



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA  
BIODISPONIBILIDAD  
DE  
DICLOFENACO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA:**

**MARIBEL RAMÍREZ RESÉNDIZ.**



**MÉXICO, D. F.**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**2002.**



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.

# Paginación

# Discontinua

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dra. HELGI HELEN JUNG COOK.

**VOCAL:** M. en C. SOFIA MARGARITA RODRIGUEZ ALVARADO.

**SECRETARIO:** M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES.

**1er. SUPLENTE:** M. en C. JOSÉ MANUEL MORALES HERNÁNDEZ.

**2do. SUPLENTE:** M. en F. LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE.

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

LABORATORIO DE FARMACOCINÉTICA.

FACULTAD DE QUÍMICA, U.N.A.M.

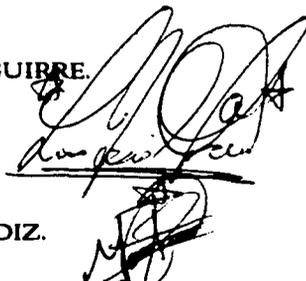
**ASESOR DEL TEMA:**

M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES.



**SUPERVISOR TÉCNICO:**

M. en F. LUIS JESUS GARCIA AGUIRRE.



**SUSTENTANTE:**

MARIBEL RAMÍREZ RESÉNDIZ.



**DEDICADA A:**

*Alfonso Reséndiz Carrillo. +  
Abraham Ramírez Romero. +  
Teresa Reséndiz Parra.  
Francisco Reséndiz Parra.*

*Raúl Ramírez Reséndiz.  
María Esther Ramírez Reséndiz  
y Leticia Ramírez Reséndiz.*

*Por su amistad y por dejarme compartir cada  
momento de mi vida a su lado.*

*"Lo importante no es ser sol,  
sino una simple luz que ilumine ahí  
donde quiera que la pongan."*

---

---

## *AGRADECIMIENTOS:*

*Primeramente a Dios, por todos los momentos de felicidad y de amargura, por las múltiples pruebas presentadas a lo largo de mi vida, ya que gracias a ellos he sabido valorar cada momento de mi vida, así como a cada una de las personas que se encuentran a mí alrededor.*

*Gracias a dos grandes personas que a pesar de no estar presentes, sé que donde quiera que estén, estarán disfrutando de esto como yo, por haber sido pieza fundamental de mi vida, a ti abuelito Alfonso Reséndiz Carrillo y a ti papá Abraham Ramírez Romero, gracias por las enseñanzas los consejos, la vida y el amor.*

*Gracias a ti mi señora bonita, que con esfuerzos, sacrificios, dedicación y amor has hecho que una de mis metas se vea culminada, por todos y cada uno de los consejos a lo largo de mi vida, por esa relación de amigas que hemos llevado juntas y que con ello nuestra relación madre-hija es cada día mejor, por los cuidados cuando los necesité ya que gracias a ellos salí a flote de la enfermedad, por los regaños que siempre son necesarios, por la confianza brindada al dejarme decidir mi camino, pero sobre todo por la vida.*

*Gracias a ti mi tío incondicional, que ha estado a mi lado en cada paso que doy, apoyándome y guiándome, gracias por tu amistad que es muy importante, por cada uno de los momentos agradables que le das a mi vida y sobre todo por la responsabilidad adquirida.*

*Gracias a las personas con las que he compartido toda mi vida, a quienes agradezco la comprensión, confianza, complicidad y amistad, sin pedir absolutamente nada a cambio, si a ustedes mis queridos hermanos; Raúl, María Esther y Leticia, que están presentes en mi pensamiento en cada momento de mi vida*

*Gracias en general a toda mi familia, ya que ha estado a mi lado en todo momento, sin dejar de mencionar a mi tío Rosalío Reséndiz Parra de quien he aprendido muchas cosas.*

*Gracias por las enseñanzas, los regaños y sobre todo por su amistad durante la realización de ésta tesis, a Mis Queridos Maestros Liz, Luis Abraham y Oby, que gracias a su ayuda he podido realizar una de los sueños y que sin ustedes la elaboración de este trabajo no hubiese sido posible.*

*Gracias a los buenos amigos de carrera, con quienes compartí momentos de felicidad y alegría. Gracias a todos aquellos que me apoyaron durante momentos difíciles de mi vida: Es necesario generalizar ya que todo ustedes son muy importantes para mí.*

*Gracias al mejor amigo, Alvarito, por la gran amistad incondicional y sincera brindada en la alegría, la tristeza y la enfermedad, así como cada uno de los momentos compartimos a lo largo de toda la carrera, los cuales únicamente se pueden compartir con personas tan valiosas como tú.*

*Gracias a Octavio por el gran apoyo en los momentos en los que se necesita de los grandes amigos, que sin necesidad de llamarlos están ahí para tenderte la mano.*

*Gracias a los miembros del laboratorio de Farmacocinética por la amistad y por los momentos de felicidad y complicidad que hemos compartido juntos.*

*Abraham,*

*Cesar*

*Cindy*

*Diana*

*Diego*

*Elisa*

*Homero*

*Jessica*

*Ivan*

*Olivia*

*Selene*

*Verónica*

*Yeriley*

*Gracias, sobre todo a:*

*Abrahamzito, Cesarín, Cindy Se, Dieguito, Oly, Vero y Yery, por su amistad, confianza y por cada momento compartido, que es el riego de la semilla de la amistad que espero que florezca cada día más y que perdure durante mucho tiempo.*

*Es necesario agradecer a todos aquellos que se encuentran, o que alguna vez estuvieron a mi lado, ya que he aprendido de todos y cada uno de ustedes.*

# ÍNDICE

## ÍNDICE.

|   |    |
|---|----|
| 1.-INTRODUCCIÓN.....  | 2  |
| 2.- GENERALIDADES. ....                                       | 5  |
| 2.1. Definiciones generales. ....                             | 5  |
| 2.1.1. Biofarmacia. ....                                      | 5  |
| 2.1.2. Fase Biofarmacéutica. ....                             | 5  |
| 2.1.3. Farmacocinética. ....                                  | 5  |
| 2.1.4. Absorción.....   | 7  |
| 2.1.5. Distribución. ....                                     | 7  |
| 2.1.6. Metabolismo o Biotransformación. ....                  | 7  |
| 2.1.7. Eliminación. ....                                      | 8  |
| 2.1.8. Farmacodinamia. ....                                   | 8  |
| 2.1.9. Biodisponibilidad. ....                                | 9  |
| 2.2. Parámetros Farmacocinéticos. ....                        | 10 |
| 2.2.1. Área Bajo la Curva (ABC). ....                         | 10 |
| 2.2.2. Concentración máxima (C <sub>máx</sub> ). ....         | 10 |
| 2.2.3. Tiempo máximo (T <sub>máx</sub> ). ....                | 10 |
| 2.2.4. Otros.....   | 10 |
| 2.2.4.1 Depuración (Cl). ....                                 | 11 |
| 2.2.4.2. Volumen de Distribución (Vd). ....                   | 11 |
| 2.2.4.3. Tiempo de Vida Media t <sub>½</sub> ). ....          | 11 |
| 2.3. Diferencias Farmacocinéticas en función del género. .... | 12 |
| 2.3.1. Absorción de fármacos. ....                            | 12 |
| 2.3.2. Distribución de fármacos. ....                         | 13 |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.3. Biotransformación y distribución de fármacos. ....           | 14 |
| 2.4. Estudios de Biodisponibilidad. ....                            | 16 |
| 2.4.1. Diseño experimental. ....                                    | 16 |
| 2.4.2. Condiciones de prueba. ....                                  | 17 |
| 2.4.3. Intervalo y periodo de muestreo. ....                        | 17 |
| 2.4.4. Método Analítico. ....                                       | 18 |
| 2.4.5. Sujeto. ....   | 19 |
| 2.5. Validación del método Analítico para cuantificar Diclofenaco.. | 20 |
| 2.5.1. Rango. ....  | 20 |
| 2.5.2. Recuperación Absoluta. ....                                  | 20 |
| 2.5.3. Linealidad. ....   | 20 |
| 2.5.4. Precisión. ....  | 21 |
| 2.5.5. Repetibilidad. ....  | 21 |
| 2.5.6. Reproducibilidad Intralaboratorio. ....                      | 21 |
| 2.5.7. Exactitud. ....  | 21 |
| 2.5.8. Estabilidad. ....  | 21 |
| 2.5.9. Límite de Cuantificación. ....                               | 22 |
| 2.5.10. Límite de detección. ....                                   | 22 |
| 2.5.11. Selectividad. ....  | 22 |
| 2.5.12. Tolerancia. ....  | 22 |
| 2.6. Características de Diclofenaco. ....                           | 24 |
| 2.6.1. Propiedades Químicas. ....                                   | 24 |
| 2.6.1.1 Nombre Químico. ....  | 24 |
| 2.6.1.2. Fórmula condensada. ....                                   | 24 |
| 2.6.1.3. Fórmula desarrollada. ....                                 | 24 |

|  |    |
|--|----|
| 2.6.1.4. Peso molecular. ....                                    | 25 |
| 2.6.2. Propiedades Fisicoquímicas.....                           | 25 |
| 2.6.2.1 Descripción. ....  | 25 |
| 2.6.2.2. pKa. ....   | 25 |
| 2.6.2.3. Solubilidad. ....                                       | 25 |
| 2.6.3 Propiedades Farmacológicas. ....                           | 26 |
| 2.6.3.1. Mecanismo de acción. ....                               | 26 |
| 2.6.3.2. Farmacocinética y Metabolismo. ....                     | 26 |
| 2.6.3.3 Aplicación terapéutica. ....                             | 27 |
| 2.6.3.4. Dosis utilizada. ....                                   | 27 |
| 2.6.3.5. Estabilidad. ....                                       | 28 |
| 2.6.3.6. Efectos Tóxicos. ....                                   | 28 |
| 2.6.3.7. Presentaciones Comerciales. ....                        | 29 |
| 3.- PARTE EXPERIMENTAL.....                                      | 33 |
| 3.1. Reactivos. ....   | 33 |
| 3.2. Fluidos biológicos. ....                                    | 33 |
| 3.3. Instrumentación. ....                                       | 34 |
| 3.3.1. Equipo Cromatográfico. ....                               | 34 |
| 3.3.2. Equipo. ....  | 34 |
| 3.4. Preparación de soluciones. ....                             | 35 |
| 3.5. Preparación de Curva Patrón y Controles de Diclofenaco..... | 36 |
| 3.6. Método de extracción. ....                                  | 37 |
| 3.7. Validación del Método Analítico.....                        | 38 |
| 3.7.1. Validación del Sistema. ....                              | 39 |
| 3.7.1.1. Linealidad y Precisión. ....                            | 39 |

|  |    |
|--|----|
| 3.7.2. Validación del método. ....                   | 39 |
| 3.7.2.1. Linealidad del método. ....                 | 39 |
| 3.7.2.2. Precisión y Exactitud. ....                 | 40 |
| 3.8.2.3. Límite de Cuantificación. ....              | 41 |
| 3.8.2.4. Límite de Detección. ....                   | 41 |
| 3.8.2.5. Selectividad. ....                          | 41 |
| 3.8.2.6. Recobro. ....                               | 42 |
| 3.8.2.7. Estabilidad. ....                           | 42 |
| 3.8.2.7.1. Estabilidad en refrigeración. ....        | 43 |
| 3.8.2.7.2. Estabilidad en congelación. ....          | 43 |
| 3.8.2.7.3. Estabilidad de la muestra procesada. .... | 43 |
| 3.9. Selección de Voluntarios. ....                  | 44 |
| 3.10. Diseño del Estudio. ....                       | 45 |
| 3.11. Análisis del Fluido Biológico. ....            | 46 |
| 3.12. Cuantificación de la muestra Plasmática. ....  | 47 |
| 3.13. Análisis Farmacocinético. ....                 | 49 |
| 3.14. Análisis Estadístico. ....                     | 50 |
| 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....                        | 52 |
| 4.1. Validación. ....                                | 52 |
| 4.1.1 Validación del Sistema. ....                   | 52 |
| 4.1.2. Linealidad del Método. ....                   | 54 |
| 4.1.3. Precisión y Exactitud del método. ....        | 56 |
| 4.1.3.1. Repetibilidad. ....                         | 56 |
| 4.1.3.2. Reproducibilidad. ....                      | 57 |
| 4.1.4. Límite de Cuantificación. ....                | 58 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.1.5. Límite de Detección. ....             | 58  |
| 4.1.6. Selectividad. ....                    | 58  |
| 4.1.7. Recobro. ....                         | 59  |
| 4.1.8. Estabilidad. ....                     | 61  |
| 4.2. Análisis de la muestra plasmática. .... | 63  |
| 4.3. Resultados del estudio clínico. ....    | 66  |
| 4.4. Análisis estadístico. ....              | 69  |
| 5.- CONCLUSIONES. ....                       | 72  |
| 6.- BIBLIOGRAFIA ....                        | 74  |
| 7.- APÉNDICE I ....                          | 78  |
| 8.- APÉNDICE II ....                         | 103 |
| 9.- APÉNDICE III ....                        | 105 |
| 10.- APÉNDICE IV ....                        | 113 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| TABLA 1.<br>Factores Fisiopatológicos que Influyen en las Fases Farmacocinética y farmacodinámica. ....       | 8  |
| TABLA 2.<br>Solubilidad de Diclofenaco de Sodio. ....   | 25 |
| TABLA 3.<br>Presentaciones Disponibles de Diclofenaco en México. ....   | 30 |
| TABLA 4<br>Preparación de la Curva Patrón de Diclofenaco .....  | 36 |
| TABLA 5<br>Género de Cada uno de los Voluntarios. ....  | 45 |
| TABLA 6<br>Resultados correspondientes a la Linealidad del Sistema para Cuantificar Diclofenaco. ....         | 52 |
| TABLA 7<br>Resultados correspondientes al ajuste log-log Lineal del Método para Cuantificar Diclofenaco. .... | 54 |
| TABLA 8<br>Repetibilidad del Método Analítico para Cuantificar Diclofenaco en Plasma.....                     | 56 |
| TABLA 9.<br>Reproducibilidad del Método Analítico para la Cuantificación de Diclofenaco en Plasma. ....       | 57 |

|  |    |
|--|----|
| TABLA 10   |    |
| Recobro de Diclofenaco en Plasma. ....   | 60 |
| TABLA 11.  |    |
| Estabilidad de Diclofenaco bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración. ....                                     | 61 |
| TABLA 12.  |    |
| Estabilidad de Diclofenaco en condiciones de almacenamiento en congelación. ....   | 62 |
| TABLA 13.  |    |
| Estabilidad de la Muestra Procesada. ....  | 62 |
| TABLA 14.  |    |
| Seguimiento de las Muestras de Control de Calidad para Diclofenaco. ....   | 64 |
| TABLA 15.  |    |
| Seguimiento de la Curva de Calibración para Diclofenaco. ....  | 65 |
| TABLA 16.  |    |
| Concentración Plasmática Promedio de Diclofenaco por Género. ....  | 66 |
| TABLA 17.  |    |
| Parámetros Farmacocinéticos Promedio Correspondientes a la Formulación de Diclofenaco para cada uno de los Géneros. .... | 68 |
| TABLA 18.  |    |
| Parámetros Estadísticos del Estudio de Biodisponibilidad de Diclofenaco... ..  | 69 |

## ÍNDICE DE FIGURAS.

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1.  |    |
| Etapas de la Fase Biofarmacéutica. ....  | 6  |
| FIGURA 2.  |    |
| Estructura Molecular de Diclofenaco (Diclofenac). ....   | 24 |
| FIGURA 3.  |    |
| Procedimiento de Extracción de Diclofenaco a partir de la Matriz Biológica.  | 37 |
| FIGURA 4.  |    |
| Gráfica log-log lineal, para Demostrar Linealidad del Sistema en la<br>Cuantificación de Diclofenaco. ....   | 53 |
| FIGURA 5.  |    |
| Gráfica de Linealidad del Método para cuantificar Diclofenaco en Plasma..  | 55 |
| FIGURA 6.  |    |
| Selectividad de Diclofenaco. ....  | 59 |
| FIGURA 7.  |    |
| Gráfica de la Concentración Plasmática Promedio de Diclofenaco vs Tiempo.<br>Después de la Administración de la Formulación de Diclofenaco en cada<br>uno de los Géneros. .... | 68 |
| FIGURA 8.  |    |
| Gráfica de Logaritmo de la Concentración Plasmática Promedio de<br>Diclofenaco vs Tiempo, después de la Administración de Diclofenaco en<br>cada uno de los géneros. ....      | 67 |

INTRODUCCIÓN  
Y  
OBJETIVOS.

## 1.- INTRODUCCIÓN

Cuando un nuevo fármaco es sintetizado para poder ser utilizado en una forma farmacéutica, es necesario que pase por las etapas reglamentarias del desarrollo de un medicamento, las cuales incluyen estudios fisicoquímicos y estudios farmacológicos (estudios preclínicos y clínicos), dentro de los cuales, es muy importante y determinante la biodisponibilidad.

Cuando se aplica el término de biodisponibilidad a la concepción y desarrollo de nuevos fármacos y medicamentos, es necesario realizar un riguroso análisis del fármaco, su forma farmacéutica y su vía de administración, con el fin de obtener resultados satisfactorios a los diferentes problemas terapéuticos, a pesar de que los efectos de un medicamento no son iguales para todas las personas, variando según la gravedad de la enfermedad, la rapidez con la que se metaboliza y excreta el medicamento, la diferencias del género y otros factores farmacocinéticos, así como a la biodisponibilidad del fármaco en la forma farmacéutica usada, debido a la forma de preparar dicho medicamento e incluso a la diferencias entre lotes de un mismo fabricante.

Durante muchos años se realizaron ensayos de biodisponibilidad de los medicamentos, tomando en cuenta generalmente al sexo masculino, debido a que se consideraba que su biodisponibilidad no variaba con el género y se creía que ensayos en la mujer provocarían daños a la descendencia humana. No es hasta hace poco mas de una década que la mujer participa plenamente en estudios dirigidos a establecer la

existencia de diferencias farmacocinéticas o farmacodinámicas entre los géneros de la especie humana, causa a la que se le atribuyen algunas diferencias en la respuesta a un mismo fármaco.

