

70

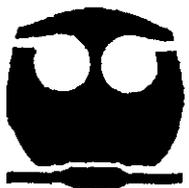


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE KETOROLACO EN POBLACIÓN MEXICANA

TÉSIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
OLIVIA CRISTINA LEÓN CARDOSO



MÉXICO D.F.

2001



EXAMENES DE TÍTULO FINAL
FACULTAD DE QUÍMICA

297953



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 DRA. HELGI HELEN JUNG COOK
VOCAL M. en F. SOFÍA MARGARITA RODRÍGUEZ
ALVARADO
SECRETARIO M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES
1er. SUPLENTE M. en F. JOSÉ MANUEL MORALES HERNÁNDEZ
2do.
SUPLENTE M. en F. LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE FARMACOCINÉTICA
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:



M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES

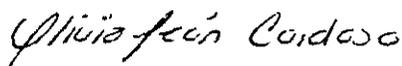
SUPERVISOR TÉCNICO:

Q.F.B. JORGE ABRAHAM AYALA BAUTISTA



SUSTENTANTE:

OLIVIA CRISTINA LEÓN CARDOSO



Quiero agradecer a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo permitiendo que hoy concluya una de mis tantas metas.

A mis padres que nunca me han dejado sola, que son la fuente de mi esfuerzo, gracias por todo lo que soy, gracias por ser mis papás.

A Luis, Liz y Abraham por sus enseñanzas, confianza y sobre todo por brindarme su amistad.

A mi hermano Guillermo, a su esposa Ana Lilia, a mis sobrinas Katya y Karla, por su amor y compartir mis locuras.

A mi Ita, a Oscar y a Javier por su cariño y alentarme continuamente.

A Nayeli, Eduardo, Victor y Alberto que siempre me han ofrecido su amistad y comprensión, especialmente a Alejandro por estar conmigo en este momento.

Y por ultimo a los profesores de la Facultad de Química por su tiempo y dedicación.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la biodisponibilidad de una formulación oral de Ketorolaco en población mexicana, evaluándose además el efecto del género y las diferencias que pudiera haber con los datos reportados para otras poblaciones.

La población en estudio estuvo conformada por 24 individuos mexicanos, 12 hombres y 12 mujeres, distribuidos de acuerdo a un diseño paralelo, a los cuales se les administró una dosis única de 10 mg de Ketorolaco. Las muestras sanguíneas fueron recolectadas al tiempo 0 y a las 0.167, 0.333, 0.667, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de su administración.

Para cuantificar Ketorolaco en plasma, se optimizó y validó un método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, determinándose linealidad, precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad y estabilidad en un intervalo de concentraciones de 5-1500 ng/mL.

Los parámetros farmacocinéticos promedio de ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$, C_{max} , t_{max} y $t_{1/2}$ obtenidos fueron: 5343.00 ± 1523.19 ng*h/mL, 5525.72 ± 1662.53 ng*h/mL, 16228.07 ± 343.98 ng/mL, 0.51 ± 0.21 h, 4.54 ± 0.85 h respectivamente.

Se aplicó un análisis estadístico para evaluar la influencia del género en la farmacocinética del Ketorolaco, sin encontrarse diferencias significativas entre hombres y mujeres.

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	11
2. GENERALIDADES.....	14
2.1. PERSPECTIVA GENERAL DE LOS ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD ...	14
2.2. ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD EN MÉXICO.....	17
2.2.1. Criterios y requisitos	17
2.3. MONOGRAFÍA DEL KETOROLACO	21
2.3.1. Propiedades químicas.....	21
2.3.1.1. Nombre químico del Ketorolaco	21
2.3.1.2. Nombre químico del Ketorolaco trometamina	22
2.3.1.3. Fórmula condensada.....	22
2.3.1.4. Fórmula desarrollada	22
2.3.1.5. Peso molecular.....	22
2.3.2. Propiedades fisicoquímicas.....	22
2.3.2.1. Descripción	22
2.3.2.2. Solubilidad.....	22
2.3.2.3. pKa	22
2.3.2.4. Punto de fusión.....	23
2.3.2.5. Espectro de absorción en ultravioleta.....	23
2.3.3. Propiedades farmacológicas	23
2.3.3.1. Antecedentes históricos	23
2.3.3.2. Mecanismo de acción.	24
2.3.3.3. Usos Terapéuticos.....	27
2.3.3.4. Dosis utilizadas	27
2.3.3.5. Efectos Adversos	28
2.3.3.6. Interacciones y Contraindicaciones	29
2.3.3.7. Toxicidad	30
2.3.4. Presentaciones Comerciales.....	30
2.3.5. Farmacocinética.....	31
2.3.5.1. Vías de administración.....	31
2.3.5.2. Absorción	31

INDICE

2.3.5.3. Distribución	32
2.3.5.4. Metabolismo	32
2.3.5.5. Eliminación	32
2.3.5.6. Biodisponibilidad	33
2.4. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN FLUIDOS BIOLÓGICOS.....	33
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	37
3.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN PARA CUANTIFICAR KETOROLACO TROMETAMINA EN PLASMA	37
3.1.1. Material y equipo	37
3.1.2. Reactivos.....	38
3.1.2.1. Sustancias de Referencia.....	38
3.1.3. Preparación de soluciones para la fase móvil.....	39
3.1.4. Preparación de soluciones de referencia	39
3.1.5. Preparación de la curva patrón.....	40
3.1.6. Optimización de la fase móvil	41
3.1.7. Optimización del método de extracción.....	42
3.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA	42
3.2.1. Validación del sistema	43
3.2.2. Validación del método	43
3.2.2.1. Linealidad del método	44
3.2.2.2. Precisión.....	44
3.2.2.3. Exactitud.....	45
3.2.2.4. Límite de cuantificación.....	45
3.2.2.5. Límite de detección.....	45
3.2.2.6. Selectividad	45
3.2.2.7. Recobro o recuperación absoluta.....	46
3.2.2.8. Estabilidad.....	46
3.3. PROTOCOLO CLÍNICO	47

3.3.1. Diseño del estudio	48
3.3.2. Voluntarios	48
3.3.3. Procedimiento.....	50
3.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS.....	50
3.4.1. Puntos control de calidad	51
3.4.2. Cuantificación de las muestras plasmáticas	51
3.4.3. Análisis farmacocinético.....	53
3.4.4. Análisis estadístico	53
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	56
4.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CLAR PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA.....	56
4.2. VALIDACIÓN DEL SISTEMA	59
4.2.1. Linealidad y precisión del sistema.....	59
4.3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA.....	61
4.3.1. Linealidad del método.....	61
4.3.2. Precisión y exactitud del método	62
4.3.2.1. Repetibilidad.....	62
4.3.2.2. Reproducibilidad	63
4.3.3. Límite de cuantificación	64
4.3.4. Límite de detección.....	65
4.3.5. Recobro o recuperación absoluta	65
4.3.6. Estabilidad.....	66
4.3.7. Selectividad.....	70
4.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS DE VOLUNTARIOS	71
4.5. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	74
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	77
4.6.1. Influencia del género en la biodisponibilidad de Ketorolaco	77
4.6.2. Comparación de parámetros farmacocinéticos obtenidos en población mexicana con otras poblaciones.....	82

INDICE

5. CONCLUSIONES	84
6. BIBLIOGRAFÍA	86
7. APÉNDICE I	89
8. APÉNDICE II	114
9. APÉNDICE III	116
10. APÉNDICE IV	118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Presentaciones de Ketorolaco disponibles en México	31
Tabla 2 Preparación de la curva patrón de Ketorolaco	41
Tabla 3 Diseño estadístico de los voluntarios para el estudio de Biodisponibilidad	48
Tabla 4 Condiciones cromatográficas	57
Tabla 5 Parámetros cromatográficos evaluados	57
Tabla 6 Linealidad y precisión del sistema	59
Tabla 7 Linealidad del método.....	61
Tabla 8 Repetibilidad y exactitud del método analítico para cuantificar Ketorolaco en plasma.....	63
Tabla 9 Reproducibilidad del método analítico para cuantificar Ketorolaco en plasma.....	64
Tabla 10 Recobro de Ketorolaco de plasma humano	65
Tabla 11 Estabilidad de Ketorolaco en ciclos de congelación-descongelación ...	66
Tabla 12 Estabilidad de Ketorolaco en refrigeración.....	67
Tabla 13 Estabilidad de Ketorolaco a temperatura ambiente	68
Tabla 14 Estabilidad de muestras procesadas de Ketorolaco bajo condiciones normales de laboratorio. (Relación de alturas Ketorolaco/E.I.)	69
Tabla 15 Seguimiento de las curvas de calibración.....	72
Tabla 16 Seguimiento de los puntos control de calidad	73
Tabla 17 Concentración promedio de Ketorolaco en plasma con respecto al tiempo	74
Tabla 18 Parámetros farmacocinéticos promedio.....	77
Tabla 19 Concentración plasmática de Ketorolaco en hombres y mujeres con respecto al tiempo.	78
Tabla 20 Parámetros farmacocinéticos para hombres y mujeres y su evaluación estadística.....	80
Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos promedio corregidos \pm D.E.	81
Tabla 22 Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos corregidos de hombres y mujeres.....	81
Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos de Ketorolaco en población mexicana y otras poblaciones.	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema que describe las diferentes fases que pueden distinguirse en el camino que debe recorrer un fármaco desde el lugar de aplicación de una forma farmacéutica hasta el sitio de acción..... 16

Figura 2 Estructura molecular del Ketorolaco trometamina 22

Figura 3 Espectro de absorción de Ketorolaco Trometamina en UV. 23

Figura 4 Esquema básico de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por Ketorolaco..... 26

Figura 5 Esquema de extracción para cuantificar Ketorolaco en plasma..... 58

Figura 6 Linealidad del sistema..... 60

Figura 7 Linealidad del método..... 62

Figura 8 Selectividad del método 70

Figura 9 Gráfica de Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo. 75

Figura 10 Gráfica de Log Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo..... 76

Figura 11 Gráfica de Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo para hombres y mujeres..... 79

INTRODUCCIÓN
Y
OBJETIVOS

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Los antiinflamatorios no esteroidales (AINES) forman un grupo de fármacos que comparten acciones terapéuticas y efectos adversos.^[1]

El Ketorolaco es un antiinflamatorio no esteroideo que posee actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética. Se utiliza en el manejo del dolor postoperatorio de intensidad moderada a severa, también es utilizado para combatir el dolor crónico y su aplicación local puede ser útil en cuadros inflamatorios del ojo y en el tratamiento de la conjuntivitis alérgica estacional.^[2]

Un estudio de biodisponibilidad es útil a fin de determinar la eficiencia de absorción o fracción disponible del fármaco y realizar ajustes en los regímenes de dosificación diseñados en base a los parámetros farmacocinéticos encontrados.

Adicionalmente se ha reconocido la enorme variación en la biodisponibilidad de un mismo fármaco entre una y otra persona y es a través de diversos estudios que se han identificado varios factores que rigen esta variación.

La influencia de la raza, el género, la edad, los factores genéticos y medioambientales, se observa claramente en la biodisponibilidad de algunos fármacos dependiendo de la población a la cual se administre.

De acuerdo a lo anterior se efectuó un estudio de biodisponibilidad relativa de una formulación oral de Ketorolaco, con los siguientes objetivos:

- ❖ Optimizar y validar un método analítico por Cromatografía de líquidos de Alta Resolución para cuantificar Ketorolaco trometamina en plasma.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

- ❖ Evaluar el efecto del género en la biodisponibilidad de una formulación oral de Ketorolaco trometamina en población mexicana.

GENERALIDADES

2. GENERALIDADES

2.1. PERSPECTIVA GENERAL DE LOS ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD

El extraordinario desarrollo de las ciencias y la tecnología, que se advierte en todos los campos del saber y de las actividades humanas, constituye una de las características más notables del presente siglo y las ciencias farmacéuticas no son ajenas a este progreso.⁽³⁾

Uno de los logros importantes de las ciencias farmacéuticas durante los últimos años, ha sido el de alcanzar un conocimiento más cabal en el ámbito de la biofarmacia, logrando así identificar la influencia de los factores físicos y fisicoquímicos de un fármaco y la forma farmacéutica en la que se administra, sobre su efecto terapéutico o tóxico.⁽³⁾

Una de las actividades farmacéuticas más típicas es la preparación de medicamentos en formas apropiadas para su utilización clínica, lo que ha desencadenado la aparición de un gran número de medicamentos procedentes de diversos fabricantes, aún cuando estos contienen exactamente la misma cantidad de principio activo, permitiendo así la apertura del mercado de genéricos. Sin embargo, existen varios ejemplos en la literatura médica que documentan diferencias en las concentraciones plasmáticas, efectos farmacológicos y toxicidad de medicamentos con el mismo principio activo.

Es importante remarcar que el efecto farmacológico de un medicamento depende de las concentraciones que se alcancen del principio activo en el sitio de acción, ya que diferencias en los excipientes o en las técnicas de elaboración pueden dar origen a diferencias en la disolución de la forma farmacéutica, generando concentraciones

diferentes (mayores o menores) del principio activo en el sitio de acción. Estas diferencias en las concentraciones plasmáticas del fármaco pueden asociarse a falta de efecto terapéutico o aparición de reacciones adversas, especialmente en fármacos de estrecho margen terapéutico.⁽⁴⁾

En este contexto se ha identificado la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos como un factor importante de su eficacia, debido a que ha permitido comprender y evaluar en términos cuantitativos el destino de los medicamentos en el organismo.⁽³⁾

La biodisponibilidad de un fármaco se expresa a través de la fracción disponible. La definición de biodisponibilidad según la FDA (CFR 1992) es la siguiente: "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 estar disponible al sitio de acción". Considerando además el concepto de que existe una relación entre la concentración del fármaco en la sangre y el sitio de acción, la biodisponibilidad se define "como una medida de la velocidad y de la cantidad de medicamento administrado en una forma farmacéutica que llega a la circulación general".^(3,4,5)

La biodisponibilidad por tanto se encuentra relacionada con la trayectoria que debe recorrer un medicamento desde el lugar en que se aplica o administra en una forma farmacéutica hasta el sitio de acción y puede esquematizarse de la siguiente manera (figura 1).⁽³⁾

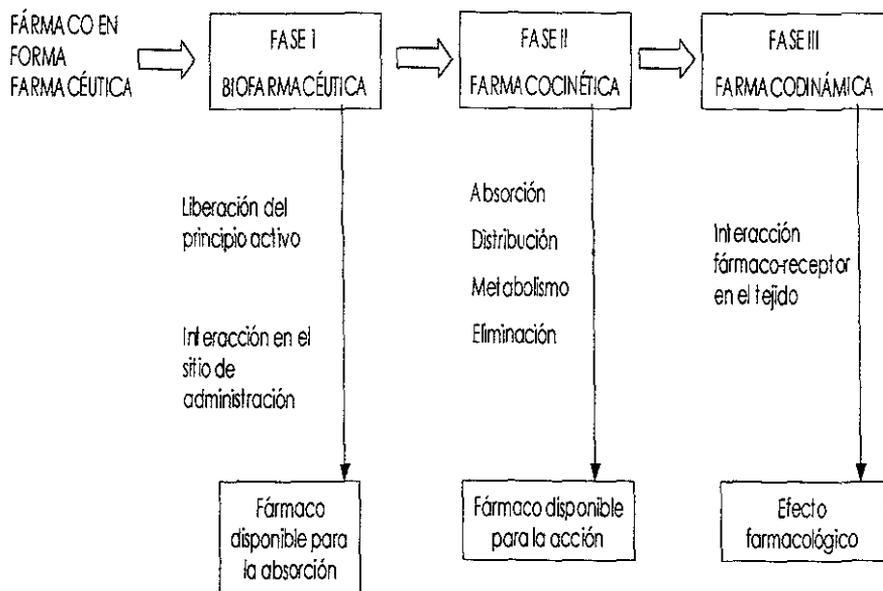


Figura 1 Esquema que describe las diferentes fases que pueden distinguirse en el camino que debe recorrer un fármaco desde el lugar de aplicación de una forma farmacéutica hasta el sitio de acción.

La figura 1 ilustra el conjunto de procesos que ocurren en el organismo desde el momento de la administración de un fármaco por cualquiera de las vías, hasta su eliminación. La fase biofarmacéutica deja el medicamento disponible para la absorción. La fase farmacocinética incluye los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción y determina la curva de concentración plasmática-tiempo, dando como resultado que el medicamento quede disponible para su acción. Finalmente, la fase farmacodinámica comprende los procesos vinculados con la interacción del fármaco con los receptores en el sitio de acción y la cadena de eventos que dan como resultado final el efecto en el organismo.⁽³⁾

La evaluación de la biodisponibilidad por métodos farmacocinéticos se basa en la suposición de que la medida de ciertos parámetros específicos, después de la administración de un fármaco, puede correlacionarse con la eficacia clínica de este. Para este fin se toman en cuenta los siguientes parámetros:⁽⁶⁾

- a) Concentración plasmática máxima obtenida (C_{max}).
- b) Tiempo al cual se alcanza la concentración plasmática máxima (t_{max}).
- c) Área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo (ABC).

Los estudios de biodisponibilidad son un apoyo útil para propósitos de correlación de concentraciones plasmáticas de fármaco y perfil de la acción farmacológica, para diseño de regímenes de dosificación, y para el monitoreo de concentraciones plasmáticas terapéuticas en el caso de fármacos con índice terapéutico estrecho.⁽⁶⁾

2.2. ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD EN MÉXICO

2.2.1. Criterios y requisitos

Los estudios para demostrar biodisponibilidad deben realizarse con base en lo dispuesto en la Ley General de Salud, en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, las Buenas Prácticas Clínicas y demás disposiciones aplicables. Las autoridades sanitarias de México han dictado una norma para el uso de medicamentos genéricos en la que se establecen los criterios y requisitos para su intercambiabilidad (Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998) y proyecta además un gran auge en el mercado nacional de

GENERALIDADES

medicamentos genéricos que se espera produzca un beneficio económico, equilibrado con la seguridad terapéutica de los pacientes. (7)

Un estudio de biodisponibilidad debe ser el resultado de un diseño experimental perfectamente planeado para este objetivo, razón por la cual un equipo profesional debe estar encargado de la planificación del estudio, en el cual es necesario plantear dos interrogantes principales que son: ¿qué cantidad de la dosis llegará efectivamente a la circulación? y, ¿a qué velocidad lo hará?, en base a las cuales se deberá realizar el diseño experimental correcto que lleve a conclusiones válidas. Para realizar un estudio de biodisponibilidad se debe de contar con requisitos generales básicos como:(3)

- 1) Tener un conocimiento lo mas completo posible de la farmacocinética del medicamento.
- 2) Disponer de un método analítico sensible y específico para seguir el curso en el tiempo del medicamento tanto como sea posible y diferenciarlo de sus metabolitos químicamente próximos.
- 3) Aplicar un protocolo experimental estrictamente definido que permita describir el fenómeno en forma precisa y completa.

Los individuos que participen en los estudios de biodisponibilidad deberán seleccionarse de acuerdo a ciertas características, lo que permitirá la homogenización de los grupos en estudio y la disminución de la gran variabilidad de los resultados experimentales. La selección deberá llevarse a cabo de acuerdo a:(3)

- ❖ Características antropométricas: Se prefieren individuos de la misma raza, edad (entre 18 y 55 años), relación normal peso-talla ($\pm 10\%$ del ideal).
- ❖ Estado físico: Deben ser sanos, lo que se determina por medio de la

historia clínica y pruebas de laboratorio y gabinete.

- ❖ Hábitos alimenticios y sin antecedentes de drogadicción o abuso de alcohol, café, tabaco, ni bajo administración de medicamentos.
- ❖ Características psíquicas: Como stress y neurosis que pueden afectar la biodisponibilidad.

También se debe adoptar una decisión con respecto al parámetro que se va a cuantificar: se puede determinar la concentración del fármaco o sus metabolitos en fluidos biológicos en función del tiempo, la excreción urinaria del fármaco o sus metabolitos en función del tiempo, o bien, un efecto farmacológico apropiado.⁽³⁾

Los tipos de fluidos mas comúnmente analizados son sangre, plasma, suero, orina y, últimamente, también saliva, además hay que considerar que en todos los fluidos biológicos existe la posibilidad de encontrar metabolitos presentes, por lo que es necesario el conocimiento del tipo de metabolitos que pueden formarse con un fármaco en particular.

