



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**BIODISPONIBILIDAD COMPARATIVA DE DOS
FORMULACIONES ORALES DE CISAPRIDA EN
POBLACIÓN MEXICANA**

**TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTAN**

**MARISELA GONZÁLEZ LÓPEZ
JORGE ABRAHAM AYALA BAUTISTA**

MÉXICO, D.F. 2000

[Faint, illegible text or stamp]



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE PROF. INÉS FUENTES NORIEGA

VOCAL PROF. HELGI HELEN JUNG COOK

SECRETARIO PROF. LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE

1er. SUPLENTE PROF. SOFÍA MARGARITA RODRÍGUEZ ALVARADO

2do. SUPLENTE PROF. JOSÉ MANUEL MORALES HERNÁNDEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

ASESOR DEL TEMA

M. en F. LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE

SUPERVISOR TÉCNICO

M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES

SUSTENTANTES

MARISELA GONZÁLEZ LÓPEZ

JORGE ABRAHAM AYALA BAUTISTA

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo de toda la gente que nos acompañó durante la carrera, pero queremos hacer un reconocimiento especial,

A nuestros padres

Por su cariño, comprensión y motivación,

A Liz y Luis

Por su paciencia y apoyo,

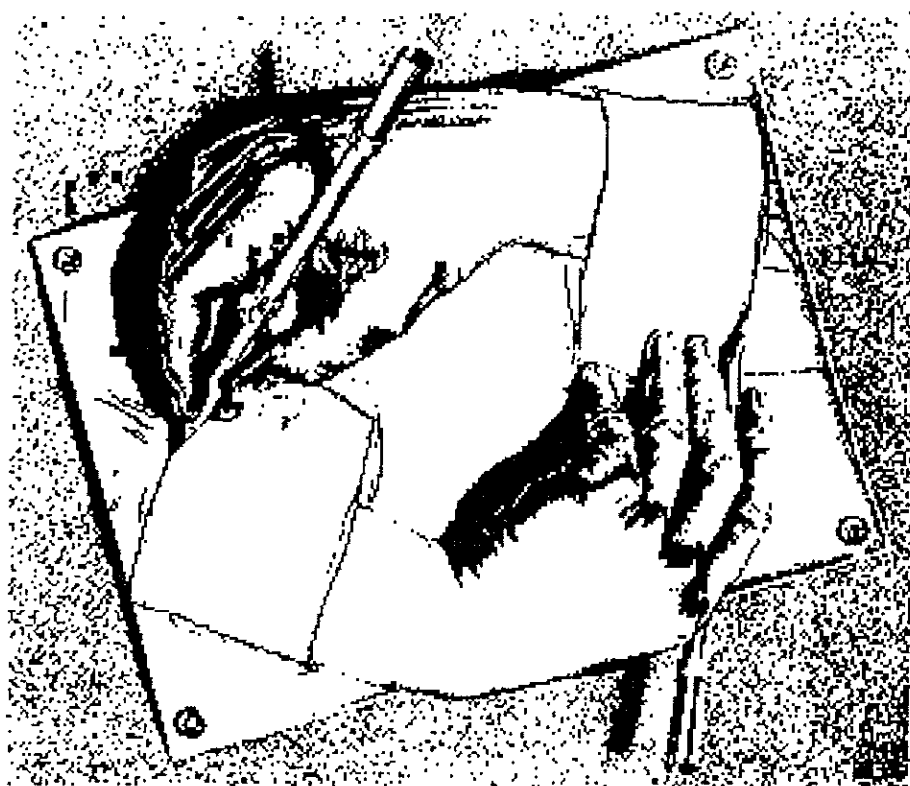
A nuestros amigos

Ayme, Alejandra, Ana, Araceli, Basilio, Carmen, Elizabeth, Jorge, Luisito, Martha, Maru, Miguel Ángel, Mónica, Oscar, Ricardo, Rivelino, Rodrigo, Silvana, Tere, Vero, Vianney,

A nuestros profesores

Cristy, Francisco, Gina, Helgi, Inés, Lorenia, Margarita, Pedro, Raúl, Rubén, Saturnino.

A todos ellos y a los que nos faltaron por mencionar, gracias.



ÍNDICE

ÍNDICE

ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	4
3. GENERALIDADES.....	6
3.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD.....	6
3.1.1. Criterios y Requisitos para realizar un Estudio de Biodisponibilidad Comparativa.....	12
3.2. REFLUJO GASTROESOFÁGICO	17
3.2.1. Tratamiento.....	18
3.3. CISAPRIDA	21
3.3.1. Propiedades Físicoquímicas.....	21
3.3.2. Indicaciones Terapéuticas.....	22
3.3.3. Farmacocinética	22
3.3.4. Farmacodinamia	23
3.3.5. Efectos	24
3.3.6. Estudios Clínicos	25
3.3.7. Dosis y Administración.....	26
3.3.8. Contraindicaciones.....	26
3.3.9. Efectos Colaterales	26
3.3.10. Interacciones con otros Fármacos.....	27
3.3.11. Presentaciones, Forma Farmacéutica y Formulación.....	28
3.4. REVISIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).....	29
3.5. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	31
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	34
4.1. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD COMPARATIVA	34
4.1.1. Material, Reactivos y Equipo.....	34
4.1.2. Preparación de las soluciones para la fase móvil.....	36
4.1.3. Preparación de las soluciones de referencia	36
4.2. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA.....	37
4.2.1. Selección de la Longitud de Onda de Máxima de Absorción (λ_{max})	37
4.2.2. Elección de la Columna Cromatográfica	37
4.2.3. Selección del Estándar Interno	38
4.2.4. Optimización de la Fase Móvil	38
4.2.5. Optimización del Método de Extracción	39
4.3. VALIDACIÓN DEL SISTEMA.....	39
4.3.1. Linealidad y Precisión del Sistema.....	39
4.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR CISAPRIDA EN PLASMA.....	40
4.4.1. Linealidad del Método	40
4.4.2. Precisión	41
4.4.3. Exactitud.....	41
4.4.4. Recuperación Absoluta.....	41
4.4.5. Límite de Cuantificación	42

4.4.6.	Limite de Detección.....	42
4.4.7.	Estabilidad.....	42
4.4.7.1.	Estabilidad de la Muestra a Temperatura Ambiente.....	42
4.4.7.2.	Estabilidad de la Muestra en Congelación a -20 °C.....	42
4.4.7.3.	Estabilidad de la Muestra Procesada.....	42
4.4.8.	Selectividad.....	43
4.5.	ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CISAPRIDA (PROTOCOLO CLÍNICO).....	43
4.5.1.	Objetivo del Estudio.....	43
4.5.2.	Tipo de Estudio.....	43
4.5.3.	Diseño del Estudio.....	44
4.5.4.	Selección de los Voluntarios.....	45
4.5.5.	Procedimiento.....	46
4.6.	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS.....	46
4.6.1.	Puntos Control de Calidad.....	47
4.6.2.	Cuantificación de las Muestras Plasmáticas.....	47
4.6.3.	Análisis Farmacocinético.....	47
4.6.4.	Análisis Estadístico.....	48
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	50
5.1.	OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CLAR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA.....	50
5.2.	VALIDACIÓN DEL SISTEMA.....	53
5.2.1.	Linealidad y Precisión del Sistema.....	53
5.3.	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR CISAPRIDA EN PLASMA.....	54
5.3.1.	Linealidad del Método.....	54
5.3.2.	Precisión y Exactitud.....	55
5.3.2.1.	Repetibilidad.....	55
5.3.2.2.	Reproducibilidad Intralaboratorio.....	56
5.3.3.	Recuperación Absoluta.....	57
5.3.4.	Límite de Cuantificación.....	57
5.3.5.	Límite de detección.....	58
5.3.6.	Estabilidad.....	58
5.3.6.1.	Estabilidad de la Muestra a Temperatura Ambiente.....	58
5.3.6.2.	Estabilidad de la Muestra en Congelación a -20 °C.....	58
5.3.6.3.	Estabilidad de la Muestra Procesada.....	59
5.3.7.	Selectividad.....	60
5.4.	ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CISAPRIDA.....	62
5.5.	ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.....	64
5.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	67
5.7.	EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA BIODISPONIBILIDAD DE CISAPRIDA.....	68
6.	CONCLUSIONES.....	71
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	73
APÉNDICE I.....		76
APÉNDICE II.....		100
APÉNDICE III.....		103
APÉNDICE IV.....		118

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de los procesos que ocurren en el tubo digestivo cuando un fármaco se administra en una forma farmacéutica por vía oral9

Figura 2. Diseños cruzados 2 x 214

Figura 3. Espectro de absorción de cisaprida50

Figura 4. Método para extraer cisaprida del plasma52

Figura 5. Linealidad del sistema.....53

Figura 6. Linealidad del método55

Figura 7. Selectividad del método.....61

Figura 8. Seguimiento de los puntos control.....64

Figura 9. Gráfica de concentración plasmática promedio \pm d.e. Vs tiempo65

Figura 10. Gráfica de log de concentración plasmática promedio \pm d.e. Vs tiempo66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Aleatorización de voluntarios para el estudio de biodisponibilidad.44

Tabla 2. Condiciones cromatográficas.....51

Tabla 3. Linealidad y precisión del sistema53

Tabla 4. Linealidad del método54

Tabla 5. Repetibilidad56

Tabla 6. Reproducibilidad intralaboratorio.....56

Tabla 7. Recobro de cisaprida (alturas).....57

Tabla 8. Límite de cuantificación.....57

Tabla 9. Estabilidad de la muestra a temperatura ambiente.....58

Tabla 10. Estabilidad de la muestra en congelación a -20 °c59

Tabla 11. Estabilidad de la muestra procesada60

Tabla 12. Selectividad del método62

Tabla 13. Seguimiento de las curvas de calibración.....65

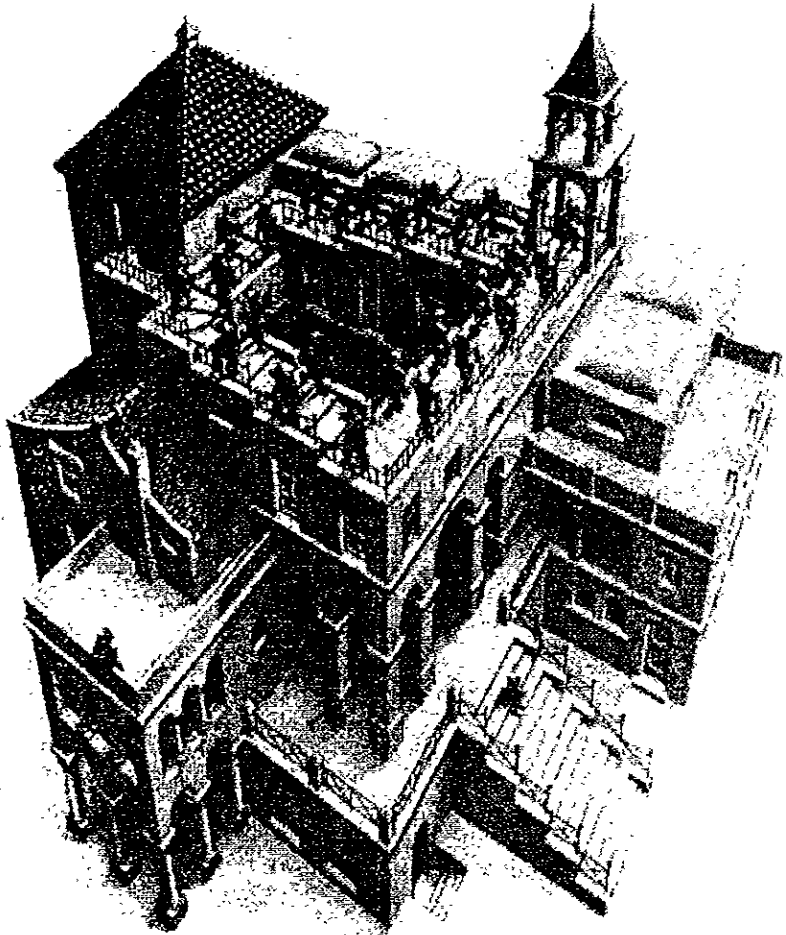
Tabla 14. Valores de concentración plasmática promedio de cisaprida con respecto al tiempo66

Tabla 15. Parámetros farmacocinéticos promedio.....67

Tabla 16. Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos sin transformar.67

Tabla 17. Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos con transformación logarítmica.....67

Tabla 18. Análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de hombres y mujeres.....68



1. RESUMEN

1. RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con la finalidad de comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones orales conteniendo cisaprida como principio activo y de establecer la farmacocinética del mismo en población mexicana.

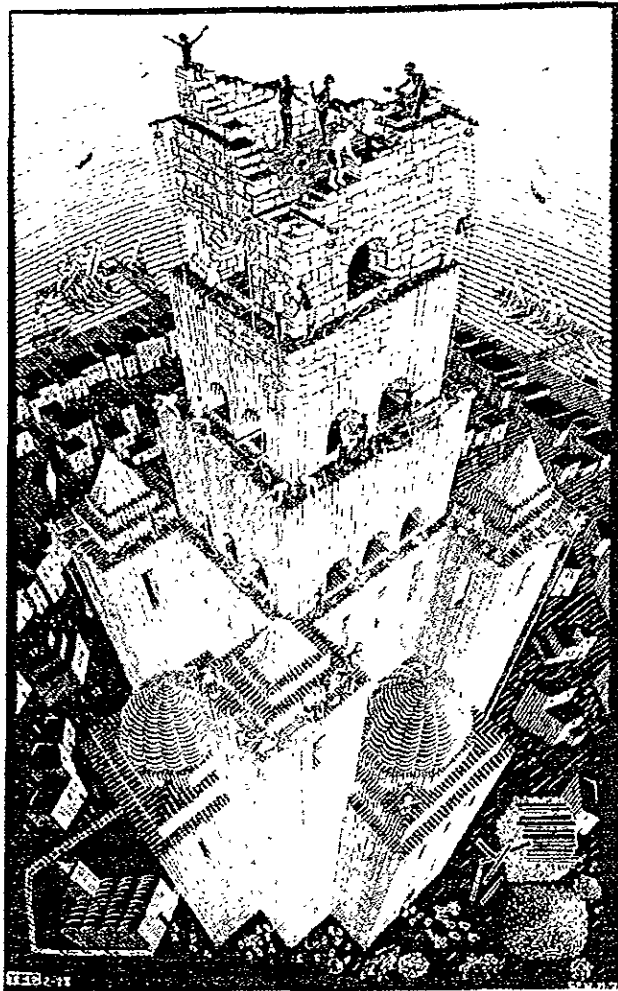
El estudio se realizó en 23 individuos sanos (12 mujeres y 11 hombres) distribuidos aleatoriamente de acuerdo a un diseño cruzado 2×2 , a los cuales se les administró una dosis única de 10 mg de cisaprida por vía oral de cada formulación, con un período de lavado de una semana entre cada tratamiento y de acuerdo a la secuencia asignada. Las muestras sanguíneas fueron colectadas al tiempo cero y a las 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 horas después de la administración.

Los niveles de cisaprida en plasma se determinaron por un método de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) previamente validado, el cual fue lineal, preciso y exacto en el intervalo de concentraciones de 5-200 ng/mL.

Los resultados obtenidos para $ABC_{0 \rightarrow \infty}$, $C_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$ para la formulación de referencia fueron: 1428.30 ± 465.5 ng*h/mL, 1268.16 ± 461.4 ng*h/mL, 92.91 ± 25.6 ng/mL, 3.37 ± 1.7 h, y para la formulación de prueba: 1506.20 ± 445.0 ng*h/mL, 1369.10 ± 447.6 ng*h/mL, 98.83 ± 27.8 ng/mL y 3.74 ± 1.7 h, respectivamente.

El análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos, empleando el paquete computacional Biopak[®], no mostró diferencias significativas en el $C_{m\acute{a}x}$ y ABC de las dos formulaciones, por lo que ambos productos se consideraron como bioequivalentes.

-Se realizó también un análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de cisaprida entre hombres y mujeres, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambos géneros.



2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Un desorden muy común de la motilidad gastrointestinal es el reflujo gastroesofágico, una consecuencia patológica debida al daño ocasionado por el reflujo repetido del contenido gástrico ácido a la mucosa esofágica⁽¹⁾.

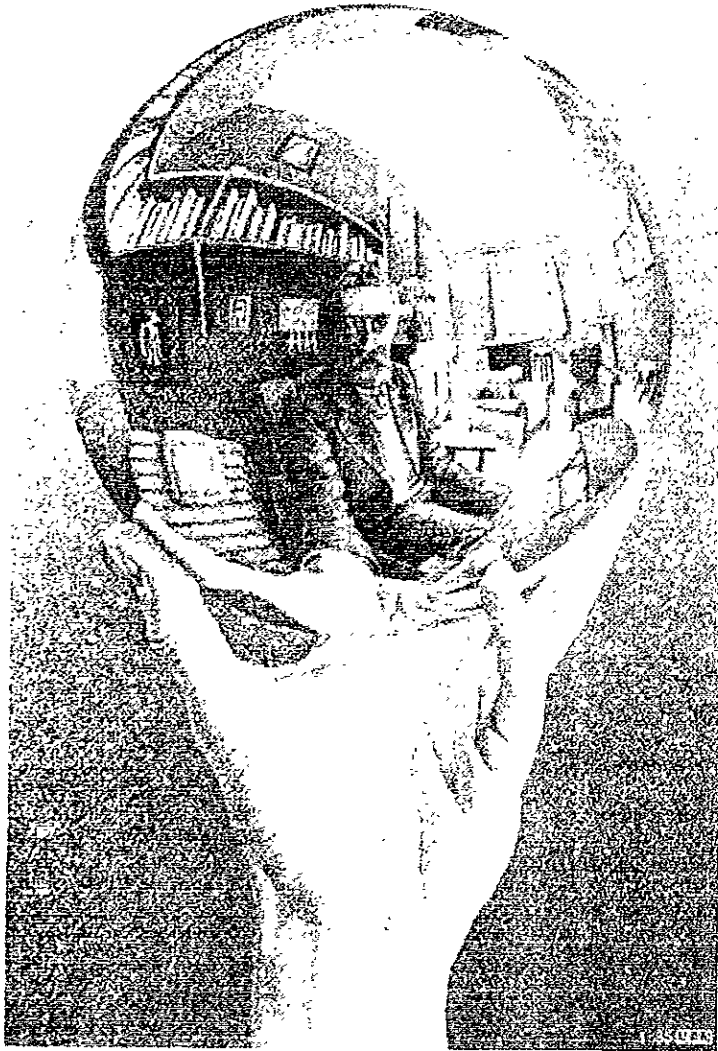
Uno de los agentes de primera línea para el tratamiento de los desórdenes de la motilidad gástrica es la CISAPRIDA, un fármaco efectivo en el tratamiento del reflujo esofágico, pseudoobstrucción, constipación y otras enfermedades causadas por una disfunción de la motilidad intestinal⁽²⁾.

La importancia de los estudios de biodisponibilidad, radica en el conocimiento que éstos aportan acerca de los parámetros farmacocinéticos, la eficacia y la seguridad del fármaco evaluado, con la finalidad de optimizar el régimen terapéutico en los pacientes que lo consumen.

Se han realizado estudios farmacocinéticos de cisaprida en diversos países, sin embargo, en nuestro país no existe información reportada de su biodisponibilidad en población mexicana.

Tomando en cuenta lo anterior, se realizó un estudio de biodisponibilidad comparativa de dos formulaciones de cisaprida (tabletas de 10 mg), cuyos objetivos fueron:

- Optimizar y validar un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para la cuantificación de los niveles de cisaprida en plasma.
- Comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones orales de cisaprida en población mexicana.
- Evaluar el efecto del género en la farmacocinética de cisaprida.



3. GENERALIDADES

3. GENERALIDADES

3.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD

En los últimos años la industria farmacéutica ha experimentado un gran auge. Sin embargo, a pesar del desarrollo de muchos laboratorios, el número de fármacos conocidos es mucho menor que la gran cantidad, variedad y difusión de marcas que se observan en el mercado. Al final de la década de 1950 y principios de 1960 se reportaron en la literatura científica diferentes respuestas terapéuticas en un mismo individuo, debido al uso de medicamentos procedentes de diferentes fabricantes, aún cuando estos contenían exactamente la misma cantidad de principio activo y cumplían con las especificaciones de las farmacopeas de la época⁽³⁾. Esta situación provocó la necesidad de contar con una regulación que permitiera garantizar la efectividad de las diferentes marcas, para brindarle al paciente la seguridad de obtener un producto terapéuticamente eficaz.

La mejor forma de comprobar esta eficacia sería la evaluación del efecto clínico producido. Sin embargo, la realización de pruebas clínicas requeriría trabajar con grupos de pacientes con el mismo padecimiento y con un grado uniforme de gravedad, lo que resulta difícil de realizar, especialmente cuando la evaluación clínica se efectúa comparando uno o varios productos o tratamientos que se dan en ocasiones separadas. Por otra parte, si las pruebas se efectúan en un mismo grupo de pacientes, el fármaco puede producir una mejoría en el estado patológico, lo que invalida la comparación con los productos o tratamientos que se emplean posteriormente. Además, existen reparos de tipo ético, por la posibilidad de someter a un enfermo a una formulación potencialmente inactiva⁽⁴⁾.

La eficacia de una forma farmacéutica para liberar el principio activo en condiciones aprovechables para el organismo esta relacionada con su capacidad para lograr concentraciones apropiadas en el sitio de acción. Pero no resulta fácil medir la concentración de fármaco en este sitio, el cual muchas veces es inaccesible para tomar muestras que permitan cuantificar el fármaco, además, se desconoce el sitio de acción de gran parte de los medicamentos. Sin embargo, como ha quedado establecido en investigaciones farmacocinéticas de los últimos años, la concentración de los fármacos en

el sitio de acción está en equilibrio con su concentración en la sangre. Por lo tanto, suele existir una relación entre la acción terapéutica del medicamento y su concentración plasmática⁽⁴⁾.

Cuando un medicamento es administrado por vía endovenosa, la concentración plasmática alcanzada depende de su distribución y eliminación. Asumiendo que existe una relación directa entre el efecto farmacológico y la concentración plasmática, para obtener un efecto óptimo, la dosis del fármaco administrado por vía endovenosa se ajustará teniendo en cuenta estos dos procesos. Por otro lado, si el medicamento es administrado por vía oral, la dosis deberá ajustarse teniendo en cuenta su distribución, su eliminación y además su absorción. Es decir, que por comparación a la vía endovenosa, la administración de un medicamento por vía oral va a añadir dos variantes: la cantidad de medicamento que alcanza la circulación general y la velocidad con que esto sucede. Estas dos características de la absorción de un producto es lo que se ha denominado biodisponibilidad. Ahora bien, suponiendo que en un mismo individuo la vía de administración de un medicamento no influye en su distribución ni en su eliminación, las diferencias en la respuesta farmacológica vendrán determinadas por la biodisponibilidad. Es decir, el efecto farmacológico cambiará en la medida que la absorción modifique la evolución de las concentraciones plasmáticas.

La definición de biodisponibilidad según la FDA (Food and Drug Administration) en el CFR de 1992 (Code of Federal Regulations) indica que "es la medida tanto de la velocidad como de la cantidad a las cuales, una molécula terapéuticamente activa es absorbida a partir de un medicamento y llega a ser disponible (o accesible) al sitio de acción"⁽⁵⁾.

La biodisponibilidad de un fármaco se define tomando en cuenta los siguientes parámetros⁽⁶⁾:

- a) Concentración plasmática máxima obtenida ($C_{m\acute{a}x}$).
- b) Tiempo al cual se alcanza la concentración máxima ($t_{m\acute{a}x}$).
- c) Área bajo la curva de concentración sanguínea o plasmática en función del tiempo (ABC).

$C_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$ pueden obtenerse directamente de la curva de concentración plasmática contra tiempo de cada sujeto y el ABC puede ser estimada por la regla trapezoidal u otros métodos. En la mayoría de los casos estos parámetros están relacionados a la actividad terapéutica del fármaco

Existen dos tipos de biodisponibilidad: la biodisponibilidad absoluta, donde el área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo (ABC) del fármaco administrado, es comparada con el ABC del mismo producto administrado por vía endovenosa, y la biodisponibilidad relativa donde se comparan formulaciones cuya administración no es por vía intravenosa. Los estudios destinados a determinar la biodisponibilidad permitirán caracterizar la absorción de un producto y además, determinar si este es bioequivalente a otro⁽⁴⁾.

De acuerdo a lo ya mencionado, el problema de biodisponibilidad se plantea cuando los medicamentos se administran por una vía extravascular (oral, rectal e intramuscular) que requieran una etapa de absorción. En estas circunstancias, los fármacos de acción sistémica deberán ingresar a la circulación general para ser distribuidos al resto del organismo y al sitio de acción, considerando que sólo la introducción directa al sistema vascular puede asegurar la completa disponibilidad fisiológica⁽⁴⁾.