Por esa necesidad de saber si un medicamento presenta diferencias en la biodisponibilidad por la diferencia del género, se realizó el presente trabajo, teniendo los siguientes objetivos

Validar un método analítico en plasma, por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución para cuantificar diclofenaco.

Evaluar si existen diferencias en el género para la biodisponibilidad de diclofenaco, en una población de 24 voluntarios sanos.

# GENERALIDADES

*Ramírez Reséndiz Maribel*

## **2. GENERALIDADES.**

### **2.1. DEFINICIONES GENERALES**

#### **2.2.1. BIOFARMACIA.**

Es una disciplina científica que se dedica al estudio de la relación entre las propiedades fisicoquímicas de un principio activo, las formas de dosificación y las respuestas biológicas observadas después de la administración al ser humano o animales. <sup>1</sup>

La actividad terapéutica es el resultado de una serie de factores que tienen lugar luego de la administración de un medicamento y se agrupa en tres fases (fase biofarmacéutica, fase farmacocinética y fase farmacodinámica). <sup>1,2</sup>

#### **2.1.2. FASE BIOFARMACÉUTICA.**

Es el conjunto de fenómenos que acontecen durante la administración de un medicamento y la absorción del principio activo a la circulación general, dicha fase se encuentra esquematizada en la figura 1 y constituye uno de los puentes para la modulación de la actividad terapéutica, designada con las siglas LDA. <sup>3</sup>

#### **2.1.3. FARMACOCINÉTICA.**

La evolución temporal del fármaco en el organismo puede esquematizarse en cuatro etapas: absorción, distribución, metabolismo y excreción (proceso ADME, figura 1), que es el conjunto de fenómenos de

naturaleza fisicoquímica tanto cualitativo como cuantitativo a los que se encuentra sometido el fármaco, bajo influencia del organismo receptor. <sup>1,3</sup>

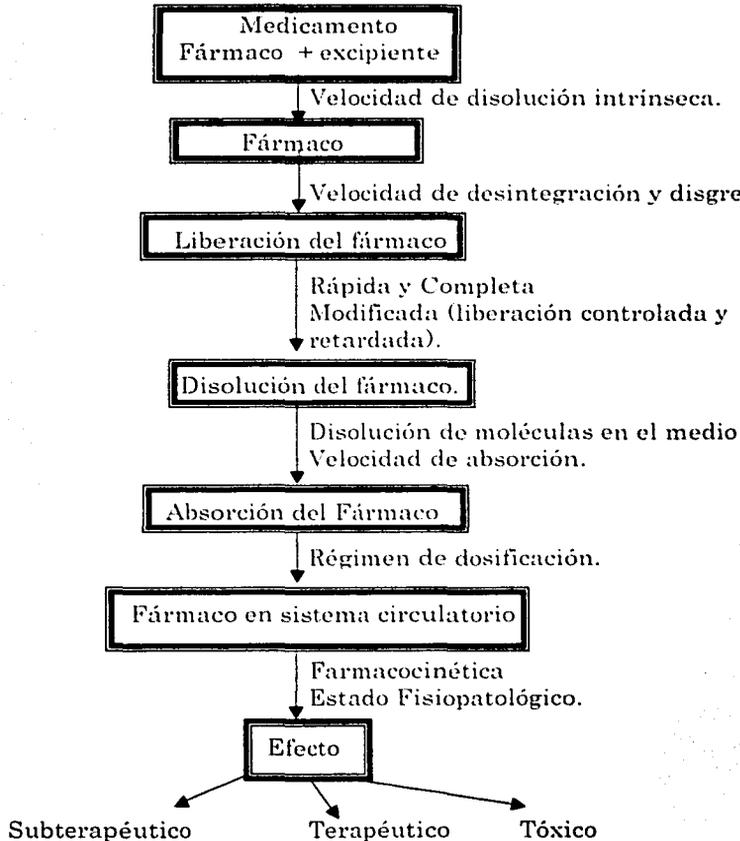


FIGURA 1. Etapas de la Fase Biofarmacéutica. <sup>2</sup>

### **2.1.3. ABSORCIÓN.**

Es el paso de la molécula de un principio activo, desde el sitio en donde se deposita el medicamento hacia la sangre a través de una barrera fisiológica (membranas), esto es posible cuando el fármaco es liberado de los excipientes, es decir, cuando se ha llevado a cabo la desintegración y la disolución del principio activo en los fluidos fisiológicos. <sup>1</sup>

### **2.1.5. DISTRIBUCIÓN.**

Una vez que el principio activo se encuentra disuelto en la circulación, es susceptible de ser transportado hacia todas las regiones del organismo. <sup>1</sup>

### **2.1.6. METABOLISMO o BIOTRANSFORMACIÓN.**

Comprende la transformación metabólica o biotransformación de un fármaco. El metabolito originado en la transformación enzimática es un derivado más polar que la molécula original. Puede ser distribuido en forma diferente: si es activo, tendrá como consecuencia una manifestación de efecto favorable o desfavorables, generalmente más intensa. Pero igualmente este metabolito sufrirá el mismo proceso que la molécula original hasta la desaparición total. <sup>1,4</sup>

La biotransformación o metabolismo constituye una desaparición por vía química y su cinética de adición a la excreción para construir la cinética global de eliminación.

### 2.1.7. ELIMINACIÓN.

Cuando una molécula exógena ingresa al organismo, inmediatamente se ponen en marcha mecanismos de eliminación por excreción. <sup>1</sup> El riñón y la orina son los mecanismos clásicos para la excreción, pero es importante también la excreción fecal directa o a través de la bilis, pulmonar, dérmica, glándulas mamarias, entre otras. <sup>1</sup>

### 2.1.8. FARMACODINAMIA.

Involucra la relación entre el principio activo y el organismo el cual fue administrado, es decir, la farmacodinamia esta en función de las propiedades fisicoquímicas propias o intrínsecas de cada principio activo. <sup>1</sup>

En esta fase, la concentración del principio activo es el parámetro principal de la respuesta farmacológica. Es importante también la interacción principio activo-receptor, los fenómenos de competencia, el mecanismo de acción, la acción sobre la química del cuerpo y la toxicología. <sup>1</sup>

En la tabla 1, se muestran los principales factores fisiopatológicos que influyen en la fase farmacocinética y farmacodinamia.

TABLA 1. Factores fisiopatológicos que influyen en las fases farmacocinética y farmacodinámica. <sup>1</sup>

|                   |                     |                 |
|-------------------|---------------------|-----------------|
| Raza              | Posición del cuerpo | pH urinario     |
| Sexo              | Actividad relativa  | Flujo urinario  |
| Edad              | Estado nutricional  | Flujo sanguíneo |
| Morfología        | Gestación           | Medio ambiente  |
| Farmacocinética   | Menopausia          | Patología       |
| Cronofarmacología | Temperatura         |                 |

### **2.1.9. BIODISPONIBILIDAD.**

La biodisponibilidad se define como la fracción del fármaco inalterado que se absorbe a la circulación sistémica después de la administración de un medicamento por cualquier vía y el tiempo que requiere para hacerlo. En el caso de la administración intravenosa, la biodisponibilidad es igual a la unidad, mientras que cuando el fármaco es administrado por vía oral, la biodisponibilidad puede ser menor del 100% debido a la absorción incompleta y metabolismo de primer paso.<sup>1,2</sup>

De acuerdo a la FDA la biodisponibilidad se define como una medida de la velocidad y cantidad del fármaco, o de la porción terapéuticamente activa de éste que es absorbido desde el producto farmacéutico y se encuentra en el sitio de acción.<sup>5</sup>

Uno de los factores que afectan la biodisponibilidad de un medicamento es la forma en que se fabrica, habiendo incluso, diferencias entre lotes de un mismo fabricante, lo cual se le atribuye a cambios en la forma cristalina, el tamaño de la partícula u otras características físicas del producto que no son controladas en forma estricta durante su fabricación, lo cual altera la desintegración y la disolución del fármaco y, con ello la rapidez y magnitud de la absorción del medicamento.

## **2.2. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.**

El fluido sanguíneo es la primera opción para cuantificar el fármaco en el organismo. Existen cuatro parámetros determinantes de la biodisponibilidad que se obtienen a partir de los datos de concentración plasmática los cuales son:

### **2.2.1. ÁREA BAJO LA CURVA (ABC).**

Es el más importante en la determinación de la biodisponibilidad ya que representa la fracción del fármaco absorbida, es decir, es directamente proporcional a la cantidad del fármaco que pasa a la circulación y es independiente de la velocidad de absorción. <sup>4</sup>

### **2.2.2. CONCENTRACIÓN MÁXIMA ( $C_{max}$ ).**

Es la concentración máxima alcanzada, representa la más alta concentración del fármaco en sangre después de la administración oral. Este parámetro es directamente proporcional a la fracción absorbida y a la velocidad de absorción. <sup>4</sup>

### **2.2.3. TIEMPO MÁXIMO ( $T_{max}$ ).**

Es el tiempo que se tarda un fármaco en alcanzar la concentración máxima. Este parámetro está estrechamente relacionado con la velocidad de absorción. <sup>4</sup>

### **2.2.4. OTROS**

A continuación se presentan otros parámetros farmacocinéticos, no menos importantes, con los cuales se determina la dosis estándar de un

fármaco, tanto en voluntarios sanos, como en pacientes con capacidad promedio de absorber, distribuir y eliminar el fármaco: sin embargo, estas pruebas no son adecuadas para todos los pacientes, por lo cual es necesario ajustar la dosis para cada uno de ellos. Estos parámetros básicos son los siguientes: <sup>2</sup>

#### **2.2.4.1 DEPURACIÓN (Cl).**

Se considera el concepto más importante en la clínica.

Es la medida de la capacidad del organismo para eliminar el fármaco, no la cantidad que se excreta, sino la cantidad del fluido biológico, como la sangre, que está totalmente libre del fármaco.

#### **2.2.4.2. VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN (Vd).**

Es importante para entender los procesos de distribución de un fármaco.

El volumen de distribución no se refiere a un volumen fisiológico identificable, sino solo al volumen del líquido que se requeriría para contener todo el fármaco en el cuerpo a las mismas concentraciones en que está presente en la sangre o en el plasma. <sup>1,2</sup>

#### **2.2.4.3. TIEMPO DE VIDA MEDIA ( $t_{1/2}$ ).**

Es el tiempo que necesita la concentración plasmática o la cantidad del fármaco en el cuerpo para disminuir a la mitad de la concentración.

La permanencia del medicamento en el cuerpo depende tanto del volumen de distribución como de la depuración. <sup>1,2</sup>

## **2.3. DIFERENCIAS FARMACOCINÉTICAS EN FUNCIÓN DEL GÉNERO.**

Las diferencias anatómicas entre el hombre y la mujer en el peso corporal, el área superficial y la composición del cuerpo, referidas al porcentaje de grasa, agua y músculo son evidentes, pero las diferencias fisiológicas y bioquímicas no son tan evidentes y son aún más importantes en su influencia sobre los procesos farmacocinéticos de uno u otro sexo además de las situaciones especiales de la mujer como la menstruación y el embarazo. <sup>6,7,8</sup>

### **2.3.1. ABSORCIÓN DE FARMACOS.**

La mujer presenta las siguientes diferencias con respecto a los hombres, y algunas de ellas tienen importancia clínica en la farmacoterapéutica. <sup>6,7</sup>

1. El tiempo de vaciamiento gástrico tanto para los líquidos como para los sólidos, es más rápido en la mujer lo que provoca una disminución en la absorción de los medicamentos, que por lo general, se lleva a cabo en el intestino delgado.

2. El tránsito intestinal es más rápido en la mujer lo que reduce su absorción y, por lo tanto, la biodisponibilidad del fármaco.

3. La mujer postmenopáusica tiene una menor acidez gástrica lo que reduce la absorción de los medicamentos ácidos débiles como la aspirina, los barbitúricos etc.

4. La mujer joven en la fase folicular (temprana) de su ciclo menstrual absorbe más fácilmente los medicamentos básicos y se reduce

la de los ácidos como en la menopausia. Se presume que ello es provocado por las influencias hormonales.

5. La mujer tiene menor cantidad de la enzima deshidrogenasa láctica que metaboliza el alcohol a nivel del estómago (biotransformación presistémica) por lo que una mayor cantidad de esta sustancia alcanzara la concentración.

### 2.3.2. DISTRIBUCIÓN DE FARMACOS.

1. El menor peso corporal de la mujer determina que tenga menor volumen sanguíneo por kilogramo de peso y mayor volumen de agua extracelular en relación con el agua corporal total lo que favorece una mayor concentración de medicamentos hidrosolubles en el suero de la mujer.<sup>8</sup>

2. El mayor porcentaje de grasa corporal que tiene la mujer favorece la absorción y distribución de los fármacos liposolubles, provocando un mayor volumen de distribución con una menor concentración sérica de los mismos. Asimismo, el mayor contenido de grasa corporal de la mujer favorece el depósito de estos medicamentos liposolubles, lo que se traduce en una prolongación de su vida media ( $t_{1/2}$ ) y por lo tanto de la duración de su efecto farmacológico.

3. Por las diferencias anatomofisiológicas señaladas anteriormente, la mujer tiene un menor volumen de distribución ( $V_d$ ) para el alcohol y un mayor  $V_d$  para el diazepam comparado con el hombre.

4. La mujer tiene mayor flujo sanguíneo cerebral lo que favorece la llegada de una mayor concentración de medicamentos psicotrópicos al cerebro.

5. En la mujer se ha descubierto un menor porcentaje de unión a proteínas plasmáticas para algunos medicamentos, lo cual es muy importante cuando se administran medicamentos con estrecho margen de seguridad.

### **2.3.3. BIOTRANSFORMACIÓN Y DEPURACIÓN DE FARMACOS.**

1. La biotransformación hepática se lleva a cabo por isoenzimas microsomales denominadas citocromo oxidasa P450 del cual se conoce una importante variedad. Se ha informado que la citocromoxidasa P4503A4 (CYP3A4) metaboliza aproximadamente el 50% de los medicamentos usados en terapéutica y que le sigue en importancia la CYP2D6.<sup>6,7,8</sup>

2. La actividad de la CYP3A4 en la mujer es 1.4 veces mayor que en el hombre joven. De ahí que la oxidación mediada por la CYP3A4 sea mayor en la mujer, reacción de biotransformación que no es suficiente de un fármaco, ya que asimismo se ha informado que la reacción de conjugación como la de glucuronidación es menor en la mujer con relación al hombre. Todo ello determina que en la mujer se acumule mayor concentración de un medicamento o su metabolito que favorece la aparición de reacciones adversas con mayor frecuencia. La mayor actividad de CYP3A4 en la mujer ha sido atribuida a las hormonas

femeninas estrógeno y progesterona que pueden inhibir dicho sistema enzimático.

3. El CYP3A4 participa en las reacciones de biotransformación degradativa de medicamentos como eritromicina, lidocaina, midazolam, quinidina, ciclosporina, etc. El CYP2D6 biotransforma el propranolol, timolol, codeína, dextrometorfán, etc., pero las diferencias en género no han sido aún bien determinadas.

4. La mujer posee riñones más pequeños por lo que el flujo sanguíneo renal es menor y por lo tanto el proceso farmacocinético de la excreción renal a través de la filtración glomerular es menor, se reduce pues la depuración renal, se mantiene una mayor concentración plasmática del medicamento y se prolonga por lo tanto la vida media ( $t_{1/2}$ ) de aquellos fármacos eliminados por excreción renal. Estas diferencias farmacocinéticas en la mujer obligan a reducir o ajustar la dosis administrada para evitar su acumulación en sangre y prevenir así la aparición de reacciones adversas.

## **2.4. ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD.**

Los estudios para demostrar biodisponibilidad, deben de realizarse con base a lo dispuesto en la ley general de Salud en materia de investigación para la salud, las buenas prácticas clínicas y la Norma oficial mexicana.<sup>9</sup>

La NOM-177-SSA1-1998, establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable, esto de acuerdo a la comparación de la biodisponibilidad de éstos.<sup>9</sup>

En los estudios de biodisponibilidad se administran dosis únicas del medicamento a evaluar y la biodisponibilidad se mide por curso temporal de los niveles sanguíneos. Las características de las curvas sanguíneas, esencialmente ABC, C<sub>max</sub>, T<sub>máx</sub> y t<sub>1/2</sub> se evalúan por procedimientos estadísticos.<sup>3</sup>

Todo estudio de biodisponibilidad, así como de bioequivalencia, deben de satisfacer ciertos requisitos para que la información que se obtenga refleje únicamente el efecto deseado (efecto de la formulación, del género, de la raza, etc.)

Para ello el estudio debe de ser diseñado y controlado con el propósito de reducir o anular la influencia de otros factores en la biodisponibilidad del fármaco, tales como los factores fisiológicos y patológicos.

#### **2.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.**

Un estudio de biodisponibilidad debe de ser resultado de un diseño experimental perfectamente planeado, que permita adecuarse a los objetivos del estudio, con la finalidad de obtener conclusiones válidas. <sup>5</sup>

#### **2.4.2. CONDICIONES DE PRUEBA.**

Se deben de mantener condiciones idénticas de prueba. Por ejemplo, administrar el producto en condiciones de ayuno a todos los voluntarios, debido a que los alimentos pueden afectar significativamente los resultados, ya que estos disminuyen la absorción de los medicamentos, aunque se han reportado excepciones. <sup>3</sup>

El tipo de dieta durante el estudio debe de estar controlada ya que altera también los resultados, por lo que se deben de dar condiciones precisas de la alimentación durante el estudio.

