKMAN H.B., EDWARDS D.J. "Effect of norfloxacin on theophylline pharmacokinetics at steady state". Antimicrob. Agents Chemother. 32, 510-512 (1988).
67. STAIB A.H., HARDER S., FABER U., WACK C., MEDERT G. "Interaction of 4-quinolones with theophylline metabolism in men: Investigations with lomefloxacin and pipemidic acid". 29th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, Houston, Texas) (1989). Abstr. 218.
68. LOGEMANN C., OHNHAUS E.E. "Enoxacin, a differential inhibitor of the microsomal liner enzyme system in men". 26th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. New Orleans 1986. Abstr. 481, p. 185 (1986).
69. HEALY D.P., SCHOENLE J.R., POLK R.E. "Influence of lomefloxacin on the disposition of caffeine in normal volunteers". Antimicrob. Agents Chemother. en prensa (1991).

70. HOOPER W.D., DICKINSON R.G., EAEDIE M.J. "The influence of food on the absorption of lomefloxacin". 29th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, Houston, Texas) (1989). Abstr. 1274.
71. WINGENDER W., BEERMANN D., FÖRSTER d., GRAEFE K.-H., KUHLMANN J. "Interactions of ciprofloxacin with food intake and drugs". Proc. 1st Int. Ciprofloxacin Workshop (Leverkusen, Alemania), 136-140 (1985).
72. JAEHDE U., MAHR G., ZÜRCHER J., NABER K., SCHUNACK W. "Absolute bioavailability, distribution and metabolism of enoxacin in healthy volunteers". 89th Annual Meeting ASCPT. San Diego. March. 9-11, 1988. Abstract PII 6-7. Clin. Pharmacol. Ther. 43, 157 (1988).
73. SÖRGEL F., KOCH H.U., MALTER U., METZ R., MAHR G. "Metabolism of pefloxacin in humans". Rev. Infect. Dis. 10 (Suppl. 1) S95-S96 (1988).
74. LODE H., HÖFFKEN G., OLSCHESKI P., SIEVERS B., KIRCH A. "Pharmacokinetics of ofloxacin after parenteral and oral administration". Antimicrob. Agents Chemother. 31, 1338-1342 (1987).
75. KLINGE E., MANNISTO P.T., MANTYLA R., MATTILA J., HÄNNINEN U. "Single and multiple-dose pharmacokinetics of pipemidic and in normal human volun

- teers". Antimicrob. Agents Chemother. 26, 69-73 (1984).
76. BERGAN T. "Dose regimens of quinolones in reduced renal function". Quinolones Bull. 2, 7-10 (1986).
77. SINGLAS E., TABURET A.M., LANDRU I., ALBIN H., RYCKELINK J. "Pharmacokinetics of ciprofloxacin tablets in renal failure: influence of haemodialysis". Eur. J. Clin. Pharm. 31, 589-593 (-1987).
78. HOLMES B., BROGDEN R.U., RICHARDS D.M. "Norfloxacin: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use". Drugs 30, 482-513 (1985).
79. PARRY M.F., SMEGO D.A., DIGIOVANNI M.A. "Hepato-biliary kinetics and excretion of ciprofloxacin". Antimicrob. Agents Chemother. 34, 982-985 (1988).
80. MATSUMOTO R. "Pharmacokinetics of ciprofloxacin in humans and animals". 14th International Congress of Chemotherapy. Kyoto (1985). Abstr. WS-6-5.
81. WINGENDER W., BEERMANN D., FÖRSTER D., GRAEFE K.H., SCHACHT P. "Mechanism of renal excretion of ciprofloxacin, a new quinolone carboxylic acid derivate, in humans". Proceedings of the 4th Mediterranean Congress of Chemotherapy. Rhodos 1984. Chemotherapia 4 (Suppl.), 403-404 (1985).

82. WINGENDER W., BEERMANN D., FÖRSTER D., GRAEFE K.-H., SCHACHT P., SCHARBROD V. "Mechanism of renal excretion of ciprofloxacin (Bay-O-9867), a new quinolone carboxylic acid derivative, in humans". Proc. 4th Mediter. Cong. Chemother. (Oct. 19-25, Rhodos, Grecia) (1984). Chemiotherapia 4 (Suppl. 2), 403-404 (1984).

83. SHIMADA J., ZAMAJI T., UEDA Y., UCHIDA H., KUSAJIMA H., IRIKURA T. "Mechanisms of renal excretion of AM-715, a new quinolone-carboxylic acid derivative in rabbits, dogs, and humans". Antimicrob. Agents Chemother. 23, 1-7 (1983).

84. LE BEL M. "Ciprofloxacin: chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials and adverse reactions". Pharmacotherapy 8, 3-30 (1988).

85. NEU H.C. "Clinical use of quinolones". En: Infection Today. A Lancet Review. The Lancet: London, 22-30 (1988).

86. WALDVOGEL F.A. "Clinical role of the quinolones today and in future". Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 1075-1079 (1989).

87. SHAEFFAER A.J. "Multiclinic study of norfloxacin for treatment of urinary tract infections". Am. J. Med. 82 (Suppl. 6B), 53-58 (1987).

88. WILLIAMS A.H., GRUNEBERG R.N. "Ciprofloxacin and cotrimoxazole in urinary tract infection". J. Antimicrob. Chemother. 18 (Suppl. D), 107-110 (1986).
89. CRAWFORD E.D., BERGERLEFF N., DAVIS M. et al. "Lomefloxacin vs. cefotaxime as prophylaxis for transurethral surgery". 30th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Oct. 22-24, Atlanta) (1990). Abstr. 1308.
90. COX C.E., McCABE R.E., GRAD C. "Oral norfloxacin vs. parenteral treatment of nosocomial urinary tract infections". Am. J. Med. 82 (Suppl. 6B), 59-64 (1987).
91. LEIGH D.A., EMMANUEL F.X.S. "The treatment of P. aeruginosa urinary tract infections with norfloxacin". J. Antimicrob. Agents 13 (Suppl. B), 85-88 (1984).
92. WEIDNER W., SCHIEFER H.G., DALHOFF A. "Treatment of chronic bacterial prostatitis with ciprofloxacin: Results of a one-year follow-up study". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 280-283 (1987).
93. CRIDER S.R., COLBY S.D., MILLER L.K., et al. "Treatment of penicillin-resistant Neisseria gonorrhoeae with oral norfloxacin". N. Engl. J. Med. 311, 137-140 (1984).

94. FONG I.W., LINTON W., SIMBUL M., et al. "Treatment of nongonococcal urethritis with ciprofloxacin". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 311-316 (1987).
95. RIGDWAY G.L., MONTAZ G., GABRIEL F.G., et al. "The activity of ciprofloxacin and other 4-quinolones against Chlamydia trachomatis and Mycoplasmas in vitro". Eur. J. Clin. Microbiol. 3, 344-346 (1984).
96. HESSEN M.T., INGERMAN M.J., KAUFMAN D.H., et al. "Clinical efficacy of ciprofloxacin therapy for gram negative bacillary osteomyelitis". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 262-265 (1987).
97. MONK J.P., CAMPOLI-RICHARDS D.M. "Ofloxacin: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties, and clinical use". Drugs 33, 346-391 (1987).
98. WIJNANDS W.J.A. "The use of enoxacin in respiratory tract infections. En: Quinolones: Their Future in Clinical Practice". Percival A (ed). Royal Society, London (1986), pp. 51-55.
99. SCULLY B.E., NEU H.C. "Oral ciprofloxacin therapy of infection caused by multi-resistant bacteria other than Pseudomonas aeruginosa". J. Antimicrob. Chemother. 18 (Suppl. D), 179-186 (1986).

100. SCULLY B.E., NEU H.C. "Ofloxacin therapy of infection due to Pseudomonas aeruginosa and other multi-resistant bacteria". 26th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. New Orleans, October (1986). Abstr. 1228.
101. SCULLY B.E., NEU H.C., PARRY M.F., et al. "Oral ciprofloxacin therapy of infections due to Pseudomonas aeruginosa. Lancet I, 819-822 (1986).
102. SCULLY B.E., NAKATOMI M., ORES C., et al. "Ciprofloxacin therapy in cystic fibrosis". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 196-201 (1987).
103. DUPONT H.L., CORRADO M.L., SABBAJ J. "The use of norfloxacin in the treatment of acute diarrheal disease". Am. J. Med. 82 (Suppl. 6B), 70-74 (-1987).
104. DIRIDL G., PICHLER H., WOLF D. "Four weeks' treatment of adult chronic Salmonella carriers with ciprofloxacin and its influence on the fecal flora". En: Proceedings First International Ciprofloxacin Workshop. Neu H.Cc, Weuta H. (ed.). Excerpta Medica, Amsterdam (1986), pp. 370-372.
105. SEELMANN R., SIGL G. "Brief Report: Gastrointestinal secretion of ciprofloxacin". Amer. J. Med. 87 (Suppl.5A), 62-65 (1989).

106. METZ R., SÖRGEL F. "The gastrointestinal secretion of quinolones - preliminary evaluation of an in vivo model". Eur. J. Clin. Microbiol., en prensa (1990).
107. FASS R.J. "Treatment of skin and soft tissue infections with oral ciprofloxacin". J. Antimicrob. Chemother. 18 (Suppl. D), 153-158 (1986).
108. MULLIGAN M.E., RUANE P.J., JOHNSTON L. et al. "Ciprofloxacin for eradication of methicillin-resistant staphylococcus aureus colonization". Amer. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 215-219 (1987).
109. ERON L.J. "Therapy of skin and skin structure infections with ciprofloxacin: An overview". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 224-226 (1987).
110. DAVIES S., SPARHAM P.D., SPENCER R.C. "Comparative in vitro activity of five fluoroquinolones against mycobacteria." J. Antimicrob. Chemother. 19, 605-609 (1987).
111. DEKKER A.W., ROZENBERG-ARSKA M., VERHOEF J. "Infection prophylaxis in acute leukemia: A comparison of ciprofloxacin with trimethoprim-sulfamethoxazole and colistin". Ann. Intern. Med. 106, 7-12 (1987).
112. ANONIMO. SCRIP. 34, 1506 (1990).

113. WOLFSON J.S. "Quinolone antimicrobial agents: Adverse effects and bacterial resistance". Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 1080-1092 (1989).
114. HOOPER D.C., WOLFSON J.S. "Adverse effects of quinolone antimicrobial agents". En: Quinolone Antimicrobial Agents. Wolfson J.S., Hooper D.C. (ed.). American Society for Microbiology. Washington D.C. (1989), pp. 249-271.
115. ARCIERI G., GRIFFITH E., GRUENWALDT G., et al. "Ciprofloxacin: An update on clinical experience". Am. J. Med. 82 (Suppl. 4A), 381-386 (1987).
116. JAEHDE U., ZÜRCHER J., SÖRGEL F., NABER K., SIGL G. "Comparative bioavailability and pharmacokinetics and ciprofloxacin and pefloxacin in healthy volunteers". 2nd. International Symposium on New Quinolones. Geneva. August 25-27. Abst. nº 80 (1988).
117. DAVIES J. "The new quinolones: back to the future". Rev. Infect. Dis. 11 supp. 5, S, 898-901 (1989).

CAPITULO 2º
MATERIAL Y METODOS

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. ESTIMACION DE LA SOLUBILIDAD.

En este epígrafe se considera el material utilizado para llevar a cabo el ensayo de solubilidad, las soluciones empleadas, la metodología seguida y la metodología analítica para la valoración de las muestras.

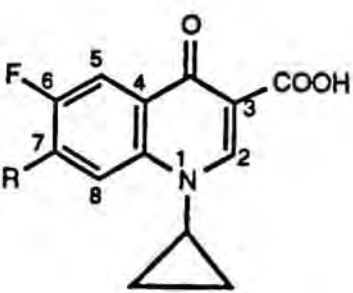
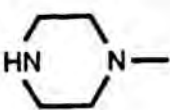
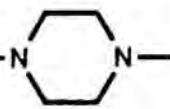
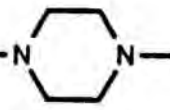
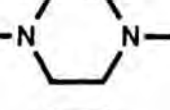
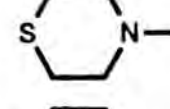
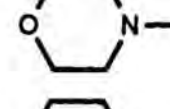
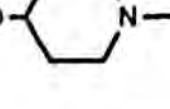
2.1.1. Material utilizado.

El trabajo experimental para la puesta a punto de la técnica empleada para el cálculo de la solubilidad en función del pH, requiere de material usual de laboratorio y de aparatos de medida y auxiliares.

2.1.1.1. Fluoroquinolonas ensayadas.

Las fluoroquinolonas estudiadas en la presente Memoria se exponen en la Figura 1.

El ciprofloxacino fue suministrado por la firma CHEMO IBERICA S.A.; el resto de las quinolonas por el Laboratorio ITEVE S.A. (Castellón).

		
QUINOLONA	R	PM
Ciprofloxacino		331.35
ITV 8902	Met — 	345.16
Enrofloxacin	Et — 	360.15
ITV 9203	Prop — 	373.42
ITV 8706	HO-Et — 	376.16
ITV 8919		349.20
ITV 8804		330.14
ITV 9201	HO — 	346.00

Estructura química de las fluoroquinolonas estudiadas.

FIGURA 1

2.1.1.2. Material de laboratorio.

- 1.- Tubos de ensayo de 12 x 100 mm de vidrio y tapón de rosca.
- 2.- Filtros de nitrato de celulosa de 5.0 μm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro, para el filtrado de las muestras.
- 3.- Pipetas automáticas (PIPETMAN, GILSON) de volumen regulable de 1-5 ml, 200-1000 μl y de 1-100 μl de capacidad. Puntas correspondientes.
- 4.- Vasos de precipitado para la preparación de las soluciones tampón.
- 5.- Jeringas desechables de 1 ml con agujas cono luer 0.8 x 40 mm para la toma de muestras.
- 6.- Matraces aforados de 100 y 50 ml para la preparación de soluciones patrón.
- 7.- Tubos de vidrio de distintos volúmenes de capacidad y tapón de rosca para la dilución de las muestras.
- 8.- Viales para CLAE, de 1 ml de capacidad, tapones y septums (TEKNOKROMA).
- 9.- Núcleos magnéticos para la agitación de soluciones.

2.1.1.3. Aparatos auxiliares y de medida.

- 1.- Balanza de precisión monoplato "Mettler H-35 AR" para la pesada de la quinolona a ensayar.
- 2.- Balanza granataria "Mettler PJ-3000" para la pesada de sales para la preparación de las soluciones reguladoras.
- 3.- Agitador Asincro ref. 379.
- 4.- Vortex DINCRO para la agitación de tubos.
- 5.- Baño de ultrasonidos SELECTA para la fragmentación de

- las sustancias en porciones de inferior tamaño y facilitar así su disolución. También como desgasificador de las fases móviles a eluir por el cromatógrafo líquido de alta eficacia (CLAE).
- 6.- pHmetro CRISON "micropH 2000" provisto de dos modelos distintos de electrodos :
- a) electrodo combinado INGOLD modelo 10-405-3931 para ajustar las soluciones tampón a los diferentes pH de ensayo, y
 - b) electrodo combinado INGOLD de 3 mm de diámetro, modelo 10-402-3522 para la lectura de los pH de las soluciones de fármaco que se están ensayando.
- 7.- Baño HETO (Dinamarca) provisto de agitador (tipo TB-SH02 N°7611) y termostato (tipo 01-T-623 N°7705).
- 8.- Espectrofotómetro BECKMAN DB-T con registro, utilizado para la determinación del máximo de absorción de cada quinolona.
- 9.- Cromatógrafo líquido de alta eficacia (CLAE) de la firma KONTRON, equipado con los siguientes elementos: a) dos bombas modelo 420, b) mezclador M-800/491, c) inyector automático modelo 460, d) Multitask valve LCS 870, e) Multiport, f) detector modelo 432, UV de longitud de onda variable y g) ordenador COMPAQ Deskpro 286.

2.1.2. Soluciones para el ensayo de solubilidad.

Para llevar a cabo el ensayo de solubilidad son necesarias soluciones reguladoras a distintos valores de pH, así como soluciones de las rectas patrón empleadas para la valoración de las muestras.

2.1.2.1. Soluciones reguladoras.

a) Para el ensayo de solubilidad.

Se han preparado 9 soluciones reguladoras a distintos pH, que oscilan 0.5 unidades de un valor al siguiente, desde pH 5 a pH 9. Es decir, los pH ensayados son: 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 y 9.0. Todas ellas se han preparado con una fuerza iónica constante de $\mu = 0.15$ (1). Para ello se ha calculado, previamente, la fuerza iónica de cada solución y, en caso de ser necesario, se ha añadido la cantidad de NaCl necesaria para obtener dicho valor. En el Cuadro I, se consignan los volúmenes de las distintas soluciones amortiguadoras utilizadas (KH_2PO_4 0.0666 M y Na_2HPO_4 0.0666 M) para obtener las soluciones reguladoras a los pH comprendidos entre 5 y 7.5. Para obtener las soluciones reguladoras a los pH comprendidos entre 8 y 9, los volúmenes de la solución amortiguadora utilizada ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.025 M), se exponen en el Cuadro II. En ambos Cuadros se consignan también los gramos de NaCl utilizados en cada caso para mantener la fuerza iónica constante. Finalmente se deberá hacer un ajuste del pH, en los casos que se requiera, con NaOH o H_3PO_4 .

pH	KH_2PO_4 (ml)	Na_2HPO_4 (ml)	NaCl (g)
5.0	98.80	1.20	0.48
5.5	95.75	4.25	0.46
6.0	87.70	12.30	0.41
6.5	67.95	32.05	0.30
7.0	39.20	60.80	0.13
7.5	16.40	83.60	----

CUADRO I

Valores de los volúmenes utilizados de las soluciones amortiguadoras para preparar 100 ml de las soluciones reguladoras a los pH que se reseñan. Se indican también los gramos de NaCl para 100 ml de dicha solución, empleados para mantener la fuerza iónica constante.

pH	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (ml)	HCl 0.1N (ml)	H_2O (ml)	NaCl (g)
8.0	50	20.5	29.5	0.574
8.5	50	15.2	34.8	0.605
9.0	50	4.6	45.4	0.667

CUADRO II

Volúmenes utilizados de la solución amortiguadora de bórax, de HCl 0.1N y de agua para preparar 100 ml de las soluciones reguladoras a los pH que se reseñan. Se indican también los gramos de NaCl para 100 ml de solución empleados para mantener la fuerza iónica constante.

Las distintas soluciones empleadas para obtener las soluciones reguladoras a los valores de pH utilizados, se preparan como sigue:

Solución de fosfato monopotásico 0.0666 M:

Pesar 9.08 g de fosfato monopotásico y disolverlos en un litro de agua destilada.

Solución de fosfato disódico 0.0666 M:

Pesar 11.88 g de fosfato disódico dihidratado y disolverlos en un litro de agua destilada.

Solución de tetraborato sódico 0.025 M:

Pesar 9.53 g de tetraborato sódico decahidratado y disolverlos en un litro de agua destilada.

Se han empleado reactivos de la casa MERCK calidad reactivo para análisis.

b) Solución reguladora como fase móvil en cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE).

La solución reguladora empleada para la valoración de las muestras, consiste en una solución de KH_2PO_4 10mM conteniendo ácido heptanosulfónico, sal sódica al 0.0028% y ajustando el pH con ácido fosfórico a $\text{pH} = 2.4$.

c) Solución reguladora de $\text{pH} = 7.4$.

Su composición es la siguiente:

Fosfato disódico 11.75 g
Cloruro sódico 5.142 g
Agua destilada c.s.p. 1000 ml

Se ajusta el pH, en caso de ser necesario, con ácido fosfórico.

Esta solución se utiliza asimismo para la preparación de las soluciones de las rectas patrón.

2.1.2.2. Soluciones de las rectas patrón.

Para la valoración de las muestras por cromatografía líquida de alta eficacia, así como para la validación de la metodología analítica, se prepara una recta patrón de la quinolona que se ensaya a las concentraciones de 60 - 30 - 15 - 7.5 - 3.75 y 1.875 $\mu\text{g/ml}$ en solución reguladora de fosfatos a pH 7.4. En experiencias previas se ha concretado que este ámbito de valores incluye las concentraciones de trabajo, tanto en los ensayos de solubilidad como en la estimación de la constante de velocidad de absorción. Una vez pesada la quinolona y para garantizar su total disolución, previo a la adición de la solución reguladora, se añade 1 ml de NaOH 2N para un volumen de 50 ml y se lleva al baño de ultrasonidos. Posteriormente, se adiciona la solución reguladora hasta el enrase y se realizan las diluciones convenientes para obtener las concentraciones de 120 - 60 - 30 - 15 - 7.5 y 3.75 $\mu\text{g/ml}$. Posteriormente se adiciona un volumen igual al volumen de las soluciones preparadas anteriormente de solución del estándar interno de 30 $\mu\text{g/ml}$ a dichas soluciones, de manera que cada una de las soluciones patrón contienen al final 15 $\mu\text{g/ml}$ de dicho estándar interno.

La solución del estándar interno se prepara disolviendo 75 mg de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído en 25 ml de metanol y se enrasa hasta un volumen de 100 ml con solución reguladora de fosfatos de pH 7.4. A partir de esta solución madre se realiza una dilución de 1 ml en 25 ml de la solución de pH 7.4, quedando al final una solución de estándar interno a la concentración de 30 $\mu\text{g/ml}$. Como blanco se utiliza la solución reguladora de fosfatos pH = 7.4.

2.1.3. Metodología para la estimación de la solubilidad.

El ensayo de solubilidad consiste en preparar una serie de 6 tubos para cada pH de ensayo (un total de 54 tubos) a cada uno de los cuales se les añade una cantidad de quinolona (del orden de 12 mg) que asegure la sobresaturación de las soluciones. Previa comprobación del pH de las soluciones reguladoras, se añaden a cada tubo 3 ml de la solución reguladora correspondiente. Se cierran los tubos con tapón de rosca, se agitan con la ayuda del vórtex y se colocan en el baño termostatzado a 37°C y con agitación constante, durante 22 horas. Transcurrido dicho tiempo, se para la agitación del baño y se mide el pH con la ayuda del microelectrodo. En caso de ser necesario ajustar alguno de los pH, los tubos correspondientes se dejarían de nuevo en el baño durante 22 horas más (1). Posteriormente, se procede a la filtración de las muestras, mediante filtros (MILLIPORE) de nitrato de celulosa de 5.0 μm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro, a unos tubos termostatzados también a 37 °C a fin de que no precipite la sustancia por cambio de temperatura.

Para estimar la concentración de fluoroquinolona en la solución de cada uno de los pH ensayados, a fin de que los valores que se obtienen se sitúen dentro del ámbito de concentraciones de la recta de calibrado, se procede a preparar las soluciones pertinentes a partir de la solución problema filtrada. En todos los casos, el volumen de solución filtrada utilizada es de 0.1 ml, excepto para las fluoroquinolonas ITV 8919, 8804 y 9201 cuando se aplica el factor de dilución de 1.33, que es de 0.3 ml. Para ello, fuera del baño, y en tubos apropiados, se diluye un volumen de solución problema filtrada, previamente establecido, con volúmenes apropiados de la solución reguladora correspondiente a cada uno de los pH ensayados. Finalmente, se adiciona un volumen de solución de estándar interno de forma que la concentración final del mismo sea en todos los casos de 15 $\mu\text{g/ml}$.

En el Cuadro III, se concretan los valores inversos de los factores de dilución utilizados para cada fluoroquinolona y pH ensayado, correspondientes al cociente entre volumen de solución final a utilizar y volumen de la solución problema inicial.

Se procede finalmente a la valoración de la quinolona presente en la solución de cada tubo mediante la técnica analítica descrita en el epígrafe 2.1.3. y se estima la solubilidad de la misma a cada valor de pH considerado.

Q	pH								
	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
cip.	400	400	40	20	20	20	20	40	40
8902	40	40	20	20	20	20	40	40	80
enro	400	400	40	20	20	20	20	40	400
9203	200	200	40	40	20	20	40	80	80
8706	400	400	400	80	80	400	400	400	400
8919	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	20	20	20
8804	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	20	20	40	40
9201	1.33	1.33	1.33	10	10	20	20	40	40

Q = quinolona; cip. = ciprofloxacino; enro = enrofloxacin

CUADRO III

Valores correspondientes a los recíprocos de los factores de dilución empleados para cada fluoroquinolona ensayada en función del pH.

2.1.4. Metodología analítica.

En este epígrafe se describe, en primer lugar, la técnica y condiciones cromatográficas empleadas, y a continuación la validación de dicha metódica analítica.

2.1.4.1. Descripción.

Para la valoración de las muestras problema se ha utilizado en todos los casos una técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) de fase reversa. El equipo de cromatografía KONTRON empleado es el descrito en el epígrafe 2.1.1.2. correspondiente a aparatos de medida y auxiliares.

Las condiciones cromatográficas empleadas para la valoración de las soluciones han sido las siguientes:

- Columna: "Lichrocart", 125 x 4.5 mm
- Eluyente: Metanol:acetonitrilo (50:50)/KH₂PO₄ 10mM, conteniendo ácido heptanosulfónico, sal sódica al 0.0028% (pH = 2.4) en distintas proporciones según la quinolona ensayada (Cuadro IV)
- Flujo: 1ml/min
- Volumen de inyección: 20 µl
- Sensibilidad: 0.05
- Detección: 280 nm

Fluoroquinolona	FO/FA
Ciprofloxacino	40:60
ITV 8902	40:60
Enrofloxacin	40:60
ITV 9203	40:60
ITV 8706	40:60
ITV 8919	65:35
ITV 8804	50:50
ITV 9201	40:60

CUADRO IV

Proporciones de fase orgánica (FO) y fase acuosa (FA) del eluyente utilizado para valorar las fluoroquinolonas estudiadas.

2.1.4.2. Validación de la metódica.

Para la validación de la metódica analítica utilizada en la determinación de las fluoroquinolonas estudiadas en la presente Memoria, se han utilizado, de acuerdo con la bibliografía especializada (2,3), los siguientes criterios de fiabilidad: linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad.

Linealidad.

A partir de la relación lineal entre los valores de la respuesta analítica y los valores de la concentración correspondiente en cada caso, se ha determinado el valor del coeficiente de correlación de cada recta, estimándose el ámbito de valores de este parámetro.

El ámbito de las concentraciones utilizadas en cada serie de valoraciones, para cada uno de los estudios realizados en la presente Memoria (solubilidad, cálculo del coeficiente de reparto y cálculo de la constante de velocidad de absorción) se ha determinado mediante experiencias previas. Para el cálculo de la linealidad de la metodología analítica se ha utilizado el programa "Rectest" que permite obtener la desviación estándar de la ordenada en el origen, de la pendiente y la significación de la correlación.

Precisión.

