

# Trabajos científicos

## **BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA, PREVIA ADMINISTRACION A PERRAS SANAS O PERRAS CON MUCOSA VAGINAL INFLAMADA, COMO TAMBIEN EN VOLUNTARIAS SANAS**

*Franco Fraschini \**

### *Introducción:*

La Pentamicina es una substancia antibiótica de poliene, cuya actividad ha sido comprobada previamente tanto "invitro"<sup>1</sup> como en el ser humano<sup>2, 3</sup>.

El objeto del presente trabajo ha sido evaluar si la administración diaria, intravaginal, de óvulos que contienen 3 mg de Pentamicina, podían llevar a la absorción sistémica de la droga, ya sea en perras con mucosa vaginal normal o inflamada, o en mujeres voluntarias sanas.

### *Diseño experimental:*

La absorción de Pentamicina, luego de la administración vaginal, se evaluó determinando la concentración de la droga en la sangre y orina de perras con mucosa vaginal inflamada, a seguidas del tratamiento con altas dosificaciones (20-30 veces la dosis terapéutica normal).

Además, la concentración de la droga en la sangre de voluntarias sanas se determinó previa administración de dosis terapéuticas.

La droga se analizó con el uso tanto de métodos fluorométricos como microbiológicos.

\* Director del Departamento de Quimioterapia. Instituto de Farmacología. Facultad de Medicina y Cirugía. Universidad de Milán. Milán, Italia.

## DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO:

### a) Biodisponibilidad en perras sanas:

#### Método:

#### Animales:

Se utilizaron seis perras adultas de raza mixta con peso de entre 11, 2 y 17,3 kg.

Los animales se seleccionaron entre un número mucho mayor, luego de examen de los frotis vaginales, con el fin de eliminar las perras cuya mucosa vaginal no se encontraba en perfectas condiciones fisiológicas.

#### Tratamiento:

Una tableta vaginal, conteniendo 20 mg de Pentamicina se insertó en la vagina de cada una de las perras, las cuales se alimentaron normalmente. De acuerdo al peso del animal, esta dosis es equivalente a 20-30 veces la dosis terapéutica sencilla propuesta para uso humano.\*

## MUESTRAS:

### a. Sangre:

Aproximadamente 5 ml de sangre se retiraron de la safena inmediatamente después de la administración de la tableta vaginal de Pentamicina y luego de 1, 2, 4, 8, 16 y 24 horas. Las muestras se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente, y luego se centrifugaron a 2.000 revoluciones por minuto, durante 5 minutos. Seguidamente se mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento en que había de realizarse el análisis.

### b. Orina:

En las ocasiones antes mencionadas, unos pocos ml de orina se recolectaron de los animales, por medio de un catéter y las muestras se mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se las utilizó para analizar la droga.

\* Ver tablas 1 y 2 para las dosis exactas.

## Determinación de las concentraciones sanguíneas y urinarias de Pentamicina:

### a. Método Fluorométrico:

El método adoptado fue el descrito por T. Tsubakiyama que hace uso de la emisión de fluorescencia por la Pentamicina en solución metanólica<sup>4</sup>.

Como primer paso, se determinaron las curvas standard para Pentamicina en plasma (para la biodisponibilidad en la sangre) y en buffer de fosfato (para la orina). 0,1 ml de solución metanólica, conteniendo de 100 mcg de Pentamicina/ml, se suspendieron en 0,9 ml de sangre humana y luego se diluyeron con sangre con el fin de obtener concentraciones entre 0,5 y 2,0 mcg/ml.

1 ml de la solución así obtenida, se trataba entonces con 4 ml de metanol al 50% en 0,1 M de Buffer de fosfato (pH 7,0), de modo de dar una concentración final de 0,01-0,4 mcg/ml de Pentamicina.

Después de la centrifugación, el sobrenadante se utilizaba para representación gráfica de las curvas espectrofluorométricas standard a las longitudes de onda de 340 m $\mu$  (excitación) y 480 m $\mu$  (emisión), respectivamente.

