



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**



**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

TÍTULO DEL INFORME:

**“MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES
EN FLUIDOS CORPORALES DE FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO
DE COVID-19”**

PROYECTO GENÉRICO:

**ESCALAMIENTO DE PROCESOS DE OBTENCIÓN Y SIMULACIÓN DE PROCESOS
PRODUCTIVOS DENTRO DEL ÁREA FARMACÉUTICA**

ETAPA 1

**MONSERRATH GRACIELA BRACAMONTES JUÁREZ
2163925958**

LABORATORIO DE SÍNTESIS DE POLÍMEROS EDIFICIO N-005

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO

**Dra. Norma Angélica Noguez
Méndez
No. Económico: 17902
Asesor interno**

**Dr. Eric Alejandro García López
No. Económico: 43815
Asesor interno**

Fecha de inicio: 05 de septiembre de 2021

Fecha de término: 13 de febrero de 2023

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	3
1. HISTORIA DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS	3
1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y FILOGENÉTICA DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS	5
1.2 ESTRUCTURA DE LOS CORONAVIRUS	6
1.3 MECANISMO DE ACCIÓN	7
1.4 SIMILITUD DE LAS SECUENCIAS GENÓMICAS DE LAS CEPAS DE CORONAVIRUS HUMANOS	8
1.5 PATOGÉNESIS DEL CORONAVIRUS	9
1.6 DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD COVID-19	9
1.7 EPIDEMIOLOGÍA	10
1.8 INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD	10
1.9 MANIFESTACIONES CLÍNICAS	10
A. ENFERMEDAD LEVE	10
B. ENFERMEDAD GRAVE	10
C. ENFERMEDAD CRÍTICA	11
1.10 TRANSMISIÓN DE SARS CoV-2	11
A. TRANSMISIÓN DE ANIMAL A HUMANO	11
B. TRANSMISIÓN DE HUMANO A HUMANO	12
C. INFECCIONES RELACIONADAS CON HOSPITALES	13
1.11 MANEJO DE LA ENFERMEDAD	13
A. MANEJO CLÍNICO DE LA ENFERMEDAD	13
B. ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN	14
C. ADOPCIÓN DE MEDIDAS PREVENTIVAS SEGÚN GRUPO DE EDAD	14
D. PREVENCIÓN DE LA PROPAGACIÓN DEL VIRUS	14
2. TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS POSIBLES PARA COVID-19	15
2.1 TRATAMIENTO SINTOMÁTICO	15
A. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON ENFERMEDAD LEVE	15
B. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON ENFERMEDAD GRAVE Y CRÍTICA	16
JUSTIFICACIÓN	23
OBJETIVOS	23
METODOLOGÍA	24
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIÓN	27
PERSPECTIVA	27
REFERENCIAS	28

INTRODUCCIÓN

El síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) es un coronavirus altamente transmisible y patógeno que surgió a fines de 2019 y ha causado una pandemia de enfermedad respiratoria aguda, denominada “enfermedad por coronavirus 2019” (COVID-19), amenazando la salud de los seres humanos.¹

En las pasadas dos décadas, dos tipos de coronavirus (CoV) previamente desconocidos, el SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome-CoV) y el MERSCoV (Middle East Respiratory Syndrome-CoV) acapararon la atención médica, científica y mediática debido a su naturaleza letal y alto potencial epidémico. Ahora la aparición de un tercer virus similar a los anteriores, el SARS-CoV-2, tiene al mundo en una situación de emergencia sanitaria, económica y social no vista desde la segunda guerra mundial.^{2,3}

Ante tal situación, los científicos trabajaron a la par con laboratorios farmacéuticos para poder desarrollar una vacuna, y de esta manera reducir los niveles de infección en la población. Por otro lado, no hay un tratamiento farmacológico específico para esta enfermedad, únicamente se han hecho pruebas para el uso de medicamentos que pueden funcionar como tratamiento, tomando en cuenta el mecanismo de acción y el nivel de gravedad del paciente. Para verificar si el fármaco es eficaz y seguro para un paciente con COVID-19, se recurre al desarrollo de métodos analíticos para determinar su concentración en fluidos biológicos en general y de esta manera, asegurar el uso del medicamento.

ANTECEDENTES

1. HISTORIA DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS

La primera descripción de un coronavirus humano fue en 1965 por Tyrrell y Bynoe quienes nombraron al virus como B814, donde la presencia del virus se demostró al inocular a voluntarios sanos con el medio de cultivo del virus y con la consecuente presencia de una enfermedad en vía respiratoria superior. Posteriormente Almeida y Tyrrell por medio de observaciones con microscopía electrónica del B814, describieron que los virus exhibían "una franja característica de espigas anchas, distintivas y en forma de pétalos que se asemejan a una corona como la corona spinarum en el arte religioso", las cuales tenían un tamaño medio (80-150 nm), y en 1975, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus nombró una nueva familia con un género de coronavirus, Coronaviridae.^{2,3}

La importancia de la clase de coronavirus tanto en términos médicos como económicos se hizo más palpable desde que se organizó el Primer Congreso Internacional en Alemania en 1980, donde se describió que la incorporación de la biología molecular moderna y la inmunología ayudó y sigue ayudando a proporcionar una nueva perspectiva para explicar la naturaleza de los virus y la patogénesis de las enfermedades que causan, ya sea en animales o en humanos.²

Los coronavirus son un grupo diverso de virus que infectan a varios animales, los cuales pueden fungir a su vez como intermediarios para causar infecciones respiratorias de leves a graves en humanos. En 2002 y 2012, respectivamente, dos coronavirus altamente patógenos con origen zoonótico, el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), surgieron en humanos y causaron

enfermedades respiratorias fatales, lo que convirtió a los coronavirus emergentes en un nuevo problema de salud pública en el siglo XXI.¹

Los coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) no se habían considerado como patógenos altamente virulentos hasta el brote de «neumonías atípicas» en noviembre del 2002 en la ciudad de Foshan de la provincia de Guangdong, China. Del 24 de enero al 18 de febrero de 2003 se hospitalizaron 55 pacientes con diagnóstico de «neumonía atípica», donde encontraron como patógena causal al SARS-CoV en tres pacientes por medio de aislamiento en cultivo de hisopado nasal y serología positiva en 48 pacientes (87%). El 11 de febrero de 2003, la OMS recibió el informe del ministerio de salud de China que reportó un brote de 300 casos de SARS y cinco muertes asociadas en la provincia de Guangdong, y para el 21 de febrero de 2003 la infección ya se había exportado a Hong Kong.³

El 15 marzo de 2003, la OMS nombró la enfermedad como SARS y la declaró una amenaza para la salud mundial. Posteriormente, el 22 de marzo a este nuevo beta coronavirus se le denominó SARS-CoV y se estableció como el causante de estas neumonías atípicas. Pocas semanas después, debido a la globalización y desplazamiento aéreo, el SARS-CoV se esparció a través de 29 países alrededor del mundo, principalmente en las ciudades de Toronto, Hong Kong, Singapur y Hanói, donde las principales vías de transmisión descritas fueron contacto cercano con personas infectadas con gotas respiratorias. El total de casos registrados fue de 8,096 y 774 muertes con una tasa de letalidad de 9.6%. La OMS declaró el fin de la epidemia en julio 2003, sin embargo, se encontró que el SARS-CoV tiene como hospedero natural a los murciélagos, pero existen otros tipos de coronavirus como HCoV-OC43 y HKU1, cuyos hospederos son los roedores.^{2, 3, 4}

Posteriormente, en junio del 2012 se reportó la primera muerte por otro nuevo coronavirus, en Jeddah, Arabia Saudita. El primer caso desarrolló neumonía y falleció por falla orgánica múltiple. Esta infección se ligó a un brote previo que sucedió en un hospital en Zarqa, Jordán en abril de 2012, al cual nombraron MERS-CoV. En 2013 se registró un brote en Al Hasa, Arabia Saudita, que se asoció a bajas medidas de seguridad por parte del personal de salud. En 2015 ocurrió un brote en Corea del Sur, fue el segundo brote más grande después de Arabia Saudita, con 186 casos. En junio de 2017 se reportó otro brote de 34 casos, 17 de estos en personal de salud, en un hospital de Riyadh, Arabia Saudita. De abril de 2012 a diciembre de 2019 se han registrado 2,499 casos confirmados, 858 muertes, con tasa de letalidad del 34.3% en 27 países a nivel mundial. El país más afectado fue Arabia Saudita con 2,106 casos y 780 muertes. El MERS-CoV también tiene como hospedero natural a los murciélagos. Los casos de MERS-CoV estuvieron asociados a transmisión con camellos dromedarios y se sabe que la infección en camellos está documentada desde 1983.^{2, 3, 4}

Recientemente, a finales de 2019, un nuevo coronavirus designado como SARS-CoV-2 surgió en la ciudad de Wuhan, China, y provocó un brote de neumonía viral inusual. Al ser altamente transmisible, esta nueva enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), se propagó rápidamente por todo el mundo. Ha superado abrumadoramente al SARS y al MERS tanto en términos de número de personas infectadas como de rango espacial de áreas epidémicas. (Ver Tabla 1).^{1, 2, 5}

Tabla 1. Comparación de SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 (*actualizado al día 03 de junio de 2022).