Como parámetro representativo (4) se ha usado el coeficiente de variación porcentual (%cv), estimado del cociente entre la desviación estándar y el valor promedio para cada medida efectuada ($\%cv = D.E./m \cdot 100$).

Exactitud.

El parámetro representativo utilizado (5) ha sido el error relativo porcentual (%ε) calculado del cociente de la diferencia entre el valor teórico y el experimental y el valor teórico ($\%ε = (V_t - V_e)/V_t \cdot 100$).

Sensibilidad.

Para este parámetro se han utilizado dos tipos de sensibilidad:

a) Sensibilidad de calibrado.

Según INGLE (6), la sensibilidad de calibrado o simplemente sensibilidad, se define como el coeficiente diferencial de la función de calibrado (coeficiente

diferencial de la señal de medida y el valor de la propiedad a medir). Dicho de otra forma, la sensibilidad es la pendiente de la curva de calibrado a la concentración que interese. Cuando la función de calibrado es lineal, la sensibilidad será constante e igual a la pendiente de la recta de calibrado. Cuanto más alta sea la pendiente, más sensibilidad tiene el método; en este caso, la representación gráfica de la recta de calibrado ilustra acerca de este parámetro.



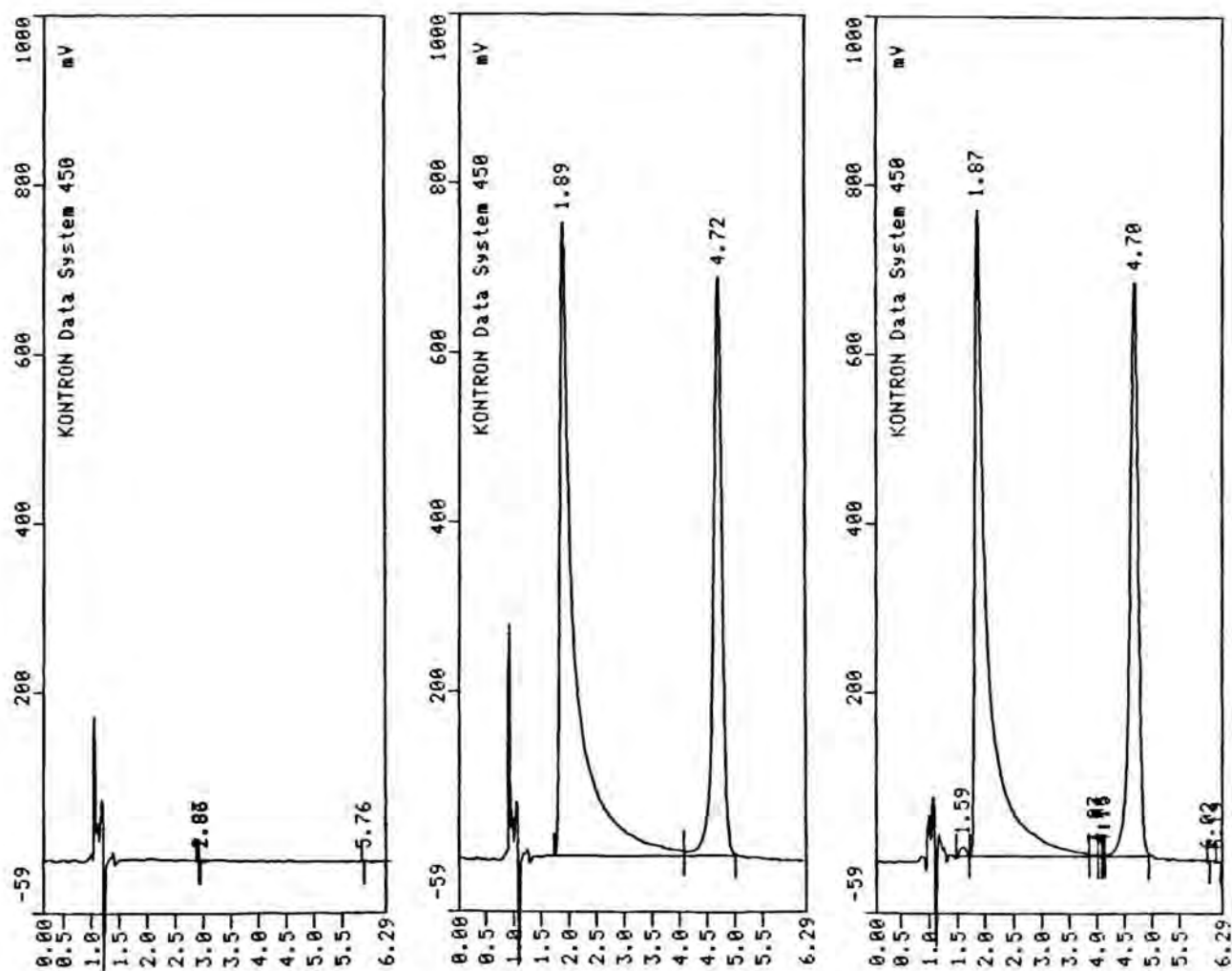
b) Sensibilidad analítica.

Se define como sensibilidad analítica a la pendiente de la curva analítica de calibrado dividida por la desviación estándar de la señal analítica de la medida. Es inversamente proporcional a la capacidad para distinguir pequeñas diferencias en la concentración de medida.

La sensibilidad analítica presenta ventajas respecto a la sensibilidad de calibrado, debido a que proporciona un mejor criterio para la comparación de técnicas analíticas y, además, es independiente de las transformaciones matemáticas que se realicen.

Para la validación de la metodología analítica, se han realizado en cada caso cinco replicados y se han considerado validaciones interdía e intradía; es decir, tanto si las valoraciones se han realizado el mismo día de la experiencia, como si se realizaron en días distintos.

Un cromatograma correspondiente a la quinolona ITV 8902 se presente en la Figura 2.



Cromatogramas tipo correspondientes a:

- Solución muestra blanco.
- Solución patrón de ITV 8902 ($15 \mu\text{g/ml}$) y estándar interno ($15 \mu\text{g/ml}$).
- Solución de una muestra problema correspondiente al ensayo de solubilidad (pH 5.5).

FIGURA 2

2.2. ESTIMACION DEL pK_a .

De acuerdo con los objetivos de la presente Memoria, expuestos en el epígrafe correspondiente, el cálculo de los valores de pK_a de las fluoroquinolonas estudiadas se ha realizado mediante el método de la solubilidad. Los epígrafes de la estimación de la solubilidad correspondientes al material utilizado, soluciones empleadas y al ensayo de disolución son aplicables también para la estimación de los valores de pK_a . La metodología seguida puede dividirse en dos apartados: estimación de la constante de ionización de las fluoroquinolonas cuya estructura química comporta la existencia de un único pK_a , y la estimación de la constante de ionización de las fluoroquinolonas con dos valores de pK_a , que corresponde a los derivados piperidínicos.

2.2.1. Fluoroquinolonas que presentan un único valor de pK_a .

Se trata de los derivados morfolínicos, tiomorfolínicos y piperacínicos.

Ecuaciones básicas:

La solubilidad de sustancias de carácter ácido que sólo poseen un pK_a viene dada por la siguiente ecuación:

$$S = [AH] + [A^-] \quad (Ec. 1)$$

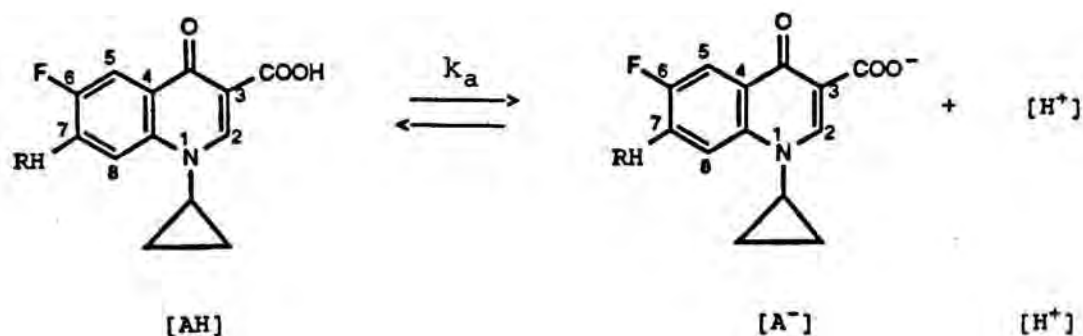
en la que:

S = solubilidad de la sustancia.

$[AH]$ = concentración de la fracción de sustancia no ionizada.

$[A^-]$ = concentración de la fracción de sustancia ionizada.

Una fluoroquinolona de carácter ácido se ioniza de acuerdo con la siguiente reacción de equilibrio:



y cuya ecuación representativa del proceso es:



A partir de la ecuación 2 se deduce el valor de la constante de ionización k_a , cuya expresión matemática es:

$$k_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \quad (Ec. 3)$$

Teniendo en cuenta que la solubilidad intrínseca (S_0) corresponde a la concentración de fármaco en forma no ionizada ($[AH]$) y reordenando la ecuación 3, se obtiene:

$$\frac{k_a}{[H^+]} = \frac{[A^-]}{S_0} \quad (Ec. 4)$$

Si se considera que: $[A^-] = S - S_0$, siendo S la solubilidad del fármaco a saturación, la ecuación 4 puede escribirse:

$$\frac{k_a}{[H^+]} = \frac{S - S_0}{S_0} \quad (Ec. 5)$$

de donde:

$$k_a = [H^+] * \frac{S - S_0}{S_0} \quad (Ec. 6)$$

Tomando logaritmos se obtiene:

$$\log k_a = \log [H^+] + \log \frac{S - S_0}{S_0}$$

o lo que es lo mismo:

$$-pk_a = -pH + \log \frac{S - S_0}{S_0} ,$$

es decir:

$$pH - pk_a = \log \frac{S - S_0}{S_0} ,$$

de donde:

$$\frac{S - S_0}{S_0} = 10^{(pH - pk_a)} \quad (EC. 7) ,$$

operando en la ecuación 7, queda:

$$S - S_0 = S_0 * 10^{(pH - pk_a)} \quad (EC. 8) ,$$

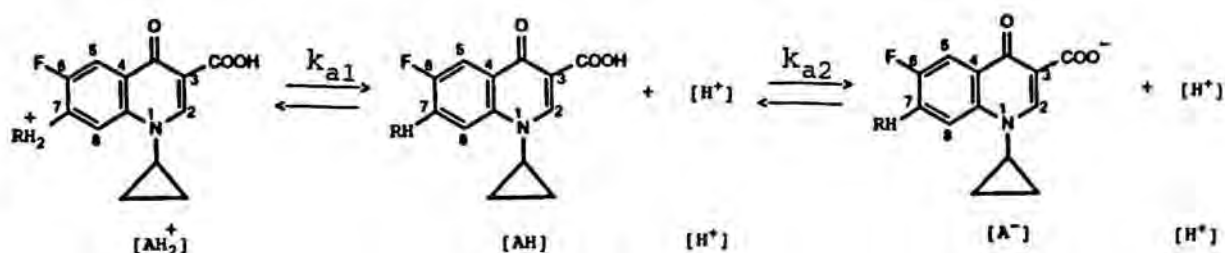
despejando el valor de S:

$$S = S_0 * 10^{(pH - pk_a)} + S_0 \quad (EC. 9) \quad (7)$$

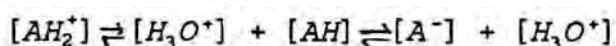
Conocidos los valores de la solubilidad del fármaco a distintos valores de pH, mediante la ecuación 9 puede estimarse el valor de pk_a y S_0 por regresión no lineal simple. Para ello se ha realizado el ajustado no-lineal por mínimos cuadrados con el programa MULTI (8) implementado en un ordenador IBM PC. Dado que los valores de solubilidad de los fármacos ensayados a los distintos valores de pH considerados presentan valores cuyos extremos difieren en más de un orden de magnitud, se ha ponderado, en todos los casos, por el inverso de la concentración al cuadrado ($1/c^2$), a fin de que al realizar el ajustado por mínimos cuadrados el peso de los datos experimentales en la regresión sea uniforme.

2.2.2. Fluoroquinolonas con dos valores de pK_a .

Cuando se trata de sustancias anfóteras, como es el caso de las fluoroquinolonas que poseen un radical piperidínico, la reacción de equilibrio es la siguiente:



y la ecuación representativa del proceso:



La solubilidad de estas sustancias, si sólo se hallan presentes las especies ionizadas y la anfótera, $[AH_2^+]$, $[AH]$ y $[A^-]$, viene dada por la siguiente ecuación:

$$S = [AH_2^+] + [AH] + [A^-] \quad (\text{Ec. 10})$$

Teniendo en cuenta la definición de las constantes aparentes de acidez, k_1 y k_2 , se puede escribir:

$$k_1 = \frac{[AH][H_3O^+]}{[AH_2^+]} \quad (Ec. 11)$$

$$k_2 = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[AH]} \quad (Ec. 12)$$

de donde:

$$[AH_2^+] = \frac{[AH][H_3O^+]}{k_1} \quad (Ec. 13)$$

$$[A^-] = \frac{k_2[AH]}{[H_3O^+]} \quad (Ec. 14)$$

Sustituyendo los valores de $[AH_2^+]$ y $[A^-]$ obtenidos en las ecuaciones 13 y 14 en la ecuación 10 se obtiene:

$$S = \frac{[AH][H_3O^+]}{k_1} + [AH] + \frac{k_2[AH]}{[H_3O^+]} = [AH] * \left[\frac{[H_3O^+]}{k_1} + 1 + \frac{k_2}{[H_3O^+]} \right]$$

de donde:

$$S = S_0 * \left[1 + \frac{[H_3O^+]}{k_1} + \frac{k_2}{[H_3O^+]} \right] \quad (Ec. 15)$$

en la que S_0 es la solubilidad intrínseca de la especie $[AH]$.

En el punto de la mínima solubilidad (punto isoeléctrico) se cumple que: $dS/d[H_3O^+] = 0$, ya que la condición para que en una función aparezca un mínimo es que la primera derivada sea igual a cero. Luego, teniendo en cuenta que:

$$\frac{d}{dx}(ax^n) = anx^{n-1}$$

y que la derivada de 1 es igual a cero, considerando la ecuación 15 como:

$$S = S_0 * [1 + \frac{1}{k_1} [H_3O^+] + k_2 [H_3O^+]^{-1}]$$

la derivada de la misma es:

$$\frac{dS}{d[H_3O^+]} = S_0 * [\frac{1}{k_1} - k_2 [H_3O^+]^{-2}] = S_0 * [\frac{1}{k_1} - \frac{k_2}{[H_3O^+]^2}]$$

de donde, si:

$$\frac{1}{k_1} - \frac{k_2}{[H_3O^+]^2} = 0$$

$$\frac{1}{k_1} = \frac{k_2}{[H_3O^+]^2} \quad ; \quad [H_3O^+]^2 = k_1 * k_2$$

es decir, la derivada de $[H_3O^+]$ vale:

$$[H_3O^+]' = \sqrt[2]{k_1 * k_2} \quad (Ec. 16) ;$$

en este caso $[H_3O^+]'$ es la concentración de hidrogeniones cuando la solubilidad es mínima, de donde, $\log 1/[H_3O^+]' = pH'$ del punto isoeléctrico.

Transformación coseno-hiperbólica (9):

Desde un punto de vista algebraico, se puede escribir:

$$k_1 = \sqrt{k_1^2} = \sqrt{k_1 * k_1} = \sqrt{k_1 * k_1 * \frac{k_2}{k_2}} = \sqrt{k_1 * k_2} * \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} \quad (Ec. 17)$$

$$k_2 = \sqrt{k_2^2} = \sqrt{k_2 * k_2} = \sqrt{k_2 * k_2 * \frac{k_1}{k_1}} = \sqrt{k_1 * k_2} * \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \quad (Ec. 18)$$

Sustituyendo los valores obtenidos para k_1 y k_2 en las ecuaciones 17 y 18 en la ecuación 15, se obtiene:

$$S = S_0 * [1 + \frac{[H_3O^+]}{\sqrt{k_1 * k_2}} * \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \frac{\sqrt{k_1 * k_2}}{[H_3O^+]}]$$

$$S = S_0 * [1 + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * [\frac{[H_3O^+]}{\sqrt{k_1 * k_2}} + \frac{\sqrt{k_1 * k_2}}{[H_3O^+]}]] \quad (Ec. 19)$$

Si la concentración de hidrogeniones en el punto isoeléctrico es $[H_3O^+]'$ se cumple la ecuación 16 y,

sustituyendo el valor de $[H_3O^+]$ ' obtenido en esta ecuación en la ecuación 19, se obtiene:

$$S = S_0 * [1 + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * [\frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]'} + \frac{[H_3O^+]' }{[H_3O^+]}]] \quad (Ec. 20)$$

Si se considera como ΔpH , la diferencia entre el pH correspondiente a la mínima solubilidad de la sustancia (pH') y el correspondiente a la solubilidad al pH considerado, se puede escribir:

$$pH = pH' - pH = -\log [H_3O^+]' + \log [H_3O^+]$$

$$pH = \log \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]'} = \frac{1}{2.303} * \ln \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]}$$

de donde:

$$2.303 * pH = \ln \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]'} \quad (Ec. 21)$$

Teniendo en cuenta la ecuación 21 y que: $x = e^{\ln x}$, puede escribirse:

$$\frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]'} = e^{\ln \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]'}} = e^{2.303 * pH} \quad (Ec. 22)$$

$$\frac{[H_3O^+]' }{[H_3O^+]} = e^{\ln \frac{[H_3O^+]' }{[H_3O^+]}} = e^{-2.303 * pH} \quad (Ec. 23)$$

Sustituyendo los valores obtenidos para $[H_3O^+]/[H_3O^+]'$ y $[H_3O^+]'/[H_3O^+]$ en las ecuaciones 22 y 23 en la ecuación 20, se obtiene:

$$S = S_0 * [1 + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * [e^{2.303 * pH} + e^{-2.303 * pH}]] \quad (Ec. 24)$$

Teniendo en cuenta la definición de coseno hiperbólico:

$$\cosh x = \frac{e^x + e^{-x}}{2} ,$$

la ecuación 24, puede escribirse:

$$S = S_0 * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \cosh (2.303 * pH)] \quad (Ec. 25)$$

Transformación bilogarítmica (9):

Tomando como base experimental la solubilidad de la sustancia a distintos pH y, como base teórica, lo expuesto anteriormente, un método para el cálculo del pK_a de las sustancias anfóteras es la transformación bilogarítmica, que presenta ventajas frente a otros métodos (espectrofotométrico, potenciométrico,

volumétrico, etc.) en cuanto a la exactitud de cálculo para fármacos poco solubles, puesto que posibilita la utilización de todos los datos experimentales de que se dispone para la estimación de la solubilidad y del error de dicho parámetro.

Si se considera el punto de solubilidad mínima (S'), en el que se cumple que: $pH = pH'$, es decir, $\Delta pH = pH' - pH = 0$, la ecuación 25, se transforma en :

$$S' = S_0 * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \cosh 0] = S_0 * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \frac{(e^0 + e^{-0})}{2}]$$

$$S = S_0 * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \frac{2}{2}] = S_0 * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}] \quad (Ec. 26)$$

De la ecuación 26 se deduce:

$$S_0 = \frac{S'}{1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}} \quad (Ec. 27)$$

Sustituyendo el valor de S_0 obtenido en la ecuación 27 en la ecuación 25, se obtiene:

$$S = \frac{S'}{1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}} * [1 + 2\sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \cosh (2.303 * pH)]$$

$$S + 2S \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} = S' + 2S' \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \cosh (2.303 * pH)$$

$$S - S' = 2S' \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * \cosh (2.303 * pH) - 2S \sqrt{\frac{k_2}{k_1}}$$

$$S - S' = 2 \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} * [S' * \cosh (2.303 * pH) - S]$$

$$\frac{1}{\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}} = 2 * \frac{S' * \cosh (2.303 * pH) - S}{S - S'}$$

dividiendo por S' numerador y denominador del segundo miembro, se obtiene:

$$\frac{1}{\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}} = 2 * \frac{\frac{S' * \cosh (2.303 * pH)}{S'} - \frac{S}{S'}}{\frac{S - S'}{S'}}$$

$$\sqrt{\frac{k_1}{k_2}} = 2 * \frac{\cosh (2.303 * pH) - \frac{S}{S'}}{\frac{S}{S'} - 1} \quad (Ec. 28)$$

Tomando logaritmos decimales en la ecuación 28, se obtiene:

$$\log \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} = \log 2 + \log \left[\cosh (2.303 * pH) - \frac{S}{S'} \right] - \log \left(\frac{S}{S'} - 1 \right)$$

$$\log \left(\frac{S}{S'} - 1 \right) - \log 2 = -\log \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} + \log \left[\cosh (2.303 * pH) \right]$$

$$\log \left(\frac{S}{S'} - 1 \right) - \log 2 = \log \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} + \log \left[\cosh (2.303 * pH) \right]$$

(Ec. 29)

La ecuación 29, es la ecuación de una recta $y = a + bx$ en la que:

$$y = \log [S/S' - 1] - \log 2$$

$$x = \log [\cosh (2.303 * pH) - S/S']$$

$$b = 1$$

$$a = \log \sqrt{k_2/k_1}$$

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, el valor de la pendiente de la recta ha de ser igual a la unidad. Este hecho surge tras la transformación bilogarítmica, base del método encaminado al cálculo de pk_a , según los principios fisicoquímicos del fenómeno de ionización de las sustancias anfóteras. Por este motivo, se realiza el ajustado lineal por mínimos cuadrados de la ecuación 29 a los datos experimentales solubilidad/pH de

acuerdo con dicha transformación, y si el valor de la pendiente no es igual a la unidad o muy próximo a ella, deberá repetirse el ajustado variando el valor de S' y dejando fijo el de pH' (parámetros iniciales) hasta lograr que el valor de la pendiente se acerque al máximo posible a la unidad. En esta situación, los valores de pK_a se obtienen bajo condiciones de simetría de solubilidad frente al pH , en el caso de sustancias anfóteras y prueba la validez de los equilibrios químicos asumidos en la ionización de dichas sustancias; en otras palabras, por aplicación de este método la determinación de la solubilidad frente al pH se caracteriza sólo por las reacciones químicas asumidas.

A partir de la regresión lineal entre las solubilidades de las sustancias y los pH , conocidos la solubilidad mínima S' y el valor de pH que se iguala a pH' , se calcula el valor de los valores de pK_a a partir del valor de la ordenada en el origen de la recta ($a = \log k_2/k_1$).

A partir de las ecuaciones 11 y 12, se obtiene:

$$\log k_1 = \log [H_3O^+] + \log \frac{[AH]}{[AH_2^+]},$$

multiplicando por -1, se obtiene:

$$-\log k_1 = -\log [H_3O^+] + \log \frac{[AH_2^+]}{[AH]} \quad (Ec. 30)$$

Por otra parte, dividiendo la ecuación 12 por la ecuación 11, se obtiene:

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{[A^-] [AH_2^+]}{[AH]^2} ;$$

en el punto de mínima solubilidad se cumple que: $[A^-] = [AH_2^+]$; luego:

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{[AH_2^+]^2}{[AH]^2} = \left(\frac{[AH_2^+]}{[AH]} \right)^2 ;$$

de donde:

$$\frac{[AH_2^+]}{[AH]} = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \quad (Ec. 31)$$

Sustituyendo el valor de $[AH_2^+]/[AH]$ obtenido en la ecuación 31, en la 30, se obtiene:

$$pk_1 = pH' + \log \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \quad (Ec. 32) ;$$

en este caso $[H_3O^+]$ es $[H_3O^+]'$ debido a la consideración asumida anteriormente. Basándose en las mismas consideraciones, puede calcularse, a partir de la ordenada en el origen de la regresión lineal por mínimos cuadrados, por aplicación de la ecuación 29, el valor de pk_2 .

En efecto:

$$k_2 = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[AH]} ;$$

$$\log k_2 = \log [H_3O^+] + \log \frac{[A^-]}{[AH]} ;$$

multiplicando por -1:

$$-\log k_2 = -\log [H_3O^+] - \log \frac{[A^-]}{[AH]} ;$$

sustituyendo $[A^-]/[AH]$ por su valor cuando se considera el punto de mínima solubilidad, se obtiene:

$$pk_2 = pH' - \log \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \quad (Ec. 33) ;$$

Conocidos los valores k_2/k_1 y de S' a partir de la ecuación 27, se calcula el valor de la solubilidad intrínseca de la sustancia (S_0).

La regresión lineal entre los datos experimentales solubilidad/pH, por mínimos cuadrados mediante la ecuación 29, que permite obtener los valores pk_{a1} y pk_{a2} , se ha realizado mediante el programa propuesto por ASUERO implementado en un ordenador IBM PC. Para ello es necesario conocer previamente los valores de S' y pH' , es decir, las estimas iniciales para cebar el programa. Con este fin se ha utilizado el programa GRAPHPAD. La metodología requiere la transformación

logarítmica de las solubilidades y el ajustado de un polinomio de segundo grado, $y = ax^2 + cx + e$ (Ec. 34) en el que:

$y = \log S$ y $x = \text{pH}$ de los datos experimentales.

Conocida la ecuación de la función polinómica, para calcular el valor del pH en el que se produce la solubilidad mínima (pH') debe calcularse la primera derivada de la función polinómica e igualarla a cero, para obtener el mínimo correspondiente.

$$y = ax^2 + cx + e \quad (\text{Ec. 35})$$

$$y' = 2ax + c; \quad 2ax + c = 0; \quad \text{o sea:}$$

$$x = -c/2a; \quad \text{es decir:} \quad \text{pH}' = -c/2a \quad (\text{Ec. 36})$$

Conocido pH' , sustituyendo su valor en la ecuación 34, se obtiene el valor de la mínima solubilidad S' , tomando el antilogaritmo del valor obtenido en la misma.

En definitiva, mediante el programa GRAPHPAD se han obtenido los valores iniciales de S' y pH' que permiten cebar el programa para el cálculo de los valores de pk_a de las fluoroquinolonas anfóteras.

2.3. ESTIMACION DEL COEFICIENTE DE REPARTO.

En este apartado se describe el material utilizado, las soluciones necesarias y la metodología seguida para la estimación del coeficiente de reparto.

2.3.1. Material utilizado.

El trabajo experimental para la estimación del coeficiente de reparto requiere material usual de laboratorio y aparatos de medida y auxiliares.

2.3.1.1. Material de laboratorio.

La técnica utilizada en la presente Memoria para la determinación del coeficiente de reparto requiere el material usual descrito ya en el epígrafe 2.1.1.1., además de una serie de tubos de aproximadamente 10 ml de capacidad con tapón de rosca y de embudos de decantación de 100 ml para separar la fase orgánica de la fase acuosa, una vez saturadas ambas.