Para la biodisponibilidad en orina, la curva standard se representaba gráficamente diluyendo una solución metanólica de Pentamicina con metanol al 50% en 0,1 M de Buffer de fosfato (pH 7,0) de modo de obtener concentraciones de 0,01-0,4 mcg/ml.

Previo centrifugación, las curvas espectrofluorométricas se trataban como anteriormente se describe.

Las muestras de sangre y orina retiradas de los animales para el análisis de Pentamicina, se trataban con 4 ml de metanol al 50% en 0,1 M de Buffer de fosfato (pH 7,0) y, previa centrifugación, las lecturas espectrofluorométricas se hacían como anteriormente se describe.

La sensibilidad del método para sangre fue de  $\leq 0,1$  mcg/ml y para la orina  $\leq 0,05$  mcg/ml.

### b. Método microbiológico:

El método de dilución de tubo de ensayo se empleó utilizando un reciente aislado clínico de *Cándida Albicans* como organismo de prueba M.I.C. en caldo de Sabouraud = 0,15 mcg/ml.

1 ml de suero u orina se añadió a 1 ml de caldo de Sabouraud y efectuándose diluciones geométricamente progresivas (factor de dilución = 1/2).

0,1 ml de una suspensión del organismo de prueba, obtenido mediante dilución de  $10^{-3}$  de un cultivo incubado durante toda la noche en caldo de Sabouraud a 30°C, se añadió a cada dilución.

Cultivos contentivos de concentraciones de Pentamicina diluida, como anteriormente se explica, se prepararon bajo las mismas condiciones experimentales.

Al cabo de 24 horas de incubación a 30°C, los cultivos se examinaron con el fin de determinar las más elevadas diluciones de sangre, orina y Pentamicina estandard que inhibían el crecimiento del germen. La concentración de droga presente en la sangre u orina pudo, por lo tanto, calcularse, si la más elevada dilución de Pentamicina inhibidora del crecimiento (= M.I.C.) se conocía por medio de la fórmula siguiente:

Más alta dilución de sangre o suero inhibidora del crecimiento	X	Concentración inhibidora de la Pentamicina
---	---	---

Más alta dilución del caldo conten-  
tivo de Pentamicina inhibidora del  
crecimiento

La sensibilidad del método fue de 0,15 mcg/ml.

#### B) BIODISPONIBILIDAD EN PERRAS CON INFLAMACION VAGINAL:

*Método:*

*Animales:*

Los animales usados para la prueba de biodisponibilidad en perras sanas, se usaron nuevamente dos semanas después del experimento anterior.

Con el fin de producir inflamación de la mucosa vaginal, se introdujo un tapón impregnado en aceite de crotón profundamente en la vagina, y se mantuvo en el lugar durante 24 horas por medio de un vendaje oclusivo.

La mucosa vaginal se consideró inflamada si el frotis tenía un número anormalmente grande de leucocitos durante los días siguientes.

*Tratamiento:*

Una tableta vaginal conteniendo 20 mg de Pentamicina se administró a cada animal.

De acuerdo al peso del animal, esta dosis es equivalente a 20-30 veces la dosis individual terapéutica.\*

*Muestras (sangre y orina):*

El procedimiento adoptado fue igual que para los animales sanos.

*Determinación de las concentraciones de sangre y orina de la Pentamicina:*

Se utilizaron tanto el método fluorométrico como el microbiológico, descritos en el experimento anterior.

#### C) BIODISPONIBILIDAD EN LA SANGRE DE VOLUNTARIAS SANAS:

*Método:*

*Sujetos:*

Se seleccionaron 12 voluntarias sanas cuyas edades fluctuaban entre los 24 y 60 años, y que no habían usado preparados vaginales durante por lo menos 15 días.

En el momento del experimento, 4 de los 12 sujetos, estaban haciendo uso de los anticonceptivos orales estroprogestínicos.

*Tratamiento:*

Se administró a cada voluntaria 1 tableta vaginal de Pentamicina, normalmente dosificada, (conteniendo 3 mg de principio activo).