#### **2.4.3. INTERVALO Y PERIODO DE MUESTREO.**

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 de diseñar, de tal manera que se puedan caracterizar los parámetros farmacocinéticos de ABC y C<sub>max</sub>. Al menos se deben de obtener 11 tiempos de muestreo, para construir una curva de concentración contra tiempo que refleje tanto la absorción como la eliminación del fármaco, entre los cuales se encuentran el tiempo cero, 3-4 puntos antes de C<sub>máx</sub>, 3-5 puntos alrededor del C<sub>max</sub> y de 4-8 puntos durante la fase de eliminación. <sup>9</sup>

Es importante obtener todas las muestras al tiempo especificado en el protocolo, permitiendo realizar un análisis estadístico apropiado. <sup>3</sup>

El periodo de muestreo debe ser lo suficientemente largo para asegurar que el proceso de absorción ha terminado y que las últimas tres o seis muestras se obtengan en la fase de eliminación del fármaco. El periodo recomendado es generalmente de cuatro a cinco vidas medias de eliminación. <sup>3,9</sup>

#### **2.4.4.. MÉTODO ANALÍTICO.**

Los fluidos más comunes a analizar son sangre, plasma, suero, orina y actualmente se hacen estudios con saliva. El conocimiento del fármaco no basta, es necesario conocer el tipo de metabolito que se origina a partir del éste, ya que en cualquier fluido biológico se tiene la posibilidad de encontrar tanto al fármaco como a su metabolito. <sup>5,9</sup>

El análisis de las muestras se llevará acabo mediante la cuantificación del fármaco o sus metabolitos en fluido biológico en función del tiempo, la excreción urinaria del fármaco o sus metabolitos en función del tiempo, o bien, un efecto farmacológico apropiado. <sup>3,9</sup>

El método analítico debe validarse de manera tal que minimize el resto de posibles variables durante el análisis de las muestras biológicas, las cuales deben ser almacenadas bajo las mismas condiciones. El método analítico debe ser sensible y específico para la cuantificación del fármaco en presencia de sus metabolitos y otras sustancias endógenas. <sup>3,9</sup>

#### 2.4.5. SUJETO.

Debido a los factores fisiológicos que pueden afectar la biodisponibilidad de los fármacos, es importante seleccionar un grupo de sujetos con características que permitan homogeneizar los grupos en estudio. <sup>3,5</sup>

Es necesario considerar las siguientes características:

- **Características antropométricas:** Individuos que tengan las mismas características, como son raza, edad (18-55 años), relación normal peso-talla ( $\pm 10\%$  del ideal).<sup>5</sup>

- **Estado físico:** Deben ser clínicamente sanos y comprobarlo, mediante historia clínica y pruebas de gabinete. <sup>5, 3</sup>

- **Adicciones:** No deben tener antecedentes de drogadicción o abuso de alcohol, café, tabaco. <sup>5</sup>

- **Características psíquicas:** Es necesario que los voluntarios no tengan problemas de estrés y neurosis, que puedan afectar la biodisponibilidad. <sup>5</sup>

La selección de procedimientos para humanos, animales o métodos físicos in-vitro, para realizar estudios básicos o como patrones para establecer la biodisponibilidad de productos determinados deben de tomar en cuenta la sensibilidad del método para determinar diferencias

significativas en las características de la absorción de la forma farmacéutica relativa al comportamiento clínico del fármaco en la forma farmacéutica. <sup>10, 11, 12</sup>

## **2.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**

La metodología para cuantificar el fármaco y/o sus metabolitos en el fluido biológico elegido, debe de estar validado, es decir, se debe de contar con evidencia experimental y documental de que el procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado. Los parámetros analíticos para llevar a cabo esta evaluación son los siguientes, de acuerdo a lo descrito en la sección 9 de la NOM-177-SSA1-1998, en donde se establecen los criterios y requisitos para el análisis químico de muestras biológicas. <sup>9</sup>

### **2.5.1. RANGO.**

Es el intervalo de un método analítico definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles superior e inferior del compuesto, en el cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

### **2.5.2. RECUPERACIÓN ABSOLUTA:**

Definida como la eficiencia de un método analítico para cuantificar el o los compuestos por analizar en la muestra biológica.

### **2.5.3. LINEALIDAD.**

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

#### **2.5.4. PRECISIÓN.**

Se le denomina precisión al 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;

#### **2.5.5. REPETIBILIDAD.**

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

#### **2.5.6. REPRODUCIBILIDAD INTRALABORATORIO.**

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

#### **2.5.7. EXACTITUD.**

Es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

#### **2.5.8. ESTABILIDAD.**

La estabilidad consiste en que la propiedad del compuesto por analizar, debe de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis; teniéndose que analizar en las condiciones de

temperatura y tiempo entre otros, en los que el compuesto permanezca estable en la matriz biológica durante su manejo, almacenamiento y procesamiento.

#### **2.5.9. LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.**

Se considera la concentración más baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo con la precisión y exactitud establecidas en el método.

#### **2.5.10. LÍMITE DE DETECCIÓN.**

Es la mínima concentración de un compuesto en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificado bajo las condiciones de operación establecidas; se determina la concentración a la cual la señal del compuesto por analizar en la matriz biológica pueda distinguirse de los niveles de ruido o de una muestra libre del compuesto de interés.

#### **2.5.11. SELECTIVIDAD:**

Es la capacidad de un método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra.

#### **2.5.12. TOLERANCIA.**

Es la capacidad del método analítico para obtener resultados precisos y exactos ante variaciones pequeñas pero deliberadas, en sus parámetros

y condiciones de trabajo y que proporciona una indicación de su confiabilidad durante el uso normal.

En necesario hacer la validación de método en la matriz biológica que se va a utilizar, la cual es definida como el material de origen biológico en que se encuentra la sustancia de interés, en donde la sustancia de interés puede ser el principio activo como tal o bien su metabolito. "

Una vez realizada la parte experimental, es necesario que la biodisponibilidad se calcule a partir de las concentraciones plasmáticas para cada uno de los sujetos en estudio. Los parámetros farmacocinéticos utilizados para caracterizar la biodisponibilidad son:  $ABC_{0-t}$ ,  $ABC_{t-a}$ ,  $C_{max}$  y  $T_{máx}$ .

## 2.6. CARACTERÍSTICAS DE DICLOFENACO.

Al igual que el tolmetín y el ketorolaco, el diclofenaco es un derivado estructural similar al ácido acético heteroarílico, con distintas características farmacológicas. En particular es un derivado del ácido fenilacético creado específicamente como antiinflamatorio, que ha sido aprobado para diversos usos en Estados Unidos. <sup>1,13, 14, 15</sup>

### 2.6.1. PROPIEDADES QUÍMICAS.

#### 2.6.1.1. Nombre químico del diclofenaco:

Según la IUPAC <sup>14</sup>

1. Ácido 2-[(2,6-Diclorofenil)amino] bencenacético.
2. Ácido [O-(2,6-dicloroanilina) fenil] acético.
3. Acetato [O-[(2,6-diclorofenil) amino]fenil].

#### 2.6.1.2. Fórmula Condensada:



#### 2.6.1.3. Fórmula Desarrollada (figura 2):

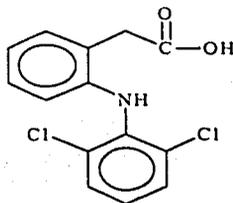


FIGURA 2. Estructura molecular de Diclofenaco (Diclofenac)<sup>14</sup>

**2.6.1.3. Peso Molecular:**

295 g / mol

**2.6.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.**

**2.6.2.1. Descripción:**

El diclofenaco sodico es inoloro, en forma de cristales blancos y ligeramente hidróscopico.

**2.6.2.2. pKa:**

En agua el pKa es de 4.

**2.6.2.3. Solubilidad:**

- La Solubilidad del diclofenaco sódico se presenta en la tabla 2.

TABLA 2. Solubilidad de Diclofenaco de Sodio <sup>14</sup>

| SOLVENTE.                 | SOLUBILIDAD<br>(mg/mL). |
|---------------------------|-------------------------|
| Agua desionizada .        | > 9                     |
| Metanol.                  | > 24                    |
| Acetona.                  | 6                       |
| Acetonitrilo.             | < 1                     |
| Ciclohexano.              | < 1                     |
| Acido clorhídrico pH 1.1  | < 1                     |
| Buffer de fosfatos pH 7.2 | 6                       |

### **2.6.3. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.**

#### **2.6.3.1. Mecanismo de Acción:**

Posee actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria.

Es un inhibidor de la ciclooxigenasa y su potencia es sustancialmente mayor que la de la indometacina. <sup>1, 15, 16</sup>

Disminuye las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre en leucocitos, al modificar la liberación o captación de dicho ácido graso.<sup>1</sup>

El diclofenaco se encuentra clasificado como un antiinflamatorio no esterooidal (AINES) clásico. <sup>1, 14, 16</sup>

#### **2.6.3.2. Farmacocinética y Metabolismo:**

Después de ingerido, el diclofenaco se absorbe en forma rápida y completa, y en plasma alcanza concentraciones máximas en términos de 2 a 3 horas. La administración simultánea con los alimentos disminuye la velocidad de absorción, pero no la magnitud de la misma. Se advierte un notable efecto de primer paso, de tal manera que a nivel sistémico se detecta sólo 50% del fármaco, aproximadamente ya que se liga ampliamente a proteínas plasmáticas (99%) y su vida media en plasma es de 1 a 2 horas. Se acumula en líquido sinovial, lo cual explica el efecto terapéutico que es considerablemente más largo que su vida media plasmática. El diclofenaco se metaboliza en el hígado por acción de la isozima de la subfamilia CYP2C del citocromo P450 a 4-hidroxiclofenac el cual es el metabolito principal, teniendo otros metabolitos hidroxilados.

Después de la glucoronidación y sulfación, los metabolitos se excretan en orina (65%) y en bilis (35%).<sup>1, 14, 15, 16</sup>

### **2.6.3.3. Aplicación Terapéutica:**

El diclofenaco sódico (VOLTAREN) fue aprobado en Estados Unidos para el tratamiento sintomático a largo plazo de la artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante.<sup>1, 15</sup>

Puede ser útil también por breves lapsos en lesiones músculo esqueléticas agudas, hombro con dolor agudo (tendinitis picipital y bursitis subdeltoidea), dolor postoperatorio y dismenorrea. En Europa se distribuye un preparado (ARTHROTEC) que combina 50 mg de diclofenaco en tabletas con recubierta entéricas y misoprostol, análogo de la prostaglandina.<sup>1</sup> Se busca conservar la eficacia del diclofenaco y, al mismo tiempo disminuir la frecuencia de úlceras o erosiones de vías gastrointestinales. Los datos iniciales sugieren que no se pierde la eficacia de diclofenaco y se reduce su toxicidad con el empleo de la mezcla mencionada, además se cuenta con una solución oftálmica del fármaco para tratar la inflamación postoperatoria después de la extirpación de cataratas.<sup>1, 14, 15</sup>

### **2.6.3.4. Dosis utilizada:**

Se presenta en comprimidos con capa entérica de 25, 50 y 75 mg. La dosis usual para el alivio sintomático de la artritis reumatoidea es de 150 a 200 mg en dos o cuatro tomas y para la osteoartritis de 100 mg a 150 mg, en dos o tres tomas; para la espondilitis anquilosante se administran 100 a 125 mg diarios en cuatro a cinco tomas.<sup>14</sup>

En general la dosis de Diclofenaco es de 75 a 100 mg de dos a tres veces a l día, mientras que para los niños menores de 6 años se debe de administrar una dosis de 0.5-2 mg/Kg, y cuando el tratamiento es mas fuerte, la dosis permitida es de 3 mg/Kg. <sup>1, 15</sup>

#### **2.6.3.5. Estabilidad:**

La estabilidad del diclofenaco sódico en tabletas recubiertas con polímeros de acrilato de hidroxipolicelulosa es de una semana a 30°C en 80% de humedad relativa. La formulación de supositorio es estable por 24 meses a temperatura ambiente y su estabilidad en fluidos biológicos es de dos semanas a temperatura ambiente. <sup>14</sup>

#### **2.6.3.6. Efectos Tóxicos:**

El principal problema de los AINEs son las complicaciones gastrointestinales graves, úlcera sintomática, hemorragia y perforación del tubo digestivo. <sup>15, 18, 19, 20</sup>

No obstante, aunque la incidencia de úlceras endoscópicas es elevada (15 al 29%), sólo una pequeña proporción de los consumidores habituales de AINEs (alrededor del 1-2%), presentan una complicación grave. El riesgo relativo de dichas complicaciones es 4-5 veces superior en los tratados con AINEs que en los no consumidores de estos fármacos. Este riesgo se incrementa linealmente con la dosis presentando cierta variabilidad entre los distintos AINEs. <sup>15, 16, 18 19</sup>

En 15% de los enfermos hay un incremento de la actividad de aminotransferasa hepática en plasma y aunque casi siempre el aumento

es moderado, las cifras pueden ser de más de tres tantos en un porcentaje pequeño de pacientes, a menudo en los que reciben el fármaco para combatir la osteoartritis. Los incrementos en las cifras de aminotransferasa suelen ser reversibles y sólo en contadas ocasiones se acompañan de manifestaciones clínicas de hepatopatía. En las primeras ocho semanas de administración de diclofenaco, hay que evaluar la actividad de la aminotransferasa e interrumpir el uso del fármaco si persisten cifras anormales o surgen nuevos signos o síntomas. <sup>1</sup> Otras respuestas adversas incluyen efectos en el SNC, erupciones cutáneas, reacciones alérgicas, retención de líquidos y edema y, en pocas ocasiones, trastornos de la función renal. No se recomienda usar en niños, ni en mujeres que amamantan o embarazadas. <sup>1, 14, 15</sup>

Al igual que otros antiinflamatorios no esteroideos, pueden inhibir temporalmente la agregación plaquetaria, por lo que se recomienda la dosificación controlada en personas con trastornos hemostáticos. <sup>15, 21</sup>

La incidencia de morbilidad y mortalidad por reacciones adversas, al diclofenaco, es de 50-100 ingresos hospitalarios por 100.000 habitantes por año en los países desarrollados. <sup>15</sup>

#### **2.6.3.7. Presentaciones Comerciales:**

Se encuentran en una gran variedad de las formas farmacéuticas, como son: cremas, soluciones inyectables, grageas de liberación prolongada, cápsulas, solución oftálmica, gel, grageas entéricas y supositorios.

Las presentaciones comerciales de Diclofenaco que se encuentran disponibles en el mercado mexicano se esquematizan en la tabla 3.

TABLA 3. Algunas presentaciones disponibles de Diclofenaco en México. <sup>22</sup>

| NOMBRE COMERCIAL | FORMA FARMACÉUTICA                | LABORATORIO                          |
|------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Artrenac         | Solución Inyectable.              | Merck México S.A.                    |
| Artrenac         | Cápsulas de Liberación prolongada | Merck México S.A.                    |
| Artrenac         | Gel.                              | Merck México S.A.                    |
| Cataflam Emulgel | Gel.                              | Novartis Farmacéuticas, S.A. de C.V. |
| Dicloran         | Grageas de liberación prolongada  | Randall Lab. S.A. de C.V.            |
| Dolflam          | Solución Inyectable.              | Rayere S.A. de C.V.                  |
| Evadol           | Grageas con capa entérica.        | Degort's Chemical                    |
| Fustaren         | Solución inyectable (50 mg)       | Fustery, S.A. de C.V.                |
| Fustaren 50      | Grageas.                          | Fustery, S.A. de C.V.                |
| Fustaren Retard  | Grageas de Liberación prolongada. | Fustery, S.A. de C.V.                |
| Lifenac          | Crema.                            | Liferpal, S.A. de C.V.               |

| NOMBRE COMERCIAL | FORMA FARMACÉUTICA                | LABORATORIO                                  |
|------------------|-----------------------------------|--|
| Liroken          | Grageas de Liberación Prolongada. | Kendrick, S.A. de C.V.                       |
| Liroken          | Solución Inyectable.              | Kendrick, S.A. de C.V.                       |
| Logesic          | Grageas Entéricas.                | Carter Wallace S.A.                          |
| Logesic Kronos   | Grageas de Liberación Prolongada. | Carter Wallace S.A.                          |
| Mafena Retard    | Tabletas de liberación prolongada | Maver, S.A. de C.V.                          |
| Selectofen       | Grageas de Liberación Prolongada. | Diba, S.A. laboratorios                      |
| 3-A Oftena       | Solución oftálmica.               | Merck México S.A.                            |
| Volfenac Retard  | Grageas                           | Productos farmacéuticos Collins S.A. de C.V. |
| Voltaren Retard  | Grageas de liberación prolongada  | Novartis Farmacéuticas, S.A. de C.V.         |
| Voltaren         | Suspensión.                       | Novartis Farmacéuticas, S.A. de C.V.         |
| Voltaren         | Solución Inyectable.              | Novartis Farmacéuticas, S.A. de C.V.         |
| Voltaren 50      | Grageas con capa entérica.        | Novartis Farmacéuticas, S.A. de C.V.         |

# PARTE EXPERIMENTAL

### 3.- PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 REACTIVOS

Acetonitrilo HPLC,  
 $\text{CH}_3\text{CN}$   
Lote: 2856T05D51  
Mallinckrodt  
Pureza: 99.8%  
PM: 41.05 g/mol

Diclorometano  
 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
Lote: 98293  
Prolabo.  
Pureza: 99.5%  
PM: 84.93 g/mol  
Densidad: 1.33 g/mL

Acetato de Sodio Cristales  
 $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$   
Lote: 107457  
Merck  
PM: 136.08 g/mol

Estándar Primario  
Diclofenaco Sódico  
 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NO}_2\text{Na}$   
Lote: 57A4  
COSUFAR  
Pureza: 99.8%  
PM: 318 g/mol

Acido Fosfórico  
 $\text{H}_3\text{PO}_4$   
Lote: 91512  
Merck  
Pureza: 85 %  
PM: 98 g/mol

Metanol para HPLC  
 $\text{CH}_3\text{OH}$   
Lote: VO3CO9  
Mallinckrodt  
Pureza: 99.9%  
PM: 32.04 g/mol

#### 3.2. FLUIDO BIOLÓGICO.

Las muestras estándar y de control de calidad (CC) se prepararon en plasma humano obtenido del Hospital Español.

El plasma se sometió a las pruebas de VIH, VDRL, HGB, HCB, Brucella, Plasmodium y Chagas, dando resultados negativos para cada una de ellas.

### 3.3. INSTRUMENTACIÓN.

#### 3.3.1 EQUIPO CROMATOGRÁFICO:

|                 |  |
|-----------------|--|
| Bomba           | Cuaternaria con degasificador, modelo 600 Controlled, Waters |
| Integrador      | Paquete computacional Millennium 32, Waters.                 |
| Detector        | Detector UV, modelo 2487 de Waters.                          |
| Columna         | X-Terra RP18, 4.6 X 150 mm, 5 $\mu$ m.                       |
| Flujo           | 1.0 mL/min.  |
| Automuestreador | Inyector automático, modelo 717 plus de Waters.              |
| Fase Móvil      | Acetato de sodio 0.1M, pH 5:ACN (57:43)                      |

#### 3.3.2. EQUIPO:

1. Agitador vortex thermolyne Maxi Mix II.
2. Centrífuga Sigma
3. Micropipetas eppendorf.
4. Balanza analítica Ohaus Standard Analytical.
5. Sonificador Cole-Parmer 8890.
6. Sistema de filtración Millipore.
7. Potenciómetro OAKTON.
8. Membranas para filtración Millipore de 0.45 $\mu$ .
9. Equipo para extracción sólido-líquido supelco, Visiprep.