2.3.1.2. Aparatos de medida y auxiliares.

Además de los aparatos mencionados en el epígrafe 2.1.1.2., correspondiente al ensayo de solubilidad, se ha usado:

- 1.- Un agitador de tubos SBS N°52/31/90/1, para mantener en agitación constante durante 24 h los tubos que se someten a ensayo.
- 2.- Centrífuga SELECTA N° 34934 para la separación de las dos fases, tras la agitación de los tubos durante 24 h.

2.3.2. Soluciones para ensayo.

Las soluciones necesarias para llevar a cabo la determinación del coeficiente de reparto han sido:

solución reguladora de fosfatos de $\text{pH} = 7.4$ y las soluciones correspondientes a la recta patrón descritas ya en los epígrafes 2.1.2.1. y 2.1.2.2., respectivamente.

2.3.3. Metodología para la estimación del coeficiente de reparto.

Para la determinación del coeficiente de reparto de las fluoroquinolonas sometidas a estudio, se ha utilizado el método del frasco (10).

El coeficiente de reparto de las fluoroquinolonas estudiadas en la presente Memoria se ha calculado utilizando octanol como fase orgánica y solución amortiguadora a $\text{pH} = 7.4$ como fase acuosa. Para ello se ha saturado previamente la fase orgánica con la fase acuosa y la fase acuosa con la fase orgánica. La estimación del coeficiente de reparto se ha realizado a temperatura ambiente. Para el cálculo de los volúmenes a utilizar de cada fase se procedió como sigue:

- a) Se prepara una solución de fluoroquinolona a $\text{pH} = 7.4$ con una concentración comprendida entre 50 y 60 $\mu\text{g/ml}$.
- b) Se depositan en tubos de cristal con tapón de rosca de aproximadamente 10 ml de capacidad distintos volúmenes de la solución acuosa de fluoroquinolona. Se adicionan a cada tubo diferentes volúmenes de octanol y, después de mantener en agitación el sistema 24 horas y previa centrifugación a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, se determina la concentración de fluoroquinolona en la fase acuosa por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE). La proporción de fases a utilizar en cada caso es aquella

en la que la concentración de fármaco en la fase acuosa tras la experiencia, resulta igual a la mitad de la concentración inicial en dicha fase.

En nuestras condiciones experimentales, se ha seguido esta metodología para las determinaciones analíticas por CLAE, en lo que a la integración del área cromatográfica se refiere.

Conocida la proporción de fases a utilizar en cada caso, expuesta en el Cuadro V, se ha procedido al cálculo del coeficiente de reparto de los fármacos ensayados, depositando las fases correspondientes en los tubos de vidrio utilizados para este fin, manteniéndolos en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente y posterior centrifugación, determinando la concentración de fluoroquinolona en la fase acuosa antes y después de la experiencia. Se han realizado seis replicados para cada fluoroquinolona.

El cálculo del coeficiente de reparto se ha realizado por aplicación directa de la siguiente ecuación:

$$P = \frac{A_0 - A_1}{A_1} * \frac{V_a}{V_0} \quad (EC.37)$$

en la que:

P = coeficiente de reparto.

A₀ = concentración de fármaco en la fase acuosa antes de iniciar la experiencia.

A₁ = concentración de fármaco en la fase acuosa al finalizar la experiencia.

V_a = volumen de fase acuosa.

V_o = volumen de fase orgánica.

El octanol utilizado ha sido de la firma CARLO ERBA reactivo RPE.

FLUOROQUINOLONA	FO	FA
Ciprofloxacino	6	1
ITV 8902	5	5
Enrofloxacin	3	3
ITV 9203	1	5
ITV 8706	3	3
ITV 8919	1	10
ITV 8804	2	3
ITV 9201	2	3

CUADRO V

Proporciones de fase orgánica (FO) y acuosa (FA), utilizadas para la determinación del coeficiente de reparto de las fluoroquinolonas.

2.3.4. Metodología analítica.

La metodología analítica utilizada para la determinación del coeficiente de reparto es la misma que la descrita en el epígrafe 2.1.4.

2.4. ESTIMACION DEL FACTOR DE CAPACIDAD CROMATOGRAFICO. (k').

La estimación del factor de capacidad cromatográfico se ha realizado por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) en fase reversa, empleando para ello la técnica del par iónico. El cálculo del factor de capacidad cromatográfico k' , se ha realizado por aplicación directa de la siguiente ecuación:

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad (EC. 38)$$

en la que:

t_0 = tiempo de retención de una sustancia patrón que teóricamente no sufre retención alguna en la columna.

t_r = tiempo de retención de la sustancia a ensayar.

Las condiciones analíticas fueron las siguientes: la fase móvil isocrática estaba compuesta por 50% de metanol, 50% de agua, 25.5 mM de fosfato potásico monobásico, 1 mM de heptanosulfonato sódico, con el pH ajustado a 2.75 con ácido fosfórico 85%. El flujo fue de 1 ml/min. La absorbancia se monitorizó a 270 nm.

Las soluciones de trabajo de las distintas fluoroquinolonas se prepararon de la siguiente manera: aproximadamente 0.3 mM de cada fluoroquinolona se disolvieron en 10 ml de hidróxido sódico 0.1 M. Se añadieron 10 ml de metanol y se llevó a volumen hasta 100 ml. Se tomó una parte alícuota de 1 ml y se ajustó a 50 ml con agua. Para hallar el valor de t_0 se utilizó como sustancia patrón una solución de 0.3 mM de dicromato potásico.

2.5. ESTIMACION DE PARAMETROS TEORICOS (ESTRUCTURALES Y ELECTRONICOS).

El cálculo teórico de estos parámetros se ha realizado mediante la utilización de distintos programas, siguiendo la metodología que se detalla a continuación:

Cálculo de los descriptores electrónicos.

Las cargas netas asociadas a cada átomo de las moléculas así como los valores del momento dipolar y las energías de los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO, se calcularon utilizando el método semiempírico AM1 (11), una vez optimizada la geometría molecular. Estos cálculos se llevaron a cabo en un IBM 3090-170 en el Area de Fisicoquímica de la Facultad de Química de Tarragona.

Cálculo de los descriptores estéricos.

La superficie y el volumen molecular se calcularon con el programa MOLSV (12) en una versión para PC y compatible adaptada por K.J. Tupper de la Universidad de Indiana del programa creado por Graham H. Smith. Las coordenadas cartesianas introducidas en el programa correspondieron a las estructuras con la geometría optimizada a partir de los datos obtenidos en los cálculos con el método semiempírico AM1.

Cálculo de los descriptores topológicos.

Los índices de conectividad molecular de orden ix^i se calcularon con el programa INDICES (13) y los índices de conectividad molecular de valencia de orden

iX^{IV} se calcularon con el programa CONIND (13) ambos implantados en un PC/AT compatible.

2.6. ESTIMACION DE LA CONSTANTE DE VELOCIDAD DE ABSORCION

k_{abs} .

De forma análoga a los epígrafes anteriores, este apartado se divide en varios subepígrafes del siguiente modo:

2.6.1. Material utilizado.

Para llevar a cabo el trabajo experimental de los ensayos de absorción, se requiere material usual en cualquier laboratorio de Farmacología, y un material más específico y de aparatos de medida y auxiliares.

2.6.1.1. Material usual.

- 1.- Pieza base de acero inoxidable.
- 2.- Soportes con pinzas para la sujeción de jeringas.
- 3.- Pinzas para sujeción del animal.
- 4.- Tijeras grandes rectas de punta roma y tijeras pequeñas rectas de punta ligeramente redondeada.
- 5.- Pinzas grandes en diente de ratón y pinzas pequeñas de punta lisa.
- 6.- Hilo resistente de seda o algodón para la sujeción del intestino a las cánulas.
- 7.- Jeringuillas desechables de 1 ml con aguja cono luer 0.8x40 mm, para la toma de muestras desde el reservorio.

- 8.- Algodón hidrófilo arrollado.
- 9.- Cronómetro para el control del tiempo durante la experiencia.
- 10.- Probeta graduada de 50 ml tipo A para reservorio de la solución a perfundir.
- 11.- Matraces aforados de 100 ml.
- 12.- Tubos desechables de plástico para la recogida de las muestras.
- 14.- Pipetas automáticas (PIPETMAN, GILSON) de volumen regulable de 1-100 μ l y de 1-5 ml de capacidad. Puntas correspondientes.
- 15.- Cápsula de porcelana para la recogida de los líquidos de lavado en la preparación biológica.
- 16.- Filtros de nylon MILLIPORE de 13mm y 0.45 μ m de diámetro de poro para filtrar las muestras.
- 17.- Vasos de precipitados para la preparación de las soluciones reguladoras.
- 18.- Viales para CLAE, de 1 ml de capacidad, tapones y septums (TEKNOKROMA).
- 19.- Viales para CLAE, de 300 μ l de capacidad (TEKNOKROMA).
- 20.- Soportes de teflón para los mismos.
- 21.- Núcleos magnéticos para la agitación de soluciones.

2.6.1.2. Material especial.

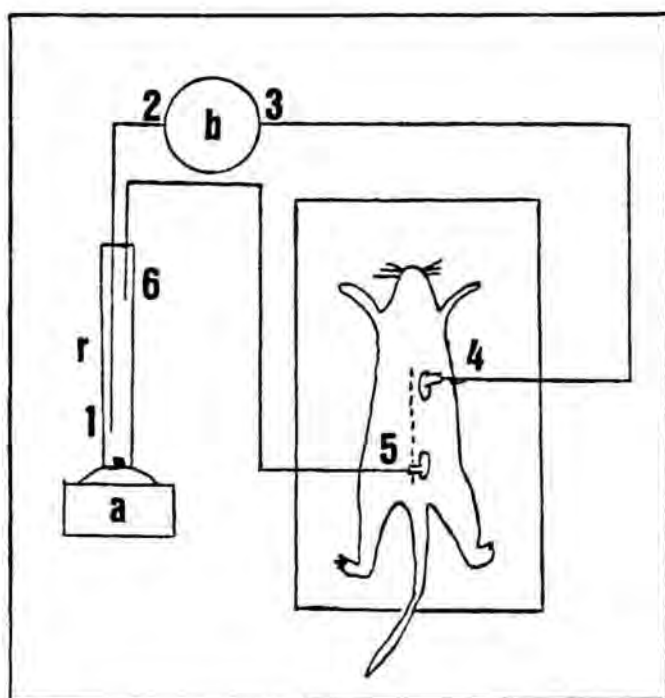
- 1.- Dos cánulas preparadas a partir de un tubo de vidrio de 5 mm de diámetro externo, modeladas al fuego en forma de L. La longitud del brazo vertical debe ser aproximadamente de 5 cm y la del brazo horizontal de 3 cm. El primero de ellos se une a un tubo de polietileno para su adaptación a las llaves de paso y en el segundo se practica una escotadura para que la ligadura con hilo

de seda o algodón, se realice con seguridad al intestino y éste no resbale sobre la cánula. El borde de la cánula debe estar bien pulido y no ser cortante, puesto que podría producir heridas en su roce con las paredes del intestino.

2.- Una jeringa especial con cono metálico adaptable a una llave de tres pasos, de 30 ml de capacidad ("Multifit", BD, Luer-Lock). La jeringa se ha utilizado para las operaciones de lavado del intestino.

3.- Una llave de tres pasos "tipo Stopcock" (BD-MS-3035) adaptable a la jeringa anteriormente citada. Variando la posición de la llave se obtienen las siguientes conexiones: exterior/jeringa, exterior/lumen y jeringa/lumen. La parte inferior de la llave, mediante presión o giro, debe encajar con el tubo de polietileno de la cánula.

4.- Tubo de polietileno de 3 mm de diámetro interno y 5 mm del externo, para la circulación de la solución a perfundir. Se realiza un circuito, de acuerdo con el esquema que se representa en la Figura 3, que sigue la trayectoria siguiente: reservorio, bomba de perfusión, intestino delgado de la rata y vuelta al reservorio.



Esquema del sistema de perfusión.

(a) agitador; (r) reservorio; (b) bomba peristáltica.

Distancias: de 1 a 2 60 cm; de 3 a 4 33 cm; de 5 a 6 30 cm.

FIGURA 3

2.6.1.3. Aparatos de medida y auxiliares.

- 1.- Balanza de precisión monoplato SARTORIUS, para la pesada de sustancias.
- 2.- Balanza de hasta 2 kg para el pesaje de las ratas.
- 3.- Agitador magnético ASINCRO.
- 4.- Baño de ultrasonidos SELECTA.
- 6.- Medidor de pH (CRISON, microPH 2001), para el ajuste de las soluciones a los pH ensayados y para control de las variaciones de pH de la solución durante la experiencia (para este último caso se utiliza el electrodo INGOLD de 3 mm de diámetro mencionado en el epígrafe 2.1.1.2.)
- 7.- Vórtex DINCRO para la agitación de tubos.

- 8.- Ordenador personal IBM PC para el tratamiento de los datos experimentales.
- 9.- Cromatógrafo líquido de alta eficacia (CLAE) de la firma KONTRON (ver epígrafe 2.1.1.2.).
- 10.-Bomba de perfusión: PERISTALTIC PUMP P-3 (Farmacia Fine Chemicals) y MINIPULS 3, GILSON para el bombeo de la solución a través del circuito de perfusión.

2.6.2. Soluciones para el ensayo.

En este epígrafe se consideran las soluciones de anestesia, lavado intestinal y soluciones de fluoroquinolona.

2.6.2.1. Solución inyectable para anestesia.

Se prepara una solución al 25% p/v de etiluretano en agua destilada, que se administra intraperitonealmente a la dosis de 0.4 ml por cada 100 g de peso del animal.

2.6.2.2. Solución de lavado intestinal.

El objeto de esta solución es limpiar el intestino de restos de materia fecal antes de proceder al ensayo de absorción. Para ello se prepara una solución reguladora de fosfatos a pH = 7.4 e isotónica con el plasma. Su composición es la que se describe en el epígrafe 2.1.2.1.

Esta solución se utiliza asimismo para la preparación de las soluciones de las fluoroquinolonas.

2.6.2.3. Soluciones de fluoroquinolona para ensayo.

Se preparan soluciones de la fluoroquinolona a ensayar a la concentración de 0.04 mM en solución reguladora de fosfatos pH = 7.4. Igual que en el caso de la preparación de las soluciones patrón o estándar, previa adición de la solución reguladora, se añade 1 ml de NaOH 2N para un volumen de 50 ml. Una vez preparada la solución se ajusta el pH a 7.4.

El ciprofloxacino se ha ensayado a tres concentraciones distintas: 0.04, 0.15 y 0.4 mM. Todas las restantes fluoroquinolonas se han ensayado a la concentración de 0.04 mM. Además, para ITV 8902 y enrofloxacin se han realizado experiencias a una concentración diez veces superior (0.4 mM). La preparación de las soluciones es análoga a la de la concentración inferior. En todos los casos se ha comprobado la isotonía de las soluciones a utilizar.

2.6.3. Metodología analítica.

La metódica analítica utilizada para la estimación de la constante de absorción es la misma que la descrita en el epígrafe 2.1.4. Para las concentraciones 0.04 y 0.15 mM ensayadas, se procede a la valoración directa de las muestras (sin realizar dilución alguna); en el caso del ensayo de las soluciones a la concentración de 0.4 mM, las muestras a valorar se diluyen previamente, tomando un volumen de 0.1 ml y diluyéndolas hasta 1 ml con la solución de estándar interno.

2.6.4. Ensayo de absorción.

Se consideran en este epígrafe, los animales de experimentación utilizados, la técnica biológica seguida, la metódica de cálculo y el estudio estadístico realizado.

2.6.4.1. Animales de experimentación.

Se han utilizado ratas albinas macho de la raza Sprague-Dawley, criadas y seleccionadas en el estabulario de la Facultad de Farmacia de Barcelona, con un peso comprendido entre 180 y 210 g. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 20 h antes de proceder a los ensayos, con agua "ad libitum" durante este tiempo. Para evitar la coprofagia, los animales se dispusieron en jaulas con fondo de tela metálica ancha. Se han empleado un mínimo de cinco animales en la determinación de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}) para cada una de las concentraciones de fluoroquinolona.

2.6.4.2. Técnica biológica.

La técnica utilizada en la presente Memoria, está orientada a la evaluación de la constante de velocidad de absorción de una serie de fluoroquinolonas a nivel del intestino delgado de la rata. Tres de las fluoroquinolonas ensayadas (ciprofloxacino, ITV 8902 y enrofloxacino) presentan suficiente solubilidad en el fluido de trabajo (solución amortiguadora de pH = 7.4) para permitir la preparación de dos soluciones cuyas concentraciones difieren en un orden de magnitud. La metodología seguida se detalla a continuación:

Previamente se anestesia al animal por vía intraperitoneal con la solución de etiluretano (ver epígrafe 2.5.2.1). La anestesia se induce rápidamente y a los 15 minutos se comprueba la pérdida del reflejo parpebral, procediéndose al ensayo. Se fija el animal sobre un soporte quirúrgico especial para este fin y se practican dos incisiones en el lado derecho del abdomen a fin de localizar el estómago y el ciego, para poder después canular el intestino delgado. En estas condiciones, el intestino no queda al descubierto, sino que permanece cubierto por músculos y piel abdominales minimizándose la distensión del órgano cuando se perfunde la solución de fluoroquinolona. Para localizar el estómago, se incide aproximadamente 1 cm por debajo de las costillas y para localizar el ciego la incisión se realiza en la zona pélvica. En ambos casos debe cortarse primero la piel, desbridar un área de 1-2 cm² y, por último, se incide en el músculo. Hechas las dos incisiones y con la ayuda de unas pinzas pequeñas de punta roma se localiza el estómago y el ciego, que se extraen lo necesario para poder canular el intestino delgado. Previa canulación, se localiza el colédoco, que se ata con una hebra de seda para evitar que interfiera una posible reversión de la fluoroquinolona por ciclo enterohepático. A continuación se procede a canular, perforando el peritoneo con ayuda de las pinzas pequeñas a unos 2.5 cm del píloro, pasando una hebra de seda por debajo del intestino delgado. Se hace un corte transversal en V en el intestino con las tijeras pequeñas y se introduce por la abertura una de las cánulas, que se asegura fuertemente mediante una ligadura con la hebra de seda. Posteriormente, se canula la zona final del íleon, procediendo de forma similar al caso anterior.

Una vez canulado el intestino delgado, se une, a la cánula de entrada (duodenal), una llave de tres pasos "stopcock" y a ésta se le encaja una jeringa de 30 ml. El conjunto se fija, verticalmente, a un soporte, de forma que el brazo horizontal de la cánula quede a una altura adecuada y no resulte forzada la posición natural del órgano. En estas condiciones y con la llave de paso en posición lumen-interior, se llena la jeringa con la solución de lavado y se deja fluir, presionando ligeramente el émbolo a través del intestino delgado. El líquido arrastra la suciedad y sale por la cánula del otro extremo, si bien es conveniente realizar este primer lavado con la incisión en V en la zona ileal del intestino pero sin llegar a canular. Con ello se evita una posible obturación de la cánula y además el intestino se halla más distendido, lo cual facilita el proceso de lavado. El líquido de lavado procedente del intestino se recoge en un recipiente y se repite la operación hasta que el líquido salga sin residuos y el intestino quede limpio. Se termina de expulsar el líquido remanente bombeando varias veces aire con la jeringa y posteriormente con la bomba a flujo rápido. Una vez limpio el intestino, se separa la cánula ileal de la llave de tres pasos "stopcock" quedando ahora las dos cánulas libres para ser conectadas al circuito.

El circuito consta de un reservorio que contiene la solución a perfundir. Del reservorio sale un tubo de polietileno de 107 cm de longitud y 3 mm de diámetro interno que pasa a través de la bomba peristáltica y, a su vez, conecta con la cánula de entrada o duodenal. A la salida del intestino se sitúa la cánula ileal a la que sigue una última porción de tubo

(39 cm) que enlaza con el reservorio. Como reservorio se utiliza una probeta graduada de 50 ml en la que se sitúa un núcleo magnético de agitación con el objeto de homogenizar la solución circulante.

Una vez montado el circuito de perfusión, se inicia la experiencia, consistente en el seguimiento de dos procesos simultáneos: la absorción de fármaco y la reabsorción de agua. El interés de este último proceso reside en que, de producirse en suficiente magnitud podría influir negativamente en la correcta determinación de la constante de absorción k_{abs} .

La experiencia se inicia con un volumen de solución en el reservorio de 40 ml, exactamente medidos.

Se pone en marcha el agitador y la bomba del circuito a velocidad de flujo de 1.80 r.p.m. (1 ml/min), si se usa la bomba Gilson, o en la posición 1.5, equivalente también a un flujo de 1 ml/min, si se usa la bomba Pharmacia. La solución empieza a ascender por el tubo, tomándose como tiempo inicial aquél en el que revierte la primera gota de solución en el reservorio, una vez que ha circulado a través del intestino.

Transcurridos 15 minutos, se extrae una muestra de 0.5 ml de solución, directamente del reservorio, mediante una jeringuilla de 1 ml de capacidad y así sucesivamente cada cuarto de hora hasta transcurridas las dos horas que dura la experiencia. Las muestras se pasan a través de un filtro de nylon (Millipore) de $0.45\mu\text{m}$ de diámetro de poro y se depositan en tubos Ependorf, en los

cuales se conservan a -4°C hasta el momento de su valoración. A cada tiempo de toma de muestra se procede también a la medición del volumen de solución remanente en la probeta, así como del pH, mediante un electrodo depositado en el interior del reservorio. Después de la toma de la última muestra, se vacía el circuito de la solución que se recoge en la probeta.

2.6.4.3. Metodica de cálculo.

Se consideran por separado en este apartado, la determinación de la variación de volumen de la solución de ensayo que se perfunde y la estimación de la constante de velocidad de absorción, propiamente dicha.

2.6.4.3.1. Determinación de la variación de volumen de la solución de ensayo.

Dado que la longitud de los tubos que constituyen el circuito es constante y fija para todas las experiencias, así como el volumen inicial de la solución (40 ml), es posible estimar las variaciones de volumen de la solución problema a lo largo de toda la experiencia de acuerdo con la metodología propuesta por GABUS-SANNIÉ (14):

La variación de volumen real (VVR) se estima mediante la siguiente expresión:

$$\text{VVR} = V_i - V_f T \quad (\text{Ec. 39})$$

siendo:

$$V_i = V_f + (V_0 - V_t)$$

y:

$$V_f T = V_f + V_m$$

en la que:

V_i = volumen inicial.

V_0 = volumen leído en la probeta correspondiente al tiempo inicial de la experiencia.

V_t = volumen leído en la probeta correspondiente al último tiempo experimental.

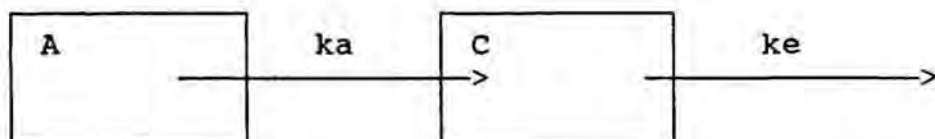
V_f = volumen final de solución medicamentosa recogido en la probeta una vez vaciado el circuito después de la toma de la última muestra.

$V_f T$ = volumen final total.

V_m = volumen total de toma de muestras.

2.6.4.3.2. Estimación de la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).

En la presente Memoria, se considera que la absorción de las fluoroquinolonas se realiza por difusión pasiva y, consecuentemente, el modelo cinético a considerar puede esquematizarse como se indica a continuación:



Se trata de un modelo de dos compartimientos en el que el compartimiento A corresponde al lugar donde se produce el

proceso de absorción y el compartimiento C es representativo del organismo. El fármaco sale del compartimiento A a una velocidad regida por la constante k_{abs} . De acuerdo con las bases matemáticas de procesos de primer orden, se cumple:

$$dA/dt = -k_{abs} \cdot A \quad (\text{Ec. 40})$$

siendo dA/dt la disminución de la concentración de fármaco en los lugares de absorción en función del tiempo o velocidad de desaparición y A la concentración remanente en dicho compartimiento.

Por integración numérica de la ecuación (40), desde tiempo cero hasta un tiempo t, se obtiene la siguiente expresión matemática:

$$A = A_0 \cdot e^{-k_{abs} \cdot t} \quad (\text{Ec. 41})$$

en la que A es la concentración a un tiempo t y A_0 la concentración inicial a tiempo 0, valor obtenido por extrapolación de la curva representativa del proceso hasta el eje de ordenadas y k_{abs} la constante de velocidad a que se produce el proceso. La transformación logarítmica de la función exponencial permite obtener la ecuación de una recta, siendo su expresión matemática:

$$\ln A = -k_{\text{abs}} \cdot t + \ln A_0 \quad (\text{Ec. 42})$$

La pendiente de la recta que relaciona las concentraciones remanentes de fármaco en el lugar de absorción frente al tiempo corresponde, en valor absoluto, a la constante de velocidad de absorción k_a .

2.6.4.4. Estudio estadístico.

La determinación de las constantes de primer orden se ha realizado mediante regresión lineal semilogarítmica (concentraciones/tiempos) con el programa Progress (15) para ordenador personal que permite la detección de puntos aberrantes por el método de la mediana mínima de cuadrados. Se han realizado cinco experiencias para cada nivel de dosis, considerando el valor promedio como representativo de la constante de velocidad de absorción de primer orden en cada condición. Las distintas constantes de absorción promedio correspondientes a las dosis ensayadas se compararán mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, previa determinación de la homogeneidad de varianzas (test de Barlett) y, si procede, se aplicará un test de comparación múltiple (test de Peritz). Si las varianzas no son homogéneas, se aplicaría un test no paramétrico,

prueba de KRUSKAL WALLIS seguido, si procede, de un test de comparación múltiple (U de MANN WHITNEY).

Con la intención de averiguar la posible existencia de una o más correlaciones (no-lineal simple o lineal múltiple) entre las constantes de absorción intestinal, supuesto el proceso de primer orden, de las ocho fluoroquinolonas de nuestro interés y algunos de los parámetros correspondientes a las mismas, ya fuesen de carácter experimental o teórico, nos propusimos llevar a cabo en la presente Memoria los ensayos estadísticos pertinentes; para ello, se hizo uso de un programa de ajustado no-lineal simple por mínimos cuadrados, denominado MULTIABS, basado en el MULTI de Yamaoka y cols. (8), que permite ajustar las funciones parabólica, hiperbólica y bihiperbólica, las más preconizadas en este tipo de estudios (16), a los datos experimentales y del paquete estadístico SPSS+ PC (17) para el ajustado lineal múltiple; en ambos casos los programas se implementaron en un ordenador IBM PC.

En las series de ajustados (no-lineal simple y lineal múltiple), las variables dependientes a considerar (y) fueron los valores promedio de las constantes de absorción intestinal de las ocho fluoroquinolonas (o sus logaritmos), mientras que las independientes (x) las

constituyeron dos series de datos: unos experimentales de carácter fisicoquímico y otros teóricos.