El diseño experimental para determinar la biodisponibilidad de un fármaco debe de adecuarse a los objetivos del estudio. Después de la administración del fármaco se obtienen muestras del fluido biológico de cada sujeto, en el cual se va a cuantificar el fármaco, a diferentes tiempos. El muestreo debe realizarse por un periodo que permita cubrir por lo menos el 80% del área bajo la curva de concentración plasmática. El horario de muestreo se debe diseñar a fin de lograr caracterizar los parámetros farmacocinéticos de ABC y C_{max} . Al menos se deben obtener once tiempos de muestreo, en los cuales se deben incluir el tiempo 0, 3-4 puntos antes del C_{max} , 3-5 puntos alrededor del C_{max} y 4-8 puntos durante la fase de eliminación.⁽⁷⁾

La metodología para la cuantificación del fármaco y/o sus

GENERALIDADES

metabolitos en fluidos biológicos debe ser validado, es decir, se debe contar con evidencia experimental documentada de que el procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado. Los parámetros analíticos para llevar a cabo esta evaluación son:⁽⁷⁾

- a) Linealidad. Capacidad del método analítico, en un intervalo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.
- b) Precisión. Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto, se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad
- c) Repetibilidad. Precisión del método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.
- d) Reproducibilidad. Precisión del método analítico que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis.
- e) Exactitud. Concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el de referencia.
- f) Recuperación absoluta: Eficiencia del método analítico para cuantificar él o los compuestos por analizar.
- g) Estabilidad. Propiedad del compuesto a analizar, de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis.
- h) Límite de detección. Concentración mínima de un compuesto de una muestra el cual puede ser detectado, pero no necesariamente

cuantificado, bajo las condiciones de operación establecidas.

- i) Límite de cuantificación. Concentración mas baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo con la precisión y exactitud establecidas en el método.
- j) Selectividad. Capacidad del método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra.

Una vez realizada la parte experimental, la biodisponibilidad debe calcularse a partir de las concentraciones plasmáticas ABC_{0-t} , $ABC_{t-\infty}$, C_{max} y t_{max} , para cada sujeto.

2.3. MONOGRAFÍA DEL KETOROLACO

El Ketorolaco es un potente analgésico, que posee un moderado efecto antiinflamatorio. Es uno de los pocos antiinflamatorios aprobados para su administración parenteral. Es un miembro del grupo de antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) que inhibe la biosíntesis de prostaglandinas. En la mayoría de las preparaciones farmacéuticas se encuentra como sal de Ketorolaco trometamina. Adicionalmente, las preparaciones poseen una mezcla racémica de enantiómeros (-)S y (+)R de los cuales el primero es el que posee actividad analgésica.^(1,2,8)

2.3.1. Propiedades químicas⁽⁹⁾

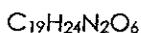
2.3.1.1. Nombre químico del Ketorolaco

Acido (\pm)-5-bencil-2,3-dihidro-1H, pirrolizina-1-carboxílico

2.3.1.2. Nombre químico del Ketorolaco trometamina

Acido (±)-5-bencil-2,3-dihidro-1H, pirrolizina-1-carboxílico, 2-amino-2-(hidroxi-metil)-1,3-propanodiol.

2.3.1.3. Fórmula condensada



2.3.1.4. Fórmula desarrollada

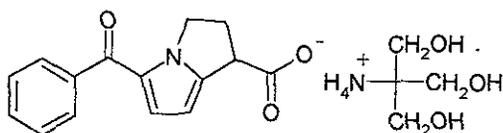


Figura 2 Estructura molecular del Ketorolaco trometamina

2.3.1.5. Peso molecular

376.402 g/mol

2.3.2. Propiedades fisicoquímicas⁽⁹⁾

2.3.2.1. Descripción

Las sales de Ketorolaco trometamina son cristales que contienen la mezcla racémica, R(+) y S(-) en proporción 1:1.

2.3.2.2. Solubilidad

La sal es soluble en agua y metanol, mientras que el Ketorolaco no ionizado es soluble en solventes orgánicos como, éter, acetato de etilo y hexano.

2.3.2.3. pKa

En solución presenta un pKa de 3.49 ± 0.02 .

2.3.2.4. Punto de fusión

Se han reportado puntos de fusión de 160-161°C para el Ketorolaco no ionizado. Para la sal se ha reportado 174°C.

2.3.2.5. Espectro de absorción en ultravioleta.

Usando como disolvente metanol, Ketorolaco trometamina presenta su máximo de absorción en el rango del ultravioleta a 319 nm (figura 3).

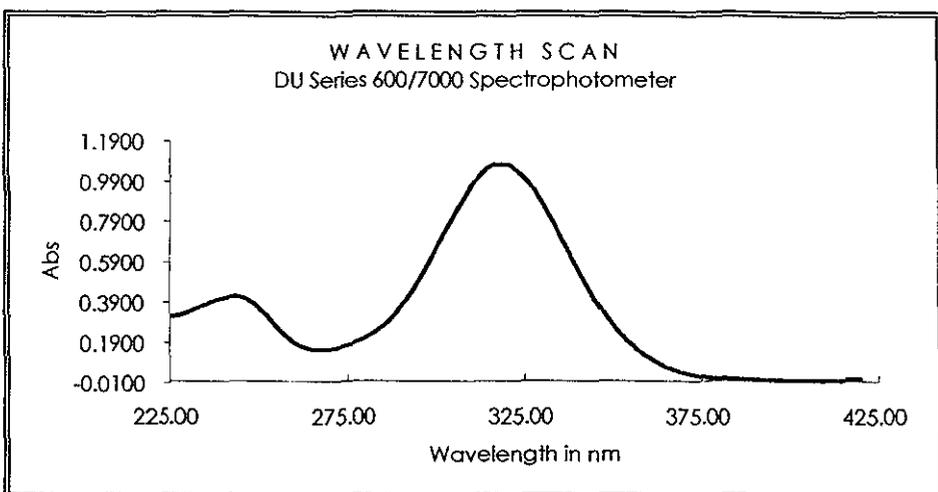


Figura 3 Espectro de absorción de Ketorolaco Trometamina en UV.

2.3.3. Propiedades farmacológicas

2.3.3.1. Antecedentes históricos

Desde hace siglos, en varias culturas se conocen los efectos medicinales de la corteza del sauce y otras plantas. En Inglaterra a mediados del siglo XVIII, el reverendo Edmund Stone señaló los buenos resultados obtenidos con la corteza del sauce para curar las fiebres.^[2]

El ingrediente activo de la corteza del sauce fue un glucósido

amargo llamado salicina. Por hidrólisis, la salicina genera glucosa y alcohol salicílico, mismo que puede ser transformado en ácido salicílico. El salicilato de sodio se utilizó originalmente para combatir la fiebre reumática y como antipirético, también se utilizó por su actividad para combatir la gota y por sus efectos uricosúricos. Así, la firma Bayer preparó el ácido acetilsalicílico, y lo introdujo al mercado con el nombre de Aspirina.⁽²⁾

Pronto los salicilatos sintéticos desplazaron a los compuestos naturales. A finales del siglo antepasado, se descubrieron otros fármacos que compartían algunos de sus efectos o todos ellos. Todos estos fármacos se agrupan dentro de los antiinflamatorios no esteroideos.⁽¹⁾

Los diversos compuestos de este grupo no tienen relación química alguna: son salicilatos (cuyo prototipo es el Ácido acetilsalicílico), derivados del ácido propiónico (como el Ibuprofeno, Naproxeno, etc.), derivados del ácido acético (como la Indometacina), derivados de ácidos enólicos (como el Piroxicam) y derivados del ácido acético heteroarílico (como el Tolmetín, Diclofenaco y Ketorolaco).⁽²⁾

2.3.3.2. Mecanismo de acción.

El Ketorolaco posee actividad antipirética, antiinflamatoria y analgésica. En comparación, su actividad analgésica sistémica es mucho mayor que la antiinflamatoria, no genera tolerancia, ni depresión respiratoria a diferencia de los agonistas opioides y en general no afecta de forma importante al SNC. Por otro lado, inhibe la agregación plaquetaria y puede incitar la formación de úlceras gástricas.^(1,2,8,10)

El Ketorolaco inhibe la vía de la ciclooxigenasa, con inhibición de la síntesis de prostaglandinas, reduciendo el dolor y la inflamación.⁽¹¹⁾

El proceso inflamatorio incluye una serie de fenómenos que pueden ser desencadenados por diversos estímulos: agentes infecciosos, isquemia,

GENERALIDADES

interacciones antígeno-anticuerpo y lesiones térmicas o físicas.⁽¹⁾ Cada tipo de estímulo desencadena un patrón característico de reacción o respuesta que constituye una variante relativa menor del mismo fenómeno. A nivel macroscópico, la respuesta se acompaña de signos clínicos como eritema, edema y dolor a la palpación. ^(2,1)

En la figura 4 se muestra el esquema básico de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas llevada a cabo por Ketorolaco.⁽¹⁾

El metabolismo de fosfolípidos de la membrana celular genera ácido araquidónico, que en contacto con la ciclooxigenasa, da origen a la formación de prostaglandinas y tromboxano.

La primera enzima en la vía sintética de las prostaglandinas es la prostaglandina de la endoperóxido sintetasa o ciclooxigenasa de ácidos grasos. Esta enzima transforma al ácido araquidónico en productos intermediarios inestables. Existen dos formas de la ciclooxigenasa llamadas ciclooxigenasa-1 (COX-1) y ciclooxigenasa-2 (COX-2). La primera es una isoforma constitutiva que aparece en la mayor parte de los tejidos y es responsable de las funciones fisiológicas y homeostáticas desempeñadas por las prostaglandinas en tanto que la segunda se presenta en situaciones de inflamación por citosinas y mediadores inflamatorios. La inhibición que se presenta es de tipo reversible sobre la actividad de la ciclooxigenasa, la inhibición es de manera no selectiva a las isoformas de COX-1 y COX-2.^(1,2,1)

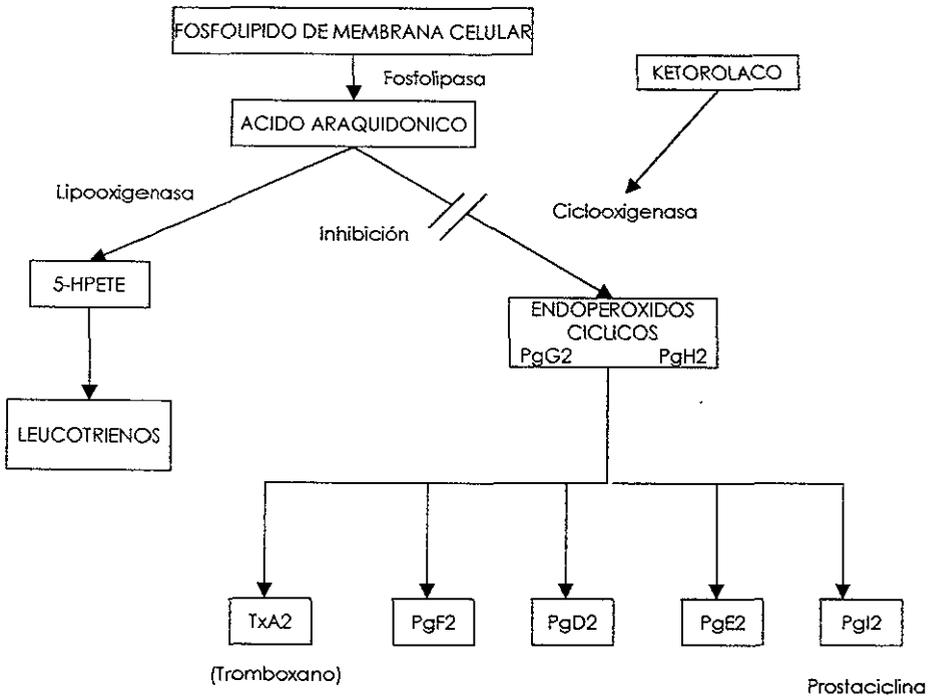


Figura 4 Esquema básico de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por Ketorolaco

Las prostaglandinas causan vasodilatación y sensibilizan a los receptores de dolor a otros mediadores de la inflamación. Las prostaglandinas también están implicadas en el control central de la regulación de la temperatura y la sensación del dolor.⁽¹¹⁾

Conjuntamente al bloqueo de la ciclooxigenasa, el Ketorolaco, deriva el ácido araquidónico al interior de la vía metabólica que implican a la 5-, 12- y 15-lipooxigenasa, algunos de cuyos productos poseen actividad antiinflamatoria, inhibiendo a la proteína cinasa dependiente del monofosfato cíclico de adenosina, a la fosfolipasa C, el transporte de

aminoácidos a través de las membranas celulares y a una diversidad de eventos vinculados con la membrana, por lo que su potencia en la inhibición del transporte de aminoácidos es paralela a su potencia antiinflamatoria.⁽¹¹⁾

2.3.3.3. Usos Terapéuticos

El Ketorolaco administrado en la forma de sal trometamina se utiliza principalmente como analgésico contra el dolor agudo a corto plazo, especialmente después de una operación y traumatismos músculo-esqueléticos. También se ha usado para combatir estados de dolor crónico. Su aplicación local es útil en cuadro inflamatorio del ojo y ha sido utilizado en el tratamiento de la conjuntivitis alérgica estacional. Secundariamente esta indicado en cuadros de fiebre o como antiinflamatorio.^(2,8)

2.3.3.4. Dosis utilizadas

El tratamiento con inyecciones intramuscular o intravenosa no debe superar los cuatro días, pues los efectos secundarios aumentan con su uso. En cuanto a las tabletas, se recomienda su uso solo como tratamiento a corto plazo.⁽⁸⁾

La dosis recomendada para adultos por vía intramuscular es de 10-60 mg, según la intensidad del dolor, por vía intravenosa se utilizan dosis de 10-30 mg. En niños mayores de tres años la dosis administrada es de 1.0 mg/Kg por vía intramuscular y de 0.5-1.0 mg/Kg por vía intravenosa.^(8,10,12)

En un tratamiento con dosis múltiples se recomienda la administración oral de 10 mg cada 4-6 horas, sin sobrepasar la dosis diaria de 60 mg.⁽⁸⁾

2.3.3.5. Efectos Adversos^(1,8)

Se han reportado efectos adversos a varios niveles, entre los cuales encontramos los siguientes:

a. Gastrointestinales. Hasta un 60% de los pacientes que consumen Ketorolaco por tiempo prolongado tienen un daño gastrointestinal notable, con erosiones intramucosas, úlceras y hemorragia. Su uso se asocia a una quintuplicación en la incidencia de úlcera gástrica y triplicación de las complicaciones de esta y probablemente no aumenta la incidencia de úlcera duodenal, pero sí sus complicaciones siendo la complicación más frecuente la hemorragia, especialmente en ancianos. Con menor frecuencia se asocia a ulceraciones del intestino delgado y del colon y al desarrollo de anillos membranosos y estenosantes. La administración aguda se asocia con erosiones de la mucosa. Los mecanismos de daño de la mucosa gastroduodenal son complejos y no han sido totalmente esclarecidos. Hay un efecto local, pero más importante es el efecto sistémico de inhibición de la síntesis de prostaglandinas, lo que disminuye la secreción de mucus, lo hace menos viscoso y menos resistente al ácido, disminuye la secreción de bicarbonato, la velocidad de proliferación de la mucosa y el flujo sanguíneo de esta.

b. Renales. A través del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas, puede disminuir el flujo renal y la filtración glomerular y producir retención de sodio, agua y potasio. La complicación más importante es la insuficiencia renal aguda. El deterioro agudo de la función renal ocurre en el 0.5-1% de los pacientes que consumen Ketorolaco en forma crónica. La continua administración puede deteriorar progresivamente la función renal hasta el punto de requerir diálisis. Aún a este nivel, el riñón se recupera al cabo de días o semanas de suspendido el medicamento. Otras alteraciones renales son la nefritis intersticial y la necrosis papilar.

c. Hematológicos y Hepáticos. El Ketorolaco prolonga el tiempo de sangría al bloquear la síntesis de tromboxano A₂ e inhibir la agregación plaquetaria. Debe utilizarse con gran precaución y estrecho seguimiento en los pacientes con trastornos de la coagulación. También se ha asociado a daño hepatocelular.

d. Sistema nervioso central. Algunos pacientes pueden experimentar somnolencia, mareo, vértigo, insomnio o depresión durante el tratamiento.

e. Embarazo y lactancia. No se recomienda el uso durante el embarazo y lactancia. El Ketorolaco puede prolongar el periodo de gestación, además su administración prolongada durante el tercer trimestre podría cerrar el ductus arteriosus en el útero e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido.

2.3.3.6. Interacciones y Contraindicaciones ^(B)

El uso simultáneo de anticoagulantes o trombolíticos aumenta el riesgo de complicaciones hemorrágicas. El Probenecid puede triplicar los niveles plasmáticos de Ketorolaco, por lo que esta contraindicado su uso simultáneo. Su administración junto con otros AINEs, etanol, corticoides o salicilatos aumentan el riesgo de complicaciones gastrointestinales y puede disminuir las acciones diuréticas, natriuréticas y antihipertensivas de los diuréticos. Asimismo, se ha reportado que reduce el efecto de la Furosemida un 20%.

Su uso concomitante con agentes que propician almacenamiento de potasio (Triamtereno, Amiloride) puede inducir hipercalemia. Se ha reportado que el Ketorolaco disminuye la efectividad de los beta-bloqueadores y aumenta del efecto de los relajantes musculares no despolarizantes.^(B)

Al igual que otros AINES, el Ketorolaco esta contraindicado en los pacientes con úlcera gastroduodenal activa, hemorragia digestiva reciente, perforación gastrointestinal reciente o antecedentes de úlcera gastroduodenal o hemorragia digestiva. También esta contraindicado en pacientes con insuficiencia renal moderada o grave y los pacientes con riesgo de insuficiencia renal por hipovolemia o deshidratación. Esta contraindicado durante el parto y también en pacientes con hipersensibilidad demostrada al Ketorolaco. Por inhibir la función plaquetaria, esta contraindicado en pacientes con hemorragia cerebrovascular posible o confirmada, pacientes sometidos a operación con riesgo de hemorragia, pacientes con homostásis incompleta o pacientes con alto riesgo de hemorragia.^(1,2,12)

2.3.3.7. Toxicidad ⁽⁸⁾

Con sobredosis se han descrito los siguientes síntomas: dolor abdominal, náusea, vomito, hematuria, proteinuria, aumento de urea y creatinina, fallo renal agudo, irritación gástrica, ulceración y sangrado.

No hay antídoto específico. Para el tratamiento se administra carbón activado y un catártico. Se considera el lavado gástrico en sobredosis masivas. Puede además administrarse Vitamina K en pacientes con tiempo de protombina alargado. La hemodiálisis no resulta efectiva por su elevada unión a proteínas.

2.3.4. Presentaciones Comerciales

En México se encuentran disponibles en el mercado las siguientes presentaciones de Ketorolaco trometamina.⁽⁸⁾

Tabla 1 Presentaciones de Ketorolaco disponibles en México

Nombre Comercial	Forma Farmacéutica	Laboratorio
Acularen®	Solución oftálmica 5 mg	Allergan S.A. de C.V.
Alidol®	Tabletas sublinguales 30 mg	Roche-Syntex S.A. de C.V.
Dolac®	Inyectable 10 y 30 mg Tabletas 10 mg	Roche-Syntex S.A. de C.V.
Dolotor®	Inyectable 30 mg Tabletas 10 mg	Roche-Syntex S.A. de C.V.
Findol	Inyectable 30 mg Tabletas 10 mg	Senosiain S.A. de C.V.
Glicima	Tabletas 10 mg	Atlantis S.A. de C.V.
Onemer	Inyectable 30 mg	Pisa. S.A. de C.V.
Supradol®	Inyectable 30 mg Tabletas 10 mg	Liomont S.A. de C.V.

2.3.5. Farmacocinética

2.3.5.1. Vías de administración

El Ketorolaco trometamina puede ser administrado por vía oral, intramuscular o intravenosa, también se puede aplicar de manera local, principalmente en los ojos.