Para que los fármacos se absorban, deben atravesar los tejidos, que constituyen barreras y fuentes potenciales de disminución de la cantidad total que llega a la sangre. Por ejemplo, cuando una forma farmacéutica sólida se administra oralmente (una tableta, cápsula o gragea), ésta debe desintegrarse y el principio activo disolverse en los líquidos del tubo digestivo para difundir a través de la mucosa gastrointestinal hacia la circulación. Así, la disponibilidad fisiológica se puede ver afectada cuando la disolución del fármaco es incompleta, lenta o diferida; el principio activo es inestable en el medio fisicoquímico del tubo digestivo; se altera por la acción de los microorganismos de la flora intestinal y/o se une en forma irreversible al contenido habitual o circunstancial del tubo gastroentérico. Los diferentes procesos que deben llevarse a cabo en el tubo digestivo para que un principio activo administrado en una forma farmacéutica oral pueda absorberse se encuentran esquematizados en la figura 1:

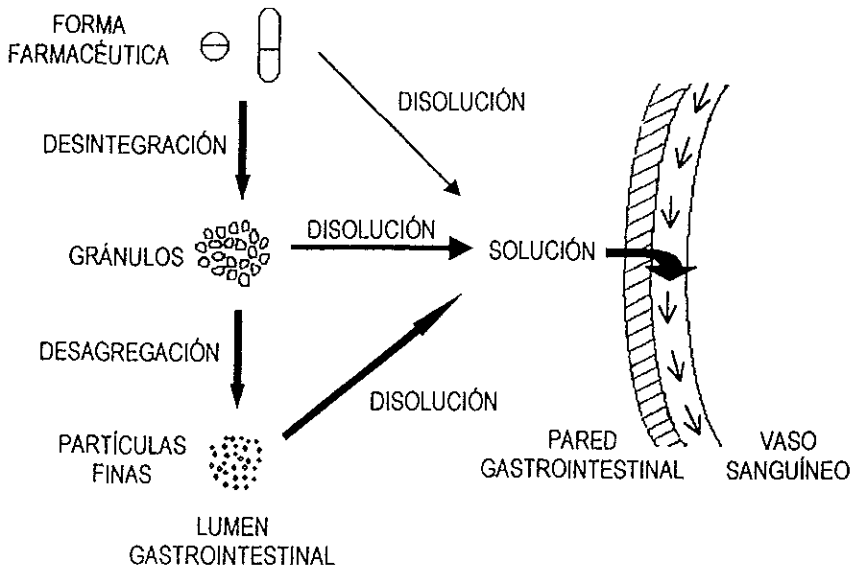


FIGURA 1. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS PROCESOS QUE OCURREN EN EL TUBO DIGESTIVO CUANDO UN FÁRMACO SE ADMINISTRA EN UNA FORMA FARMACÉUTICA POR VÍA ORAL

Cualquiera de estos procesos puede ser la etapa limitante de la absorción.

Por otra parte, es importante tomar en cuenta que el proceso de absorción no significa necesariamente que el fármaco se encuentre disponible fisiológicamente, puesto que éste puede ser biotransformado (eventualmente en una especie inactiva) en su paso a través de membranas biológicas u órganos antes de llegar a la circulación general. De ahí el interés y la necesidad de que los estudios de biodisponibilidad se efectúen principalmente en formas farmacéuticas de uso oral que se emplean con fines de acción sistémica, en preparados rectales e inyecciones intramusculares.

La evaluación de la biodisponibilidad por métodos farmacocinéticos, se basa en la suposición de que la medición de ciertos parámetros específicos, luego de la administración de un fármaco, pueden correlacionarse con la eficacia clínica de éste. Los parámetros farmacocinéticos se determinan a partir de

los datos de concentración plasmática o de excreción urinaria, en pequeños grupos de sujetos empleando métodos analíticos apropiados. Estos estudios se han convertido en procedimientos indispensables, científicamente sólidos, de gran seguridad y ampliamente empleados en la actualidad⁽⁴⁾.

Cuando los estudios de biodisponibilidad se diseñan con fines comparativos, se determina si dos o más formulaciones tienen una biodisponibilidad semejante, es decir, se evalúa si se comportan como bioequivalentes. De ser así, se asume que dichos productos pueden ser intercambiados durante el tratamiento farmacoterapéutico, con la seguridad de que los medicamentos por sí mismos, no serán una fuente externa adicional de variabilidad en los resultados de la farmacoterapia.

En México, se consideran productos bioequivalentes, los equivalentes farmacéuticos o medicamentos que contienen la misma cantidad de la misma sustancia o sustancias activas, en la misma forma farmacéutica; que cumplen con las especificaciones de organismos especializados reconocidos internacionalmente y en los cuales no se observan diferencias significativas en la velocidad y cantidad de fármaco absorbido, cuando son administrados ya sea en dosis única o dosis múltiple bajo condiciones experimentales similares⁽⁶⁾.

La Secretaría de Salud especifica que los medicamentos que deben someterse a pruebas de bioequivalencia son⁽⁷⁾.

- a) Los medicamentos sólidos orales, con fármacos que requieran para su efecto terapéutico de una concentración estable y precisa, por tener un margen terapéutico estrecho;
- b) Los medicamentos empleados para enfermedades graves;
- c) Los fármacos de los cuales se tenga conocimiento, por reportes previos, que tienen problemas de biodisponibilidad, como es el caso de fármacos que presentan una pobre absorción, un efecto de primer paso acentuado, metabolismo hepático mayor del 70%, eliminación presistémica, ventana de absorción y una cinética no lineal;
- d) Los fármacos que presenten propiedades fisicoquímicas adversas, como baja solubilidad, inestabilidad y otras similares;
- e) Los fármacos que tengan una forma farmacéutica de liberación modificada;

- f) Los medicamentos que presenten una proporción elevada de excipientes respecto del principio activo,
- g) Los medicamentos que sean de administración tópica para efecto sistémico, como supositorios, parches transdérmicos, geles de aplicación en mucosas y otros similares;
- h) Las combinaciones fijas de principios activos para acción sistémica;
- i) Los medicamentos que sean de administración tópica de efecto no sistémico cuya absorción sea riesgosa, los cuales deberán demostrar mediante un estudio de biodisponibilidad que no se absorben, y
- j) Los antibióticos en presentación sólida con vía de administración oral, que previamente a la prueba de bioequivalencia deberán realizar, como parte de las pruebas de control de calidad, un estudio de concentración mínima inhibitoria.

Desde el punto de vista estadístico, la decisión de bioequivalencia o de bioinequivalencia debe ser el resultado de un diseño experimental perfectamente planeado para este objetivo. Sin embargo, desde el punto de vista clínico, en algunos casos, una diferencia estadísticamente significativa de biodisponibilidad entre productos, puede no tener consecuencias clínicas notables. En otras palabras, la interrelación entre el tipo de acción farmacológica, el empleo clínico a que se destine y el índice terapéutico de cada producto en particular, deben ser evaluados a fin de establecer un intervalo de bioequivalencia oficial para productos de empleo delicado⁽⁵⁾.

En México a partir de 1996 se instauró el programa de los medicamentos genéricos intercambiables debido a la gran cantidad de medicamentos con el mismo principio activo. El objetivo de este programa fue poner al alcance de la población medicamentos seguros y eficaces a precios accesibles.

Para que los genéricos sean intercambiables deben cumplir con pruebas de bioequivalencia que se rigen por normas establecidas por la Secretaría de Salud. Así, en 1998 se publicó la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998 que establece los criterios y requisitos que deben observarse en la realización de las pruebas para demostrar la intercambiabilidad de los medicamentos genéricos⁽⁶⁾, la cual

define a un medicamento genérico intercambiable, como aquella especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeicas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica.

3.1.1. Criterios y Requisitos para realizar un Estudio de Biodisponibilidad Comparativa

En México, los estudios de bioequivalencia deben realizarse de acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud⁽⁶⁾.

En estos estudios de biodisponibilidad comparativa se deben responder dos preguntas fundamentales: ¿Qué cantidad de la dosis llegó efectivamente a la circulación? y ¿A qué velocidad lo hizo?. Para la realización de un estudio, se deben cubrir algunos requisitos generales básicos que permitan obtener resultados confiables y así asegurar el rigor de la interpretación que se haga de ellos, estos requisitos son⁽⁴⁾:

- a) Tener un conocimiento lo más completo posible de la farmacocinética del medicamento
- b) Disponer de un método analítico sensible y específico para seguir el curso en el tiempo del medicamento y diferenciarlo de sus metabolitos
- c) Aplicar un protocolo experimental estrictamente definido que permita describir el fenómeno en forma precisa y completa.

Generalmente, el estudio debe hacerse en adultos sanos bajo condiciones estandarizadas, pero en algunos casos es aconsejable hacer el estudio en pacientes, como por ejemplo, cuando el carácter tóxico de la sustancia activa estudiada así lo determine. En ellos no se deberían incluir los pacientes críticamente enfermos, a menos que el médico tratante determine que existe un beneficio potencial para éste y ellos deberán aceptar participar voluntariamente.

Los individuos participantes en un estudio de biodisponibilidad se seleccionan de acuerdo a⁽⁴⁾:

- Características homogéneas: se prefieren individuos de la misma raza, edad promedio y relación peso-talla. Los voluntarios deben tener edades entre 18 y 55 años, con un peso $\pm 10\%$ del ideal. Cuando esté bien documentada la existencia de diferencias farmacocinéticas entre géneros, debe incluirse a voluntarios de un solo género.
- Estado físico: los sujetos deben ser personas clínicamente sanas y que no presenten sensibilidad al fármaco bajo estudio.
- Hábitos de alimentación, adicciones. Los sujetos no deben tener antecedentes de drogadicción o de abuso de alcohol, café, tabaco o bebidas de cola, ni estar bajo la administración de medicamentos concomitantes.
- Características psíquicas: el stress y la neurosis pueden afectar la biodisponibilidad.

Para evaluar el estado de salud de los voluntarios, se les somete a exámenes médicos y pruebas de laboratorio y gabinete, entre los cuales se incluye: examen general de orina, química sanguínea, biometría hemática, transaminasas hepáticas, prueba de hepatitis B, VIH, radiografía de tórax y electrocardiograma. Estas pruebas deben realizarse en laboratorios clínicos y de gabinete autorizados y que cumplan con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico. Como resultado de estos exámenes, se seleccionan los individuos que no corran algún riesgo particular en el estudio y que no presentarán una variabilidad muy grande con respecto a los resultados experimentales^(4, 6).

Cada voluntario participante debe ser ampliamente informado acerca del estudio en que va a participar y debe dar su consentimiento por escrito en una carta de aceptación.

A pesar de que el investigador intente uniformar peso, edad, alimentación y otros factores, el desarrollar el estudio en humanos lleva a una gran variabilidad biológica entre un sujeto y otro. Este hecho ha determinado que los estudios de biodisponibilidad comparativa se realicen mediante un diseño experimental de tipo cruzado⁽⁴⁾.

En un estudio de diseño cruzado los sujetos se asignan de manera aleatoria a cada uno de dos grupos o secuencias de administración, en el primer período (o fase) de administración, se les administra a los sujetos de un grupo la formulación de referencia y simultáneamente a los sujetos del otro grupo la formulación de prueba. Después de un período de lavado de por lo menos 7 vidas medias de eliminación del compuesto, que permita eliminar la dosis anterior antes de administrar la siguiente, en el segundo periodo de administración, al primer grupo se le administra la formulación de prueba y paralelamente al segundo grupo la formulación de referencia, lo cual significa que a los sujetos de cada grupo se les administran los dos productos, con una secuencia diferente y en dos períodos de administración. Desde el punto de vista del diseño estadístico se dice que los sujetos están cruzados con los dos productos por lo que se le denomina diseño cruzado de 2x2. Es posible entonces, comparar el comportamiento de las dos formulaciones en un sujeto dado, eliminando de la comparación la variabilidad entre los sujetos^(4, 6).

La asignación de los voluntarios a las secuencias del estudio deberá hacerse de acuerdo con una tabla de aleatorización y el tamaño de la muestra normalmente no deberá ser inferior a 24 sujetos considerando ambas secuencias.

A continuación se describe un ejemplo de asignación de los sujetos a la combinación grupo o secuencia de administración-periodo-producto en un diseño cruzado de 2x2:

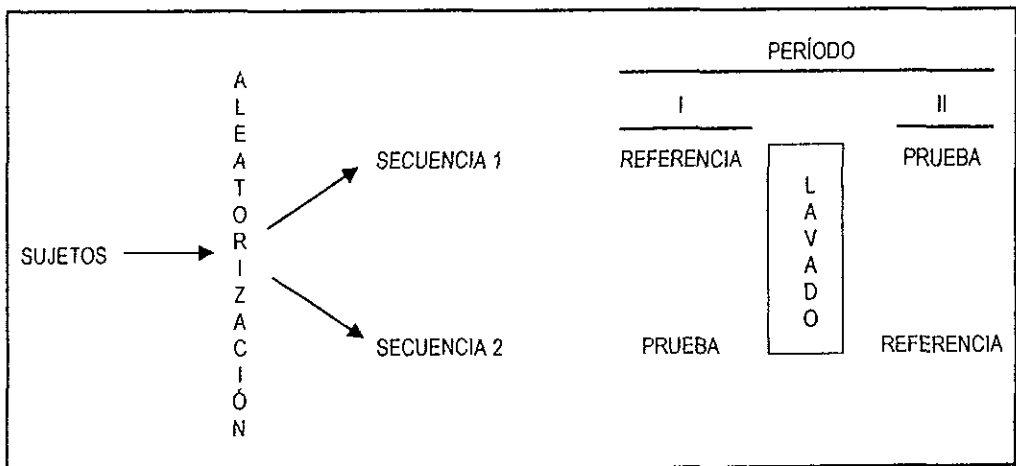


FIGURA 2. DISEÑOS CRUZADOS 2 X 2

Con relación a la modalidad de administración, el estudio se puede realizar bajo un régimen de dosis única o de dosis repetida. La elección de una u otra modalidad depende no solo de la forma de administración habitual del fármaco, sino también de las ventajas e inconvenientes de cada modalidad de administración.

La administración de una dosis única presenta las ventajas de ser un procedimiento rápido, porque las muestras sanguíneas se obtienen inmediatamente después de ingerido el producto; es cómodo para el voluntario porque ingiere el medicamento una sola vez y es un procedimiento seguro porque generalmente no se alcanzan concentraciones plasmáticas muy altas. Su desventaja radica en los problemas analíticos, ya que se necesitan métodos muy sensibles para detectar concentraciones muy bajas de principio activo, lo que hace que el seguimiento del fármaco a través del tiempo a veces sea insuficiente para definir correctamente las curvas de concentración plasmática-tiempo.

En la administración de dosis repetidas se debe alcanzar el estado estacionario, es decir, el intervalo de dosificación en donde la entrada y salida del fármaco se igualan. Para alcanzar este estado de equilibrio se debe iniciar la administración del medicamento con suficiente anticipación. Dado a que en esta modalidad de administración se obtienen concentraciones plasmáticas más altas, la detección analítica es más sencilla y el tiempo de muestreo se reduce al intervalo entre dos administraciones, lo cual constituye una ventaja. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas más altas pueden producir problemas y se necesita tiempo para alcanzar el estado estacionario, por lo que a veces se hace difícil encontrar voluntarios⁽⁴⁾.

Por lo general, es suficiente llevar a cabo estudios de dosis única y sólo en las siguientes situaciones es necesario realizarlos con dosis múltiples⁽⁶⁾:

- a) Si existen problemas de sensibilidad del método analítico
- b) Si la variabilidad intraindividual de los parámetros farmacocinéticos es estadísticamente *significativa*
- c) En caso de que la farmacocinética sea dosis o tiempo dependiente y
- d) En el caso de medicamentos de liberación modificada.

La dosis de medicamento a administrar debe ser la misma al igual que el horario de administración, en ambos tratamientos. Para estudios con formas farmacéuticas de liberación rápida, los voluntarios deben encontrarse en ayunas por lo menos 10 horas antes de la administración del medicamento y dos horas como mínimo después de la misma; los medicamentos se administran por vía oral y con 250 mL de agua. También se debe tener rigurosamente establecido el horario y el tipo de dieta que se les dará a los voluntarios, la cual debe ser homogénea y congruente con el diseño del estudio. Se debe suspender cualquier otra medicación, y si ello no es posible, se debe mantener constante durante todo el estudio.

El horario de obtención de muestras debe diseñarse de tal manera que se puedan caracterizar los parámetros farmacocinéticos, particularmente ABC y C_{max} , para ello el muestreo debe realizarse por un periodo que permita cubrir por lo menos el 80% del área bajo la curva de concentración plasmática, lo que corresponde como mínimo a 4 vidas medias para el caso de sangre. Las muestras deben recolectarse con más frecuencia durante la fase de absorción cuando el perfil cambia más rápidamente y en las cercanías del máximo de la curva, y más distanciadas en la fase de eliminación; esto con lleva a obtener muestras de sangre por lo menos en once diferentes tiempos de muestreo, que incluyan el tiempo 0, 3-4 puntos antes del C_{max} , 3-5 puntos alrededor del C_{max} y 4-6 puntos durante la fase de eliminación^(4,6).

Una vez obtenidas y analizadas las muestras utilizando un método analítico previamente validado, se determinan los parámetros farmacocinéticos de cada sujeto y producto. En el caso de que el estudio se lleve a cabo tomando muestras plasmáticas, la biodisponibilidad debe calcularse basándose en $ABC_{0 \rightarrow t}$, $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ y C_{max} . Se debe especificar el método de cálculo de los parámetros farmacocinéticos utilizados. Cuando los estudios se realizan en estado estacionario, deben calcularse los parámetros farmacocinéticos en el intervalo de dosificación⁽⁶⁾. Cuando la determinación del fármaco en los fluidos biológicos se torne difícil porque el fármaco se metaboliza rápidamente, se recurre generalmente a la medición del metabolito cuantitativamente más importante⁽⁴⁾.

Finalmente, los parámetros farmacocinéticos deben analizarse mediante procedimientos estadísticos para determinar si el producto de prueba y el producto de referencia generan resultados

estadísticamente equivalentes o similares y que permitan establecer con un cierto límite de confianza si las diferencias encontradas entre las distintas formulaciones pueden atribuirse a ellas mismas, o bien son producto de azar, es decir, atribuibles a la variabilidad que pueden presentar los sujetos. Asimismo, el método analítico utilizado debe evitar la posibilidad de aceptar erróneamente una bioequivalencia que no existe y limitar el riesgo de negar una equivalencia real^(4,6).

Durante la realización del estudio debe existir vigilancia médica y deberá registrarse la presencia de eventos adversos asociados al uso del medicamento, así como el tipo y la magnitud de los mismos.

3.2. REFLUJO GASTROESOFÁGICO

Las dos funciones fundamentales del esófago son el transporte del bolo alimenticio desde la boca hasta el estómago y la prevención del reflujo retrógrado del contenido gastrointestinal. El primero depende de las contracciones peristálticas y la segunda se debe a los dos esfínteres esofágicos, que permanecen cerrados entre dos degluciones⁽⁸⁾.

El reflujo gastroesofágico es una consecuencia patológica del daño ocasionado por el reflujo repetido del contenido gástrico ácido a la mucosa esofágica. Esto puede deberse a lesiones en la barrera gastroesofágica, peristalsis esofágica insuficiente y/o vaciamiento gástrico ineficiente⁽⁹⁾. Para que se produzca un episodio de reflujo, deben cumplirse dos condiciones: el estómago debe estar preparado para refluir y el mecanismo antirreflujo del extremo inferior del esófago debe estar alterado. El contenido gástrico tiene más probabilidades de retroceder cuando aumenta el volumen gástrico (con las comidas, en la obstrucción pilórica y en los estados de hipersecreción ácida); cuando el contenido gástrico está situado cerca de la unión gastroesofágica (por inclinación hacia delante o al acostarse) y cuando aumenta la presión gástrica (por obesidad, embarazo o uso de cinturones o fajas muy ceñidos). Sólo se produce reflujo cuando aumenta la presión intragástrica o se produce un descenso transitorio o permanente del tono del esfínter esofágico inferior⁽⁸⁾.

Los síntomas característicos son ardor, que aparece cuando el material refluido entra en contacto con la mucosa esofágica inflamada⁽⁸⁾ y la pirosis o agruras⁽¹⁰⁾. También se puede presentar un dolor de

tipo anginoso o un dolor torácico atípico. El reflujo grave, puede alcanzar la faringe y la boca, causando esofagitis, laringitis, ronquera matutina y aspiración pulmonar. La aspiración pulmonar recurrente produce neumonía aspirativa, fibrosis pulmonar o asma crónica⁽⁸⁾.

El reflujo gastroesofágico puede ser diagnosticado por observaciones clínicas, estudios radiológicos, examen de fluoroscopia, esofagoscopia, biopsia de mucosa, estudios de la motilidad esofágica, pruebas del vaciamiento gástrico y recientemente, mediante el monitoreo continuo del pH intraluminal esofágico para identificar y cuantificar el reflujo ácido^(8,11).

3.2.1. Tratamiento

Los objetivos del tratamiento consisten en reducir el reflujo gastroesofágico, neutralizar el material que refluye, mejorar el vaciamiento esofágico y proteger la mucosa esofágica. Todo ello puede lograrse con ciertas medidas generales y varios medicamentos específicos. Las medidas generales para los casos no complicados comprenden: bajas de peso, evitar acostarse inmediatamente después de comer, dormir con la cabecera de la cama elevada y/o eliminar los factores que incrementan la presión abdominal. Los pacientes deben evitar el consumo de tabaco, comidas ricas en grasas, café, chocolate, alcohol, menta, zumo de naranja y la ingestión de líquido abundante con las comidas⁽⁸⁾. En los casos moderados a graves, es preciso reforzar las medidas antes citadas.

La terapia médica con fármacos está indicada solamente en pacientes con evidencia histológica de esofagitis por reflujo y aquellos que no respondan a las medidas generales⁽¹¹⁾. La optimización farmacocinética en el tratamiento es la interrogante principal para elegir los fármacos y el esquema de administración más adecuado para cada grupo⁽¹⁾. Durante los últimos veinte años se han desarrollado nuevos fármacos que permiten tratar casi cualquier grado de esofagitis por reflujo; esta terapia ha involucrado antiácidos, alginatos, agentes procinéticos y compuestos antisecretorios, principalmente antagonistas de los receptores H₂ e inhibidores de la bomba de protones.

La acción dañina del reflujo sobre la mucosa esofágica se puede reducir por diversos métodos⁽¹⁾:

- Neutralizando la acidez gástrica (antiácidos)

- Disminuyendo la secreción gástrica de ácido y pepsina (inhibidores de la bomba de protones y antagonistas del receptor H₂)
- Mejorando la motilidad gastrointestinal superior (procinéticos)

Dentro de los fármacos más ampliamente usados para el tratamiento inmediato de los síntomas del reflujo gastroesofágico se encuentran los antiácidos y los alginatos, debido a que suben rápidamente el pH del contenido gástrico, por lo que se administran frecuentemente y en altas dosis⁽¹⁾. Sin embargo, la ingestión prolongada de antiácidos que contienen aluminio puede originar depleción sistémica de fosfato y osteoporosis⁽⁶⁾ y en pacientes con falla renal, la acumulación de aluminio puede causar hiperalbuminemia como consecuencia de su eliminación reducida⁽¹⁾; por su parte los antiácidos que contienen magnesio pueden causar toxicidad a largo plazo en pacientes con insuficiencia renal (hipermagnesemia), debido a que el magnesio se excreta por vía renal⁽⁶⁾. Los antiácidos se deben emplear solamente como una terapia sintomática del reflujo gastroesofágico, ya que no contribuyen a la mejoría de la enfermedad⁽¹⁾.

Los antagonistas del receptor H₂ (es decir, la cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina) actúan inhibiendo por competencia la acción de la histamina sobre los receptores H₂, localizados en la membrana basal de las células parietales gástricas, bloqueando así la secreción de ácido gástrico. Estos potentes antiseoretos inhiben la secreción ácida basal, así como la secreción en respuesta a la alimentación, la gastrina, la histamina, la hipoglucemia o la estimulación vagal⁽¹⁾. Su principal inconveniente es que interfieren con el metabolismo de diversos fármacos de uso común, ya que inhiben el sistema hepático del citocromo P450, haciendo que aumenten los niveles sanguíneos, la duración del efecto y las acciones farmacológicas de los fármacos metabolizados a través de éste sistema⁽⁶⁾, razón por la que deben ser evitados en pacientes que reciben otra medicación. Los antagonistas del receptor H₂ también están propensos a desarrollar tolerancia, la cual es más pronunciada en dosis elevadas y en intervalos de administración cortos. Esta tolerancia desarrollada dentro de los primeros días de la terapia, no es progresiva y desaparece rápidamente después de interrumpir la medicación⁽¹⁾. Además, cabe resaltar que sólo la administración frecuente y altas dosis de los antagonistas del receptor H₂ de histamina, pueden igualar la supresión de secreción gástrica de los inhibidores de la bomba de protones⁽¹⁾.

Una de las terapias médicas utilizadas para cualquier grado de reflujo gastroesofágico, particularmente en esofagitis severa, son los inhibidores de la bomba de protones (bomba H^+K^+ATP asa responsable de la secreción ácida, que funciona intercambiando potasio por hidrógeno), tales como el omeprazol, lansoprazol y pantoprazol. Estos benzimidazoles sustituidos son profármacos que una vez capturados y activados en el medio ácido de las glándulas gástricas, suprimen de forma potente la secreción gástrica de ácido y pepsina al unirse de forma irreversible a la enzima H^+K^+ATP asa de las células parietales del estómago, inactivándola. La secreción de ácido se restaura gradualmente, cuando se sintetizan nuevas moléculas de ATP asa, por lo tanto, la duración de la acción de estos fármacos depende más de la velocidad de síntesis de las moléculas de ATP asa que de las concentraciones plasmáticas del fármaco mismo^(1,8). Esta larga duración de su efecto permite su administración una vez al día, en muchos pacientes; sin embargo, la variabilidad interindividual en la biodisponibilidad, requiere algunas veces del incremento de la dosis o una administración dos veces al día⁽¹⁾. Además, los inhibidores de la bomba de protones tienen un lento inicio de acción, lo que los hace inadecuados para una terapia inmediata⁽¹⁾. Por su parte, el omeprazol puede inhibir el metabolismo hepático de algunos fármacos⁽¹⁾, su uso está indicado sólo a corto plazo (8 semanas) y el índice de recaídas después de interrumpir el medicamento es alto⁽¹⁰⁾.