Los datos experimentales considerados y determinados experimentalmente fueron los siguientes: solubilidad intrínseca (S_0) (y su logaritmo, $\log S_0$), y los valores pK_{a1} y pK_{a2} , éste en el caso de las cinco fluoroquinolonas anfóteras, coeficiente de reparto octanol/agua (P) (o su logaritmo, $\log P$); logaritmo del factor de capacidad, $\log K'$, estimado por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE).

Los datos teóricos utilizados pueden dividirse en dos apartados: estructurales y electrónicos. Entre los primeros se consideraron: peso, superficie y volumen moleculares y una serie de índices de conectividad de valencia (χ), formada por 21 variables, entre índices y diferencias entre ellos; en cuanto a los datos electrónicos, se usaron los siguientes: momento dipolar (MD) y las cargas correspondientes a los distintos átomos de carbono de cada molécula (QC_n), las de los átomos de nitrógeno en posición 1 y 16 (QN_1 y QN_{16}) y la del flúor en posición 15 (QF_{15}).

En total, el número de variables consideradas se elevó a 51 (2 como variables dependientes: K_{abs} y su

logaritmo y las restantes como variables independientes).

En relación a los ajustados lineales múltiples, es preciso indicar que antes de llevar a cabo los ajustados se obtuvo la correspondiente matriz de correlación de las 51 variables consideradas, con el fin de dilucidar cuántas y cuáles de éstas era estadísticamente correcto utilizar, como máximo, en los intentos de correlación. En el capítulo correspondiente a la discusión de los resultados se argumenta la selección de las variables utilizadas, tanto desde el punto de vista estadístico como desde el correspondiente al modelo de absorción intestinal considerado en el caso de las fluoroquinolonas estudiadas.

2.7. BIBLIOGRAFIA.

1. DANNA L. ROSS, CHRISTOPHER M. RILEY. "Aqueous solubilities of some variously substituted quinolona antimicrobials". Int. J. Pharm. 63, 237-250 (1990).
2. AARONS L., TOON S., ROWLAND M. "Validation of assay methodology used in pharmacokinetic studies". J. Pharmacol. Meth. 17, 337-346 (1987).
3. CASTRO CELS M., GASCON FORA S., PUJOL FORN M., SANS ROCA J.M., VICENTE PLA L. "Validación de métodos analíticos". Monografía Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Toledo (1989).
4. HORWITZ W. "Analytical measurement: How do you know results are right". ACS Symposium Series 160, American Chemical Society, cap. 24, Washington D.C.
5. BUTTNER J. "Provisional recommendation on quality control in clinical chemistry. Part 2. Assessment of analytical methods for routine use". Clin. Chem. 22, 1922-1932 (1976).
6. INGLE J.D. "Sensitivity and limit of detection in quantitative spectrometric methods". J. Chem. Educ. 51, 100-105 (1974).

7. A.T. FLORENCE, D. ATTWOOD. "Physicochemical Principles of Pharmacy". Cap. 5: "Solubility and Partitioning of Drugs", pág. 141-142, 2ª Ed., London (1988).
8. YAMAOKA K., TANIGAWARA Y., NAKAGAWA T., UNO T. "A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer". J. Pharm. Dyn. 4, 879-885 (1981).
9. ASUERO A.G. "A bilogarithmic method for the evaluation of acidity constants of amphoteric substances from solubility measurements". Int. J. Pharm., 52, 129-137 (1989).
10. PURCELL W.P., BASS G.E., CLAYTON J.M. "Strategy of drug design. A molecular guides to biological activity". App.I Experimental determination of partition coefficients. Wiley, New York, 126-142 (1973).
11. DEWAR M.J.J., ZOEBISCH E.G., HEALY J.J., STEWART J.J. J. Am. Chem. Soc., 107, 3902 (1985).
12. Q.C.P.E. Bulletin, (4), 9 (1989).
13. Paquete integrado LABSWARE (Firma Compudrug, Budapest).

14. GABUS-SANNIÉ C., BURI P. "Etude comparative des méthodes de détermination du volume d'eau absorbé lors de perfusion de l'intestin grele du rat". S.T.P. Pharma 3, 560-856 (1987).
15. ROUSSEAW P.J. and LEROY A.M. "Robust regression and outlier detection". John Wiley. New York, 28-47 (1987).
16. PLA DELFINA J.M., MORENO DALMAU J. "Intestinal Absorption-Partition Relationships: A Tentative Functional Nonlinear Model". J. Pharmacok. Biopharm. 2, 191-215 (1981).
17. SPSS/PC+, versión 3.1, Microsoft Corp. 1988.

CAPITULO 3º

RESULTADOS

3. RESULTADOS.

3.1. ESTIMACION DE LA SOLUBILIDAD.

Los valores promedio correspondientes a la solubilidad de los fármacos ensayados, de acuerdo con la metodología expuesta en el epígrafe 2.1.3. del Capítulo II, se exponen en los Cuadros I a IX en los que se consignan las solubilidades expresadas en mg/l a los pH estudiados. Los valores promedio (que se acompañan de sus desviaciones estándar) se han obtenido con seis replicados.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
5.10 $\pm$ 0.06	2173.51 $\pm$ 236.37
5.45 $\pm$ 0.01	627.43 $\pm$ 46.46
6.05 $\pm$ 0.01	392.09 $\pm$ 22.37
6.53 $\pm$ 0.01	245.77 $\pm$ 11.99
7.05 $\pm$ 0.01	207.56 $\pm$ 10.37
7.56 $\pm$ 0.01	201.09 $\pm$ 6.95
7.96 $\pm$ 0.01	157.98 $\pm$ 7.08
8.52 $\pm$ 0.02	217.94 $\pm$ 14.75
9.03 $\pm$ 0.01	489.77 $\pm$ 38.84

CUADRO I

Valores promedio de solubilidad de ciprofloxacino base en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
5.16 $\pm$ 0.01	977.66 $\pm$ 34.66
5.40 $\pm$ 0.00	550.85 $\pm$ 17.41
6.05 $\pm$ 0.00	228.98 $\pm$ 12.04
6.61 $\pm$ 0.01	198.11 $\pm$ 4.68
6.89 $\pm$ 0.00	195.51 $\pm$ 6.65
7.56 $\pm$ 0.00	331.79 $\pm$ 10.12
7.93 $\pm$ 0.01	547.05 $\pm$ 15.59
8.26 $\pm$ 0.01	954.19 $\pm$ 27.37
8.96 $\pm$ 0.01	3168.15 $\pm$ 239.34

CUADRO II

Valores promedio de solubilidad de ITV 8902 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
5.21 $\pm$ 0.12	4417.09 $\pm$ 299.44
5.57 $\pm$ 0.04	2325.88 $\pm$ 328.46
6.02 $\pm$ 0.01	1201.66 $\pm$ 54.39
6.47 $\pm$ 0.01	703.19 $\pm$ 27.86
6.98 $\pm$ 0.01	526.81 $\pm$ 27.76
7.47 $\pm$ 0.01	619.80 $\pm$ 76.35
7.77 $\pm$ 0.01	789.84 $\pm$ 51.14
8.21 $\pm$ 0.02	1503.25 $\pm$ 89.41
8.67 $\pm$ 0.01	2946.93 $\pm$ 348.43
9.06 $\pm$ 0.06	10056.30 $\pm$ 1694.6

CUADRO III

Valores promedio de solubilidad de enrofloxacino base en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
4.99 $\pm$ 0.01	2761.32 $\pm$ 192.98
5.25 $\pm$ 0.00	2377.47 $\pm$ 62.80
5.82 $\pm$ 0.01	1480.09 $\pm$ 26.54
6.38 $\pm$ 0.01	482.08 $\pm$ 23.98
6.66 $\pm$ 0.01	437.22 $\pm$ 5.62
7.22 $\pm$ 0.01	418.11 $\pm$ 37.59
7.62 $\pm$ 0.02	681.69 $\pm$ 27.10
8.42 $\pm$ 0.04	1219.51 $\pm$ 173.62
9.07 $\pm$ 0.02	1449.14 $\pm$ 299.72

CUADRO IV

Valores promedio de solubilidad de ITV 9203 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
5.13 $\pm$ 0.10	9561.79 $\pm$ 365.30
5.72 $\pm$ 0.01	5191.66 $\pm$ 93.39
6.01 $\pm$ 0.01	2854.31 $\pm$ 108.78
6.44 $\pm$ 0.01	1871.80 $\pm$ 56.60
6.94 $\pm$ 0.01	2122.94 $\pm$ 55.09
7.39 $\pm$ 0.04	3327.47 $\pm$ 114.97
7.76 $\pm$ 0.05	5483.19 $\pm$ 221.34
8.49 $\pm$ 0.05	7590.41 $\pm$ 379.77
9.12 $\pm$ 0.11	9305.87 $\pm$ 404.45

CUADRO V

Valores promedio de solubilidad de ITV 8706 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
4.56 $\pm$ 0.02	1.63 $\pm$ 0.06
5.21 $\pm$ 0.01	3.89 $\pm$ 0.48
5.84 $\pm$ 0.01	4.87 $\pm$ 0.62
6.39 $\pm$ 0.01	8.22 $\pm$ 0.46
6.93 $\pm$ 0.01	17.11 $\pm$ 1.15
7.47 $\pm$ 0.01	52.30 $\pm$ 1.98
7.77 $\pm$ 0.02	113.26 $\pm$ 7.88
8.45 $\pm$ 0.02	319.18 $\pm$ 16.32
9.04 $\pm$ 0.08	671.31 $\pm$ 19.25

CUADRO VI

Valores promedio de solubilidad de ITV 8919 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
4.82 $\pm$ 0.01	7.86 $\pm$ 0.49
5.31 $\pm$ 0.01	8.42 $\pm$ 0.30
5.94 $\pm$ 0.01	11.29 $\pm$ 0.62
6.44 $\pm$ 0.01	17.21 $\pm$ 1.30
6.98 $\pm$ 0.01	40.67 $\pm$ 1.55
7.50 $\pm$ 0.01	151.23 $\pm$ 5.27
7.78 $\pm$ 0.03	248.08 $\pm$ 6.82
8.27 $\pm$ 0.01	702.97 $\pm$ 37.95
8.87 $\pm$ 0.01	1851.25 $\pm$ 91.08

CUADRO VII

Valores promedio de solubilidad de ITV 8804 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

pH $\pm$ D.E.	SOLUBILIDAD (mg/l) $\pm$ D.E.
4.73 $\pm$ 0.01	130.56 $\pm$ 1.65
5.22 $\pm$ 0.00	143.97 $\pm$ 2.35
5.86 $\pm$ 0.01	174.53 $\pm$ 7.51
6.35 $\pm$ 0.00	396.50 $\pm$ 53.31
6.80 $\pm$ 0.00	650.63 $\pm$ 24.57
7.29 $\pm$ 0.01	1033.91 $\pm$ 62.64
7.78 $\pm$ 0.03	1148.61 $\pm$ 42.30
8.19 $\pm$ 0.01	1526.65 $\pm$ 90.03
8.94 $\pm$ 0.02	2293.18 $\pm$ 302.970

CUADRO VIII

Valores promedio de solubilidad de ITV 9201 en función del pH de la solución, acompañadas de su desviación estándar, determinados a 37°C, a partir de una solución tampón de fuerza iónica constante de 0.15 M.

FLUOROQUINOLONA	SOLUBILIDAD INTRINSECA (S_0) (mg/L) · 10 ³
Ciprofloxacino	0.1320 ± 0.0050
ITV 8902	0.1510 ± 0.0080
Enrofloxacin	0.4160 ± 0.0200
ITV 9203	0.3680 ± 0.0170
ITV 8706	1.3590 ± 0.2230
ITV 8919	0.0022 ± 0.0006
ITV 8804	0.0079 ± 0.0008
ITV 9201	0.1680 ± 0.0419

CUADRO IX

Valores promedio de la solubilidad intrínseca estimada a 37°C correspondiente a las fluoroquinolonas estudiadas, acompañadas de sus desviaciones estándar.

3.2. VALIDACION DE LA METODICA ANALITICA.

La metodología analítica utilizada para la estimación de las fluoroquinolonas estudiadas se ha desarrollado dentro de un ámbito de concentraciones que incluye los valores extremos obtenidos en distintas experiencias realizadas en estudios previos.

En cuanto a la **sensibilidad** de la metodología analítica, correspondiente a cada una de las concentraciones utilizadas, en los Cuadros X a XVII se exponen los valores de las relaciones de las áreas quinolona/estándar interno para cada una de las concentraciones utilizadas, así como la recta que relaciona las concentraciones teóricas con la relación de áreas medias, para la validación intradía. Del mismo modo, pero para la validación interdía, los resultados se exponen en los Cuadros XIX a XXVI. Los valores de sensibilidad, expresados en $\mu\text{g} * \text{ml}^{-1}$ para cada una de las concentraciones, se exponen en el Cuadro XXVIII para la validación intradía y en el Cuadro XXVII para la interdía.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	6.15	3.13	1.56	0.76	0.38	0.19
2	6.23	3.11	1.60	0.76	0.35	0.17
3	6.12	3.17	1.57	0.78	0.37	0.18
4	6.41	3.28	1.66	0.81	0.41	0.20
5	6.33	3.25	1.63	0.73	0.35	0.17
$\bar{x}$	6.25	3.19	1.60	0.77	0.37	0.18
D.E.	0.12	0.07	0.04	0.03	0.02	0.01

$$y = 0.01 + 9.552 * x$$

$$r = 0.9999$$

CUADRO X

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ciprofloxacino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	9.68	4.96	2.39	1.22	0.59	0.29
2	8.59	4.95	2.38	1.10	0.49	0.24
3	7.88	4.53	2.28	1.09	0.58	0.29
4	8.25	4.76	2.30	1.04	0.50	0.25
5	8.14	4.59	2.29	1.05	0.54	0.27
$\bar{x}$	8.51	4.76	2.33	1.10	0.54	0.27
D.E.	0.70	0.20	0.05	0.07	0.04	0.02

$$y = - 0.60 + 6.952 * x$$

$$r = 0.9981$$

CUADRO XI

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8902. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.



REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	9.33	4.59	2.37	1.09	0.54	0.27
2	9.49	4.69	2.40	1.13	0.59	0.29
3	9.61	4.86	2.35	1.11	0.57	0.28
4	9.50	4.79	2.41	1.20	0.60	0.30
5	10.32	4.94	2.35	1.12	0.54	0.27
$\bar{x}$	9.65	4.77	2.38	1.13	0.57	0.28
D.E.	0.39	0.14	0.03	0.04	0.03	0.01

$$y = 0.30 + 6.195 * x$$

$$r = 0.9999$$

CUADRO XII

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de enrofloxacin. Se acompañan de los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que relaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	5.47	2.66	1.44	0.61	0.35	0.17
2	6.28	3.15	1.52	0.74	0.30	0.15
3	6.37	3.26	1.56	0.73	0.29	0.15
4	5.35	2.71	1.25	0.55	0.22	0.11
5	6.35	3.32	1.48	0.66	0.27	0.13
$\bar{X}$	5.96	3.02	1.45	0.66	0.29	0.14
D.E.	0.51	0.31	0.12	0.08	0.05	0.02

$$y = 0.66 + 9.912 * x \quad r = 0.9998$$

CUADRO XIII

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 9203. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	6.87	3.55	1.73	0.84	0.44	0.22
2	6.87	3.36	1.63	0.78	0.38	0.19
3	6.95	3.46	1.75	0.88	0.46	0.23
4	7.14	3.48	1.70	0.76	0.37	0.18
5	7.08	3.55	1.46	0.78	0.37	0.18
$\bar{x}$	6.98	3.48	1.68	0.81	0.40	0.20
D.E.	0.12	0.08	0.06	0.05	0.04	0.02

$$y = 0.40 + 8.540 * x \quad r = 0.9999$$

CUADRO XIV

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8706. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	5.42	2.58	1.38	0.63	0.31	0.15
2	5.32	2.63	1.33	0.66	0.34	0.17
3	5.39	2.78	1.42	0.72	0.36	0.18
4	5.49	2.73	1.34	0.65	0.29	0.14
5	5.31	2.72	1.42	0.71	0.36	0.18
$\bar{x}$	5.39	2.69	1.38	0.67	0.33	0.16
D.E.	0.07	0.08	0.04	0.04	0.03	0.02

$$y = - 0.01 + 11.126 * x \quad r = 0.9999$$

CUADRO XV

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8919. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	10.10	4.86	2.44	1.04	0.47	0.23
2	10.07	4.78	2.18	0.96	0.45	0.22
3	10.79	4.96	2.39	1.06	0.49	0.24
4	9.86	4.74	2.19	1.02	0.46	0.23
5	9.93	4.65	2.09	0.98	0.43	0.21
$\bar{x}$	10.15	4.80	2.26	1.01	0.46	0.23
D.E.	0.37	0.12	0.15	0.04	0.02	0.01

$$y = 0.85 + 5.998 * x \quad r = 0.9993$$

CUADRO XVI

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8804. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	6.80	3.51	1.78	0.83	0.38	0.19
2	7.23	3.77	1.56	0.91	0.51	0.26
3	7.28	3.73	2.06	0.95	0.45	0.23
4	7.56	4.32	2.36	1.09	0.52	0.26
5	6.36	3.31	1.63	0.80	0.42	0.21
$\bar{X}$	7.05	3.73	1.88	0.92	0.46	0.23
D.E.	0.47	0.38	0.33	0.11	0.06	0.03

$$y = - 0.49 + 8.485 * x$$

$$r = 0.9995$$

CUADRO XVII

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 9201. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

FARMACO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
Ciprofloxacino	0.013	0.008	0.004	0.003	0.002	0.001
ITV 8902	0.100	0.029	0.007	0.010	0.006	0.003
Enrofloxacino	0.063	0.022	0.005	0.006	0.005	0.002
ITV 9203	0.051	0.031	0.012	0.008	0.005	0.002
ITV 8706	0.014	0.009	0.007	0.058	0.005	0.002
ITV 8919	0.006	0.007	0.003	0.036	0.003	0.001
ITV 8804	0.062	0.020	0.025	0.006	0.003	0.002
ITV 9201	0.055	0.044	0.039	0.013	0.007	0.003

CUADRO XVIII

Sensibilidad de la metodología analítica ($\mu\text{g}^{-1} * \text{ml}$) correspondiente a cada una de las concentraciones empleadas en la validación intradía.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	10.86	5.37	3.11	1.60	0.81	0.41
2	10.47	6.18	3.30	1.80	1.01	0.50
3	13.30	6.84	3.93	2.09	1.17	0.58
4	10.75	5.29	2.90	1.49	0.79	0.39
5	11.82	5.39	2.59	1.31	0.60	0.30
$\bar{x}$	11.44	5.81	3.17	1.66	0.88	0.44
D.E.	1.16	0.68	0.50	0.30	0.22	0.11

$$y = - 1.08 + 5.326 * x \quad r = 0.9997$$

CUADRO XIX

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ciprofloxacino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	11.67	6.02	2.95	1.48	0.75	0.37
2	11.32	5.95	3.27	1.59	0.90	0.45
3	11.10	5.68	2.86	1.49	0.80	0.40
4	7.93	3.66	1.87	1.08	0.40	0.20
5	9.68	4.96	2.39	1.22	0.59	0.29
$\bar{x}$	10.34	5.25	2.67	1.37	0.69	0.34
D.E.	1.54	0.98	0.55	0.21	0.20	0.10

$$y = - 0.36 + 5.823 * x$$

$$r = 0.9999$$

CUADRO XX

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8902. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	12.03	6.48	3.20	1.64	0.88	0.47
2	13.25	6.75	3.54	1.88	1.06	0.53
3	15.38	8.20	4.10	2.40	1.28	0.64
4	8.77	4.99	2.47	1.11	0.59	0.29
5	9.50	4.79	2.41	1.20	0.60	0.30
$\bar{x}$	11.79	6.24	3.14	1.65	0.88	0.45
D.E.	2.71	1.40	0.72	0.53	0.30	0.15

$$y = - 0.92 + 5.120 * x \quad r = 0.9996$$

CUADRO XXI

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de enrofloxacin. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	7.88	3.92	2.10	0.93	0.45	0.22
2	8.78	4.26	2.33	1.10	0.56	0.28
3	6.68	3.04	1.69	0.75	0.44	0.22
4	6.28	2.84	1.48	0.66	0.41	0.21
5	5.47	2.66	1.44	0.61	0.35	0.17
$\bar{x}$	7.02	3.34	1.81	0.81	0.44	0.22
D.E.	1.31	0.70	0.39	0.20	0.08	0.04

$$y = 0.19 + 8.574 * x \quad r = 0.9995$$

CUADRO XXII

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 9203. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	9.53	4.98	2.55	1.16	0.60	0.30
2	9.51	5.25	2.84	1.48	0.87	0.43
3	13.12	6.25	3.28	1.81	0.93	0.53
4	6.81	3.15	1.58	0.76	0.39	0.19
5	6.95	3.46	1.75	0.88	0.46	0.23
$\bar{x}$	9.18	4.62	2.40	1.22	0.65	0.34
D.E.	2.57	1.29	0.72	0.43	0.24	0.14

$$y = 0.34 + 6.466 * x \quad r = 0.9978$$

CUADRO XXIII

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8706. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	4.86	2.35	1.03	0.42	0.19	0.09
2	5.14	2.40	1.21	0.54	0.27	0.13
3	5.19	2.46	1.21	0.53	0.27	0.14
4	5.82	2.82	1.42	0.64	0.32	0.16
5	5.42	2.58	1.38	0.63	0.31	0.15
$\bar{x}$	5.29	2.52	1.25	0.55	0.27	0.13
D.E.	0.36	0.19	0.16	0.09	0.05	0.03

$$y = 0.95 + 11.234 * x \quad r = 0.9997$$

CUADRO XXIV

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8919. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	7.22	3.63	1.80	0.93	0.46	0.22
2	7.06	3.21	1.64	0.74	0.32	0.16
3	9.38	4.31	2.15	0.87	0.43	0.21
4	11.64	5.08	2.45	1.02	0.47	0.23
5	10.10	4.86	2.44	1.04	0.47	0.23
$\bar{x}$	9.08	4.22	2.10	0.92	0.43	0.21
D.E.	1.95	0.79	0.37	0.12	0.06	0.03

$$y = 1.21 + 6.538 * x \quad r = 0.9995$$

CUADRO XXV

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8804. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
	RELACION AREAS (mvol * min)					
1	5.20	2.58	1.14	0.53	0.26	0.10
2	5.36	2.65	1.27	0.60	0.28	0.11
3	6.04	3.14	1.55	0.75	0.36	0.18
4	6.33	2.96	1.51	0.71	0.35	0.17
5	7.23	3.77	1.76	0.91	0.51	0.26
$\bar{x}$	6.03	3.02	1.45	0.70	0.35	0.16
D.E.	0.82	0.48	0.24	0.15	0.10	0.06

$$y = 0.42 + 9.874 * x \quad r = 0.9999$$

CUADRO XXVI

Concentraciones teóricas y relación de áreas (quinolona-estándar interno) correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 9201. Se acompañan los valores medios, desviación estándar y ecuación de la recta que correlaciona concentraciones teóricas con relación de áreas medias.

FARMACO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.5	3.75	1.875
Ciprofloxacino	0.218	0.128	0.094	0.056	0.041	0.020
ITV 8902	0.264	0.168	0.094	0.036	0.034	0.017
Enrofloxacin	0.529	0.273	0.141	0.103	0.058	0.029
ITV 9203	0.153	0.082	0.045	0.023	0.009	0.005
ITV 8706	0.397	0.199	0.111	0.066	0.037	0.022
ITV 8919	0.032	0.017	0.014	0.008	0.004	0.003
ITV 8804	0.298	0.121	0.056	0.018	0.009	0.004
ITV 9201	0.083	0.049	0.024	0.015	0.010	0.006

CUADRO XXVII

Sensibilidad de la metodología analítica ($\mu\text{g}^{-1} \cdot \text{ml}$) correspondiente a cada una de las concentraciones empleadas en la validación inter día.

En los Cuadros XXVIII a XXXV se exponen los resultados obtenidos para la **exactitud y precisión** de la metodología, expresados como error relativo y coeficiente de variación porcentuales para la validación intradía y en los Cuadros XLIV a LI los correspondientes a la validación interdía.