2.3.5.2. Absorción

Tras su administración por vía oral, el Ketorolaco se absorbe con rapidez y alcanza concentraciones plasmáticas máximas en 30 a 50 min. En estudios realizados se han reportado concentraciones plasmáticas máximas promedio de 2 µg/ml y de 0.87 µg/ml, a los 44 minutos después de una sola dosis oral de 30 y 10 mg respectivamente.⁽⁸⁾

Por administración intramuscular, el Ketorolaco se absorbe de forma rápida y completa en voluntarios jóvenes sanos; la concentración plasmática máxima es de 2.2 -3.0 µg/ml y se alcanza a los 50 minutos, después de administrar una dosis única de 30 mg.⁽⁸⁾

Por vía intravenosa, la concentración plasmática máxima (2.4 µg/ml) se alcanza 5 minutos después de haber finalizado la administración de una dosis única de 10 mg.⁽⁸⁾

2.3.5.3. Distribución ^(2,8)

La farmacocinética del Ketorolaco es lineal tras su administración, ya sea por vía intravenosa, intramuscular o vía oral, en dosis únicas o múltiples. El volumen de distribución es de 0.15 a 0.16 L/Kg. Se encuentra unido casi totalmente a proteínas plasmáticas (más del 99%). El grado de unión a las proteínas es independiente de la concentración del fármaco.

La totalidad del fármaco circulante en el plasma lo hace en forma de Ketorolaco (96%) o su metabolito inactivo p-hidroxiketorolaco.

El Ketorolaco atraviesa la membrana placentaria aproximadamente en un 10%. También se han detectado concentraciones bajas del fármaco en leche materna. El Ketorolaco penetra pobremente la barrera hematoencefálica (encontrándose niveles en líquido cefalorraquídeo 0.002 veces menores de los de plasma).

2.3.5.4. Metabolismo ⁽⁸⁾

El Ketorolaco sufre un extenso metabolismo hepático. Las principales reacciones involucradas en el metabolismo del Ketorolaco corresponden a aquellas incluidas en la fase II. La principal vía metabólica en el ser humano es su conjugación con el ácido glucurónico. La p-hidroxilación es otra vía metabólica de menor importancia. Ninguno de los metabolitos tiene actividad farmacológica.

2.3.5.5. Eliminación ⁽⁸⁾

El Ketorolaco y sus metabolitos se excretan principalmente por vía renal. La excreción en orina comprende 90% del fármaco; 60% se excreta

inalterado y el resto en la forma de metabolitos. Con las heces se elimina el 6% de la dosis administrada. La depuración plasmática total es de 0.019 L/h/kg. El tiempo de vida media es de 5.3 horas en adultos jóvenes y de 6.1 a 7 horas en los sujetos de edad avanzada.

2.3.5.6. Biodisponibilidad ⁽⁸⁾

La biodisponibilidad después de ingerido es de 80% en promedio.

2.4. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN FLUIDOS BIOLÓGICOS

En la actualidad se dispone de una amplia variedad de metodologías para realizar determinaciones de fármacos y sus metabolitos en diversos fluidos biológicos. Una de las metodologías más utilizadas es la cromatografía de líquidos de alta resolución, que es un método basado en la migración diferencial de los componentes de una mezcla por interacción entre una fase estacionaria de gran superficie y una fase móvil que la recorre.^(3,13)

A continuación se describen algunos métodos analíticos para la cuantificación de Ketorolaco por cromatografía de líquidos de alta resolución.

- 1) Chaudhary⁽¹⁴⁾ y colaboradores, diseñaron un método de cuantificación de Ketorolaco en plasma por CLAR, utilizando una columna fase reversa μ Bondapak C18 y detección UV-VIS a una longitud de onda de 313 nm. El método de extracción consistió de una extracción líquido-líquido, utilizando como disolvente metanol. Los autores reportan un tiempo de retención de 6 min para el Ketorolaco y un coeficiente de correlación (r^2) al evaluar la linealidad de 0.996 en el intervalo de 25-1500 ng/ml.
- 2) Mills⁽¹⁵⁾ y colaboradores diseñaron un método por CLAR para cuantificar

los dos enantiómeros R(+) y S(-) del Ketorolaco. Su método se diseñó para muestras plasmáticas utilizando como estándar interno el enantiómero S(+) del Naproxen sódico. Para este fin se utilizó una columna estereoselectiva. Se realizó una extracción líquido-líquido utilizando como disolvente una solución de pentanol en hexano y la fase orgánica se inyectó en el cromatógrafo. Por éste método se obtuvieron tiempos de retención para R- y S- Ketorolaco de 3.3 y 4.8 minutos respectivamente. La linealidad en el rango de concentraciones de 0.2-10 mg/L mostró un coeficiente de correlación (r^2) mayor a 0.998 para el enantiómero R y de 0.999 para el S.

- 3) Flores-Murrieta⁽¹⁶⁾ y colaboradores desarrollaron un método para cuantificar Ketorolaco en plasma utilizando el siguiente sistema cromatográfico: una columna Novapak C-18 con una fase móvil compuesta de acetonitrilo-ácido fosfórico pH 3 (32:68) a un flujo constante de 1 mL/min. La detección se realizó a 313 nm. El estándar interno utilizado fue Tolmetin sódico. Utilizaron una extracción líquido-líquido usando como disolvente éter. El tiempo de retención para el Ketorolaco fue de 6.82 min y el coeficiente de correlación para las curvas de linealidad fue de 0.9992 en el rango de concentraciones de 10-1500 ng/ml.
- 4) Anne T⁽¹⁷⁾ y colaboradores diseñaron un método para cuantificar Ketorolaco y su metabolito p-hidroxilado en plasma. El sistema cromatográfico consistía de una columna Regis Spherisorb ODS y la detección fue por UV-VIS a una longitud de onda de 313 nm. El método consistió de dos extracciones líquido-líquido utilizando como disolvente éter dietílico. La fase orgánica resultante se evaporó a sequedad, se resuspendió en fase móvil y se inyectó una alícuota de 30 μ l. Los tiempos de retención para el Ketorolaco y su metabolito p-hidroxilado fueron

GENERALIDADES

14.3 y 7.2 min. En los rangos de concentración de 50-500 ng/ml y 10-100 ng/ml para el Ketorolaco y su metabolito, los coeficientes de correlación para las curvas de linealidad fueron de 1.0 en ambos casos.

PARTE
EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

El estudio de biodisponibilidad realizado consistió de dos partes:

- 1) Optimización y validación del método analítico.
- 2) Análisis de las muestras de los voluntarios

3.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN PARA CUANTIFICAR KETOROLACO TROMETAMINA EN PLASMA

El método para cuantificar Ketorolaco en plasma se basó en los trabajos realizados por Flores-Murrieta y cols.⁽¹⁶⁾

3.1.1. Material y equipo

Agitador Horizontal Dual Action Shaker Lab-Line

Agitador Vortex Thermolyne Maxi Mix II

Balanza Ohaus Mod AS120

Baño de Agua Fisher Scientific

Centrífuga Sorvall SS-3 Automatic

Membranas de filtración 0.45 μm

Micropipetas Eppendorf

Potenciómetro OAKTON

Sistema de Filtración Millipore

Sonificador Fisher Scientific FS20

Cromatógrafo de líquidos Waters Millenium compuesto por:

- ❖ Bomba Cuaternaria con degasificador, modelo 600 Controlled, Waters
- ❖ Integrador Paquete computacional Millennium, Waters.
- ❖ Detector de arreglo de diodos, modelo 996 de Waters.
- ❖ Automuestreador (inyector automático), modelo 717 plus de Waters.

3.1.2. Reactivos

Acetato de Sodio, Merck

Acetonitrilo HPLC, Mallinckrodt

Ácido acético glacial, Mallinckrodt

Ácido fosfórico, Merck

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

Éter etílico anhidro, J.T. Baker

Fosfato dibásico de Sodio, Mallinckrodt

Fosfato monobásico de Sodio, Mallinckrodt

Hidróxido de Sodio, J. T. Baker

Plasma humano con certificado de pruebas de grupo sanguíneo, factor Rh, VDRL VIH.

3.1.2.1. Sustancias de Referencia

Ketorolaco Materia Prima certificada. Laboratorio Atlantis S.A. de C.V., lote 24-M5788.

Tolmetin Sódico. Sustancia de Referencia. Janssen Farmacéutica S.A. de C.V., lote 00180

3.1.3. Preparación de soluciones para la fase móvil

Solución amortiguadora de Acetato de Sodio 0.05M pH 4.0

Transferir a un matraz volumétrico de 1 L, 4.10 g de acetato de sodio, disolver y llevar a volumen con agua desionizada. Ajustar el pH a 4.0 con ácido acético glacial. Filtrar la solución al vacío a través de una membrana millipore de 0.45 μm y desgasificar por sonicación al vacío durante 20 minutos.

Ácido fosfórico 0.1 M.

Transferir una alícuota de 5.7 ml de ácido fosfórico a un matraz volumétrico de 500 ml y llevar a volumen con agua desionizada.

3.1.4. Preparación de soluciones de referencia

Solución patrón de Ketorolaco 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Pesar con exactitud 0.01g de Ketorolaco, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver y llevar a volumen con agua desionizada. La concentración de esta solución es de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de Ketorolaco (Solución patrón A). De la solución patrón A tomar una alícuota de 10 mL, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con agua desionizada. La concentración final de ésta solución es de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Solución patrón B).

Solución patrón de Tolmetín Sódico 1000 ng/mL. (E.I.).

Pesar exactamente 0.01 g de Tolmetín sódico, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver y llevar a volumen con agua desionizada. La concentración de esta solución es de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Solución 1). De la solución 1 tomar una alícuota de 5 mL, transferir a un matraz volumétrico

de 500 mL y llevar a volumen con agua desionizada, obteniéndose una concentración final de 1000 ng/ml de tolmetin sódico (Solución 2).

3.1.5. Preparación de la curva patrón

Se evaluaron ocho puntos correspondientes a la curva de calibración, 5, 10, 25, 50, 250, 500, 1000 y 1500 ng/mL y tres puntos control de calidad, cuyos valores de concentración se encontraban dentro del intervalo, pero no pertenecían a los valores establecidos para la curva de calibración. Para los puntos control se asignaron valores de concentración de 40, 400 y 1250 ng/mL.

En la tabla 2 se esquematiza la preparación de los puntos correspondientes a la curva de calibración y puntos control a partir de la solución patrón de Ketorolaco 10 µg/mL.

Tabla 2 Preparación de la curva patrón de Ketorolaco

Concentración (ng/mL)	Volumen solución patrón Ketorolaco 10 μ g/mL (mL)	Aforo (mL)
5	0.005	10
10	0.010	10
25	0.025	10
40	0.040	10
50	0.050	10
100	0.100	10
250	0.250	10
400	0.400	10
500	0.500	10
1000	1.000	10
1250	1.250	10
1500	1.500	10

3.1.6. Optimización de la fase móvil

Se probaron las siguientes fases móviles:

- Ácido fosfórico 1mM:Acetonitrilo en proporción 68:32 (v/v) pH 3.0
- Solución amortiguadora de Acetato de Sodio 0.05 M:Acetonitrilo en proporción 75:25 (v/v) pH 4.0
- Solución amortiguadora de Fosfato de Sodio 0.1 M:Acetonitrilo en proporción 70:30 (v/v) pH 3.0

La elección de la fase móvil se basó en la obtención de parámetros cromatográficos óptimos como: tiempo de retención, resolución ≥ 2.0 y

simetría < 2.0, los cuales garantizaran picos cromatográficos con una buena separación, facilidad de integración y cuantificación.

3.1.7. Optimización del método de extracción

Tomando como referencia lo reportado en la bibliografía se evaluó la acidificación de la muestra plasmática como la etapa crítica en la extracción de ketorolaco, en donde el esquema para la optimización fue el siguiente:

Tomar 1 mL de plasma, adicionar 50 ng de Tolmetin sódico (estándar interno), 0.2 mL de solución para acidificar el medio, extraer con 10 mL de éter dietílico, agitar por 10 min, centrifugar a 3000 rpm durante 10 min, separar y evaporar la fase orgánica, reconstituir el residuo en 0.2 mL de agua desionizada .

Las soluciones para acidificar el medio fueron:

- ❖ Acetato de sodio 0.1 M pH 4
- ❖ Ácido fosfórico 0.1 M

Para seleccionar el método de extracción adecuado se consideró el que permitiera obtener un mayor recobro del fármaco, así como una mínima presencia de impurezas procedentes de componentes del plasma.

3.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA

Una vez obtenidas las condiciones analíticas del método se realizó la validación con el fin de contar con evidencia experimental documentada de que el procedimiento se comportaba consistentemente y garantizaba la confiabilidad de los resultados.

3.2.1. Validación del sistema

Se evaluaron los parámetros de linealidad y precisión.

Para linealidad, fueron analizadas tres series independientes de curvas patrón en solución acuosa en el rango de concentraciones de 5-1500 ng/mL, en un mismo día de trabajo.

De cada curva de calibración se obtuvo la relación de alturas (altura de Ketorolaco/altura de Tolmetín sódico), y se graficó con respecto a la concentración nominal correspondiente de Ketorolaco, realizándose un ajuste por mínimos cuadrados. La linealidad del sistema fue definida con un coeficiente de correlación (r) mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%, también se obtuvieron los valores de la pendiente (m) y la ordenada al origen (b).

La precisión del sistema se evaluó a partir de los datos de linealidad, en donde se obtuvieron el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de cada uno de los valores de concentración, adicionalmente se obtuvo el coeficiente de variación del factor de respuesta (pseudopendiente), considerando el cociente entre la respuesta y el valor de concentración en cada nivel, el cual no debía presentar un valor mayor al 2%.

3.2.2. Validación del método

En base a lo establecido en la NOM-177-SSA-1-1998, en lo referente a validación de métodos analíticos para realizar pruebas de biodisponibilidad en humanos, los parámetros evaluados fueron:

3.2.2.1. Linealidad del método

Para evaluar la linealidad del método, se analizaron tres series independientes de curvas patrón en plasma, en un día de trabajo, en el intervalo de concentraciones de 5-1500 ng/mL. Las muestras fueron procesadas de acuerdo al método establecido e inyectadas en el sistema cromatográfico.

De cada curva de calibración se obtuvo la relación de alturas (altura de Ketorolaco/altura de Tolmetin sódico). Se graficó la respuesta obtenida para cada concentración con respecto a la concentración de Ketorolaco, realizándose un ajuste por mínimos cuadrados. La linealidad del método fue definida con un coeficiente de correlación (r) mayor o igual que 0.99, también se obtuvieron y evaluaron los valores de la pendiente (m) y la ordenada al origen (b) para cada una de las curvas.

3.2.2.2. Precisión

La precisión del método se evaluó mediante los parámetros de repetibilidad y reproducibilidad. Se analizaron tres concentraciones conocidas de Ketorolaco en plasma diferentes a los de la curva patrón, pero incluidos dentro del rango: 40, 400 y 1250 ng/mL, (control bajo, medio y alto). En el caso de la repetibilidad del método analítico, los tres niveles fueron analizados por quintuplicado en un mismo día de trabajo, mientras que para evaluar la reproducibilidad se analizaron los tres puntos por duplicado durante tres días de trabajo.

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

3.2.2.3. Exactitud

A partir de los datos de repetibilidad y reproducibilidad se evaluó la exactitud definida como la desviación absoluta (Desv. abs.%) del valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración con respecto al valor nominal (cantidad adicionada), en donde:

$$Desv.abs\% = 100 \times \frac{|Cantidad\ adicionada - Cantidad\ recuperada|}{Cantidad\ adicionada}$$

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

3.2.2.4. Límite de cuantificación

Para determinar la sensibilidad del método se determinó por quintuplicado la concentración mínima cuantificable (CMC) ó límite de cuantificación (LC). El LC fue la concentración más baja del intervalo de trabajo cuyo valor promedio se encontrara dentro del $\pm 20\%$ del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20%.

3.2.2.5. Límite de detección

El límite de detección (LD) se determinó como la concentración a la cual la señal del compuesto por analizar en la matriz biológica fue tres veces mayor que el nivel de ruido.

3.2.2.6. Selectividad

La selectividad del método se determinó, analizando muestras blanco de la matriz biológica (plasma) proveniente de cada voluntario (muestras predosis), muestras conteniendo fármacos de uso común (Paracetamol, Ranitidina y Ácido acetilsalicílico) y muestras de plasma obtenido con heparina, evaluando el método contra posibles

interferencias para la cuantificación del fármaco de interés.

3.2.2.7. Recobro o recuperación absoluta

El recobro se definió como el porcentaje de Ketorolaco recuperado después de su extracción a partir de las muestras de la matriz biológica, comparada con la respuesta de una muestra no sometido al proceso de extracción. Para lo cual se evaluaron tres series de Ketorolaco en plasma y tres series de Ketorolaco en agua a tres niveles de concentración (40, 400 y 1250 ng/mL). Las muestras plasmáticas se procesaron de acuerdo al método de extracción propuesto. Tanto las muestras plasmáticas como las muestras en agua fueron inyectadas al cromatógrafo y se evaluó la cantidad recuperada en base a la respuesta de las muestras plasmáticas extraídas comparadas con aquellas que no fueron sometidas al proceso de extracción.

3.2.2.8. Estabilidad

La prueba de estabilidad tuvo como función determinar las condiciones de temperatura y tiempo, en las que el compuesto permanece estable en la matriz biológica, durante su manejo, almacenamiento y procesamiento.

La prueba se llevó a cabo, evaluando tres niveles de concentración en plasma (40, 400 Y 1250 ng/mL) bajo las siguientes condiciones:

a. Ciclos de congelación-descongelación. Para la estabilidad de Ketorolaco en plasma bajo ciclos congelación-descongelación, se prepararon por duplicado muestras de control, las cuales fueron almacenadas a -70°C y sometidas a 2 ciclos de congelación-descongelación, analizándose al tiempo 0, 7 y 14 días. Las muestras se consideraron estables bajo estas condiciones si la concentración recuperada promedio se encontraba dentro del límite del $\pm 15\%$ del

valor original.

b. Refrigeración. Se realizó el monitoreo de la estabilidad de Ketorolaco en plasma bajo condiciones de refrigeración (5 °C), para ello, las muestras control se almacenaron y analizaron a los tiempos 0, 7 y 14 días. El criterio de estabilidad bajo condiciones de refrigeración se basó en obtener valores de concentración que se encontraron dentro del límite del $\pm 15\%$ del valor original.

c. Temperatura ambiente. El monitoreo se realizó para los tres niveles de concentraciones control en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente. Las muestras se analizaron a los tiempos 0, 24 y 48 horas. El criterio para considerar que el Ketorolaco era estable bajo estas condiciones, fue que el valor de concentración de las muestras presentaran una desviación absoluta menor al 15% con respecto al valor original

d. Estabilidad de la muestra procesada. Para determinar la estabilidad de la muestra procesada se prepararon por duplicado muestras de Ketorolaco en plasma a tres niveles de concentración, las cuales se sometieron al procedimiento de extracción, se reconstituyeron y se inyectaron en el sistema cromatográfico bajo las condiciones normales del laboratorio a los tiempos: 0, 24, 48 y 96 horas después de su preparación. Se consideró que el Ketorolaco era estable bajo estas condiciones si los valores de concentración obtenidos presentaban una desviación absoluta menor al 15% con respecto al valor original.

3.3. PROTOCOLO CLÍNICO

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

3.3.1. Diseño del estudio

Una población de 24 sujetos sanos compuesta por 12 mujeres y 12 hombres, se asignaron a dos grupos de acuerdo a un diseño paralelo.

La tabla 3 muestra el diseño estadístico de la población de estudio.

Tabla 3 Diseño estadístico de los voluntarios para el estudio de Biodisponibilidad

SEXO	No. de Voluntario
M A S C U L I N O	1
	2
	3
	4
	5
	6
	7
	8
	9
	10
	11
	12
F E M E N I N O	13
	14
	15
	16
	17
	18
	19
	20
	21
	22
	23
	24

3.3.2. Voluntarios

Acorde con 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, y contaron con información referente al fármaco administrado, los fines del estudio, así como las indicaciones durante la realización. Así mismo firmaron una carta de aceptación y consentimiento.

La población de prueba estuvo conformada por personas clínicamente sanas, para lo cual se realizaron pruebas de gabinete (examen físico, electrocardiograma y radiografía de tórax), 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 voluntario clínicamente sanos, del género masculino y femenino con edades entre 24 y 40 años.
- ❖ Los voluntarios no debían ingerir ningún medicamento, por lo menos dos semanas previas al estudio y hasta completarlo, ni consumir alcohol, café, tabaco o bebida de cola por lo menos 48 horas antes del estudio o durante el mismo.