Los agentes antisecretorios reducen el ácido esofágico por disminución de la acidez y en menor grado, del volumen de ácido gástrico secretado y disponible para refluir. Por ello, estos fármacos han sido ampliamente usados en el tratamiento de úlceras pépticas, una condición con características suficientemente diferentes de aquellas para el reflujo gastroesofágico⁽¹⁾.

Así, mientras la esofagitis por reflujo severa o complicada, parece depender de la inhibición efectiva de la secreción gástrica ácida para alcanzar la exposición normal al ácido gástrico y la mejoría, la enfermedad menos severa puede a menudo responder bien a compuestos procinéticos o a una terapia antisecretoria menos agresiva⁽¹⁾.

Los fármacos procinéticos (metoclopramida, domperidona y cisaprida) actúan estimulando la motilidad gastrointestinal, la cual es una vía patológica en muchos pacientes con reflujo gastroesofágico. Estos compuestos incrementan el tono del esfínter esofágico inferior, mejoran la peristalsis esofágica y

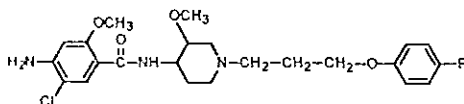
estimulan el vaciamiento gástrico, sea patológico o no. En un paciente con reflujo, esto puede disminuir la exposición total al ácido sobre la mucosa esofágica⁽¹⁾. Además, los pacientes con esta enfermedad frecuentemente sufren de hinchazón concurrente y de incomodidad abdominal superior relacionada a los alimentos, lo cual puede responder bien a la terapia procinética⁽¹⁾.

Entre los fármacos procinéticos, la cisaprida es el fármaco de elección, debido a su baja incidencia de efectos adversos sobre el sistema nervioso central. A diferencia de la metoclopramida y domperidona, tiene un tiempo de vida media más largo en plasma y una duración del efecto mayor y baja penetración de la barrera hematoencefálica⁽¹⁾. El tratamiento de cisaprida puede ser benéfico en niños con reflujo esofágico, cuando se administra en combinación con una terapia de postura y una dieta adecuada⁽⁹⁾.

3.3. CISAPRIDA

3.3.1. Propiedades Físicoquímicas

Fórmula Estructural⁽¹²⁾



Fórmula Condensada



Peso Molecular

483.97

Nombre Químico

Monohidrato de (±)-*cis*-4-amino-5-cloro-N-[1-[3-(4-fluorofenoxi)propil]-3-metoxipiperidin-4-il]-2-metoxibenzamida

Nombre genérico DCI (Denominación Común Internacional)

Cisaprida

Nombre patentado

Prepulsid®

SinónimosEnteropride, Kinestase, Prepulsid y Unamol⁽¹³⁾.

Polvo blanco o ligeramente beige e inodoro; prácticamente insoluble en agua, ligeramente soluble en metanol, soluble en cloruro de metileno y acetona, fácilmente soluble en dimetilformamida. Presenta polimorfismo⁽¹²⁾.

3.3.2. Indicaciones Terapéuticas

Fármaco de tipo colinérgico, es una piperidinil benzamida sustituida, relacionada químicamente a la metoclopramida. La cisaprida es el agente procinético de primera línea para el tratamiento de los desórdenes de la motilidad gastrointestinal. Estimula la motilidad gastrointestinal y se utiliza en el tratamiento del reflujo gastroesofágico, dispepsia no ulcerosa y otros desórdenes asociados a una motilidad gastrointestinal alterada⁽¹⁴⁾. Diversos reportes confirman su efectividad para mejorar el vaciamiento gástrico y la motilidad gastroduodenal anormal⁽¹⁵⁾. La cisaprida está indicada para el tratamiento sintomático de pacientes con acidez nocturna debida a reflujo gastroesofágico, *gastroparesis idiopática o asociada con neuropatía diabética y pseudo-obstrucción intestinal. También para la profilaxis del reflujo gastroesofágico*^(16,17) Por el riesgo de anomalías en el ritmo cardiaco, la cisaprida debe reservarse para pacientes que no respondan a modificaciones en el estilo de vida, antiácidos y agentes reductores de la acidez gástrica⁽¹⁸⁾.

3.3.3. Farmacocinética

Después de su administración oral el monohidrato de cisaprida se absorbe rápidamente. Las concentraciones máximas en plasma se alcanzan 1-2 horas después de una dosis oral única de 5-20 mg,

en individuos sanos. La biodisponibilidad absoluta de cisaprida por vía oral fluctúa entre el 40 al 50%⁽⁹⁾. La cisaprida se une en un 97.5-98% a las proteínas plasmáticas *in vitro*, principalmente a la albúmina. Su volumen de distribución en humanos es de 2.4 L/kg, lo que indica una gran distribución en tejido y su depuración es de aproximadamente 100 mL/min⁽¹⁶⁾. El tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de cisaprida administrada por vía oral varía entre las 7 y 10 horas en sujetos sanos, después de una dosis única y en regímenes de dosis múltiples. El $t_{1/2}$ puede prolongarse en pacientes con enfermedad hepática y en pacientes geriátricos. Hay evidencia de que el grado de acumulación de cisaprida y/o sus metabolitos puede ser superior en pacientes con disfunción hepática o renal y en pacientes geriátricos, sin embargo, aún cuando estas diferencias no son consistentes y no requieren ajuste de dosis en pacientes geriátricos, se recomienda reducir la dosis al 50% en pacientes con daño hepático o renal⁽⁹⁾.

La cisaprida sufre un alto efecto del primer paso en la pared intestinal. En el hígado se metaboliza ampliamente via el citocromo P450 3A4⁽¹⁶⁾. Se ha estudiado su excreción y biotransformación en humanos después de una dosis única de 10 mg de fármaco marcado con ¹⁴C, encontrando que el 44% fue excretado en orina de las 0-24 horas y un 37% de las 0-35 horas en heces y excretado totalmente a los 4 días; el fármaco inalterado se excreta en una proporción del 0.2% en orina y del 4-6% en las heces. El principal metabolito de cisaprida presente en heces fecales y orina es la norcisaprida, formada por la N-desalquilación del fármaco en el nitrógeno de la piperidina, también se forma otro metabolito por la hidroxilación aromática en el anillo 4-fluorofenilo. Estas forman las dos principales vías metabólicas de la cisaprida. La excreción de la norcisaprida representa el 41-45% de la cantidad total excretada. Existen vías metabólicas secundarias que son la O-desalquilación en el grupo 4-fluorofenoxi y la oxidación de la piperidina. Los valores de concentración plasmática máxima ($C_{máx}$) y área bajo la curva en plasma de la norcisaprida en humanos son 8-9 veces más bajos que los que se obtienen para la cisaprida⁽¹⁹⁾. La excreción en la leche materna es limitada.

3.3.4. Farmacodinamia

Los primeros efectos de la acción farmacológica de cisaprida ocurren 30-60 minutos después de la administración oral. Cisaprida no tiene actividad antidopaminérgica. Se piensa que su mecanismo de acción es primordialmente debido a un incremento en la liberación de acetilcolina en el plexo miéntérico⁽¹⁶⁾, estimulando una subpoblación de receptores neurales de serotonina⁽¹⁵⁾. Estudios *in vitro*

mostraron que la cisaprida es un agonista del receptor 5-HT₄ para la serotonina. Esta acción agonista favorece el incremento en la motilidad gastrointestinal y el ritmo cardiaco. Carece de efectos colinomiméticos, no induce la estimulación del receptor muscarínico o nicotínico, ni tampoco inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa. No incrementa ni disminuye la secreción basal de ácido gástrico o la inducida por la pentagastrina⁽¹⁶⁾.

3.3.5. Efectos

- **Esófago:** Se ha observado que dosis únicas de cisaprida de 4-10 mg por vía intravenosa (I.V.) incrementaron la presión del esfínter esofágico inferior y la peristalsis esofágica inferior comparada con un placebo y/o la metoclopramida. En pacientes con reflujo gastroesofágico y presión del esfínter esofágico inferior menor a 10 mmHg, la cisaprida incrementó la fuerza de la peristalsis esofágica en forma dependiente de la dosis y duplicó la presión del esfínter, llevándola a valores normales. El incremento en la presión del esfínter esofágico inferior fue parcialmente revertido por la atropina, lo que sugiere que el efecto es parcialmente mediado por la actividad colinérgica, aunque no exclusivamente. La administración de una dosis única de 20 mg de cisaprida por vía oral a voluntarios sanos, incrementó de manera similar la presión del esfínter esofágico inferior a los 45 minutos posteriores a la dosis, con una respuesta máxima a los 75 minutos. No se monitoreó la duración total del efecto y las dosis menores a 20 mg no fueron efectivas. Diez miligramos de cisaprida administrados por vía oral tres veces al día y durante varios días a pacientes con reflujo gastroesofágico, produjeron un incremento significativo de la presión del esfínter esofágico inferior y una disminución del ácido del esófago⁽¹⁶⁾.
- **Estómago:** Se ha reportado que la cisaprida administrada en dosis única de 10 mg por vía oral o I.V., o 10 mg administrados oralmente tres veces al día durante seis semanas, aceleró significativamente el vaciamiento gástrico de sólidos y líquidos. La aceleración del vaciamiento gástrico medido durante un período de 4 horas después de una prueba con alimentos marcados radiactivamente y proporcionados a la hora de la comida, fue mucho mayor cuando se administraron 10 mg de cisaprida en la mañana y 10 mg de cisaprida antes de la prueba, menor cuando solamente se administraron en dosis única 10 mg de cisaprida en la mañana e intermedia cuando se administraron en dosis única de 20 mg en la mañana. Los incrementos en el vaciamiento gástrico

fueron proporcionales a los niveles plasmáticos de cisaprida durante las mismas cuatro horas en las que se condujo la prueba del vaciamiento gástrico⁽¹⁶⁾.

- **Corazón:** Incluyen palpitaciones, taquicardia, hipertensión y extrasístole.
- **Sistema respiratorio:** Después de la administración de 10 mg de cisaprida, se ha reportado opresión en el pecho y resuello en pacientes asmáticos.
- **Tracto urinario:** Se han reportado doce casos de alteraciones urinarias asociadas con el uso de la cisaprida reportados al Australian Adverse Drug Reactions Advisory Committee entre marzo de 1991 a julio de 1993. Cinco reportes revelaron incontinencia urinaria, ocho involucraron frecuencia urinaria y reportes individuales incluyeron cistitis, hesitancia y retención urinaria. La mayoría de los casos se presentaron en mujeres y en pacientes geriátricos⁽¹⁴⁾.

3.3.6. Estudios Clínicos

La cisaprida ha mostrado ser efectiva en el tratamiento del reflujo gastroesofágico en adultos, niños y neonatos, y otra alternativa en el tratamiento de la dispepsia funcional, gastroparesis y en la pseudobstrucción intestinal⁽⁹⁾. Los estudios clínicos muestran que cisaprida puede reducir los síntomas de *la acidez nocturna asociada con reflujo gastroesofágico, pero no se han encontrado efectos consistentes sobre la acidez diurna, síntomas de regurgitación o histopatología del esófago*⁽¹⁶⁾.

En estudios comparativos, la cisaprida demostró una eficacia similar o superior a la de la metoclopramida al disminuir el tiempo de exposición esofágica al ácido en pacientes con reflujo, y tuvo un efecto más prolongado. La cisaprida fue más efectiva que la metoclopramida en acelerar el vaciamiento gástrico en pacientes con gastroparesis diabética y demostró una eficacia similar a la de la domperidona⁽⁹⁾

3.3.7. Dosis y Administración

Adultos menores de 60 años:

- Para el reflujo gastroesofágico: 5 a 10 mg tomados p.o. 3-4 veces al día, 15 minutos antes de cada alimento y al acostarse. Si no hay mejoría, se puede incrementar la dosis a 20 mg tomados p.o. 4 veces al día, 15 minutos antes de los alimentos y a la hora de acostarse.
- Para la profilaxis: 10 mg 2 veces al día antes del desayuno y a la hora de acostarse o 20 mg 1 vez al día al acostarse.
- Para la gastroparesis y pseudo-obstrucción: la dosis usual es de 10 mg en adultos 3-4 veces al día, 15 minutos antes de los alimentos y al acostarse. Aunque la mejoría puede presentarse durante las primeras semanas del tratamiento, el efecto máximo no puede observarse hasta que el paciente ha completado de 8-12 semanas de tratamiento^(17,18).

3.3.8. Contraindicaciones

La cisaprida está contraindicada en pacientes con una sensibilidad conocida o intolerancia al fármaco. Tampoco debe ser usada en pacientes cuyo incremento en la motilidad gastrointestinal puede ser peligroso, por ejemplo, en hemorragia gastrointestinal, obstrucción mecánica o perforación.

No debe administrarse concomitante con ketoconazol oral o itraconazol, miconazol, fluconazol, entromicina, claritromicina o troleandomicina⁽¹⁶⁾.

3.3.9. Efectos Colaterales

A diferencia de otros agentes procinéticos, la cisaprida presenta un perfil favorable de efectos colaterales ya que no tiene acciones antidopaminérgicas o colinomiméticas directas. Está desprovista de efectos extrapiramidales y tiene una baja incidencia de efectos sobre el sistema nervioso central⁽¹⁵⁾. Los efectos colaterales que se pueden presentar son: dolor abdominal, diarrea, dolor de cabeza y constipación. Otros síntomas menos comunes son: mareo, prurito, dolor muscular y en la espalda, faringitis, depresión, deshidratación, dispepsia, artralgia, flatulencia, ansiedad, visión anormal, náusea y tos^(14,13). En la mayoría de los estudios, la cisaprida presentó una incidencia de efectos colaterales

similares al placebo, 14.1 y 12.1% respectivamente; fue discontinuada en aproximadamente un 2.5% de los pacientes (principalmente por dolor abdominal o diarrea), comparada con un 1.3% del placebo. Como dato interesante, la incidencia de los efectos adversos no estuvo relacionada con la dosis administrada⁽¹⁵⁾.

3.3.10. Interacciones con otros Fármacos

Debido a que la cisaprida se metaboliza principalmente por el citocromo P450 3A4, los fármacos que inhiben esta enzima como ketoconazol, itraconazol, miconazol, eritromicina, claritromicina, fluconazol o troleandomicina, pueden dar lugar a niveles elevados de cisaprida en sangre. Se han reportado casos raros de arritmias cardíacas, incluyendo arritmias ventriculares, en pacientes que tomaban cisaprida con los fármacos ya mencionados. Algunos de estos pacientes no presentaban un historial de problemas cardíacos conocidos; sin embargo, muchos habían recibido medicación múltiple y tenían enfermedades cardíacas preexistentes o factores de riesgo para arritmias. Algunos de estos casos fueron fatales⁽¹⁶⁾.

Ya que cisaprida acelera el vaciamiento gástrico, la absorción en el estómago de algunos fármacos administrados concomitantemente puede verse disminuida, mientras que la absorción de los fármacos en el intestino delgado puede incrementarse. En pacientes que reciben anticoagulantes orales, los tiempos de coagulación pueden incrementarse; por lo tanto, es aconsejable verificar el tiempo de coagulación en los primeros días después de haber iniciado la terapia con cisaprida y si es necesario ajustar la dosis del anticoagulante. Para el caso de fármacos que requieren una medicación individual cuidadosa, como los anticonvulsivos, es recomendable monitorear sus niveles en plasma al administrar cisaprida conjuntamente. La coadministración de cimetidina conduce a un incremento en la concentración plasmática máxima y en el área bajo la curva de cisaprida. La absorción de cisaprida no se ve alterada cuando se coadministra con ranitidina, mientras que la absorción gastrointestinal de cimetidina y ranitidina se acelera cuando éstos se administran conjuntamente con cisaprida.

Los efectos benéficos de la cisaprida sobre la movilidad gastrointestinal llegan a ser antagonizados por fármacos anticolinérgicos⁽¹⁷⁾.

Aunque la cisaprida no afecta la función psicomotora ni induce sedación o somnolencia, se debe advertir al paciente que la cisaprida puede incrementar los efectos sedantes de las benzodiazepinas y del alcohol.

Este fármaco no ha presentado propiedades carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas y sobre la fertilidad⁽¹⁶⁾.

3.3.11. Presentaciones, Forma Farmacéutica y Formulación

ENTEROPRIDE - LABORATORIOS CILAG DE MÉXICO

Enteropride Suspensión

Cada mL contiene:

Cisaprida 1 mg

Vehículo, c.b.p. 1mL

Enteropride Tabletas 10 mg

Cada tableta contiene:

Cisaprida 10 mg

Excipiente, c.b.p. 1 tableta

Enteropride Tabletas 5 mg

Cada tableta contiene:

Cisaprida 5 mg

Excipiente, c.b.p. 1 tableta

KINESTASE - LABORATORIOS LIOMONT

Cada Tableta contiene:

Cisaprida monohidratada equivalente a 5 y 10 mg de cisaprida

Excipiente, c.b.p. Una tableta

Cada mL de Suspensión contiene:

Cisaprida monohidratada equivalente a 1.000 mg de cisaprida

Vehículo, c.b.p. 1mL

1 mL de suspensión equivale a 1 mg de cisaprida

PREPULSID - JANSSEN FARMACÉUTICA

Prepulsid se presenta en:

Tabletas:

Cisaprida 5 mg en tabletas blancas ranuradas en cajas de 30 y 60 tabletas.

Cisaprida 10 mg en tabletas ranuradas en cajas de 30 y 60 tabletas.

Cisaprida 20 mg en tabletas blancas ranuradas en caja de 20 tabletas.

Suspensión:

Cisaprida 1 mg por mL en frasco de 60 mL con gotero dosificador (graduado por kg de peso corporal).

UNAMOL - SENOSIAIN

Cada comprimido contiene:

Cisaprida monohidrato equivalente a 5 y 10 mg de cisaprida base

Excipiente, c.b.p. 1 comprimido

Cada mL de Suspensión contiene:

Cisaprida monohidrato equivalente a 1 mg de cisaprida base

Vehículo, c.b.p. 1 mL⁽¹³⁾

3.4. REVISIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)

El avance tecnológico ha originado un extraordinario desarrollo en las técnicas para la determinación de fármacos y metabolitos en fluidos biológicos⁽⁴⁾, destacando entre éstas la cromatografía.

Uno de los métodos cromatográficos de mayor aplicación en situaciones de relevancia clínica es la cromatografía de líquidos de alta resolución, ya que posee una adecuada sensibilidad y especificidad para el análisis rutinario de fármacos en fluidos biológicos.

Se encontraron tres reportes acerca del uso de CLAR para cuantificar cisaprida en plasma, los cuales se describen a continuación:

- a) Prechagoon y cols.⁽²⁰⁾ desarrollaron un método por CLAR para la cuantificación de cisaprida en plasma de neonato, utilizando una columna Symmetry C₈ y una fase móvil de acetonitrilo:solución amortiguadora de fosfatos 0.02 M pH 5.2 (37:63) a una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. La cisaprida y el estándar interno (monohidrato de *cis*-4-amino-5-Cl-N-[1-[5-(4-fluorofenoxi)pentil]-3-metoxi-4-piperidinil]-2-metoxibenzamida) se detectan por fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 295 nm y una longitud de onda de emisión de 350 nm, eluyendo a los 5 y 8 min respectivamente. El método consistió en tomar 100 µL de plasma, agregar 70 µl de NaOH 1.0 M y extraer por agitación en vórtex durante 2 minutos, con 1 mL de 2-propanol al 10% v/v en cloroformo conteniendo 30 ng del estándar interno; centrifugar a 1800-1900 g por 1 min; tomar la fase orgánica y evaporarla bajo corriente de aire; reconstituir el residuo en 100 µL de fase móvil e inyectar al cromatógrafo. Este método probó ser lineal ($r > 0.999$) en el intervalo de concentraciones de 5-250 ng/mL.
- b) Bhatti y cols.⁽²¹⁾ diseñaron un método para cuantificar cisaprida en plasma por CLAR, llevando a cabo la separación en una columna Hypersil-ODS (150 × 2 mm), con una fase móvil de acetonitrilo:agua:trietilamina (37:62.9:0.1) y efectuando la detección por ultravioleta a 276 nm. El estándar interno empleado fue el R 54 680. Los tiempos de retención promedio de cisaprida y el estándar interno fueron de 4.6 y 10.1 min, respectivamente. El método de extracción consistió en extraer 1 mL de plasma bajo condiciones básicas con 5 mL de cloruro de *n*-butilo, tomar la fase orgánica y evaporar bajo corriente de nitrógeno, reconstituir la muestra seca en 0.2 mL de fase móvil e inyectar al cromatógrafo. El intervalo de concentraciones fue de 2-100 ng/mL. Las relaciones de altura de los picos se ajustaron por medio de un algoritmo por mínimos cuadrados con la fórmula.

$$\frac{1}{\text{concentración}^2}$$

- c) Cisterino y cols.⁽²²⁾ desarrollaron un método para la cuantificación de cisaprida y norcisaprida en plasma por cromatografía de líquidos de alta resolución, empleando para ello una columna Novapack Waters C₁₈ (3.9 × 150 mm, tamaño de partícula de 4 µm), una fase móvil de acetonitrilo:metanol:solución amortiguadora de fosfatos 0.015 M pH 2.2 (68:19.4:12.6 v/v/v) a una velocidad de flujo de 0.8 mL/min y el estándar interno risperidona. La detección fue por ultravioleta a

276 nm y la cisaprida, norcisaprida y el estándar interno eluyeron a los 4.3, 5.3 y 8.1 min, respectivamente. El método de extracción consistió en tomar 200 μL de plasma, mezclar con 50 μL de metanol, 50 μL de estándar interno 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en metanol y 700 μL de solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 7.9, centrifugar a 1500 g por 10 min y extraer el fármaco del sobrenadante con un cartucho para extracción en fase sólida C_{18} (preacondicionado con 2 mL de metanol, 1 mL de agua y 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 7.9), eluir con 1 mL de metanol; evaporar el metanol bajo corriente de nitrógeno, redisolver el residuo en 150 μL de metanol e inyectar al cromatógrafo. El intervalo lineal de concentraciones para este estudio fue de 10-150 ng/mL ($r > 0.998$).

3.5. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

La validación de un método analítico se puede describir como el proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio que las características de comportamiento de un método cumplen los requisitos para la aplicación analítica deseada. Estas características se expresan en términos de parámetros analíticos, los cuales se pueden enunciar como sigue: linealidad, precisión (evaluada como repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, recobro absoluto, estabilidad y selectividad.

A continuación se expone la definición de cada parámetro a evaluar en la validación de un método analítico⁽⁶⁾:

Selectividad: capacidad del método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto por analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra.

Linealidad: capacidad del método analítico en un intervalo de trabajo, para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

Precisión: grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto y se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad.

Repetibilidad: precisión del método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.

Reproducibilidad: precisión del método analítico que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis, tales como días, equipo, columnas o analistas.

Exactitud: concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

Recobro absoluto: eficiencia del método analítico para cuantificar él o los compuestos por analizar en la muestra biológica.

Límite de detección: mínima concentración de un compuesto en una muestra, el cual puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado bajo las condiciones de operación establecidas.

Límite de cuantificación: concentración más baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo con la precisión y exactitud establecidas en el método

Estabilidad de la muestra: propiedad del compuesto por analizar, de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis.



4. PARTE EXPERIMENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD COMPARATIVA

El estudio constó de dos partes:

- I Optimización y validación del método analítico
- II. Análisis de las muestras de los voluntarios

Los productos evaluados en el estudio fueron:

Producto de Referencia:

Prepulsid

Tabletas de 10 mg

Laboratorios Janssen Farmacéutica

No. de lote: 8BAF

Producto de Prueba:

Cisaprida (Nombre genérico)

Tabletas de 10 mg

Procedencia de un Laboratorio Nacional

No. de lote: 980601

Los lotes proporcionados cumplieron previamente con las especificaciones de control de calidad indicadas en la Farmacopea correspondiente.

4.1.1. Material, Reactivos y Equipo

Sustancias de Referencia:

Monohidrato de cisaprida. Sustancia de Referencia, Lote ML100351.

Carbamazepina. Sustancia de Referencia, Lote 3508640199, No. de análisis 12353.

Metoclopramida. Sustancia Oficial de Referencia. Control MPA-1.

Cinarizina. Materia prima. Lote C-1397.

Diclofenaco sódico BP. Lote 98106.

Haloperidol. Materia prima.

Ácido acetilsalicílico. Materia prima. Lote 94F-0424.

Cafeína. Materia prima.

Heparina Materia prima.

Reactivos:

1-clorobutano RA, J.T. Baker

Acetonitrilo HPLC, Mallinckrodt

Ácido acético glacial 100%, Merck

Agua HPLC obtenida a partir de agua destilada y desionizada con equipo Milli Q-Waters System

Dimetilsulfóxido, Merck

Hidróxido de sodio, Mallinckrodt

Metanol HPLC, Mallinckrodt

Trietilamina RA, J.T. Baker

Plasma humano con certificado de pruebas de grupo sanguíneo, factor Rh, VDRL y VIH procedente del banco de plasma del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNyN)

Equipo:

Agitador Horizontal Orbit Shaker

Agitador Vórtex Thermolyne Maxi Mix II

Balanza analítica Sartorius i-1800

Centrifuga Beckman Modelo TJ-6

Membranas para filtración Millipore de 0.45 µm.