*Ramírez Rgéndiz Maribel*

### 3.4. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

- **Solución Amortiguadora de Acetato de Sodio 0.1 M, pH 5.0**

Transferir a un matraz volumétrico de 1L, 13.61 g de acetato de Sodio y llevar a volumen con agua desionizada, adicionar ácido fosfórico 85% hasta obtener un pH de 5.0. Filtrar esta solución al vacío a través de una membrana millipore de 0.45  $\mu\text{m}$  y por último desgasificar al vacío con el sonificador durante 30 minutos

- **Ácido Fosfórico pH 2.1**

En un vaso de precipitados tomar 1L de agua desionizada y adicionar ácido fosfórico 85%, hasta obtener un pH de 2.1

- **Solución patrón de Diclofenaco Sódico 1 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )**

Pesar con exactitud 0.01 g de  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NO}_2\text{Na}$ , transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver en 5 mL de metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) y llevar a volumen con agua desionizada. (solución Patrón 1)

- **Solución patrón de Diclofenaco Sódico 2 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )**

Transferir 10 mL de la solución patrón 1 a un matraz de 100 mL y llevar a volumen con agua desionizada (solución patrón 2).

- **Solución patrón de Diclofenaco Sódico 3 (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )**

Transferir 10 mL de la solución patrón 2 a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con agua desionizada (solución patrón 3).

### 3.5. PREPARACIÓN DE CURVA PATRÓN Y CONTROLES DE DICLOFENACO (DCF) EN PLASMA.

Para preparar la curva patrón y los puntos control de calidad de Diclofenaco, se ocuparon las soluciones 2 y 3 (10 y 1 µg/mL), añadiendo las siguientes alícuotas a 1 mL de plasma para obtener las concentraciones de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y 1500 ng/mL. Las muestras de control de calidad en plasma a las concentraciones de 35, 350 y 1250 ng/mL se prepararon en forma similar. El procedimiento se muestra en la tabla 4.

TABLA 4. Preparación de la Curva Patrón de Diclofenaco.

| MATRAZ | MUESTRA  | µL de DCF<br>(1µg/mL)  | Vol.<br>Plasma<br>(mL) | Concentración<br>DCF (ng/mL) |
|--------|----------|------------------------|------------------------|------------------------------|
| 1      | Estándar | 5                      | 1                      | 5                            |
| 2      | Estándar | 10                     | 1                      | 10                           |
| 3      | Estándar | 25                     | 1                      | 25                           |
| 4      | Control  | 35                     | 1                      | 35                           |
| 5      | Estándar | 50                     | 1                      | 50                           |
| 6      | Estándar | 100                    | 1                      | 100                          |
| MATRAZ | MUESTRA  | µL de DCF<br>(10µg/mL) | Aforo<br>(mL)          | Concentración<br>DCF (ng/mL) |
| 7      | Estándar | 25                     | 1                      | 250                          |
| 8      | Control  | 35                     | 1                      | 350                          |
| 9      | Estándar | 50                     | 1                      | 500                          |
| 10     | Estándar | 100                    | 1                      | 1000                         |
| 11     | Control  | 125                    | 1                      | 1250                         |
| 12     | Estándar | 150                    | 1                      | 1500                         |

### 3.6. MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Basados en estudios anteriores de biodisponibilidad del diclofenaco, así como en otros artículos <sup>23, 24, 25</sup> y con algunas modificaciones de acuerdo a el objetivo del estudio, se llevó acabo el siguiente método de extracción (figura 3).

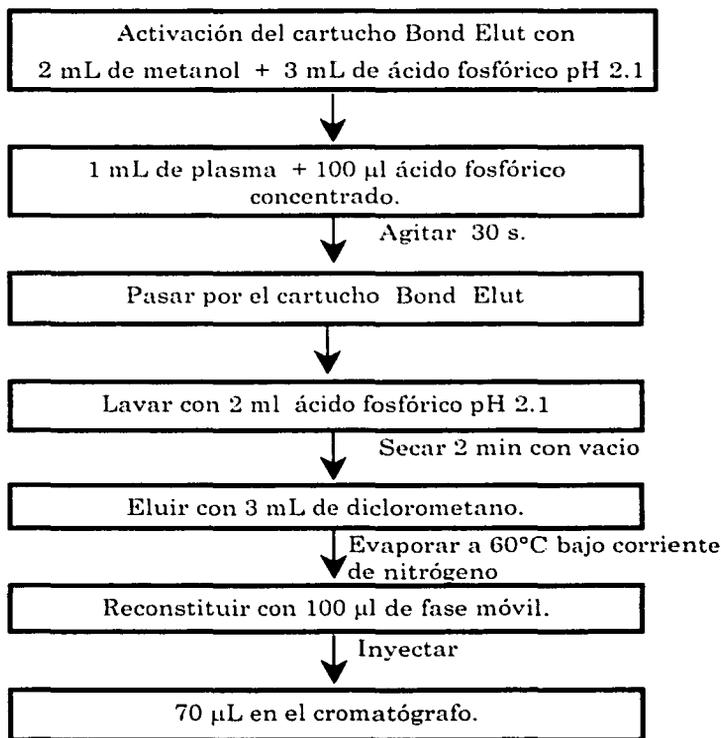


FIGURA 3. Método de Extracción de Diclofenaco a Partir de la Matriz Biológica.

### 3.7. VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO

Antes del análisis de las muestras problema es necesario llevar a cabo la validación del sistema analítico y del método analítico.

El método analítico se validó de acuerdo a los parámetros establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, en lo referente a la validación de métodos analíticos para realizar pruebas de biodisponibilidad y bioequivalencia.

Tanto el sistema cromatográfico como el método analítico se validaron para demostrar la confiabilidad de los resultados y obtener evidencia documentada de que el procedimiento se comporta consistentemente durante el tiempo que dura el análisis del total de las muestras. En el caso del sistema se analizaron tres series independientes de curvas patrón en un día de trabajo; mientras que el método analítico se validó analizando tres series independientes de curvas patrón y cinco series independientes de muestras de control de calidad (control bajo, medio y alto por serie) en el primer día de trabajo y analizando series independientes de muestras de control de calidad (control bajo, medio y alto) por duplicado en el segundo y tercer día de trabajo respectivamente. El modelo matemático utilizado para ajustar los datos fue log-log lineal ( $\log Y = \log b + m \log X$ ). Los parámetros de la validación serán discutidos a continuación.

### **3.7.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA.**

#### **3.7.1. LINEALIDAD Y PRECISIÓN.**

La evaluación de la linealidad se llevo a cabo mediante tres series independientes de curvas patrón en solución acuosa en el rango de concentración de 5 a 1500 ng/mL.

Cada una de las área obtenidas a las concentraciones evaluadas se graficaron con respecto a la concentración de diclofenaco, definiendo la linealidad con un coeficiente de correlación mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%, obtenidos del ajuste log-log de la curva patrón por medio de una regresión lineal por mínimos cuadrados.

La precisión del sistema se evaluó a partir de los datos de linealidad, aplicando algunos parámetros estadísticos, como son promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de cada uno de los valores de concentración.

### **3.7.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO.**

#### **3.7.2.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO.**

La evaluación de la linealidad del método, se realizó analizando tres series independientes de curva patrón en plasma, en un día de trabajo, en el intervalo de concentración de 5 a 1500 ng/mL, de acuerdo a el procedimiento de extracción establecido.

La linealidad se evaluó tratando el área de Diclofenaco (en términos logarítmicos) de cada punto de la curva patrón como desconocida e introduciéndolos en la ecuación derivada por la regresión lineal por mínimos cuadrados para obtener los valores de "cantidad recuperada".

El ajuste de regresión lineal por mínimos cuadrados realizado a la transformación log-log lineal de los datos del método analítico fue definida a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ). El valor de " $r$ " requerido para cada curva patrón fue de 0.99 o mayor.

### 3.7.2.2. PRECISIÓN Y EXACTITUD.

La precisión del método se evaluó como repetibilidad (precisión intradía) y reproducibilidad (precisión interdía), analizando tres concentraciones conocidas de diclofenaco en plasma, nivel bajo, medio y alto (35, 350 y 1250 ng/mL), siendo estas concentraciones diferentes a las de la curva patrón, pero incluidos dentro del rango de estudio.

En el caso de la repetibilidad del método analítico, las concentraciones de 35, 350 y 1250 ng/mL fueron analizadas por quintuplicado; mientras que para evaluar la reproducibilidad se analizaron por duplicado durante tres días.

La precisión se determinó con el coeficiente de variación de las concentraciones recuperadas y exactitud se definió como la desviación absoluta (Des. abs.%) del valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración (tanto para los datos de repetibilidad como de

reproducibilidad) con respecto al valor nominal (cantidad adicionada), en donde:

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

La precisión y la exactitud se evaluaron tratando el área de diclofenaco de las muestras control como desconocidas e introduciéndolas en la ecuación derivada por la regresión log-log lineal por mínimos cuadrados para obtener los valores de "cantidad recuperada".

### 3.7.2.3. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

Para evaluar el límite de cuantificación es necesario analizar por quintuplicado la concentración más baja del rango de trabajo. Se considera que el punto tiene validez como límite de cuantificación(LC), también conocida como concentración mínima cuantificable (CMC), si el valor promedio cae dentro del  $\pm 20\%$  del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20%.

### 3.7.2.4. LÍMITE DE DETECCIÓN.

El límite de detección(LD) se determinó haciendo diluciones de la concentración utilizada en el límite de cuantificación (LC) hasta que la señal del compuesto por analizar en la matriz biológica presentara una señal de ruido tres veces mayor.

#### 3.7.2.5. SELECTIVIDAD.

La selectividad del método se determinó analizando muestras blanco de la matriz biológica (plasma) proveniente de cada voluntario (muestras predosis), muestras de plasma conteniendo fármacos de uso común, como son: Ranitidina, Ácido acetil salicílico, Paracetamol, Naproxeno y, también se analizó plasma con Heparina, el cual se utiliza como anticoagulante en las muestras de los voluntarios; con los cuales se evaluó el método contra posibles interferencias en los tiempos de retención de diclofenaco.

Dicha evaluación se efectúa con el fin de controlar cada una de las variables que pudiesen estar presentes durante la elaboración del presente estudio.

#### 3.7.2.6. RECOBRO.

El recobro se definió como el porcentaje del área de diclofenaco recuperada después de la extracción de las muestras de la matriz biológica, comparada con el área de un estándar no extraído.

#### 3.7.2.7. ESTABILIDAD.

La prueba de estabilidad nos permitió conocer las condiciones de temperatura y tiempo en las que el compuesto permanece estable durante el, almacenamiento y proceso de la muestra, evaluando la respuesta de

tres niveles de concentración (35,350 y 1250 ng/mL) del plasma, bajo las siguientes condiciones.

**3.7.2.7.1. Estabilidad bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración.**

La estabilidad de las muestras en refrigeración se evaluó preparando por duplicado muestras control de Diclofenaco en plasma, la cual se mantuvo en refrigeración a 5°C. Las muestras se procesaron y analizaron al tiempo 0 y a los 8 y 15 días después de su preparación, considerándose estables las muestras que presentaran un desviación absoluta del  $\pm 15 \%$ , haciendo la comparación de las muestras con respecto al primer día (tiempo cero).

**3.7.2.7.2. Estabilidad en congelación.**

La estabilidad de la muestra en congelación se evaluó preparando por duplicado muestras control de Diclofenaco en plasma, las cuales se dividieron en dos partes iguales y se almacenaron en congelación a -70 °C. la primera parte de las muestras se descongelaron, procesaron y analizaron el primer día, y el resto de las muestras a los 30 días. Las muestras se consideraron estables si la concentración recuperada promedio se encontraban dentro del límite del  $\pm 15 \%$  del valor original o tiempo cero (primer día de análisis).

**3.7.2.7.3. Estabilidad de la muestra procesada.**

Se utilizaron dos series de muestras de Diclofenaco en plasma a tres niveles de concentración, dentro del rango de linealidad del método, llevando acabo el procedimiento de extracción del fármaco, e inyectando

en el sistema cromatográfico a las condiciones ambientales del laboratorio a los tiempos: 0, 24 y 48 horas después de su preparación

### **3.8. SELECCIÓN DE VOLUNTARIOS**

La Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud nos indica que los sujetos deben de participar de manera voluntaria además de contar con toda la información referente al tratamiento al cual se van a someter, así como las indicaciones necesarias durante este tratamiento. Una vez obtenida la información necesaria sobre el fármaco, los voluntarios deben de firmar una carta de aceptación y consentimiento.

La población a evaluar se conformó de 24 voluntarios, clínicamente sanos, lo cual se comprobó con pruebas de gabinete, pruebas de laboratorio, detección de drogas de abuso y prueba de embarazo.

De los 24 voluntarios sanos, los 12 fueron del sexo masculino y 12 de sexo femenino, con edades de entre 24 y 40 años.

Durante por lo menos dos semanas antes de iniciar el estudio y durante el tiempo que éste duró, los voluntarios no ingieren ningún otro medicamento, alcohol, café ni tabaco.

Es necesario tomar en cuenta que los voluntarios no debían de presentar alergias al medicamento en estudio.

### 3.9. DISEÑO DEL ESTUDIO

A los 24 voluntarios se les administro Diclofenaco grageas de liberación prolongada de 100 mg, junto con 250 mL de agua en condiciones de ayuno. El estudio se realizó llevando el siguiente orden por genero (Tabla 5).

Las muestras plasmáticas se almacenaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el día de su análisis.

Las muestras plasmáticas se recolectaron antes de cada administración y en 11 tiempos de muestreo después de la administración del medicamento, durante las siguientes 48 horas (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 16.0, 22.0, 48.0 horas). Las concentraciones plasmáticas de diclofenaco fueron determinadas por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), realizando previamente la validación del método.

TABLA 5. Género de cada uno de los voluntarios.

| GÉNERO    | VOLUNTARIO | GÉNERO   | VOLUNTARIO |
|-----------|------------|----------|------------|
| MASCULINO | 1          | FEMENINO | 13         |
|           | 2          |          | 14         |
|           | 3          |          | 15         |
|           | 4          |          | 16         |
|           | 5          |          | 17         |
|           | 6          |          | 18         |
|           | 7          |          | 19         |
|           | 8          |          | 20         |
|           | 9          |          | 21         |
|           | 10         |          | 22         |
|           | 11         |          | 23         |
|           | 12         |          | 24         |

### 3.10. ANÁLISIS DEL FLUIDO BIOLÓGICO

Las muestras plasmáticas se extrajeron mediante el método sólido-líquido, anteriormente descrito. Después de la elusión de la muestra en la fase móvil, una alícuota de 70  $\mu\text{L}$  fue inyectada en el sistema de CLAR equipado con un detector UV y analizada.

Cada día de estudio se procesó una curva patrón y se intercalaron puntos control entre las muestras plasmáticas. Cada una de las muestras (estándar y de control de calidad), se prepararon antes del estudio, utilizando el mismo proceso de extracción.

Las muestras de tres voluntarios se analizaron en una corrida. Los estándares y las muestras del estudio se analizaron individualmente, mientras que las muestras de control de calidad se analizaron en réplicas (una serie de muestras control por voluntario), colocando un control cada 5 muestras. El integrador computacional Millennium 32 de Waters. fue usado para determinar las áreas de Diclofenaco.

### 3.11. CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS.

El log del área de DCF (y) y el log de las concentraciones de los estándares (x) se ajustaron mediante un análisis de regresión log-log lineal por mínimos cuadrados a la ecuación  $\log y = \log b + m \log x$ , donde "log b" es la ordenada al origen (intercepto-y), y "m" es la pendiente de la curva de calibración. El área de DCF de las muestras del estudio (en términos logarítmicos) se convirtió a concentración usando los parámetros estadísticos generados.

La validez de cada corrida durante el procesamiento de las muestras se determinó examinando los resultados de la linealidad y muestras de control de calidad. Se aceptó la corrida analítica si:

a) El 75% o un mínimo de siete valores de concentraciones estándar (incluyendo la concentración superior), caen dentro del  $\pm 15\%$  excepto para el límite de cuantificación, el cual deberá estar en el  $\pm 20\%$  con respecto a su valor nominal y el valor del coeficiente de correlación "r" sea  $\geq 0.99$ .

b) Si al menos el 67% de los valores de control de calidad se encuentran dentro del límite  $\pm 20\%$  de los valores esperados; 33% de las muestras de control de calidad (no más del 50% para cada nivel de concentración) están fuera del criterio del  $\pm 20\%$  con respecto a su valor nominal.

c) Si más del 75% del total de muestras analizadas en la corrida presentaron un coeio en los picos cromatográficos de interés menor a 2

*Ramírez Reséndiz Maribel*

---

(calculado con el integrador Millennium 32 de Waters con el método USP), repitiendo el análisis de aquellas muestras que no cumplan con dicho criterio.

Era necesario que el cromatógrafo se encontrara estable antes de inyectar las muestras, para lo cual se inyectó 5 veces como mínimo, una solución de concentración conocida de Diclofenaco en solución, la cual se preparó al iniciar el estudio. El sistema se encontraba estable si la respuesta (área) de cada una de las lecturas, no presentaba una variación mayor al 15%. Si la variación de las respuestas resultaba mayor del 15 %, era necesario realizar  $n$  número de inyecciones hasta que la estabilidad fuera demostrada.

### 3.12. ANALISIS FARMACOCINÉTICO.

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos utilizando el paquete computacional Biopak® 2.0, el cual realiza la determinación de la siguiente manera:

1.- El área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración hasta el último tiempo "t" ( $ABC_{0 \rightarrow t}$ ), mediante el método trapezoidal.

2.- El área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada desde el tiempo "t" a infinito ( $ABC_{t \rightarrow inf}$ ), la determina 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 infinito ( $ABC_{0 \rightarrow inf}$ ), obteniéndose sumando el  $ABC_{0 \rightarrow t}$  y el  $ABC_{t \rightarrow inf}$ .