Criterios de Exclusión para los voluntarios.

- ❖ Sujetos que manifestaron sensibilidad o alergia al Ketorolaco.
- ❖ Individuos que presentarán alguna alteración en sus signos vitales.
- ❖ Sujetos que presentaron trastornos gastrointestinales, hipertensión arterial e insuficiencia renal o hepática.
- ❖ Sujetos que mostraran antecedentes de drogadicción o de abuso de fármacos.
- ❖ Sujetos que revelaron resultados positivos a la prueba de embarazo o al estudio cualitativo de fármacos de abuso en orina.

- ❖ Sujetos con un padecimiento medico actual o pasado que pudiera afectar el comportamiento farmacodinámico o farmacocinético de Ketorolaco.

3.3.3. Procedimiento

A cada voluntario se le administró una tableta de 10 mg de Ketorolaco trometamina (Dolac®, tabletas de Laboratorios Syntex S.A. de C.V., lote X00297), junto con 250 mL de agua en condiciones de ayuno.

Se colectaron en tubos vacutainer heparinizados de 8 a 10 mL de sangre venosa a las 0 horas (predosis) y a las 0.166, 0.333, 0.667, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 horas después de la administración del medicamento. Se separo el plasma por centrifugación durante 10 minutos a 3500 rpm. Las muestras plasmáticas se almacenaron a -70°C hasta su análisis.

3.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS

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

Junto con las muestras de voluntarios analizadas, cada día de trabajo, se procesó una curva de calibración, que debía de cumplir con los criterios establecidos en la validación, la cual fue considerada aceptable si contenía al menos 7 puntos de concentración estándar, cuyos valores se encontraran dentro del límite del $\pm 15\%$ con respecto a su valor nominal y el valor del coeficiente de correlación "r" fuera ≥ 0.99 .

Cada día de análisis se procesaron las muestras correspondientes a tres voluntarios.

3.4.1. Puntos control de calidad

Por cada día de análisis, se prepararon y procesaron puntos de control de calidad a los tres niveles de concentración (bajo, medio y alto). Estas concentraciones fueron las mismas que aquellas evaluadas durante la validación del método analítico. Las muestras de control de calidad se analizaron por triplicado.

El criterio para aceptar una corrida fue, que al menos 2/3 de los valores de puntos control se encontraran dentro del límite $\pm 20\%$ de los valores de referencia y al menos una muestra de control de calidad de cada nivel de concentración se encontrara dentro del criterio de $\pm 20\%$.

3.4.2. Cuantificación de las muestras plasmáticas

La concentración de Ketorolaco en las muestras plasmáticas se determinó al sustituir los valores de relación de alturas (altura del pico de Ketorolaco/altura del pico del estándar interno) en la ecuación de la recta de la curva de calibración correspondiente al día de su análisis, ajustada por mínimos cuadrados.

La validez de cada corrida durante el procesamiento de las muestras fue determinada examinando los resultados de la curva de calibración y de las muestras de control de calidad bajo los criterios de validación del método.

En el caso de que se tuviera que repetir el análisis de una muestra, los criterios para saber que concentración utilizar en el análisis final, en orden de aplicación fueron los siguientes:

1. Si el valor de la repetición se encuentra dentro del $\pm 15\%$ del valor original, el valor original es utilizado en los cálculos finales.

PARTE EXPERIMENTAL

2. Si el valor de la repetición es mayor que $\pm 15\%$ del valor original, el análisis de la muestra es repetido otra vez. La fórmula utilizada para calcular esto es:

$$Diferencia\% = \frac{|Original - Re\ petición\ 1|}{Pr\ omedio(Original + Re\ petición\ 1)} \times 100$$

3. Si los valores de las segundas repeticiones están dentro del $\pm 15\%$ del valor original, el valor original es usado en los cálculos finales.

$$Diferencia\% = \frac{|Original - Re\ petición\ 2|}{Pr\ omedio(Original + Re\ petición\ 2)} \times 100$$

4. Si los valores de las primeras y segundas repeticiones son mayores que $\pm 15\%$ del valor original, pero el $\%$ de diferencia entre las dos repeticiones no es mayor que $\pm 15\%$, entonces se utiliza el valor promedio de las repeticiones para los cálculos finales.

$$Diferencia\% = \frac{|Re\ petición\ 1 - Re\ petición\ 2|}{Pr\ omedio(Re\ petición\ 1 + Re\ petición\ 2)} \times 100$$

5. Si el $\%$ de diferencia de las repeticiones señaladas en el punto anterior es mayor que $\pm 15\%$, entonces el promedio del valor original, el valor de la repetición 1 y el valor de la repetición 2, es usado para los cálculos finales.
6. El valor original es usado si no existe plasma suficiente para efectuar el re-análisis.

3.4.3. Análisis farmacocinético

A partir de los datos de concentración plasmática, se graficaron los perfiles de concentración vs. tiempo de muestreo para cada voluntario y se obtuvieron para cada sujeto los siguientes parámetros farmacocinéticos utilizando el paquete computacional Biopak® 2.0:

- 1.- El área bajo la curva de concentración plasmática desde el tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo (ABC_{0-t}), por el método trapezoidal.
- 2.- El área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada desde el último tiempo de muestreo a tiempo infinito ($ABC_{t-\infty}$), el cual se determinó dividiendo la última concentración plasmática entre la pendiente terminal (BETA).
- 3.- El área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración (tiempo cero) a tiempo infinito ($ABC_{0-\infty}$), fue calculada al realizar la suma de el (ABC_{0-t}) y ($ABC_{t-\infty}$).
- 4.- La concentración plasmática máxima (C_{max}), que fue determinada directamente de la curva de concentración plasmática-tiempo.
- 5.- El tiempo al cual se alcanza la concentración plasmática máxima (t_{max}), determinado directamente de la curva de concentración plasmática-tiempo.

3.4.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico se efectuó utilizando el programa computacional SigmaStat®. Mediante las pruebas estadísticas de

PARTE EXPERIMENTAL

normalidad (Kolmogorov-Smirnov), igualdad de varianza (Levene Median), ANOVA y t de student se evaluó el efecto del género en la farmacocinética del Ketorolaco.

RESULTADOS
Y
ANÁLISIS
DE RESULTADOS

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO POR CLAR PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA

La fase móvil de elección consistió de una mezcla de Solución amortiguadora de Acetato de sodio 0.05 M pH 4/Acetonitrilo en proporción 75:25 (v/v) a una velocidad de flujo de 1.5 mL/min, ya que fue la que permitió obtener mejores parámetros cromatográficos de resolución, k' y simetría de los picos. Otras fases móviles evaluadas se descartaron ya que se observaban picos coleados o asimétricos.

La solución para acidificar el medio en la extracción de Ketorolaco de la muestra plasmática fue el ácido fosfórico 0.1 M. Con esta solución se obtuvo un recobro superior a los obtenidos con acetato de sodio. Con la solución de ácido fosfórico se logró obtener un pH menor al pKa del Ketorolaco permitiendo una mejor extracción de la forma no ionizada y por tanto un recobro mayor.

Las condiciones cromatográficas establecidas para el análisis de la muestras después de la optimización del método fueron:

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 4 Condiciones cromatográficas

Detector	Arreglo de diodos Waters 996
Longitud de Onda	313 nm
Columna	Novapak C18 150 x 3.9 mm Tamaño de partícula de 4 μ m
Precolumna	Insertos para columna Novapak C18
Fase Móvil	Acetonitrilo/Solución amortiguadora de acetato de sodio 0.05 M pH 4.0 (25:75)
Velocidad de flujo	1.5 mL/min
Volumen de inyección	80 μ L
Temperatura de análisis	Temperatura ambiente
Tiempo de corrida	13 minutos

Bajo las condiciones establecidas anteriormente se obtuvieron los siguientes parámetros cromatográficos:

Tabla 5 Parámetros cromatográficos evaluados

Parámetro	Ketorolaco trometamina	Estándar Interno
Tiempo de retención (min)	4.52	8.35
K'	4.65	9.44
Simetría	1.21	1.17
Resolución	11.83	11.83

El método de extracción seleccionado para las muestras plasmáticas se presenta en la siguiente figura:

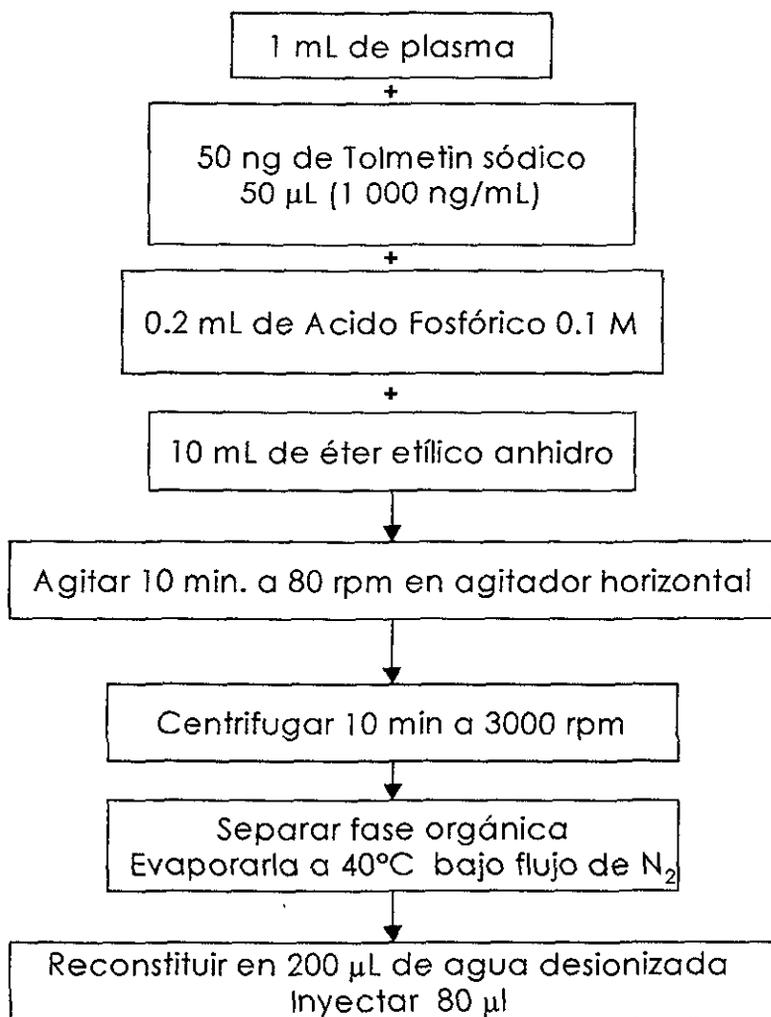


Figura 5. Esquema de extracción para cuantificar Ketorolaco en plasma

4.2. VALIDACIÓN DEL SISTEMA

4.2.1. Linealidad y precisión del sistema

En la tabla 6 se muestran los resultados de la evaluación de linealidad y precisión del sistema:

Tabla 6 Linealidad y precisión del sistema

Concentración (ng/mL)	Curva 1 Relación Alturas	Curva 2 Relación Alturas	Curva 3 Relación Alturas	Promedio	D.E.	C.V. %
5	0.0144	0.0141	0.0144	0.0143	0.0002	1.36
10	0.0281	0.0285	0.0279	0.0282	0.0003	1.09
25	0.0699	0.0703	0.0699	0.0701	0.0002	0.35
50	0.1391	0.1402	0.1407	0.1399	0.0008	0.59
100	0.2797	0.2818	0.2802	0.2806	0.0011	0.38
250	0.7066	0.7041	0.7037	0.7048	0.0016	0.22
500	1.4116	1.4144	1.4165	1.4142	0.0025	0.18
1000	2.8136	2.8325	2.8162	2.8208	0.0103	0.36
1500	4.2406	4.2550	4.2524	4.2494	0.0077	0.18
m	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028		
b	-0.0013	-0.0017	-0.0017	-0.0016		
r	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999		
Error relativo debido a la regresión	0.3980	0.1947	0.1886			

La figura 6 corresponde a la gráfica de relación de alturas promedio vs. concentración. En ella se observa el ajuste realizado por mínimos cuadrados.

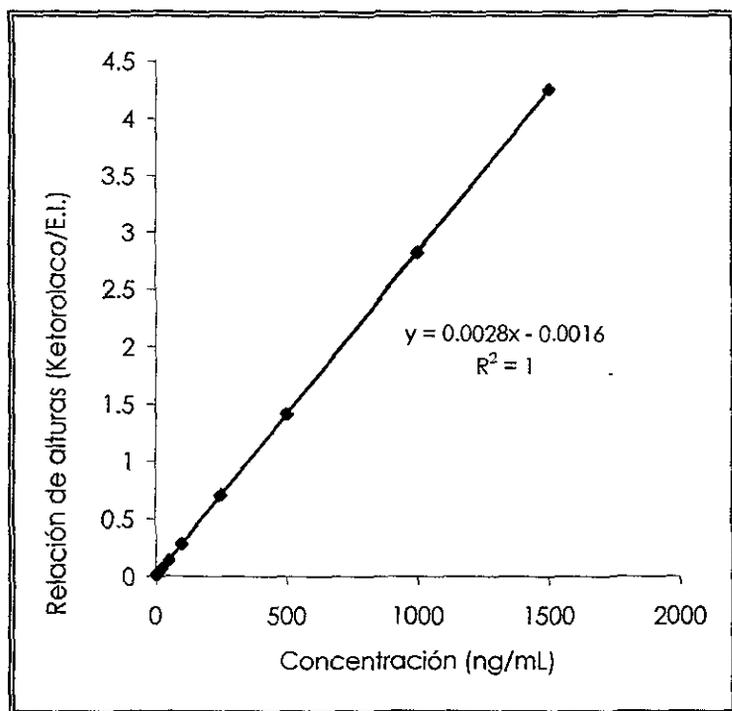


Figura 6. Linealidad del sistema

Al realizar el ajuste por mínimos cuadrados se obtuvieron coeficientes de correlación de 0.9999 y errores debidos al a regresión menores al 2%.

Al evaluar el coeficiente de variación del factor de respuesta los valores obtenidos fueron menores al 2% para cada curva, así como para el promedio, lo cual nos demuestra la precisión entre los puntos. Los resultados anteriores demuestran que el sistema fue lineal y preciso en el intervalo de concentraciones de 5 a 1500 ng/mL.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR KETOROLACO EN PLASMA

Una vez establecidas las condiciones de análisis, se realizó la validación del método. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

4.3.1. Linealidad del método

En la tabla 7, se presentan los valores de pendiente (m), intercepto (b) y coeficiente de regresión (r) obtenidos a partir del ajuste por mínimos cuadrados de las tres curvas de calibración de Ketorolaco evaluadas en un mismo día de trabajo, mientras que en la figura 7 se presenta la grafica promedio de la relación de alturas con respecto a la concentración plasmática de Ketorolaco en el intervalo de 5-1500 ng/mL.

Tabla 7 Linealidad del método

Concentración (ng/mL)	Curva 1 relación Alturas	Curva 2 relación Alturas	Curva 3 relación Alturas	Promedio	D.E.	C.V.%
5	0.0139	0.0126	0.0162	0.0142	0.0015	10.4577
10	0.0308	0.0299	0.0307	0.0305	0.0004	1.3220
25	0.0785	0.0762	0.0766	0.0771	0.0010	1.3013
50	0.1418	0.1402	0.1421	0.1414	0.0008	0.5900
100	0.2884	0.2579	0.2973	0.2812	0.0169	5.9998
250	0.7469	0.6925	0.7177	0.7190	0.0222	3.0915
500	1.4510	1.4400	1.3944	1.4285	0.0245	1.7154
1000	2.9610	3.0103	2.7182	2.8965	0.1277	4.4079
1500	4.3648	4.2516	4.2467	4.2877	0.0546	1.2724
m	0.0029	0.0029	0.0028			
b	0.0027	-0.0022	0.0027			
r	0.9999	0.9993	0.9997			

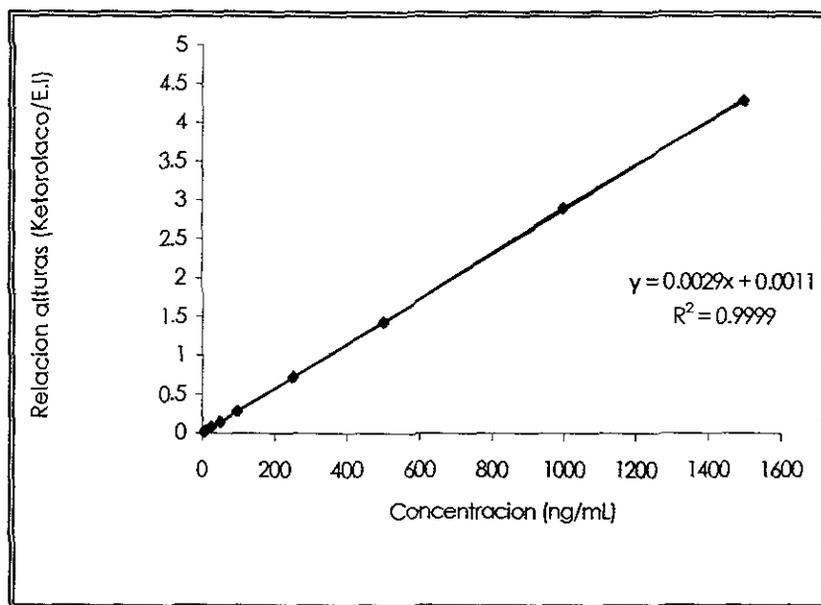


Figura 7. Linealidad del método

Como se puede observar el coeficiente de correlación obtenido para cada una de las curvas de calibración fue superior a 0.999. Adicionalmente el coeficiente de variación para cada valor de concentración fue menor al 15%.

De acuerdo a lo anterior, el método para cuantificar Ketorolaco en plasma fue lineal en el intervalo de concentraciones de 5-1500 ng/mL.

4.3.2. Precisión y exactitud del método

4.3.2.1. Repetibilidad

En la tabla 8 se presentan los resultados correspondientes a la evaluación de la repetibilidad y exactitud del método.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 8 Repetibilidad y exactitud del método analítico para cuantificar Ketorolaco en plasma

Cantidad recuperada (ng/mL)			
Muestra	Control Bajo (40 ng/mL)	Control Medio (400 ng/mL)	Control Alto (1250 ng/mL)
1	40.29	404.39	1248.18
2	37.24	388.27	1208.23
3	37.74	390.36	1250.67
4	37.49	348.41	1280.51
5	32.31	364.31	1170.16
6	37.32	376.79	1177.67
Promedio	37.06	378.76	1222.57
D.E.	2.60	20.08	44.21
C.V.%	7.01	5.30	3.62
Cantidad Adicionada (ng/mL)	40	400	1250
Desv. Abs%	7.34	5.31	2.19

En lo referente a repetibilidad se observa que la variación en los diferentes niveles de concentración no excede el 15%, y la desviación absoluta muestra un valor máximo de 7.34%, encontrándose dentro del límite permitido.

4.3.2.2. Reproducibilidad

En la tabla 9 se presentan los resultados de reproducibilidad del método.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 9 Reproducibilidad del método analítico para cuantificar Ketorolaco en plasma

Día	No. Réplica	Cantidad recuperada (ng/mL)		
		Control bajo (40 ng/mL)	Control medio (400 ng/mL)	Control alto (1250 ng/mL)
1	1	40.29	404.39	1248.18
	2	37.24	388.27	1208.23
2	1	41.63	394.37	1226.07
	2	40.66	402.08	1145.47
3	1	39.00	417.94	1217.72
	2	42.18	381.89	1195.09
Promedio		40.17	398.16	1206
D.E.		1.81	12.82	34.94
C.V.%		4.51	3.22	2.90
Cantidad Adicionada (ng/mL)		40	400	1250
Desv. Abs %		0.41	0.46	3.46

En la tabla 9 observamos que los tres niveles de concentración muestran en los diferentes días de trabajo una variación de 2.90-4.51%, valores que se encuentran dentro del límite permitido del $\pm 15\%$ del valor real. En cuanto a la exactitud, se encontraron valores que van de 0.41 al 3.46% de desviación absoluta, de acuerdo a lo anterior, el método para cuantificar Ketorolaco en plasma se considera preciso y exacto.