Micropipetas Eppendorf

Sistema de filtración Millipore

Sonicador Branson PC620

Equipo Cromatográfico:

Cromatógrafo de líquidos Waters Millennium equipado con:

- Detector UV-VIS, modelo 2487
- Inyector automático, modelo 717 plus

- Bomba cuaternaria con desgasificador, modelo 600 Controlled
- Paquete de integración Millennium versión 2010

4.1.2. Preparación de las soluciones para la fase móvil

Preparación de la solución de ácido acético al 1.5%:

A un matraz aforado de 1 L, transferir 15 mL de ácido acético glacial R.A. y llevar a volumen con agua desionizada. Filtrar la solución a vacío a través de una membrana millipore de 0.45 μm , desgasificar bajo corriente de helio durante 15 minutos.

Preparación de la solución de trietilamina 27 mM en acetonitrilo:

Transferir 3.85 mL de trietilamina (27 mmol) a un matraz aforado de 1 L y llevar a volumen con acetonitrilo HPLC. Filtrar la solución a vacío a través de una membrana millipore de 45 μm , desgasificar bajo corriente de helio durante 15 minutos.

4.1.3. Preparación de las soluciones de referencia

Preparación de la solución patrón de Cisaprida 10,000 ng/mL:

Pesar exactamente 10 mg de cisaprida, transferir a un matraz aforado de 10 mL, disolver con el mínimo volumen de dimetilsulfóxido (aprox. 0.5 mL) y llevar al aforo con metanol HPLC. Esta solución contiene 1,000 $\mu\text{g/mL}$ de cisaprida (solución patrón A).

De la solución patrón A tomar 0.1 mL y transferir a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y llevar a volumen con metanol HPLC. La concentración de esta solución es de 10,000 ng/mL de cisaprida (solución patrón B).

Preparación de la Solución de Referencia de Carbamazepina 500 ng/mL:

Pesar exactamente 10 mg de carbamazepina, transferir a un matraz aforado de 10 mL, disolver con metanol HPLC y llevar a volumen con el mismo disolvente. Esta solución contiene 1,000 $\mu\text{g/mL}$ de carbamazepina (solución 1).

De la solución 1 tomar una alícuota de 0.5 mL, transferir a un matraz volumétrico de 10 mL y aforar con metanol HPLC. Esta solución contiene 50,000 ng/mL de carbamazepina (solución 2).

De la solución 2 tomar una alícuota de 1.0 mL, transferir a un matraz aforado de 100 mL y llevar a volumen con metanol HPLC. Esta solución contiene 500 ng/mL de carbamazepina.

4.2. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA.

El método para cuantificar cisaprida en plasma se basó en los trabajos realizados por Preechagoon y cols.⁽²⁰⁾, Bhatti y cols.⁽²¹⁾ y Cisterino y cols.⁽²²⁾.

4.2.1. Selección de la Longitud de Onda de Máxima de Absorción (λ_{max})

Se realizó un barrido espectrofotométrico de cisaprida en la región de 200 a 400 nm del UV, con el fin de identificar la longitud de onda más adecuada para la cuantificación del fármaco.

4.2.2. Elección de la Columna Cromatográfica

Se probaron cinco columnas cromatográficas de características semejantes a las empleadas en las referencias citadas, la elección se hizo en base a la medición de los parámetros cromatográficos como tiempo de retención (t_r), factor de capacidad (k') y simetría, bajo los siguientes criterios de aceptación:

- t_r de cisaprida correspondiente a un pico eluido en un área del cromatograma libre de picos endógenos.
- factor de capacidad: $2 < k' < 6$, como indicador del grado de retención de cisaprida entre la fase estacionaria y la fase móvil.
- simetría ≤ 2.0 , como un estimador de la deformación o coleado del pico, ya que anchos de pico muy grandes pueden conducir a separaciones deficientes lo que se traduce en pérdida de resolución, y límites del pico mal definidos dificultan la integración, lo que conlleva a errores en la cuantificación.

Las columnas evaluadas fueron:

- 1) Ultracarb 5 ODS (30) de 150×4.6 mm de diámetro interno (D.I.)
- 2) Hypersil ODS de 150×4.6 mm D.I. y 5 µm de tamaño de partícula
- 3) Hypersil ODS, 200×4.6 mm D.I., 5 µm de tamaño de partícula
- 4) Symmetry Shield RP-8, 150×3.9 mm D.I., 5 µm de tamaño de partícula
- 5) Symmetry C₁₈, 150×3.9 mm D.I.

Las columnas se probaron empleando una concentración de cisaprida de 100 ng/mL en metanol, una proporción de fase móvil acetonitrilo:agua (37:63 v/v) a un flujo isocrático de 1 mL/min. Se inyectó un volumen de 100 µL.

4.2.3. Selección del Estándar Interno

Para la elección del estándar interno se probaron sustancias que fueran estructural y fisicoquímicamente similares a cisaprida, que mostraran una λ_{max} cercana a 276 nm o bien una absorción aceptable alrededor de este máximo de absorción, para asegurar una igualdad de respuesta al UV y cuyo comportamiento cromatográfico pudiera cumplir con los requisitos siguientes: una resolución (R) con respecto a cisaprida ≥ 2.0 , una simetría del pico ≤ 2.0 y un factor de capacidad: $k' > 2$, en la columna cromatográfica elegida.

Se realizaron los espectros de absorción en UV y el análisis cromatográfico de los siguientes compuestos. metoclopramida, cinarizina, diclofenaco, haloperidol y carbamazepina, en las condiciones cromatográficas preliminares mencionadas anteriormente.

4.2.4. Optimización de la Fase Móvil

La elección de la fase móvil se enfocó a aquella que definiera mejores tiempos de retención, una simetría ≤ 2.0 y una $R \geq 2.0$, para garantizar una separación aceptable de los picos y una adecuada integración y cuantificación de los mismos.

4.2.5. Optimización del Método de Extracción

Tomando como base las referencias antes citadas, se probó la siguiente técnica de extracción variando únicamente el disolvente de extracción:

- Tomar 1 mL de plasma, adicionarle 700 μL de NaOH 1M, 200 μL de estándar interno y el disolvente de extracción, agitar 2 minutos, centrifugar a 3000 rpm 15 minutos, separar y evaporar la fase orgánica, y reconstituir el residuo en 100 μL de fase móvil.

Los disolventes de extracción ensayados fueron:

- 1) 5 mL de cloruro de n-butilo
- 2) 7 mL de isopropanol al 10% en cloroformo
- 3) Mezcla de isopropanol al 10% en cloroformo y cloruro de n-butilo (3:5)
- 4) Mezcla de acetato de etilo y cloruro de n-butilo (4:3)
- 5) Mezcla de diclorometano y cloruro de n-butilo (4:3)

El criterio de selección del método de extracción se enfocó en aquél que ofreciera una mayor recuperación del fármaco, menor presencia de impurezas y repetibilidad en los resultados.

4.3. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

Una vez establecidas las condiciones analíticas del método se procedió a validarlo para comprobar la confiabilidad de los resultados obtenidos, iniciando para ello con la validación del sistema, en donde se evaluaron los parámetros de linealidad y precisión.

4.3.1. Linealidad y Precisión del Sistema

La linealidad del sistema se determinó preparando a partir de pesadas independientes, tres curvas de calibración de siete concentraciones diferentes de cisaprida en metanol. Se tomaron 2 mL de cada solución y

se agregaron 200 μL de estándar interno, se evaporaron, se reconstituyeron en 150 μL de fase móvil y se inyectaron 100 μL al cromatógrafo.

De cada curva de calibración se determinó la relación de alturas (altura de cisaprida/altura de estándar interno) para cada punto, se graficó con respecto a la concentración de cisaprida y se determinó por un ajuste de mínimos cuadrados, pendiente (m), ordenada al origen (b), coeficiente de correlación (r) y el error relativo debido a la regresión.

El sistema se consideró lineal si el coeficiente de correlación es mayor o igual que 0.99 y el error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%.

La precisión del sistema se evaluó a partir de los datos de linealidad, en donde el coeficiente de variación del factor de respuesta no debió ser mayor que el 2%.

4.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR CISAPRIDA EN PLASMA

Para comprobar que el método analítico cumplía con el propósito para el que fue diseñado, se validó siguiendo las especificaciones de la NOM-177-SSA1-1998⁽⁶⁾, en lo referente a la validación de métodos analíticos para realizar pruebas de bioequivalencia. Los parámetros evaluados fueron los que se describen a continuación:

4.4.1. Linealidad del Método

Para evaluar la linealidad del método se prepararon a partir de pesadas independientes, tres curvas de calibración de siete concentraciones distintas de cisaprida en plasma. Las muestras se procesaron y se inyectaron de acuerdo al método propuesto. Para cada curva de calibración, se determinó la relación de alturas (altura de cisaprida/altura de estándar interno) de cada punto, se graficaron con respecto a la concentración de cisaprida y se determinó por un ajuste de mínimos cuadrados, pendiente (m), ordenada al origen (b) y coeficiente de correlación (r).

Para que el método sea lineal el coeficiente de correlación debe ser mayor o igual que 0.99.

4.4.2. Precisión

La precisión del método se evaluó con los parámetros de repetibilidad y reproducibilidad, analizando tres concentraciones conocidas de cisaprida en plasma: baja, media y alta, las cuales difieren a las de la curva de calibración pero se incluyen en el intervalo de concentraciones.

Para el parámetro de **repetibilidad** los tres niveles de concentración se analizaron en un mismo día y por quintuplicado, y para la **reproducibilidad intralaboratorio** se analizaron por duplicado durante tres días.

El criterio de aceptación fue que el coeficiente de variación para cada nivel de concentración no fuera mayor al 15%.

4.4.3. Exactitud.

La exactitud se evaluó a partir de los datos de repetibilidad y reproducibilidad, determinando la desviación absoluta del valor promedio de las concentraciones experimentales de cada nivel, con respecto a la concentración nominal de la muestra:

$$\% \text{ Desviación Absoluta} = \left[\frac{\text{concentración nominal} - \text{concentración promedio recuperada}}{\text{concentración nominal}} \right] \times 100$$

El valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad debieron estar dentro del $\pm 15\%$ del valor nominal de concentración.

4.4.4. Recuperación Absoluta

Se prepararon tres series de cisaprida en plasma y tres series de cisaprida en metanol, a tres niveles de concentración: bajo, medio y alto, diferentes a los de la curva de calibración, pero dentro del intervalo de concentraciones. Las muestras plasmáticas fueron procesadas de acuerdo al método de extracción propuesto y las muestras metanólicas con el estándar interno adicionado, fueron evaporadas, reconstituidas e inyectadas al cromatógrafo. Se compararon las alturas de cisaprida obtenidas en plasma

con respecto a las obtenidas en metanol para cada concentración. El porcentaje de esta relación no debe ser necesariamente del 100%, pero sí reproducible en cada nivel de concentración.

4.4.5. Límite de Cuantificación

Se preparó por quintuplicado la concentración más baja del intervalo de trabajo. Se consideró que el punto tenía validez como límite de cuantificación si el valor promedio de las cinco repeticiones caía dentro del $\pm 20\%$ del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor de 20%.

4.4.6. Límite de Detección

Se determinó la concentración a la cual la señal de cisaprida fue tres veces mayor a la del ruido.

4.4.7. Estabilidad

Se determinaron las condiciones de temperatura y tiempo en las que cisaprida permaneció estable en plasma, durante su manejo, almacenamiento y procesamiento; para ello se evaluó la respuesta de muestras preparadas por duplicado a tres niveles de concentración (alto, medio y bajo) dentro del intervalo de trabajo, bajo las siguientes condiciones:

4.4.7.1. Estabilidad de la Muestra a Temperatura Ambiente

Se prepararon muestras en plasma de cisaprida de concentración conocida, las cuales se procesaron e inyectaron. Se conservó el volumen restante de las muestras plasmáticas a temperatura ambiente para procesarlo e inyectarlo nuevamente a las 12 y 24 horas posteriores a su preparación.

4.4.7.2. Estabilidad de la Muestra en Congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

La estabilidad se evaluó al preparar muestras de cisaprida de concentración conocida en plasma, que se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posteriormente se descongelaron a temperatura ambiente, a los 30 y 60 días después de la elaboración de las muestras.

4.4.7.3. Estabilidad de la Muestra Procesada

Se evaluó la estabilidad de cisaprida en muestras preparadas en plasma de concentración conocida, las cuales se procesaron y mantuvieron a temperatura ambiente. Las muestras reconstituidas se inyectaron a las cero, 24 y 48 horas posteriores a su procesamiento.

Para que cisaprida se considere estable en las condiciones evaluadas, los resultados obtenidos deben estar dentro del $\pm 15\%$ del valor nominal de concentración y el coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15%.

Los valores de concentración recuperada para cada nivel, de cada parámetro de la validación, se obtuvieron introduciendo sus respectivos valores de relación de alturas, en la ecuación de la recta, derivada de la regresión lineal por mínimos cuadrados, de la curva de calibración procesada y analizada el mismo día de su análisis.

4.4.8. Selectividad

Se estableció la selectividad del método al analizar muestras blanco de plasma (muestras de la predosis) provenientes de por lo menos seis voluntarios y muestras de fármacos de uso común, sometidas al procedimiento de extracción propuesto. Para que el método cumpla con esta prueba no deben existir interferencias en la cuantificación de cisaprida

4.5. ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CISAPRIDA (PROTOCOLO CLÍNICO)

La parte clínica del estudio se realizó en la Unidad de Farmacología Clínica del Hospital Español de México.

4.5.1. Objetivo del Estudio

Comparar la velocidad y cantidad de cisaprida absorbida de la formulación genérica de prueba con la de la formulación de referencia administradas oralmente en la misma dosis.

4.5.2. Tipo de Estudio

Estudio de dosis única de 10 mg de cisaprida, administrada por vía oral bajo condiciones de ayuno.

4.5.3. Diseño del Estudio

En el estudio un total de 24 sujetos sanos (12 mujeres y 12 hombres), fueron asignados aleatoriamente a dos secuencias o grupos de administración, de acuerdo a un diseño cruzado de 2×2 . En el primer período de administración a los sujetos de un grupo se les administró el producto de referencia (A) y a los sujetos del otro grupo se les administró el producto de prueba (B); después de un período de lavado de una semana, en el segundo período de administración, al primer grupo se le administró el producto de prueba, mientras que al segundo grupo se le administró de manera simultánea el producto de referencia. En la tabla 1 se describe la forma en la que se asignaron los voluntarios a la combinación de secuencia-período-producto del diseño cruzado:

Tabla 1. ALEATORIZACIÓN DE VOLUNTARIOS PARA EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD					
SEXO	No. DE VOLUNTARIO	PERÍODO I PRODUCTO		PERÍODO II PRODUCTO	SECUENCIA
M A S C U L I N O	1	B	P E R I O D O D E	A	BA
	2	A		B	AB
	3	A		B	AB
	4	B		A	BA
	5	A		B	AB
	6	A		B	AB
	7	B		A	BA
	8	A		B	AB
	9	B		A	BA
	10	A		B	AB
	11	B		A	BA
	12	B		A	BA
F E M E N I N O	13	A	L A V A D O	B	AB
	14	A		B	AB
	15	B		A	BA
	16	A		B	AB
	17	B		A	BA
	18	A		B	AB
	19	B		A	BA
	20	B		A	BA
	21	A		B	AB
	22	B		A	BA
	23	A		B	AB
	24	B		A	BA

Producto A: Formulación de Referencia, Tabletas de 10 mg

Producto B: Formulación de Prueba, Tabletas de 10 mg

4.5.4. Selección de los Voluntarios

Acorde a los lineamientos propuestos en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de *Investigación para la Salud*, todos los sujetos participaron de manera voluntaria en el estudio, para lo cual firmaron una carta de aceptación y una carta de consentimiento informado; asimismo, fueron informados de la naturaleza y fines del estudio, de los efectos secundarios del fármaco y las indicaciones a seguir durante la realización del mismo.

El estado de salud de los voluntarios participantes, se determinó mediante un historial clínico, pruebas de gabinete (examen físico y electrocardiograma), pruebas de laboratorio (química sanguínea, biometría hemática, examen general de orina, VDRL, detección de virus de hepatitis y VIH), detección de drogas de abuso (ABUSIGN) y prueba de embarazo.

Criterios de Inclusión para los Voluntarios:

- Se incluyeron solamente voluntarios clínicamente sanos, del sexo masculino y femenino con edades entre 20 y 40 años.
- Los voluntarios no debieron ingerir ningún medicamento, por lo menos dos semanas previas al estudio y hasta completarlo; ni consumir alcohol, café, tabaco o bebidas de cola por lo menos 48 horas antes del estudio o durante el mismo.

Criterios de Exclusión para los Voluntarios

- Se eliminó del estudio a todo aquel voluntario que no cumplió con los criterios de inclusión propuestos.
- No se aceptaron sujetos que manifestaron sensibilidad o alergia a cisaprida.
- A los individuos que se les encontró alguna alteración en sus signos vitales registradas en la selección de voluntarios se les excluyó del estudio.

- Se rechazó la intervención al estudio de los participantes que presentaron trastornos gastrointestinales, hipertensión arterial e insuficiencia renal o hepática.
- No se incluyeron los sujetos que mostraron antecedentes de drogadicción o de abuso de fármacos.
- Los sujetos que revelaron resultados positivos a la prueba de embarazo o al estudio cualitativo de fármacos de abuso en orina, se descartaron.
- Los sujetos con un padecimiento médico actual o pasado que pudiera afectar el comportamiento farmacodinámico o farmacocinético de cisaprida, se excluyeron del estudio.

4.5.5. Procedimiento

En ambos períodos de administración y después de un ayuno de 12 horas, se administró a cada voluntario una tableta de 10 mg de cisaprida junto con 250 mL de agua.

Se colectaron de 8 a 10 mL de sangre venosa con equipo Vacutainer estéril y rotulado, a las 0 horas (predosis) y a las 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 horas después de la administración del medicamento. Asimismo se llevó un registro de los signos vitales durante cada una de las tomas de muestra. El plasma de cada muestra se separó por centrifugación y se almacenó a -20 °C hasta su análisis.

Los sujetos recibieron una dieta de 1,800 Kcal dividida entre el desayuno (proporcionado dos horas después de la administración del medicamento), la comida a las 14:00 y la cena a las 21:00 horas.

Se dejó un período de lavado de una semana entre una administración y otra, con la finalidad de asegurar la completa eliminación de la primera dosis del fármaco antes de iniciar la segunda fase del estudio.

4.6. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS

Las muestras plasmáticas se analizaron utilizando el método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución previamente desarrollado y validado.

Para cada día de análisis se procesó una curva de calibración, la cual debió cumplir con los criterios establecidos en la validación. Asimismo, se acordó que las muestras de tres voluntarios, de ambos periodos, se analizarían en una misma sesión de trabajo.

4.6.1. Puntos Control de Calidad

Cada día de análisis, se prepararon puntos control en plasma a tres niveles de concentración: alto, medio y bajo, y dentro del intervalo de trabajo; estas concentraciones fueron las mismas a las empleadas en la evaluación de la precisión y exactitud del método analítico. Se colocó una muestra control cada seis muestras problema, es decir, cuatro series de muestras control por corrida analítica.

El criterio para aceptar una corrida analítica fue que no más de 2 de cada 6 muestras control de diferente concentración, se encontraran fuera del $\pm 20\%$ de la concentración nominal respectiva.

4.6.2. Cuantificación de las Muestras Plasmáticas

La concentración de cisaprida en las muestras plasmáticas analizadas, se determinó sustituyendo los valores de relación de alturas (altura del pico de cisaprida/altura del pico del estándar interno) en la ecuación de la recta de la curva de calibración correspondiente, generada por un ajuste por mínimos cuadrados.

Las muestras con concentraciones por debajo del límite de cuantificación no fueron incluidas en los cálculos finales y aquellas con concentraciones por encima del intervalo, se diluyeron con plasma y se reanalizaron.

Para el seguimiento del método durante el análisis de las muestras problema, se demostró la consistencia de las curvas de calibración con respecto a la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de regresión en cada día de análisis. Las muestras control debieron cumplir con los criterios de precisión y exactitud establecidos en la validación del método.

4.6.3. Análisis Farmacocinético

A partir de los datos de concentración plasmática, se graficaron los perfiles de concentración vs tiempo de muestreo y se obtuvieron para cada sujeto y producto, los parámetros farmacocinéticos de área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración o tiempo cero hasta el último tiempo

de muestreo ($ABC_{0 \rightarrow t}$), el área bajo la curva de concentración plasmática desde el tiempo cero hasta tiempo infinito ($ABC_{0 \rightarrow \infty}$), la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), el tiempo en el cual se alcanza la concentración plasmática máxima ($t_{m\acute{a}x}$) y el tiempo de vida media de eliminación ($t^{1/2}$).

- El $ABC_{0 \rightarrow t}$ se calculó por el método trapezoidal, dividiendo la curva de concentración plasmática contra tiempo en tantos trapecios como datos de concentración plasmática se obtuvieron, se determinó el área de cada trapecio y luego se sumaron.
- El $ABC_{0 \rightarrow \infty}$, se estimó sumando el $ABC_{0 \rightarrow t}$ y el cociente del último dato de concentración plasmática medido y la pendiente terminal beta.
- $C_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$ se obtuvieron directamente de la curva de concentración plasmática con respecto al tiempo.
- El $t^{1/2}$ a partir de un ajuste logaritmo lineal por mínimos cuadrados, de la porción terminal de las curvas de concentración plasmática vs tiempo.

4.6.4. Análisis Estadístico

Para comprobar la bioequivalencia entre los productos evaluados, se compararon los parámetros farmacocinéticos en escala aritmética y transformados logarítmicamente, calculando el intervalo de confianza clásico, intervalo de Westlake, la prueba de Shuimann y Anderson-Hauck, así como la potencia estadística correspondiente, haciendo uso del paquete computacional Biopak®.



5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CLAR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CISAPRIDA EN PLASMA

En la figura 3 se muestra el espectro de absorción de cisaprida, en el cual se presentaron respuestas aceptables a 212, 276 y 308 nm, con valores de absorbancia de 0.3103, 0.1699 y 0.1179, respectivamente; no obstante, se decidió realizar la cuantificación a 276 nm para evitar posibles interferencias por parte de componentes endógenos del plasma, que regularmente absorben a longitudes de onda bajas y porque en el máximo de 308 nm se observa la menor absorbancia, lo que disminuiría la sensibilidad del método de detección.

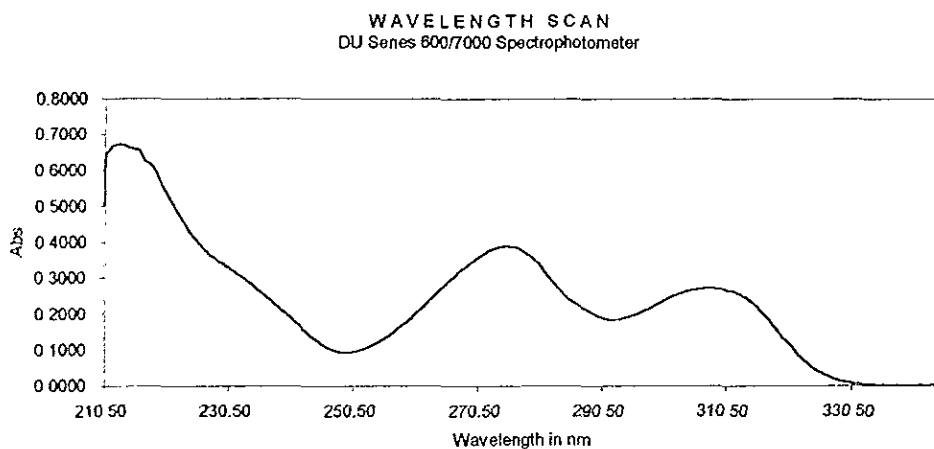


FIGURA 3. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE CISAPRIDA

Se eligió la columna Symmetry Shield RP-8, de 150×3.9 mm de diámetro interno y tamaño de partícula de 5 μm ; la fase móvil ideal consistió de una mezcla de trietilamina 27 mM en acetonitrilo y

ácido acético al 1.5%, en una proporción de 36:64 v/v y con una velocidad de flujo de 1 mL/min. El estándar interno seleccionado fue carbamazepina a una concentración de 500 ng/mL.

Las condiciones cromatográficas para el análisis de las muestras se resumen a continuación:

Tabla 2. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	
Detector	UV-Vis
Longitud de onda	276 nm
Columna	Symmetry Shield RP-8, 3.9 x 150 mm de diámetro interno y tamaño de partícula de 5 μ m
Precolumna	Guard-Pack con insertos μ Bondapack C ₁₈
Fase móvil	Trietilamina 27 mM en acetonitrilo: ácido acético al 1.5% (36:64 v/v), en forma isocrática
Velocidad de flujo	1 mL/min
Volumen de loop	200 μ L

Con estas condiciones cromatográficas, se obtuvo un tiempo de corrida aproximado de 8 minutos; los tiempos de retención para cisaprida y el estándar interno fueron de 3.5 (k' =2.5) y 4.7 (k' =3.7) minutos, respectivamente; la resolución entre los picos de interés fue de 3.995 y la simetría de los picos, de 1.199 para cisaprida y 1.142 para el estándar interno.