	SARS-CoV-2*	MERS-CoV	SARS-CoV
Fecha del brote	Diciembre 2019	Abril 2012	Noviembre 2002
Epicentro del brote de enfermedad	Wuhan, China	Jeddah, Arabia Saudita	Guangdong, China
Hospedero animal original/intermedio	Murciélagos, pangolines y roedores	Murciélagos/Camellos	Murciélagos/Civetas de palma enmascaradas
Número de casos	531,000,000	2494	8096
Número de muertes	6,300,000	858	744
Velocidad de transmisión	3-4	<1	3
Tasa de fatalidad	1.4%	37%	10%
Países/territorios afectados	234	27	26

Nota. Adaptado de Sharma, A. *et. al* (2021) y <https://ourworldindata.org/explorers/coronavirus-data-explorer>

1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y FILOGENÉTICA DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS

Los coronavirus humanos son miembros del orden Nidovirales, que comprende las familias *Coronaviridae*, *Arteriviridae*, *Roniviridae* y *Roniviridae*. *Coronavirinae* y *Torovirinae* son dos subfamilias de *Coronaviridae*. Los *Coronavirinae* tienen una subfamilia de cuatro grupos Alfa, Beta, Gamma y Delta, los dos primeros de los cuales infectan a los mamíferos y los dos segundos infectan a las aves.^{2, 3, 6}

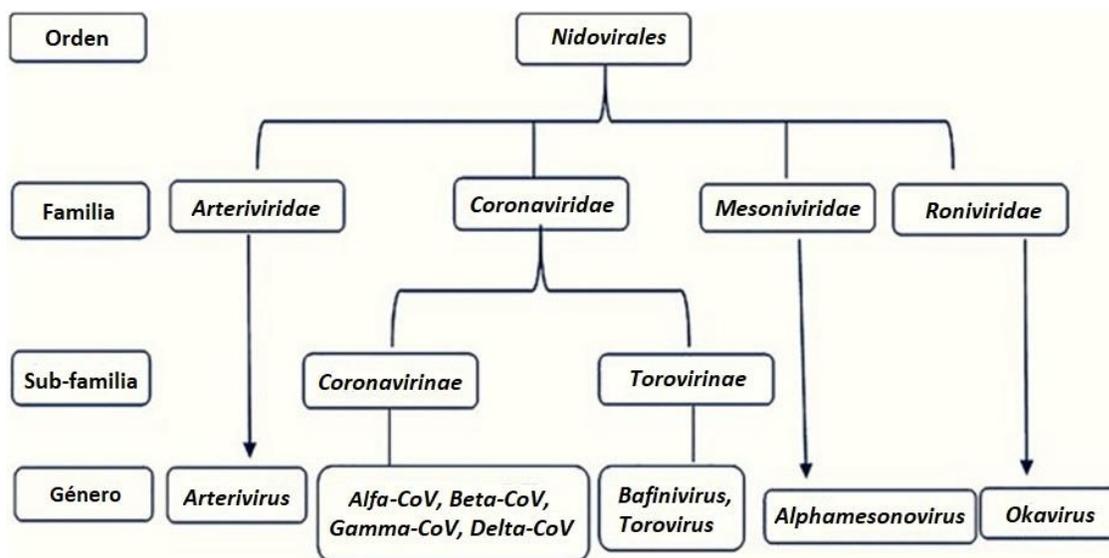


Figura 1. La taxonomía del orden Nidovirales. Adaptado de: Sharjeel S.M. *et. al.* (2020)

Principalmente, los virus se clasificaron en estos grupos según la serología, pero actualmente se clasifican según la clasificación filogenética. Todos los coronavirus pertenecen a los virus de clase IV de Baltimore (ARN monocatenario de sentido positivo), tienen forma esférica con diámetros de aproximadamente 125 nm y están envueltos en una cápside con espinas, que se asemejan a la corona solar. En relación con otros virus de ARN positivo, los coronavirus tienen un genoma grande y poseen una maquinaria sofisticada para superar a las células huésped. Se sabe que cruzan las barreras de las especies, infectan a animales salvajes, rebaños y seres humanos, donde secuestran las células huésped para replicarse, propagarse y desencadenar brotes inesperados e infecciones asintomáticas. Hasta la fecha se han descrito siete especies de coronavirus humanos: HCoV-NL63 y HCoV-229E, que pertenecen al género Alfa, y HCoV-OC43, HCoVHKU1, SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 pertenecientes al género Beta.^{1,2,4,7}

Hasta el momento, no existen medios efectivos de prevención o tratamientos contra los coronavirus, que se han convertido en una fuente importante de brotes de enfermedades respiratorias. Cuatro de los seis coronavirus que anteriormente se sabía que infectaban a los humanos causan resfriados comunes, enfermedades de las vías respiratorias superiores e intestinales. De estos, los betacoronavirus como el SARS-CoV y el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) causan infecciones graves y, a menudo, mortales en las vías respiratorias.^{3,6,7}

1.2. ESTRUCTURA DEL CORONAVIRUS

Las proyecciones de la superficie son compuestos de trímeros de una proteína llamada *Spike* (S), las cuales son evidentes en imágenes microscópicas electrónicas del coronavirus. La envoltura del virus está protegida por una glicoproteína de membrana (M), que es la proteína estructural más abundante del virus. La proteína M forma el virus y fortalece la curvatura de la membrana y se adhiere a la nucleocápside. Además, la envoltura contiene una pequeña cantidad de una proteína de membrana transitoria conocida como proteína de cubierta (E), que desempeña un papel en el ensamblaje, la liberación y la patogenicidad del virus. La nucleocápside (N) es otra proteína viral que se une al genoma de ARN, creando una nucleocápside helicoidal simétrica. Además, las nucleocápsides tienen dos dominios, que pueden adherirse al genoma de ARN a través de diversos mecanismos.^{2,4,7}

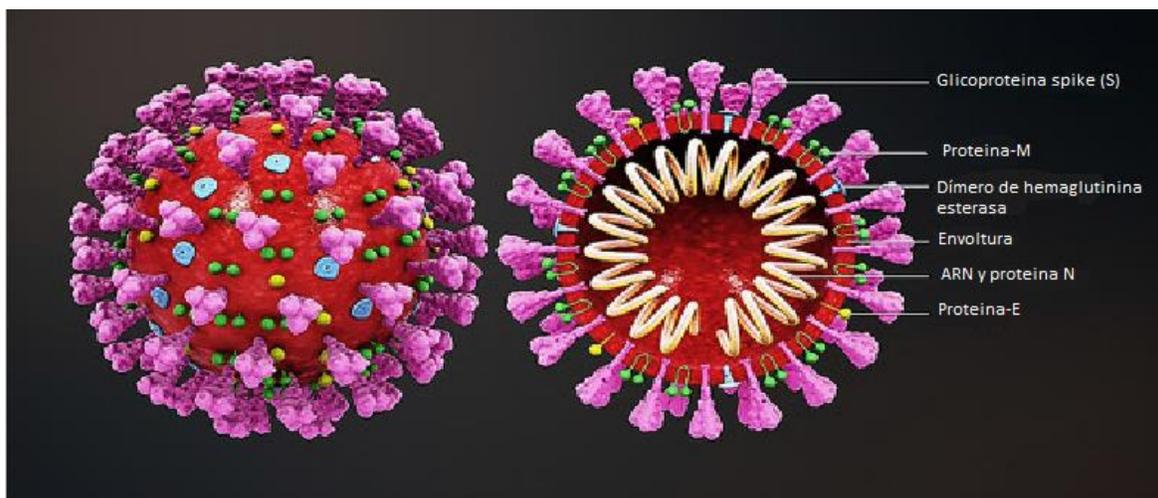


Figura 2. Estructura del coronavirus. Adaptado de: B. Parikhani *et. al.* (2021).

1.3. MECANISMO DE ACCIÓN

El enlace de los viriones a la célula huésped se desencadena por las interacciones entre la proteína S y su receptor, la cual es la clave para que un coronavirus invada una especie huésped y también controla el tropismo celular del virus, aunque algunos coronavirus usan peptidasas como su receptor celular. ^{1,5,7,8}

Después de unirse a su receptor, el virus ingresa al citosol a través de la vía endosomal. El siguiente paso en el ciclo de vida del coronavirus implica la traducción del gen de la replicasa del virión a partir del ARN genómico (ARNg), que forma dos poliproteínas coterminales, pp1a y pp1ab. Estas proteínas producen varias proteínas no estructurales (nsps) siguiendo los procesos de proteólisis. Aproximadamente todos los nsps se fusionan en el complejo replicasa-transcriptasa (RTC) para generar una región adecuada para la síntesis de ARN y son unánimemente responsables de la replicación y transcripción del ARN subgenómico (sgRNA). Los sgRNA actúan como ARNm para los genes estructurales y accesorios que se encuentran abajo de la poliproteína replicasa. Tanto los ARNg como los sgRNA se producen a través del cambio de marco ribosómico que genera ARN intermedios al interrumpir la transcripción. Tras la replicación y la síntesis del (+) sgRNA, las proteínas estructurales virales, incluidas S, E y M, se traducen en el retículo endoplásmico (RE) y pasan a través del ciclo secretor al compartimento intermedio del retículo endoplásmico de Golgi (ERGIC). Posteriormente, el genoma del virus, revestido por la proteína N, brota dentro de la membrana ERGIC, que está compuesta por otras proteínas estructurales virales. Después del ensamblaje, las partículas se transportan al exterior de la célula a través de vesículas, se liberan por exocitosis y pasan a través del ciclo secretor hacia el compartimento intermedio del retículo endoplásmico de Golgi (ERGIC). ^{1,4,5,7,8}