4.3.3. Límite de cuantificación

El límite de cuantificación fue de 5 ng/mL. En este nivel de concentración, la precisión fue de 14.6% y la exactitud evaluada mediante la desviación absoluta fue de 8.2%. Los valores anteriores se encuentran dentro del intervalo de $\pm 20\%$ del valor nominal, mientras que concentraciones menores a 5 ng/mL mostraron una variación mayor.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.3.4. Límite de detección

Considerando como límite de detección a aquella concentración cuya respuesta representara tres veces el nivel de ruido el valor obtenido fue de 1.0 ng/mL.

4.3.5. Recobro o recuperación absoluta

En la tabla 10 se presentan los porcentajes de recobro de Ketorolaco a partir de muestras plasmáticas

Tabla 10 Recobro de Ketorolaco de plasma humano

Estándar	Estándar en Plasma (extraído) relación de alturas (Ketorolaco/E.I.)	Estándar en Agua (no extraído) relación de alturas (Ketorolaco/E.I.)	Recobro %
Control alto 1250 ng/mL	3.5811	3.5358	96.81
	3.4665	3.5624	
	3.5883	3.5488	
	3.6738	3.5307	
	3.3573	3.5678	
	3.5334	3.5491	
Control medio 400 ng/mL	1.1609	1.1303	96.70
	1.1147	1.1379	
	1.1207	1.1170	
	1.0004	1.1162	
	1.0460	1.1274	
	1.0885	1.1258	
Control bajo 40 ng/mL	0.1166	0.1119	97.29
	0.1079	0.1193	
	0.1093	0.1125	
	0.1093	0.1117	
	0.1086	0.1122	
	0.1105	0.1135	

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como se observa, el recobro para los tres niveles fue mayor al 96%, lo que nos indica que la técnica utilizada para la extracción de Ketorolaco de muestras plasmáticas, permite obtener una buena recuperación. Asimismo, el recobro fue constante en el intervalo de concentraciones analizadas, ya que aún a las concentraciones más bajas del intervalo de concentración el fármaco se recuperó más del 95%.

4.3.6. Estabilidad

En la tabla 11, se muestran los resultados correspondientes al análisis de las muestras sometidas a dos ciclos de congelación-descongelación a los 7 y 14 días.

Tabla 11 Estabilidad de Ketorolaco en ciclos de congelación-descongelación

Día 0			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	40.29	404.39	1248.18
	37.24	388.27	1208.23
Promedio	38.76	396.33	1228.21
Día 7			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	39.94	383.44	1261.23
	39.30	394.26	1217.55
Promedio	39.62	388.85	1239.39
Desv. abs%	2.21	1.89	0.91
Día 14			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	42.40	408.38	1260.16
	38.45	399.17	1214.91
Promedio	40.43	403.78	1237.54
Desv. abs%	4.31	1.88	0.76

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los resultados anteriores se observa que las muestras plasmáticas conteniendo Ketorolaco son estables en congelación a -70°C , aún después de someterlas a dos ciclos de congelación-descongelación.

La tabla 12 muestra los resultados del análisis de muestras almacenadas en refrigeración (5°C) durante 14 días, en los cuales podemos observar que las muestras plasmáticas conteniendo Ketorolaco son estables durante 14 días en refrigeración a 5°C .

Tabla 12 Estabilidad de Ketorolaco en refrigeración.

Día 0			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	37.74	390.36	1250.67
	37.49	348.41	1280.51
Promedio	37.62	369.39	1265.59
Día 7			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	39.23	391.71	1211.05
	39.91	414.69	1289.72
Promedio	39.57	403.20	1250.39
Desv. abs%	5.18	9.15	1.20
Día 14			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	40.46	388.66	1206.64
	38.74	371.93	1135.85
Promedio	39.60	380.29	1171.24
Desv. abs%	5.26	2.95	7.47

En la tabla 13 se muestran los resultados del análisis de muestras de plasma almacenadas a temperatura ambiente.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 13 Estabilidad de Ketorolaco a temperatura ambiente.

Tiempo 0			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	32.31	364.31	1170.16
	37.32	376.79	1177.67
Promedio	34.82	370.55	1173.92
24 horas			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	33.91	364.32	1060.40
	39.10	395.00	1197.95
Promedio	36.51	379.66	1129.18
Desv. abs%	4.84	2.46	3.81
48 horas			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	32.16	336.79	1037.45
	36.77	362.47	1109.01
Promedio	34.47	349.63	1073.23
Desv. abs%	1.00	5.65	8.58

De los resultados anteriores se puede observar que las muestras son estables a temperatura ambiente durante 48 horas.

La tabla 14 corresponde a los resultados de muestras plasmáticas procesadas y almacenadas bajo condiciones normales de laboratorio, y que se analizaron a los tiempos: 0, 24, 48 y 96 horas después de haberlas procesado.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

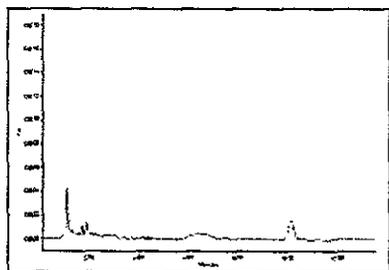
Tabla 14 Estabilidad de muestras procesadas de Ketorolaco bajo condiciones normales de laboratorio. (Relación de alturas Ketorolaco/E.I.)

Tiempo 0			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	0.1132	1.1170	3.4043
	0.1059	1.0734	3.4712
Promedio	0.1096	1.0952	3.4378
24 Horas			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	0.1110	1.1074	3.4212
	0.0987	1.0703	3.4837
Promedio	0.1049	1.0889	3.4525
Desv. abs%	4.29	0.58	0.43
48 Horas			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	0.1080	1.0667	3.2952
	0.0999	1.0344	3.3492
Promedio	0.1039	1.0505	3.3222
Desv. abs%	5.16	4.08	3.36
96 Horas			
	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
	0.1095	1.0908	3.3770
	0.1044	1.0567	3.4123
Promedio	0.1070	1.0738	3.3947
Desv. abs%	2.37	1.95	1.25

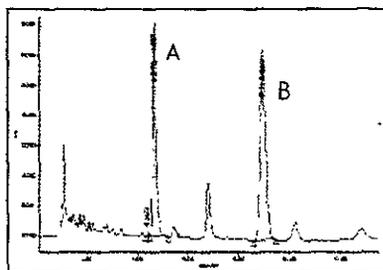
Con base a los resultados anteriores y a que los valores de las replicas se encuentran dentro del limite del $\pm 15\%$ del valor nominal para los tres niveles de concentración, se considera que el Ketorolaco es estable 96 horas posteriores a su preparación bajo condiciones normales de laboratorio.

4.3.7. Selectividad

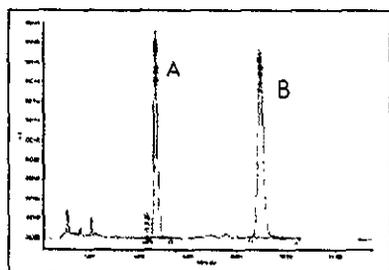
En la figura 8 se presentan los cromatogramas correspondientes a la evaluación de selectividad



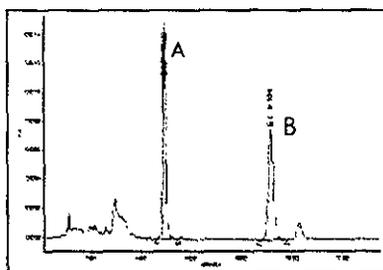
Blanco de plasma



Muestra de Ketorolaco
adicionada con E.I.,
Heparina y fármacos de uso
común



Punto de una curva de
calibración 500 ng/mL



Cromatograma típico de un
voluntario

A = KETOROLACO

B = E.I.

Figura 8 Selectividad del método

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los resultados anteriores se observa que el método para Ketorolaco es selectivo, ya que ni fármacos (Parecetamol, Ranitidina y Ácido acetilsalicílico) así como heparina utilizada como anticoagulante ni la matriz biológica interfieren con la cuantificación de Ketorolaco.

Con base a los resultados obtenidos se consideró al método analítico como confiable para la cuantificación de Ketorolaco en plasma.

4.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS DE VOLUNTARIOS

Una vez que se concluyó la validación del método analítico, se realizó el análisis de las muestras de los 24 voluntarios.

En cada corrida se analizaron las muestras correspondientes a tres voluntarios, simultáneamente se realizó el análisis de una curva de calibración y de puntos control de calidad para evaluar la validez de la corrida. Asimismo, la curva de calibración se utilizó para interpolar los valores de relación de alturas (Ketorolaco/E.I.) de las muestras de los voluntarios mediante un ajuste por mínimos cuadrados y así obtener la concentración de Ketorolaco a cada tiempo de muestreo.

Se realizaron 9 corridas, de las cuales 8 correspondieron a las muestras de los voluntarios y en la corrida 9 se realizaron las repeticiones de aquellas muestras cuyos valores no se encontraron dentro del intervalo de concentración validado.

En la tabla 15 se presenta el seguimiento de las curvas de calibración para cuantificar Ketorolaco en plasma en la que se observa una mínima variación de las curvas de calibración durante el estudio, ya que la mayoría de los coeficientes de variación no excede el 15% del valor original, sin embargo, dado que en ciertos días de trabajo, en algunas concentraciones la cantidad recuperada excedía el 15% del valor original,

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

dichos valores no se incluyeron en la curva correspondiente al día de trabajo, sin que ello afectara a la interpolación de los datos de los voluntarios ya que en su mayoría eran valores intermedios en el intervalo de concentraciones evaluadas.

Tabla 15 Seguimiento de las curvas de calibración

Corrida	Voluntarios	Cantidad recuperada Ketorolaco en plasma (ng/mL)									Intercepto	Pendiente	Coeficiente de correlación
		5	9.6	*	*	114.3	230.6	493.9	1021.9	1489.7			
1	1,2,3	5	9.6	*	*	114.3	230.6	493.9	1021.9	1489.7	-0.001	1.00	0.9996
2	4,5,6	4.3	*	21.8	50.7	107.0	253.4	490.7	*	1502.1	0.0019	1.00	0.9999
3	7,8,9	5.8	9.8	24.2	53.8	110.1	250.1	486.4	988.5	1511.1	0.0164	1.00	0.9999
4	10,11,12	4.1	10.6	*	49.8	99.9	252.0	505.7	985.3	1507.6	-0.006	1.00	0.9999
5	13,14,15	5.3	11.4	26.8	50.2	107.1	240.1	496.7	1000.6	1501.9	-0.001	1.00	0.9999
6	16,17,18	4.2	10.7	25.5	50.1	105.4	249.0	497.6	990.9	1506.7	0.0073	1.00	0.9999
7	19,20,21	4.1	8.8	23.2	46.5	105.4	244.7	510.9	997.7	1498.6	-0.000	1.00	0.9999
8	22,23,24	5.0	11.4	26.0	54.3	99.8	249.6	497.9	986.6	1509.6	-0.002	1.00	0.9999
9	REP	4.7	10.0	26.3	50.9	100.6	252.4	*	986.7	1508.4	0.003	1.00	0.9999
Promedio		4.7	10.3	24.8	50.8	105.5	246.9	497.5	994.8	1504.0	0.0020	1.00	0.9999
D.E.		0.6	1	1.8	2.4	4.9	7.4	7.8	12.3	6.7			
C.V.%		12.7	8.8	7.4	4.8	4.6	3.0	1.6	1.2	0.4			
Concentración nominal (ng/mL)		5	10	25	50	100	250	500	1000	1500			
Desv. abs%		5.49	2.73	0.66	1.56	5.52	1.2	0.5	0.5	0.3			

(*) Valores que excedían el 15% del valor original.

En la tabla 16 se presentan los valores de las muestras control para cada corrida.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 16 Seguimiento de los puntos control de calidad

Comida	Control Bajo 40 ng/mL	Control Medio 400 ng/mL	Control Alto 1250 ng/mL
1	48.00	372.00	1214.14
	33.49	407.08	1365.93
	41.36	*	1396.79
2	38.11	406.82	1296.44
	38.07	398.44	1246.37
	37.13	408.43	1258.00
3	38.65	400.05	1217.05
	39.47	407.33	1233.11
	38.88	396.31	1199.71
4	37.55	402.05	1198.15
	39.05	400.71	1202.80
	39.15	400.46	1219.35
5	46.52	469.81	1375.78
	47.34	472.98	1383.63
	47.32	467.60	1354.75
6	42.65	437.05	1310.87
	42.43	436.50	1304.58
	41.38	427.69	1286.93
7	36.58	421.08	1280.48
	34.92	417.15	1258.93
	38.93	419.05	1257.62
8	40.98	425.11	1246.63
	40.88	430.18	1249.33
	41.74	418.81	1229.12
9	42.35	433.31	1273.45
	42.33	430.60	1262.88
	43.47	444.18	*
Promedio	40.69	421.18	1273.95
D.E.	3.684	24.161	59.421
C.V.%	9.05	5.74	4.66
Concentración nominal (ng/mL)	40	400	1250
Desv. abs%	1.73	5.30	1.92

(*) Valores que excedían el 20% del valor nominal

Como se observa, ninguna de las comidas fue rechazada, ya que cumplió con el criterio de que 2/3 muestras control debían encontrarse

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

dentro del $\pm 20\%$ del valor nominal.

En el caso de las muestras de voluntarios que presentaron un valor fuera del intervalo de concentración evaluado en la curva de calibración, y fueron reanalizadas en la corrida nueve, se considero como criterio para determinar la concentración final que el valor de la repetición debía encontrarse dentro del límite del $\pm 15\%$ del valor original, para lo cual se decidió tomar el valor de la primera lectura para el análisis final.

4.5. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Los resultados que se muestran a continuación corresponden a la cuantificación de los niveles de Ketorolaco en plasma. También se presentan los resultados de los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de los datos de concentración plasmática.

En la tabla 17 , se presentan los valores promedio de concentración plasmática de Ketorolaco y la grafica que los representa corresponde a la figura 9 y en la figura 10 se presenta su transformación logarítmica.

Tabla 17 Concentración promedio de Ketorolaco en plasma con respecto al tiempo

Tiempo (h)	Concentración \pm D.E. (ng/mL)
0	0.00 \pm 0.0
0.167	455.54 \pm 492.68
0.333	1356.67 \pm 477.65
0.667	1488.16 \pm 329.43
1	1199.69 \pm 304.01
2	732.85 \pm 219.49
3	565.36 \pm 248.80
4	388.50 \pm 119.13
6	222.79 \pm 96.38
8	168.99 \pm 77.21
12	83.38 \pm 50.35
24	24.89 \pm 18.99

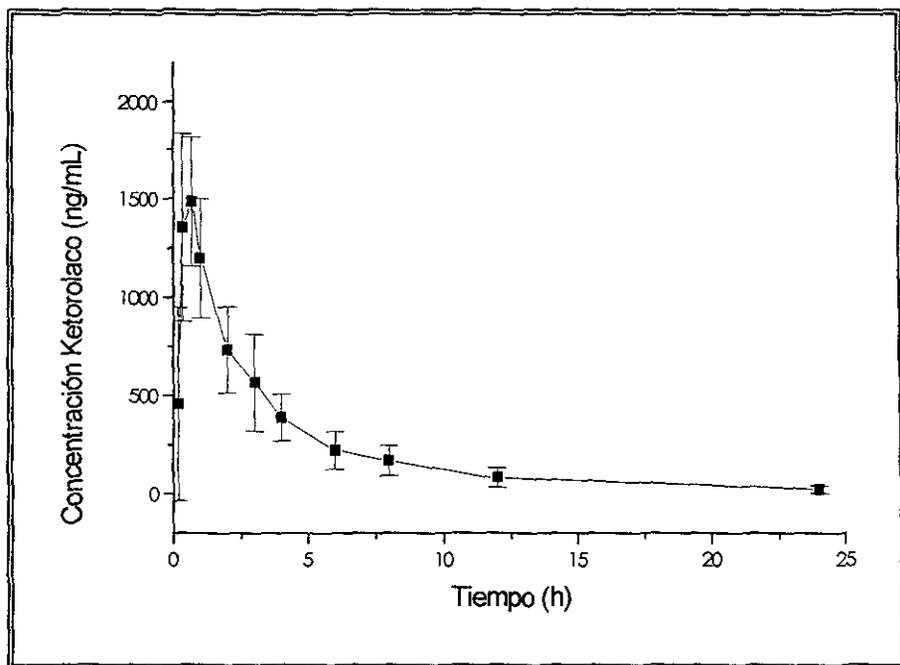


Figura 9 Gráfica de Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo.

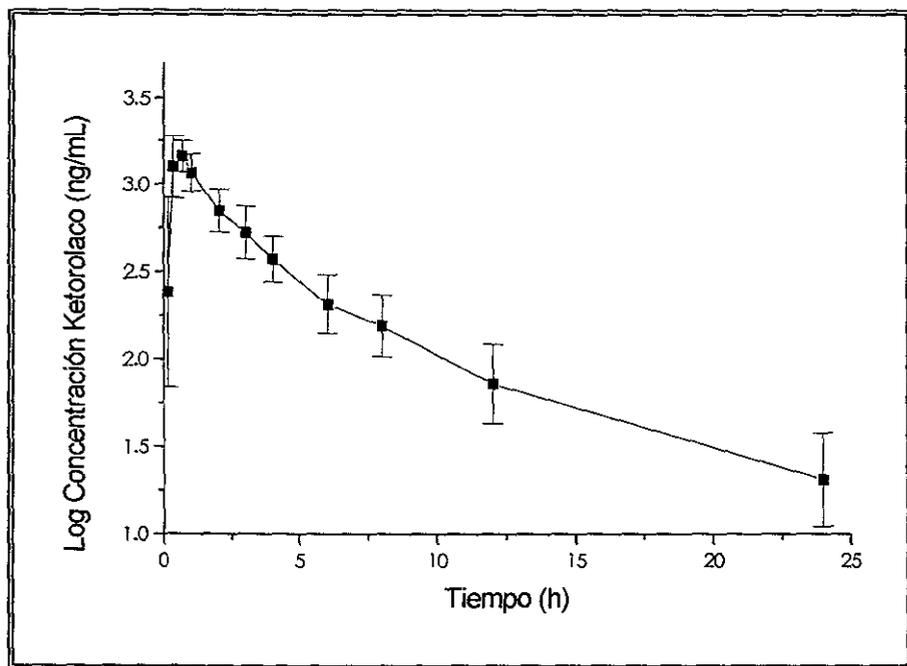


Figura 10 Gráfica de Log Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo

Los resultados para cada voluntario se presentan en el Apéndice I.

En la tabla 18 se presentan los parámetros farmacocinéticos promedio de los 24 voluntarios entre ellos: Área bajo la curva (ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$), Concentración plasmática máxima (C_{max}), tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima (t_{max}) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$). Los resultados individuales de encuentran en el Apéndice II.

Tabla 18 Parámetros farmacocinéticos promedio

Parámetro farmacocinético	Promedio \pm D.E.
ABC ₀₋₁ (ng*h/mL)	5343.00 \pm 1523.19
ABC _{0-∞} (ng*h/mL)	5525.72 \pm 1662.53
C _{max} (ng/mL)	1628.07 \pm 343.98
t _{max} (h)	0.51 \pm 0.21
t _{1/2} (h)	4.54 \pm 0.85

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.6.1. Influencia del género en la biodisponibilidad de Ketorolaco

Debido a que la población de estudio se encontraba conformada por mujeres y hombres se analizó el efecto del género en la farmacocinética del Ketorolaco. Para el análisis estadístico se empleo el programa computacional Sigma Stat®.

En la tabla 19 se presentan los resultados de concentración plasmática de Ketorolaco vs. tiempo para cada género.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 19 Concentración plasmática de Ketorolaco en hombres y mujeres con respecto al tiempo.

Tiempo (h)	Concentración promedio de Ketorolaco \pm D.E. (ng/mL)	
	Hombres	Mujeres
0	0.00 \pm 0.0	0.00 \pm 0.00
0.167	477.39 \pm 581.94	433.69 \pm 409.67
0.333	1230.65 \pm 333.63	1482.68 \pm 575.39
0.667	1308.24 \pm 170.74	1668.08 \pm 356.56
1	1034.20 \pm 233.56	1365.17 \pm 280.98
2	598.70 \pm 121.21	866.99 \pm 216.28
3	528.10 \pm 320.43	602.62 \pm 154.05
4	335.02 \pm 64.22	441.97 \pm 138.96
6	206.09 \pm 57.88	239.50 \pm 124.35
8	157.94 \pm 56.22	180.05 \pm 95.06
12	86.85 \pm 48.98	79.90 \pm 53.61
24	22.72 \pm 12.52	26.89 \pm 23.88

En la figura 10 se muestra la gráfica correspondiente a los datos obtenidos tanto en hombres como en mujeres.