*Muestras de sangre:*

5 ml de sangre se retiraron de cada voluntaria, inmediatamente después de la tableta vaginal y después de 2, 4, 8 y 24 horas.

Las muestras se dejaron en reposo durante 30 minutos y luego se centrifugaron a 2.000 r.p.m. durante 5 minutos.

\* Ver tablas 3 y 4 para las dosis exactas.

El suero se mantuvo a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento en que se iba a realizar el análisis.

*Determinación de las concentraciones sanguíneas de Pentamicina:*

Conforme se describe en los experimentos anteriores, se utilizaron tanto el método fluorométrico como el microbiológico.

**RESULTADOS:**

a. *Perras sanas (Tablas 1-2):*

En ninguno de los animales la administración de una tableta vaginal, contentiva de una dosis de Pentamicina equivalente a 20-30 veces (de acuerdo al peso corporal individual) la dosis terapéutica única propuesta para la terapia humana, dio lugar a niveles sanguíneos o urinarios de Pentamicina mensurables, ya fuese por el método fluorométrico o microbiológico.

b. *En perras con inflamación vaginal (Tablas 3-4):*

Tampoco entre los animales en los que había inducido artificialmente la inflamación de la mucosa vaginal, la administración de una tableta vaginal de Pentamicina, contentiva de 20-30 veces (de acuerdo al peso del animal) la dosis terapéutica única, produjo niveles sanguíneos o urinarios de la droga, detectables por el método fluorométrico o el método microbiológico.

c. *En voluntarias sanas (Tablas 5-6):*

La administración de una tableta vaginal de Pentamicina, normalmente dosificada (3 mg de principio activo), a 12 voluntarias sanas, no dio por resultado la aparición de concentraciones de la droga mensurables con uno u otro de los métodos empleados.

Aún cuando 4 sobre 16 voluntarias estaban usando anticonceptivos orales estroprogestrónicos, no ocurrió absorción.

TABLA 1

BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA. LUEGO DE LA ADMINISTRACION A PERRAS SANAS

(Análisis fluorométrico)

Perra No	Peso corporal Kg.	Pentamicina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)						Pentamicina en la orina desp. (hrs.)																
			0	1	2	4	8	16	24	0	1	2	4	8	16	24									
1	12.4	1.61	No detectable	(0)	En ningún momento	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	No detectable	(*)	En ningún momento	"	"	"	"	"	"
2	15.7	1.27	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3	11.2	1.78	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4	17.3	0.86	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5	13.8	1.44	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
6	15.2	1.31	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

(0) Concentración de pentamicina 0.1 mcg./ml.

(\*) Concentración de pentamicina 0.05 mcg./ml.

TABLA 2  
 BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA.  
 LUEGO DE LA ADMINISTRACION A PERRAS SANAS

(Análisis microbiológico)

Perra Nº	Peso corporal Kg.	Pentami- cina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)							Pentamicina en la orina desp. (hrs.)						
			0	1	2	4	8	16	24	0	1	2	4	8	16	24
1	12.4	1.61	No detectable (0) En ningún momento							No detectable (*) En ningún momento						
2	15.7	1.27	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
3	11.2	1.78	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
4	17.3	0.86	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
5	13.8	1.44	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
6	15.2	1.31	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	

(0) Concentración de pentamicina < 0,15 mcg/ml.

(\*) Concentración de pentamicina < 0,15 mcg/ml.

TABLA 3

Biodisponibilidad de la especialidad tabletas vaginales de pentamicina.  
 luego de la administración a perras con inflamación vaginal

(Análisis fluorométrico)

Perra Nº	Peso corporal Kg.	Pentami- cina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)							Pentamicina en la orina desp. (hrs.)						
			0	1	2	4	8	16	24	0	1	2	4	8	16	24
1	12.4	1.61	No detectable (0) En ningún momento							No detectable (*) En ningún momento						
2	15.7	1.27	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
3	11.2	1.78	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
4	17.3	0.86	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
5	13.8	1.44	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	
6	15.2	1.31	"	"		"	"	"	"	"		"	"	"	"	

(0) Concentración de pentamicina < 0,1 mcg/ml.