El método de elección para extraer cisaprida de los demás componentes del plasma, se presenta en la figura 4:

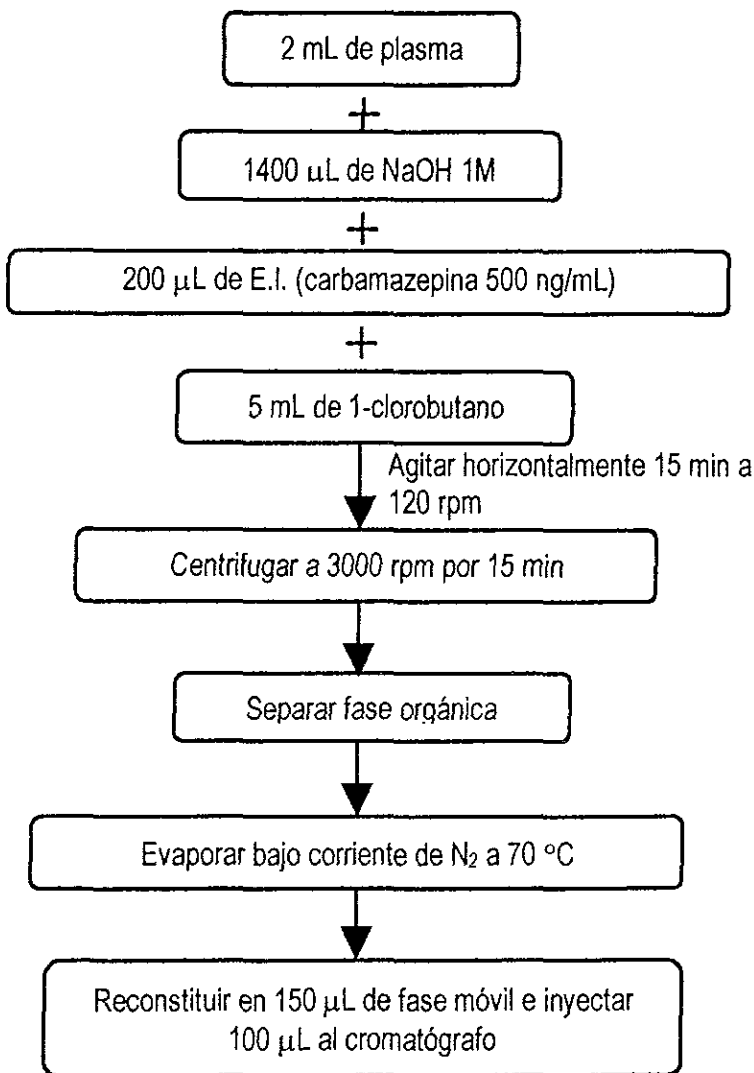


FIGURA 4. MÉTODO PARA EXTRAER CISAPRIDA DEL PLASMA

5.2. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

5.2.1. Linealidad y Precisión del Sistema

En la tabla 3 se muestran los resultados de la evaluación de la linealidad y la precisión del sistema:

Tabla 3. LINEALIDAD Y PRECISIÓN DEL SISTEMA						
CONCENTRACIÓN (ng/mL)	CURVA 1 REL ALT	CURVA 2 REL ALT	CURVA 3 REL ALT	PROMEDIO	D.E.	C.V.
5	0.1123	0.1150	0.1135	0.1136	0.0014	1.19
15	0.3464	0.3364	0.3489	0.3439	0.0066	1.92
25	0.5516	0.5592	0.5736	0.5615	0.0112	1.99
30	0.6735	0.6609	0.6724	0.6689	0.0070	1.04
100	2.2529	2.2142	2.2204	2.2292	0.0208	0.93
200	4.4931	4.4902	4.4841	4.4891	0.0046	0.10
m	0.0225	0.0224	0.0224	0.0224		
b	0.0005	-0.0054	0.0052	0.0001		
r	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000		
Error relativo debido a la regresión	0.58	1.35	1.39	0.98		

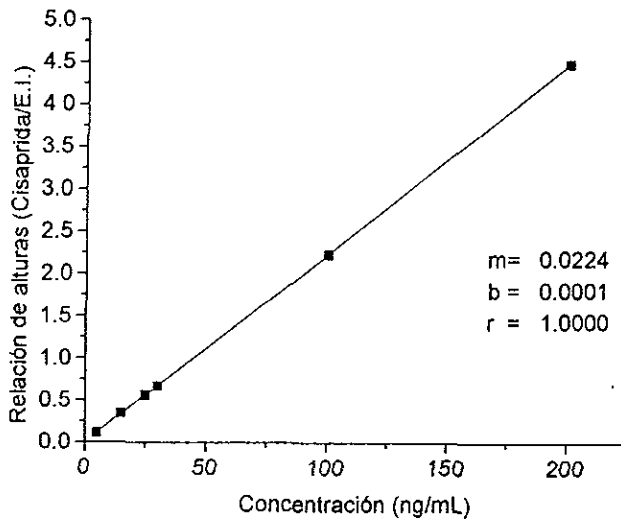


FIGURA 5. LINEALIDAD DEL SISTEMA

Con esto se demuestra que el sistema es lineal y preciso para cuantificar cisaprida.

5.3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR CISAPRIDA EN PLASMA

Después de encontrar las condiciones analíticas óptimas, se procedió a evaluar el método analítico. A continuación se presentan los resultados obtenidos.

5.3.1. Linealidad del Método

Para realizar la cuantificación, se decidió utilizar la relación de alturas de los picos, ya que esta presentó un mejor coeficiente de correlación y un menor coeficiente de variación en los resultados. Las concentraciones que se emplearon para evaluar la linealidad fueron 200, 100, 30, 25, 15 y 5 ng/mL de cisaprida.

En la tabla 4 se presentan los valores de pendiente (m), intercepto (b), coeficiente de regresión (r) y r^2 obtenidos a partir de los cálculos de regresión lineal, para las tres curvas de calibración de cisaprida.

CONCENTRACIÓN (ng/mL)	CURVA 1 REL ALT	CURVA 2 REL ALT	CURVA 3 REL ALT	PROMEDIO	D.E.	C.V.
5	0.0633	0.0802	0.0785	0.0740	0.0093	12.6
15	0.2200	0.2329	0.2558	0.2362	0.0181	7.7
25	0.3897	0.3852	0.4189	0.3979	0.0183	4.6
30	0.4878	0.4722	0.518	0.4927	0.0233	4.7
100	1.4572	1.6039	1.5187	1.5266	0.0737	4.8
200	3.1144	3.1105	3.1439	3.1229	0.0183	0.6
m	0.0155	0.0156	0.0155	0.0155		
b	-0.0113	0.0051	0.0185	0.0041		
r	0.9994	0.9999	0.9992	0.9999		

D.E. = Desviación estándar

C.V. = Coeficiente de variación

En la figura 6, se presenta la gráfica de la relación de alturas promedio con respecto a la concentración plasmática de cisaprida, en la que se observa que el método fue lineal en el intervalo de concentraciones de 5 a 200 ng/mL con un valor de $r = 0.9999$.

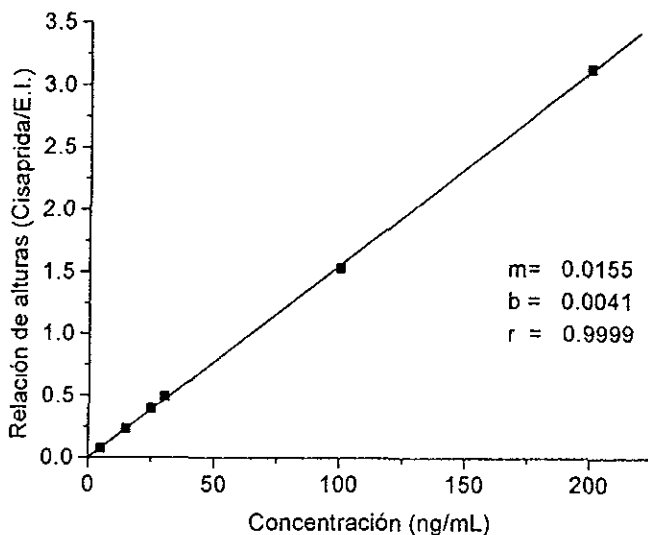


FIGURA 6. LINEALIDAD DEL MÉTODO

Una vez establecido el intervalo de concentraciones de la curva de calibración, se definieron las concentraciones para evaluar los parámetros de precisión, exactitud, recuperación absoluta, estabilidad, límite de cuantificación y límite de detección. Se tomaron como puntos bajo, medio y alto las concentraciones de 10, 50 y 150 ng/mL, las cuales difieren a las de la curva pero están incluidas en el intervalo de concentraciones.

5.3.2. Precisión y Exactitud

5.3.2.1. Repetibilidad.

Los resultados de la prueba de repetibilidad del método se muestran en la siguiente tabla, en la cual se observa que el coeficiente de variación en los tres niveles de concentración evaluados, varió de 2.7 a 7.3% sin rebasar el límite máximo del 15%, mientras que la desviación absoluta (DESV ABS) fue menor al 1.5%.

Tabla 5. REPETIBILIDAD			
CONC NOMINAL (ng/mL)	10	50	150
RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
1	9.94	49.74	149.84
2	10.77	49.78	157.48
3	8.99	51.52	146.66
4	9.56	46.84	153.15
5	10.54	50.31	154.18
Promedio	9.96	49.64	152.26
D.E.	0.7255	1.7238	4.1525
% C.V.	7.3	3.5	2.7
% DESV ABS	0.4	0.7	1.5

5.3.2.2. Reproducibilidad Intralaboratorio

En la tabla 6 se muestran los resultados para la reproducibilidad intralaboratorio del método, donde se aprecia que el coeficiente de variación para las concentraciones evaluadas durante los tres días de análisis fue menor al 7.2% y la desviación absoluta máxima encontrada fue de 3.4%.

Tabla 6. REPRODUCIBILIDAD INTRALABORATORIO			
CONC NOMINAL (ng/mL)	10	50	150
DÍA-RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
1-1	9.94	49.74	149.84
1-2	10.77	49.78	157.48
2-1	9.58	54.74	152.94
2-2	9.92	50.30	161.36
3-1	11.52	52.61	157.53
3-2	9.81	50.33	151.02
Promedio	10.25	51.25	155.03
D.E.	0.7384	2.0130	4.4665
% C.V.	7.2	3.9	2.9
% DESV ABS	2.5	2.5	3.4

Ya que los valores en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio, no exceden el límite establecido del 15% para el coeficiente de variación y están dentro del ± 15 de la concentración nominal, se considera que el método es preciso y exacto.

5.3.3. Recuperación Absoluta

En la tabla 7 se muestra que el porcentaje de recobro para cisaprida en plasma a 10, 50 y 150 ng/mL fue de 67.2, 70.7 y 70.2%, respectivamente.

Tabla 7. RECOBRO DE CISAPRIDA (ALTURAS)						
CONC (ng/mL)	10	50	150	10	50	150
RÉPLICA	MUESTRAS EN METANOL			MUESTRAS EN PLASMA		
1	3135	13382	45645	2414	9147	33401
2	3098	13705	46873	1728	9635	31651
3	3015	13190	46218	2072	9704	32362
Promedio	3082.7	13425.7	46245.3	2071.3	9495.3	32471.3
			% RECOBRO	67.2	70.7	70.2

El recobro promedio para cisaprida, con el método de extracción empleado, fue de 69.4 %.

5.3.4. Límite de Cuantificación

Los resultados para estimar el límite de cuantificación del método analítico se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN			
CONC NOMINAL (ng/mL)	1.25	2.5	5
RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
1	2.53	4.55	4.83
2	N.D.	4.16	4.81
3	N.D.	3.23	4.70
4	N.D.	3.67	4.96
5	N.D.	5.55	5.92
PROMEDIO	-	4.23	5.04
D.E.	-	0.8883	0.4973
% C.V.	-	21.0	9.9
% DESV ABS	-	69.4	0.9

N.D. = No detectable

Se consideró 5 ng/mL como la cantidad mínima cuantificable, ya que fue la concentración más baja que presentó un coeficiente de variación y una desviación absoluta menor al 20% (C.V. = 9.9% y desviación absoluta = 0.9%), cumpliendo con el criterio para la exactitud y precisión del método.

5.3.5. Límite de detección

El límite de detección correspondió a la concentración de 2.5 ng/mL, señal tres veces mayor a la del ruido, que puede ser detectada pero no cuantificada al utilizar 2.0 mL de plasma.

5.3.6. Estabilidad

5.3.6.1. Estabilidad de la Muestra a Temperatura Ambiente

En la tabla 9 se muestran los resultados correspondientes a la cuantificación de muestras mantenidas a temperatura ambiente durante 12 y 24 horas, después de su preparación. En ella se observa que las réplicas no vararon más del 15% con respecto a la respuesta original.

Tabla 9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA A TEMPERATURA AMBIENTE			
CONC NOMINAL (ng/mL)	10	50	150
HORAS-RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
0-1	9.56	46.84	153.15
0-2	10.54	50.31	154.18
12-1	9.43	47.25	150.04
12-2	10.07	50.81	150.69
24-1	9.13	49.29	146.92
24-2	10.09	48.95	149.08
PROMEDIO	9.6787	49.0753	149.1807
D.E.	0.4772	1.4609	1.6449
% C.V.	4.9	3.0	1.1
% DESV ABS	3.2	1.8	0.5

5.3.6.2. Estabilidad de la Muestra en Congelación a -20 °C

A continuación se presentan los resultados de la cuantificación de las muestras congeladas durante 30 y 60 días. Se puede observar que ninguna de las réplicas rebasó el 15% del valor de la muestra original.

Tabla 10. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA EN CONGELACIÓN A -20 °C

CONC NOMINAL (ng/mL)	10	50	150
DÍAS-RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
0-1	8.75	49.08	146.34
0-2	10.31	51.99	153.64
30-1	9.00	48.78	148.49
30-2	10.30	49.18	151.41
60-1	8.74	48.93	147.26
60-2	10.19	52.73	150.91
PROMEDIO	9.55	50.12	149.68
D.E.	0.79	1.76	2.78
% C.V.	8.3	3.5	1.9
% DESV ABS	4.5	0.2	0.2

5.3.6.3. Estabilidad de la Muestra Procesada

En la siguiente tabla se muestran los resultados correspondientes a la cuantificación de las muestras procesadas y mantenidas a temperatura ambiente por un período de 48 horas en la mezcla de inyección o fase móvil.

Tabla 11. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PROCESADA

CONC NOMINAL (ng/mL)	10	50	150
HORAS-RÉPLICA	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)		
0-1	9.75	47.42	149.89
0-2	10.20	51.24	154.29
24-1	9.78	47.69	151.62
24-2	10.10	51.72	152.46
48-1	9.64	46.94	152.46
48-2	10.30	51.85	153.60
PROMEDIO	9.96	49.48	152.39
D.E.	0.2713	2.3501	1.5440
% C.V.	2.7	4.7	1.0
% DESV ABS	0.4	1.0	1.6

Como se puede constatar, la cisaprida en plasma fue estable a temperatura ambiente durante 24 horas; en muestras plasmáticas extraídas, reconstituidas en fase móvil y mantenidas a temperatura ambiente

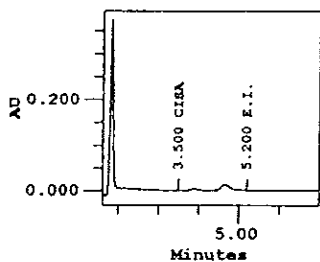
durante 48 horas y en congelación durante 30 y 60 días, ya que el coeficiente de variación y la desviación absoluta en cada nivel de concentración no rebasó el 15% del valor de la muestra original.

5.3.7. Selectividad

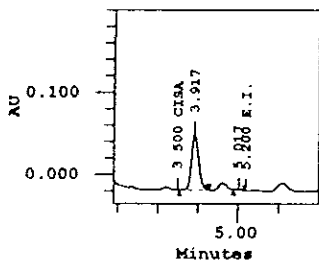
En la figura 7 se observa que ni la matriz biológica (plasma) proveniente de una muestra blanco de un voluntario y los fármacos añadidos (ácido acetilsalicílico, cafeína y heparina), interfieren en la respuesta cromatográfica de cisaprida. En la tabla 12 se muestran los tiempos de retención de fármacos de uso común y muestras de plasma conteniendo diferentes anticoagulantes.

Tabla 12. SELECTIVIDAD DEL MÉTODO			
FÁRMACO	CONC.	tr DEL PICO	ALTURA DEL PICO
Heparina	143 Unidades USP	N.D.	N.D.
Citrato de sodio	0.105 M	N.D.	N.D.
EDTA	8.4 mg/mL	N.D.	N.D.
Ácido acetilsalicílico	150 µg/mL	5.2	821
Cafeína	10 µg/mL	3.9	3144
Cisaprida	50 µg/mL	3.5	13425
Carbamazepina	300 µg/mL	5.2	12072

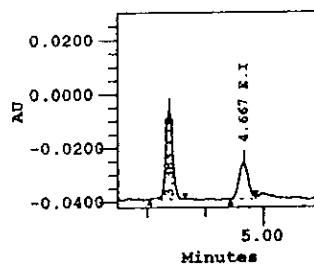
N.D. = No detectable



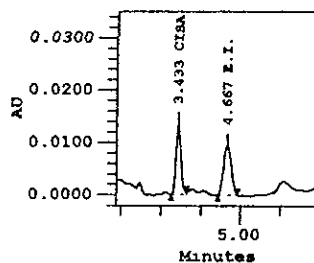
A: Blanco de plasma



C: Muestra de cisaprida adicionada con estándar interno, ácido acetilsalicílico, otratos, EDTA, cafeína y heparina



B: Punto de una curva de calibración de 100 ng/mL



D: Cromatograma típico de un voluntario

FIGURA 7. SELECTIVIDAD DEL MÉTODO

De esta forma se hace constar que el método es selectivo para cisaprida, ya que fármacos y anticoagulantes de uso común (ácido acetilsalicílico, cafeína heparina citrato y EDTA) y la matriz biológica no interfieren con la cuantificación de cisaprida.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se establece que el método analítico es adecuado para cuantificar cisaprida en plasma y aplicable para realizar un estudio de bioequivalencia.

5.4. ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE CISAPRIDA

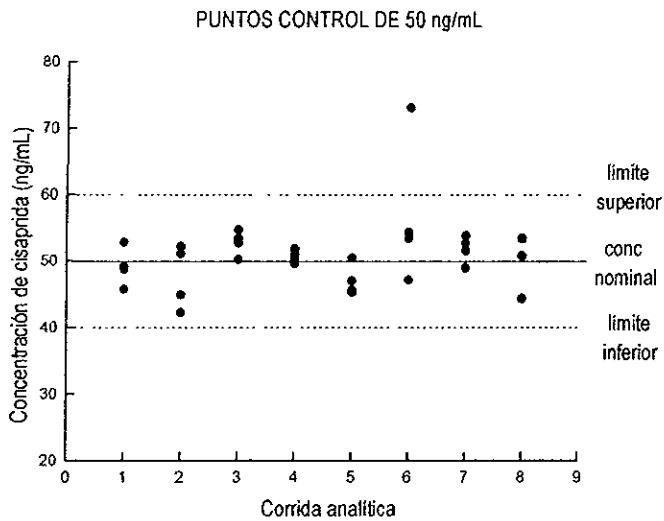
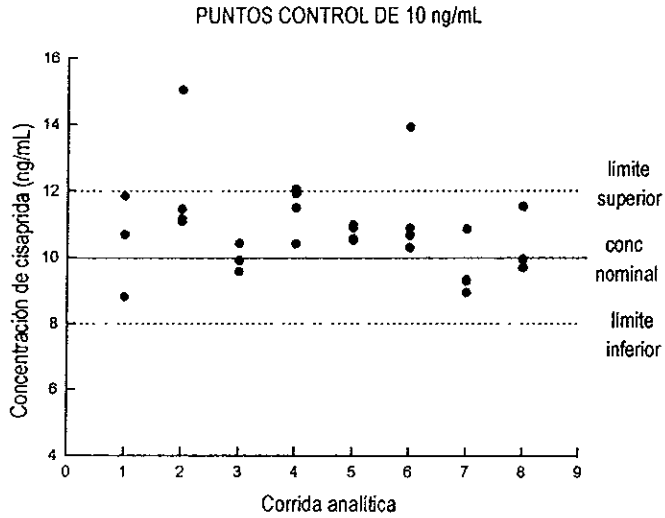
Una vez desarrollado y validado el método analítico, se realizó el estudio de bioequivalencia en 23 voluntarios, debido a que un sujeto abandonó el estudio.

Como se señaló en la parte experimental, cada corrida analítica comprendió el análisis de las muestras de tres voluntarios (ambos periodos) y de su curva de calibración correspondiente, contando al final del estudio con ocho corridas analíticas. Los resultados del seguimiento de las curvas de calibración de cada uno de los días de análisis se muestran en la tabla 13.

CONC NOMINAL (ng/mL)	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)								PROMEDIO	D.E.	% C.V.	% DESV ABS
	1	2	3	4	5	6	7	8				
5	4.2	6.9	4.2	4.7	5.0	4.1	4.7	4.5	4.8	0.9	19.3	4.1
15	13.3	15.0	14.8	14.0	14.9	16.2	16.2	14.1	14.8	1.0	7.0	1.4
25	24.3	26.3	23.1	27.2	26.2	23.9	26.1	23.4	25.1	1.6	6.2	0.2
30	32.7	29.1	32.4	31.9	29.9	31.2	27.9	33.3	31.1	1.9	6.1	3.5
100	101.4	95.7	101.1	95.4	98.2	99.5	100.0	99.8	98.9	2.3	2.3	1.1
200	199.1	202.1	199.4	201.8	200.8	200.1	200.1	199.9	200.4	1.1	0.5	0.2
b	0.0099	-0.0271	0.0006	0.0002	-0.0170	0.0016	0.0023	0.0061	-0.0029			
m	0.0149	0.0160	0.0150	0.0149	0.0165	0.0149	0.0147	0.0146	0.0152			
r	0.9998	0.9995	0.9998	0.9994	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997	0.9997			

Como se puede observar, el seguimiento de las curvas de calibración mostró poca variación entre cada uno de los puntos de concentración, ya que el C.V. no fue mayor al 15%; excepto para el punto de concentración más baja (5 ng/mL) que corresponde al límite de cuantificación y cuyo valor de C.V. menor que 20%.

Por su parte, los resultados de las muestras control de cada día de análisis, se presentan en las siguientes gráficas:



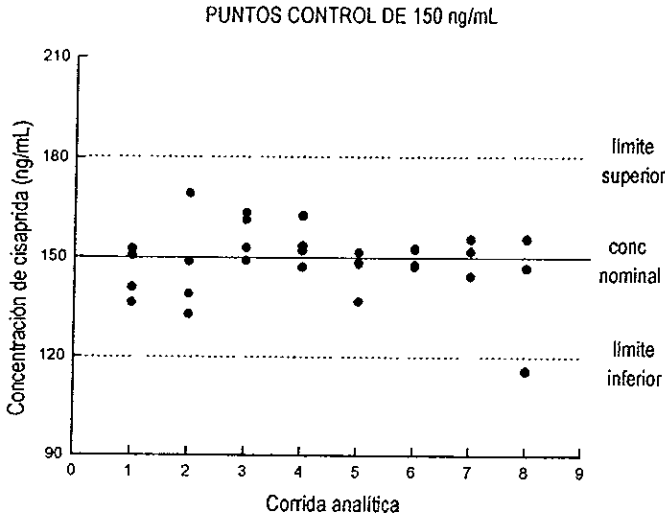


FIGURA 8. SEGUIMIENTO DE LOS PUNTOS CONTROL

Ninguna corrida analítica tuvo que repetirse debido a que todas cumplieron con el criterio de que no más de 2 de cada 6 puntos control superaran el valor del $\pm 20\%$ de su concentración nominal respectiva.

5.5. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

A continuación se muestran los resultados de la cuantificación de los niveles de cisaprida en plasma, para ambas formulaciones y los resultados de los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos de concentración.

Los valores promedio de concentración plasmática de cisaprida para las dos formulaciones, se presentan en la tabla 14 y su gráfica correspondiente en la figura 9. La gráfica obtenida en función logarítmica se muestra en la figura 10. Los datos de concentración plasmática para cada voluntario y sus respectivas gráficas de concentración plasmática vs tiempo, se presentan en el Apéndice I.

Tabla 14. VALORES DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA PROMEDIO DE CISAPRIDA CON RESPECTO AL TIEMPO

TIEMPO (h)	FORMULACIÓN DE REFERENCIA CONC ± D.E. (ng/mL)	FORMULACIÓN DE PRUEBA CONC ± D.E. (ng/mL)
0.0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.5	16.23 ± 12.95	21.55 ± 21.00
1.0	41.22 ± 22.50	45.62 ± 38.48
1.5	60.75 ± 31.01	57.87 ± 32.69
2.0	72.25 ± 32.21	72.84 ± 35.80
4.0	82.26 ± 23.75	85.28 ± 22.00
6.0	77.10 ± 24.61	80.78 ± 26.33
8.0	59.62 ± 17.18	62.39 ± 17.53
12.0	44.30 ± 14.77	46.36 ± 12.98
24.0	18.30 ± 7.55	20.16 ± 8.72
48.0	7.08 ± 3.65	6.76 ± 2.03
72.0	N.D.	N.D.