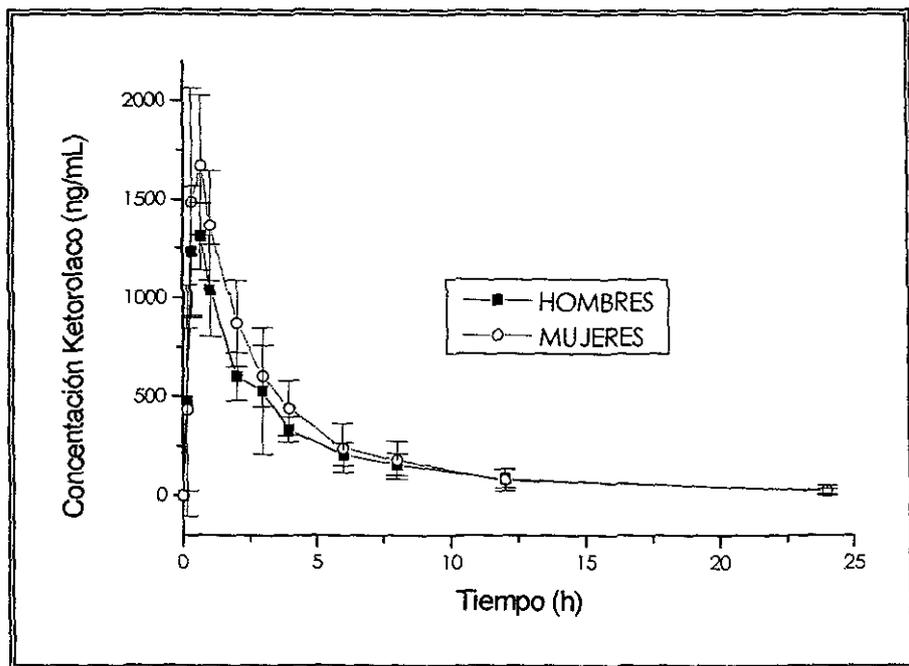


Figura 11 Gráfica de Concentración plasmática promedio de Ketorolaco \pm D.E. vs. tiempo para hombres y mujeres.

Como se puede observar en la gráfica anterior, el valor de C_{max} para las mujeres es mayor que el presentado por los hombres. En la tabla 20 se encuentran los parámetros farmacocinéticos obtenidos en ambos géneros, así como el resultado de la evaluación estadística mediante una prueba de ANOVA y t de student.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 20 Parámetros farmacocinéticos para hombres y mujeres y su evaluación estadística

Parámetro farmacocinético	Hombres	Mujeres	ANOVA	t de student
ABC _{0-t}	4824.65 ± 1167.73	5861.35 ± 1703.33	Existe diferencia P = 0.00787	Existe diferencia P = 0.0079
ABC _{0-∞}	4998.40 ± 1249.40	6053.03 ± 1900.43	Existe diferencia P = 0.0127	Existe diferencia P = 0.0127
C _{max}	1447.38 ± 252.10	1808.75 ± 335.58	Existe diferencia P = 0.00531	Existe diferencia P = 0.0053
t _{max}	0.49 ± 0.24	0.53 ± 0.17	Kruskal-Wallis NS P = 0.231	Mann-Whitney NS P = 0.310
t _{1/2}	4.70 ± 0.96	4.38 ± 0.73	NS P = 0.238	NS P = 0.2377

NS = No significativo

Los resultados del análisis estadístico muestran diferencias en los parámetros de ABC_{0-t}, ABC_{0-∞} y C_{max}, sin embargo estas diferencias podrían atribuirse a las variaciones de peso existentes entre hombres y mujeres, por lo cual se decidió realizar el ajuste de los parámetros farmacocinéticos con respecto al peso corporal de los individuos. Se consideró un factor de corrección correspondiente al cociente entre la dosis administrada a cada individuo y el peso corporal.

En el Apéndice III se presentan los datos de peso corporal de los 24 voluntarios y el factor de corrección utilizado.

Los parámetros farmacocinéticos corregidos se muestran en la tabla 21.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos promedio corregidos \pm D.E.

Parámetro farmacocinético	Hombres	Mujeres
ABC _{0-T}	33425.82 \pm 9896.19	34037.23 \pm 9860.33
ABC _{0-∞}	34647.94 \pm 10573.50	35983.89 \pm 11022.25
C _{max}	9908.09 \pm 1783.15	110930.96 \pm 2690.63
t _{max}	3.36 \pm 1.67	3.13 \pm 1.30
t _{1/2}	32.60 \pm 8.60	26.37 \pm 6.90

Se efectuó nuevamente el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos por género y los resultados correspondientes se resumen en la tabla 22.

Tabla 22 Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos corregidos de hombres y mujeres.

Parámetro farmacocinético	Prueba de Normalidad	Prueba de Igualdad de Varianza	ANOVA	Prueba de t	Poder
ABC _{0-T}	Cumplió P = 0.3991	Cumplió P = 0.7586	NS P = 0.733	NS P = 0.7335	0.477
ABC _{0-∞}	Cumplió P = 0.4269	Cumplió P = 0.8330	NS P = 0.768	NS P = 0.7684	0.0477
C _{max}	Cumplió P = 0.3451	Cumplió P = 0.3710	NS P = 0.297	NS P = 0.2974	0.0616
t _{max}	Cumplió P = 0.1939	Cumplió P = 0.1980	NS P = 0.681	NS P = 0.6807	0.0477
t _{1/2}	Cumplió P = 0.7384	Cumplió P = 0.3519	NS P = 0.0589	NS P = 0.589	0.3641

De acuerdo a los resultados anteriores se puede decir que no existe efecto del género en la farmacocinética del Ketorolaco.

Tanto la prueba de normalidad como la de igualdad de varianza determinaron que los parámetros evaluados presentan una distribución normal. Sin embargo como se puede observar en la tabla, el poder de las pruebas es muy bajo indicando poca confiabilidad de los resultados por lo

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

que se sugiere incrementar el número de individuos que conforman la muestra poblacional para poder concluir con confianza.

4.6.2. Comparación de parámetros farmacocinéticos obtenidos en población mexicana con otras poblaciones

Adicionalmente se realizó una comparación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos en población mexicana y aquellos reportados en población caucásica, y así evaluar una posible variación entre poblaciones. En la tabla 23 se presentan los parámetros farmacocinéticos ABC $0-\infty$, C_{max} y t_{max} obtenidos en población mexicana y aquellos reportados en la literatura en población caucásica.

Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos de Ketorolaco en población mexicana y otras poblaciones.

Parámetro farmacocinético	Población Mexicana	Población Caucásica ⁽¹⁴⁾
ABC $0-\infty$ (ng*h/mL)	5525.72 ± 1662.53	3969 ± 324.1
C _{max} (ng/mL)	1628.07 ± 343.98	934.0 ± 66.7
t _{max} (h)	0.51 ± 0.21	0.57 ± 0.10
t _{1/2} (h)	4.54 ± 0.85	5.3 ± 1.2

Como se puede observar, los datos obtenidos en población mexicana muestran diferencia con aquellos reportados para la población caucásica, sin embargo no fue posible realizar la comparación estadística entre ambas poblaciones debido a que no contamos con el número de individuos utilizados en el estudio en población caucásica. Por lo cual no es posible concluir acerca de las diferencias entre poblaciones. Cabe mencionar que en un estudio similar realizado en población mexicana⁽¹⁶⁾ se encontraron resultados semejantes a los obtenidos en este estudio.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- El método analítico para cuantificar Ketorolaco en plasma, por Cromatografía de líquidos de Alta Resolución, fue exacto, preciso, selectivo, lineal en el intervalo de 5 a 1500 ng/mL y estable bajo condiciones experimentales.
- El método analítico es sencillo y fácil por lo que permite su uso de manera rutinaria, así como su aplicación en otros estudios farmacocinéticos.
- La evaluación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para hombre y mujeres después de realizar una corrección por peso corporal muestra que no existe influencia del género en la farmacocinética del Ketorolaco, sin embargo se sugiere incrementar el número de voluntario para obtener una mayor confiabilidad de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

1. http://escuela.med.puc.cl/publicaciones/Boletín/html/dolor3_6.html
2. Hardman, Joel G. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 9a. edición. Editorial Médica Panamericana México. 1997. pp. 661-684
3. Arancibia, A. Biodisponibilidad de Medicamentos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 1ª edición. Chile. 1992. pp 15, 25-50, 239,245, 267-275, 277-280.
4. <http://www.healthing.com/medicamentos/medicamentos44.html>
5. Cárdenas, H. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana. 1ª. edición. México. 1996. pp. 19-28, 31-43. 109-133, 231-246.
6. Weelling, Peter. Pharmaceutical bioequivalence. Marcel Dekker, Inc. USA. 1991. p 17.
7. 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.
8. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas DEE. Ediciones PLM 1999. 45 edición. México. pp. 14, 65, 66, 614-616, 634-636, 793, 794, 907, 908, 1869-1871.
9. Merck & Co., Inc. The Merk Index. 9a. edición. Rahway, N.J. USA. 1980.
10. <http://infodocto.org/dolor/APO24.html>

BIBLIOGRAFÍA

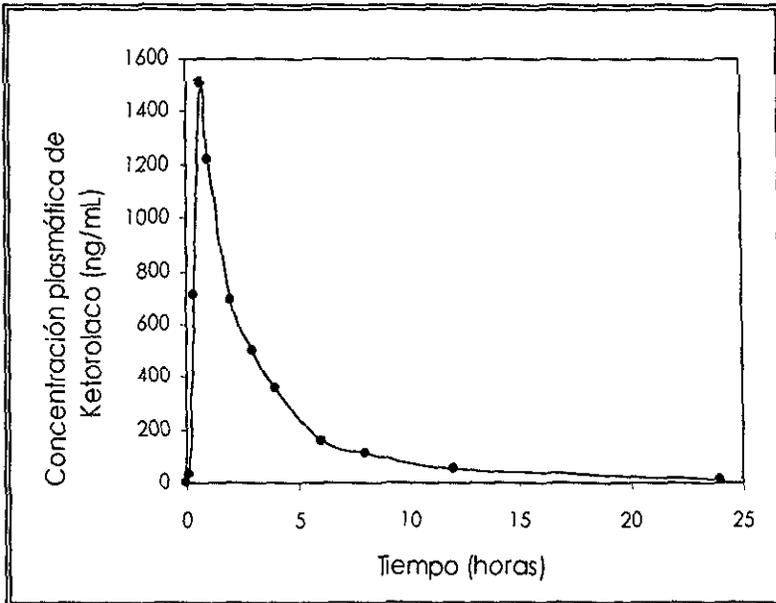
11. Stites, Daniel P. Inmunología Básica y Clínica. 9ª. edición. El Manual Moderno. México. 1998. pp. 1041-1043.
12. <http://www.nursespr.com/members/database/ndrhtml/ketorolactromethamine.html>
13. <http://kerovac.pharm.uky.edu/ASRG/HPLC/hplcmtry.html>
14. Chaudhary, R. S. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of ketorolac and its application to bioequivalence studies in human serum. J Chromatogr. 614 (1993) pp 180-184.
15. Mills, M. H. Determination of ketorolac enantiomers in plasma using enantioselective liquid chromatography on an α 1-acid glycoprotein chiral stationary phase and ultraviolet detection. J chromatogr B. 658 (1994) pp. 177-182.
16. Flores-Murrieta, Francisco. Comparative bioavailability of two oral formulations of ketorolac trometamine: Dolac® and Exdol®. Biopharmaceutics & Drugs Disp. 15(1994) pp. 129-136.
17. Anne, T. Wu. Simultaneous determination of ketorolac and its hydroxylated metabolite in plasma by high-performance liquid chromatography. J cromatogr. 534 (1990) pp 241-246.
18. Kauffman, Ralph E. Enantiomer-selective pharmacokinetics and metabolism of ketorolac in children. Clinical Pharm Ther. 65 (1999) pp 382-388.
19. <http://www.jornada.unam.mx/1998/ene98/980104/mercado.html>
20. <http://profesional.medicinatu.com/reportajes/genericos/>
21. Bioequivalencia y productos genéricos. Artículo técnico. Informaceutico. AFM. Vol. 4. Num. 4. Agosto-Septiembre 1997. pp. 26-32.

APÉNDICE I

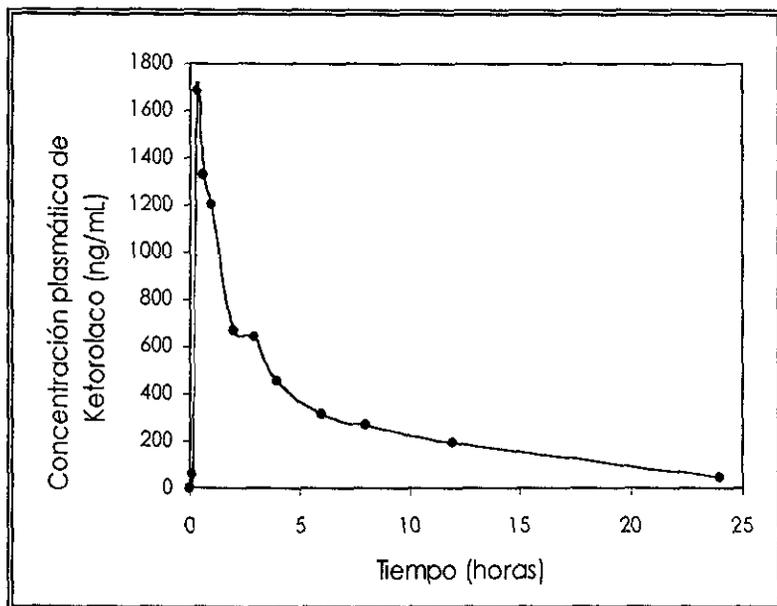
7. APÉNDICE I

DATOS Y GRÁFICOS DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS. TIEMPO PARA CADA VOLUNTARIO.

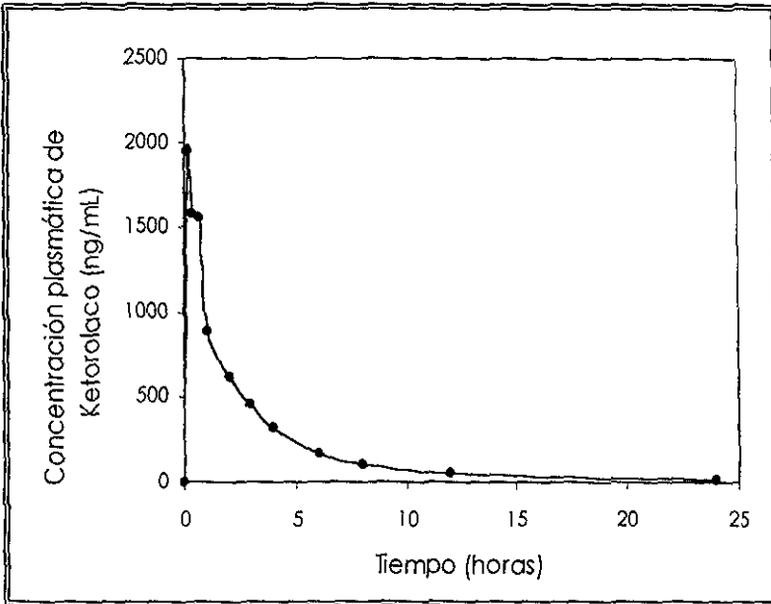
VOLUNTARIO 1	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	30.89
0.333	714.03
0.667	1505.25
1	1215.88
2	690.50
3	501.19
4	353.31
6	159.77
8	114.35
12	50.26
24	13.28



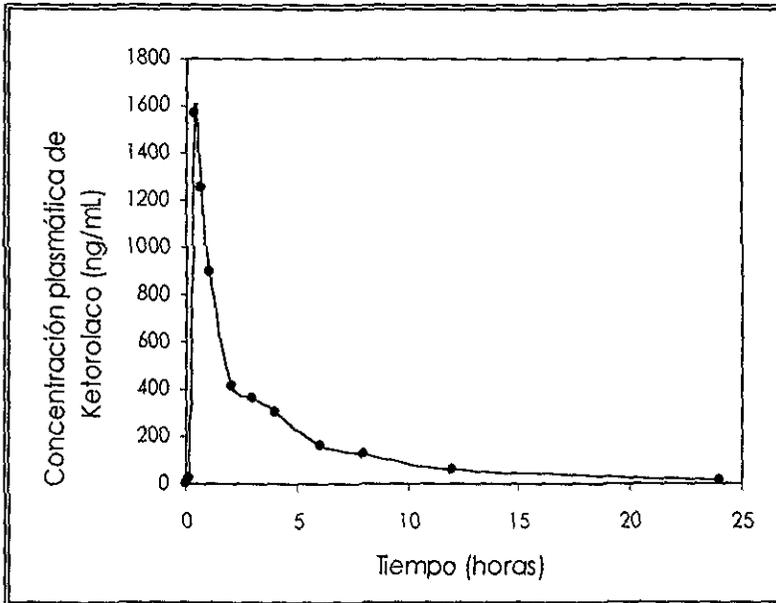
VOLUNTARIO 2	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	56.30
0.333	1679.60
0.667	1329.48
1	1199.46
2	666.46
3	636.43
4	452.37
6	309.96
8	265.00
12	191.32
24	45.70



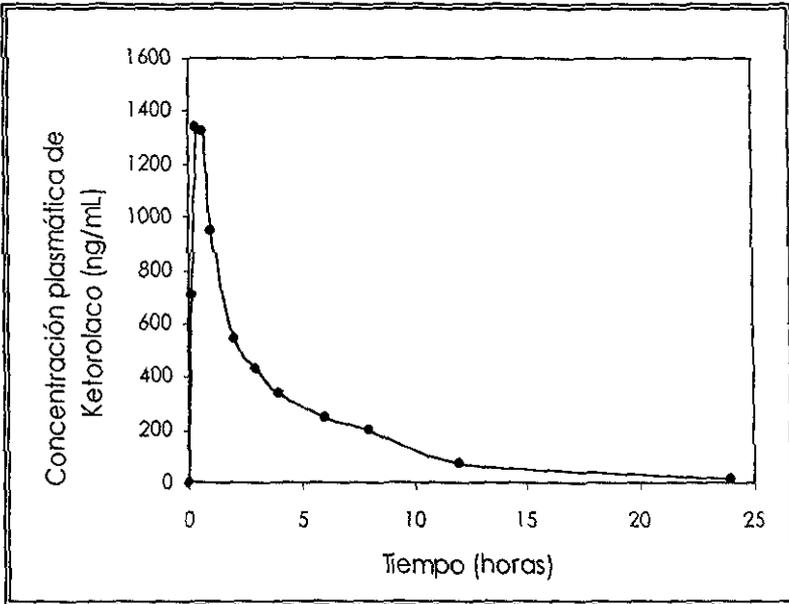
VOLUNTARIO 3	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.0
0.167	1941.68
0.333	1570.57
0.667	1554.59
1	884.11
2	619.87
3	456.80
4	323.18
6	160.60
8	101.76
12	49.23
24	5.76



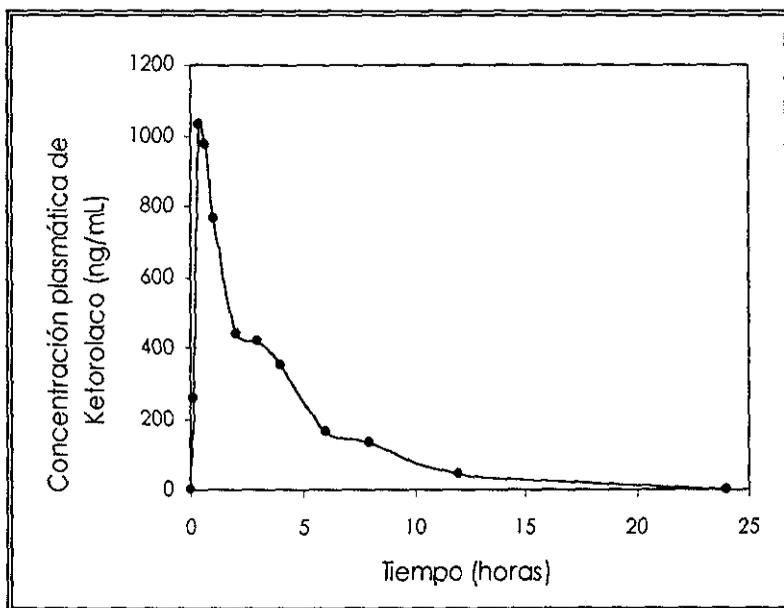
VOLUNTARIO 4	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	24.25
0.333	1566.75
0.667	1252.61
1	899.32
2	413.94
3	361.78
4	306.30
6	161.96
8	122.74
12	59.58
24	14.80