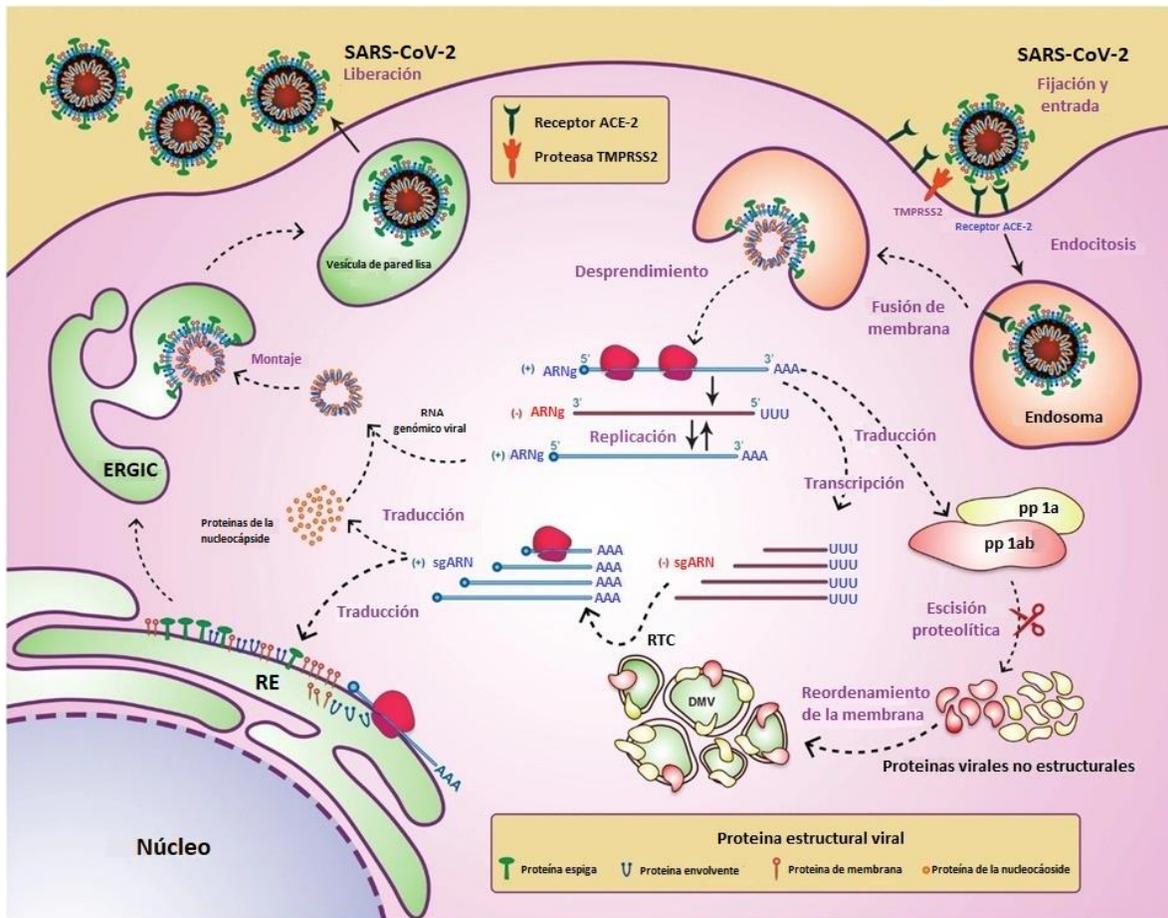


Figura 3. Descripción del mecanismo de acción del coronavirus. Adaptado de: B. Parikhani *et al.* (2021).

1.4. SIMILITUD DE LAS SECUENCIAS GENÓMICAS DE LAS CEPAS DE CORONAVIRUS HUMANOS

En general, se sabe que los virus de ARN, como el coronavirus, el virus de la influenza y el VIH, tienen tasas de mutación extremadamente altas debido a su mecanismo de replicación y la falta de actividad de corrección de pruebas de la ARN polimerasa viral. Las mutaciones son los componentes básicos de la evolución, lo que permite la selección natural de rasgos beneficiosos para el virus, como una mayor virulencia, adaptabilidad y capacidad de evolución. Según un estudio filogenético, se informó que el SARS-CoV-2 saltó la barrera de especies de los murciélagos vendidos en el mercado de mariscos del sur de China de Huanan en Wuhan, provincia de Hubei, China. Además, el estudio informó una mayor similitud de la secuencia genómica del SARS-CoV-2 con los coronavirus de murciélago similares al SARS RaTG13 (96,2 % de identidad) recolectados de murciélagos en Yunnan en comparación con el SARS-CoV (79 %) o el MERS-CoV (51,8 %), lo que sugiere que los murciélagos son la principal fuente de SARS-CoV-2 (ver Tabla 2). Debido a la gran variedad de animales que se venden en el mercado de mariscos de Huanan, los investigadores especulan que un animal intermediario, como serpientes, pangolines, aves y otros mamíferos, también podría haber desempeñado un papel en facilitar la aparición del brote actual de COVID-19. ^{2,6,8,9}

Cepa de coronavirus	Similitud de la secuencia genómica con el SARS-CoV-2
Murciélago coronavirus similar al SARS-RaTG13	96.2%
Murciélago coronavirus similar al SARS-SL-CoVZC45	88%
Murciélago coronavirus similar al SARS-SL-CoVZXC21	88%
SARS-CoV	79%
MERS-CoV	51.8%

Nota: Adaptado de: Sharma, A. *et. al.* (2021).

1.5. PATOGÉNESIS DE SARS-COV-2

La patogenia de la infección por SARS-CoV-2 en humanos se manifiesta desde síntomas leves hasta insuficiencia respiratoria grave. Al unirse a las células epiteliales en el tracto respiratorio, el SARS-CoV-2 comienza a replicarse, migrar hacia las vías respiratorias para entrar en las células epiteliales alveolares de los pulmones. La rápida replicación del SARS-CoV-2 en los pulmones puede desencadenar una fuerte respuesta inmunitaria. El síndrome de tormenta de citoquinas causa síndrome de dificultad respiratoria aguda e insuficiencia respiratoria, que se considera la principal causa de muerte en pacientes con COVID-19. Los pacientes de mayor edad (> 60 años) y con enfermedades preexistentes graves tienen mayor riesgo de desarrollar insuficiencia respiratoria y muerte, aunque también se ha notificado insuficiencia multiorgánica en algunos casos de COVID-19.^{2,6,8}

Los síntomas típicos de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) son fiebre, tos seca y fatiga y, en casos más graves, disnea. Muchas infecciones, en particular en niños y adultos jóvenes, son asintomáticas, mientras que las personas mayores y/o las personas con comorbilidades tienen un mayor riesgo de enfermedad grave, insuficiencia respiratoria y muerte. El período de incubación es de ~5 días, la enfermedad grave generalmente se desarrolla ~8 días después del inicio de los síntomas y la enfermedad crítica y la muerte ocurren a los ~16 días.^{1,2,6,8}

Los cambios histopatológicos en pacientes con COVID-19 ocurren principalmente en los pulmones. Los análisis histopatológicos mostraron daño alveolar difuso bilateral, formación de membrana hialina, descamación de neumocitos y depósitos de fibrina en los pulmones de pacientes con COVID-19 grave. En algunos casos también se mostró inflamación exudativa. Los ensayos de inmunohistoquímica detectaron el antígeno SARS-CoV-2 en la vía aérea superior, epitelio bronquiolar y epitelio de la glándula submucosa, así como en neumocitos tipo I y tipo II, macrófagos alveolares y membranas hialinas en los pulmones.^{1,2,6,8}

1.6. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ENFERMEDAD COVID-19

Los brotes de enfermedades aparecen como un aumento repentino de la enfermedad en un área o comunidad en particular. Cuando el brote no puede contenerse, se propaga a una gran población y afecta a toda una región o comunidad de personas, provocando una epidemia. A medida que las personas infectadas y/u objetos contaminados con material infeccioso se esparcen por todo el mundo, una epidemia se convierte en una pandemia. La mayoría de las pandemias enfrentadas por la humanidad en los últimos tiempos son zoonosis que generalmente se transmiten a los humanos a través del contacto directo con los fluidos corporales de los animales o mediante vectores que transportan patógenos zoonóticos.^{2,6,7}

Se cree que la pandemia actual, COVID-19, surgió de un huésped o intermediario animal. El COVID-19 es causado por el virus SARS-CoV-2, cuyo genoma comparte un 96% de similitud con el betacoronavirus aislado de un murciélago en 2013 (RaTG13), como se puede ver en la tabla 2 de similitudes.^{2,6}

1.7. EPIDEMIOLOGÍA

A finales de 2019, se identificó un nuevo coronavirus en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China. Inicialmente, la enfermedad se propagó localmente, afectando a la gente de Wuhan, y luego se propagó por todo el mundo a través de viajeros internacionales. En consecuencia, fue anunciada como pandemia mundial por la OMS el 11 de marzo de 2020.^{1,2}

Tras la primera actualización de la oficina de país de la OMS en China en diciembre de 2019, la incidencia de COVID-19 ha aumentado significativamente. El SARS-CoV-2 se propagó a otras áreas de China debido en gran parte a la temporada de viajes del festival del Año Nuevo Lunar. Los primeros casos fuera de China se identificaron en Tailandia y Japón el 13 y 16 de enero de 2020, respectivamente. Para el 25 de enero, el virus se había detectado en otras partes del mundo, incluidos Hong Kong, Macao, Australia, Malasia, Singapur, Francia y Japón. El 3 de febrero, el número de países afectados por el virus era de 24 y superaba los 213 el 13 de abril.^{1,2,4,6,10}

1.8. INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD

La incidencia de COVID-19 difiere en todo el mundo y, en el momento de la preparación del manuscrito (2 de enero de 2021), la OMS notificó a nivel mundial más de 84 millones de casos confirmados y 1.8 millones de muertes documentadas en más de 218 países. El factor de riesgo subyacente más común fue la hipertensión (12.8%), seguido de la diabetes (5.3%) y las enfermedades cardiovasculares (4.2%). Se ha informado la incidencia de COVID-19 entre niños de todas las edades, aunque es menos frecuente y grave que las manifestaciones de adultos. Del total de casos notificados a la OMS, los síntomas de la enfermedad fueron críticos, graves y leves en el 3%, 15% y 82% de los casos, respectivamente. La tasa de mortalidad global se ha estimado en un 2%; sin embargo, se han reportado tasas diferentes fuera de China. En la investigación de Lee et al., el número de reproducción (R0) del SARS-CoV-2 fue de 2.2, lo que significa que cada persona infectada puede transmitir el virus a una media de 2.2 personas. En otro estudio, el R0 del virus se informó en 2.68 personas, y su tiempo de duplicación epidémica se calculó en 6.4 días.^{1,2,4,6,10}

1.9. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE COVID-19

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de COVID-19 generalmente incluyen tos seca, faringitis, náuseas, fiebre, disnea, opresión en el pecho, anorexia, diarrea, dolor abdominal. Los signos clínicos pictóricos se pueden clasificar en tres categorías:

- A. Enfermedad leve:** alrededor del 81 % de los casos se siente mal con las vías respiratorias superiores y leve o sin neumonía, fiebre leve, dolor de garganta, congestión nasal, malestar general y dolor de cabeza.^{1,2,4,6,10}
- B. Enfermedad grave:** estos pacientes experimentan síntomas respiratorios, como disnea, taquipnea con frecuencia respiratoria ≥ 30 /min, saturación de oxígeno en sangre ≤ 93 % e infiltrados pulmonares $> 50\%$ en 24 a 48 h.^{1,2,4,6,10}

- C. Enfermedad crítica:** los pacientes que padecen síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) pueden sufrir un shock séptico y disfunción multiorgánica, trastornos de la coagulación e incluso la muerte. ^{1,2,4,6,10}