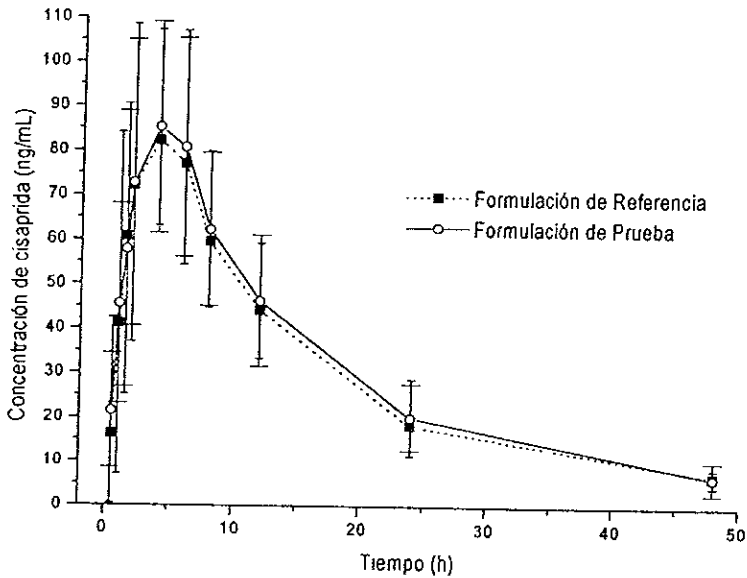


FIGURA 9. GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA PROMEDIO ± D.E. VS TIEMPO

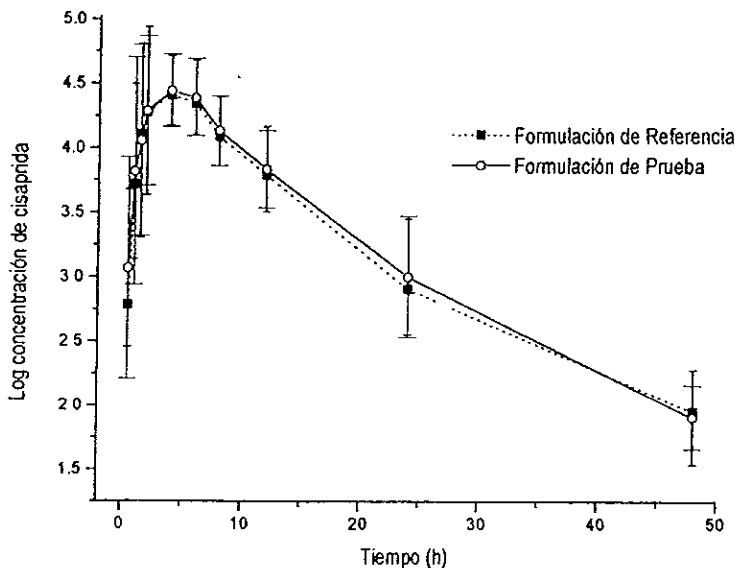


FIGURA 10. GRÁFICA DE Log DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA PROMEDIO ± D.E. VS TIEMPO

Los resultados promedio de los parámetros farmacocinéticos evaluados (área bajo la curva $ABC_{0 \rightarrow t}$ y $ABC_{0 \rightarrow \infty}$, concentración plasmática máxima $C_{m\acute{a}x}$, tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima $t_{m\acute{a}x}$ y tiempo de vida media ($t^{1/2}$) se muestran en la siguiente tabla, los resultados individuales se encuentran en el Apéndice II:

Tabla 15. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS PROMEDIO		
PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO	FORMULACIÓN DE REFERENCIA PROMEDIO ± D.E.	FORMULACIÓN DE PRUEBA PROMEDIO ± D.E.
$ABC_{0 \rightarrow t}$ (ng×h/mL)	1268.16 ± 461.4	1369.10 ± 447.6
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$ (ng×h/mL)	1428.30 ± 465.5	1506.20 ± 445.0
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/mL)	92.91 ± 25.6	98.83 ± 27.8
$t_{m\acute{a}x}$ (h)	3.37 ± 1.7	3.74 ± 1.7
$t^{1/2}$ (h)	9.80 ± 2.8	9.79 ± 2.5

5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El tratamiento estadístico de los parámetros farmacocinéticos de las dos formulaciones se realizó utilizando el paquete computacional Biopak®, analizando los datos en escala aritmética y con su transformación logarítmica. El resumen de los resultados del análisis estadístico se presenta en la tabla 16 y 17:

Tabla 16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS SIN TRANSFORMAR

PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO	INTERVALO CLÁSICO	INTERVALO DE WESTLAKE	PRUEBA DE SHUIRMANN	PRUEBA DE ANDERSON-HAUCK	PODER
$ABC_{0 \rightarrow t}$	101.28-113.74	87.63-112.37	0.0010	0.0010	0.9994
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	100.68-110.15	90.94-109.06	0.0000	0.0000	1.0000
$C_{máx}$	101.06-111.41	89.78-110.22	0.0001	0.0001	0.9999
$t_{máx}$	89.91-133.25	71.58-128.42	0.2657	0.2453	0.3148
$t^{\%}$	94.80-105.09	94.86-105.14	0.0000	0.0000	0.9999

Tabla 17. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS CON TRANSFORMACIÓN LOGARÍTMICA

PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO	INTERVALO CLÁSICO	INTERVALO DE WESTLAKE	PRUEBA DE SHUIRMANN	PRUEBA DE ANDERSON-HAUCK	PODER
$\log ABC_{0 \rightarrow t}$	102.33-115.45	86.15-113.85	0.0051	0.0051	0.9998
$\log ABC_{0 \rightarrow \infty}$	101.10-111.32	89.91-110.09	0.0001	0.0001	1.0000
$\log C_{máx}$	100.40-111.94	89.46-110.54	0.0004	0.0004	1.0000
$\log t_{máx}$	91.26-139.61	67.06-132.94	0.3182	0.3072	0.3940
$\log t^{\%}$	95.51-105.17	95.15-104.85	0.0000	0.0000	1.0000

El análisis estadístico efectuado a los parámetros farmacocinéticos de la formulación de referencia y la formulación de prueba indica que los valores para los intervalos clásico y de Westlake, y los de las pruebas de Shuirmann y Anderson-Hauck se encuentran dentro de los límites establecidos, tanto para los datos en escala aritmética como para los datos transformados logarítmicamente, pero no para el $t_{máx}$, que no cumplió con ninguna de las pruebas aplicadas, no obstante, los parámetros de mayor importancia en la decisión de la bioequivalencia son el ABC y el $C_{máx}$, ya que están directamente relacionadas con la cantidad de fármaco que se absorbe y con la velocidad con que lo hace, mientras que el $t_{máx}$ es poco confiable porque se ve afectado en mayor grado por la variabilidad intra e interindividual.

5.7. EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA BIODISPONIBILIDAD DE CISAPRIDA

Asumiendo que la formulación de referencia y la formulación de prueba son bioequivalentes, se presentan los resultados de la biodisponibilidad de cisaprida entre hombres y mujeres empleando sólo la formulación de referencia, no obstante el análisis comparativo también se realizó para la formulación de prueba y como los resultados fueron similares, se tomó la decisión de no anexarlo al documento. Se aplicó un análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para cada grupo, empleando para ello el programa computacional SigmaStat®.

Los resultados correspondientes a cada parámetro y a cada prueba efectuada se resumen a continuación

Tabla 18. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE HOMBRES Y MUJERES

PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO	PRUEBA DE NORMALIDAD DE KOLMOGOROV-SMIRNOV	PRUEBA DE IGUALDAD DE VARIANZA DE LEVENE MEDIAN	ANOVA	PRUEBA DE t
ABC_{0-t}	Cumplió (P = 0.0662)	Cumplió (P = 0.6718)	Cumplió (P = 0.9638)	Cumplió (P = 0.9638)
ABC_{0-x}	Cumplió (P = 0.6752)	Cumplió (P = 0.3248)	Cumplió (P = 0.9181)	Cumplió (P = 0.9181)
C_{max}	Cumplió (P = 0.1738)	Cumplió (P = 0.4247)	Cumplió (P = 0.1032)	Cumplió (P = 0.1032)
T_{max}	Cumplió (P = 0.0878)	Cumplió (P = 0.2508)	Cumplió (P = 0.1237)	Cumplió (P = 0.1237)
$T_{1/2}$	Cumplió (P = 0.2993)	Falló (P = 0.0405)	Kruskal-Wallis Cumplió (P = 0.6890)	Mann-Whitney Cumplió (P = 0.7119)

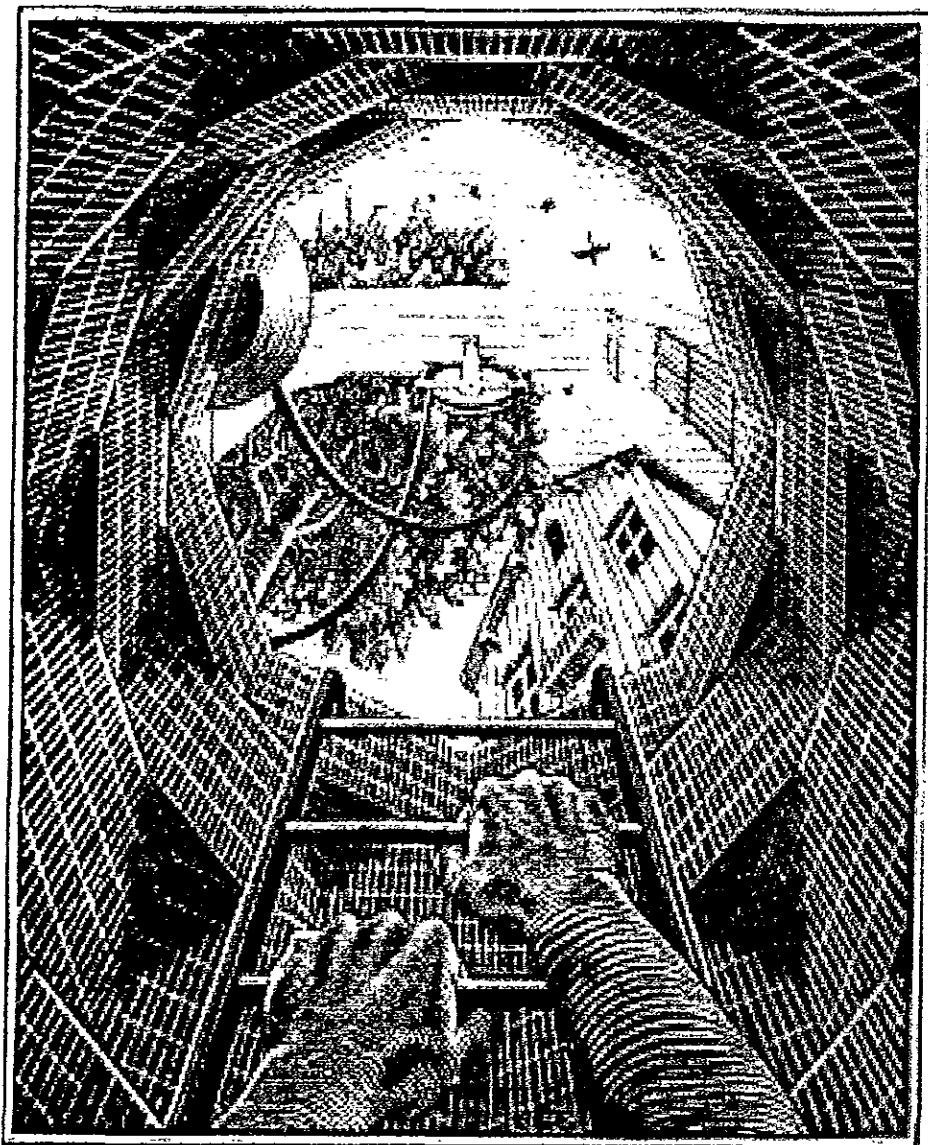
De las pruebas estadísticas efectuadas a los parámetros farmacocinéticos de hombres y mujeres, se obtuvo lo siguiente:

Las pruebas de normalidad e igualdad de varianza nos indican que los datos están distribuidos normalmente y que poseen varianzas similares, a excepción de los datos para el tiempo de vida media de eliminación, cuya prueba de igualdad de varianza detectó diferencias, por lo que se recurrió a las pruebas

no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa, en ambos casos.

El análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos $ABC_{0 \rightarrow t}$, $ABC_{0 \rightarrow \infty}$, $C_{máx}$ y $t_{máx}$, reveló que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los grupos.

La prueba de t señaló que no existen diferencias significativas entre los promedios de los parámetros farmacocinéticos de ambos grupos.



6. CONCLUSIONES

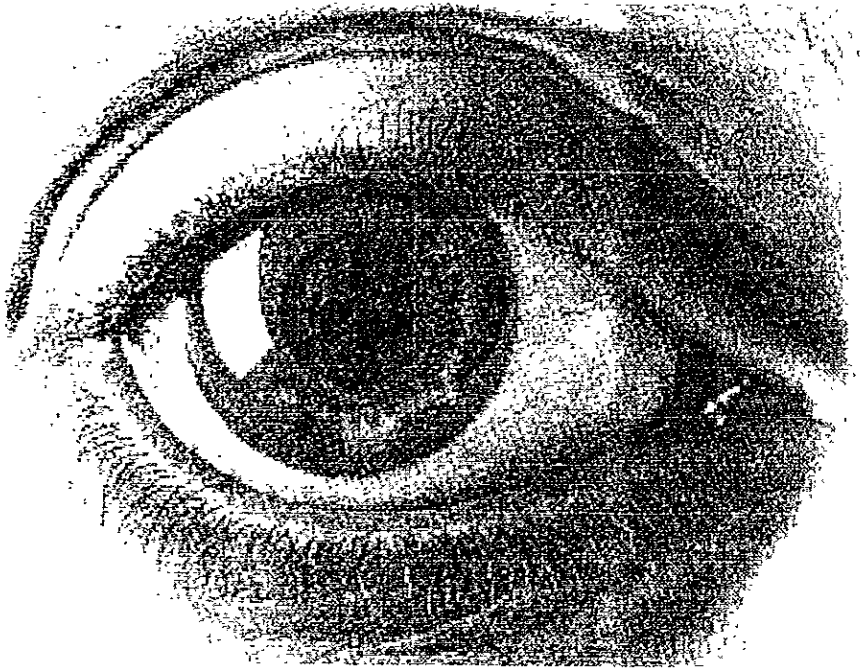
6. CONCLUSIONES

- ✓ El método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución desarrollado para la *cuantificación de cisaprida en plasma, fue lineal en el intervalo de concentraciones de 5 a 200 ng/mL, exacto, preciso, selectivo y estable para cisaprida bajo las condiciones experimentales evaluadas, por lo que se consideró aplicable para la cuantificación de cisaprida en plasma.*

- ✓ La sensibilidad proporcionada por la detección en UV, el corto tiempo de corrida cromatográfica, la resolución y simetría alcanzadas para los picos de interés y la sencillez y rapidez del método de extracción, son características que hacen al método analítico adecuado para el análisis rutinario de numerosas muestras, y para el monitoreo de cisaprida en otras aplicaciones, incluyendo estudios farmacocinéticos en otras poblaciones.

- ✓ El análisis estadístico de los resultados de ABC y $C_{m\acute{a}x}$ demostraron que no existen diferencias significativas entre las dos formulaciones de cisaprida, por consiguiente se puede asumir que son bioequivalentes.

- ✓ No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la biodisponibilidad de cisaprida entre hombres y mujeres.



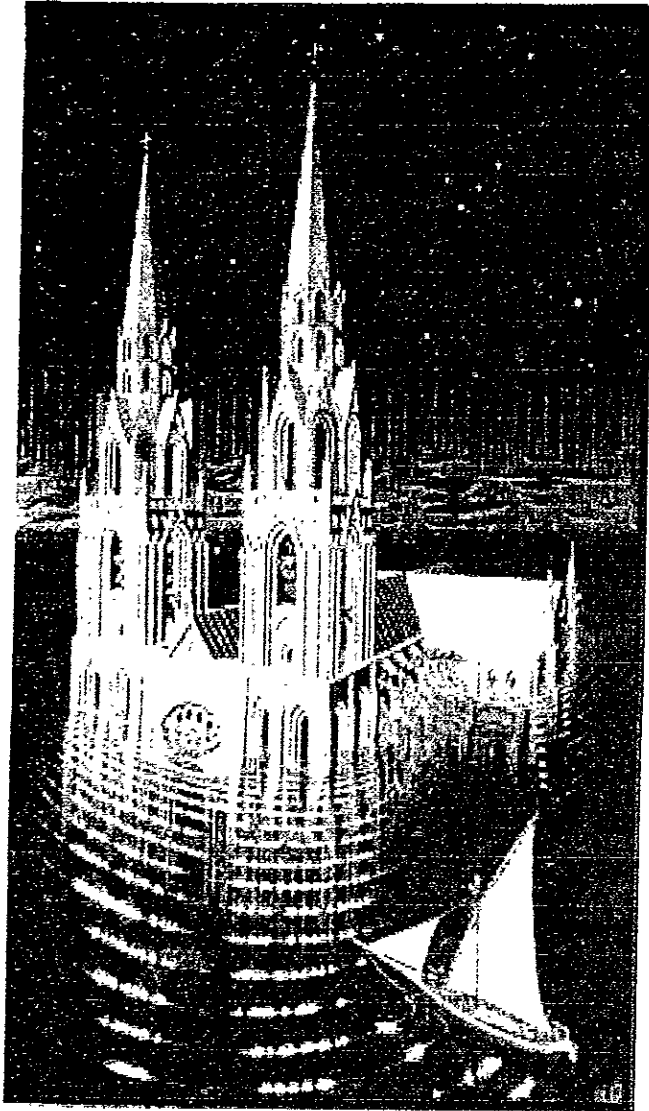
7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ GUNNAR, H. J. et al. Pharmacokinetic Optimisation in the Treatment of Gastro-Oesophageal Reflux Disease. Clin. Pharmacokinet. 1996 November; 31(5):386-406.
- ² YAMAMOTO, T. et al. Pharmacokinetic Characteristics of Cisapride in Elderly Patients. Int J Clin Pharmacol Ther 1998; 36(8): 432-434.
- ³ FRANCISCO DOCE, M.T. Evaluación y aseguramiento de la calidad de la bioequivalencia de metronidazol comprimidos 500 mg. (Tesis de maestría). Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, México D.F. 1996. 16
- ⁴ ARANCIBIA, A. et al. Biodisponibilidad de medicamentos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Primera Edición, 1992, San Francisco, Santiago de Chile. 25-50, 239-245, 267-275.
- ⁵ CÁRDENAS, R. H. et al. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana—Xochimilco. México, D.F. Primera edición 1996. 31-43, 109-133, 145-206, 231-246.
- ⁶ Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Diario Oficial de la Federación, Primera Sección, viernes 7 de mayo de 1999.
- ⁷ Acuerdo por el que se relacionan las especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables y se determinan las pruebas que deberán aplicárseles. Diario Oficial de la Federación, Primera Sección, jueves 19 de marzo de 1998. 46-53.
- ⁸ HARRISON. Principios de Medicina Interna. Interamericana McGraw-Hill, 1991. 12ª Edición. México, D.F. Vol. II. 1413-1419, 1421-1422 y 1427-1429.
- ⁹ WISEMAN, L.R. et al. Cisapride An Updated Review of its Pharmacology and Therapeutic Efficacy as a Prokinetic Agent in Gastrointestinal Motility Disorders. Drugs 47(1): 116-152, 1994.
- ¹⁰ SCHROEDER, S.A. Diagnóstico Clínico y Tratamiento. El Manual Moderno. 27ª Edición. México, D.F., 1992. 399-400.
- ¹¹ GRACEY, M. et al. Pediatric Gastroenterology and Hepatology. Blackwell Scientific Publications, 1993. Third Edition. Massachusetts, USA. 49-62.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹² European Pharmacopeia, 1997. 3rd Edition. Council of Europe Strasbourg. 641-642.
- ¹³ Diccionario de Especialidades Farmacéuticas DEF. Ediciones PLM 1999. 45 Edición. México, D.F. 903-904, 1224-1225, 1718-1720 y 2189-2190.
- ¹⁴ MARTINDALE. The Extra Pharmacopeia. 1213-1214.
- ¹⁵ CUCCHIARA, S. Cisapride Therapy for Gastrointestinal Disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1996; 22(3): 259-269
- ¹⁶ <http://www.thehealthconnection.com/newdrugs/pages97/propulsid.htm>
- ¹⁷ <http://www.gi.ucalgary.ca/sponsors/janssen/bpi/index.html>
- ¹⁸ <http://www.fda.gov/medwatch/safety/1998/propul.htm>
- ¹⁹ MEULDERMANS, W. et al. Excretion and Biotransformation of Cisapride in dogs and humans after oral administration. Drug Metab Dispos 1988 May-Jun; 16(3):403-9
- ²⁰ PREECHAGOON, Y. et al. Analysis of cisapride in neonatal plasma using high-performance liquid chromatography with a base-stable column and fluorescence detection. J Chromatogr B, 670 (1995) 139-143.
- ²¹ BHATTI, M.M. et al. Determination of Cisapride in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. Covance Laboratories Inc., Madison, WI 53704.
- ²² CISTERINO, S. et al. Determination of cisapride and norcisapride in human plasma using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. J Chromatogr B, 714 (1998) 395-398.



8.1 APÉNDICE I

APÉNDICE I

DATOS DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE CISAPRIDA VS TIEMPO PARA CADA VOLUNTARIO Y FORMULACIÓN

VOLUNTARIO 1		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	20.52	15.14
1.0	53.34	35.86
1.5	78.13	62.60
2.0	72.71	72.90
4.0	61.17	56.52
6.0	53.26	46.46
8.0	40.61	39.13
12.0	24.80	25.97
24.0	8.75	7.51
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

N D. = No detectable

X = Muestras que no contenían el volumen requerido para su procesamiento

VOLUNTARIO 2		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	30.20	43.08
1.0	67.99	116.88
1.5	112.49	129.98
2.0	119.33	120.91
4.0	108.19	104.06
6.0	92.56	88.36
8.0	78.51	70.38
12.0	53.51	55.29
24.0	19.67	19.49
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 3		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	9.61	6.74
1.0	44.72	39.38
1.5	55.29	59.97
2.0	88.63	83.70
4.0	128.64	127.20
6.0	112.11	126.68
8.0	107.26	103.79
12.0	81.87	71.73
24.0	30.70	31.11
48.0	5.02	6.82
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 4		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	18.10	13.93
1.0	22.06	28.00
1.5	35.86	38.88
2.0	55.36	38.28
4.0	58.72	59.02
6.0	58.68	58.48
8.0	45.85	49.55
12.0	29.52	30.33
24.0	11.26	12.64
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 5		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	19.30	5.51
1.0	34.94	13.37
1.5	50.90	22.44
2.0	79.61	34.82
4.0	70.38	84.94
6.0	61.81	91.14
8.0	55.36	76.89
12.0	42.95	59.14
24.0	24.00	31.92
48.0	5.43	6.39
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 6		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	6.72	6.62
1.0	15.74	43.62
1.5	42.09	72.08
2.0	53.89	88.39
4.0	70.50	87.89
6.0	76.66	65.08
8.0	59.09	55.68
12.0	61.15	51.06
24.0	20.44	16.60
48.0	X	7.17
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 7		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	6.09	28.94
1.0	27.51	79.98
1.5	48.91	84.72
2.0	64.76	90.63
4.0	53.89	60.76
6.0	43.69	50.42
8.0	37.60	43.72
12.0	25.91	26.74
24.0	9.08	10.69
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 8		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	10.96	8.15
1.0	29.19	28.83
1.5	30.42	68.23
2.0	21.10	44.05
4.0	57.06	88.92
6.0	79.81	66.48
8.0	68.87	49.54
12.0	45.68	33.03
24.0	9.40	8.35
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

VOLUNTARIO 10		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	8.35	N.D.
1.0	15.49	17.55
1.5	43.08	46.77
2.0	53.63	34.66
4.0	87.28	48.59
6.0	89.16	66.43
8.0	56.56	62.40
12.0	46.93	51.62
24.0	27.39	24.50
48.0	6.24	7.28
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 11		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	N.D.	N.D.
1.0	5.05	5.34
1.5	9.42	11.09
2.0	24.30	21.99
4.0	69.34	46.18
6.0	60.70	57.45
8.0	47.60	47.49
12.0	41.09	44.37
24.0	14.58	19.38
48.0	7.89	6.95
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 12		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	N.D.	N.D.
1.0	N.D.	N.D.
1.5	5.62	6.03
2.0	7.49	15.44
4.0	76.52	77.26
6.0	77.58	90.05
8.0	74.22	70.37
12.0	62.03	62.99
24.0	32.16	33.64
48.0	16.52	12.52
72.0	5.33	5.54