4.- La concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), es determinado directamente de la curva de concentración plasmática-tiempo.

5.- El tiempo al cual se alcanza la concentración plasmática máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) es determinado directamente de la curva de concentración plasmática-tiempo.

6.- La vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) se obtuvo del ajuste log-lineal por mínimos cuadrados de la porción terminal de las curvas de concentración plasmáticas contra tiempo.

### 3.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se efectuó el análisis estadístico de cada uno de los parámetros farmacocinéticos, por medio del paquete computacional de SigmaStat para comparar las dos poblaciones de individuos con diferente género.

Las pruebas realizadas fueron:

- Normalidad mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov
- Igualdad de Varianza utilizando la prueba de Levene Median
- ANOVA
- T de Student.

RESULTADOS  
Y  
ANALISIS  
DE  
RESULTADOS.

*Ramirez Reséndiz Maribel*

---

## 4. RESULTADOS y ANALISIS DE RESULTADOS.

### 4.1 VALIDACIÓN.

#### 4.1.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA.

Los resultados obtenidos del ajuste log-log lineal se encuentran en la tabla 6. Los datos están expresados como log de la concentración vs log del área de DICLOFENACO, en la cual se evalúa linealidad y precisión del sistema, además de la curva patrón promedio correspondiente, que se presenta en la figura 4.

TABLA 6. Resultados correspondientes a la linealidad del sistema para cuantificar Diclofenaco.

| CONC. DE<br>DICLOFENACO<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | RESPUESTA (ÁREA)   |                    |                    | PROMEDIO   | D.E.     | % C.V. |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|------------|----------|--------|
|   | CURVA              |                    |                    |            |          |        |
|   | 1                  | 2                  | 3                  |            |          |        |
| 5   | 8257.0             | 8997.6             | 8463.4             | 8572.67    | 312.06   | 3.64   |
| 10  | 16230.0            | 16617.0            | 16512.2            | 16453.07   | 163.43   | 0.99   |
| 25  | 39880.5            | 41983.1            | 41838.0            | 41233.87   | 958.81   | 2.32   |
| 50  | 79682.7            | 81393.2            | 86081.3            | 82385.73   | 2704.86  | 3.28   |
| 100   | 159320             | 163329.9           | 163396.2           | 162015.37  | 1906.10  | 1.18   |
| 250   | 399258.6           | 411968.6           | 423128.9           | 411452.03  | 9751.85  | 2.37   |
| 500   | 806034.2           | 829753.3           | 854718.2           | 830168.57  | 19877.33 | 2.39   |
| 1000  | 1539093            | 1672917.9          | 1708472.7          | 1640160.67 | 72924.82 | 4.45   |
| 1500  | 2395206.4          | 2482476.6          | 2504029.4          | 2460570.80 | 47049.69 | 1.91   |
| M   | 1595.07            | 1660.35            | 1680.8             |            |          |        |
| B   | 555.22             | -240.19            | 2743.45            |            |          |        |
| R   | 0.9999             | 0.9999             | 0.9999             |            |          |        |
| error relativo<br>debido a la<br>regresión      | $1 \times 10^{-6}$ | $2 \times 10^{-6}$ | $1 \times 10^{-6}$ |            |          |        |

Ramírez Reséndiz Maribel

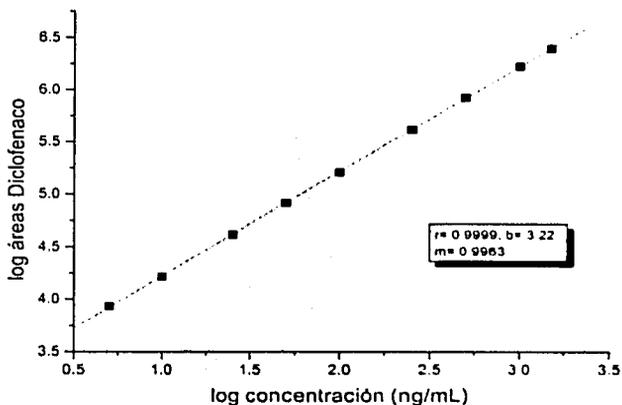


FIGURA 4. Gráfica log-log lineal para demostrar linealidad del sistema en la cuantificación de Diclofenaco.

El sistema fue log-log lineal en el rango de concentraciones de 5 a 1500 ng/mL; todos los valores de "r" obtenidos fueron de 0.9999 o mayores. El valor promedio para la pendiente (m) fue de 16.45.4067 y para la ordenada al origen (b) fue de 1052.8266. El error relativo debido a la regresión fue menor que el 2% y el coeficiente de variación del factor de respuesta promedio de las tres curvas fueron del 2.97%.

#### 4.1.2. LINEALIDAD DEL MÉTODO.

La tabla 7 muestra los resultados de la linealidad del método para la cuantificación de Diclofenaco en plasma, así como la curva patrón promedio correspondiente (Figura 5).

**TABLA 7. Resultados correspondientes al ajuste log-log lineal del método para cuantificar Diclofenaco en plasma**

| CONCENTRACIÓN DE DICLOFENACO<br>(ng/mL) | RESPUESTA (ÁREA)<br>CURVA |        |        | PROMEDIO | D.E. | C.V. |
|---|---------------------------|--------|--------|----------|------|------|
|   | 1                         | 2      | 3      |          |      |      |
| 5                                       | 5.5                       | 5.4    | 4.5    | 5.1      | 0.6  | 10.7 |
| 10                                      | 9.0                       | 8.6    | 10.9   | 9.5      | 1.2  | 12.9 |
| 25                                      | 25.5                      | 25.2   | 26.4   | 25.7     | 0.6  | 2.4  |
| 50                                      | 47.8                      | 52.2   | 53.8   | 51.3     | 3.1  | 6.1  |
| 100                                     | 102.5                     | 101.0  | 91.0   | 98.2     | 6.3  | 6.4  |
| 250                                     | 252.9                     | 253.1  | 24.5   | 249.2    | 6.6  | 2.7  |
| 500                                     | 478.0                     | 524.7  | 490.5  | 497.7    | 24.2 | 4.9  |
| 1000                                    | 999.7                     | 1037.6 | 1032.2 | 1023.2   | 20.5 | 2.0  |
| 1500                                    | 1561.9                    | 1373.0 | 1505.8 | 1480.2   | 97.0 | 6.6  |
| m                                       | 0.9975                    | 1.0119 | 0.9964 |          |      |      |
| b                                       | 3.1319                    | 3.1036 | 3.1384 |          |      |      |
| r                                       | 0.9996                    | 0.9998 | 0.9994 |          |      |      |

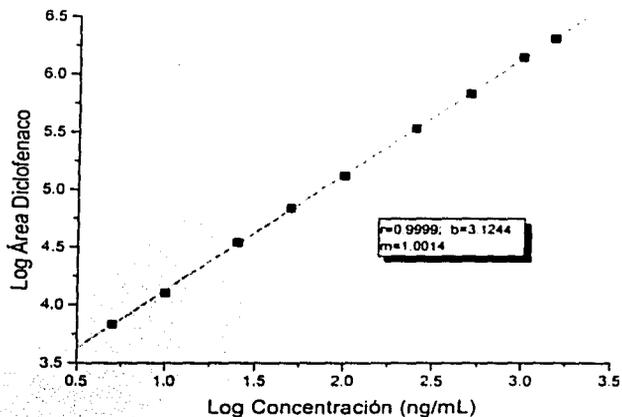


FIGURA 5. Gráfica de Linealidad del método para cuantificar Diclofenaco en plasma.

El método fue log-log lineal en el rango de concentraciones de 5 a 1500 ng/mL; todos los valores de "r" obtenidos fueron de 0.9993 o mayores. El valor promedio para la pendiente (m) fue de 1.0019 y para la ordenada al origen (b) fue de 3.1246.

### 4.1.3. PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO.

Precisión evaluado como repetibilidad y reproducibilidad.

#### 4.1.3.1. Repetibilidad

Los resultados que demuestran la repetibilidad, se encuentran esquematizados en la tabla 8.

TABLA 8. Repetibilidad y exactitud del método analítico para cuantificar Diclofenaco en plasma.

| MUESTRA                     | CANTIDAD RECUPERADA (ng/mL) |        |         |
|-----------------------------|-----------------------------|--------|---------|
| 1                           | 35.03                       | 354.88 | 1269.98 |
| 2                           | 37.27                       | 356.89 | 1363.46 |
| 3                           | 33.26                       | 304.24 | 1205.04 |
| 4                           | 30.32                       | 302.81 | 1232.38 |
| 5                           | 30.57                       | 322.23 | 1032.24 |
| Promedio                    | 33.29                       | 328.21 | 1220.62 |
| D.E.                        | 2.96                        | 26.41  | 121.15  |
| C.V. %                      | 8.90                        | 8.05   | 9.93    |
| Cantidad adicionada (ng/mL) | 35                          | 350    | 1250    |
| Desv.abs %                  | 4.89                        | 6.23   | 2.35    |

En los resultados de repetibilidad, el coeficiente de variación en cada uno de los niveles de concentración evaluados fue menor que 9.93 %, mientras que la desviación absoluta (Desv.abs%) en los niveles de concentración estudiados fue menor que 6.23 %.

### 4.1.3.2. Reproducibilidad

La reproducibilidad del método evaluada en el presente estudio se muestra en la tabla 9.

TABLA 9. Reproducibilidad de método analítico para la cuantificación de Diclofenaco en plasma

| DÍA   | RÉPLICA<br>NÚMERO | CANTIDAD RECUPERADA (ng/mL) |        |         |
|---|-------------------|-----------------------------|--------|---------|
|   |                   |                             |        |         |
| 1   | 1                 | 35.03                       | 354.88 | 1269.98 |
|   | 2                 | 37.27                       | 356.89 | 1363.46 |
| 2   | 1                 | 35.21                       | 374.12 | 1190.66 |
|   | 2                 | 35.44                       | 375.18 | 1154.37 |
| 3   | 1                 | 33.85                       | 335.41 | 1146.03 |
|   | 2                 | 35.40                       | 369.61 | 1145.76 |
| <b>Promedio</b>                             |                   | 35.37                       | 361.02 | 1211.71 |
| D.E.  |                   | 1.10                        | 15.21  | 88.11   |
| C.V.%                                       |                   | 3.11                        | 4.21   | 7.27    |
| Cantidad adicionada<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |                   | 35                          | 350    | 1250    |
| Desviación absoluta %                       |                   | 1.05                        | 3.15   | 3.06    |

En cuanto a la reproducibilidad, se observa que el coeficiente de variación entre los diferentes días de trabajo fue de 3.11 a 7.27%, mientras que la desviación absoluta % fue menor a 3.15 %, en las diferentes concentraciones evaluadas.

#### **4.1.4. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

El límite de cuantificación fue de 5 ng/mL, en este nivel de concentración, la precisión fue de 10.7% y la exactitud evaluada mediante la desviación absoluta fue de 6.23%, encontrándose estos valores dentro del intervalo de  $\pm 20\%$  del valor nominal.

#### **4.1.5. LÍMITE DE DETECCIÓN**

El límite de detección para Diclofenaco fue de 3.0 ng/mL, siendo este valor el equivalente a tres veces el nivel del ruido.

#### **4.1.6. SELECTIVIDAD**

La selectividad que el método presenta para diferentes fármacos se presenta en la figura 6.

Como se puede observar en los diferentes cromatogramas, en los cuales se evalúan diferentes fármacos, no hay interferencia en la cuantificación de diclofenaco; se evaluó también la heparina, que se utiliza como anticoagulante, así como la matriz biológica utilizada (plasma), demostrándose que las áreas registradas son únicamente debidas a la concentración de Diclofenaco en plasma.

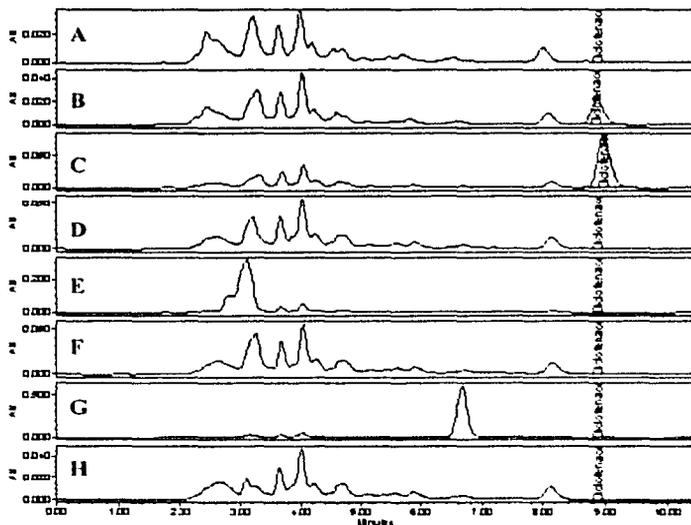


FIGURA 6. Selectividad de Diclofenaco ante: A) Blanco de plasma, B) Estándar de Diclofenaco 250 ng/mL, C) Plasma de voluntario sano después de 3 horas de su administración de Diclofenaco, D) Ranitidina, E) Ácido acetil salicílico, F) Paracetamol, G) Naproxeno, H) Heparina.

#### 4.1.7. RECOBRO.

En la tabla 10 se muestran los resultados de recobro del diclofenaco.

TABLA 10. Recobro de Diclofenaco de plasma humano

| Estándar   | Estándar en plasma<br>(extraído)<br>Área de<br>DICLOFENACO | Estándar en fase móvil (no<br>extraído)<br>Área de DICLOFENACO | %<br>Recobro |
|------------|--|--|--------------|
|            | 2026711.1  | 1716120.0  |              |
| Alto       | 2039487.7  | 1842699.5  |              |
| 1250 ng/mL | 2126065.5  | 1628202.5  |              |
|            | 2082766.4  | 1665212.0  |              |
|            | 2097953.0  | 1394291.9  |              |
| Promedio   | <b>2074596.7</b>   | <b>1649305.2</b>   | <b>79.50</b> |
|            | 570676.7   | 478349.0   |              |
| Medio      | 576851.5   | 481061.0   |              |
| 350 ng/mL  | 599723.5   | 409971.0   |              |
|            | 596561.0   | 408029.0   |              |
|            | 569566.6   | 434253.0   |              |
| Promedio   | <b>582675.9</b>  | <b>442332.6</b>  | <b>75.91</b> |
|            | 56527.0  | 47008.5  |              |
| Bajo       | 56530.8  | 50010.0  |              |
| 35 ng/mL   | 58773.3  | 44617.0  |              |
|            | 59427.0  | 40671.5  |              |
|            | 58582.4  | 41007.0  |              |
| Promedio   | <b>57968.1</b>   | <b>44662.8</b>   | <b>77.05</b> |

Los resultados muestran que el recobro promedio de diclofenaco determinado a las concentraciones de 35 ng/mL (nivel bajo), 350 ng/mL (nivel medio) y 1250 ng/mL (alto), fue del 77.49% .

#### 4.1.8. ESTABILIDAD.

En las tablas 11, 12, y 13 se presentan los resultados de la concentración obtenidos después del tratamiento de la muestra durante el tiempo de manejo, almacenamiento y procesamiento, par demostrar estabilidad.

Los resultados correspondientes a la cuantificación de muestras refrigeradas al tiempo 0, a los 8 y 15 días se muestran en la tabla 11.

TABLA 11. Estabilidad bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración

|           | Tiempo 0         |                    |                    |
|-----------|------------------|--------------------|--------------------|
|           | Bajo<br>35 ng/mL | Medio<br>350 ng/mL | Alto<br>1250 ng/mL |
|           | 36.29            | 358.21             | 1225.39            |
|           | 25.43            | 347.83             | 1311.19            |
| Promedio  | 30.84            | 353.02             | 1268.29            |
|           | Día 8            |                    |                    |
|           | 35.93            | 351.54             | 1218.43            |
|           | 35.14            | 349.15             | 1300.01            |
| Promedio  | 35.54            | 350.35             | 1259.22            |
| Desv.abs% | 13.22            | 0.76               | 0.72               |
|           | Día 15           |                    |                    |
|           | 36.84            | 355.89             | 1227.63            |
|           | 34.85            | 347.54             | 1220.24            |
| Promedio  | 35.85            | 351.72             | 1223.94            |
| Desv.abs% | 13.97            | 0.37               | 3.62               |

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de las muestras congeladas a -70°C durante 30 días.

**TABLA 12 Estabilidad de almacenamiento en condiciones de congelación.**

|               | <b>Tiempo 0</b>  |                    |                    |
|---------------|------------------|--------------------|--------------------|
|               | Bajo<br>35 ng/mL | Medio<br>350 ng/mL | Alto<br>1250 ng/mL |
|               | 36.29            | 358.21             | 1225.39            |
|               | 35.43            | 347.83             | 1311.19            |
| Promedio      | 35.86            | 353.02             | 1268.29            |
| <b>Día 30</b> |                  |                    |                    |
|               | 34.13            | 346.35             | 1245.32            |
|               | 34.78            | 353.49             | 1256.11            |
| Promedio      | 34.45            | 349.92             | 1250.72            |
| Desv.abs%     | 3.93             | 0.88               | 1.39               |

Los resultados de estabilidad de diclofenaco en la matriz biológica se presentan la tabla 13.

**TABLA 13. Estabilidad de la muestra procesada**

|               | <b>Tiempo 0</b>  |                    |                    |
|---------------|------------------|--------------------|--------------------|
|               | Bajo<br>35 ng/mL | Medio<br>350 ng/mL | Alto<br>1250 ng/mL |
|               | 52208            | 534403             | 1914880            |
|               | 50411            | 522627             | 1851812            |
| Promedio      | 51309.5          | 528515             | 1883346            |
| <b>Día 24</b> |                  |                    |                    |
|               | 51981            | 537085             | 1885038            |
|               | 50625            | 534986             | 1863820            |
| Promedio      | 51303            | 536035.5           | 1874429            |
| Desv.abs%     | 0.01             | 1.42               | 0.47               |
| <b>Día 48</b> |                  |                    |                    |
|               | 47744            | 540925             | 1890461            |
|               | 48953            | 534463             | 1822743            |
| Promedio      | 48348.5          | 537694             | 1856602            |
| Desv.abs%     | 5.77             | 1.74               | 1.42               |

Los resultados obtenidos nos muestran que el Diclofenaco en plasma es estable durante 15 días en refrigeración, 30 días en congelación y 48 días es estable la muestra procesada, presentando una desviación nominal respecto al valor inicial menor del 15% en todos los casos.