Parece que todas las edades de la población son susceptibles a la infección por SARS-CoV-2, y la mediana de edad de infección es de alrededor de 50 años. Sin embargo, las manifestaciones clínicas difieren con la edad. En general, los hombres mayores (>60 años) con comorbilidades tienen más probabilidades de desarrollar una enfermedad respiratoria grave que requiere hospitalización o incluso morir, mientras que la mayoría de los jóvenes y niños solo tienen enfermedades leves o son asintomáticos. En particular, el riesgo de enfermedad no fue mayor para las mujeres embarazadas. Sin embargo, se informó evidencia de transmisión transplacentaria de SARS-CoV-2 de una madre infectada a un recién nacido, aunque fue un caso aislado. En la infección, los síntomas más comunes son fiebre, fatiga y tos seca. La mayoría de las personas mostraron signos de enfermedades después de un período de incubación de 1 a 14 días, y desarrollaron disnea y neumonía dentro de 8 días aproximadamente desde el inicio de la enfermedad. La alta transmisibilidad del SARS-CoV-2 puede atribuirse a las características virológicas únicas del SARS-CoV-2. La transmisión del SARS-CoV ocurrió principalmente después del inicio de la enfermedad y alcanzó su punto máximo después de la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, la carga viral de SARS-CoV-2 en las muestras del tracto respiratorio superior ya era más alta durante la primera semana de síntomas y, por lo tanto, el riesgo de diseminación del virus faríngeo era muy alto al comienzo de la infección. ^{1,2,4,6,10}

Por otro lado, la evidencia muestra que los pacientes con afecciones médicas subyacentes, como asma (moderada a grave), enfermedad cerebrovascular, hipertensión, deficiencias inmunitarias, estado inmunocomprometido (sistema inmunitario debilitado), pacientes que recibieron quimioterapia o medicamentos para debilitar el sistema inmunitario, fibrosis quística, VIH, La diabetes mellitus tipo 1, el tabaquismo, la talasemia, el aumento de la edad, el género masculino y la obesidad tienen un riesgo elevado de enfermedad grave por COVID-19. ^{1,2,4,6,10}

1.10. TRANSMISIÓN DE SARS-CoV-2

A. Transmisión de animal a humano

La transmisión de COVID-19 se origina en los murciélagos, pero es posible que se haya transmitido a los humanos a través de otros animales intermediarios. Un estudio realizado por Xiao. Et. al. mencionó que para que el SARS-CoV-2 se transmita a los humanos, siempre debe estar presente un huésped intermediario, ya que los CoV derivados de murciélagos rara vez infectan a los humanos. El estudio también informó que los pangolines salvajes chinos y malayos fueron examinados para detectar coronavirus similares al SARS-CoV-2, y la mayoría dio positivo. Es importante resaltar que, después de un análisis exhaustivo, se encontró que un solo dominio de unión al receptor (RBD) en la proteína de pico de Pangolin-CoV tenía una diferencia menor en solo un aminoácido con respecto al SARS-CoV-2. Estos datos indicaron que el SARS-CoV-2 puede haberse originado potencialmente a partir de la recombinación viral entre Pangolin-CoV y Bat-nCoV antes de transmitirse a los humanos. ^{2,6,11}

B. Transmisión humano-humano

Los estornudos frecuentes y la tos seca que presenta el paciente con COVID-19 generan miles de gotitas por centímetro cúbico que contienen al virus. Dado que se cree que la infección por SARS-CoV-2 se transmite por aerosoles y/o gotitas, es importante evaluar las características de sus partículas, el comportamiento aerodinámico y su propensión a eludir varias barreras fisiológicas para ingresar al cuerpo del huésped.^{1,5,7,11}

Recientemente se ha identificado que los estornudos y la tos seca que sufren los pacientes con COVID-19 generan gotas de tamaño que oscilan entre 0.6 y 100 μm , y el número de gotas aumenta proporcionalmente con la tasa de tos. Más del 97 % de estas gotas tienden a tener menos de 50 μm , y la mayoría de ellas tienen menos de 10 μm . Los pacientes pre o asintomáticos también pueden generar y emitir grandes cantidades de gotitas, menores de 1 μm , a través de la respiración y el habla normales.^{1,5,7,11}

La distribución del tamaño de las partículas puede cambiar aún más cuando las gotas en el aire se evaporan para formar núcleos de gotas. La formación de gotas depende de la temperatura y la humedad ambiente, así como del tamaño de partícula de la gota. Las gotas de menos de 10 μm tienen un mayor potencial para convertirse en núcleos de gotas antes de sedimentarse. Estas gotitas quedan suspendidas en la nube de aire emitida por la tos o por el flujo de aire ambiental. Las gotitas con un diámetro inferior a 50 μm sobreviven más tiempo en el aire sin evaporación significativa y contaminan superficies distantes, así como los sistemas de ventilación. Como la mayoría de los virus, el tamaño promedio del SARS-CoV-2 es de alrededor de 0.1 μm . Por lo tanto, incluso las partículas de aerosol de 1 a 10 μm son lo suficientemente grandes para transportar una carga de partículas virales considerable.^{1,5,7,11}

La atmósfera localmente húmeda y cálida dentro del aire turbulento ayuda a que las gotitas escapen de la evaporación por mucho más tiempo; esto extiende considerablemente la vida útil de la gota de una fracción de segundo a minutos. Además, la tos y los estornudos también generan columnas de aerosol a una velocidad lo suficientemente alta como para infectar a alguien que se encuentre cerca de la persona infectada. En condiciones óptimas de humedad y temperatura, las gotas de aerosol de todos los tamaños pueden viajar hasta 7 u 8 m.^{1,5,7,11}

La transmisión del virus entre humanos puede ocurrir a través de múltiples rutas, ya sea por contacto cercano de persona a persona, gotitas de bioaerosol o tocar superficies contaminadas. Dado que el coronavirus también puede infectar el tracto gastrointestinal, podría ser posible la transmisión fecal-oral. Otra vía es a través de la "transmisión asintomática", en la que las personas infectadas asintomáticas o los portadores, sin saberlo, transmiten el virus a otras personas.^{1,4,5,7,11}

Varios tipos de agentes biocidas, como el peróxido de hidrógeno, los alcoholes, el hipoclorito de sodio o el cloruro de benzalconio, se utilizan en todo el mundo para la desinfección, principalmente en entornos sanitarios. Etanol (78–95 %), 2-propanol (70–100 %), una combinación de 2-propanol (45 %) con 1-propanol (30 %), glutaraldehído (0.5–2.5 %), formaldehído (0.7–1 %) y la povidona yodada (0.23–7.5 %) inactivan fácilmente los coronavirus. La concentración mínima de hipoclorito de sodio necesaria para la desinfección es del 0.21%. Por otro lado, el peróxido de hidrógeno es efectivo a una concentración de 0.5% y un tiempo de incubación de 1 min. Los coronavirus humanos

pueden permanecer infecciosos en superficies inanimadas a temperatura ambiente hasta por 9 días.
1,4,5,7,11

C. Infecciones relacionadas con hospitales

Se sabe que los hospitales son una de las fuentes de transmisión secundaria del SARS-CoV-2, ya que albergan una gran cantidad de personas infectadas. En el caso de la COVID-19, se ha reportado como otro modo de transmisión la contaminación viral en las habitaciones de los hospitales donde se atiende a pacientes con COVID-19, así como también en sus superficies.^{1,4,5,6,7,11}

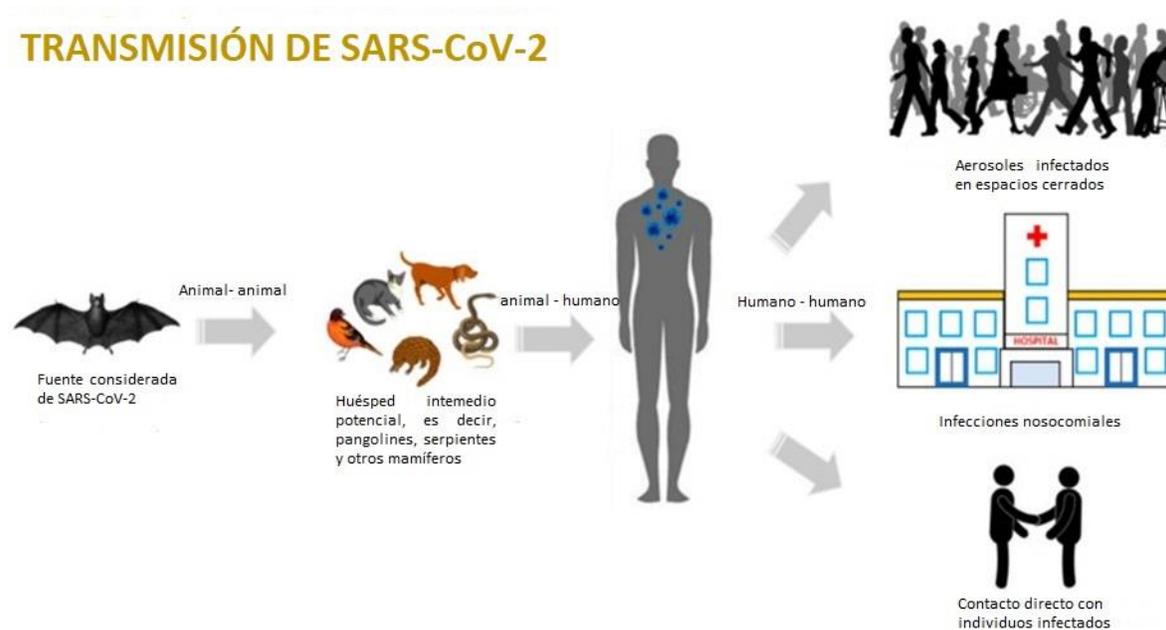


Figura 4. Transmisión del SARS-CoV-2. Adaptado de: Sharma, A. *et. al.* (2021).