(\*) Concentración de pentamicina < 0,05 mcg/ml.

TABLA 4

BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA.  
LUEGO DE LA ADMINISTRACION A PERRAS CON INFLAMACION VAGINAL

(Análisis microbiológico)

Ferra Nº	Peso corporal Kg.	Pentami- cina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)						Pentamicina en la orina desp. (hrs.)						
			0	1	2	4	8	16	24	0	1	2	4	8	16
1	12.4	1.61	No detectable (0) En ningún momento						No detectable (*) En ningún momento						
2	15.7	1.27	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3	11.2	1.78	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4	17.3	0.86	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5	13.8	1.44	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
6	15.2	1.31	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

(0) Concentración de pentamicina < 0,15 mcg/ml.

(\*) Concentración de pentamicina < 0.15 mcg/ml.

TABLA 5

BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA.  
EN VOLUNTARIAS SANAS

(Análisis fluorométrico)

Nº	Volun- tarias	Edad	Peso Corp. Kg.	Penta- micina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)						Pentamicina en la orina desp. (hrs.)					
					0	1	2	4	8	24	0	1	2	4	8	24
1	M. V.	29	52	0.057	No detectable (0) En ningún momento						No detectable (*) En ningún momento					
2	F. C.	60	70	0.042	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
3	P. G.	31	45	0.066	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
4	K. Z.	45	58	0.051	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
5	L. G.	42	60	0.050	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
6	D. I.	34	52	0.057	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
7	F. C.	32	58	0.051	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
8	O. M.	35	62	0.048	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
9	G. B.	30	54	0.055	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
10	C. G.	31	64	0.046	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
11	M. B.	28	52	0.057	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
12	A. C.	35	50	0.060	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	

(0) Concentración de pentamicina < 0,1 mcg/ml.

(\*) Concentración de pentamicina < 0.05 mcg/ml.

BIODISPONIBILIDAD DE LA ESPECIALIDAD TABLETAS VAGINALES DE PENTAMICINA, EN VOLUNTARIAS SANAS

(Análisis microbiológico)

Nº Voluntarias	Edad	Peso Corp. Kg.	Pentamicina mg./kg.	Pentamicina en la sangre desp. (hrs.)						Pentamicina en la orina desp. (hrs.)							
				0	1	2	4	8	24	0	1	2	4	8	24		
1	M. V.	29	52	0.057	No detectable (0)			En ningún momento			No detectable (*)			En ningún momento			
2	F. C.	60	70	0.042	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3	P. G.	31	45	0.066	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4	K. Z.	45	58	0.051	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5	L. G.	42	60	0.050	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
6	D. I.	34	52	0.057	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
7	F. C.	32	58	0.051	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
8	O. M.	35	63	0.048	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
9	G. B.	30	54	0.055	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
10	C. G.	31	64	0.046	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
11	M. B.	28	52	0.057	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
12	A. C.	35	50	0.060	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

(0) Concentración de pentamicina < 0,15 mcg/ml.

(\*) Concentración de pentamicina < 0,15 mcg/ml.

CONCLUSIONES:

Por los resultados globales de los estudios farmacocinéticos realizados con la tableta vaginal de Pentamicina, en perras sanas, en perras con inflamación vaginal y en voluntarias sanas, puede concluirse que el principio activo de Pentamicina no es absorbido cuando la mucosa vaginal está intacta, como se ilustra por las pruebas en voluntarias y perras sanas, o cuando están tomando anti-conceptivos estroprogestrónicos.

Puede, por consiguiente, afirmarse que la Pentamicina, principio activo de las tabletas vaginales de Pentamicina, no se absorbe en la circulación sistémica.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Tomioka, T.: J. Antib. Ser. B. (1959), 12: 6.
- 2 Bonpiani, A.: Prueba Clínica de Pentamicina (Inédito).
- 3 Takamura, S.: Glin Gynec. Obst. (1962), 16: 7.
- 4 Tsubakiyama, T.: J. Antib. Ser. B. (1961), 14: 314.