Por todo lo anterior se demuestra mediante evidencia experimental y documentada que el método para cuantificar Diclofenaco en plasma es confiable y cumple con los requisitos necesarios en cada una de las pruebas evaluadas, de acuerdo a la NOM-177-SSA1-1998.

#### **4.2. ANÁLISIS DE LA MUESTRA PLASMÁTICA EN VOLUNTARIOS**

Una vez que concluyó la validación del método analítico, se efectuó el análisis de la muestra plasmática de los 24 voluntarios.

Las muestras del estudio se analizaron en ocho días diferentes. Los resultados de las muestras control de calidad, se resumen en la tabla 14, mientras que los valores de cada una de las curvas patrón se encuentran en la tabla 15. La curva patrón se utilizó para interpolar los valores de Diclofenaco de la muestra de los voluntarios mediante un ajuste de mínimos cuadrados y con ello obtener la concentración de Diclofenaco en cada uno de los tiempos de muestreo analizados.

TABLA 14. Seguimiento de las muestras de control de calidad para Diclofenaco.

| Voluntario    | DICLOFENACO en plasma (ng/mL) |                            |                            |
|---------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|               | Control Bajo<br>35 ng/mL      | Control Medio<br>350 ng/mL | Control Alto<br>1250 ng/mL |
| 1             | 36.32                         | 263.43                     | 1049.39                    |
| 2             | 37.54                         | 285.24                     | 1244.14                    |
| 3             | 36.40                         | 327.18                     | 1262.20                    |
| 4             | 28.95                         | 342.14                     | 1285.04                    |
| 5             | 36.59                         | *                          | 1201.06                    |
| 6             | 38.83                         | 343.22                     | 1133.89                    |
| 7             | 37.20                         | 322.26                     | 1165.84                    |
| 8             | 34.54                         | 332.45                     | 1379.71                    |
| 9             | 33.30                         | *                          | 1131.12                    |
| 10            | 32.96                         | 344.68                     | 1244.39                    |
| 11            | *                             | 301.45                     | 1034.04                    |
| 12            | 29.77                         | 300.96                     | 1180.28                    |
| 13            | 36.44                         | 288.03                     | 1000.92                    |
| 14            | 36.82                         | 328.15                     | 1139.05                    |
| 15            | 31.32                         | 311.46                     | 1249.43                    |
| 16            | 34.55                         | 289.19                     | *                          |
| 17            | 37.16                         | *                          | 1015.50                    |
| 18            | 35.38                         | 305.25                     | 1013.15                    |
| 19            | 34.53                         | *                          | 1004.29                    |
| 20            | 36.71                         | 391.65                     | 1041.76                    |
| 21            | 34.55                         | 342.04                     | 1087.49                    |
| 22            | 38.10                         | 367.90                     | 1282.50                    |
| 23            | 31.10                         | 366.71                     | 1214.87                    |
| 24            | 37.16                         | *                          | *                          |
| Promedio      | 35.05                         | 323.86                     | 1152.73                    |
| D.E.(n-1)     | 2.70                          | 32.58                      | 110.59                     |
| C.V.%         | 7.70                          | 10.06                      | 9.59                       |
| Conc. nominal | 35                            | 350                        | 1250                       |
| Desv.abs(%)   | 0.15                          | 7.47                       | 7.78                       |

(\*) valores que exceden el 20 % del valor nominal

TABLA 15. Seguimiento de curvas de calibración para Diclofenaco

| Voluntarios   | DICLOFENACO en Plasma (ng/mL) |       |       |       |        |        |        |         |          | Intercepto(h) | Pendiente(m) | Coeficiente de correlación |
|---------------|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|----------|---------------|--------------|----------------------------|
|               | 1-3                           | 4-6   | 7-9   | 10-12 | 13-15  | 16-18  | 19-21  | 22-24   | Promedio |               |              |                            |
| 1-3           | 4.50                          | 10.42 | 26.41 | 54.17 | 93.83  | 276.05 | 459.03 | 969.23  | 1516.11  | 3.1332        | 0.9971       | 0.9999                     |
| 4-6           | 4.57                          | 9.93  | 27.89 | 51.13 | 98.69  | 261.92 | 485.17 | 1018.20 | 1417.66  | 3.1116        | 1.0075       | 0.9996                     |
| 7-9           | 4.73                          | -     | 26.62 | 52.97 | 95.72  | 246.33 | 505.88 | 1001.92 | 1471.57  | 3.0996        | 1.0233       | 0.9998                     |
| 10-12         | 5.10                          | 9.12  | 27.09 | 49.20 | 104.38 | 238.30 | 530.31 | 964.98  | 1486.58  | 3.0918        | 1.0098       | 0.9996                     |
| 13-15         | 4.51                          | 10.26 | 27.57 | 52.76 | 96.89  | 248.10 | 501.32 | 935.20  | 1544.94  | 3.0399        | 1.0148       | 0.9995                     |
| 16-18         | 4.53                          | 10.45 | 26.64 | 50.72 | 102.93 | 248.42 | 482.09 | 1003.15 | 1480.10  | 3.1145        | 1.0184       | 0.9997                     |
| 19-21         | 4.09                          | 10.95 | 28.18 | 53.68 | 108.89 | 235.61 | 440.39 | 928.90  | 1646.77  | 3.0509        | 0.9885       | 0.9983                     |
| 22-24         | 4.89                          | 10.65 | 24.16 | 50.49 | 100.25 | 233.14 | 523.83 | 950.73  | 1583.15  | 3.0607        | 1.0076       | 0.9997                     |
| Promedio      | 4.62                          | 10.25 | 26.82 | 51.89 | 100.20 | 248.48 | 491.00 | 971.54  | 1518.36  |               |              |                            |
| D.E.(m.D)     | 0.30                          | 0.59  | 1.25  | 1.75  | 4.99   | 14.39  | 30.82  | 33.21   | 71.91    |               |              |                            |
| C.V. %        | 6.52                          | 5.77  | 4.66  | 3.37  | 4.98   | 5.79   | 6.28   | 3.42    | 4.74     |               |              |                            |
| Conc. Nominal | 5                             | 10    | 25    | 50    | 100    | 250    | 500    | 1000    | 1500     |               |              |                            |
| Desv. abs. %  | 7.70                          | 2.54  | 7.28  | 3.78  | 0.20   | 0.61   | 1.80   | 2.85    | 1.22     |               |              |                            |

Los valores de "r" encontrados a lo largo del estudio fueron de 0.9983 o mayor; obteniendo que los estándares son reproducibles al tener un C.V. menor del 20% de cada una de las curvas analizadas diariamente.

Las concentraciones de las muestras por debajo del límite de cuantificación (tomando en cuenta la variabilidad máxima permitida del  $\pm 20\%$ ), no se incluyeron en los cálculos.

De acuerdo a los resultados anteriores, se puede observar que, ninguna de las corridas fue rechazada, ya que cumplió con el criterio de que 2 de 3 muestras control deben de encontrarse dentro del  $\pm 20\%$  valor nominal.

*Ramírez Reséndiz Maribel*

### 4.3. RESULTADOS DEL ESTUDIO CLINICO.

En la tabla 16 se presentan los valores promedio de las concentraciones plasmáticas de Diclofenaco de cada uno de los géneros para cada tiempo de muestreo, después de la administración de la formulación. En las figuras 7 y 8 se muestran la gráficas de concentración plasmática vs tiempo y de log de la concentración plasmática vs tiempo por género respectivamente.

Los resultados de concentración plasmática encontrados en cada uno de los voluntarios, así como sus gráficas de concentración plasmática vs tiempo, se encuentran en el apéndice I.

TABLA 16. Concentración plasmática promedio de Diclofenaco por género.

| Tiempo (h) | VOLUNTARIOS DEL GÉNERO MASCULINO. | VOLUNTARIOS DEL GÉNERO FEMENINO. |
|------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 0          | 0.00 ± 0.0                        | 0.00 ± 0.0                       |
| 0.5        | 205.54 + 187.04                   | 754.10 + 714.87                  |
| 1.0        | 350.16 + 262.52                   | 721.52 + 879.89                  |
| 2.0        | 264.03 + 158.94                   | 648.75 + 655.81                  |
| 3.0        | 966.06 + 375.96                   | 531.52 + 336.24                  |
| 4.0        | 452.92 + 291.92                   | 471.79 + 248.92                  |
| 5.0        | 280.30 + 202.36                   | 349.02 + 394.52                  |
| 6.0        | 184.68 + 112.34                   | 202.16 + 165.84                  |
| 8.0        | 93.04 + 75.15                     | 147.06 + 131.35                  |
| 10.0       | 52.519 + 29.52                    | 40.34 + 32.12                    |
| 16.0       | 23.322 + 12.79                    | 8.60 + 5.88                      |
| 22.0       | 11.6 + 7.21                       | *                                |
| 48.0       | ND                                | *                                |

\* valor que presenta un solo voluntario.  
ND es equivalente a No detectable.

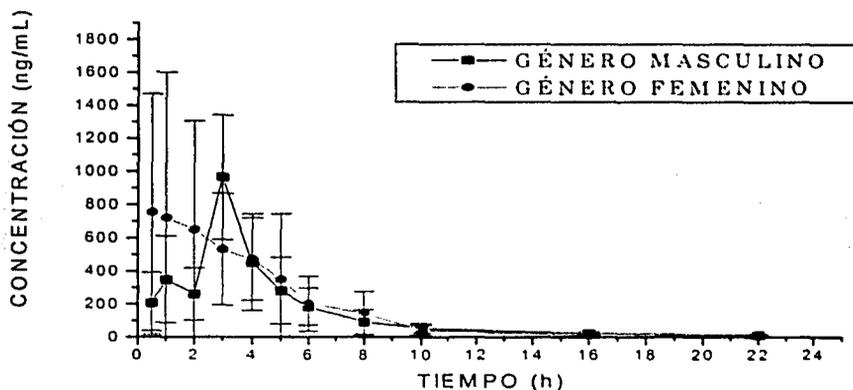


FIGURA 7. Gráfica de la concentración plasmática promedio de Diclofenaco *versus* tiempo, después de la administración de Diclofenaco en cada uno de los géneros.

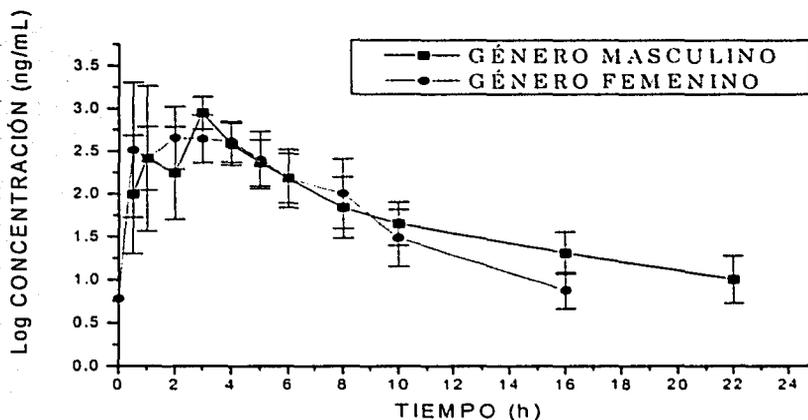


FIGURA 8. Gráfica del logaritmo de la concentración plasmática promedio de Diclofenaco *versus* tiempo, después de la administración las formulación de Diclofenaco en cada uno de los géneros

En la tabla 17 se muestran los parámetros farmacocinéticos obtenidos para cada uno de los géneros.

TABLA 17. Parámetros farmacocinéticos promedio correspondientes a la formulación de Diclofenaco para cada uno de los géneros.

| PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO (promedio ± D.E.) | GÉNERO MASCULINO | GÉNERO FEMENINO   |
|---|------------------|-------------------|
| ABC <sub>0-4</sub> (ng*h/mL)                | 2970.49 + 802.55 | 3715.76 + 1209.10 |
| ABC <sub>0-inf</sub> (ng*h/mL)              | 3046.59 + 818.98 | 3751.53 + 1204.35 |
| C <sub>max</sub> (ng/mL)                    | 997.42 + 357.40  | 1435.87 + 848.41  |
| T <sub>max</sub> (h)                        | 2.92 + 0.67      | 1.67 + 1.57       |
| T <sub>1/2</sub> (h)                        | 2.09 + 0.99      | 1.97 + 0.49       |

Como se puede observar en la tabla anterior, el C<sub>max</sub> es aparentemente mayor para las mujeres que para los hombres, por lo que se realizará la evaluación estadística para evaluar las diferencias de C<sub>máx</sub> entre géneros.

Los resultados de la evaluación estadística mediante las pruebas de Normalidad, igualdad de Varianza, ANOVA y de t de Student se encuentran en la tabla 18.

Los resultados de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para cada uno de los voluntarios, se encuentra en el apéndice II.

#### 4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de cada uno de los parámetros farmacocinéticos se llevó a cabo utilizando el paquete computacional SigmaStat<sup>®</sup>, en el se comparan las dos poblaciones de individuos con diferente género, obteniendo los siguientes resultados (tabla 18).

TABLA 18. Parámetros Estadísticos del estudio de biodisponibilidad de Diclofenaco

| PARAMETRO FARMACOCINETICO      | PRUEBA DE NORMALIDAD | PRUEBA DE IGUALDAD DE VARIANZA | PRUEBA DE t DE STUDENT        | PRUEBA DE ANOVA                 |
|--------------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
|                                |                      |                                | DIFERENCIA SIGNIFICATIVA      | DIFERENCIA SIGNIFICATIVA        |
| ABC <sub>0-t</sub> (ng*h/mL)   | CUMPLE<br>P>0.200    | CUMPLE<br>P = 0.195            | NO<br>P=0.089                 | NO<br>P=0.089                   |
| ABC <sub>0-inf</sub> (ng*h/mL) | CUMPLE<br>P>0.200    | CUMPLE<br>P = 0.208            | NO<br>P=0.108                 | NO<br>P=0.108                   |
| C <sub>max</sub> (ng/mL)       | CUMPLE<br>P>0.200    | CUMPLE<br>P = 0.079            | NO<br>P=0.113                 | NO<br>P=0.113                   |
| T <sub>max</sub> (h)           | NO CUMPLE<br>P<0.003 | NO CUMPLE                      | Mann-Whitney<br>SI<br>P=0.014 | Kruskal-Wallis<br>SI<br>P=0.020 |
| t <sub>½</sub> (h)             | CUMPLE<br>P=0.113    | CUMPLE<br>P = 0.396            | NO<br>P=0.438                 | NO<br>P=0.438                   |

El análisis estadístico comparativo de los parámetros farmacocinéticos de Diclofenaco entre hombres y mujeres, se encuentran en el apéndice III.

Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas en T<sub>máx</sub>; sin embargo, este parámetro presenta generalmente mucha variación y no es indicativo de la cantidad o velocidad absorbida.

Aún cuando no se hayan encontrado diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos principales y debido a que la aparente diferencia en el  $C_{m\acute{a}x}$  puede deberse a las diferencias en peso existentes entre hombres y mujeres, se decidió realizar una corrección de dosis con respecto al peso para los parámetros farmacocinéticos de  $ABC_{0-12}$ ,  $ABC_{0-24}$  y  $C_{m\acute{a}x}$ , multiplicando a éstos el cociente de la dosis administrada a cada voluntario entre su peso corporal.

En el apéndice IV se encuentran los datos de peso corporal de los 24 voluntarios, así como el factor de corrección obtenido para cada uno de ellos.

Una vez realizada la corrección, se procedió a realizar una nueva evaluación estadística para encontrar diferencias entre géneros, encontrándose resultados similares a los encontrados en los datos reales, lo que nos indica que no hay una diferencia significativa en la biodisponibilidad de diclofenaco por efecto del género.

A pesar de que los resultados indican que no hay diferencias significativas en la biodisponibilidad de diclofenaco en ambos géneros.

# CONCLUSIONES

*Ramírez Rgséndiz Maribel*

## 5.- CONCLUSIONES.

De los resultados del presente trabajo se concluye

- El método analítico para cuantificar diclofenaco en plasma es preciso, selectivo, estable y lineal en el intervalo de 5 a 1500 ng/mL, lo cual lo hace aceptable para la cuantificación de diclofenaco en plasma mediante el análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución.
- No existen diferencias la biodisponibilidad de diclofenaco relacionadas con el género, a pesar de ello sería importante hacer un estudio con un mayor número de voluntarios, con el fin de obtener una mayor confiabilidad de los resultados.