1.11 MANEJO DE LA ENFERMEDAD

A. Manejo clínico de la enfermedad

Para el control de los pacientes infectados con SARS-CoV-2 en los hospitales optaron por aislar una parte para atender a los pacientes infectados y así brindar la atención necesaria a los mismos, a las cuales nombraron unidades de cuidados intensivos (UCI). Las UCI se han enfrentado a desafíos en el aumento de la pandemia de COVID-19. Junto con la urgencia de satisfacer la demanda de atención médica, otro desafío ha sido minimizar la transmisión del virus de los pacientes de la UCI con COVID-19 a otros pacientes y profesionales del hospital. Para superar esto, se han recomendado y aplicado medidas a las regulaciones de la UCI, incluida la gestión de la capacidad de la UCI, la carga de trabajo del personal y la infraestructura para la prevención de infecciones. El manejo clínico de los pacientes críticos con COVID-19 requiere que se desinfecten los artículos no desechables que entran en contacto con más de un paciente, como los ventiladores y las camas de la UCI, para reducir las posibilidades de transmisión por objetos infectados.^{4, 5, 6, 7, 11}

B. Estrategias de prevención

El personal de salud ha publicado pautas de seguridad que podrían ayudar en la prevención de infecciones en la población. Lo más notable en la guía es evitar el contacto cercano con personas infectadas, quedarse en casa si uno muestra síntomas de la enfermedad, desinfectar con frecuencia el hogar y los artículos de uso regular y lavarse las manos con frecuencia. Aunque inicialmente solo se recomendaba el uso de máscaras para personas con síntomas de COVID-19, trabajadores de la salud y personas en entornos cerrados con pacientes infectados, ahora se sugiere que usar una máscara en público puede reducir efectivamente el riesgo de transmisión de COVID-19. La OMS también ha proporcionado recomendaciones para la prevención de infecciones, incluida información básica sobre cómo cocinar bien la carne y los huevos, lavarse las manos y cubrirse la boca y la nariz al estornudar o toser.^{4, 6, 7, 11}

C. Adopción de medidas preventivas según grupo de edad

El SARS-CoV-2 infecta a personas de todos los grupos de edad; sin embargo, existe una mayor tasa de mortalidad en personas mayores de 50 años y aquellos con complicaciones de salud previas. Se aconseja a los ancianos que minimicen el contacto con personas ajenas a su hogar y que permanezcan en casa para reducir el riesgo de infección por SARS-CoV-2. Además, se sugiere que la información para prevenir la enfermedad proporcionada por el gobierno para superar la pandemia y reducir las tasas de mortalidad asociadas con COVID-19, debe diseñarse de manera eficiente para proteger a los adultos mayores. Por otro lado, también se ha informado que los bebés pueden contraer el SARS-CoV-2. Una paciente de sexo femenino de 3 meses de edad fue diagnosticada positiva para SARS-CoV-2 a principios de febrero de 2020, luego de un contacto cercano con su abuela a quien se le confirmó positivo para SARS-CoV-2. Otro caso positivo de un recién nacido fue un varón de 17 días que contrajo la enfermedad por contacto cercano con sus padres positivos para el SARS-CoV-2. Los casos pediátricos informados para las tasas de infección infantil por COVID-19 son mucho más bajos que los casos de adultos, y solo se informaron síntomas leves o nulos en niños. Se ha documentado que los niños menores de 14 años son menos susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 en comparación con los jóvenes mayores a 20 años. Por lo tanto, seguir las pautas de seguridad diarias descritas por el personal de salud debería ayudar a mitigar la propagación de COVID-19 entre los niños, mientras que los adultos deben adoptar precauciones adicionales, como las recomendadas para los ancianos, para protegerse contra la infección.^{4, 6, 7, 11}

D. Prevención de la propagación del coronavirus

Para ayudar a prevenir la propagación del nuevo coronavirus, se han implementado a nivel mundial avisos que describen medidas de viaje específicas. Muchos aeropuertos han establecido estaciones de detección para detectar viajeros sintomáticos. En algunos países, como Japón, se han implementado puntos de control de cuarentena en los aeropuertos y otros puntos de entrada al país. Las compañías aéreas han publicado medidas preventivas para los pasajeros que viajan hacia y desde China en este momento. La mayoría de los países han implementado operaciones de control de movimiento y bloqueo para minimizar la exposición del público en general a posibles portadores entrantes de COVID-19. Estas operaciones tenían como objetivo reducir la cantidad de infecciones dentro de la población general para controlar la propagación de COVID-19 a nivel regional y mundial.

^{4, 6, 7, 11}

2. TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS POSIBLES PARA COVID-19

Desde el brote y la posterior declaración de COVID-19 como una pandemia mundial en marzo de 2020, la comunidad científica ha realizado esfuerzos para reducir la propagación de la enfermedad, así como también encontrar una cura o un tratamiento para contrarrestar el brote. Durante esta pandemia mundial, los científicos se centraron en el desarrollo de vacunas, las cuales constituyen una parte vital de la estrategia de salud pública para reducir la carga de COVID-19, pero el manejo de esta enfermedad depende en gran medida de la farmacoterapia.^{4, 7, 12, 13}

Debido a la rápida expansión del virus, las organizaciones sanitarias tuvieron que recurrir al uso de medicamentos asignados como tratamiento para otras enfermedades, donde ciertos agentes antivirales, antipalúdicos y AINES surgieron como terapias potenciales para la enfermedad, por lo tanto, optaron por analizar su mecanismo de acción, así como también verificar su efectividad y seguridad mediante el desarrollo de métodos analíticos, ya que cada uno de los tratamientos para COVID-19 no es específico para el tipo de cuadro clínico que presente cada paciente.^{4, 7, 12, 13}

Además del tratamiento farmacológico específico para cada paciente, se debe considerar el uso de la oxigenoterapia (p. ej., catéter nasal y mascarilla de oxígeno), inmediatamente después de la aparición de la hipoxia. Si es necesario, se debe realizar oxigenoterapia nasal de alto flujo y ventilación mecánica en el caso de pacientes graves.^{4, 7, 12, 13}

Seguido a lo anterior, se puede considerar el uso de vitaminas en la circulación sanguínea, ya que se ha demostrado que la vitamina C disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias y, por lo tanto, puede mejorar los síntomas del resfriado común y la neumonía. Por otro lado, se ha demostrado que la vitamina D reduce el riesgo de infección viral y mortalidad al disminuir la incidencia de tormentas de citocinas y regular la inmunidad adaptativa. Las vitaminas A y E también regulan el sistema inmunitario innato y adaptativo, además de modular la producción de citocinas.^{4, 7, 12}

2.1 TRATAMIENTO SINTOMÁTICO

A. Tratamiento para pacientes con enfermedad leve

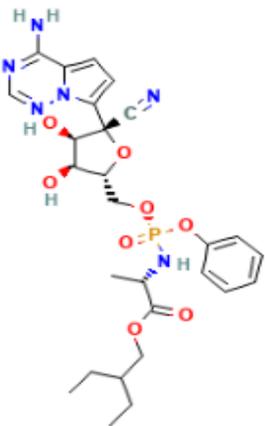
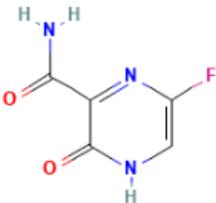
En pacientes con infección o sospecha de infección por SARS-CoV-2, hay que hacer tratamiento sintomático, es decir, intensificar las medidas impuestas ante esta enfermedad. El tratamiento sintomático incluye antipiréticos y analgésicos para la fiebre, mialgias y los dolores de cabeza. Es de uso preferente el paracetamol, ya que presenta un perfil de seguridad mejor que los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) en cuanto a riesgo cardiovascular, hemorrágico y renal, especialmente en personas de edad avanzada o multimorbilidad. Se están evaluando varias terapias, pero ninguna tiene una función comprobada para la enfermedad no grave.¹⁴

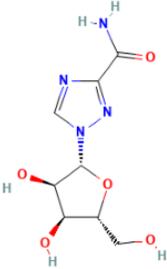
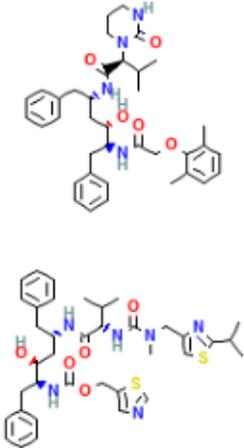
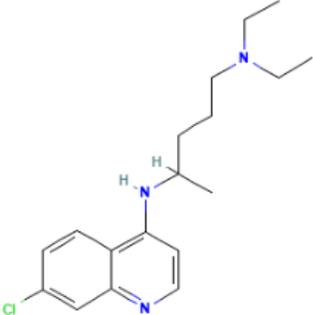
Tabla 3. Indicación terapéutica de Paracetamol en pacientes con enfermedad leve.	
Población	
Adultos, embarazadas	500 mg-1 gr cada 6-8 h No exceder los 2 gr en 24 h.

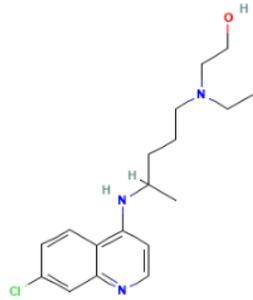
Nota: adaptado de Mehta, *et. al.* (2020)

B. Tratamiento para pacientes con enfermedad grave y crítica

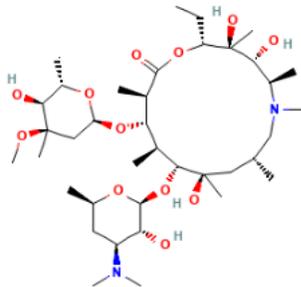
En el caso de pacientes que comienzan a tener síntomas graves, es decir que la enfermedad ha avanzado significativamente de acuerdo con los parámetros mencionados anteriormente, se les debe hospitalizar y administrar un tratamiento de acuerdo con el nivel de avance de la enfermedad en el paciente, ya sea grave o crítica según valore el médico. Dentro de los tratamientos posibles para pacientes con enfermedad grave o crítica, se encuentran desde antivirales, antipalúdicos y anticuerpos monoclonales, así como también en algunos casos antibióticos y AINES, en donde se ha valorado su eficacia para contrarrestar esta enfermedad. De acuerdo con el cribado bibliográfico realizado, se encontraron fármacos aplicados a pacientes con COVID-19 durante la pandemia.¹⁴ (Ver Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Estructuras, fórmula y propiedades químicas de antivirales, antipalúdicos, corticosteroides, antibióticos y AINES para COVID-19.	
ANTIVIRALES	
<p>Remdesivir</p>  <p>The image shows the chemical structure of Remdesivir, a nucleoside analog. It features a pyrimidopyrimidinone core with a cyano group at the 5-position, a 4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl group at the 2-position, and a propanoate ester at the 3-position. The propanoate ester is further substituted with a phenyl group and a 2-ethylbutyl group.</p>	<p>Nombre IUPAC: 2-etilbutilo (2S)-2-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-ilo)-5-ciano-3,4-dihidroxioxolan-2-il]metoxifenoxifosforil]amino]propanoato</p> <p>Fórmula química: C₂₇ H₃₅ N₆ O₈ P</p> <p>Peso molecular: 602.6 g/mol</p> <p>logP: 2.01</p> <p>pKa: 10.23</p>
<p>Favipiravir</p>  <p>The image shows the chemical structure of Favipiravir, a pyrazinone derivative. It consists of a pyrazinone ring with a carboxamide group at the 2-position, a fluorine atom at the 5-position, and a hydrogen atom at the 3-position.</p>	<p>Nombre IUPAC: 5-fluoro-2-oxo-1H-pirazina-3-carboxamida</p> <p>Fórmula química: C₅ H₄ FN₃ O₂</p> <p>Peso molecular: 157.1 g/mol</p> <p>logP: 0.49</p> <p>pKa: 5.1</p>