VOLUNTARIO 13		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	63.47	72.47
1.0	83.15	90.85
1.5	103.36	99.32
2.0	96.81	92.53
4.0	101.51	93.03
6.0	81.80	68.03
8.0	64.10	53.52
12.0	47.00	49.36
24.0	25.53	22.43
48.0	5.49	5.18
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 14		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	24.31	26.44
1.0	53.21	63.26
1.5	100.51	67.01
2.0	76.39	80.07
4.0	65.83	93.39
6.0	57.39	87.31
8.0	41.98	66.46
12.0	34.37	41.95
24.0	17.91	30.66
48.0	N.D.	6.14
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 15		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	12.62	26.64
1.0	37.79	49.20
1.5	91.15	79.25
2.0	122.10	77.47
4.0	79.64	85.07
6.0	75.20	129.93
8.0	61.45	63.83
12.0	44.02	56.35
24.0	X	22.89
48.0	5.02	5.05
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 16		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	15.70	5.83
1.0	22.47	22.60
1.5	45.80	31.02
2.0	64.32	100.97
4.0	143.44	106.07
6.0	130.82	151.57
8.0	81.05	97.25
12.0	65.89	63.29
24.0	22.04	35.45
48.0	6.23	5.02
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 17		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	18.51	17.33
1.0	66.59	37.07
1.5	84.80	34.47
2.0	74.26	80.37
4.0	72.44	82.19
6.0	60.08	73.17
8.0	51.25	51.08
12.0	30.21	41.44
24.0	11.91	14.19
48.0	N.D.	7.34
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 18		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	9.24	75.13
1.0	68.09	150.26
1.5	95.39	118.04
2.0	111.97	152.70
4.0	87.93	97.26
6.0	78.53	76.14
8.0	52.72	60.77
12.0	44.95	37.13
24.0	18.02	17.03
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 19		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	7.74	5.08
1.0	66.37	12.85
1.5	87.18	50.40
2.0	134.78	141.14
4.0	111.03	124.98
6.0	145.15	102.78
8.0	82.61	84.65
12.0	61.38	56.39
24.0	29.75	31.39
48.0	5.84	5.27
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 20		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	15.34	14.84
1.0	48.51	18.35
1.5	56.89	31.99
2.0	55.75	41.96
4.0	68.15	87.16
6.0	64.05	79.68
8.0	41.03	53.15
12.0	26.99	32.22
24.0	6.58	8.03
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 21		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	7.08	13.18
1.0	20.30	31.35
1.5	43.85	62.41
2.0	60.53	53.14
4.0	61.90	72.93
6.0	60.03	55.79
8.0	44.23	41.89
12.0	32.54	28.21
24.0	13.20	12.34
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

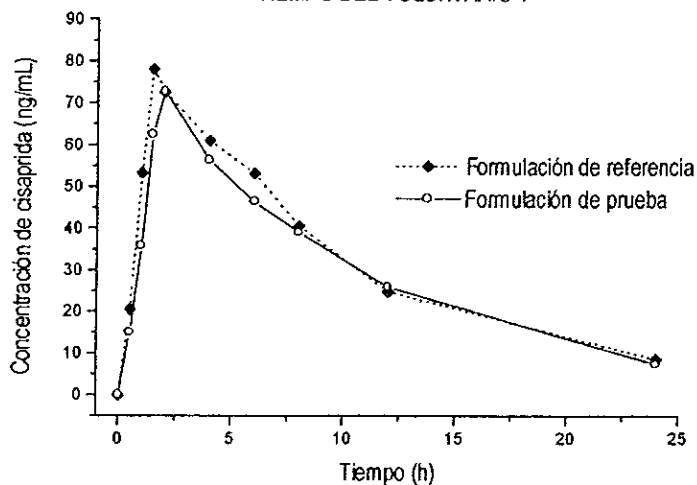
VOLUNTARIO 22		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	15.01	19.30
1.0	74.38	94.89
1.5	93.98	91.18
2.0	78.33	84.58
4.0	79.31	72.36
6.0	71.48	64.70
8.0	55.94	45.06
12.0	40.71	42.07
24.0	17.19	18.17
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

VOLUNTARIO 23		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	5.81	5.07
1.0	22.60	16.69
1.5	61.54	43.03
2.0	73.50	75.49
4.0	72.85	92.23
6.0	57.24	84.15
8.0	49.13	64.38
12.0	29.24	52.38
24.0	17.57	18.68
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

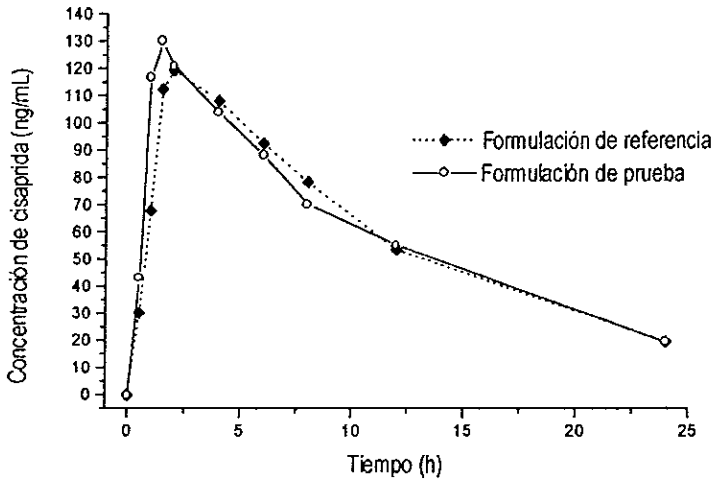
VOLUNTARIO 24		
TIEMPO (h)	MEDICAMENTO DE REFERENCIA CONC (ng/mL)	MEDICAMENTO DE PRUEBA CONC (ng/mL)
0.0	0.00	0.00
0.5	N.D.	N.D.
1.0	27.38	7.54
1.5	20.58	20.17
2.0	X	49.2
4.0	106.38	113.54
6.0	85.56	77.76
8.0	74.21	84.08
12.0	46.23	53.12
24.0	15.42	16.68
48.0	N.D.	N.D.
72.0	N.D.	N.D.

GRÁFICOS DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE CISAPRIDA VS TIEMPO PARA CADA VOLUNTARIO Y FORMULACIÓN

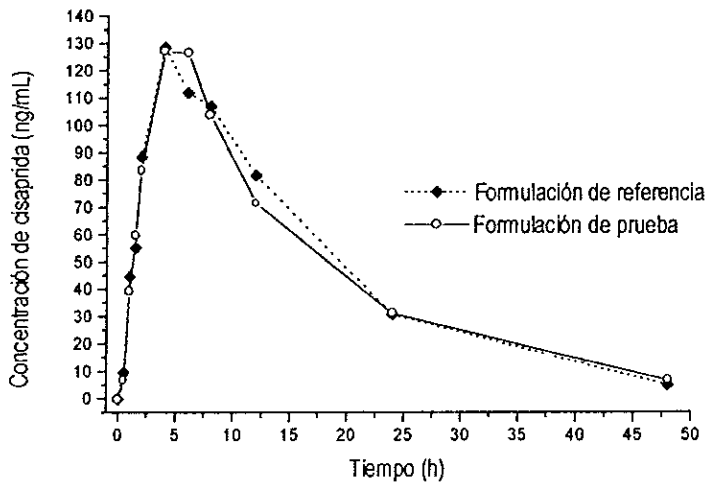
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS TIEMPO DEL VOLUNTARIO 1



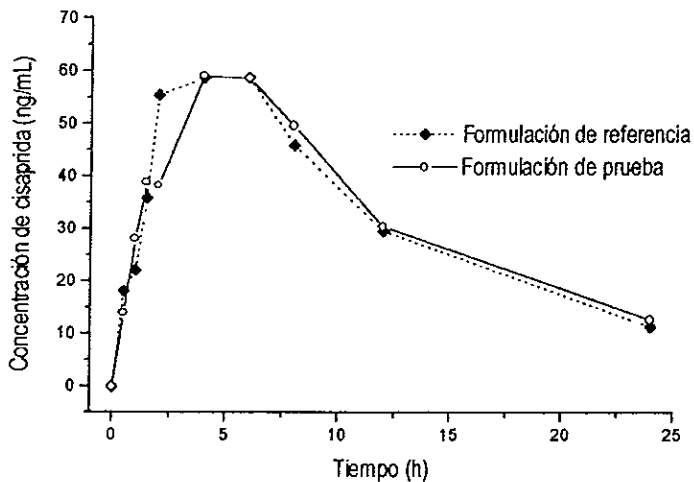
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 2



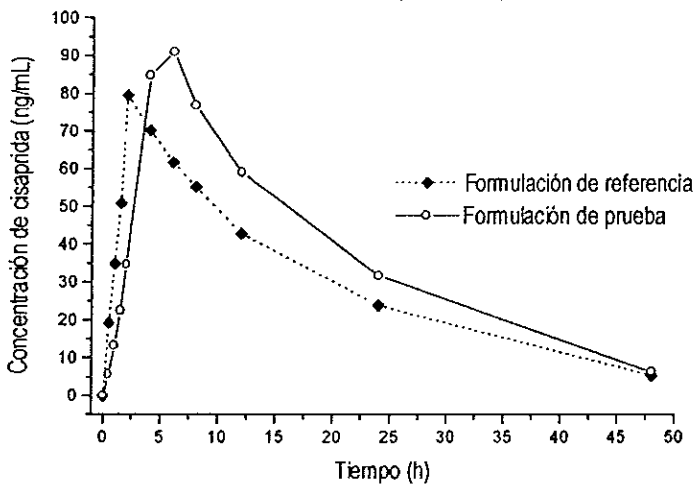
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 3



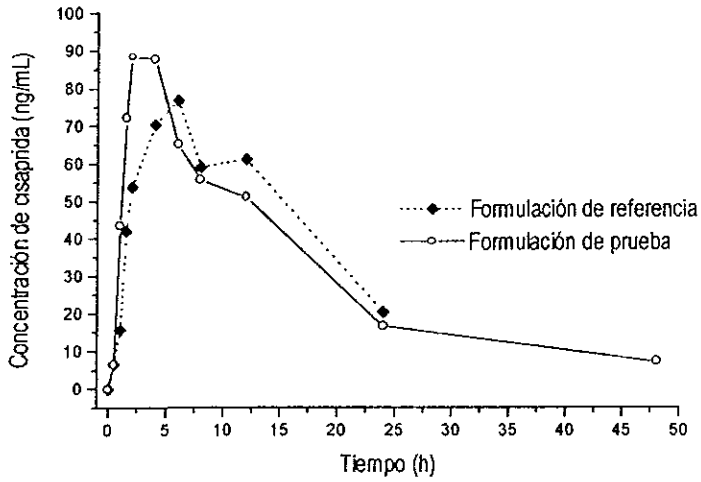
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 4



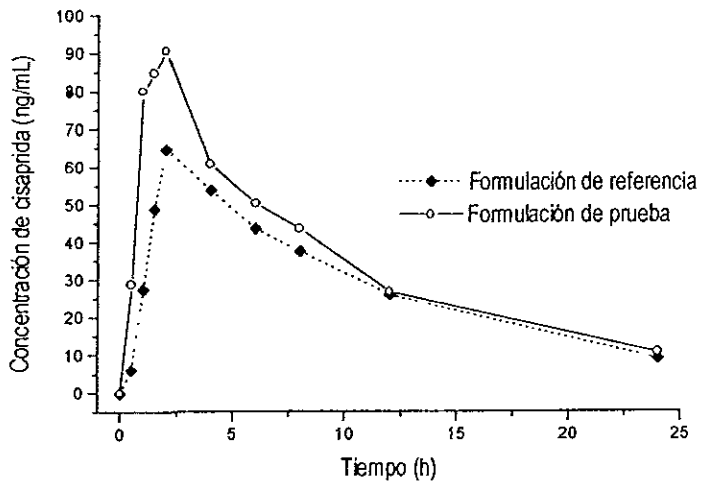
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 5



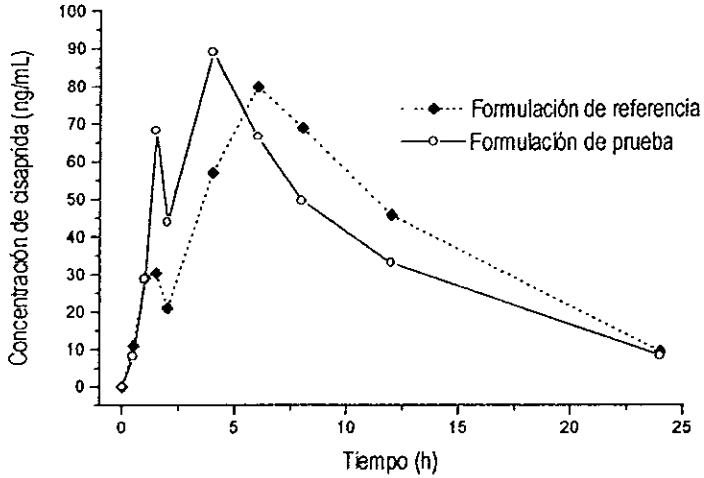
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 6



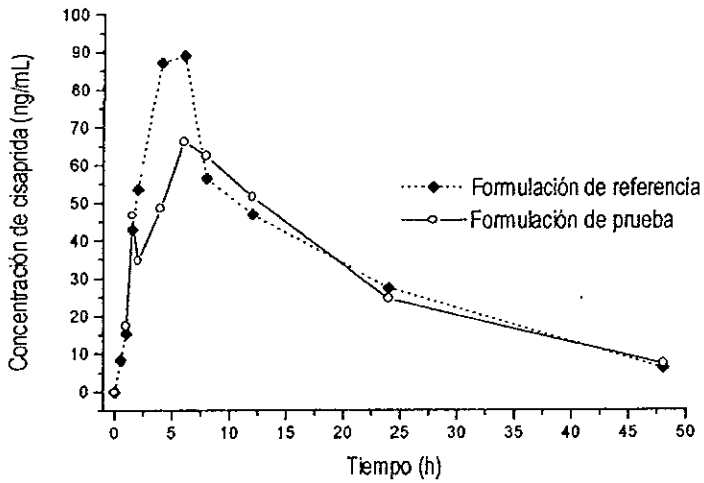
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 7



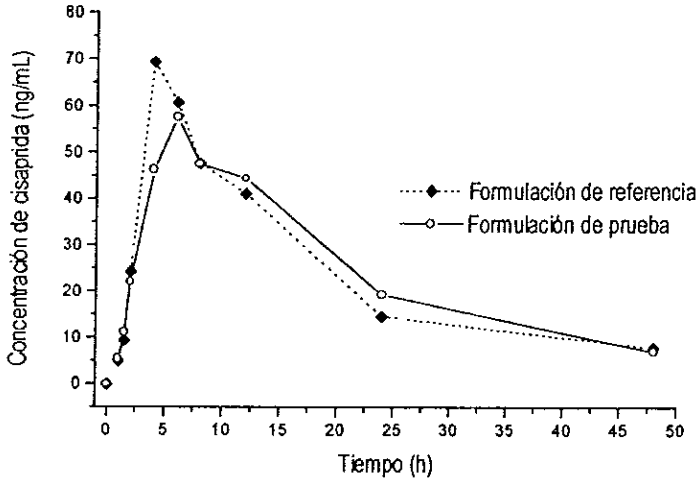
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 8



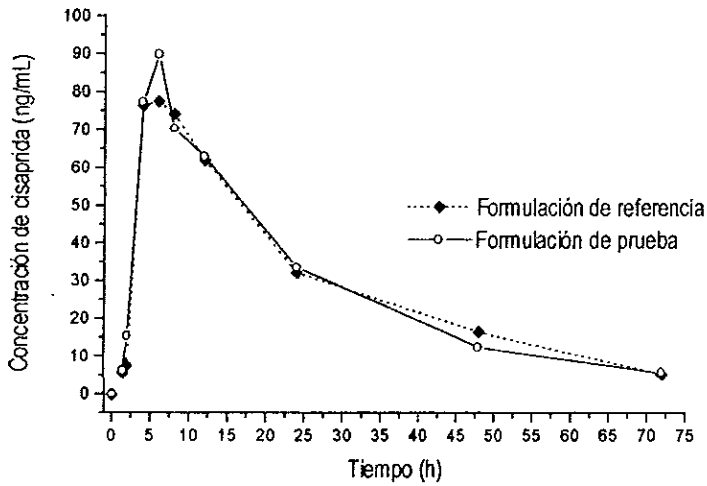
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 10



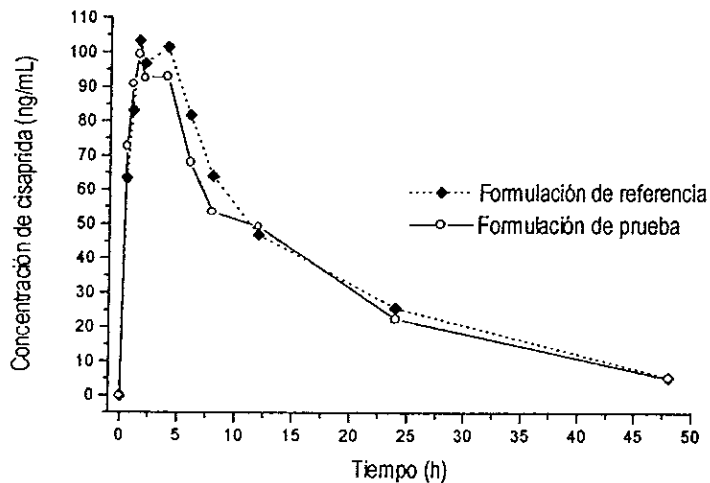
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 11



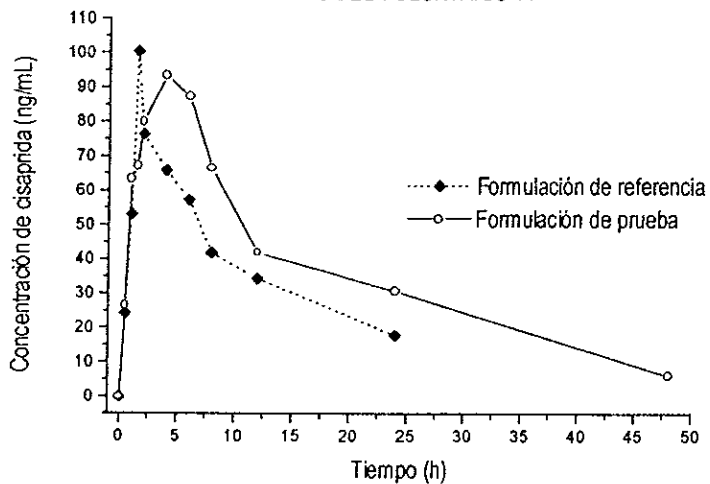
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 12



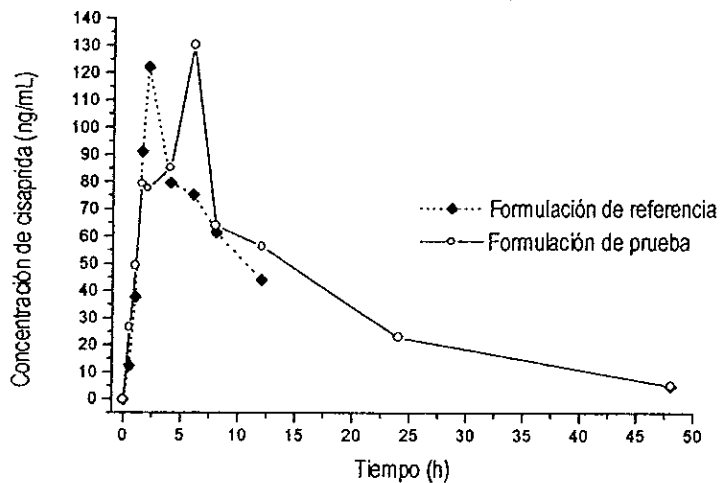
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 13



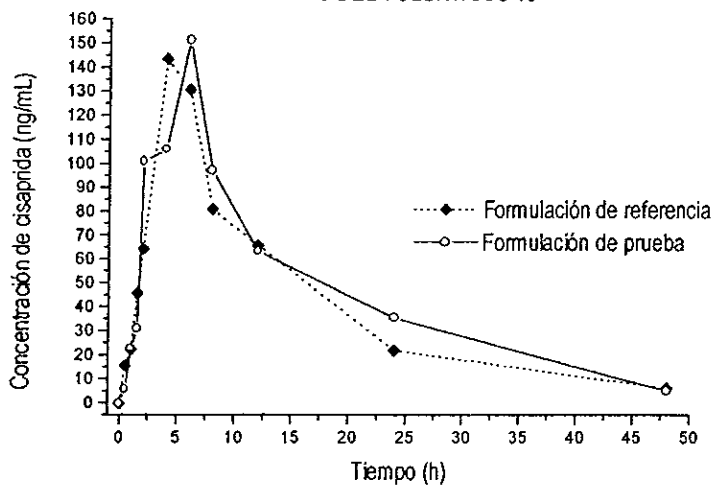
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 14



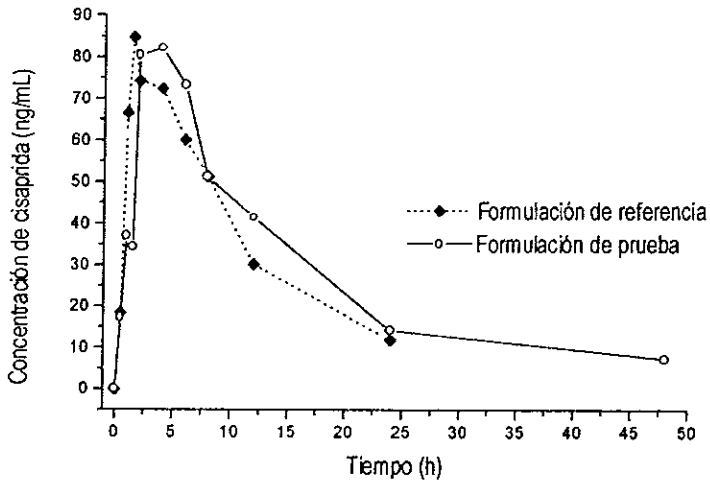
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 15



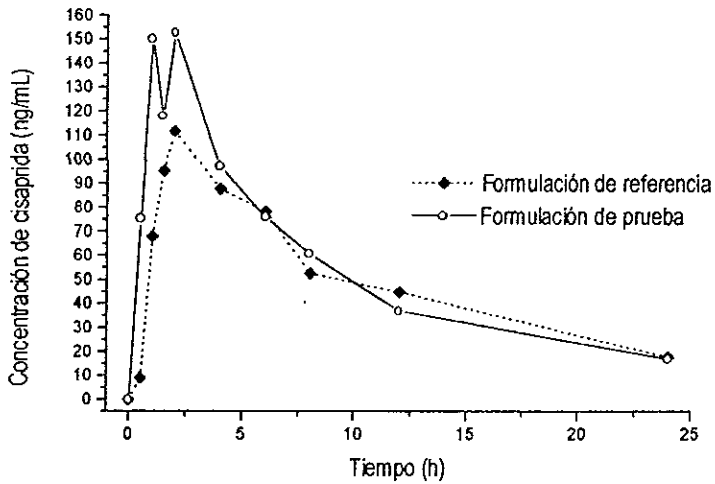
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 16



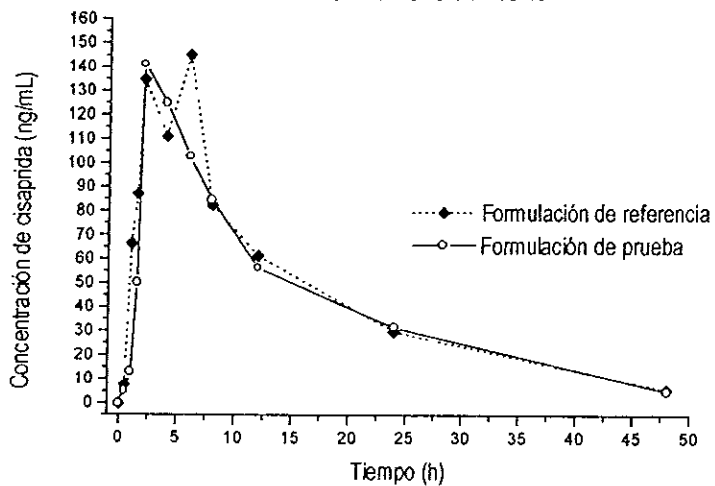
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 17



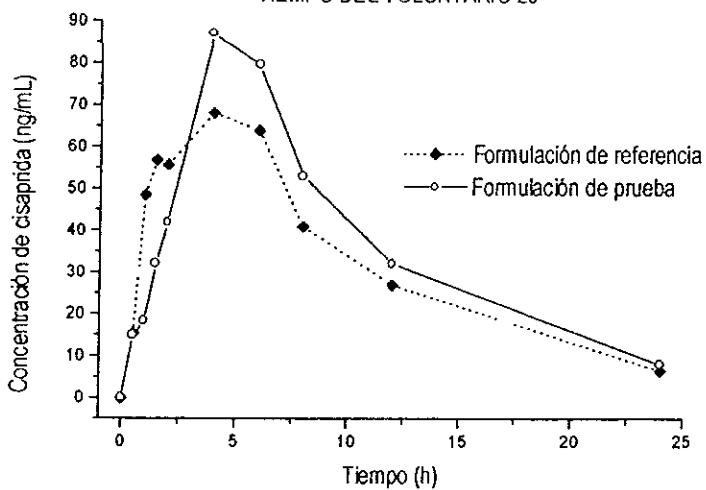
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 18



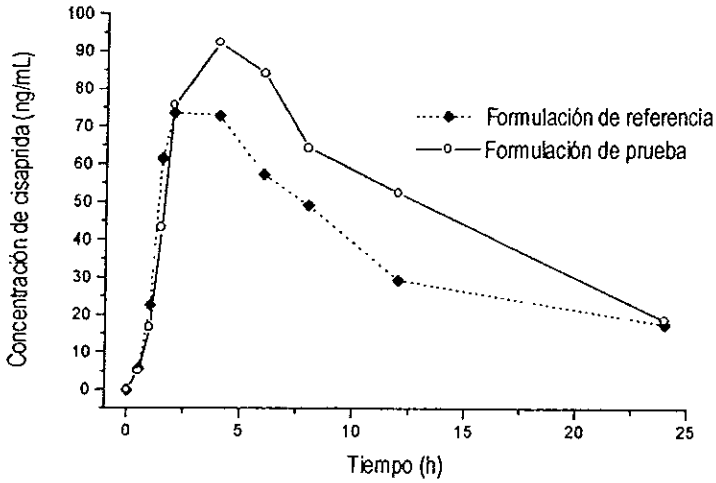
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 19