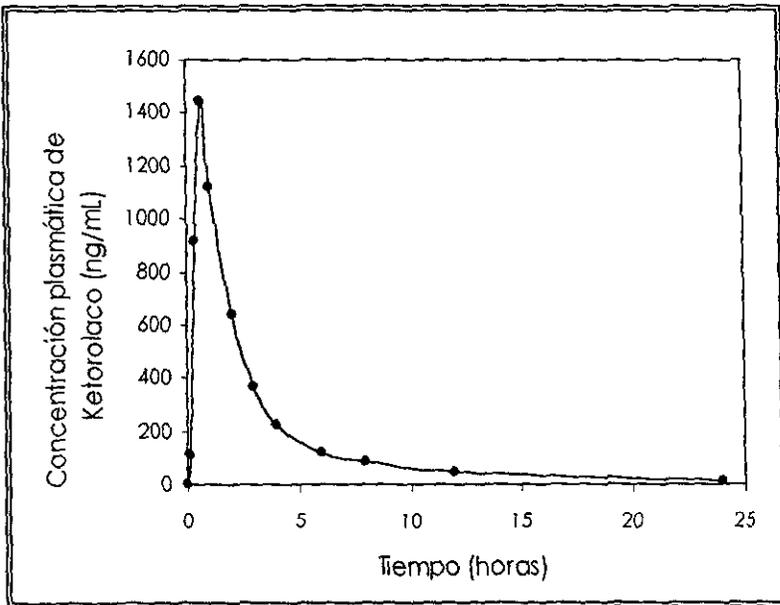
VOLUNTARIO 5	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	704.42
0.333	1335.23
0.667	1321.84
1	949.52
2	538.08
3	426.82
4	336.51
6	242.37
8	196.48
12	74.38
24	13.74



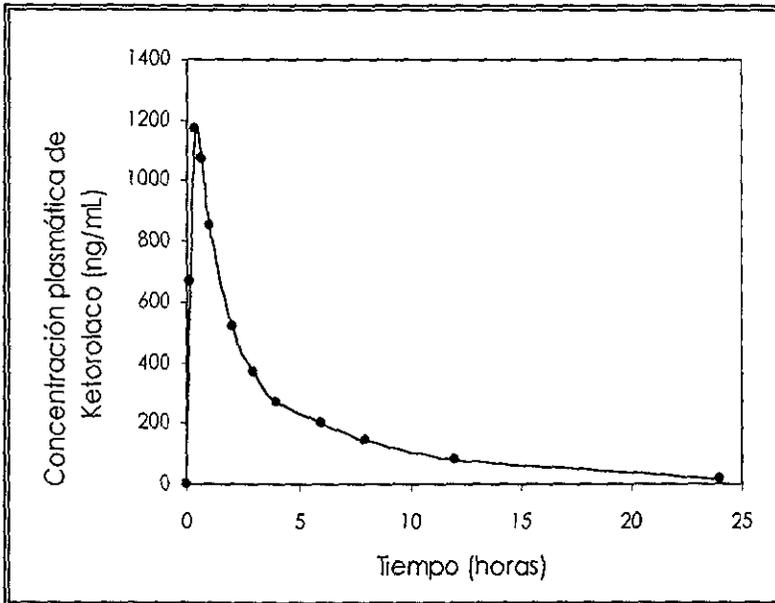
VOLUNTARIO 6	
Tiempo (h)	Concentración (ng/ml)
0.0	0.00
0.167	259.06
0.333	1031.15
0.667	975.14
1	764.28
2	440.53
3	419.16
4	348.41
6	161.42
8	130.94
12	46.34
24	< 5.0



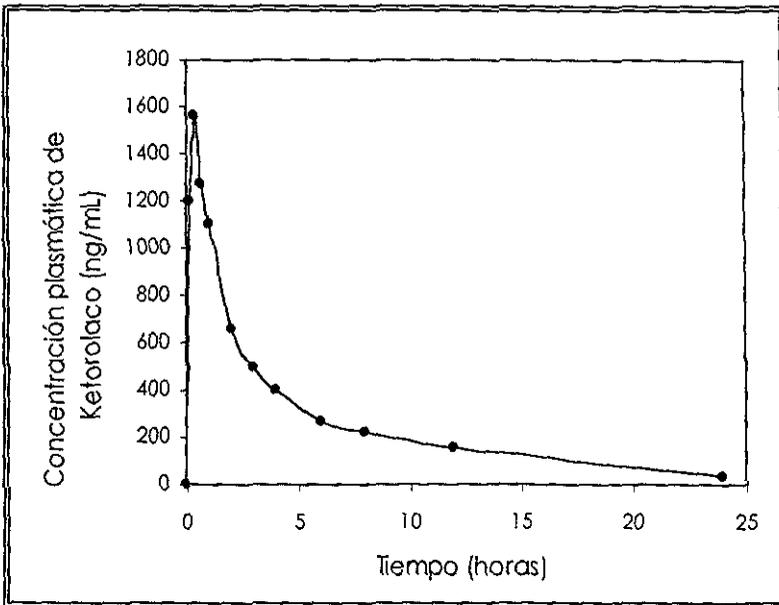
VOLUNTARIO 7	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	113.61
0.333	915.60
0.667	1440.16
1	1118.85
2	641.08
3	368.67
4	220.82
6	120.81
8	87.21
12	43.48
24	12.82



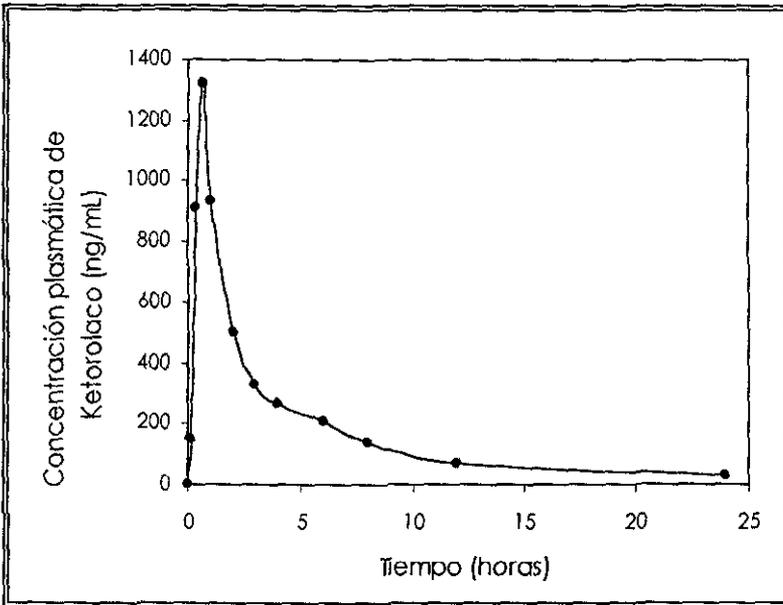
VOLUNTARIO 8	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	666.04
0.333	1167.43
0.667	1071.17
1	854.01
2	518.89
3	371.54
4	268.95
6	201.91
8	146.85
12	81.20
24	17.91



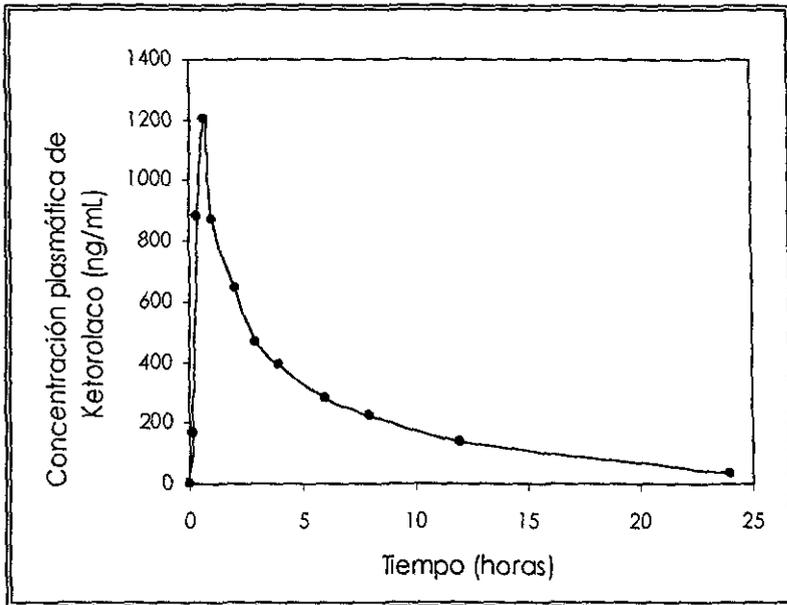
VOLUNTARIO 9	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	1201.15
0.333	1566.26
0.667	1276.32
1	1105.39
2	662.50
3	493.88
4	402.43
6	265.09
8	223.88
12	159.08
24	38.59



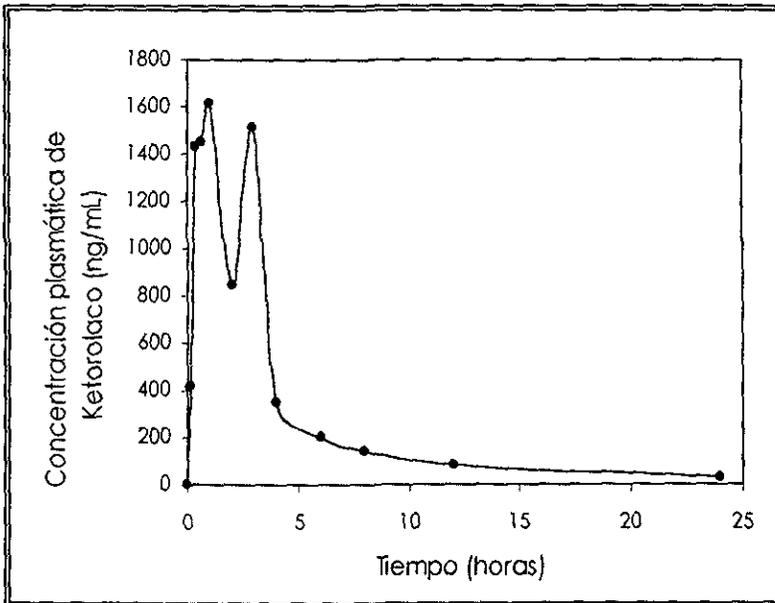
VOLUNTARIO 10	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	150.87
0.333	911.25
0.667	1316.53
1	932.37
2	502.39
3	326.08
4	265.69
6	205.84
8	137.12
12	67.62
24	26.77



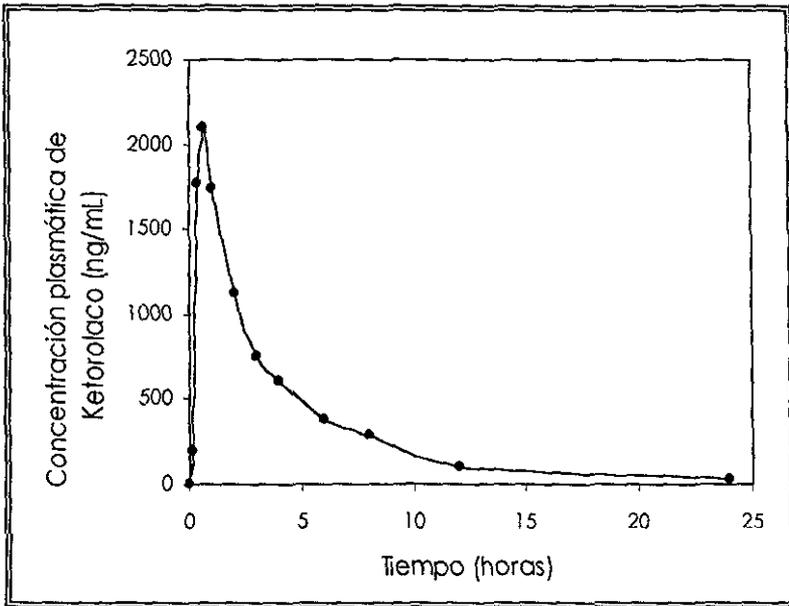
VOLUNTARIO 11	
Tiempo (h)	Concentración (ng/ml)
0.0	0.00
0.167	164.89
0.333	883.57
0.667	1203.33
1	871.99
2	642.76
3	463.92
4	390.48
6	282.23
8	226.19
12	138.37
24	33.00



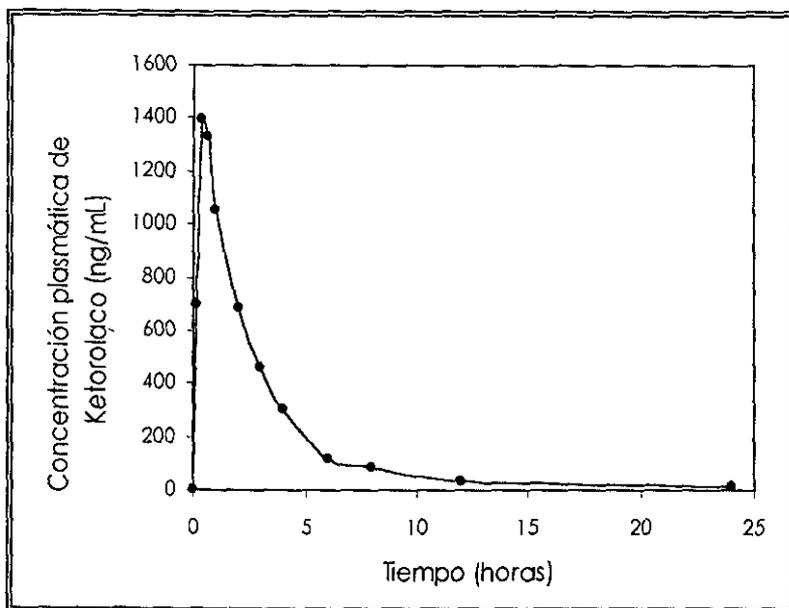
VOLUNTARIO 12	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	415.56
0.333	1426.35
0.667	1452.45
1	1615.24
2	847.41
3	1510.97
4	351.79
6	201.07
8	142.77
12	81.34
24	27.55



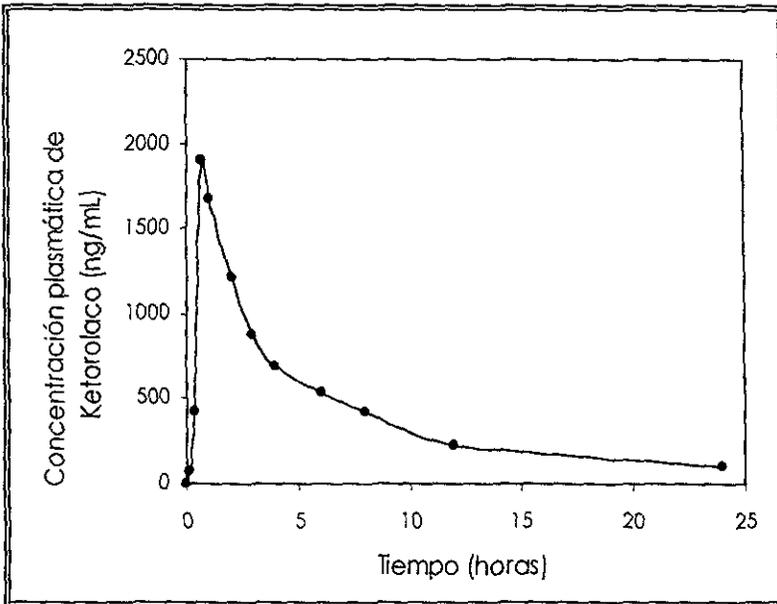
VOLUNTARIO 13	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	193.03
0.333	1768.97
0.667	2100.52
1	1738.20
2	1120.84
3	752.15
4	603.03
6	380.42
8	283.60
12	98.81
24	28.19



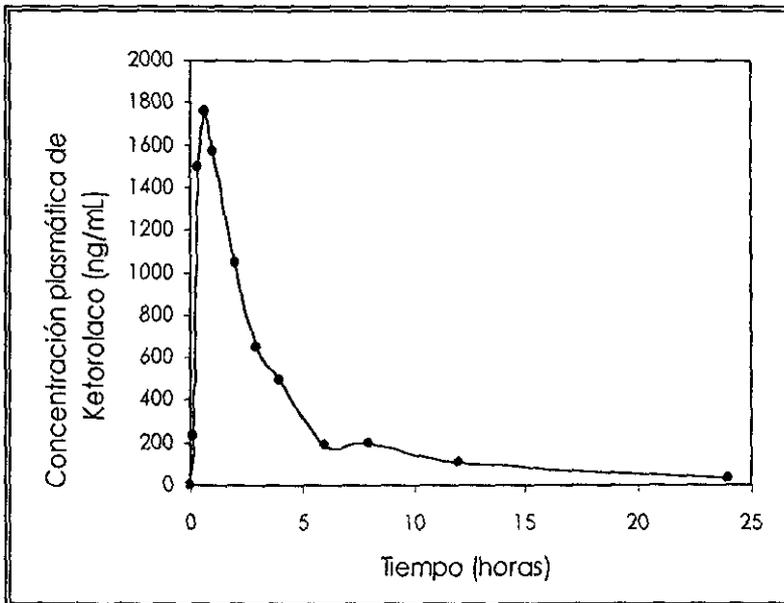
VOLUNTARIO 14	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	698.60
0.333	1395.55
0.667	1328.49
1	1055.61
2	686.24
3	462.42
4	305.96
6	119.04
8	88.31
12	30.73
24	13.06



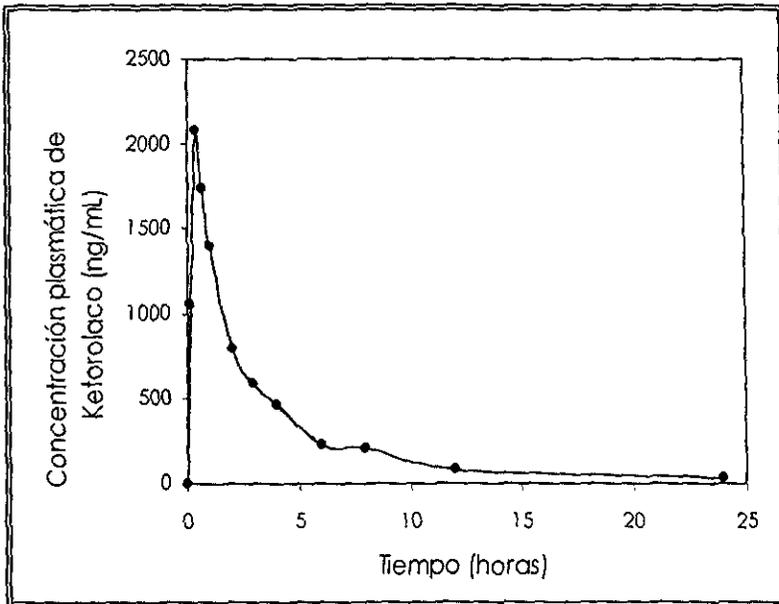
VOLUNTARIO 15	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	73.45
0.333	425.95
0.667	1907.17
1	1679.22
2	1213.49
3	873.00
4	686.74
6	539.45
8	420.94
12	230.13
24	98.61