<p style="text-align: center;">Ribavirina</p> 	<p>Nombre IUPAC: 1-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-1,2,4-triazol-3-carboxamida</p> <p>Fórmula química: C₈ H₁₂ N₄ O₅</p> <p>Peso molecular: 244.2 g/mol</p> <p>logP: -1.85</p> <p>pKa: 11.88 : -1.2</p>
<p style="text-align: center;">Lopinavir/Ritonavir</p> 	<p>Nombre IUPAC: (2S)-N-[(2S,4S,5S)-5-[[2-(2,6-dimetilfenoxi)acetil]amino]-4-hidroxi-1,6-difenilhexan-2-il]-3-metil-2-(2-oxo-1,3-diazinan-1-il)butanamida;1,3-tiazol-5-ilmetil N-[(2S,3S,5S)-3-hidroxi-5- [[(2S)-3-metil-2-[[metil-[(2-propan-2-il-1,3-tiazol-4-il)metil]carbamoil]amino]butanoil]amino]-1,6 -difenilhexan-2-il]carbamato</p> <p>Fórmula química: C₇₄ H₉₆ N₁₀ O₁₀ S₂</p> <p>Peso molecular: 1349,7 g/mol</p> <p>logP: 3.91</p> <p>pKa: 13.39: -1.5</p>
ANTIPALÚDICOS	
<p style="text-align: center;">Cloroquina</p> 	<p>Nombre IUPAC: 4-N-(7-cloroquinolin-4-il)-1-N,1-N-dietilpentano-1,4-diamina</p> <p>Fórmula química: C₁₈ H₂₆ ClN₃</p> <p>Peso molecular: 319.9 g/mol</p> <p>logP: 4.63</p> <p>pKa: 10.1</p>
<p style="text-align: center;">Hidroxiclороquina</p>	<p>Nombre IUPAC: 2-[4-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]pencil-etilamino]etanol</p> <p>Fórmula química: C₁₈ H₂₆ ClN₃ O</p> <p>Peso molecular: 335.9 g/mol</p> <p>logP: 3.87</p> <p>pKa: 9.67</p>



Azitromicina



Nombre IUPAC:

(2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroxi-6- metiloxan-2-il]oxi-2-etil-3,4,10-trihidroxi-13-[(2R,4R,5S,6S)-5-hidroxi-4-metoxi-4,6-dimetiloxan-2-ilo]oxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona

Fórmula química: C₃₈ H₇₂ N₂ O₁₂

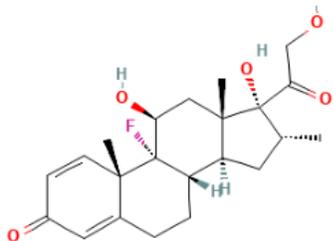
Peso molecular: 749 g/mol

logP: 4.02

pKa: 8.5

CORTICOSTEROIDES

Dexametasona



Nombre IUPAC:

(8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,11,12,14,15,16-octahidrociclopenta[a]fenantreno-3-ona

Fórmula química: C₂₂ H₂₉ FO₅

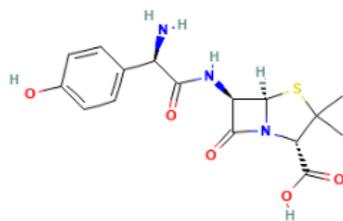
Peso molecular: 392.5 g/mol

logP: 1.93

pKa: 12.42 : -3.3

ANTIBIÓTICOS

Amoxicilina



Nombre IUPAC:

(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroxfenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1 -ácido

azabicclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico

Fórmula química: C₁₆ H₁₉ N₃ O₅ S

Peso molecular: 365.4 g/mol

logP: 0.87

pKa: 2.6

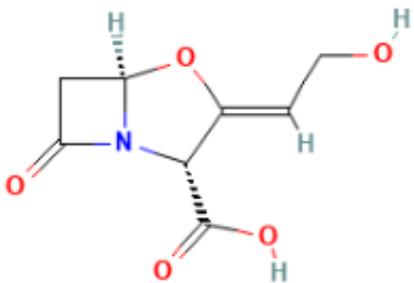
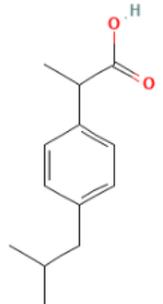
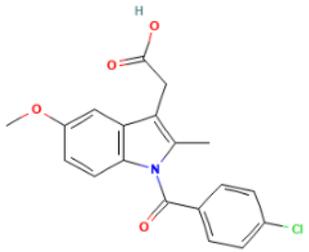
<p style="text-align: center;">Amoxicilina/Ác. Clavulánico</p> 	<p>Nombre IUPAC: Ácido (2R,3Z,5R)-3-(2-hidroxiethylideno)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico</p> <p>Fórmula química: C₈H₉NO₅</p> <p>Peso molecular: 199.16 g/mol</p> <p>logP: -1.5</p> <p>pKa: 2.7</p>
AINES	
<p style="text-align: center;">Ibuprofeno</p> 	<p>Nombre IUPAC: Ácido 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il]acético</p> <p>Fórmula química: C₁₃H₁₈O₂</p> <p>Peso molecular: 206,28 g/mol</p> <p>logP: 3.97</p> <p>pKa: 5.3</p>
<p style="text-align: center;">Indometacina</p> 	<p>Nombre IUPAC: Ácido 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il]acético</p> <p>Fórmula química: C₁₉H₁₆ClNO₄</p> <p>Peso molecular: 357.8 g/mol</p> <p>logP: 4.27</p> <p>pKa: 4.5</p>

Tabla 5. Terapias farmacológicas posibles para el tratamiento de COVID-19 en pacientes graves.				
ANTIVIRALES				
Fármaco	Mecanismo de acción	Recomendaciones actuales	Posología	Referencias
Remdesivir	-Previene la propagación de virus al bloquear una pieza crucial de la maquinaria de duplicación de ARN: la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp)	Considerado para pacientes con enfermedad grave e insuficiencia respiratoria	Dosis de carga de 200 mg intravenoso (iv) el primer día, seguido de una dosis de mantenimiento de 100 mg/día iv a partir del día 2 Duración recomendada de 5 días	3, 11, 12, 14, 16
Favipiravir	-Análogo de nucleósido que inhibe la ARN polimerasa viral. -Compite con los nucleósidos de guanina durante la replicación del ARN viral al integrarse con el ARN viral, lo que resulta en el bloqueo selectivo de la RdRp para detener la síntesis del ARN viral.	No recomendado en este momento.	No recomendado en este momento.	10, 12,17
Ribavirina	Dificulta la protección del ARN para desestabilizar el ARN viral y finalmente obstruir la replicación.	No recomendado en este momento.	No recomendado en este momento.	10, 12,18
Lopinavir/ Ritonavir	Inhibidores de la proteasa que previenen la producción de péptidos virales activos.	No recomendado en este momento.	No se recomienda en pacientes con COVID-19.	14,15,19

ANTIPALÚDICOS				
Cloroquina	Bloquea la entrada del virus ya sea alterando la configuración estructural de los receptores celulares o uniéndose competitivamente a los receptores celulares.	Puede utilizarse como alternativa cuando no se dispone de hidroxiclороquina.	500 mg por vía oral una o dos veces por día durante 5 días.	10, 12, 15, 16,20,21
Hidroxiclороquina	Interferencia en la fusión del virus SARS-CoV-2 con la membrana celular, en la glucosilación de receptores y en el aumento del pH vesicular	Se recomienda el tratamiento para pacientes con enfermedad de moderada a grave	Usar tratamiento agudo (5 días), con dosis de carga (400 mg/cada 12 h) el primer día y 4 días de mantenimiento (200 mg/cada 12 h)	12,14,15,22,23
Azitromicina	Reducción significativa de la carga viral en pacientes con COVID-19	Potencializa el efecto de la hidroxiclороquina en pacientes con enfermedad de moderada a grave	600 mg en combinación con hidroxiclороquina durante 5 días	2,12, 13,14
PRODUCTOS BIOLÓGICOS				
Tocilizumab Sarilumab	Anticuerpo monoclonal contra el receptor de IL-6	Se puede considerar en pacientes con evidencia de CRS y empeoramiento de la función respiratoria	La dosis actualmente recomendada es de 8mg/kg de peso corporal administrada de forma intravenosa durante una hora.	13, 14, 24,25
CORTICOSTEROIDES				
Dexametasona	Aliviar la inflamación a través de sus efectos antiinflamatorios e inmunosupresores.	Pacientes hospitalizados con COVID-19 graves con síntomas >7	Dosis de 6 mg/día por vía oral o iv	1,14,15,26

		días que requieren ventilación mecánica invasiva y en pacientes que requieren oxígeno suplementario. Modula la lesión pulmonar mediada por inflamación y reducirla.	Duración recomendada de 10 días.	
ANTIBIÓTICOS				
Amoxicilina	indicada para tratar infecciones bacterianas susceptibles del oído, la nariz, la garganta, el tracto genitourinario, la piel, la estructura de la piel y el tracto respiratorio inferior.	En caso de coinfección o sobreinfección bacteriana.	1 g/8 horas en pacientes sin factores de riesgo	12,13,14,15
Amoxicilina/clavulánico	Tratar la sinusitis bacteriana aguda, la neumonía adquirida en la comunidad, las infecciones del tracto respiratorio inferior, la otitis media bacteriana aguda, las infecciones de la piel y de la estructura de la piel y las infecciones del tracto urinario.	En caso de coinfección o sobreinfección bacteriana	875 mg/8 horas en pacientes de riesgo	13,14,15,27
AINES				
Ibuprofeno	Bloquea COX 1 y 2, inhibiendo la producción de prostaglandinas	No hay evidencia que apoye que su uso está contraindicado. Puede usarse por sus efectos	La que el médico señale	12, 14, 28

		antiinflamatorios y antipiréticos		
Indometacina	Bloquea COX 1 y 2, inhibiendo la producción de prostaglandinas	No hay evidencia que apoye que su uso está contraindicado. Puede usarse por sus efectos antiinflamatorios y antipiréticos	La que el médico señale	2, 12,13, 14