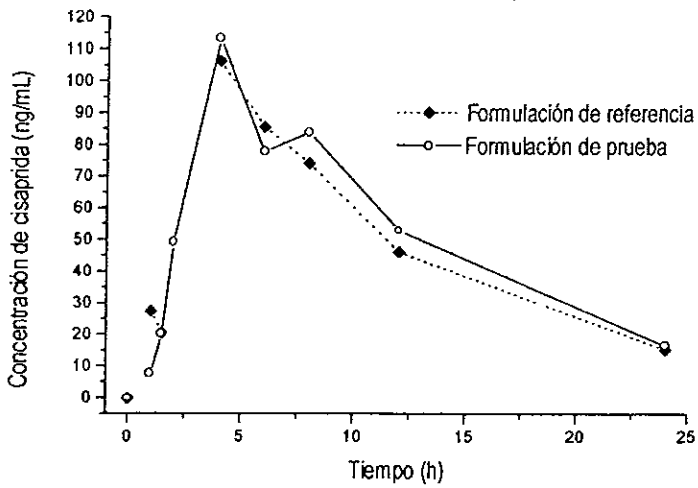
GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 20



GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 23



GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS
TIEMPO DEL VOLUNTARIO 24





8.2 APÉNDICE II

APÉNDICE II

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CISAPRIDA

PARA CADA VOLUNTARIO Y FORMULACIÓN

SEXO MASCULINO							
VOLUNTARIO	SECUENCIA	FORMULACIÓN	$ABC_{0 \rightarrow t}$	$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$C_{máx}$	$t_{máx}$	$t\%$
1	BA	A	768.47	857.50	78.13	1.5	7.05
		B	726.50	805.83	72.90	2	6.95
2	AB	A	1437.63	1666.77	119.33	2	8.07
		B	1451.35	1666.08	129.98	1.5	8.35
3	AB	A	2236.68	2303.05	128.64	4	9.16
		B	2192.46	2291.90	127.2	4	10.11
4	BA	A	783.28	908.53	58.72	4	7.71
		B	790.39	939.39	59.02	4	8.17
5	AB	A	1423.30	1517.73	79.61	2	12.05
		B	1771.38	1874.11	91.14	6	11.14
6	AB	A	1183.42	1498.07	76.66	6	10.67
		B	1437.95	1565.19	88.39	2	12.30
7	BA	A	691.92	794.53	64.76	2	7.83
		B	841.69	963.94	90.83	2	7.93
8	AB	A	963.85	1054.52	79.81	6	6.68
		B	881.43	953.28	88.92	4	5.96
10	AB	A	1566.40	1679.18	89.16	6	12.53
		B	1438.43	1573.06	66.43	6	12.82
11	BA	A	1127.59	1290.05	69.34	4	14.27
		B	1173.96	1311.97	57.45	6	13.76
12	BA	A	1819.20	2260.05	77.58	6	18.49
		B	1830.74	2115.87	90.05	6	15.78

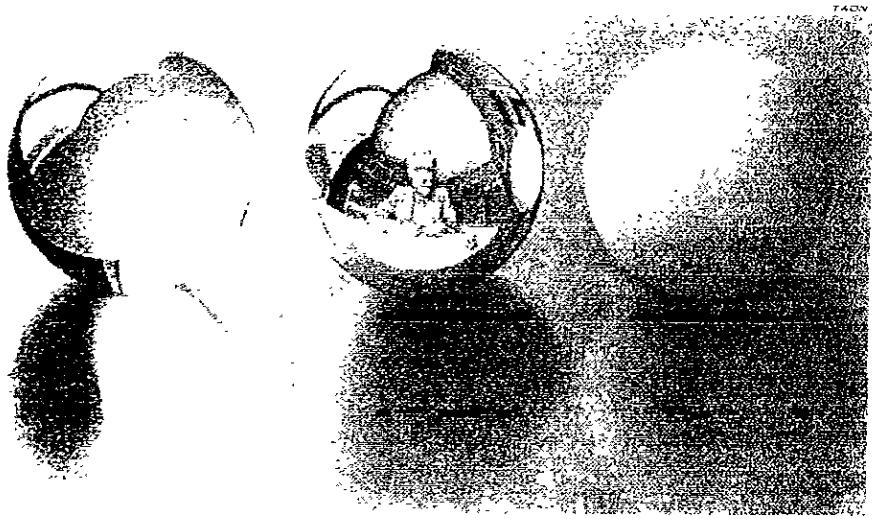
A : Formulación de Referencia

B : Formulación de Prueba

SEXO FEMENINO							
VOLUNTARIO	SECUENCIA	FORMULACIÓN	$ABC_{0 \rightarrow t}$	$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$C_{máx}$	$t_{máx}$	$t^{\%}$
13	AB	A	1706.34	1792.90	103.36	1.5	10.93
		B	1590.44	1672.52	99.32	1.5	10.98
14	AB	A	939.30	1221.50	100.51	1.5	10.92
		B	1700.38	1802.70	93.39	4	11.55
15	BA	A	1688.50	1768.21	122.10	2	11.01
		B	1719.29	1790.54	129.93	6	9.78
16	AB	A	1912.30	2008.16	143.44	4	10.67
		B	2167.63	2236.96	151.57	6	9.57
17	BA	A	909.70	1040.53	84.80	1.5	7.61
		B	1283.88	1415.85	82.19	4	12.46
18	AB	A	1185.12	1415.74	111.97	2	8.87
		B	1290.92	1489.65	152.70	2	8.09
19	BA	A	2105.93	2190.21	145.15	6	10.00
		B	2009.44	2084.09	141.14	2	9.82
20	BA	A	772.95	827.94	68.15	4	5.79
		B	884.11	949.90	87.16	4	5.68
21	AB	A	827.35	993.52	61.90	4	8.73
		B	802.73	946.13	72.93	4	8.06
22	BA	A	1087.82	1319.74	93.98	1.5	9.35
		B	1063.29	1321.42	94.89	1	9.85
23	AB	A	883.76	1136.01	73.50	2	9.95
		B	1203.78	1436.28	92.23	4	8.63
24	BA	A	1146.87	1306.37	106.38	4	7.17
		B	1237.12	1416.02	113.54	4	7.43

A : Formulación de Referencia

B : Formulación de Prueba



8.3 APÉNDICE III

APÉNDICE III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS EMPLEANDO EL
PROGRAMA COMPUTACIONAL BIOPAK®
BIOPAK ANOVA

Dependent variable: ABCo-t

Total Observations: 46 Observations Used: 46
Model Sum of Squares: 8748374.2126370 df 24
Error Sum of Squares: 459912.8075614 df 21
Mean Square Error: 21900.6098839

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	82258.9874515	1	3.7560	0.0662
Sujeto(Secuencia)	8535415.3299031	21	18.5588	0.0001
Periodo	17186.3030348	1	0.7847	0.3857
Formula	113513.5922476	1	5.1831	0.0334

Weighted Squares of Means (Type 3)

	SS	df	F	Prob
Secuencia	82258.9874515	1	3.7560	0.0662
Sujeto(Secuencia)	8535415.3299031	21	18.5588	0.0001
Periodo	13531.2667557	1	0.6178	0.4406
Formula	113513.5922476	1	5.1831	0.0334

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast	SS	df	F	Prob
A vs B	113513.5922476	1	5.1831	0.0334
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test	SS	df	F	Prob
Secuencia	82258.9874515	1	0.2024	0.6574
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	1270.75	30.887
B	1370.19	30.887

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 1270.746951, s.e. 30.886953

Test : B Least squares mean 1370.192623, s.e. 30.886953

Difference = 99.4457, s.e.d. 43.6807, df 21
 Ratio = 107.8258

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (103.2768 , 112.3748)	(89.2211 , 110.7789)
C.L. 90%	= (101.9095 , 113.7420)	(87.6258 , 112.3742)
C.L. 95%	= (100.6756 , 114.9760)	(86.2593 , 113.7407)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0010 Max=0.0010 Total=0.0010

A.H. p-value = 0.0010
 Power = 0.9994

Dependent variable: Log ABC0-t

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares: 5.0895909 df 24
 Error Sum of Squares: 0.2958968 df 21
 Mean Square Error: 0.0140903

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0188120	1	1.3351	0.2609
Sujeto(Secuencia)	4.9831902	21	16.8410	0.0001
Periodo	0.0078309	1	0.5558	0.4642
Formula	0.0797578	1	5.6605	0.0269

Weighted Squares of Means (Type 3)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0188120	1	1.3351	0.2609
Sujeto(Secuencia)	4.9831902	21	16.8410	0.0001
Periodo	0.0057958	1	0.4113	0.5282
Formula	0.0797578	1	5.6605	0.0269

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast
 A vs B 0.0797578 1 5.6605 0.0269
 Contrast: 1 -1

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test
 Secuencia 0.0188120 1 0.0793 0.7810
 Using Sujeto(Secuencia) as error term

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	7.08557	0.0247746
B	7.16893	0.0247746

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = LOGE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 7.085573, s.e. 0.024775

Test : B Least squares mean 7.168931, s.e. 0.024775

Difference = 0.0834, s.e.d. 0.0350, df 21
 Ratio = 108.6931

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (103.7684 , 113.8515)	(87.9856 , 112.0144)
C.L. 90%	= (102.3323 , 115.4493)	(86.1492 , 113.8508)
C.L. 95%	= (101.0533 , 116.9105)	(84.5523 , 115.4477)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0051 Max=0.0051 Total=0.0051

A.H. p-value = 0.0051
 Power = 0.9998

Dependent variable: ABC0-inf

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	8819977.8906199	df	24
Error Sum of Squares:	373091.6461996	df	21
Mean Square Error:	17766.2688666		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	1908.4580969	1	0.1074	0.7463
Sujeto(Secuencia)	8746593.1733103	21	23.4436	0.0001
Periodo	2743.6234393	1	0.1544	0.6983
Formula	68732.6357734	1	3.8687	0.0625

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	1908.4580969	1	0.1074	0.7463
Sujeto(Secuencia)	8746593.1733103	21	23.4436	0.0001
Periodo	1675.3812272	1	0.0943	0.7618
Formula	68732.6357734	1	3.8687	0.0625

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	68732.6357734	1	3.8687	0.0625
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	1908.4580969	1	0.0046	0.9467
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	1428.84	27.8192
B	1506.22	27.8192

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 1428.838891, s.e. 27.819228

Test : B Least squares mean 1506.221516, s.e. 27.819228

Difference = 77.3826, s.e.d. 39.3423, df 21
 Ratio = 105.4158

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (101.7719 , 109.0596)	(92.2183 , 107.7817)
C.L. 90%	= (100.6767 , 110.1548)	(90.9406 , 109.0594)
C.L. 95%	= (99.6883 , 111.1433)	(89.8461 , 110.1539)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0000 Max=0.0000 Total=0.0000

A.H. p-value = 0.0000
 Power = 1.0000

Dependent variable: Log ABC0-inf

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	4.3574591	df	24
Error Sum of Squares:	0.1885118	df	21
Mean Square Error:	0.0089768		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0003846	1	0.0428	0.8380
Sujeto(Secuencia)	4.3161946	21	22.8962	0.0001
Periodo	0.0007904	1	0.0880	0.7696
Formula	0.0400895	1	4.4659	0.0467

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	0.0003846	1	0.0428	0.8380
Sujeto(Secuencia)	4.3161946	21	22.8962	0.0001
Periodo	0.0003756	1	0.0418	0.8399
Formula	0.0400895	1	4.4659	0.0467

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	0.0400895	1	4.4659	0.0467
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	0.0003846	1	0.0019	0.9659
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	7.21331	0.0197745
B	7.2724	0.0197745

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = LOGE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 7.213305, s.e. 0.019775

Test : B Least squares mean 7.272404, s.e. 0.019775

Difference = 0.0591, s.e.d. 0.0280, df 21
 Ratio = 106.0880

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (102.2336 , 110.0877)	(91.3323 , 108.6677)
C.L. 90%	= (101.1026 , 111.3192)	(89.9128 , 110.0872)
C.L. 95%	= (100.0928 , 112.4423)	(88.6821 , 111.3179)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0001 Max=0.0001 Total=0.0001

A.H. p-value = 0.0001
 Power = 1.0000

Dependent variable: Cmax

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares: 29989.2323430 df 24
 Error Sum of Squares: 1884.7353788 df 21
 Mean Square Error: 89.7493038

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	15.5765566	1	0.1736	0.6812
Sujeto(Secuencia)	29487.6700652	21	15.6455	0.0001
Periodo	99.6956174	1	1.1108	0.3039
Formula	386.2901038	1	4.3041	0.0505

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia 15.5765566 1 0.1736 0.6812

APÉNDICE III

Sujeto(Secuencia)	29487.6700652	21	15.6455	0.0001
Periodo	83.1888864	1	0.9269	0.3466
Formula	386.2901038	1	4.3041	0.0505

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast A vs B	386.2901038	1	4.3041	0.0505
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test Secuencia	15.5765566	1	0.0111	0.9171
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	92.996	1.97725
B	98.7972	1.97725

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 92.996023, s.e. 1.977254

Test : B Least squares mean 98.797235, s.e. 1.977254

Difference = 5.8012, s.e.d. 2.7963, df 21
 Ratio = 106.2381

	Classical	Westlake
C.L. 80%	(102.2589 , 110.2173)	(91.1784 , 108.8216)
C.L. 90%	(101.0629 , 111.4134)	(89.7830 , 110.2170)
C.L. 95%	(99.9835 , 112.4927)	(88.5877 , 111.4123)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0001 Max=0.0001 Total=0.0001

A.H. p-value = 0.0001
 Power = 0.9999

Dependent variable: Log Cmax

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	3.0808930	df	24
Error Sum of Squares:	0.2411120	df	21
Mean Square Error:	0.0114815		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0013123	1	0.1143	0.7387
Sujeto(Secuencia)	3.0332586	21	12.5803	0.0001
Periodo	0.0072017	1	0.6272	0.4372
Formula	0.0391204	1	3.4072	0.0791

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	0.0013123	1	0.1143	0.7387
Sujeto(Secuencia)	3.0332586	21	12.5803	0.0001
Periodo	0.0058038	1	0.5055	0.4849
Formula	0.0391204	1	3.4072	0.0791

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	0.0391204	1	3.4072	0.0791
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	0.0013123	1	0.0091	0.9250
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	4.49758	0.0223639
B	4.55596	0.0223639

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = LOGE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 4.497583, s.e. 0.022364

Test : B Least squares mean 4.555963, s.e. 0.022364

Difference = 0.0584, s.e.d. 0.0316, df 21
 Ratio = 106.0118

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (101.6662 , 110.5430)	(91.0678 , 108.9322)
C.L. 90%	= (100.3953 , 111.9425)	(89.4574 , 110.5426)
C.L. 95%	= (99.2619 , 113.2206)	(88.0588 , 111.9412)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0004 Max=0.0004 Total=0.0004

A.H. p-value = 0.0004
 Power = 1.0000

Dependent variable: Tmax

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	88.6813653	df	24
Error Sum of Squares:	42.9327652	df	21
Mean Square Error:	2.0444174		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	1.5336380	1	0.7502	0.3962
Sujeto(Secuencia)	83.4554924	21	1.9439	0.0679
Periodo	1.9619565	1	0.9597	0.3384
Formula	1.7302783	1	0.8463	0.3680

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	1.5336380	1	0.7502	0.3962
Sujeto(Secuencia)	83.4554924	21	1.9439	0.0679
Periodo	2.1215827	1	1.0377	0.3199
Formula	1.7302783	1	0.8463	0.3680

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	1.7302783	1	0.8463	0.3680
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	1.5336380	1	0.3859	0.5411
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	3.35227	0.298423
B	3.74053	0.298423

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 3.352273, s.e. 0.298423

Test : B Least squares mean 3.740530, s.e. 0.298423

Difference = 0.3883, s.e.d. 0.4220, df 21
 Ratio = 111.5819

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (94.9213 , 128.2425)	(77.3021 , 122.6979)
C.L. 90%	= (89.9137 , 133.2502)	(71.5834 , 128.4166)
C.L. 95%	= (85.3944 , 137.7695)	(66.6309 , 133.3691)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0102 Prob(> 120%)=0.2555 Max=0.2555 Total=0.2657

A.H. p-value = 0.2453
 Power = 0.3148

Dependent variable: Log Tmax

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares: 9.2382298 df 24
 Error Sum of Squares: 3.6777169 df 21
 Mean Square Error: 0.1751294

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0871605	1	0.4977	0.4883
Sujeto(Secuencia)	8.8010708	21	2.3931	0.0258
Periodo	0.1816141	1	1.0370	0.3201
Formula	0.1683843	1	0.9615	0.3380

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia 0.0871605 1 0.4977 0.4883

Sujeto (Secuencia)	8.8010708	21	2.3931	0.0258
Periodo	0.1967812	1	1.1236	0.3012
Formula	0.1683843	1	0.9615	0.3380

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	0.1683843	1	0.9615	0.3380
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	0.0871605	1	0.2080	0.6530
Using Sujeto (Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	1.07565	0.0873427
B	1.19677	0.0873427

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = LOGE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 1.075653, s.e. 0.087343

Test : B Least squares mean 1.196773, s.e. 0.087343

Difference = 0.1211, s.e.d. 0.1235, df 21
 Ratio = 112.8759

		Classical	Westlake
C.L. 80%	= (95.8538 , 132.9209)	(74.4051 , 125.5949)
C.L. 90%	= (91.2581 , 139.6148)	(67.0626 , 132.9374)
C.L. 95%	= (87.3001 , 145.9447)	(60.3873 , 139.6127)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0055 Prob(> 120%)=0.3127 Max=0.3127 Total=0.3182

A.H. p-value = 0.3072
 Power = 0.3940

Dependent variable: t $\frac{1}{2}$

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	293.3171130	df	24
Error Sum of Squares:	20.6643313	df	21
Mean Square Error:	0.9840158		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.1504425	1	0.1529	0.6997
Sujeto(Secuencia)	292.4919232	21	14.1544	0.0001
Periodo	0.6744359	1	0.6854	0.4170
Formula	0.0003114	1	0.0003	0.9860

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	0.1504425	1	0.1529	0.6997
Sujeto(Secuencia)	292.4919232	21	14.1544	0.0001
Periodo	0.6719026	1	0.6828	0.4179
Formula	0.0003114	1	0.0003	0.9860

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	0.0003114	1	0.0003	0.9860
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	0.1504425	1	0.0108	0.9182
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	9.79845	0.207037
B	9.79324	0.207037

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 9.798445, s.e. 0.207037

Test : B Least squares mean 9.793237, s.e. 0.207037

Difference = -0.0052, s.e.d. 0.2928, df 21
 Ratio = 99.9468

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (95.9924 , 103.9013)	(96.0455 , 103.9545)
C.L. 90%	= (94.8038 , 105.0899)	(94.8574 , 105.1426)
C.L. 95%	= (93.7311 , 106.1626)	(93.7849 , 106.2151)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0000 Max=0.0000 Total=0.0000

A.H. p-value = 0.0000
 Power = 0.9999

Dependent variable: Log t $\frac{1}{2}$

Total Observations: 46 Observations Used: 46

Model Sum of Squares:	2.8425373	df	24
Error Sum of Squares:	0.1890956	df	21
Mean Square Error:	0.0090046		

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
Secuencia	0.0007435	1	0.0826	0.7767
Sujeto(Secuencia)	2.8346847	21	14.9908	0.0001
Periodo	0.0070521	1	0.7832	0.3862
Formula	0.0000570	1	0.0063	0.9373

Weighted Squares of Means (Type 3)

Secuencia	0.0007435	1	0.0826	0.7767
Sujeto(Secuencia)	2.8346847	21	14.9908	0.0001
Periodo	0.0070939	1	0.7878	0.3848
Formula	0.0000570	1	0.0063	0.9373

Contrasts

Sequential Sum of Squares (Type 1) Contrast				
A vs B	0.0000570	1	0.0063	0.9373
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Sequential Sum of Squares (Type 1) Test				
Secuencia	0.0007435	1	0.0055	0.9415
Using Sujeto(Secuencia) as error term				

Least Squares Means

Formula	Value	Std. Error
A	2.24782	0.0198051
B	2.25005	0.0198051

Bioavailability Statistics

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.200
 Transformation = LOGE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: Formula

Formulation reference: A

Reference : Least squares mean 2.247820, s.e. 0.019805

Test : B Least squares mean 2.250049, s.e. 0.019805

Difference = 0.0022, s.e.d. 0.0280, df 21
 Ratio = 100.2232

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (96.5763 , 104.0078)	(96.2761 , 103.7239)
C.L. 90%	= (95.5063 , 105.1730)	(95.1516 , 104.8484)
C.L. 95%	= (94.5509 , 106.2358)	(94.1320 , 105.8680)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0000 Prob(> 120%)=0.0000 Max=0.0000 Total=0.0000

A.H. p-value = 0.0000
 Power = 1.0000



8.4 APÉNDICE IV

APÉNDICE IV

ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CISAPRIDA
ENTRE HOMBRES Y MUJERES EMPLEANDO EL PROGRAMA ESTADÍSTICO SigmaStat®

Comparación del Parámetro ABC_{0-t}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.0662)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.6718)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	1272.9	481.6	145.2
FEMENINO	12	0	1263.8	463.5	133.8

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0477

The power of the performed test (0.0477) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variance	DF	SS	MS	F	P
Between Treatments	1	470.8	470.8	0.00211	0.9638
Residual	21	4682881.5	222994.4		
Total	22	4683352.3			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.964).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.0662)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.6718)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	1272.9	481.6	145.2
FEMENINO	12	0	1263.8	463.5	133.8

Difference 9.06

t = 0.0459 with 21.0 degrees of freedom (P = 0.9638)

95 percent confidence interval for difference of means: -400.9 to 419.0

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling

variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.9638).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0500

The power of the performed test (0.0500) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Comparación del Parámetro ABC_{0-∞}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.6752)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3248)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	1439.1	523.9	158.0
FEMENINO	12	0	1418.4	428.4	123.7

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0477

The power of the performed test (0.0477) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variance	DF	SS	MS	F	P
Between Treatments	1	2456.0	2456.0	0.0108	0.9181
Residual	21	4763733.8	226844.5		
Total	22	4766189.8			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.918).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.6752)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3248)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	1439.1	523.9	158.0
FEMENINO	12	0	1418.4	428.4	123.7

Difference 20.7

t = 0.104 with 21.0 degrees of freedom (P = 0.9181)

95 percent confidence interval for difference of means: -392.8 to 434.1

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling

variability. There is not a statistically significant difference between the input groups ($P = 0.9181$).

Power of performed test with $\alpha = 0.0500$: 0.0500

The power of the performed test (0.0500) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Comparación del Parámetro C_{max}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed ($P = 0.1738$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.4247$)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	83.8	21.6	6.51
FEMENINO	12	0	101.3	27.0	7.80

Power of performed test with $\alpha = 0.0500$: 0.2466

The power of the performed test (0.2466) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variance	DF	SS	MS	F	P
Between Treatments	1	1752.7	1752.7	2.9	0.1032
Residual	21	12683.4	604.0		
Total	22	14436.0			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.103$).

t-test

Normality Test: Passed ($P = 0.1738$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.4247$)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	83.8	21.6	6.51
FEMENINO	12	0	101.3	27.0	7.80

Difference -17.5

t = -1.70 with 21.0 degrees of freedom ($P = 0.1032$)

95 percent confidence interval for difference of means: -38.8 to 3.86

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups ($P = 0.1032$).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.2466

The power of the performed test (0.2466) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Comparación del Parámetro t_{max}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.0878)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.2508)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	3.95	1.85	0.558
FEMENINO	12	0	2.83	1.50	0.432

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.2107

The power of the performed test (0.2107) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variance	DF	SS	MS	F	P
Between Treatments	1	7.21	7.21	2.57	0.1237
Residual	21	58.89	2.80		
Total	22	66.11			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.124).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.0878)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.2508)

Group	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MASCULINO	11	0	3.95	1.85	0.558
FEMENINO	12	0	2.83	1.50	0.432

Difference 1.12

t = 1.60 with 21.0 degrees of freedom (P = 0.1237)

95 percent confidence interval for difference of means: -0.333 to 2.57

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.1237).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.2107

The power of the performed test (0.2107) is below the desired power of 0.8000. You should interpret the negative findings cautiously.

Comparación del Parámetro t^4

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.2993)

Equal Variance Test: Failed (P = 0.0405)

Group	N	Missing	Median	25%	75%
MASCULINO	11	0	9.16	7.74	12.4
FEMENINO	12	0	9.65	8.17	10.8

H = 0.160 with 1 degrees of freedom (P = 0.6890)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.689).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.2993)

Equal Variance Test: Failed (P = 0.0405)

The execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing	Median	25%	75%
MASCULINO	11	0	9.16	7.74	12.4
FEMENINO	12	0	9.65	8.17	10.8

T = 136.5 n(small) = 11 n(big) = 12 (P = 0.7119)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.712).