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.583	30.347	15.147	7.402	3.724	1.884
2	59.647	29.897	15.499	7.489	3.580	1.911
3	58.699	30.461	15.146	7.585	3.660	1.889
4	58.974	30.170	15.262	7.440	3.759	1.873
5	59.662	30.773	15.578	7.136	3.572	1.930
$\bar{x}$	59.313	30.330	15.326	7.410	3.659	1.897
D.E.	0.447	0.327	0.201	0.168	0.083	0.022
%	1.14	-1.10	-0.02	0.01	2.42	-1.17
%cv	0.75	1.08	1.31	2.27	2.27	1.16

CUADRO XXVIII

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ciprofloxacino. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (%) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.610	30.578	14.770	7.574	3.699	1.885
2	55.374	32.063	15.604	7.406	3.499	1.930
3	54.406	31.208	15.627	7.387	3.855	1.847
4	55.536	32.145	15.657	7.213	3.593	1.918
5	55.765	31.461	15.714	7.224	3.732	1.884
$\bar{x}$	56.138	31.491	15.474	7.240	3.676	1.893
D.E.	2.009	0.646	0.396	0.158	0.136	0.033
% ϵ	6.44	-4.97	-3.16	3.46	1.98	-0.94
%cv	3.58	2.05	2.56	2.18	3.69	1.72

CUADRO XXIX

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8902. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	60.612	29.899	15.514	7.221	3.657	1.907
2	60.546	29.923	15.313	7.211	3.766	1.884
3	60.898	30.848	14.969	7.124	3.708	1.905
4	59.528	30.010	15.095	7.512	3.752	1.872
5	63.360	30.479	14.651	7.133	3.589	1.938
$\bar{x}$	60.989	30.232	15.108	7.240	3.694	1.901
D.E.	1.423	0.417	0.330	0.158	0.073	0.025
%e	-1.65	-0.77	-0.72	3.46	1.48	-1.40
%cv	2.33	1.38	2.18	2.18	1.97	1.33

CUADRO XXX

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de enrofloxacin. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (%e) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	60.737	29.570	15.919	6.726	3.825	1.891
2	60.413	30.557	15.004	7.606	3.409	1.951
3	60.052	31.035	15.191	7.433	3.353	1.971
4	61.804	31.655	14.961	7.055	3.279	2.013
5	61.129	32.342	14.798	7.000	3.291	2.014
$\bar{x}$	60.827	31.032	15.248	7.164	3.431	1.968
D.E.	0.676	1.057	0.433	0.353	0.226	0.051
% ϵ	-1.38	-3.44	-1.65	4.48	8.49	4.96
%cv	1.11	3.40	2.84	4.93	6.59	2.59

CUADRO XXXI

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 9203. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.600	30.783	14.985	7.260	3.788	1.878
2	62.014	30.438	14.875	7.228	3.620	1.920
3	59.903	29.756	14.985	7.477	3.842	1.855
4	62.495	30.633	15.138	6.955	3.560	1.949
5	62.327	31.413	14.423	7.155	3.564	1.944
$\bar{X}$	61.268	30.605	14.881	7.212	3.677	1.909
D.E.	1.399	0.599	0.273	0.186	0.130	0.041
%e	-2.11	-2.01	0.79	3.84	1.95	-1.82
%cv	2.28	1.96	1.83	2.58	3.55	2.16

CUADRO XXXII

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8706. Se acompañan los valores medios ($\bar{X}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (%e) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	61.134	29.186	15.687	7.250	3.650	1.907
2	60.319	29.788	15.033	7.429	3.797	1.868
3	57.976	29.861	15.210	7.670	3.792	1.853
4	60.715	30.360	15.072	7.483	3.524	1.929
5	57.861	29.582	15.388	7.635	3.814	1.848
$\bar{x}$	59.601	29.755	15.278	7.493	3.715	1.881
D.E.	1.563	0.428	0.268	0.169	0.126	0.035
% ϵ	0.66	0.82	-1.85	0.09	0.47	-0.32
%cv	2.62	1.44	1.75	2.25	3.39	1.86

CUADRO XXXIII

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8919. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	62.514	30.361	15.511	6.921	3.423	1.981
2	65.016	31.155	14.514	6.705	3.440	2.000
3	65.493	30.336	14.838	6.818	3.381	1.903
4	63.825	30.942	14.565	7.050	3.454	1.976
5	65.327	30.909	14.221	6.985	3.400	1.998
$\bar{X}$	64.435	30.741	14.738	6.896	3.420	1.972
D.E.	1.256	0.370	0.488	0.137	0.029	0.040
% ϵ	-7.39	-2.47	1.80	8.06	8.81	-5.15
%cv	1.95	1.20	3.32	1.98	0.86	2.01

CUADRO XXXIV

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 8804. Se acompañan los valores medios ($\bar{X}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	58.837	30.515	15.549	7.403	3.563	1.918
2	59.700	31.003	14.294	7.267	3.973	1.841
3	56.978	29.273	16.207	7.524	3.664	1.882
4	52.628	30.121	16.481	7.615	3.694	1.866
5	58.865	30.667	15.037	7.366	3.805	1.868
$\bar{x}$	57.402	30.316	15.514	7.435	3.739	1.875
D.E.	2.848	0.663	0.885	0.136	0.157	0.028
%e	4.33	-1.05	-3.42	0.87	0.29	0.00
%cv	4.96	2.19	5.70	1.83	4.19	1.50

CUADRO XXXV

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica intradía de ITV 9201. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (%e) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	56.070	27.561	15.825	7.984	3.913	1.804
2	50.120	29.292	15.309	8.027	4.191	1.739
3	54.194	27.549	15.546	7.957	4.163	1.752
4	57.950	28.349	15.392	7.748	3.953	1.811
5	64.481	29.570	14.367	7.418	3.563	1.934
$\bar{X}$	56.563	28.464	15.288	7.821	3.967	1.808
D.E.	5.291	0.945	0.551	0.255	0.252	0.077
% ϵ	5.73	5.12	-1.92	-4.28	-2.75	3.59
%cv	9.35	3.32	3.60	7.82	6.37	4.29

CUADRO XLIV

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ciprofloxacino. Se acompañan los valores medios ($\bar{X}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.174	30.520	14.918	7.489	3.768	1.871
2	55.755	29.101	15.798	7.460	4.035	1.801
3	58.485	29.785	14.852	7.597	3.943	1.825
4	60.099	27.970	14.462	8.532	3.433	1.906
5	59.610	30.578	14.770	7.574	3.699	1.885
$\bar{x}$	58.624	29.591	14.960	7.738	3.776	1.858
D.E.	1.710	1.089	0.500	0.452	0.234	0.043
% ϵ	2.29	1.36	0.27	-3.07	-0.68	0.93
%cv	2.92	3.68	3.34	5.84	6.19	2.34

CUADRO XLV

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8902. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	57.544	30.808	15.017	7.473	3.846	1.852
2	57.347	28.954	14.932	7.681	4.099	1.784
3	55.294	29.220	14.331	8.158	4.091	1.767
4	55.803	31.747	15.707	7.068	3.759	1.886
5	59.528	30.010	15.095	7.512	3.752	1.872
$\bar{x}$	57.103	30.148	15.016	7.578	3.909	1.832
D.E.	1.666	1.151	0.490	0.394	0.173	0.053
% ϵ	4.83	-0.49	-0.11	-1.04	-4.25	2.28
%cv	2.92	3.82	3.26	5.20	4.44	2.92

CUADRO XLVI

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdía de enrofloxacin. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.443	29.683	16.006	7.213	3.606	1.915
2	59.391	28.801	15.740	7.484	3.762	1.867
3	62.374	28.304	15.640	6.841	3.946	1.861
4	64.270	28.942	14.971	6.550	4.004	1.871
5	60.737	29.570	15.919	6.726	3.825	1.891
$\bar{x}$	61.243	29.060	15.655	6.963	3.829	1.881
D.E.	2.084	0.570	0.409	0.379	0.157	0.022
% ϵ	-2.07	3.13	-4.37	7.16	-2.10	-0.32
%cv	3.40	1.96	2.61	5.45	4.00	1.17

CUADRO XLVII

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica inter día de ITV 9203. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	58.391	30.537	15.693	7.177	3.719	1.891
2	53.235	29.067	15.395	7.679	4.218	1.751
3	60.915	28.692	14.761	7.866	3.738	1.863
4	63.443	29.467	14.803	7.230	3.705	1.905
5	59.903	29.756	14.985	7.470	3.842	1.855
$\bar{x}$	59.177	29.504	15.127	7.484	3.844	1.853
D.E.	3.797	0.704	0.403	0.293	0.216	0.060
%e	1.37	1.65	-0.85	0.21	-2.52	1.17
%cv	6.42	2.39	2.67	3.91	5.61	3.27

CUADRO XLVIII

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8706. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (%e) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	65.322	31.952	14.452	6.328	3.314	2.053
2	63.704	29.850	15.169	6.922	3.599	1.943
3	63.730	30.400	15.092	6.713	3.620	1.950
4	61.990	30.124	15.345	7.030	3.624	1.928
5	61.134	29.186	15.687	7.250	3.650	1.907
$\bar{x}$	63.176	30.302	15.149	6.849	3.561	1.956
D.E.	1.641	1.026	0.452	0.349	0.139	0.056
% ϵ	-5.29	-1.01	-0.99	8.68	5.03	-4.33
%cv	2.60	3.39	2.98	5.10	3.92	2.89

CUADRO IL

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8919. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	59.198	29.787	14.835	7.679	3.823	1.849
2	63.928	29.308	15.271	7.189	3.423	1.971
3	64.976	30.139	15.314	6.492	3.468	1.998
4	67.397	29.835	14.735	6.525	3.361	2.029
5	62.514	30.361	15.511	6.921	3.423	1.981
$\bar{x}$	63.603	29.886	15.133	6.961	3.500	1.966
D.E.	3.040	0.399	0.332	0.495	0.185	0.069
% ϵ	-6.00	0.38	-0.89	7.18	6.68	-4.83
%cv	4.78	1.33	2.20	7.11	5.28	3.50

CUADRO L

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 8804. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

REPLICADO	CONCENTRACIONES TEORICAS ($\mu\text{g/ml}$)					
	60	30	15	7.50	3.750	1.875
	CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES					
1	62.350	31.295	14.227	6.996	3.796	1.899
2	60.815	30.367	14.834	7.343	3.749	1.885
3	58.981	30.677	15.196	7.423	3.675	1.894
4	62.834	29.462	15.105	7.237	3.646	1.915
5	59.700	31.003	14.294	7.267	3.973	1.841
$\bar{x}$	60.936	30.561	14.731	7.253	3.768	1.887
D.E.	1.655	0.706	0.450	0.161	0.129	0.028
% ϵ	-1.56	1.87	1.79	3.29	-0.47	-0.63
%cv	2.72	2.31	3.06	2.22	3.43	1.47

CUADRO LI

Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdiaria de ITV 9201. Se acompañan los valores medios ($\bar{x}$), desviación estándar (D.E.), error relativo porcentual (% ϵ) y coeficiente de variación porcentual (%cv).

La **linealidad** de la metódica, expresada por el coeficiente de correlación, así como los valores de la ordenada en el origen y de la pendiente de las rectas, acompañadas de sus respectivas desviaciones estándar, se consignan en los Cuadros XXXVI a XLIII para la validación intradía y en los Cuadros LII a LIX para la interdía.

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	9.681 ± 0.063	0.044 ± 0.026	0.9999; 154.06
2	9.535 ± 0.162	0.242 ± 0.065	0.9994; 58.70
3	9.572 ± 0.108	0.118 ± 0.044	0.9997; 88.96
4	9.202 ± 0.069	-1.383 ± 0.030	0.9998; 132.74
5	9.379 ± 0.234	0.289 ± 0.094	0.9987; 40.12

CUADRO XXXVI

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ciprofloxacino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	6.151 $\pm$ 0.054	0.070 $\pm$ 0.034	0.9998; 113.75
2	6.404 $\pm$ 0.243	0.361 $\pm$ 0.142	0.9971; 26.30
3	6.925 $\pm$ 0.227	-0.161 $\pm$ 0.134	0.9978; 30.43
4	6.702 $\pm$ 0.244	0.242 $\pm$ 0.139	0.9973; 27.47
5	6.846 $\pm$ 0.205	0.035 $\pm$ 0.118	0.9982; 33.45

CUADRO XXXVII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 8902. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	6.479 $\pm$ 0.110	0.158 $\pm$ 0.066	0.9994; 58.63
2	6.379 $\pm$ 0.082	0.002 $\pm$ 0.051	0.9996; 77.63
3	6.326 $\pm$ 0.113	0.102 $\pm$ 0.069	0.9993; 56.14
4	6.267 $\pm$ 0.018	-0.007 $\pm$ 0.012	0.9999; 338.52
5	6.111 $\pm$ 0.168	0.288 $\pm$ 0.104	0.9985; 36.37

CUADRO XXXVIII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de enrofloxacin. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	11.115 $\pm$ 0.391	-0.043 $\pm$ 0.141	0.9975; 28.43
2	9.542 $\pm$ 0.278	0.510 $\pm$ 0.106	0.9982; 34.25
3	9.336 $\pm$ 0.329	0.598 $\pm$ 0.126	0.9975; 28.38
4	11.408 $\pm$ 0.551	0.746 $\pm$ 0.169	0.9953; 20.69
5	9.510 $\pm$ 0.483	0.749 $\pm$ 0.177	0.9948; 19.70

CUADRO XXXIX

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 9203. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	8.680 $\pm$ 0.106	-0.031 $\pm$ 0.049	0.9996; 81.60
2	8.996 $\pm$ 0.169	0.211 $\pm$ 0.072	0.9992; 53.34
3	8.638 $\pm$ 0.069	-0.131 $\pm$ 0.033	0.9998; 124.41
4	8.705 $\pm$ 0.268	0.339 $\pm$ 0.115	0.9981; 32.47
5	8.757 $\pm$ 0.263	0.324 $\pm$ 0.113	0.9981; 33.27

CUADRO XL

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 8706. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	11.249 $\pm$ 0.233	0.163 $\pm$ 0.080	0.9991; 48.30
2	11.350 $\pm$ 0.060	-0.061 $\pm$ 0.021	0.9999; 188.90
3	10.772 $\pm$ 0.141	-0.086 $\pm$ 0.053	0.9996; 76.12
4	10.998 $\pm$ 0.216	0.334 $\pm$ 0.074	0.9992; 50.82
5	10.919 $\pm$ 0.169	-0.117 $\pm$ 0.063	0.9995; 64.74

CUADRO XLI

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 8919. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	6.136 $\pm$ 0.246	0.539 $\pm$ 0.145	0.9967; 24.89
2	6.401 $\pm$ 0.327	0.560 $\pm$ 0.184	0.9948; 19.54
3	6.030 $\pm$ 0.300	0.426 $\pm$ 0.176	0.9951; 20.10
4	6.422 $\pm$ 0.250	0.499 $\pm$ 0.142	0.9969; 25.66
5	6.519 $\pm$ 0.318	0.596 $\pm$ 0.175	0.9952; 20.46

CUADRO XLII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 8804. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	8.661 ± 0.177	0.282 ± 0.077	0.9991; 48.74
2	8.296 ± 0.214	-0.282 ± 0.107	0.9986; 38.80
3	7.815 ± 0.224	0.108 ± 0.112	0.9983; 34.85
4	6.959 ± 0.316	0.043 ± 0.179	0.9958; 21.99
5	9.268 ± 0.099	-0.060 ± 0.043	0.9997; 93.87

CUADRO XLIII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica intradía de ITV 9201. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	5.193 $\pm$ 0.217	-0.304 $\pm$ 0.175	0.9965; 23.96
2	4.885 $\pm$ 0.318	-0.712 $\pm$ 0.294	0.9915; 15.28
3	4.124 $\pm$ 0.229	0.663 $\pm$ 0.247	0.9938; 18.01
4	5.421 $\pm$ 0.155	0.330 $\pm$ 0.120	0.9983; 35.03
5	5.429 $\pm$ 0.163	-0.305 $\pm$ 0.113	0.9981; 33.23

CUADRO LII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de ciprofloxacino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	5.071 $\pm$ 0.034	-0.025 $\pm$ 0.026	0.9999; 150.18
2	4.963 $\pm$ 0.179	-0.432 $\pm$ 0.154	0.9973; 27.66
3	5.295 $\pm$ 0.099	-0.293 $\pm$ 0.078	0.9993; 53.48
4	7.534 $\pm$ 0.387	0.379 $\pm$ 0.190	0.9947; 19.48
5	6.151 $\pm$ 0.054	0.070 $\pm$ 0.034	0.9998; 113.75

CUADRO LIII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de ITV 8902. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	4.817 $\pm$ 0.078	-0.407 $\pm$ 0.069	0.9994; 61.89
2	4.368 $\pm$ 0.151	-0.531 $\pm$ 0.151	0.9976; 28.84
3	3.631 $\pm$ 0.174	-0.557 $\pm$ 0.209	0.9954; 20.28
4	6.357 $\pm$ 0.213	0.012 $\pm$ 0.133	0.9977; 29.81
5	6.267 $\pm$ 0.018	-0.007 $\pm$ 0.012	0.9999; 338.52

CUADRO LIV

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de enrofloxacino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	7.515 $\pm$ 0.192	0.224 $\pm$ 0.098	0.9986; 39.05
2	6.767 $\pm$ 0.124	-0.028 $\pm$ 0.073	0.9993; 54.44
3	9.376 $\pm$ 0.349	-0.222 $\pm$ 0.154	0.9972; 26.84
4	10.277 $\pm$ 0.482	-0.261 $\pm$ 0.195	0.9956; 21.34
5	11.115 $\pm$ 0.391	-0.043 $\pm$ 0.141	0.9975; 28.43

CUADRO LV

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de ITV 9203. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	6.121 $\pm$ 0.125	0.064 $\pm$ 0.080	0.9991; 48.88
2	5.673 $\pm$ 0.303	-0.717 $\pm$ 0.240	0.9943; 18.71
3	4.690 $\pm$ 0.097	-0.623 $\pm$ 0.088	0.9992; 50.58
4	9.304 $\pm$ 0.196	0.104 $\pm$ 0.082	0.9991; 47.52
5	8.638 $\pm$ 0.069	-0.131 $\pm$ 0.033	0.9998; 124.41

CUADRO LVI

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de ITV 8706. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	13.271 $\pm$ 0.937	0.792 $\pm$ 0.243	0.9901; 14.17
2	12.329 $\pm$ 0.398	0.286 $\pm$ 0.122	0.9979; 30.99
3	12.221 $\pm$ 0.466	0.280 $\pm$ 0.144	0.9971; 26.22
4	10.603 $\pm$ 0.261	0.231 $\pm$ 0.094	0.9987; 40.53
5	11.249 $\pm$ 0.233	0.163 $\pm$ 0.080	0.9991; 48.30

CUADRO LVII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica inter día de ITV 8919. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	8.188 $\pm$ 0.089	0.056 $\pm$ 0.043	0.9997; 91.31
2	8.976 $\pm$ 0.334	0.518 $\pm$ 0.135	0.9972; 26.85
3	6.872 $\pm$ 0.370	0.528 $\pm$ 0.194	0.9942; 18.59
4	5.731 $\pm$ 0.366	0.690 $\pm$ 0.224	0.9919; 15.67
5	6.136 $\pm$ 0.246	0.539 $\pm$ 0.145	0.9967; 24.89

CUADRO LVIII

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica interdía de ITV 8804. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

REPLICADO	PENDIENTE	ORDENADA EN EL ORIGEN	COEF. DE CORRELACION
1	11.853 $\pm$ 0.352	0.714 $\pm$ 0.104	0.9982; 33.64
2	11.231 $\pm$ 0.097	0.604 $\pm$ 0.031	0.9998; 115.44
3	9.744 $\pm$ 0.110	0.112 $\pm$ 0.044	0.9997; 88.59
4	9.893 $\pm$ 0.200	0.184 $\pm$ 0.078	0.9991; 49.41
5	8.296 $\pm$ 0.214	-0.282 $\pm$ 0.107	0.9986; 38.80

CUADRO LIX

Valores de la pendiente y de la ordenada en el origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar en la validación analítica interdía de ITV 9201. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación y su significación ($p < 0.05$).

3.3. ESTIMACION DEL pK_a .

Los valores promedio de pK_a obtenidos, de acuerdo con la metodología expuesta en el epígrafe 2.2. del Capítulo II, se consignan en el Cuadro LX. Cada valor promedio se acompaña de la desviación estándar correspondiente. Se han realizado en cada caso seis replicados. Tal como queda reflejado en el cuadro, las fluoroquinolonas ITV 8919, ITV 8804 y ITV 9201 sólo poseen un valor de pK_a .

QUINOLONA	pK_{a1}	pK_{a2}
Ciprofloxacino	6.20 ± 0.10	8.59 ± 0.10
ITV 8902	5.83 ± 0.05	7.57 ± 0.05
Enrofloxacino	6.26 ± 0.03	7.81 ± 0.03
ITV 9203	5.99 ± 0.13	8.46 ± 0.13
ITV 8706	6.02 ± 0.01	7.27 ± 0.01
ITV 8919	6.37 ± 0.17	-----
ITV 8804	6.37 ± 0.06	-----
ITV 9201	7.72 ± 0.22	-----

CUADRO LX

Valores promedio estimadas de pK_a correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas acompañados de sus desviaciones estándar.

3.4. ESTIMACION DEL COEFICIENTE DE REPARTO.

Los coeficientes de reparto obtenidos para las fluoroquinolonas estudiadas, estimados en un sistema n-octanol/agua, se consignan en el Cuadro LXI, en el que se detallan los valores promedio hallados tras realizar seis replicados, acompañados de sus desviaciones estándar.

QUINOLONA	COEFICIENTE DE REPARTO
Ciprofloxacino	0.0354 ± 0.0005
ITV 8902	2.6020 ± 0.1720
Enrofloxacinó	2.3700 ± 0.4210
ITV 9203	9.5920 ± 0.2500
ITV 8706	0.4700 ± 0.0450
ITV 8919	16.1700 ± 2.7100
ITV 8804	1.5950 ± 0.0620
ITV 9201	1.6420 ± 0.0820

CUADRO LXI

Valores promedio del coeficiente de reparto n-octanol/agua acompañados de sus desviaciones estándar correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas.

3.5. ESTIMACION DEL FACTOR DE CAPACIDAD CROMATOGRAFICO.

De acuerdo con la metodología descrita en el epígrafe 2.4. correspondiente al capítulo de material y métodos, se han calculado los tiempos de retención (t_r) de la sustancia patrón (dicromato potásico) y de las fluoroquinolonas ensayadas; en el Cuadro LXII se consignan los valores medios de t_r , tras tres replicados, así como los valores del coeficiente de capacidad cromatográfico (k'). En la última columna figuran los valores correspondientes a los logaritmos del factor de capacidad cromatográfico.



ARMACIA

SUSTANCIA ENSAYADA	tiempo de retención(t_r)			t_r medio $\pm$ D.E.	k'	log k'
	t_r 1	t_r 2	t_r 3			
Dicromato K^+	1.25	1.24	1.25	1.25 ± 0.01	-----	-----
Ciprofloxacino	1.35	1.36	1.35	1.35 ± 0.01	0.085	-1.066
ITV 8902	1.37	1.37	1.37	1.37 ± 0.00	0.099	-1.022
Enrofloxacin	1.40	1.39	1.39	1.39 ± 0.01	0.118	-0.928
ITV 9203	1.42	1.41	1.42	1.42 ± 0.01	0.136	-0.865
ITV 8706	1.35	1.32	1.34	1.34 ± 0.01	0.072	-1.141
ITV 8919	5.00	5.05	5.02	5.02 ± 0.02	3.031	0.482
ITV 8804	2.56	2.58	2.57	2.57 ± 0.01	1.063	0.026
ITV 9201	5.35	5.37	5.37	5.36 ± 0.01	3.304	0.519

CUADRO LXII

Valores individuales del tiempo de retención (t_r) y su valor medio acompañado de su desviación estándar (D.E.), valor del coeficiente de capacidad cromatográfico (k') y su logaritmo, para las fluoroquinolonas estudiadas.

3.6. PARAMETROS ESTRUCTURALES, TOPOLOGICOS, ELECTRONICOS Y FISICOQUIMICOS.

A fin de intentar establecer correlaciones a nivel predictivo entre la constante de velocidad de absorción de las fluoroquinolonas estudiadas y algunas de las características de sus estructuras moleculares, se determinaron, a nivel teórico, de acuerdo con la metodología expuestas en el epígrafe 2.5. del capítulo anterior, diversos parámetros estructurales, topológicos y electrónicos, los cuales se exponen en los Cuadros LXIII a LXIX. En los Cuadros I-IX, LXI Y LXII se exponen los valores de los parámetros fisicoquímicos determinados experimentalmente, con el fin de informar al lector acerca de las numerosas variables independientes potenciales de que se disponía en el intento de establecer correlaciones con los parámetros de absorción tomados como variables dependientes (k_{abs} o su logartimo).

FARMACO	PARAMETROS TOPOLOGICOS										
	3Xcv	DIF3Xp	DIF3Xc	4Xp	4Xpc	4Xpv	DIF4Xp	4Xpcv	DIF4Xpc	DIF1Xv	DIF2Xv
Ciprofloxacino	0.7740	1.7000	0.3870	4.7970	2.4240	3.2390	1.5570	1.5790	0.8440	1.6430	1.9600
ITV 8902	0.9640	1.7240	0.4530	4.9540	2.8320	3.3810	1.5730	1.8960	0.9360	1.6640	2.0290
Enrofloxacin	0.8980	1.8150	0.4330	5.2650	2.9170	3.6380	1.6260	1.9610	0.9550	1.6270	2.0660
ITV 9203	1.0270	1.8150	0.4710	5.3560	3.0920	3.7090	1.6470	2.0970	0.9950	1.6260	2.0830
ITV 8706	0.8980	1.9660	0.4330	5.5530	2.8570	3.6870	1.8660	1.9150	0.9420	2.0180	2.3160
ITV 8919	0.9980	1.1640	0.4630	4.9480	2.8390	3.9230	1.0250	1.9010	0.9380	0.9290	1.2470
ITV 8804	0.7400	1.7340	0.3870	4.7560	2.4240	3.1380	1.6590	1.5790	0.8440	1.7730	2.0980
ITV 9201	1.5830	1.8050	0.5870	4.7970	3.0680	3.2870	1.4690	1.9440	1.1240	1.6690	2.1440

CUADRO LXIII

Parámetros topológicos correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

FARMACO	PARAMETROS ELECTRONICOS									
	QX24	QN1	QC2	QC3	QC4	QC5	QC6	QC7	QC8	QC9
Ciprofloxacino	-0.2895	-0.1600	0.1168	-0.3483	0.3333	-0.1910	-0.0626	0.0619	0.1258	-0.2477
ITV 8902	-0.2635	-0.1560	0.1179	-0.3513	0.3299	-0.1611	-0.0881	0.1084	0.0807	-0.2069
Enrofloxacinó	-0.2633	-0.1561	0.1197	-0.3520	0.3293	-0.1441	-0.1038	0.1404	0.0363	-0.1872
ITV 9203	-0.2539	-0.1625	0.1098	-0.2934	0.3129	-0.1423	-0.0944	0.0874	0.0259	-0.1954
ITV 8706	-0.2408	-0.1603	0.1189	-0.3497	0.3317	-0.1785	-0.0719	0.0786	0.1017	-0.2278
ITV 8919	-0.0318	-0.1582	0.1185	-0.3495	0.3309	-0.1667	-0.0806	0.1007	0.0869	-0.2158
ITV 8804	-0.2526	-0.1616	0.1089	-0.2938	0.3186	-0.1734	-0.0756	0.0909	0.0950	-0.2238
ITV 9201	0.0241	-0.1576	0.1165	-0.3487	0.3317	-0.1436	-0.0961	0.0890	0.0223	-0.1856

CUADRO LXIV

Parámetros electrónicos correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

FARMACO	PARAMETROS ELECTRONICOS							
	QC10	QC11	QC12	QC13	QC14	QF15	QN16	QC20
Ciprofloxacino	0.1233	0.3720	-0.3542	-0.2856	-0.3553	-0.1559	-0.2647	-0.0712
ITV 8902	0.0976	0.3725	-0.3535	-0.2845	-0.3503	0.1459	-0.2673	-0.095
Enrofloxacino	0.0827	0.3723	-0.3519	-0.2839	-0.3458	-0.1395	-0.2265	-0.0733
ITV 9203	0.0768	0.3717	-0.3283	-0.3514	-0.2845	-0.0841	-0.2213	-0.0685
ITV 8706	0.1159	0.3721	-0.3527	-0.2842	-0.3510	-0.1545	-0.2565	-0.7360
ITV 8919	0.1034	0.3719	-0.3515	-0.2841	-0.3476	-0.1471	-0.2644	-0.0726
ITV 8804	0.1078	0.3724	-0.3528	-0.2841	-0.3504	-0.1498	-0.2503	-0.0694
ITV 9201	0.0767	0.3683	-0.3279	-0.3511	-0.2772	-0.0838	-0.2223	-0.0683

CUADRO LXV

Parámetros electrónicos correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

FARMACO	PARAMETROS ESTRUCTURALES			
	PM	VM	MD	SM
Ciprofloxacino	331.350	241.500	10.7690	309.800
ITV 8902	345.160	255.400	9.7150	333.000
Enrofloxacino	360.150	269.000	9.5430	352.000
ITV 9203	373.420	290.700	9.1560	390.500
ITV 8706	376.160	275.500	7.9010	358.700
ITV 8919	349.200	247.400	9.0370	316.500
ITV 8804	330.140	238.800	9.0200	308.700
ITV 9201	346.000	251.700	7.6710	322.300

CUADRO LXVI

Parámetros estructurales correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

FARMACO	PARAMETROS TOPOLOGICOS									
	OX	OXv	DifOX	1X	1Xv	2X	2Xv	3Xp	3Xc	3Xpv
Ciprofloxacino	15.3280	13.0880	2.2400	9.7770	8.1340	8.3330	6.3730	6.1390	1.1280	4.4400
ITV 8902	16.1980	14.0350	2.1630	10.1710	8.5060	8.9560	6.9270	6.5500	1.4160	4.8270
Enrofloxacino	16.9050	14.7420	2.1630	10.7090	9.0820	9.1250	7.0580	6.9580	1.3320	5.1430
ITV 9203	18.1980	16.0350	2.1630	11.0470	9.4200	9.4110	7.3270	6.9550	1.4980	5.1400
ITV 8706	17.6120	14.8970	2.7160	11.2090	9.1920	9.5050	7.1890	7.0780	1.3320	5.1120
ITV 8919	15.9140	14.1790	2.7350	9.6160	8.6860	9.1070	7.8600	6.3500	1.4610	5.1860
ITV 8804	15.3280	12.9960	2.3320	9.7770	8.0040	8.3340	6.2360	6.1400	1.1280	4.3340
ITV 9201	16.7840	14.1980	2.5850	10.0090	8.3390	8.8610	6.7170	6.4270	1.5830	4.6920

CUADRO LXVII

Parámetros topológicos correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

FARMACO	PARAMETROS FISICOQUIMICOS				
	log k'	P	log P	S ₀	log S ₀
Ciprofloxacino	-1.0936	0.0354	-1.4510	0.1320	-0.8794
ITV 8902	-1.0132	2.6020	0.4153	0.1510	-0.8210
Enrofloxacino	-0.9303	2.3700	0.3747	0.4160	-0.3809
ITV 9203	---	9.5920	0.9820	0.3680	-0.434
ITV 8706	-1.0847	0.4700	-0.3279	1.3590	0.1332
ITV 8919	0.4695	16.1700	1.2087	0.0022	-2.6576
ITV 8804	---	1.5950	0.2030	0.1680	-2.1020
ITV 9201	0.0206	1.6420	0.2154	0.0079	-0.774

CUADRO LXVIII

Parámetros fisicoquímicos correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas utilizadas en el intento de establecer correlaciones no lineales simples y lineales múltiples.