La infección por SARS-CoV-2 hasta ahora se caracteriza por una gravedad clínica variable. El cuadro clínico de COVID-19 varía ampliamente en cada paciente desde síntomas asintomáticos o leves similares a los del resfriado hasta el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), seguido de insuficiencia respiratoria, insuficiencia multiorgánica y muerte.^{1,2,4}

Los tratamientos farmacológicos posibles encontrados en la literatura fueron más de 70 medicamentos, entre ellos combinaciones, de los cuales se seleccionaron los que demostraron efectividad y seguridad para su aplicación contra la COVID-19.^{1,2,4}

Como se mencionó, el tratamiento farmacológico recomendado es diferente para cada paciente dependiendo de la gravedad de los síntomas o del avance de la enfermedad.¹²

JUSTIFICACIÓN

La enfermedad COVID-19 causada por el virus SARS-Cov-2 se convirtió en una pandemia que hasta la fecha aqueja a la población mundial. Ante tal situación de emergencia sanitaria, los científicos trabajaron a la par con laboratorios farmacéuticos para poder desarrollar una vacuna, y de esta manera reducir los niveles de infección en la población. Por otro lado, no hay un tratamiento farmacológico específico para esta enfermedad, únicamente se han hecho pruebas para el uso de medicamentos que pueden funcionar como antivirales eficaces, tomando en cuenta su mecanismo de acción. Para verificar si el medicamento alcanza concentraciones idóneas se puede recurrir al uso de métodos analíticos para determinar su concentración en sangre y diversos fluidos corporales por lo que es de gran importancia establecer una dosis correcta que permita una respuesta farmacológica eficaz y segura para un paciente con COVID-19.

OBJETIVOS

General:

- Realizar una revisión bibliográfica sobre los métodos analíticos para la determinación de concentraciones en fluidos corporales de fármacos que han sido utilizados en el tratamiento de COVID-19.

Específicos:

- Realizar una búsqueda en las bases de datos *PubMed*, *Nature* y *NCBI*.
- Recopilar información que sea concreta y tomar de lo general a lo particular.

- Obtener información acerca de los métodos analíticos que han sido utilizados para determinar las concentraciones en fluidos de pacientes con COVID-19.
- Compilar información sobre la enfermedad COVID-19 y cuáles son sus posibles tratamientos.

METODOLOGÍA

Revisión integradora de la literatura aplicando la lectura crítica, implementando un plan de búsqueda de información basado en estudios publicados desde el año 1997 a diciembre de 2021, en las bases de datos *PubMed*, *Nature*, *ScienceDirect* y *NCBI*. Los términos de búsqueda utilizados para encontrar la información fueron COVID-19, COVID-19 treatment, SARS-CoV-2 characteristics, COVID-19 antiviral drugs, Analytical methods for COVID-19 drugs, Pharmacotherapy in COVID-19, Analytical methods for quantification of COVID-19 drugs in biological fluids and tissues.

La búsqueda arrojó 9,795 artículos publicados en inglés, de los cuales se seleccionaron 43 que fueron los que tenían la información necesaria y que abordara las variables requeridas para el desarrollo de esta investigación. También fueron descartados los artículos donde no fue localizado el artículo completo (Ver Tabla 6).

Tabla 6. Estrategia de búsqueda (palabras claves) de artículos sobre los métodos analíticos para la determinación de concentraciones en fluidos corporales de fármacos utilizados en el tratamiento de COVID-19.		
Base de datos	Estrategia de búsqueda	Artículos encontrados en inglés
1. NCBI (PubMed)	1. COVID-19 treatment	1. 1,427
	2. SARS-CoV-2	2. 1,484
	3. Characteristics COVID-19 antiviral drugs	3. 3,217
	4. Analytical methods for COVID-19 drugs	4. 1
	5. Pharmacotherapy in COVID-19	5. 845
	6. Analytical methods for quantification of COVID-19 drugs in biological fluids and tissues.	6. 2
2. Nature	1. COVID-19 treatment	1. 190
	2. SARS-CoV-2	2. 199
3. ScienceDirect	1. COVID-19	1. 2,169
	2. SARS-CoV-2 Characteristics	2. 261

RESULTADOS

Dentro de la revisión y depuración de la información se encontraron métodos analíticos validados para determinar la concentración de fármaco en fluidos biológicos utilizados como tratamiento para COVID-19 dependiendo la situación del paciente, donde se hizo una clasificación de estos por cada tipo de medicamento. (Ver Tabla 7).

Tabla 7. Métodos analíticos para fármacos utilizados como tratamiento para COVID-19			
Tratamiento farmacológico	Clasificación	Métodos analíticos para su detección en fluidos biológicos	Referencias
Remdesivir	Antiviral	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de fase reversa ¹ • Cromatografía líquida acoplada con detectores UV-Vis ¹ • Cromatografía líquida de Ultra Alta Presión (UHPLC MS/MS) ^{1,2} 	1, 30, 31
Favipiravir	Antiviral	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de fase reversa ¹ • Cromatografía líquida acoplada con detectores UV-Vis ¹ • Cromatografía líquida de Ultra Alta Presión (UHPLC MS/MS) ^{1,2} 	17, 30
Ribavirina	Antiviral	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de fase reversa ¹ • Cromatografía líquida acoplada con detectores UV-Vis • Cromatografía Líquida de Ultra Alta Presión (UHPLC-MS/MS) ^{1,} 	18, 30
Lopinavir/Ritonavir	Antiviral	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ¹ 	19, 30
Cloroquina	Antipalúdico	<ul style="list-style-type: none"> • Espectrofotómetro UV ^{1,2,3} • HPLC con detector UV ^{1,3} • Cromatografía líquida de alta resolución con fluorescencia (HPLC-FL) ^{1,3} 	21, 30
Hidroxicloroquina	Antipalúdico	<ul style="list-style-type: none"> • HPLC con detector UV ^{1,3} • Espectrofotómetro UV ^{1,2,3} 	22, 30
Azitromicina	Antibiótico	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ^{1,4,5,6} 	14, 30
Tocilizumab Sarilumab	Anticuerpo monoclonal	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ¹ • Cromatografía electrocinética micelar con detección UV ¹ 	10, 30, 32

Dexametasona	Corticosteroide	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida ^{1,3} • Método espectrofotométrico cinético ^{1,3} 	26, 30, 34
Amoxicilina	Antibiótico	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ^{1,3} • Sistema de Cromatografía Líquida acoplada a masas. ^{1,3} • Cromatografía de gases (GC)¹ • Cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) con detección por espectrometría de masas (MS).¹ 	27, 35, 36, 37, 38
Amoxicilina/Ac. Clavulánico	Antibiótico	<ul style="list-style-type: none"> • HPLC fase reversa con detección UV^{1,3} 	27, 36, 37
Ibuprofeno	AINE	<ul style="list-style-type: none"> • HPLC con detección UV ^{1,3} 	28, 40
Indometacina	AINE	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)^{1,3} • HPLC con detección UV ^{1,3} 	29, 41, 43
Nota:			
¹ plasma humano, ² líquido cefalorraquídeo, ³ orina, ⁴ tejido, ⁵ saliva, ⁶ jugo gástrico			

DISCUSIÓN

Ante la emergencia sanitaria mundial, los científicos se vieron en la necesidad de desarrollar vacunas para poder frenar la cantidad de contagios que causa el virus SARS-CoV-2, además se buscaron posibles tratamientos farmacológicos para brindar la atención necesaria a los pacientes con COVID-19.

Dentro del cribado bibliográfico realizado sobre los tratamientos farmacológicos posibles para COVID-19, se encontraron antivirales, antipalúdicos, anticuerpos monoclonales, corticosteroides, antibióticos y AINES ya establecidos como un tratamiento para pacientes con enfermedad leve, grave y crítica, los cuales demostraron ser efectivos a través de su cuantificación en muestras biológicas de los mismos.

Los métodos analíticos que se encontraron para analizar a los fármacos antivirales fueron Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), Cromatografía líquida de fase reversa (RPC), Cromatografía líquida acoplada con detectores UV-Vis (HPLC UV-Vis), Cromatografía líquida de Ultra Alta Presión (UHPLC MS/MS), en donde el método fue el mismo para las muestras de plasma humano, pero se implementó el uso de UHPLC MS/MS para muestras de líquido cefalorraquídeo, demostrando alta eficiencia.

En el caso de antipalúdicos, la investigación arrojó la utilización de espectrofotómetro UV, HPLC con detector UV para muestras de plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, y se validó un método de cromatografía líquida de alta resolución acoplado a fluorescencia (HPLC-FL), el cual funcionó y mostró los resultados esperados en plasma y orina.

Para los anticuerpos monoclonales el método por excelencia es HPLC, pero actualmente se desarrolló y validó el método cromatografía electrocinética micelar con detección UV para analizar muestras farmacéuticas en matrices biológicas, el cual obtuvo una alta eficiencia a un menor costo.³²

En el caso de Dexametasona, se ha usado cromatografía líquida y se validó el método espectrofotométrico cinético, el cual resultó ser un método de análisis actualizado, eficiente y confiable en muestras biológicas como plasma humano y orina.

Por otro lado, la información encontrada de antibióticos no revela cambios en cuanto a los métodos utilizados para su análisis, excepto la técnica cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) con detección por espectrometría de masas (MS), la cual fue desarrollada y validada para la cuantificación de analito en plasma, orina, tejido, jugo gástrico y saliva.

De igual manera, los métodos de análisis descritos para AINES fueron los mismos en la información recabada, no se encontró innovación en las técnicas desarrolladas para su cuantificación en plasma y orina.

CONCLUSIÓN

De los artículos encontrados para la cuantificación de los medicamentos utilizados para la enfermedad causada por SARS-CoV-2, se puede concluir que actualmente no se han desarrollado suficientes métodos analíticos innovadores en fluidos biológicos, únicamente se han complementado.

El método analítico que más se utilizó es HPLC debido a su alta sensibilidad, eficiencia y confiabilidad, en cuanto a la complementariedad se encontró que en la mayoría de las técnicas actualizadas ha cambiado la técnica de separación y de cuantificación, el pretratamiento de la muestra sigue siendo el mismo.