# BIBLIOGRAFÍA

*Ramirez Reséndiz Maribel*

## 6.- BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Hardman, Joel G. Godman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. Panamericana, Octava edición, Vol 1. México D.F., 1997. pp. 3-3.83, 157, 684,743.
- 2.- Colegio de farmacéuticos de la provincia de Buenos Aires. Cursos de Biodisponibilidad y Nuevas Formas Farmacéuticas. Universidad de la Ciudad de Buenos Aires.
- 3.- Fenandez Sánchez Eduardo; Biofarmacia. Tomo II; Instituto Politécnico Nacional y ministerio de educación superior; México D. F. 1997. pp 289-316.
- 4.- Cárdenas H. Aspecto Biofarmacéuticos de la Evaluación de Medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana. 1ª edición. México D.F., 1996. pp 19-28, 31-43, 109-133, 231-246.
- 5.- Arancibia Aquiles, Pezoa Regina; Biodisponibilidad de Medicamentos. Simposio Internacional I; Universidad de Chile; Chile 1992. pp 15, 25-50, 239-245, 267-275, 277-280.
- 6.- Harris RZ, Benet LZ, Schwartz OB; Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs*, 50 (1995). pp.222-239
- 7.- Loebstein R, Lalkin A, Koren G; Pharmacokinetics changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin Pharmacokinet*, 33 (1997). pp 328-343
- 8.- Wallis LA, et al. Textbook of Women's Health Lippincott-flaven. Publishers, Philadelphia. 1998. pp 22.
- 9.- Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es

- intercambiable. requisitos a que deben suietarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Diario Oficial de la Federación, Primera Sección, Viernes 7 de Mayo de 1999.
- 10.- Hauck WW, Anderson S. A new statistical procedure to prove the equivalence in rehearsals gives comparative biodisponibilidad he/she gives two groups. J. Pharmacokin Biopharm 12 (1984). pp 83-91.
  - 11.- Schuirmann DJ. A comparison gives the procedure he/she gives two one-sided tests and the method gives power to evaluate the equivalence he/she gives the half biodisponibilidad. J Pharmacokin Biopharm 715 (1987). pp 657-680.
  - 12.- Westlake WJ. Respuesta a Kirkwood, TBL.: You prove he/she gives bioequivalencia la necessity he/she gives repensarlas. Biometrics. 37 (1981). pp 589-594.
  - 13.- Bouchier-Hayes TA et. al. Comparison of the efficacy and tolerability of diclofenac gel (Voltarol Emulgel) and felbinac gel (Traxam) in the treatment of softtissue injuries. Br J Clin Pract 44 (1990). pp 319-20.
  - 14.- Klaus Florey. Analitical Profiles of Drugs Substances. Vol.19 Ed.Academic Press,INC. 1990. San Diego California. pp. 123-141.
  - 15.- [http://www.areasalud.com/anuario\\_farmacologico\\_anfa/productos.asp?CodPro=5460&producto=VOLTAREN%20SR%2075&labnom=NO VARTIS](http://www.areasalud.com/anuario_farmacologico_anfa/productos.asp?CodPro=5460&producto=VOLTAREN%20SR%2075&labnom=NO VARTIS)
  - 16.- Moreira H, McDonnell PJ, Fasano AP, et al. Treatment of experimental Pseudomonas Keratitis with cyclo-oxvgenase and lipoxygenase inhibitors. Ophthalmology 98 (1991). pp 1693-1697.
  - 17.- Pérez Torres, H. AINE : Importancia d ela farmacodinámia v la farmacocinética en su selección racional. Tribuna Médica 92 (1). 1995. pp. 38-43.

- 18.- Evans JM et al. Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs and admission to hospital for upper gastrointestinal bleeding and perforation: a record linkage case-control study. 311 (1995). pp 6-22.
- 19.- Figueras A et al. Spontaneous reporting of adverse drug reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs. Eur J Clin Pharmacol 47 (1994). pp 297-303.
- 20.- Martín E, Gómez A, Hinojosa B, Sáenz de San Pedro B, Florido F y Quiralte J. Estudio clínico de 32 pacientes con reacciones inducidas por diclofenaco. Alergol Inmunol Cli 16 (2001). pp 202-208
- 21.- Singh G, Ramey DR. NSAID induced gastrointestinal complications: the ARAMIS perspective-1997. J Rheumatology, 25 (suppl 51), 1998. pp 8-16.
- 22.- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas DEF. Ediciones PLM199. edición 46. México D.F. 2000. pp 141, 142, 338, 571, 617, 618, 749, 869, 1125, 1130, 1131, 1144, 1146, 1147, 1188, 1757, 1758, 1888, 2135, 3138, 2136, 2139, 2144.
- 23.-A. Augerinos, Th. Karidas and S. Malamataris. Extracinnless high-performance liquid Chromatographic method for the determination of diclofenac in human plasma and urine. Biomed. Apli 319 (1993). pp 324-329.
- 24.-J. Godbillon, S. Gauron and J.P. Metayer. High-performance liquid Chromatographic determination of diclofenac and its monohidrosilated matabolites in biological fluids. Biomed. Apli 338 (1985). pp 151-159.
- 25.- I.S. Blagbrough, M. Daykin, M. Doherty, M. Patrick and P. Shaw. High-performance liquid Chromatographic determination of Naproxen, ibuprofen and diclofenac in plasma and synovial fluid in man. Biomed. Apli 578 (1992). pp 251-257.

# APÉNDICE

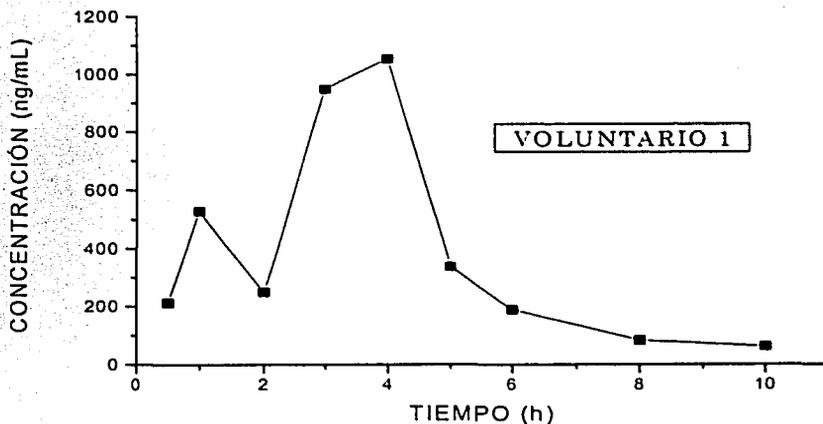
## I

*Ramirez Reséndiz Maribel*

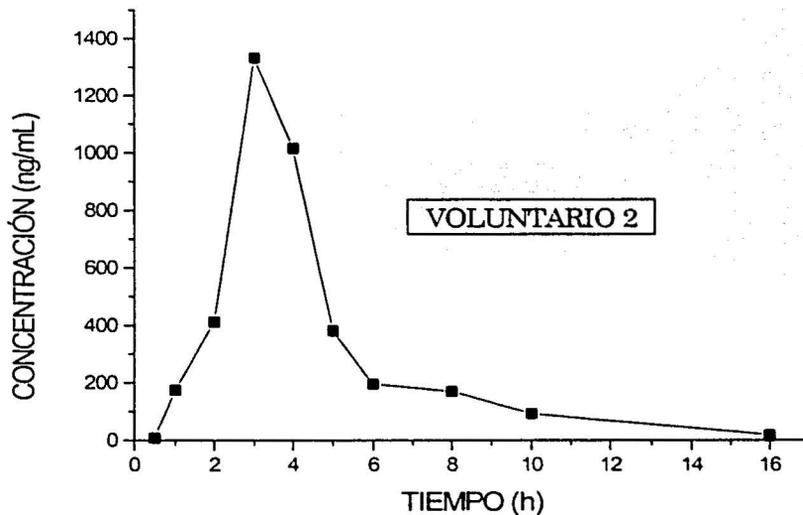
## 7.- APÉNDICE I

RESULTADOS Y GRÁFICAS DE CONCENTRACIÓN vs TIEMPO PARA CADA UNO DE LOS VOLUNTARIOS.

| VOLUNTARIO 1 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.0          | 0.000                 |
| 0.5          | 214.35                |
| 1.0          | 528.77                |
| 2.0          | 250.29                |
| 3.0          | 949.90                |
| 4.0          | 1055.48               |
| 5.0          | 341.01                |
| 6.0          | 189.26                |
| 8.0          | 83.91                 |
| 10.0         | 62.08                 |
| 16.0         | ND                    |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |

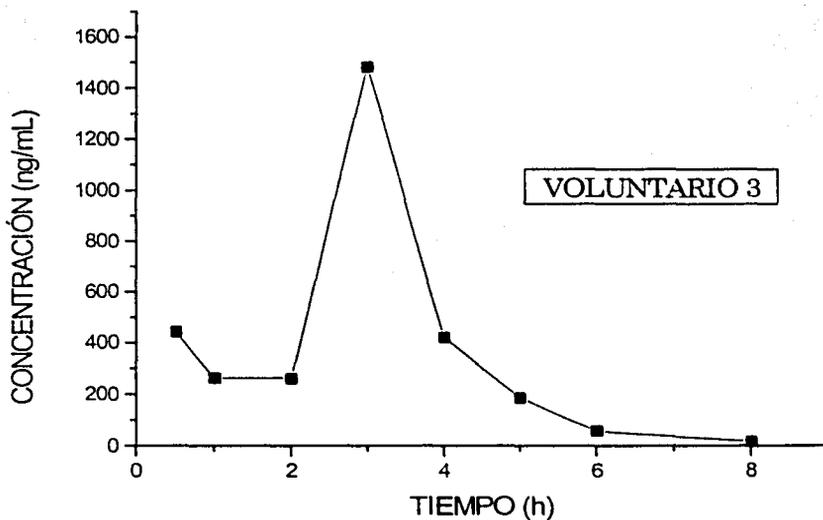


| VOLUNTARIO 2 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.0          | 0.00                  |
| 0.5          | 7.89                  |
| 1.0          | 174.60                |
| 2.0          | 411.79                |
| 3.0          | 1332.11               |
| 4.0          | 1016.82               |
| 5.0          | 381.77                |
| 6.0          | 196.60                |
| 8.0          | 170.10                |
| 10.0         | 92.46                 |
| 16.0         | 17.08                 |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |

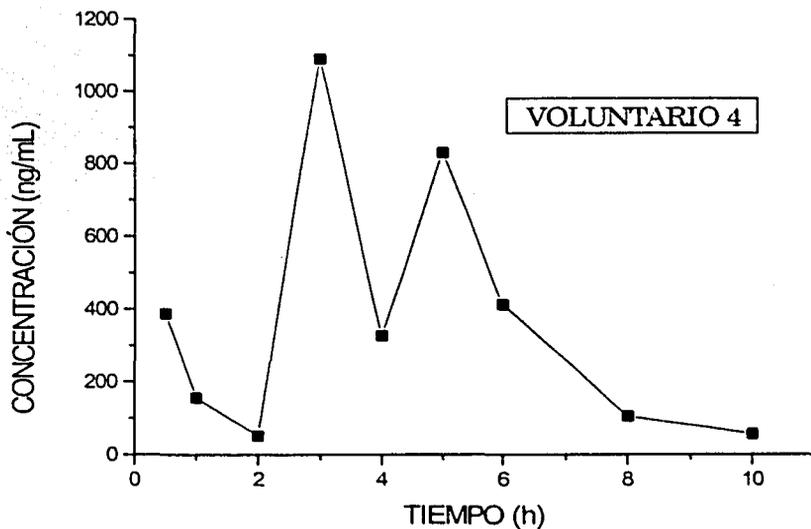


Ramírez Reséndiz Maribel

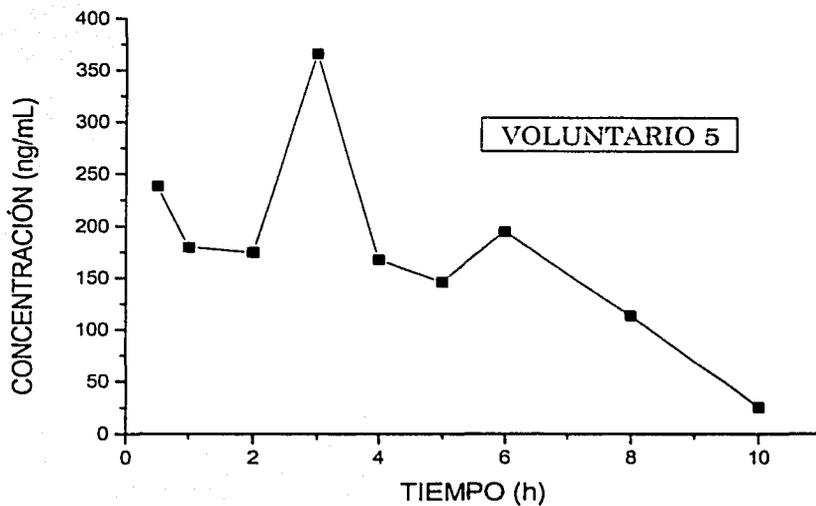
| VOLUNTARIO 3 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.0          | 0.00                  |
| 0.5          | 446.52                |
| 1.0          | 262.83                |
| 2.0          | 260.85                |
| 3.0          | 1483.71               |
| 4.0          | 422.77                |
| 5.0          | 186.96                |
| 6.0          | 56.33                 |
| 8.0          | 16.01                 |
| 10.0         | ND                    |
| 16.0         | ND                    |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |



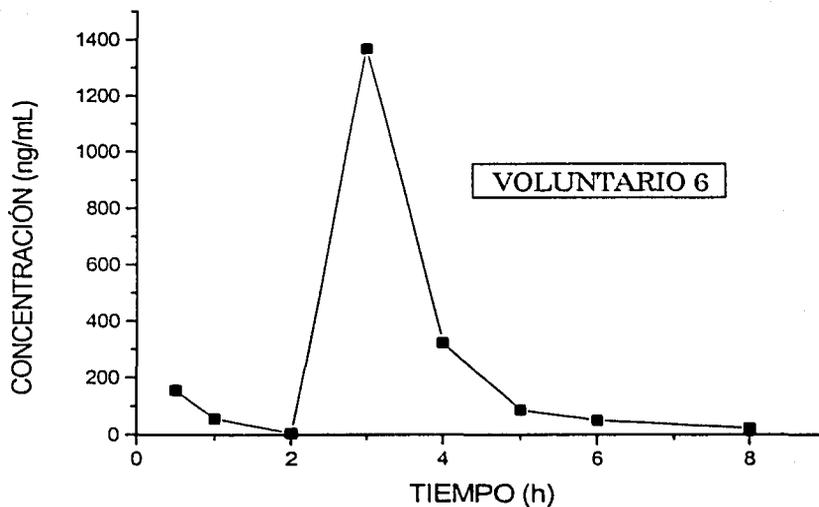
| VOLUNTARIO 4 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.0          | 0.00                  |
| 0.5          | 387.04                |
| 1.0          | 156.15                |
| 2.0          | 52.14                 |
| 3.0          | 1090.34               |
| 4.0          | 327.44                |
| 5.0          | 830.00                |
| 6.0          | 412.53                |
| 8.0          | 105.87                |
| 10.0         | 56.73                 |
| 16.0         | ND                    |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |



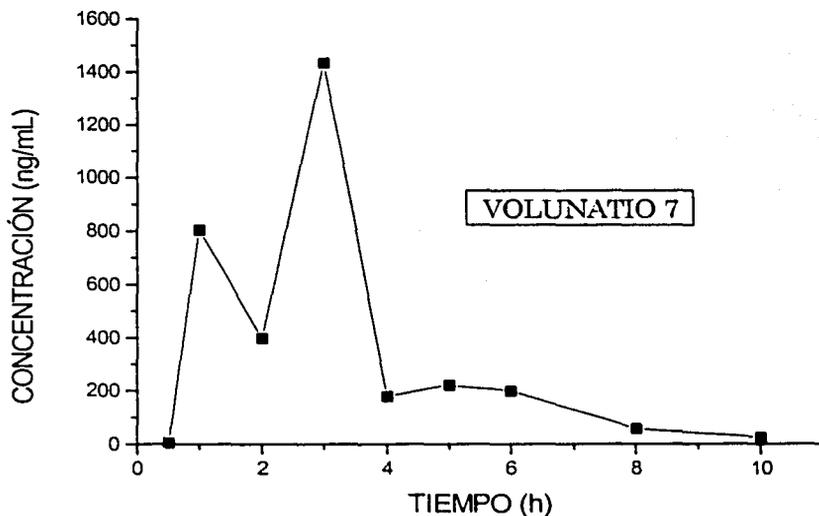
| VOLUNTARIO 5 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.0          | 0.00                  |
| 0.5          | 238.55                |
| 1.0          | 179.60                |
| 2.0          | 174.72                |
| 3.0          | 366.07                |
| 4.0          | 167.85                |
| 5.0          | 146.13                |
| 6.0          | 195.23                |
| 8.0          | 113.78                |
| 10.0         | 25.37                 |
| 16.0         | ND                    |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |



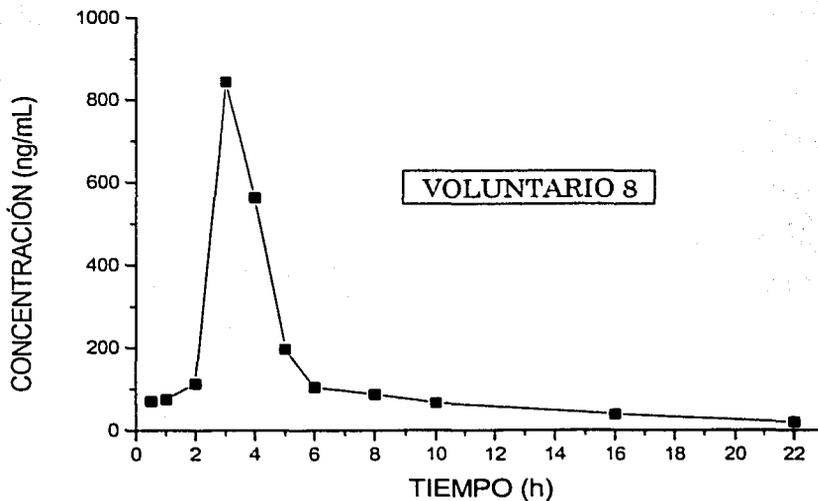
| VOLUNTARIO 6 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0.           | 0.00                  |
| 0.5          | 157.05                |
| 1.0          | 56.33                 |
| 2.0          | 5.91                  |
| 3.0          | 1368.70               |
| 4.0          | 325.65                |
| 5.0          | 86.83                 |
| 6.0          | 50.52                 |
| 8.0          | 22.95                 |
| 10.0         | ND                    |
| 16.0         | ND                    |
| 22.0         | ND                    |
| 48.0         | ND                    |



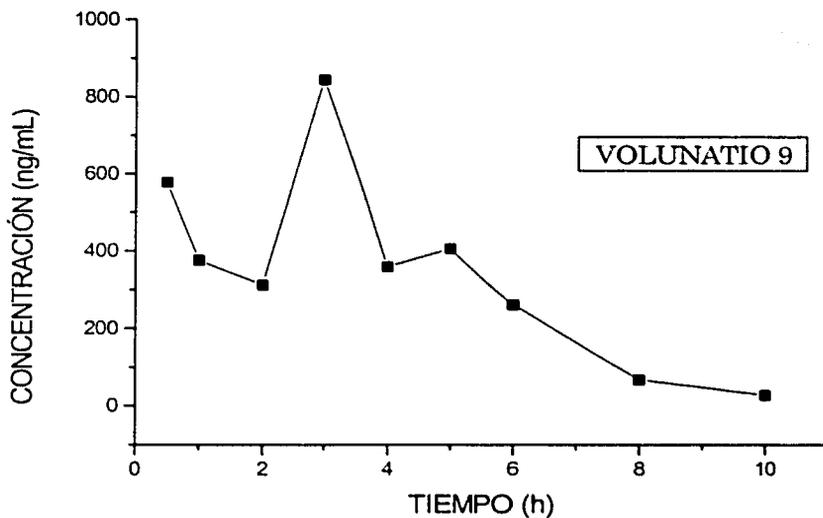
| VOLUNTARIO 7 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0            | 0.00                  |
| 0.5          | 6.18                  |
| 1            | 804.04                |
| 2            | 397.36                |
| 3            | 1434.31               |
| 4            | 178.54                |
| 5            | 220.79                |
| 6            | 199.03                |
| 8            | 57.49                 |
| 10           | 24.15                 |
| 16           | ND                    |
| 22           | ND                    |
| 48           | ND                    |