3.7. ESTUDIO DE LA VELOCIDAD DE ABSORCIÓN DE LAS FLUOROQUINOLONAS.

En el estudio de la velocidad de absorción de las fluoroquinolonas, según la metodología expuesta en el epígrafe 2.6. del capítulo correspondiente a material y métodos, se han determinado las concentraciones de fármaco remanentes en el lugar de absorción en función del tiempo y, asimismo, la variación de volumen de las soluciones medicamentosas a lo largo de la experiencia.

3.7.1. Variaciones de volumen de las soluciones medicamentosas.

En el Cuadro LXX se exponen los valores medios de los volúmenes remanentes de solución medicamentosa correspondiente a las fluoroquinolonas ensayadas y a las concentraciones estudiadas. También se consignan los valores de pH de las soluciones problema al final de la experiencia. Se consignan, en todos los casos, las correspondientes desviaciones estándar de los valores promedio con cinco replicados.

QUINOLONA	DOSIS (mM)	VVR $\pm$ D.E. (ml)	pH _f $\pm$ D.E.
Ciprofloxacino	0.04	0.83 $\pm$ 1.91	7.05 $\pm$ 0.11
Ciprofloxacino	0.15	2.72 $\pm$ 3.07	6.90 $\pm$ 0.12
Ciprofloxacino	0.40	0.80 $\pm$ 2.36	7.02 $\pm$ 0.11
ITV 8902	0.04	1.20 $\pm$ 5.36	6.90 $\pm$ 0.23
ITV 8902	0.40	-0.1 $\pm$ 2.10	6.98 $\pm$ 0.17
Enrofloxacino	0.04	2.92 $\pm$ 3.48	6.83 $\pm$ 0.09
Enrofloxacino	0.40	0.80 $\pm$ 2.36	7.02 $\pm$ 0.11
ITV 9203	0.04	2.20 $\pm$ 2.16	6.89 $\pm$ 0.04
ITV 8706	0.04	2.16 $\pm$ 2.46	6.90 $\pm$ 0.07
ITV 8919	0.04	5.16 $\pm$ 1.52	6.88 $\pm$ 0.06
ITV 8804	0.04	3.66 $\pm$ 2.27	6.96 $\pm$ 0.10
ITV 9201	0.04	5.80 $\pm$ 4.35	6.84 $\pm$ 0.10

CUADRO LXX

Variaciones medias de volumen (VVR) de las soluciones problema correspondientes a las fluoroquinolonas ensayadas y, valores medios de los pH al finalizar la experiencia. Se acompañan las desviaciones estándar en ambos casos.

3.7.2. Cálculo de la constante de velocidad de absorción(k_a).

Mediante la metodología detallada en el epígrafe 2.6.4.3.2. del capítulo "Material y métodos", se ha procedido a la determinación de las concentraciones remanentes de fluoroquinolona en las soluciones de perfusión, para cada uno de los tiempos prefijados de toma de muestras, así como las constantes de velocidad de absorción estimadas de acuerdo con una cinética de primer orden.

En los Cuadros LXXI a LXXXII se consignan los valores individuales de las concentraciones de fluoroquinolonas remanentes en la solución medicamentosa para cada tiempo de toma de muestra y concentración de fármaco utilizada. También se exponen en estos Cuadros los valores obtenidos para las constantes de velocidad de absorción aparente correspondientes a cada fluoroquinolona, acompañados de sus errores estándar obtenidos en cada animal de experimentación, así como los valores promedio para este parámetro, junto con sus desviaciones estándar. De acuerdo con la metodología seguida, se detallan en estos Cuadros los valores experimentales correspondientes a las concentraciones remanentes considerados estadísticamente como aberrantes y se especifica en cada caso si el valor de la pendiente de la recta, representativa de la constante aparente de la velocidad de absorción, no es distinta de cero.

En el Cuadro LXXXIII se resumen los valores promedio estimados para las constantes de velocidad de absorción para la serie de fluoroquinolonas estudiadas. Se emplearon los valores promedio para intentar establecer correlaciones con parámetros de reparto y otros parámetros fisicoquímicos, dado que éstos tienen mayor significación estadística al ir acompañados de las correspondientes desviaciones.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	14.76	14.40	14.87	14.83	15.74
30	14.77	14.03	15.93	14.84	15.37
45	14.43	14.00	14.46	14.33	15.78
60	14.20	13.71	14.77	14.11	15.49
75	13.48	13.78	14.67	14.07	15.61
90	13.65	13.31	14.76	13.75	15.49
105	13.04	13.09	14.62	13.57	15.63
120	12.97	12.94	14.99	12.93*	15.13
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.0828	0.0600	0.0018!	0.0270	0.0048!
E.E.	0.0780	0.0020	0.0036	0.0020	0.0036
r^2	0.9490	0.9900	0.0438	0.9597	0.2633

k_{abs} promedio: $0.0353 \pm 0.0353 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXI

Concentraciones remanentes de ciprofloxacino ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

! Valor de la constante de absorción no distinto de cero.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	14.38	13.59*	13.01*	12.29	10.95
30	----	13.44	11.65	10.74	9.06
45	----	13.71*	9.93	9.85	8.11
60	11.66	12.10	9.21	8.80	8.04
75	11.25	11.32	8.10	7.97	7.24
90	10.51	10.45	7.38	7.49	6.32
105	10.08	9.98	6.70	6.74	5.78
120	9.38	9.44	6.11	6.01	----
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.2390	0.2400	0.3940	0.3940	0.3940
E.E.	0.0096	0.0080	0.0120	0.0110	0.0330
r^2	0.9936	0.9955	0.9962	0.9951	0.9661

$$k_{\text{abs}} \text{ promedio: } 0.3320 \pm 0.0850 \text{ h}^{-1}$$

CUADRO LXXII

Concentraciones remanentes de ITV 8902 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)						
	RATA						
	1	2	3	4	5	6	7
15	12.64	15.80	12.42	13.34	14.57	13.62	12.43
30	10.99	14.34	11.11	11.41	12.69	12.24	10.93
45	10.03	12.82	9.82	10.61	11.76	10.74	9.76
60	8.54	11.51	8.70	9.22	11.62*	10.36	9.23*
75	7.41	10.41	7.76	8.77	9.43	----	7.75
90	6.55	9.62	6.74	7.70	8.46	8.26	6.90
105	5.92	7.72*	5.73*	6.91	7.83	7.39	6.66*
120	5.21	7.52	5.63	6.61	6.92	7.30*	6.13*
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.5100	0.4190	0.4620	0.4100	0.4150	0.3980	0.4670
E.E.	0.0100	0.0030	0.0114	0.0180	0.0030	0.0180	0.0048
r^2	0.9975	0.9978	0.9969	0.9883	0.9976	0.9902	0.9997

k_{abs} promedio: $0.4390 \pm 0.0417 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXIII

Concentraciones remanentes de enrofloxacinó ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	7.20*	6.25	8.53*	8.25*	7.88*
30	7.19	5.26	5.32*	6.26*	7.76
45	6.31	4.11	5.04	4.59*	6.80
60	5.49	3.44	4.28	4.51	5.63
75	4.66	3.30	3.60	3.85	4.80
90	3.94	2.58	3.00	3.25	4.15
105	3.18	2.29	2.64	2.73	2.55*
120	2.10*	1.87*	2.11	2.33*	2.82
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.6470	0.6690	0.6830	0.6650	0.6750
E.E.	0.0280	0.0290	0.0190	0.0070	0.0180
r^2	0.9923	0.9885	0.9968	0.9997	0.9972

k_{abs} promedio: $0.6670 \pm 0.0130 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXIV

Concentraciones remanentes de ITV 9203 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)					
	RATA					
	1	2	3	4	5	6
15	18.28	20.65	----	10.37	13.61	14.72
30	----	19.74	9.39	9.72	13.48	14.37
45	16.38	20.24	9.46	9.88	13.17	14.04
60	----	22.65	9.49*	10.02	13.21	14.47
75	16.17	23.45	----	9.72	13.09	13.96
90	16.42	20.55	9.34	10.61	14.39*	13.82
105	15.07	17.19	9.54	10.20	14.06*	13.76
120	16.74	22.96	9.55	9.93	13.58*	13.99
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.0630 [!]	0.0460 [!]	0.0096	0.0054 [!]	0.0390	0.0312
E.E.	0.0360	0.0800	0.0024	0.0204	0.0090	0.0100
r^2	0.4407	0.0614	0.8611	0.0123	0.8661	0.6427

k_{abs} promedio: $0.0321 \pm 0.0220 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXV

Concentraciones remanentes de ITV 8706 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

! Valor de la constante de absorción no distinto de cero.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	9.60*	12.23	11.10	10.20	10.93
30	----	9.31	7.80*	8.25	6.43
45	7.17	7.03	7.30*	6.04	6.36
60	5.97	2.72*	6.40	5.37	5.81
75	4.22	2.98	5.42	4.27	4.72
90	3.28	2.38	----	3.61	3.72
105	1.30	2.16	3.83	3.06	3.36
120	1.84*	1.90	3.17	2.66	2.83
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	1.1130	1.1420	0.7110	0.7680	0.6920
E.E.	0.0430	0.0960	0.0060	0.0330	0.0670
r^2	0.9956	0.9663	0.9997	0.9889	0.9460

k_{abs} promedio: $0.8850 \pm 0.2230 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXVI

Concentraciones remanentes de ITV 8919 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)					
	RATA					
	1	2	3	4	5	6
15	----	9.37*	8.08*	8.90*	7.72*	7.57*
30	8.47	7.50	5.94*	7.18*	6.04	5.37*
45	6.90	6.36	4.55	5.98*	5.23	3.77
60	6.53	5.37	4.14	4.82	4.48	2.97
75	5.59	4.31*	3.69	4.30	----	2.50
90	5.13	3.85	3.22	3.89	3.46	2.19
105	4.25	3.23	2.73	3.43	3.02	1.79
120	3.81	2.71	2.60	3.13	2.73*	1.62
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.5160	0.6780	0.4770	0.4370	0.5520	0.6770
E.E.	0.0250	0.0040	0.0280	0.0110	0.0100	0.0370
r^2	0.9879	0.9998	0.9870	0.9979	0.9990	0.9884

k_{abs} promedio: $0.5560 \pm 0.1010 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXVII

Concentraciones remanentes de ITV 8804 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	10.75*	10.49	11.11	11.16	9.24
30	9.49	10.10	10.36*	10.68	8.60
45	8.92	9.43	9.53	9.54	8.35
60	7.85*	8.94	8.74	8.68	7.47
75	----	8.04	7.77	8.51	7.31
90	7.56	8.08	7.25	7.58	6.85
105	6.87	7.52	6.56	7.28	6.38
120	6.53	6.95	----	6.54	6.05
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.2490	0.2340	0.3570	0.3030	0.2410
E.E.	0.0110	0.0130	0.0100	0.0140	0.0100
r^2	0.9939	0.9826	0.9964	0.9870	0.9883

k_{abs} promedio: $0.2760 \pm 0.0520 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXVIII

Concentraciones remanentes de ITV 9201 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.04 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	40.30	55.19	54.00	55.34	56.74
30	39.86	50.39	59.09*	----	53.15
45	40.90*	50.30	54.77	----	55.07
60	41.99*	----	49.78*	54.98	57.38
75	37.98	49.28	53.27	50.66	55.45
90	37.78	52.02	54.91	53.06	57.64
105	37.81	46.93	52.96	53.02	56.88
120	37.10	33.31*	52.79	49.28	58.09
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.0462	0.0630!	0.0138!	0.0534!	0.0288!
E.E.	0.0048	0.0330	0.0114	0.0252	0.0156
r^2	0.9604	0.4745	0.2792	0.5324	0.3637

$$k_{\text{abs}} \text{ promedio: } 0.0410 \pm 0.0197 \text{ h}^{-1}$$

CUADRO LXXIX

Concentraciones remanentes de ciprofloxacino ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.15 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

! Valor de la constante de absorción no distinto de cero.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	131.45*	128.41	134.47	126.85	131.17*
30	127.47	125.32	129.01	122.07	126.69
45	126.70	119.63*	129.59	121.18	121.47
60	125.09	121.96	126.63	118.36	118.65
75	122.74	121.44	126.16	116.97	115.11
90	125.22	117.68	124.24	115.13	116.11
105	124.69	118.39	126.39	115.17	111.97
120	124.96	117.90	123.75	116.53*	112.55
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.0132!	0.0500	0.0390	0.0630	0.0600
E.E.	0.0084	0.0070	0.0080	0.0080	0.0080
r^2	0.3340	0.9253	0.7845	0.9320	0.9117

k_{abs} promedio: $0.0450 \pm 0.0201 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXX

Concentraciones remanentes de ciprofloxacino ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.4 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

! Valor de la constante de absorción no distinto de cero.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)				
	RATA				
	1	2	3	4	5
15	127.64	142.51	109.19*	129.50	105.74
30	113.96	129.31	102.85	109.17	105.59
45	98.20	115.02	97.60	98.91	98.21
60	86.38	102.34*	91.65	87.62	91.41
75	73.87	95.14	86.93	78.76	86.54
90	65.19	87.21	82.75	74.78	81.45
105	57.45	77.51	78.45	69.07	77.82
120	49.80	69.92	74.72	65.89	76.49
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.5430	0.4040	0.2140	0.3790	0.2100
E.E.	0.0060	0.0050	0.0080	0.0280	0.0130
r^2	0.9993	0.9990	0.9988	0.9690	0.9767

k_{abs} promedio: $0.3500 \pm 0.1410 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXXI

Concentraciones remanentes de ITV 8902 ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.4 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

TIEMPO (min)	CONCENTRACIONES REMANENTES ($\mu\text{g/ml}$)						
	RATA						
	1	2	3	4	5	6	7
15	132.65*	109.06	117.30	121.22	108.42	122.61	125.23
30	106.78	90.77	98.51	93.84	90.90	115.37	115.42
45	98.44	78.77	84.86	80.21	80.57	105.80	95.35
60	86.27	72.44	59.16*	73.40	73.21	95.32	86.43
75	74.90	65.12	61.38	59.87	62.96	85.64	80.25
90	69.19	56.50	50.52	54.65	56.56	78.23	72.01
105	63.47	48.73	40.90*	47.08	51.09	70.01	65.22
120	57.80	44.47	37.67	33.71	46.58	59.12	60.79
$k_{\text{abs}} (\text{h}^{-1})$	0.4200	0.5000	0.6530	0.6220	0.4760	0.4100	0.4200
E.E.	0.0190	0.0170	0.0100	0.0290	0.0160	0.0180	0.0048
r^2	0.9906	0.9933	0.9992	0.9873	0.9933	0.9872	0.9861

k_{abs} promedio: $0.5001 \pm 0.0998 \text{ h}^{-1}$

CUADRO LXXXII

Concentraciones remanentes de enrofloxacino ($\mu\text{g/ml}$) en lumen intestinal a los tiempos de toma de muestras reseñados correspondientes al ensayo realizado con una solución 0.4 mM. Se consignan los valores individuales de la constante de velocidad de absorción y el error estándar (E.E.) de dicho parámetro, así como el valor medio acompañado de su desviación estándar.

* Punto excluido tras diagnóstico de aberrantes.

QUINOLONA	D (mM)	$k_a \pm D.E. (h^{-1})$	n
Ciprofloxacin	0.04	0.035 ± 0.035	6
Ciprofloxacin	0.15	0.041 ± 0.019	5
Ciprofloxacin	0.40	0.042 ± 0.025	5
ITV 8902	0.04	0.332 ± 0.085	5
ITV 8902	0.40	0.350 ± 0.141	5
Enrofloxacin	0.04	0.439 ± 0.042	7
Enrofloxacin	0.40	0.500 ± 0.099	7
ITV 9203	0.04	0.667 ± 0.013	5
ITV 8706	0.04	0.032 ± 0.022	6
ITV 8919	0.04	0.885 ± 0.223	5
ITV 8804	0.04	0.556 ± 0.101	6
ITV 9201	0.04	0.276 ± 0.052	5

CUADRO LXXXIII

Valores promedio de las constantes de velocidad de absorción acompañadas de sus desviaciones estándar correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas y dosis ensayadas. Se consigna también el número de animales utilizados.

2.7.3. Estudio estadístico.

El estudio estadístico, realizado con el fin de dilucidar si se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de las constantes de velocidad de absorción de la serie de fluoroquinolonas ensayadas, puso de manifiesto que las varianzas no eran homogéneas; por dicho motivo, se utilizó un ensayo no-paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) para determinar si se presentan o no diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedio de las constantes de absorción obtenidas y, en caso afirmativo, se hizo uso de la prueba U de Mann-Whitney para concretar entre qué pares de valores se presentan tales diferencias. En los Cuadros LXXXIV y LXXXV se detallan los resultados obtenidos con el estudio estadístico realizado en la presente Memoria.

GRUPO	QUINOLONA	Media de rangos	N
1	Ciprofloxacino	5.60	5
2	ITV 8902	17.40	5
3	Enrofloxacino	25.57	7
4	ITV 9203	35.40	5
5	ITV 8706	6.33	6
6	ITV 8919	42.00	5
7	ITV 8804	32.17	6
8	ITV 9201	15.60	5

CASOS	χ^2	P	Corrección por colas	
44	40.7534	0.0000	χ^2	P
			40.7649	0.0000

CUADRO LXXXIV

Prueba no paramétrica de KRUSKAL-WALLIS aplicada a los valores medios de la constante de velocidad de absorción correspondiente a las fluoroquinolonas ensayadas.

χ^2 = Chi-Cuadrado

Parámetro: k_{abs}								
FLUOROQUINOLONAS								
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-----	0.0082	0.0045	0.0090	0.7150	0.0090	0.0062	0.0090
2		----	0.0042	0.0082	0.0057	0.0082	0.0057	0.3413
3			-----	0.0045	0.0027	0.0045	0.0152	0.0045
4				-----	0.0062	0.0090	0.2012	0.0090
5					-----	0.0062	0.0039	0.0062
6						-----	0.0062	0.0090
7							-----	0.0062
8								-----

CUADRO LXXXV

Valores de significación obtenidos al aplicar a los valores medios de la constante de velocidad de absorción correspondientes a las fluoroquinolonas estudiadas, la prueba de U de Mann WHITNEY.

1: Ciprofloxacino; 2: ITV 8902; 3: enrofloxacino; 4: ITV 9203; 5: ITV 8706; 6: ITV 8919; 7: ITV 8804; 8: ITV 9201

CAPITULO 4º

DISCUSION

4. DISCUSION.

4.1. ANTECEDENTES.

Hace más de una década, los **ácidos nalidíxico y oxolínico** fueron incluidos en la práctica clínica como útiles agentes antisépticos urinarios. En la actualidad, se han comercializado otras muchas sustancias derivadas de las anteriores con actividad sistémica para el tratamiento de diversas patologías. Como consecuencia de su utilidad clínica, los derivados quinolónicos están adquiriendo gran importancia y son objeto de continua investigación. Dentro de este grupo de fármacos, los derivados **fluoroquinolónicos** poseen una contrastada aceptación en el campo de la terapéutica antiinfecciosa debido, por una parte, al hecho de presentar un amplio espectro antibacteriano y, por otra, a la posibilidad de ser utilizados en clínica por vía oral.

4.2. ABSORCION INTESTINAL RELATIVA DE LAS FLUOROQUINOLONAS.

La presente Memoria tiene como objetivo primordial estudiar las características del **proceso de absorción intestinal** de una serie de ocho fluoroquinolonas: ciprofloxacino, enrofloxacino y seis moléculas inéditas, con la pretensión de obtener información acerca de la posible utilización clínica de las sustancias de nueva síntesis. El interés del estudio comparativo de su absorción se debe a que, en muchas ocasiones, el proceso de absorción es el factor limitativo en la utilización por vía oral de sustancias con actividad farmacológica contrastada.

Previamente a los estudios de absorción, se han determinado las **características fisicoquímicas** más representativas de las fluoroquinolonas ensayadas: solubilidad, pK_a , factor de capacidad cromatográfico (k') y coeficiente de reparto, por el hecho que son de gran utilidad en los estudios de preformulación llevados a cabo cuando se pretenden diseñar formas farmacéuticas de **administración oral**. A este respecto, comentaremos brevemente algunas de estas características.

Respecto a la **solubilidad intrínseca (S_0)** de las fluoroquinolonas estudiadas, **ITV 8706** es la que presenta el mayor valor para este parámetro (1.359 ± 0.223 mg/ml) y **ITV 8919** el menor (0.0022 ± 0.000677 mg/ml). En general, los valores de solubilidad intrínseca de las fluoroquinolonas estudiadas son superiores a los publicados en la literatura para compuestos semejantes (1).

En cuanto a los valores pK_a , ciprofloxacino, enrofloxacino, **ITV 8902**, **ITV 9203** y **ITV 8706** presentan **dos valores de pK_a** , al tratarse de estructuras anfipáticas y **ITV 8919**, **ITV 8804** y **ITV 9201** presentan **un solo valor de pK_a** . En todos los casos, los valores de pK_a de estas sustancias son muy parecidos; los valores de pK_{a1} están comprendidos entre 6 y 7 y los de pK_{a2} entre 7 y 8, por lo que los cambios de pH no afectarán sustancialmente la ionización de estas fluoroquinolonas en solución.

La fluoroquinolona ITV 8919 resultó ser la que posee una mayor **coeficiente de reparto** octanol/agua (16.17 ± 2.71); sin embargo, el mayor valor del **coeficiente de capacidad cromatográfico** correspondió a la fluoroquinolona ITV 9201 (3.3014). Por otra parte, el menor valor para el **coeficiente de reparto** lo presenta ciprofloxacino (0.0354 ± 0.0005), el cual, a su vez, es el que también posee el menor valor de k' (0.0806).

El **proceso de absorción intestinal** de las fluoroquinolonas de la presente Memoria se ha estudiado empleando la rata como animal de experimentación, poniéndose de manifiesto las características de absorción de los fármacos ensayados a través de los valores estimados para la **constante de velocidad de absorción** (k_{abs}), determinados "in situ" mediante un método de perfusión desarrollado en el animal consciente.

Para calcular los valores de la constante de velocidad de absorción, las concentraciones de fármaco en las muestras de trabajo se han estimado por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE). La **metódica analítica** seguida ha sido, en todos los casos, **lineal** en el ámbito de concentraciones estudiado y suficientemente **exacta y precisa**, tanto para las determinaciones **intradía**, con valores para el coeficiente de variación (%CV) comprendidos entre 0.75% y 6.59% con errores relativos (% ϵ) entre -7.39% y +8.49%, como **interdía**, con %CV comprendidos entre 1.17% y 9.35% y % ϵ entre -6.00% y +8.68%, tal como queda resumido en el Cuadro I.

QUINOLONA ENSAYADA	%c.v.		%e		$\bar{x} \pm \bar{s}$	
	intradía	interdía	intradía	interdía	intradía	interdía
Ciprofloxacino	0.75 - 2.27	3.32 - 9.35	-1.17 - 2.42	-4.28 - 5.73	0.9995 $\pm$ 0.0005	0.9956 $\pm$ 0.0029
ITV 8902	1.72 - 3.58	2.34 - 6.19	-4.97 - 6.44	-3.07 - 2.29	0.9980 $\pm$ 0.0011	0.9982 $\pm$ 0.0022
Enrofloxacinó	1.33 - 2.33	2.92 - 5.20	-1.65 - 3.46	-4.25 - 4.83	0.9993 $\pm$ 0.0005	0.9980 $\pm$ 0.0018
ITV 9203	1.11 - 6.59	1.17 - 5.45	-1.38 - 8.49	-4.37 - 7.16	0.9966 $\pm$ 0.0015	0.9931 $\pm$ 0.0103
ITV 8706	1.83 - 3.55	2.39 - 6.42	-2.11 - 3.84	-2.52 - 1.65	0.9989 $\pm$ 0.0008	0.9983 $\pm$ 0.0022
ITV 8919	1.44 - 3.49	2.60 - 5.10	-1.85 - 0.82	-5.29 - 8.68	0.9994 $\pm$ 0.0003	0.9965 $\pm$ 0.0037
ITV 8804	0.86 - 3.32	1.33 - 7.11	-7.39 - 8.06	-6.00 - 7.18	0.9957 $\pm$ 0.0010	0.9959 $\pm$ 0.0030
ITV 9201	1.50 - 5.70	1.47 - 3.06	-3.42 - 4.33	-1.56 - 3.29	0.9983 $\pm$ 0.0015	0.9990 $\pm$ 0.0007

CUADRO I

Resumen de los valores obtenidos para la precisión (% cv), la exactitud (%) y la linealidad (valor promedio de r) en la validación de la metodología analítica empleada con las fluoroquinolonas ensayadas.