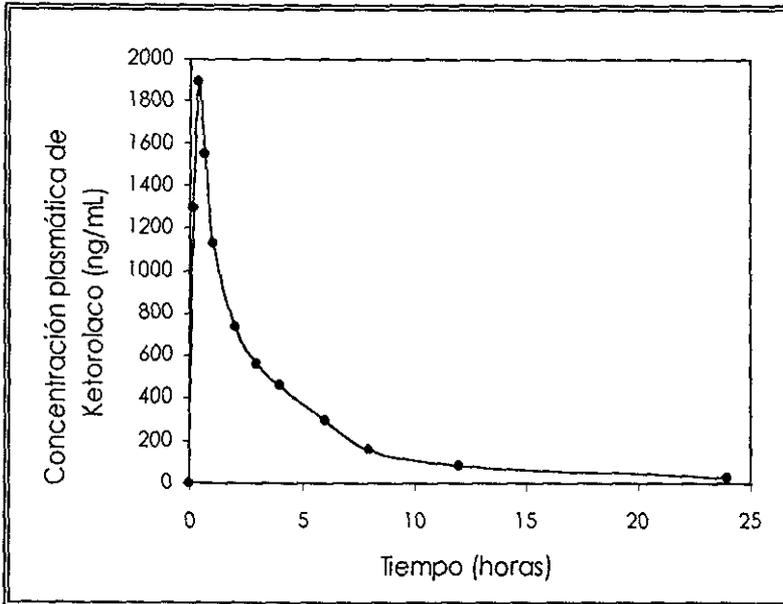
VOLUNTARIO 16	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	232.10
0.333	1498.93
0.667	1762.68
1	1570.79
2	1045.86
3	647.50
4	490.21
6	188.56
8	195.99
12	110.29
24	29.07



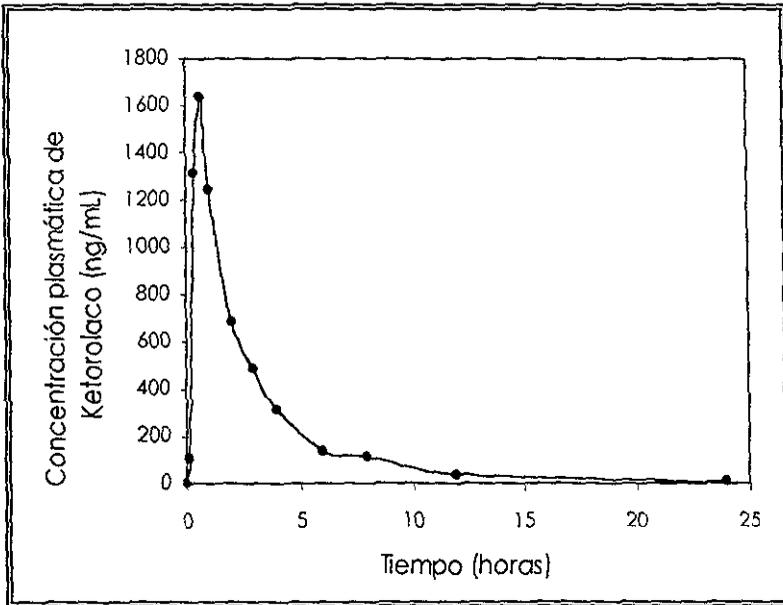
VOLUNTARIO 17	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	1045.21
0.333	2074.88
0.667	1737.88
1	1401.35
2	793.56
3	581.70
4	459.03
6	224.80
8	207.54
12	79.69
24	29.78



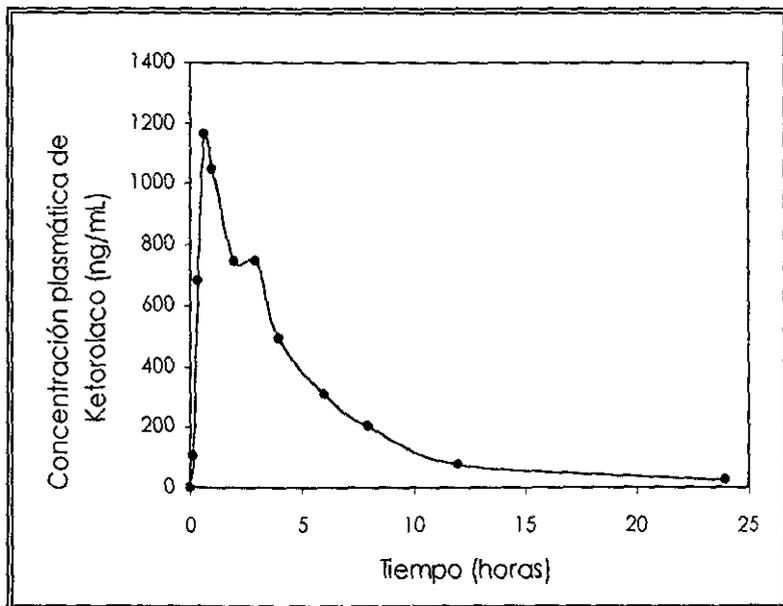
VOLUNTARIO 18	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	1295.06
0.333	1891.54
0.667	1547.10
1	1127.42
2	736.50
3	556.22
4	459.49
6	297.00
8	158.72
12	82.73
24	27.43



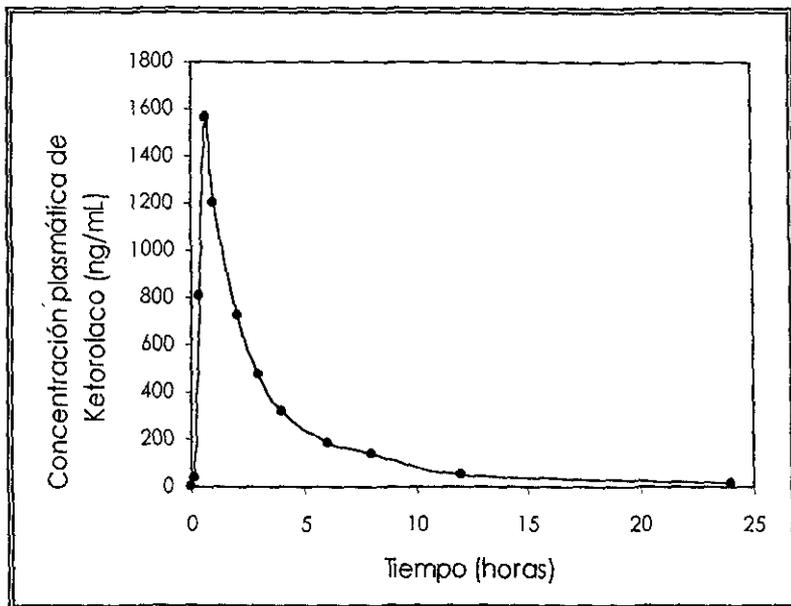
VOLUNTARIO 19	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	100.56
0.333	1310.26
0.667	1640.50
1	1243.46
2	681.83
3	482.79
4	310.68
6	136.95
8	112.29
12	38.85
24	8.07



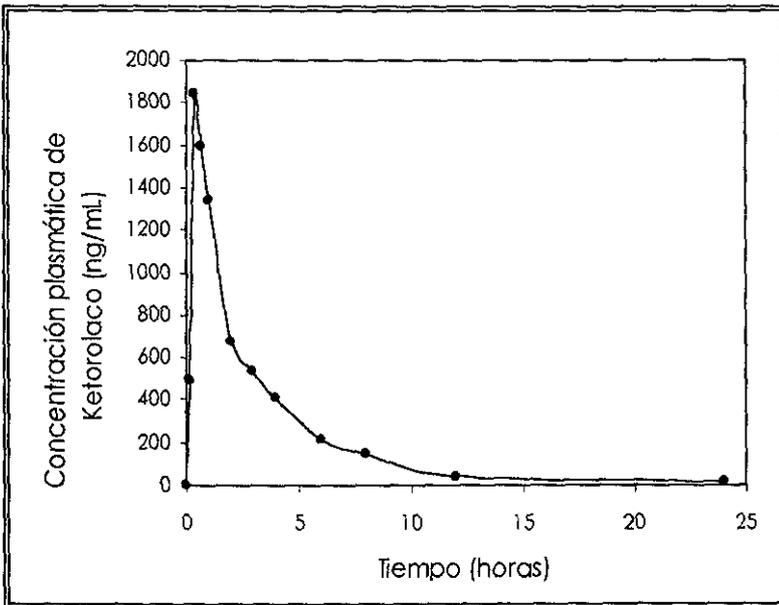
VOLUNTARIO 20	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	102.73
0.333	679.15
0.667	1164.46
1	1046.76
2	743.74
3	745.69
4	489.88
6	303.80
8	202.27
12	75.71
24	22.35



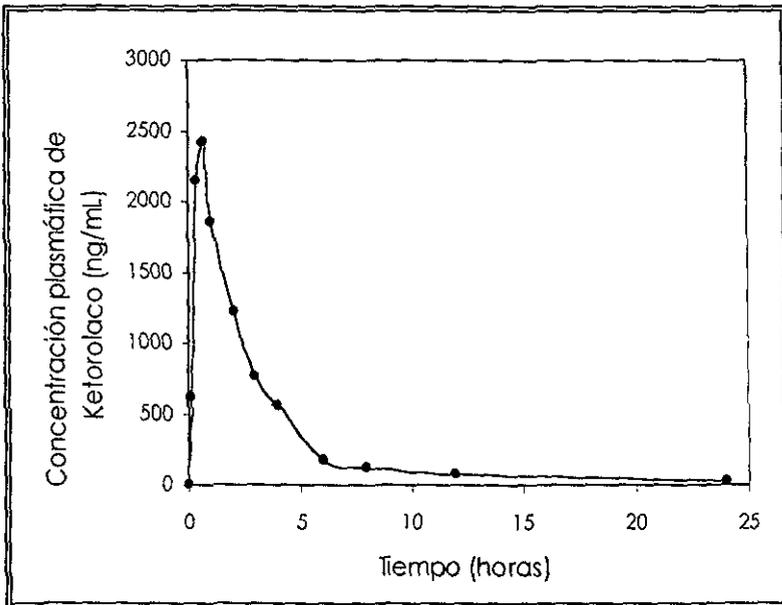
VOLUNTARIO 21	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	36.15
0.333	809.62
0.667	1564.47
1	1200.12
2	728.08
3	477.37
4	317.90
6	187.00
8	137.73
12	55.02
24	11.62



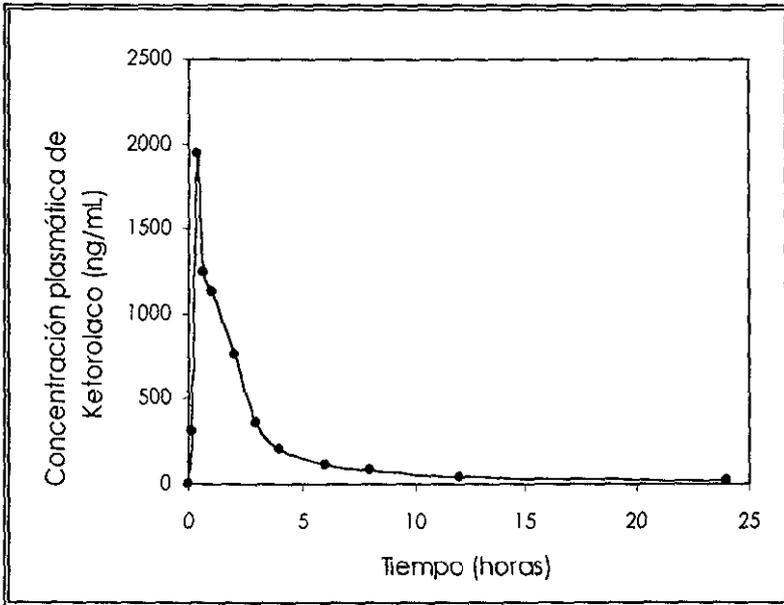
VOLUNTARIO 22	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	497.86
0.333	1844.24
0.667	1598.81
1	1342.48
2	675.47
3	532.40
4	411.97
6	216.75
8	146.47
12	38.45
24	12.99



VOLUNTARIO 23	
Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)
0.0	0.00
0.167	618.27
0.333	2152.49
0.667	2418.37
1	1849.18
2	1221.16
3	762.89
4	561.40
6	171.50
8	125.90
12	74.17
24	25.50



VOLUNTARIO 24	
Tiempo (h)	Concentración (ng/ml)
0.0	0.00
0.167	311.24
0.333	1940.62
0.667	1246.54
1	1127.45
2	757.10
3	357.30
4	207.35
6	108.75
8	80.85
12	44.27
24	15.98



APÉNDICE II

8. APÉNDICE II

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE KETOROLACO PARA CADA VOLUNTARIO

SEXO MASCULINO					
Voluntario	ABC _{0-t}	ABC _{0-∞}	C _{max}	t _{max}	t _{1/2}
1	4362.04	4437.56	1505.25	0.667	3.94
2	6873.22	7256.23	1679.60	0.333	5.81
3	4439.97	4467.60	1941.68	0.167	3.33
4	3905.62	4002.14	1566.75	0.333	4.52
5	4746.11	4828.75	1335.23	0.333	4.17
6	3326.07	3524.04	1031.15	0.333	2.96
7	3742.81	3828.97	1440.16	0.667	4.66
8	4224.47	4346.82	1167.43	0.333	4.74
9	6219.98	6536.55	1566.26	0.333	5.69
10	4065.04	4274.61	1316.53	0.667	5.43
11	5471.23	5727.46	1203.33	0.667	5.38
12	6519.26	6750.12	1615.24	1.00	5.81

SEXO FEMENINO					
Voluntario	ABC _{0-t}	ABC _{0-∞}	C _{max}	t _{max}	t _{1/2}
13	7682.21	7853.46	2100.52	0.667	4.21
14	4046.63	4120.80	1395.55	0.333	3.94
15	9764.98	10670.72	1907.17	0.667	6.37
16	6498.67	6691.62	1762.68	0.667	4.60
17	6158.56	6361.63	2074.88	0.333	4.73
18	5834.43	6017.96	1891.54	0.333	4.64
19	4320.81	4361.77	1640.50	0.667	3.52
20	5451.35	5589.31	1164.46	0.667	4.28
21	4509.42	4573.61	1564.47	0.667	3.83
22	5056.19	5126.63	1844.24	0.333	3.76
23	6973.28	7126.56	2418.37	0.667	4.17
24	4039.66	4142.34	1940.62	0.333	4.45

APÉNDICE III

9. APÉNDICE III

PESO DE LOS VOLUNTARIOS Y FACTOR DE CORRECCIÓN PARA VALORES DE
CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE KETOROLACO Y PARÁMETROS
FARMACOCINÉTICOS

Voluntario	Peso (Kg.)	Factor de corrección Dosis administrada/peso (mg/Kg)
1	79.3	0.1261
2	69.5	0.1439
3	59.3	0.1686
4	64.5	0.1550
5	62	0.1613
6	61.5	0.1626
7	64.2	0.1558
8	76.5	0.1307
9	79.5	0.1258
10	65	0.1538
11	81	0.1235
12	62.6	0.1597
13	55.5	0.1802
14	48.1	0.2079
15	60	0.1666
16	57.3	0.1745
17	58.5	0.1709
18	73.5	0.1361
19	63	0.1587
20	47.5	0.2105
21	69.5	0.1439
22	55.5	0.1802
23	51	0.1961
24	82	0.1220

APÉNDICE IV

10. APÉNDICE IV

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

Comparación del parámetro ABC_{0-t}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.3991)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.7586)

GROUP	N	MISSING
ABC 0-t H	12	0
ABC 0-t M	12	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
ABC 0-t H	33425.8	9896.2	2856.8
ABC 0-t M	34837.2	10151.8	2930.6

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
Between Treatments	1	11952495.0	11952495.0
Residual	22	2210932118.6	100496914.5
Total	23	2222884613.7	

Source of Variance	F	P
Between Treatments	0.119	0.7335
Residual		
Total		

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 = 0.733).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.3991)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.7586)

GROUP	N	MISSING
ABC 0-t H	12	0
ABC 0-t M	12	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
ABC 0-t H	33425.8	9896.2	2856.8
ABC 0-t M	34837.2	10151.8	2930.6

Difference -1411.4

t = -0.345 with 22.0 degrees of freedom. (P = 0.7335)

95 percent confidence interval for difference of means: -9899.0 to 7076.1

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 = 0.7335).

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 α_{∞}

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.4269)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.8330)

GROUP	N	MISSING
ABC 0-INF H	12	0
ABC 0-INF M	12	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
ABC 0-INF H	34647.9	10573.5	3052.3
ABC 0-INF M	35983.9	11367.6	3281.5

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0477

APÉNDICE IV

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
Between Treatments	1	10708502.3	10708502.3
Residual	22	2651221762.3	120510080.1
Total	23	2661930264.7	
Source of Variance	F	P	
Between Treatments	0.0889	0.7684	
Residual			
Total			

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 ($P = 0.768$).

t-test

Normality Test: Passed ($P = 0.4269$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.8330$)

GROUP	N	MISSING		
ABC 0-INF H	12	0		
ABC 0-INF M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
ABC 0-INF H	34647.9	10573.5	3052.3	
ABC 0-INF M	35983.9	11367.6	3281.5	

Difference -1335.9

$t = -0.298$ with 22.0 degrees of freedom. ($P = 0.7684$)

95 percent confidence interval for difference of means: -10630.3 to 7958.4

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 ($P = 0.7684$).

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

APÉNDICE IV

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 Cmax

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.3451)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3710)

GROUP	N	MISSING		
Cmax H	12	0		
Cmax M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
Cmax H	9908.1	1783.1	514.8	
Cmax M	10931.0	2800.3	808.4	

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0616

The power of the performed test (0.0616) is below the desired power of 0.8000.

You should interpret the negative findings cautiously.

SOURCE OF VARIANCE	DF	SS	MS
Between Treatments	1	6277665.5	6277665.5
Residual	22	121233819.0	5510628.1
Total	23	127511484.5	

Source of Variance	F	P
Between Treatments	1.14	0.2974

Residual

Total

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 = 0.297).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.3451)

APÉNDICE IV

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3710)

GROUP	N	MISSING		
Cmax H	12	0		
Cmax M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
Cmax H	9908.1	1783.1	514.8	
Cmax M	10931.0	2800.3	808.4	

Difference -1022.9

t = -1.07 with 22.0 degrees of freedom. (P = 0.2974)

95 percent confidence interval for difference of means: -3010.4 to 964.6

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 = 0.2974).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0616

The power of the performed test (0.0616) is below the desired power of 0.8000.

You should interpret the negative findings cautiously.

Comparación del parámetro tmax

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.1939)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.1980)

GROUP	N	MISSING		
t max H	12	0		
t max M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
t max H	3.36	1.67	0.483	
t max M	3.13	1.00	0.290	

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.

APÉNDICE IV

You should interpret the negative findings cautiously.

SOURCE OF VARIANCE	DF	SS	MS
Between Treatments	1	0.331	0.331
Residual	22	41.918	1.905
Total	23	42.249	

Source of Variance	F	P
Between Treatments	0.174	0.6807
Residual		
Total		

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 ($P = 0.681$).

t-test

Normality Test: Passed ($P = 0.1939$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.1980$)

GROUP	N	MISSING
t max H	12	0
t max M	12	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
t max H	3.36	1.67	0.483
t max M	3.13	1.00	0.290

Difference 0.235

$t = 0.417$ with 22.0 degrees of freedom. ($P = 0.6807$)

95 percent confidence interval for difference of means: -0.934 to 1.40

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 ($P = 0.6807$).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.0500

APÉNDICE IV

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 $t_{1/2}$

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.7384)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3519)

GROUP	N	MISSING		
t 1/2 H	12	0		
t 1/2 M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
t 1/2 H	32.6	8.60	2.48	
t 1/2 M	26.4	6.60	1.90	

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.3641

The power of the performed test (0.3641) is below the desired power of 0.8000.

You should interpret the negative findings cautiously.

SOURCE OF VARIANCE	DF	SS	MS
Between Treatments	1	233.3	233.3
Residual	22	1292.7	58.8
Total	23	1526.1	

Source of Variance	F	P
Between Treatments	3.97	0.0589

Residual

Total

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 = 0.0589).

t-test

Normality Test: Passed (P = 0.7384)

APÉNDICE IV

Equal Variance Test: Passed (P = 0.3519)

GROUP	N	MISSING		
t 1/2 H	12	0		
t 1/2 M	12	0		
Group	Mean	Std Dev	SEM	
t 1/2 H	32.6	8.60	2.48	
t 1/2 M	26.4	6.60	1.90	

Difference 6.24

t = 1.99 with 22.0 degrees of freedom. (P = 0.0589)

95 percent confidence interval for difference of means: -0.254 to 12.7

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 = 0.0589).

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.3641

The power of the performed test (0.3641) is below the desired power of 0.8000.

You should interpret the negative findings cautiously.