PERSPECTIVA

El presente trabajo se realizó con el fin de recopilar la información suficiente para ayudar a quienes requieren analizar los fármacos utilizados como tratamiento para la COVID-19 en fluidos biológicos o muestras reales (plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, tejido y jugo gástrico). A través de este, se puede seleccionar el método pertinente según las ventajas que pueda tener ante la muestra a analizar, tomando en cuenta el costo, simplicidad, facilidad de operación y eficiencia ante este tipo de muestras.

REFERENCIAS

1. Hu, B., Guo, H., Zhou, P. *et al.* (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
2. Sharjeel S.M., Hamid A., Bhat S.U. (2020). SARS-CoV-2: A critical review of its history, pathogenesis, transmission, diagnosis and treatment, *Biosafety and Health*, Volume 2, Issue 4, Pages 217-225, ISSN 2590-0536, <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.11.002>.
3. Unutkan T., Bakırdere S., Keyf S. (2018). Development of an Analytical Method for the Determination of Amoxicillin in Commercial Drugs and Wastewater Samples, and Assessing its Stability in Simulated Gastric Digestion, *Journal of Chromatographic Science*, Volume 56, Issue 1, 36–40, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx078>
4. Parikhani B., Bazaz, M., Bamehr, H. *et al.* (2021). The Inclusive Review on SARS-CoV-2 Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Potential Management Options. *Curr Microbiol* 78, 1099–1114. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02396-x>
5. Atzrodt C. L., Maknojia I., McCarthy R., Oldfield T. M., Po J., Ta K., Stepp H. E., & Clements T. P. (2020). A Guide to COVID-19: a global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. *The FEBS journal*, 287(17), 3633–3650. <https://doi.org/10.1111/febs.15375>
6. Sharma A., Ahmad Farouk, I., & Lal S. K. (2021). COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses*, 13(2), 202. <https://doi.org/10.3390/v13020202>
7. Salian, V. S., Wright, J. A., Vedell, P. T., Nair, S., Li, C., Kandimalla, M., Tang, X., Carmona Porquera, E. M., Kalari, K. R., & Kandimalla, K. K. (2021). COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Molecular pharmaceutics*, 18(3), 754–771. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00608>
8. Turab, K. Fatima, T. Mohammad, F. Urooj, K. Singh, S. Archana, A. Muhammad, H. Gururao, H. Mustafa, H. Imtaiyaz, (2020). “Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, Volume 1866, Issue 10, ISSN 0925-4439, <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>.
9. Velázquez R.I. (2020). Historia de las infecciones por coronavirus y epidemiología de la infección por SARS-CoV-2. *Rev. Mex. Traspl. (Supl. 2):149-159*. doi:10.35366/94504.
10. Frediansyah, A., Tiwari, R., Sharun, K., Dhama, K., & Harapan, H. (2021). Antivirals for COVID-19: A critical review. *Clinical epidemiology and global health*, 9, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.07.006>
11. Salimi-Jeda, A., Abbassi, S., Mousavizadeh, A., Esghaie, M., Bokharaei-Salim, F., Jeddi, F., Shafaati, M., & Abdoli, A. (2021). SARS-CoV-2: Current trends in emerging variants, pathogenesis, immune responses, potential therapeutic, and vaccine development strategies. *International immunopharmacology*, 101(Pt A), 108232. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108232>
12. Mehta N., Mazer-Amirshahi M., Alkindi N., Pourmand A. (2020). Pharmacotherapy in COVID-19; A narrative review for emergency providers, *The American Journal of Emergency Medicine*, Volume 38, Issue 7, Pag. 1488-1493, ISSN 0735-6757, <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.04.035>.
13. Mirtaleb, M. S., Mirtaleb, A. H., Nosrati, H., Heshmatnia, J., Falak, R., & Zolfaghari Emameh, R. (2021). Potential therapeutic agents to COVID-19: An update review on antiviral therapy,

- immunotherapy, and cell therapy. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 138, 111518. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111518>
14. Llover, M. N., & Jiménez, M. C. (2021). Estado actual de los tratamientos para la COVID-19. *FMC: Formación médica continuada en atención primaria*, 28(1), 40–56. <https://doi.org/10.1016/j.fmc.2020.10.005>
 15. Sanders, J.M., Monogue, M.L., Jodlowski, T.Z., Cutrell JB. (2019). Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease (COVID-19): A Review. *Jama*. 2020;2019. doi:10.1001/jama.2020.6019
 16. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 121304016, Remdesivir. Retrieved November 4, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Remdesivir>.
 17. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 492405, Favipiravir. Retrieved August 1, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/492405>.
 18. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 37542, ribavirina. Retrieved August 1, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/37542>.
 19. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 11979606, lopinavir y ritonavir. Retrieved August 1, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11979606>.
 20. Savarino A., Boelaert J.R., Cassone A., Majori G., Cauda R. (2003) Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? *Lancet Infect Dis.* doi: 10.1016/s1473-3099(03)00806-5. PMID: 14592603; PMCID: PMC7128816.
 21. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 2719, cloroquina. Retrieved August 2, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2719#section=Clinical-Laboratory-Methods>.
 22. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 3652, hidroxicloroquina. Retrieved August 2, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3652#section=NIPH-Clinical-Trials-Search-of-Japan>.
 23. Cairoli, E., & Espinosa, G. (2020). Hydroxychloroquine in the treatment of COVID-19: How to use it waiting for conclusive scientific evidence. *155(3)*, 134–135. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.05.006>
 24. Heustess, Ashli M., Melissa A. Allard, Dorothea K. Thompson, and Pius S. Fasinu. 2021. "Clinical Management of COVID-19: A Review of Pharmacological Treatment Options" *Pharmaceuticals* 14, no. 6: 520. <https://doi.org/10.3390/ph14060520> Sancho M., Muñiz, J., Cardinal-Fernández P. (2021). "Tocilizumab in patients infected by SARS-CoV2". Elsevier 156, No.8 402:406. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.12.003
 25. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5743, dexametasona. Retrieved August 8, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5743>.

26. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 33613, amoxicilina. Retrieved August 3, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33613>.
27. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 3672, ibuprofeno. Retrieved August 3, 2022 from de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibuprofen>.
28. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 3715, indometacina. Retrieved August 3, 2022 from de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Indomethacin>.
29. Acquavia, M. A., Foti, L., Pascale, R., Nicolò, A., Brancaleone, V., Cataldi, T., Martelli, G., Scrano, L., & Bianco, G. (2021). Detection and quantification of Covid-19 antiviral drugs in biological fluids and tissues. *Talanta*, 224, 121862. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121862>
30. Avataneo, V., de Nicolò, A., Cusato, J., Antonucci, M., Manca, A., Palermiti, A., Waitt, C., Walimbwa, S., Lamorde, M., di Perri, G., & D'Avolio, A. (2020). Development and validation of a UHPLC-MS/MS method for quantification of the prodrug remdesivir and its metabolite GS-441524: a tool for clinical pharmacokinetics of SARS-CoV-2/COVID-19 and Ebola virus disease. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 75(7), 1772–1777. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa152>
31. Takada M., Ohba Y., Kamiya S., Kabashima T., Nakashima K. (2019). Simple and rapid analysis of tocilizumab using HPLC-fluorescence detection method luminescence. 34(3):347-352. doi: 10.1002/bio.3615. Epub 2019 Feb 27. PMID: 30809900
32. Zayed, S., Belal, F. (2022) Determination of the Monoclonal Antibody Tocilizumab by a Validated Micellar Electrokinetic Chromatography Method. *Chromatographia* 85, 481–488. <https://doi.org/10.1007/s10337-022-04148-w>
33. Akhoundi-Khalafi, A. M., & Shishehbore, M. R. (2015). A new technique for quantitative determination of dexamethasone in pharmaceutical and biological samples using kinetic spectrophotometric method. *International journal of analytical chemistry*, 2015, 439271. <https://doi.org/10.1155/2015/439271>
34. Franck S., Fuhrmann-Selter T., Jan F.J, Michelet R., Casilag F., Sirard J.C., Wicha G.S., Kloft C. (2019). A rapid, simple and sensitive liquid chromatography tandem mass spectrometry assay to determine amoxicillin concentrations in biological matrix of little volume, *Talanta*, Volume 201, 253-258, ISSN 0039-9140, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.098>.
35. Mohsen F.S., Zarghi A., Shafaati A., Khoddam A., Movahed H. (2007). Simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid in human plasma by isocratic reversed-phase HPLC using UV detection, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 45, Issue 3, 531-534, ISSN 0731-7085, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.019>.
36. Pauter, K., Szultka-Młyńska, M., & Buszewski, B. (2020). Determination and Identification of Antibiotic Drugs and Bacterial Strains in Biological Samples. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(11), 2556. <https://doi.org/10.3390/molecules25112556>
37. Samanidou, V.F., Evaggelopoulou, E.N. and Papadoyannis, I.N. (2006), Development of a validated HPLC method for the determination of four penicillin antibiotics in pharmaceuticals and human biological fluids. *J. Sep. Science*, 29: 1550-1560. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600081T>

38. Tuğçe U., Sezgin B., Seyfullah K. (2018). Development of an Analytical Method for the Determination of Amoxicillin in Commercial Drugs and Wastewater Samples, and Assessing its Stability in Simulated Gastric Digestion, *Journal of Chromatographic Science*, Volume 56, Issue 1, 36–40, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx078>
39. Seyed M., Foroutan, Afshin Z., Alireza S., Arash K., Hooman M. (2007). Simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid in human plasma by isocratic reversed-phase HPLC using UV detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 45, Issue 3, 531-534, ISSN 0731-7085, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.019>.
40. Meenakshisundaram, Ganesan & Rauthan, Kamal & Pandey, Y. & Tripathi, Prashant. (2010). DETERMINATION OF IBUPROFEN IN HUMAN PLASMA WITH MINIMAL SAMPLE PRETREATMENT. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*. 1. 120-127.
41. Bernstein M.S., Evans M.A. (1982). High-performance liquid chromatography—fluorescence analysis for indomethacin and metabolites in biological fluids, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, Volume 229, Issue 1, 179-187, ISSN 0378-4347, [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)86049-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)86049-1).
42. Sato J., Amizuka T., Niida Y., Umetsu M., Ito K. (1997). Simple, rapid and sensitive method for the determination of indomethacin in plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, Volume 692, Issue 1, Pages 241-244, ISSN 0378-4347, [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(96\)00463-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(96)00463-X).