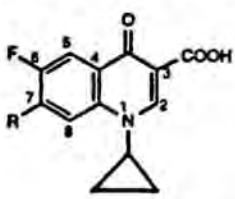
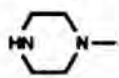
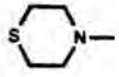
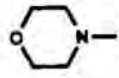
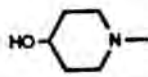
La discusión de los resultados obtenidos, en lo que se refiere al proceso de absorción de las fluoroquinolonas ensayadas, se ha considerado que puede abordarse desde dos puntos de vista: a) influencia en **la absorción** de los distintos sustituyentes que funcionalizan la posición del carbono 7 del núcleo base y b) **correlaciones** estructura/absorción.

4.2.1. Influencia de los sustituyentes en el carbono 7.

Cuando se consideran las ocho fluoroquinolonas estudiadas, los distintos sustituyentes resultan responsables de que los valores estimados para la constante de velocidad de absorción (k_{abs}) de estos compuestos presenten diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.00001$), como se infiere tras la prueba estadística realizada (ensayo de Kruskal-Wallis), tal como se ha expuesto en el Cuadro LXXVIII. El máximo k_{abs} corresponde a la fluoroquinolona ITV 8919 ($k_{abs} = 0.885 \pm 0.223 \text{ h}^{-1}$) y el menor a la fluoroquinolona ITV 8706 ($k_{abs} = 0.032 \pm 0.022 \text{ h}^{-1}$).

Con el fin de intentar dilucidar la influencia que pudiera tener la introducción en el carbono 7 de la molécula base de sustituyentes **heterocíclicos nitrogenados alifáticos** (grupos piperazínico, morfolínico, tiomorfolínico y p-hidroxipiperidínico) en el proceso de absorción, se realizó un estudio estadístico comparando los valores medios de las constantes de absorción correspondientes a este grupo de compuestos. Tras haber comprobado que no se

presenta homogeneidad de varianzas (prueba de Barlett), el estudio estadístico realizado (prueba de Kruskal-Wallis) puso de manifiesto diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.0003$) entre los valores medios de las constantes de velocidad de absorción de las fluoroquinolonas consideradas y de acuerdo con el Cuadro II, el estudio estadístico de comparación múltiple realizado (prueba de U de Mann-Whitney) evidenció que las diferencias halladas que se presentan entre todos los pares posibles de este grupo de fluoroquinolonas son estadísticamente significativas, pudiéndose afirmar que las distintas estructuras químicas de los sustituyentes en posición 7 ensayados influyen de forma directa en el proceso de absorción de las fluoroquinolonas que los contienen. El sustituyente que confiere una mayor velocidad de absorción es el **tiomorfolínico**, de la fluoroquinolona ITV 8919, que presenta un valor de k_{abs} igual a 0.885 h^{-1} y que presenta, a su vez, la menor solubilidad intrínseca ($S_0 = 0.0022 \text{ mg/ml}$) y el mayor coeficiente de reparto ($p = 16.17$). Los grupos **tiomorfolínico** (fluoroquinolona ITV 8919) y **morfolínico** (fluoroquinolona ITV 8804) son los sustituyentes que proveen a la molécula una mayor velocidad de absorción, respecto a la que provee el grupo **piperazínico** del ciprofloxacino.

Estructura base					
					
Nº	FARMACO	RADICAL EN POSICION 7	S_0 (mg/ml)	P	VALOR MEDIO k_{abs} (h^{-1})
1	Ciprofloxacino		0.1320	0.0354	0.0353
2	ITV 8919		0.0022	16.1700	0.8850 ^a
3	ITV 8804		0.0079	1.5950	0.5560 ^{a,b}
4	ITV 9201		0.1680	1.6420	0.2760 ^{a,b,c}

CUADRO II

Estudio estadístico comparativo (U de Mann-Whitney) entre los valores medios de las constantes de velocidad de absorción (k_{abs}) obtenidos para las fluoroquinolonas reseñadas. Se acompaña el radical sustituido en posición 7 y los correspondientes valores de solubilidad intrínseca (S_0) y coeficiente de reparto (P).

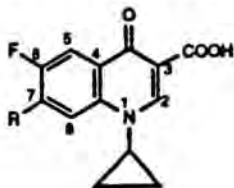
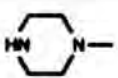
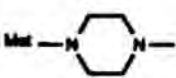
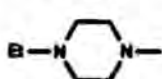
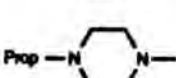
a = diferencias con 1; b = diferencias con 2;

c = diferencias con 3.

Desde un punto de vista fisicoquímico, la menor solubilidad intrínseca de las sustancias favorece la absorción de las mismas y puede concretarse, de acuerdo con los resultados obtenidos con este reducido grupo de compuestos heterólogos, que se presenta una tendencia, en lo que respecta al coeficiente de reparto de estas sustancias, a que la máxima velocidad de absorción corresponda a un valor óptimo para este parámetro fisicoquímico.

Dentro del contexto de los estudios realizados en la presente Memoria, una información importante fue averiguar la influencia en el proceso de absorción del aumento de lipofilia de las moléculas ensayadas al **introducir secuencialmente un grupo metileno (-CH₂-)** en el átomo de nitrógeno 4 del heterociclo que funcionaliza la posición 7. Para ello se consideró **otro grupo** de fluoroquinolonas compuesto por: ciprofloxacino, ITV 8902, enrofloxacino y ITV 9203, cuyas estructuras químicas se diferencian, precisamente en **un grupo metileno**, pudiéndose considerar esta serie, desde un punto de vista estructural, como una serie homóloga. También en este caso el estudio estadístico realizado puso de manifiesto la ausencia de homogeneidad de varianzas para los valores medios de las cuatro constantes de absorción comparadas (prueba de Barlett) y la aplicación del ensayo no-paramétrico de Kruskal-Wallis, indicó que se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p=0.0003$) entre dichos valores medios. Tras la realización del ensayo de comparación múltiple (prueba U de Mann-Whitney) de los resultados expuestos en el Cuadro III, se comprobó que las diferencias halladas resultan, para todos

los pares de valores comparados, estadísticamente significativas. Puede, pues, afirmarse que la inclusión de grupos metileno en la cadena alquílica del nitrógeno 4 del heterociclo, que funcionaliza la posición del carbono 7, aumenta la velocidad de absorción de estos compuestos. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por UNO y col. (2), los cuales pusieron de manifiesto que pefloxacino, con un grupo N-metilpiperazínico funcionalizando la posición 7, presenta una mejor absorción oral que norfloxacino, con un grupo piperazínico en la misma posición y sin ningún grupo metileno.

Estructura base					
					
Nº	FARMACO	RADICAL EN POSICION 7	S_0 (mg/ml)	P	VALOR MEDIO k_{abs} (h^{-1})
1	Ciprofloxacino		0.1320	0.0354	0.0353
2	ITV 8902		0.1510	2.6020	0.3320 ^a
3	Enrofloxacino		0.4160	2.3700	0.4392 ^{a,b}
4	ITV 9203		0.3680	9.5920	0.6670 ^{a,b,c}

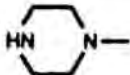
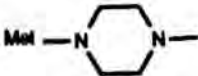
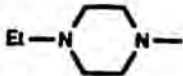
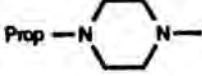
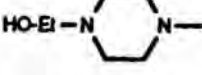
CUADRO III

Estudio estadístico comparativo (U de Mann-Whitney) entre los valores medios de las constantes de velocidad de absorción (k_{abs}) obtenidos para las fluoroquinolonas reseñadas. Se acompaña el radical sustituido en posición 7 y los correspondientes valores de solubilidad intrínseca (S_0) y coeficiente de reparto (P).
a = diferencias con 1; b = diferencias con 2;
c = diferencias con 3.

En otro orden de cosas, en esta subserie homóloga de fluoroquinolonas se pone de manifiesto que la aportación secuencial de un grupo metileno en la cadena alquímica del nitrógeno 4 del heterociclo que funcionaliza la posición 7 también incrementa, de forma secuencial, e tanto la lipofilia de estos compuestos como su solubilidad intrínseca, además de su constante de velocidad de absorción (Cuadro III), hecho que en caso de disponer de más elementos, quizás permitiría establecer alguna correlación de interés práctico entre estos parámetros .

En relación al estudio comparativo de la velocidad de absorción de las fluoroquinolonas estudiadas, en relación a la influencia de los sustituyentes en posición 7, cabe señalar que el menor valor para este parámetro corresponde a la fluoroquinolona ITV 8706 ($k_{abs} = 0.0325 \text{ h}^{-1}$), pero este valor no presenta diferencias estadísticamente significativas respecto al obtenido para ciprofloxacino, $k_{abs} = 0.0353 \text{ h}^{-1}$, ($p = 0.7150$), mientras que sí que lo son respecto a los valores para este parámetro correspondiente al resto de fluoroquinolonas consideradas en la subserie homóloga. La fluoroquinolona ITV 8706, presenta como estructura diferencial la adición de un grupo hidroxilo en la cadena alifática del nitrógeno 4 del sustituyente piperazínico (Cuadro IV); ello permite afirmar que la presencia de este grupo hidroxilo en dicha cadena ejerce un efecto muy negativo en el proceso de absorción de estos fármacos, en el sentido de disminuir de forma muy significativa su velocidad. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por ZIEGLER y col. (3), que pusieron de manifies-

to que la sustitución del hidrógeno del nitrógeno 4 del grupo piperazínico disminuye la absorción de estos compuestos de acuerdo con la siguiente secuencia: $\text{CH}_3 > \text{CH}_2\text{F} > \text{CHF}_2 > \text{CH}_2\text{OH}$. Por su parte, UNO y col. (2) comprobaron que la presencia de un grupo hidroxilo en la posición antes comentada disminuía la toxicidad de una serie de fluoroquinolonas estudiadas, postulando estos autores que este hecho es debido a la menor velocidad de absorción que confiere a la molécula la presencia de dicho hidroxilo.

FARMACO	ESTRUCTURA RADICAL 7	VALOR MEDIO k_{abs} (h^{-1})
Ciprofloxacino		0.0353
ITV 8902		0.3320
Enrofloxacino		0.4390
ITV 9203		0.6670
ITV 8706		0.0325

CUADRO IV

Estructuras del radical en posición 7 de las fluoroquinolonas reseñadas acompañados de los valores correspondientes a la constante de velocidad de absorción (k_{abs}).

FUENTES DE VARIACION	G.L	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	P
Intergrupos	2	0.0002	0.0001	0.1743	0.8421
Intragrupos	12	0.0081	0.0007		
Total	14	0.0084			
Bartlett - Box F = 0.865 P=0.422					

CUADRO VI

Estudio estadístico (ANOVA de una vía) de los valores medios de la constante de velocidad de absorción del ciprofloxacino obtenidas con tres niveles de concentración (0.04, 0.15 y 0.4 mM). Se acompaña la prueba de homogenicidad de varianzas (Bartlett-Box).

Parámetros	Enrofloxacino		ITV 8902	
	GRUPOS			
Media D.E. N	1	2	1	2
	0.4392	0.5001	0.3500	0.3322
	0.0417	0.0998	0.1406	0.0846
	7	7	5	5
Diferencia	-0.0609		0.0178	
Error est.	0.0409		0.0734	
G.L.	12		8	
P	0.0809		0.4072	

CUADRO VII

Estudio estadístico ("t" de Student datos no apareados) entre los valores medios de la constante de velocidad de absorción correspondientes a los fármacos reseñados obtenidos a dos niveles de concentración (0.04 y 0.4 mM).

Los resultados obtenidos en este estudio de linealidad, permiten afirmar que, en principio y de acuerdo con nuestras condiciones experimentales, el proceso de absorción de, como mínimo, estas tres fluoroquinolonas es lineal, es decir, se desarrolla de acuerdo con una cinética de primer orden para el ámbito de concentraciones ensayado. Ello estaría de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores con otras fluoroquinolonas; por ejemplo, BARRE y col. (5) que observaron un comportamiento lineal para la absorción de pefloxacino en humanos tras ensayar por vía oral cuatro niveles de dosis: 200, 400, 600 y 800 mg. También LEROY y col. (6) pusieron de manifiesto un comportamiento lineal en la absorción oral de ofloxacino administrado a voluntarios sanos para un ámbito de dosis comprendido entre 100 y 400 mg y SWANSON y col. (7) afirman que el grado de absorción oral de norfloxacino no parece modificarse con la dosis administrada.

4.2.2. Correlaciones estructura/absorción.

A pesar del número relativamente elevado de parámetros estructurales o fisicoquímicos potencialmente interesantes en el intento de establecer correlaciones, simples o múltiples, con las constantes de absorción k_{abs} o sus logaritmos, lo cierto es que las variables realmente utilizables y las correlaciones con cierto interés predictivo han resultado ser más bien escasas, como habrá ocasión de comentar.

Nos referiremos, en primer lugar, al intento de establecer correlaciones simples no-lineales hiperbólicas. En este sentido, cabe señalar que, como es bien sabido, y ha habido ocasión de comprobarlo incluso mediante estudios anteriores de nuestro propio grupo de trabajo, las variables fisicoquímicas más útiles, y por ello más frecuentemente empleadas en las correlaciones estructura/absorción, corresponden a las que aportan datos acerca de la lipofilia relativa de los compuestos bajo estudio (8-13), que si bien en el caso de series homólogas puras pueden tratarse de variables teóricas (tales como, por ejemplo, el peso molecular o el número de grupos $-CH_2-$), cuando se trata de series, como la de las fluoroquinolonas de la presente Memoria, que no son homólogas perfectas, las variables que pretenden ser representativas de aquella característica son parámetros fisicoquímicos que deben obtenerse experimentalmente; en este sentido, es frecuente la utilización del coeficiente de reparto entre una fase móvil lipófila (octanol, cloroformo, etc.) y una fase acuosa (por lo general soluciones reguladas a valores de pH cercanos al que se presupone existe en el lugar de absorción) como parámetro más representativo, estimado casi siempre por el denominado "método del frasco", es decir, empleando el típico embudo de decantación; más recientemente, y con la misma finalidad de estimar la lipofilia relativa de una serie químicamente heteróloga, se viene utilizando cada vez con mayor frecuencia el logaritmo del factor de capacidad, es decir, $\log K'$, estimado por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE), al existir suficiente evidencia de que dicho parámetro se relaciona

directamente con el valor correspondiente a $\log P$ (14, 15). Estos precedentes, sin embargo, frecuentemente ilustran acerca de lo difícil que resulta establecer, con series heterólogas, buenas correlaciones, siquiera sólo sea con fines predictivos, mediante ajustados no-lineales, usando como variable independiente los parámetros de lipofilia mencionados, a diferencia de lo observado con series homólogas puras, con las cuales la correlación (hiperbólica o bihiperbólica) resulta casi siempre relevante (10). Pero lo acontecido con las series heterólogas no resulta, de hecho, sorprendente puesto que, como es lógico suponer, las diferencias entre los distintos componentes de estas series frente a la membrana involucrada en el fenómeno de la absorción posiblemente se den también en otros aspectos y no sólo en el de su relativa lipofilia. Otros factores, pues, que quizás deban tenerse en cuenta bien pudieran ser, a título de ejemplo, la solubilidad intrínseca (S_0) del compuesto considerado, o la constante de ionización (por ejemplo, estimada a través de los valores pK_a), por citar algunos de los que son más fáciles de determinar experimentalmente y a pesar de que "a priori" no permitan alentar mayores esperanzas de éxito que los relativos a la lipofilia. Por todas estas razones, en la presente Memoria se ha investigado la posible existencia de correlaciones no-lineales simples entre las constantes de absorción (k_{abs}) y cada uno de los parámetros fisicoquímicos mencionados: P , K' , S_0 y pK_{a1} , haciendo uso del ajustado de los datos a la función hiperbólica (y no a la bihiperbólica, por las razones que más adelante se expondrán), plenamente justificado por la bibliografía especializada (10) como la función

más adecuada para una mayor comprensión del posible mecanismo del fenómeno de absorción o, simplemente, con fines de predicción. Los resultados de las correlaciones, obtenidos con cada uno de los factores mencionados, usándolos como variables independientes y los valores de k_{abs} como variable dependiente, fueron totalmente insatisfactorios, incluso al usar los parámetros de lipofilia (a excepción de P, como se verá más adelante), por cuya razón no se han expuesto en el correspondiente capítulo de la Memoria, a fin de evitar que una mayor extensión de la misma correspondiese a la aportación de datos carentes de interés.

Llegados a este punto, resulta oportuno señalar que también llevamos a cabo intentos de correlación no-lineal simple (con la misma función de ajuste) con prácticamente todas las variables teóricas, estructurales y electrónicas, a las que hemos hecho referencia anteriormente: peso, superficie y volumen moleculares e índices de conectividad molecular (χ) y diferencias entre ellos, así como momento dipolar (MD) y las cargas correspondientes a los distintos átomos de carbono de cada molécula (QC_n), las de los átomos de nitrógeno en posición 1 y 16 (QN_1 y QN_{16}) y la del flúor en posición 15 (QF_{15}). Las razones de cada uno de estos intentos, cuyos resultados también han sido del todo inaprovechables, se fundamentan en algunos casos en precedentes bibliográficos (16-19); así, por ejemplo, se ha citado que algunos índices de conectividad o las diferencias entre ellos aportan una valiosa información topológica de cada compuesto, por lo que resultan de

utilidad en el intento de establecer correlaciones con los parámetros de absorción de los correspondientes compuestos estudiados (19, 20); sin embargo, en el caso de las fluoroquinolonas de nuestro interés, no nos ha sido posible explicar mediante ninguno de los parámetros anteriormente citados los valores de k_{abs} observados, por lo que, consecuentemente, no resultaron ninguno de ellos relevantes con fines predictivos y, por las mismas razones apuntadas más arriba, tampoco se reseñan en el capítulo correspondiente los resultados obtenidos, puesto que en ningún caso se consiguieron correlaciones aceptables, a pesar del mucho trabajo que comportaron los intentos llevados a cabo motivados por los cincuenta candidatos utilizados como variables independientes potenciales.

4.2.2.1. Los parámetros de lipofilia en el fenómeno de la absorción intestinal.

Para los especialistas en el tema es bien conocido que las correlaciones entre las constantes de permeabilidad de membrana y los parámetros de lipofilia resultan útiles para explicar la naturaleza del fenómeno de la absorción pasiva de fármacos e, incluso, para comprender la disposición estructural de ciertas membranas absorbentes y, en este sentido, en los últimos decenios se han propuesto diversos modelos para explicar aquellas correlaciones en el caso de series homólogas de fármacos u otras sustancias exógenas para un determinado valor de pH en el lugar de absorción; así, se han postulado, por ejemplo, ecuaciones

lineales simples entre el logaritmo de la constante de absorción ($\log k_{\text{abs}}$) y el logaritmo del coeficiente de reparto ($\log P$) entre dos fases formadas por un disolvente orgánico y una solución acuosa regulada a un valor conveniente de pH; este tipo de correlación resultó apropiado, en su momento, para ajustar algunos datos de absorción obtenidos de lugares no especializados para la misma (21-24). Cabe también señalar que se ha usado el análisis de regresión lineal múltiple, empleando otras variables independientes además de P , tal como el peso molecular o la unión a determinados sustratos inanimados o biológicos, para mejorar las correlaciones (24-26); a pesar de ello, las ecuaciones halladas han resultado de escasa aplicación en la absorción intestinal, lo que se ha achacado al hecho de que las correlaciones lineales sólo corresponden a porciones iniciales ascendentes de correlaciones más generales y complejas.

Basándose en los principios de la difusión, se han propuesto diversos modelos no-lineales que correlacionan k_{abs} y P ; Plá y Moreno (10) hace ya una docena de años llevaron a cabo un excelente trabajo de revisión sobre el tema, al tiempo que proponían un modelo funcional no-lineal para explicar, de forma global, todos los datos existentes hasta aquel momento, así como nuevos datos promovidos por estos investigadores precisamente para confirmar todavía más su modelo funcional de absorción.

El modelo de absorción propuesto por Plá y Moreno parte del hecho de que si bien muchos de los datos disponibles pueden describirse de acuerdo con correlaciones hiperbólicas o sigmoides entre k_{abs} y P , algunos de ellos sólo se correlacionan satisfactoriamente usando ecuaciones doble logarítmicas parabólicas o bilineales; la explicación de este comportamiento tan opuesto la pretenden hallar en la reevaluación del papel jugado por la difusión de los compuestos de peso molecular bajo o medio a través de los poros acuosos de la membrana intestinal. Consecuentemente, estos autores proponen que en este tipo de moléculas la difusión por poros es el mayor contribuyente en la absorción, es decir de k_{abs} . En algunas series, para los solutos muy hidrófilos de peso molecular extremadamente bajo el paso a través de los poros sería la única vía de penetración y a medida que el peso molecular aumenta, paralelamente a como lo hace el coeficiente de reparto en el caso de series homólogas, predomina el paso a través de la parte lipófila de la membrana, en cuyo caso el conocido modelo hiperbólico de Wagner y Sedman (27) que relaciona k_{abs} y P es totalmente aplicable. Para los componentes de la serie con pesos moleculares intermedios ambos mecanismos pueden resultar operativos, de manera que la constante de absorción resulta de la suma de dos procesos paralelos: $k_{abs} = k_1 + k_2$ en cuya expresión k_1 representa la constante de velocidad a través de la membrana lipofílica y k_2 la de difusión por poros.

El modelo de Wagner y Sedman provee una ecuación que explicaría el paso a través de la membrana:

$$k_1 = (k_m \cdot P^n) / (Q + P^n)$$

en la que k_m es la constante de velocidad máxima de transferencia a través de la membrana lipófila y n y Q son constantes para un determinado sistema de reparto. En cuanto a k_2 , Plá y Moreno suponen que dicho valor debe relacionarse con alguna función inversa del peso o tamaño moleculares o incluso, en las series homólogas que se incrementan lipofílicamente, con el coeficiente de reparto P , proponiendo, en dicho caso la siguiente expresión:

$$k_2 = (k_p \cdot Q') / (Q' + P^n)$$

en la que, análogamente, k_p es la constante de velocidad máxima de transferencia, en este caso a través de los poros y n' y Q' son constantes que dependen de la técnica de reparto empleada. La ecuación que explicaría k_{abs} sería, pues, una ecuación bihiperbólica. La ecuación anterior, de acuerdo con la puntualización de sus autores, sólo es teóricamente aplicable a series de compuestos verdaderamente homólogas, a pesar de que en la práctica su campo de aplicación puede ser más amplio.

Finalmente, cabe mencionar que para algunas series de compuestos analizadas bajo la luz de esta hipótesis, puede suponerse que los componentes de las series cuyos pesos moleculares resultan ser superiores a

unos 250 daltons ya resultan prácticamente incapaces de ser absorbidos a través de los poros, por cuya razón la ecuación que explicaría su absorción sería la que corresponde a k_1 , es decir una correlación de tipo hiperbólico, tal como la preconizada por Wagner y Sedman.

La serie de nuestro interés está formada por ocho fluoroquinolonas cuyos pesos moleculares son todos ellos superiores a 300 daltons, por cuya razón no cabe considerar, en los intentos de establecer correlaciones no-lineales entre k_{abs} y P , la ecuación bihiperbólica de Plá y Moreno, pero sí la que resulta de la misma cuando ésta colapsa a la hiperbólica de Wagner y Sedman, al tratarse de una serie cuyos componentes presentan todo ellos pesos moleculares superiores al citado límite inferior; sirva, ello para justificar la única correlación no-lineal ensayada, la hiperbólica, cuyos resultados, junto con los correspondientes a las correlaciones lineales múltiples, pasamos a discutir sucintamente.

4.2.2.2. Correlaciones no-lineales simples.

Obviamente, tal como ya se ha señalado, la serie de fluoroquinolonas de nuestro interés, formada por ocho componentes, no es químicamente una serie homóloga pura, si bien en ella puede distinguirse una subserie que sí lo es para un grupo metileno en el nitrógeno del radical amídico piperazínico. Esta subserie está formada por cuatro

componentes: ciprofloxacino (que carece del citado $-\text{CH}_2-$), el compuesto ITV 8902 (con un radical metílico en la citada posición), enrofloxacino (con uno etílico) y el compuesto ITV 9203 (con uno propílico). Cabe citar que hay un quinto derivado piperazínico en la serie, el compuesto ITV 8706, que es el derivado hidroxilado de enrofloxacino, por lo que ya no pertenece a la subserie homóloga considerada.

Atendiendo a la argumentación expuesta anteriormente, en el intento de hallar una correlación, siquiera predictiva, de la constante de absorción, entre k_{abs} y P , se llevó a cabo el ajustado simple no-lineal (de acuerdo con la función hiperbólica) con todos los ocho componentes de la serie de fluoroquinolonas, a pesar de tratarse de una serie químicamente heteróloga, con resultados negativos, por otro lado previsibles, por las razones expuestas más arriba, y también correlacionando únicamente los datos de la subserie homóloga verdadera, formada únicamente por los cuatro elementos citados, el primero de los cuales con el agravante de poder comportarse atípicamente ("efecto del primer término"), al carecer del grupo repetitivo común $-\text{CH}_2-$. Los resultados obtenidos, se exponen a continuación:

La ecuación hiperbólica: $k_{\text{abs}} = (k_m \cdot P^n) / (Q + P^n)$

obtenida tras la aplicación al ordenador del algoritmo de Marquardt, previa aplicación del método Simplex, proporcionó los siguientes parámetros y errores estándar:

$$k_m = 1.6482 \pm 4.5952$$

$$n = 0.5895 \pm 0.7000$$

$$Q = 5.6020 \pm 17.4733$$

es decir, unos parámetros relativamente fiables, junto con una bondad del ajustado aceptable ($AIC = -13.51$) que conlleva errores porcentuales de los valores de k_{abs} predichos desde -0.32 hasta $+18.52$, si se tiene en cuenta que se trabaja con un solo grado de libertad. A tenor, pues, del tratamiento estadístico, el modelo hiperbólico de Wagner y Sedman parecería explicar, hasta cierto punto y con todas las reservas del caso, al tratarse de una serie tan exigua, el comportamiento de los cuatro elementos de la misma, de acuerdo con los datos obtenidos en nuestras condiciones experimentales. Cuando la serie considerada deja de ser homóloga perfecta, por ejemplo, incorporando el derivado hidroxipiperazínico de enrofloxacino, el ajustado empeora rápidamente, no en cuanto a la fiabilidad de los parámetros, cuyos errores resultan del mismo orden que anteriormente, sino en cuanto a la bondad de la predicción: los errores de los valores predichos oscilan entre el -100 y el $+20$ % de los valores observados; finalmente, en el caso de considerar la serie formada por las ocho fluoroquinolonas, mientras que los parámetros correspondientes a ambas funciones continúan siendo fiables, el ajustado resulta totalmente inviable en términos de predicción, obteniéndose errores porcentuales del orden del -60 y del $+360$ para los valores k_{abs} predichos respecto a los experimentales.

Cabe citar que, paralelamente, se ensayó una correlación lineal doble logarítmica entre k_{abs} y P para la serie de las ocho fluoroquinolonas. El coeficiente de correlación obtenido ($r = 0.8856$) es suficientemente ilustrativo del poco valor predictivo del ajustado, teniendo presente que los errores ya elevados de por sí que comporta este coeficiente, resultan aún mayores al comparar los antilogaritmos correspondientes, es decir, los errores entre los valores experimentales y teóricos de k_{abs} . En el caso de considerar únicamente los cuatro componentes de la subserie homóloga, se obtiene un ajustado relativamente aceptable ($r = 0.9928$) que, no obstante, comporta errores porcentuales entre k_{abs} experimentales y predichos que oscilan entre el -21 y el +10%. Estos resultados tampoco resultan sorprendentes, habida cuenta de las argumentaciones señaladas al respecto, acerca de las correlaciones lineales con series, como la considerada, con escaso número de elementos.

4.2.2.3. Correlaciones lineales múltiples.

La recopilación en la presente Memoria de un número tan elevado de parámetros teóricos (estructurales y electrónicas) junto con la estimación de otros fisicoquímicos experimentales, tenía por finalidad, desde un principio, ampliar al máximo no sólo la posibilidad de establecer correlaciones no-lineales simples, sino también correlaciones lineales múltiples entre dos o más variables indepen-

dientes y la variable dependiente de nuestro interés, la constante de absorción k_{abs} o su logaritmo; en la bibliografía se hallan precedentes al respecto (16, 28, 29). Sin embargo, en la presente Memoria, con un marco obligatoriamente limitado por el escaso número de elementos de la serie de fluoroquinolonas de que se disponía, resultaron, a su vez, limitadas las posibilidades de establecimiento de correlaciones múltiples con más de dos o tres variables independientes, no sólo por el hecho de que siempre constituye un ejercicio difícil argumentar el papel jugado por cada una de ellas en el modelo fisicoquímico teórico que intenta explicar el fenómeno estudiado, sino, y quizás con mayor razón formal, por el hecho de que al disponer únicamente de 8 quinolonas, ello estadísticamente obliga a usar como máximo 3 variables independientes, puesto que es recomendable que este número sea inferior a la mitad de las observaciones, o que el número máximo de parámetros de la ecuación de regresión corresponda también a dicho valor, debiendo evitarse, además, el uso de variables correlacionadas entre sí y tener muy presentes otros requisitos ineludibles para llevar a cabo un tratamiento correcto, todo ello claramente expuesto y muy bien razonado por Topliss y col. (30, 31).

En resumen, teniendo muy en cuenta la matriz de correlación de las 51 variables (49 potenciales variables independientes y 2 potenciales variables dependientes: k_{abs} y $\log k_{abs}$) (Cuadros LXIII al LXIX, ambos inclusive, del capítulo anterior), tras la aplicación del método de regresión lineal múltiple "stepwise" (32) sólo pudo

establecerse una correlación lineal múltiple con interés predictivo y estrictamente correcta desde el punto de vista estadístico, es decir de acuerdo con el criterio estandarizado utilizado, concretamente entre K_{abs} , como variable dependiente, y dos variables independientes: $\log P$ y $\log S_0$. Los resultados obtenidos, que se exponen a continuación, los comentaremos de inmediato con cierto detalle, haciendo hincapié en el posible papel jugado por ambas variables independientes: $\log P$ y $\log S_0$.

En primer lugar, se exponen, de forma resumida, los resultados correspondientes a la correlación lineal múltiple hallada con mayor poder predictivo. La ecuación de regresión es la siguiente:

$$k_{abs} = 0.2173 + 0.2618 \cdot \log P - 0.1339 \cdot \log S_0$$

error estándar de la estima = 0.1073

coeficiente de determinación ajustado = 0.8702

coeficiente de determinación (r^2) = 0.9073

coeficiente de correlación múltiple = 0.9525

análisis de varianza

fuelle	s. cuadrados	g. l.	varianza	F ratio	probab.
regresión	0.5631	2	0.2816	24.460	2.618E-3
residual	0.0576	5	0.0115		
total	0.6207	7			

k_{abs} experim. k_{abs} calc. residual error %

0.035	-0.045	0.0802	229.1
0.332	0.436	-0.1039	-31.3
0.439	0.366	0.0726	16.5
0.667	0.532	0.1345	20.2
0.032	0.114	-0.0815	-254.7
0.885	0.890	-0.0046	-0.5
0.276	0.377	-0.1014	-36.7
0.556	0.552	0.0041	0.7

A pesar de que pueda llamar la atención el hecho de que la mejor correlación lineal múltiple haya resultado ser la existente entre k_{abs} (y no su logaritmo) y el logaritmo del coeficiente de reparto (y no P) junto con $\log S_0$ (y no S_0), deben señalarse al respecto los siguientes hechos: las posibles correlaciones entre la lipofilia y la solubilidad de las fluoroquinolonas con sus parámetros de absorción k_{abs} son: con $P + S_0$, que únicamente admite P y con $P + \log S_0$, que también sólo admite P ($r = 0.8574$); con $\log P + \log S_0$, que es la referenciada y con $\log P + S_0$,

con la que se obtiene peor correlación ($r = 0.9292$). En cuanto a las correlaciones posibles con $\log k_{abs}$ como variable dependiente, éstas son: con $P + S_0$, que únicamente admite P y lo mismo ocurre con $P + \log S_0$ ($r = 0.6363$); con $\log P + \log S_0$, que sólo admite $\log P$ ($r = 0.8802$) y, finalmente, con $\log P + S_0$, que admite ambas variables independientes, obteniéndose un coeficiente de correlación muy aceptable ($r = 0.9732$); sin embargo, al comparar los correspondientes antilogaritmos (es decir los valores k_{abs} experimentales y teóricos), la correlación que se obtiene es peor ($r = 0.9050$) que la observada entre k_{abs} y $\log P + \log S_0$ ($r = 0.9525$).

A continuación pasamos a considerar, muy brevemente y a la luz de algunos de los datos existentes en la bibliografía, la potencial relevancia, como variables independientes, de algunos de los parámetros teóricos y experimentales que se han citado en la presente Memoria, a excepción del coeficiente de reparto P , que como parámetro de lipofilia ya ha sido comentado anteriormente.

T'Ang y Lien (16) comprobaron, para diversas series de fármacos, que las constantes de absorción a través de distintas membranas de la rata: pulmón, humor acuoso, barrera hematoencefálica, se correlacionaban bien con algunas de sus características fisicoquímicas, como el logaritmo de P , el peso molecular o con ambos parámetros, opinando que estas correlaciones pudieran ser útiles en el diseño de fármacos que deban administrarse parenteralmente o por vía inhalatoria; sin embargo, estos autores no realizaron ensayos de absorción por vía oral.

Por su parte, Past y cols. (17, 18) hallaron, para series heterólogas de fármacos, mejores correlaciones entre la constante de absorción bucal y los momentos dipolares que con los coeficientes de reparto, llevando a cabo también la experiencia a nivel intestinal; los autores proponen usar los momentos dipolares para predecir la absorción de fármacos, debido a que este parámetro se calcula teóricamente. Sin embargo, con las fluoroquinolonas de nuestro interés no fuimos capaces de establecer correlaciones no-lineales simples o lineales múltiples, en las que interviniesen los momentos dipolares, que fueran dignas de interés las primeras o estadísticamente aceptables las segundas.

Reed, Mereish y Jensen (20) derivaron correlaciones entre la estructura química, concretamente algunos índices de conectividad molecular (χ), y parámetros farmacocinéticos, por ejemplo, con el porcentaje de fármaco absorbido, comparándose favorablemente con las establecidas con otros parámetros fisicoquímicos usados como variables predictoras, observando, además, que al adicionar como variable independiente los valores pK_a se incrementaban los coeficientes de correlación. En nuestro caso, análogamente a lo comentado respecto a los momentos dipolares, no fuimos capaces, con la serie de fluoroquinolonas, hallar correlaciones no-lineales simples o lineales múltiples de interés en las que participasen χ y/o pK_a .

Y aquí terminan las referencias bibliográficas de que disponemos más o menos relacionadas con el tema de nuestro interés. En este sentido, pues, resulta evidente que, salvo los logaritmos de P y de S_0 , ninguno de los restantes parámetros considerados en la presente Memoria como variables potenciales predictivas de la constante de absorción intestinal de las ocho fluoroquinolonas ensayadas bajo nuestras condiciones experimentales ha resultado de utilidad. Finalmente, mencionaremos el hecho de que a pesar de que la solubilidad intrínseca, o mejor dicho su logaritmo, $\log S_0$, ha resultado ser la única variable independiente que ha sido posible adicionar al $\log P$ en el intento de establecer una correlación lineal múltiple, no hemos hallado ningún precedente en la bibliografía en el que se señale explícitamente como parámetro adecuado para establecer correlaciones con la constante de absorción intestinal, k_{abs} . En definitiva, pues, de la serie estudiada en la presente Memoria, cabría señalar, de acuerdo con la correlación lineal múltiple hallada, que el aumento de la lipofilia afecta favorablemente la absorción intestinal, mientras que el incremento de la solubilidad intrínseca, es decir, de la forma no ionizada, influye negativamente.

4.3 BIBLIOGRAFIA.

1. ROSS D.L., RILEY CH.M. "Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials". Int. J. Pharm. 63, 237-250 (1990).
2. UNO T., KONDO H., INOUE Y., KAWAKATA Y., SOTOMURA M., IUCHI K., TSUKAMOTO G. "Synthesis of Antimicrobial Agents. 3 Synthesis and Antibacterial Activities of 7-(4-Hydroxypiperazin-1-yl)quinolones". J. Med. Chem. 33, 2929-2932 (1990).
3. ZIEGLER C.B., BITHA P., KUCK N.A., FENTON T.J., PETERSEN P.J., LIN Y. "Synthesis and Structure-Activity Relationships of New 7-[3-(fluoromethyl)piperazinyl]quinolone". J. Med. Chem. 33, 142-146 (1990).
4. FREIXAS J., MARTORELL C. "Influencia de las propiedades fisicoquímicas de las 6-fluoroquinolonas en la elucidación de su actividad antimicrobiana". Rev. Esp. Chemoterap. 2, 232-236 (1989).
5. BARRE J., HOUIN G., TILLEMET J.P. "Dose-dependant pharmacokinetics study of pefloxacin, a new antibacterial agent in humans". J. Pharm. Sci. 73, 1379-2382 (1984).

6. LEROY A., BORSA F., HUMBERT G., BERNADET P., FILLASTRE J.P. "The pharmacokinetics of ofloxacin in healthy adult male volunteers". Eur. J. Clin. Pharmacol. 31, 629-630 (1987).
7. SWANSON B.N., BOPPANA V.K., VLASESS P.H., ROTMENSCH H.H., FERGUSON R.K. "Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses". Antimicrob. Agents Chemoter. 23, 284-288 (1985).
8. PLA DELFINA J.M^a, MORENO DALMAU J., DEL POZO OJEDA A. "Use of Chromatographic R_m Values as a Possible Approach to Calculation of the Absorption Rate Constants for Some Related Drugs". J. Pharmacok. Biopharm. 1, 243-252 (1973).
9. KUBINYI H. "Drug Partitioning: Relationships between Forward and Reverse Rate Constants and Partition Coefficient". J. Pharm. Sci. 67, 262-263 (1978).
10. PLA DELFINA J.M^a, MORENO DALMAU J. "Intestinal Absorption-Partition Relationships: A Tentative Functional Nonlinear Model". J. Pharmacok. Biopharm. 2, 191-215 (1981).
11. MIRALLES MIR J., SANCHEZ MOYANO E., CASABO V.G., DESENTRE E., DIAZ CARBONELL J.V., MARTIN VILLODRE A. "Selección de parámetros de lipofilia para su correlación con constantes biológicas". C.I.F. 6 (2^a ép.), 296-303 (1987).

12. MIYAKE K., MIZUMO N., TERADA H. "Method for Determination of Partition Coefficient by High-Performance Liquid Chromatography on an Octadecylsilane Column. Examination of Its Applicability". Chem. Pharm. Bull. 34, 4787-4796 (1986).

13. NOOK T., DOELKER E., BURI P. "Intestinal absorption of various model drugs in relation to partition coefficients". Int. J. Pharm. 43, 119-129 (1988).

14. KRIKORIAN S.E., CHORN T.A. "Determination of Octanol/Water Partition Coefficients of Certain Organophosphorus Compounds Using High-Performance Liquid Chromatography". Quant. Struct.-Act. Relat. 6, 65-69 (1987).

15. GAGO F., ALVARES BULLA J., ELGUERO J., DIEZ MASA J.C. "Correlation of Octanol/Water Partition Coefficients with Hydrophobicity Measurements Obtained by Micelar Chromatography". Anal. Chem. 59, 921-923 (1987).

16. T'ANG A., LIEN E.J. "Quantitative analysis of pharmacokinetic constants as functions of physicochemical parameters". Acta Pharm. Jugosl. 32, 87-95 (1982).

17. PAST T., TAPSONYIZ S., HORTOBAGYI I. "Relationship between the dipole moment and rate of ab-

- sorption of drugs". Acta Med. Sci. Hungar. 36, 137-147 (1979).
18. PAST T., TAPSONYI S., JAVOR T. "The development of a unified physico-chemical research line for studying the relationship between the resorption rates and the physico-chemical properties of drugs". Pol. J. Pharmacol. Pharm. 36, 401-406 (1984).
19. BASAK S.C., GIESCHEN D.P., MAGNUSON V.R., HARRIS D.K. "Structure-Activity Relationships and Pharmacokinetics: A Comparative Study of Hydrophobicity, Van der Waals' Volume and Topological Parameters". IRCS Med. Sci. 10, 619-620 (1982).
20. REED K., MEREISH K., JENSEN B. "Quantitative Relationships Between Structure and Pharmacokinetic Parameters Using Molecular Connectivity Chi Indices I: Substituted 2-Sulfapyridines". J. Pharm. Sci. 73, 237-240 (1984).
21. KAKEMI T., ARITA T., HORI R., KONISHI R. "Absorption and excretion of drugs. XXX. Absorption of barbituric acid derivatives from rat stomach". Chem. Pharm. Bull. 17, 1534-1539 (1967).
22. HOUSTON J.B., UPSHALL D.G., BRIDGES J.W. "A reevaluation of the importance of partition coefficients in the gastro-intestinal absorption

- of anutrients". J. Pharmacol. Exp. Ther. 189, 244-254 (1974).
23. HOUSTON J.B., UPSHALL D.G., BRIDGES J.W. "Further studies using carbamate esters as model compounds to investigate the role of lipophilicity in the gastrointestinal absorption of foreign compounds". J. Pharmacol. Exp. Ther. 195, 67-72 (1975).
24. LIEN E.J. "Structure absorption-distribution relationships: significance for drug design". En: Ariëns E.J. (ed.), Drug Design, Vol. V. Academic Press. Londres 1975.
25. KITAO K., KUBOK., MORISHITA T., YATA N., KAMADA A. "Studies on absorption of drugs. VII. Absorption of isomeric N¹-heterocyclic sulfonamides from the rat small intestine and relations between physicochemical properties and absorption of nonionized sulfonamides". Chem. Pharm. Bull. 21, 2417-2426 (1973).
26. MORISHITA T., YAMAZAKI M., YATA N., KAMADA A. "Studies on absorption of drugs. VIII. Physicochemical factors affecting the absorption of sulfonamides from the rat small intestine". Chem. Pharm. Bull. 21, 2309-2322 (1973).

27. WAGNER J.G., SEDMAN A.J. "Quantitation rate of gastrointestinal and buccal absorption of acidic and basic drugs based on extraction theory". J. Pharmacok. Biopharm. 1, 23-50 (1973).
28. YEH K.C. "Kinetic Parameter Estimation by Numerical Algorithms and Multiple Linear Regression: Theoretical". J. Pharm. Sci. 66, 1688-1691 (1977).
29. LIEN E.J., OU X.-Ch. "QSAR analysis of the pharmacokinetics and metabolism of barbiturates". Acta Pharm. Jugosl. 34, 123-131 (1984).
30. TOPLISS J.G., COSTELLO R.J. "Chance Correlations in Structure-Activity Studies Using Multiple Regression Analysis". J. Med. Chem. 15, 1066-1068 (1972).
31. TOPLISS J.G., ESWARDS R.P. "Chance Factors in Studies of Quantitative Structure-Activity Relationships". J. Med. Chem. 22, 1238-1244 (1979).
32. SPSS/PC+, versión 3.1, Microsoft Corp. 1988.

CAPITULO 5º
RESUMEN Y CONCLUSIONES

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES

En la práctica clínica diaria, la vía de administración oral es la más comúnmente utilizada para el tratamiento, en especial si éste es crónico, de diversos estados patológicos. Existen múltiples razones que justifican la utilización de dicha vía, pero, en definitiva, resulta obvio el papel relevante jugado por la absorción cuando aquélla se emplea y, por ello, los estudios de absorción de fármacos (contrastados o potenciales) constituyen una parcela de gran interés dentro de la investigación farmacocinética y biofarmacéutica. Efectivamente, en el diseño de nuevos medicamentos, dentro de un determinado grupo terapéutico, no basta con conocer la actividad farmacológica intrínseca de los fármacos, sino que, además, resulta imprescindible determinar si éstos, tras la administración oral de las formas de dosificación que los contienen, serán capaces de atravesar, con la velocidad y magnitud adecuadas, la membrana absorbente, puesto que en caso contrario restará vetada la vía oral para su administración.

En el campo de los agentes quimioterápicos, las quinolonas, en general y las fluoroquinolonas, en particular, juegan un importante papel en el tratamiento, a menudo por vía oral, de distintas patologías infecciosas; por dicho motivo, la investigación en este campo es una de las parcelas en las que se trabaja más actualmente con la pretensión de hallar nuevas moléculas más activas y más seguras, a poder ser, administradas por esta vía.

En la presenta Memoria se estudian, por una parte, las características de absorción intestinal, mediante un método "in situ" que utiliza la rata como animal de experimentación, de una serie formada por ocho fluoroquinolonas: ciprofloxacino, enrofloxacino y seis compuestos inéditos sintetizados y patentados en España; el hecho de que las dos primeras fluoroquinolonas se utilicen profusamente en clínica y que el estudio de absorción sea comparativo, aumenta su interés, si cabe, acerca de las posibilidades que pueden presentar las nuevas moléculas como alternativas potenciales de las anteriores. Por otra parte, en la presente Memoria se pretendía establecer correlaciones, no-lineales simples o lineales múltiples, entre la constante de velocidad de absorción de las fluoroquinolonas y alguno o algunos parámetros fisicoquímicos determinados experimentalmente o estructurales teóricos (topológicos y electrónicos).

La Memoria se inicia con una breve revisión de la problemática general de los estudios de absorción, de la influencia de los parámetros fisicoquímicos de los fármacos en dicho fenómeno, a nivel intestinal, y de las distintas metodologías preconizadas, así como de los distintos tipos de correlaciones (particularmente con parámetros de lipofilia) más frecuentemente ensayados.

A esta Introducción siguen los objetivos, el plan del trabajo y la bibliografía pertinente (páginas 1 a 16). A continuación, en el Capítulo 1º (páginas 17 a 91), se revisan los principales aspectos fisicoquímicos, farmacológicos, farmacocinéticos y clínicos de las fluoroquinolonas. Seguidamente, en el Capítulo 2º

(páginas 92 a 150), se inicia la parte experimental de la Memoria, describiéndose el material y la metodología empleados en los distintos ensayos fisicoquímicos y biológicos, así como los métodos estadísticos aplicados a los resultados obtenidos; dichos resultados se exponen detalladamente en el Capítulo 3º (páginas 151 a 233), mientras que su discusión se lleva a cabo en el Capítulo 4º (páginas 234 a 271).

Las conclusiones estimadas como más relevantes del trabajo experimental realizado son las siguientes:

CONCLUSIONES

- 1ª El ámbito de valores del parámetro de lipofilia, P , estimado para el conjunto de las ocho fluoroquinolonas ensayadas en la presente Memoria comprende unos tres órdenes de magnitud. La fluoroquinolona ITV 8919 es la que presenta el mayor coeficiente de reparto para el sistema octanol/agua (16.17 ± 2.71), correspondiendo a ciprofloxacino el menor valor para este parámetro (0.035 ± 0.0005).
- 2ª De las ocho fluoroquinolonas, la que presenta mayor solubilidad intrínseca es la ITV 8706 (1.359 ± 0.223 mg/ml), mientras que ITV 8919 es la que posee el menor valor para este parámetro (0.0022 ± 0.006 mg/ml). En

general, los valores estimados para la solubilidad intrínseca de estas fluoroquinolonas son superiores a los publicados para otros compuestos de la serie.

3^a Los valores de pK_a estimados para las fluoroquinolonas de la serie con estructura anfipática (ciprofloxacino, enrofloxacino, ITV 8902, ITV 9203 y ITV 8706), son para pK_{a1} del orden de 6 - 7 y para pK_{a2} entre 7 y 8; los hallados para las fluoroquinolonas ITV 8919, ITV 8804 y ITV 9201, con un solo valor de pK_a , también se hallan comprendidos entre 6 y 7. Dada la similitud de los valores de pK_a de todas las ocho fluoroquinolonas, los cambios potenciales de pH que puedan darse en los lugares de absorción prácticamente afectarán por un igual a la ionización de cada una de estas moléculas.

4^a Los ensayos llevados a cabo para la estimación de la constante de absorción no pusieron de manifiesto variaciones importantes de los volúmenes de las soluciones perfundidas, que siempre fueron inferiores a un 6% y las variaciones de los valores correspondientes al pH, al final de la experiencia respecto al inicial (pH = 7.4), pueden considerarse irrelevantes, siendo en todos los casos inferiores a 0.6 unidades. Consecuentemente, en las estimaciones de k_{abs} no se realizó ningún tipo de corrección que tuviera en

cuenta estos factores: variaciones de volumen o de pH.

5a El menor valor estimado para la constante de absorción corresponde a la fluoroquinolona ITV 8706 ($0.032 \pm 0.022 \text{ h}^{-1}$); sin embargo, no es significativamente diferente del hallado para ciprofloxacino ($0.035 \pm 0.035 \text{ h}^{-1}$). Las restantes fluoroquinolonas ensayadas presentan valores superiores para este parámetro; los compuestos ITV 8919 y ITV 8804 presentan valores de k_{abs} ($0.885 \pm 0.222 \text{ h}^{-1}$ y $0.556 \pm 0.101 \text{ h}^{-1}$, respectivamente) superiores al estimado para enrofloxacin ($0.439 \pm 0.042 \text{ h}^{-1}$).

6a De los sustituyentes heterocíclicos nitrogenados en el carbono 7 de la molécula base, el tiomorfolínico (presente en la fluoroquinolona ITV 8919) es el que provee un mayor valor para k_{abs} , mientras que el piperazínico (que corresponde a la molécula de ciprofloxacino) es el que ha proporcionado el menor valor.

7a La introducción secuencial de grupos metileno en el átomo de nitrógeno 4 del heterociclo que funcionaliza la posición 7 de la molécula base, incrementa la velocidad de absorción, obteniéndose el mayor valor de k_{abs} (0.667 ± 0.013) para la molécula de esta subserie homóloga que presenta la cadena

alifática más larga de las ensayadas (fluoroquinolona ITV 9203).

- 8a La substitución de un átomo de hidrógeno en la cadena alifática por un grupo hidroxilo (fluoroquinolona ITV 8706) en uno de los componentes de la subserie homóloga (enrofloxacin), disminuye significativamente la velocidad de absorción (k_{abs} pasa de 0.439 ± 0.042 a $0.032 \pm 0.022 \text{ h}^{-1}$).

- 9a En nuestras condiciones experimentales, el proceso de absorción de ciprofloxacino, enrofloxacin y el compuesto ITV 8902 parece que se desarrolla según una cinética de primer orden que resulta lineal dentro del ámbito de concentraciones ensayado (0.04 mM - 0.4 mM), que ha sido el máximo logrado en la práctica y cuyos límites han venido impuestos por la sensibilidad de la técnica analítica y por la solubilidad de los compuestos, hasta el punto que con el resto de fluoroquinolonas no ha sido posible llevar a cabo este ensayo de linealidad cinética.

- 10a El carácter heterólogo, desde el punto de vista químico, de la serie formada por las ocho fluoroquinolonas es, probablemente, la causa de que no haya sido posible establecer correlaciones no-lineales simples (hiperbólicas o bihiperbólicas) entre las constantes de

absorción k_{abs} y los parámetros fisicoquímicos obtenidos experimentalmente: P , k' , S_0 o pk_{a1} .

11^a Considerando la subserie homóloga respecto al grupo metileno, formada por ciprofloxacino, compuesto ITV 8902, enrofloxacino y compuesto ITV 9203, se obtiene una correlación hiperbólica entre k_{abs} y P que cabe calificar de aceptable. Con todas las reservas del caso, debido al escaso número elementos de la serie considerada, el modelo de Wagner y Sedman parece explicar el comportamiento de estos compuestos en cuanto a su absorción intestinal.

12^a Tras el ensayo de los parámetros fisicoquímicos y estructurales (topológicos y electrónicos) como potenciales variables independientes (hasta un total de 49) y el parámetro correspondiente a la velocidad de absorción (k_{abs} o su logaritmo) como variable dependiente, sólo se halló una correlación lineal múltiple con cierto valor predictivo ($r = 0.9525$), concretamente entre k_{abs} y los logaritmos de P y S_0 .

13^a De acuerdo con la correlación lineal múltiple mencionada, puede concluirse que para la serie formada por las ocho fluoroquinolonas ensayadas el aumento de la lipofilia afecta favorablemente su absorción intestinal mientras que el incremento de la solubilidad intrínseca influye negativamente.

- 148 Teniendo en cuenta que la constante de absorción estimada, en nuestras condiciones experimentales, para el compuesto ITV 8902 ($k_{abs} = 0.332 \pm 0.085 \text{ h}^{-1}$) es significativamente superior a la de ciprofloxacino ($0.035 \pm 0.035 \text{ h}^{-1}$), mientras que son iguales las actividades intrínsecas de ambos compuestos, expresadas como MIC frente a 100 cepas de Eschericia coli (0.025 mg/l), las cuales son de 2 a 32 veces superiores a las de las restantes fluoroquinolonas, se concluye que ITV 8902 es el compuesto de elección para realizar posteriores estudios con el objetivo de determinar su potencial utilidad terapéutica por vía oral.