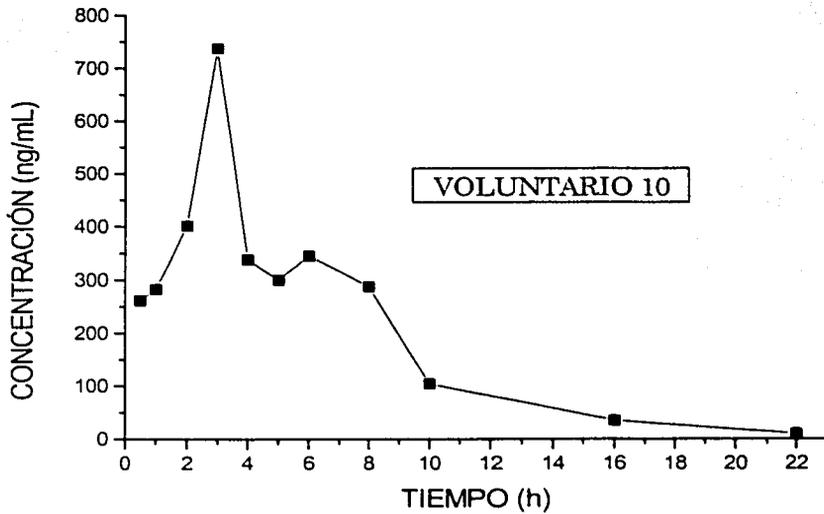
| VOLUNTARIO 8 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0            | 0.00                  |
| 0.5          | 70.30                 |
| 1            | 75.19                 |
| 2            | 112.86                |
| 3            | 844.97                |
| 4            | 564.49                |
| 5            | 198.38                |
| 6            | 104.55                |
| 8            | 87.28                 |
| 10           | 66.73                 |
| 16           | 39.04                 |
| 22           | 19.58                 |
| 48           | ND                    |



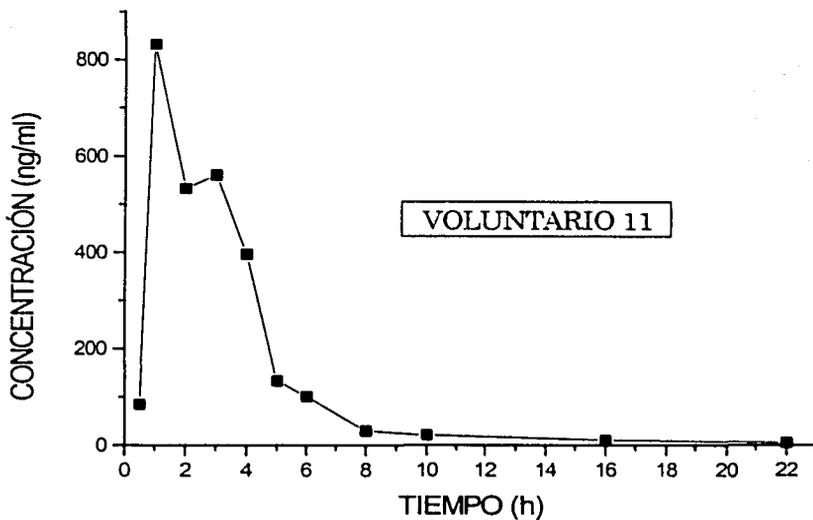
| VOLUNTARIO 9 |                       |
|--------------|-----------------------|
| Tiempo (h)   | Concentración (ng/mL) |
| 0            | 0.00                  |
| 0.5          | 578.31                |
| 1            | 375.55                |
| 2            | 312.47                |
| 3            | 845.58                |
| 4            | 359.33                |
| 5            | 406.14                |
| 6            | 262.29                |
| 8            | 69.02                 |
| 10           | 28.05                 |
| 16           | ND                    |
| 22           | ND                    |
| 48           | ND                    |



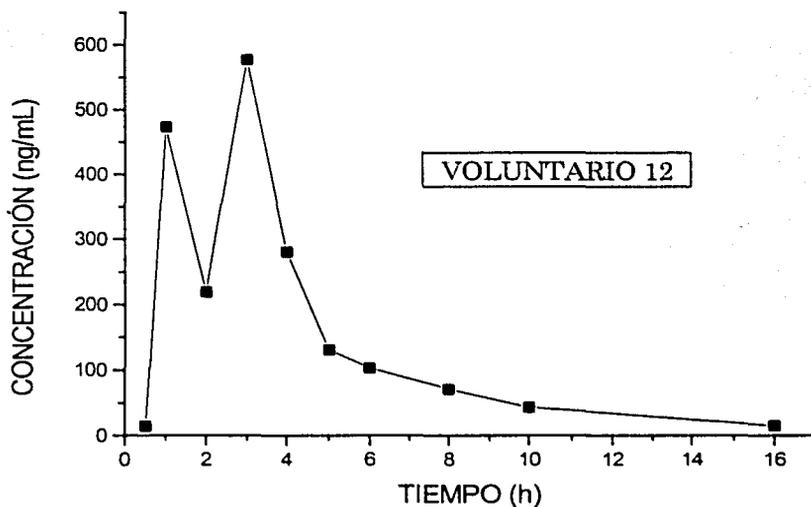
| VOLUNTARIO 10 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 261.12                |
| 1             | 282.86                |
| 2             | 401.92                |
| 3             | 737.98                |
| 4             | 339.08                |
| 5             | 300.42                |
| 6             | 345.52                |
| 8             | 288.82                |
| 10            | 104.91                |
| 16            | 34.95                 |
| 22            | 9.67                  |
| 48            | ND                    |



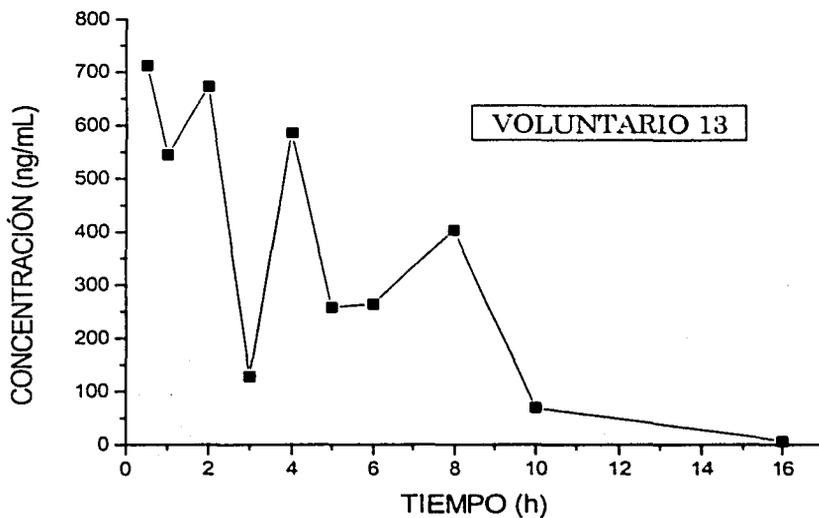
| VOLUNTARIO 11 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 85.20                 |
| 1             | 832.53                |
| 2             | 533.16                |
| 3             | 561.74                |
| 4             | 396.67                |
| 5             | 133.65                |
| 6             | 100.91                |
| 8             | 30.03                 |
| 10            | 21.48                 |
| 16            | 10.54                 |
| 22            | 5.55                  |
| 48            | NC                    |



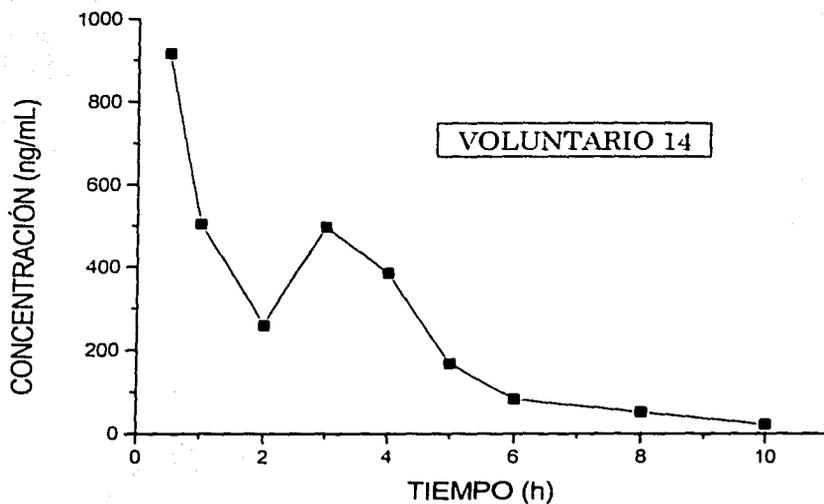
| VOLUNTARIO 12 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 14.02                 |
| 1             | 473.41                |
| 2             | 218.90                |
| 3             | 577.32                |
| 4             | 280.91                |
| 5             | 131.47                |
| 6             | 103.33                |
| 8             | 71.18                 |
| 10            | 43.23                 |
| 16            | ND                    |
| 48            | ND                    |



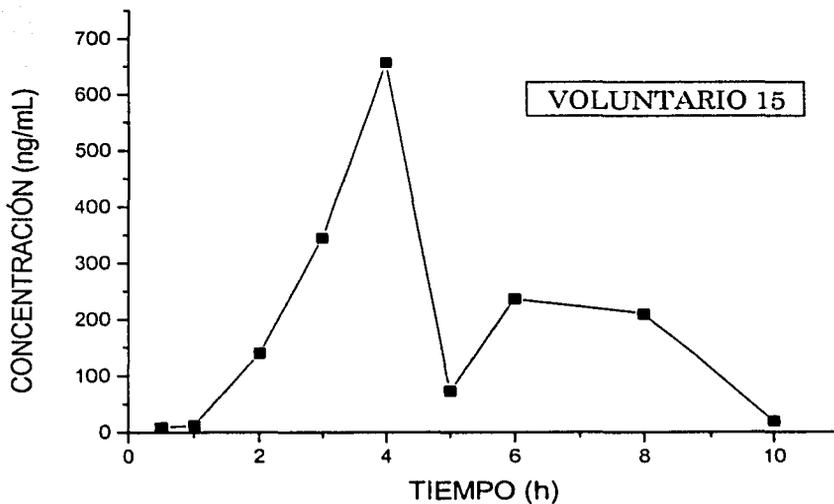
| VOLUNTARIO 13 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 712.33                |
| 1             | 544.79                |
| 2             | 672.47                |
| 3             | 128.53                |
| 4             | 585.69                |
| 5             | 258.32                |
| 6             | 264.00                |
| 8             | 402.50                |
| 10            | 69.71                 |
| 16            | 6.72                  |
| 22            | NC                    |
| 48            | 15.32                 |



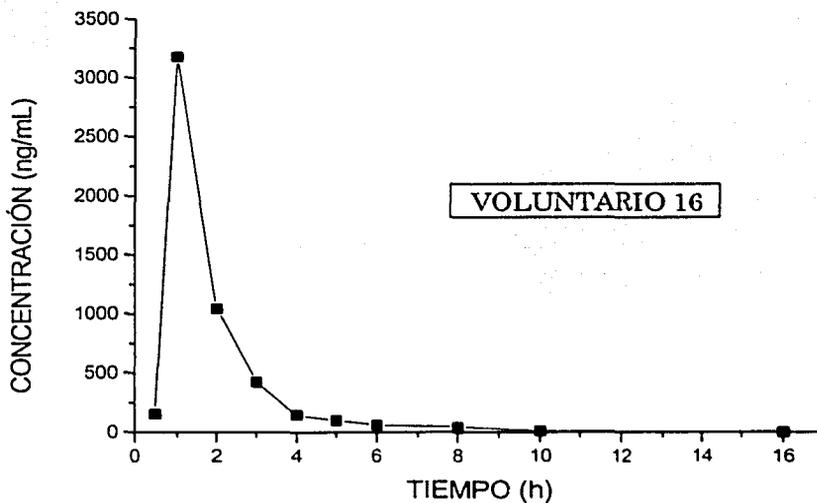
| VOLUNTARIO 14 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 917.35                |
| 1             | 504.39                |
| 2             | 260.24                |
| 3             | 497.73                |
| 4             | 385.98                |
| 5             | 168.57                |
| 6             | 83.29                 |
| 8             | 52.22                 |
| 10            | 22.47                 |
| 16            | ND                    |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



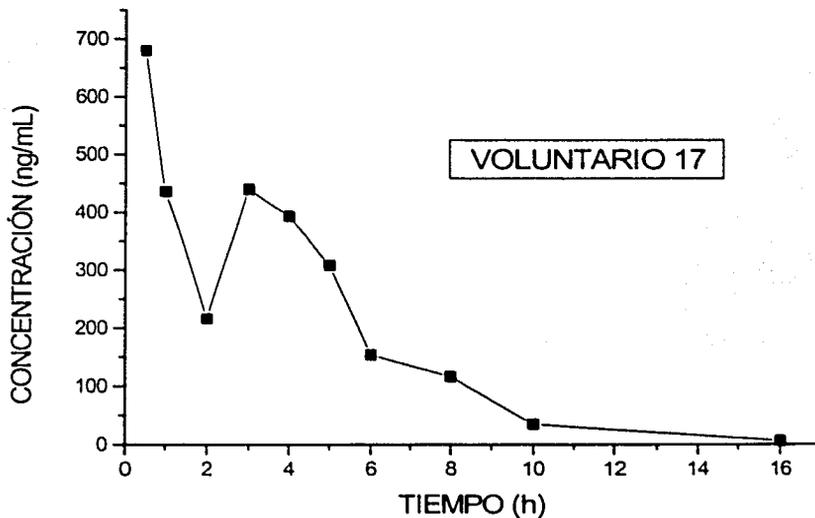
| VOLUNTARIO 15 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0                     |
| 0.5           | 8.86                  |
| 1             | 11.81                 |
| 2             | 140.62                |
| 3             | 345.30                |
| 4             | 657.45                |
| 5             | 73.85                 |
| 6             | 236.99                |
| 8             | 209.69                |
| 10            | 18.47                 |
| 16            | ND                    |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



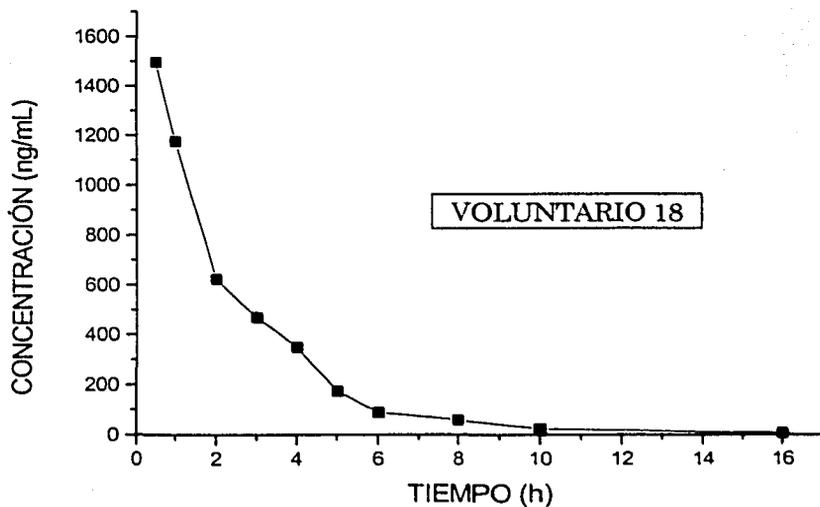
| VOLUNTARIO 16 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 154.32                |
| 1             | 3177.91               |
| 2             | 1044.17               |
| 3             | 424.32                |
| 4             | 143.31                |
| 5             | 100.06                |
| 6             | 61.24                 |
| 8             | 45.52                 |
| 10            | 11.53                 |
| 16            | 5.27                  |
| 22            | NC                    |
| 48            | ND                    |



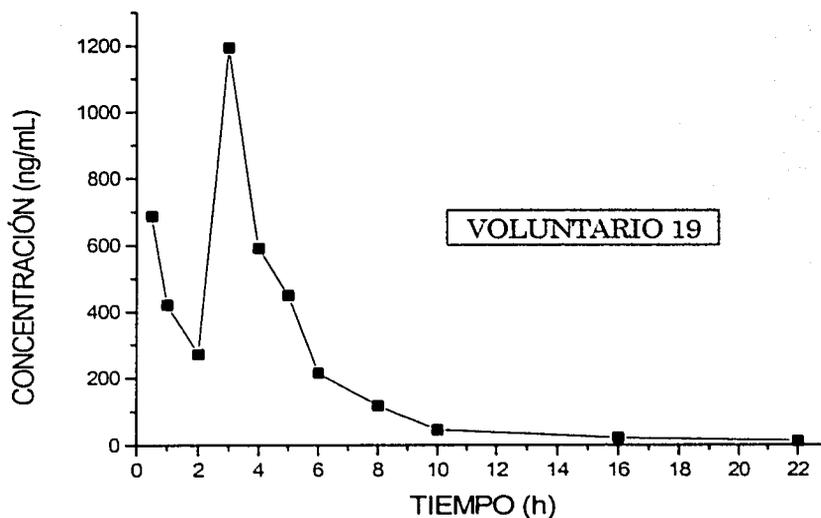
| VOLUNTARIO 17 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 680.05                |
| 1             | 436.47                |
| 2             | 215.81                |
| 3             | 440.50                |
| 4             | 393.71                |
| 5             | 308.42                |
| 6             | 153.86                |
| 8             | 117.20                |
| 10            | 35.14                 |
| 16            | 6.27                  |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



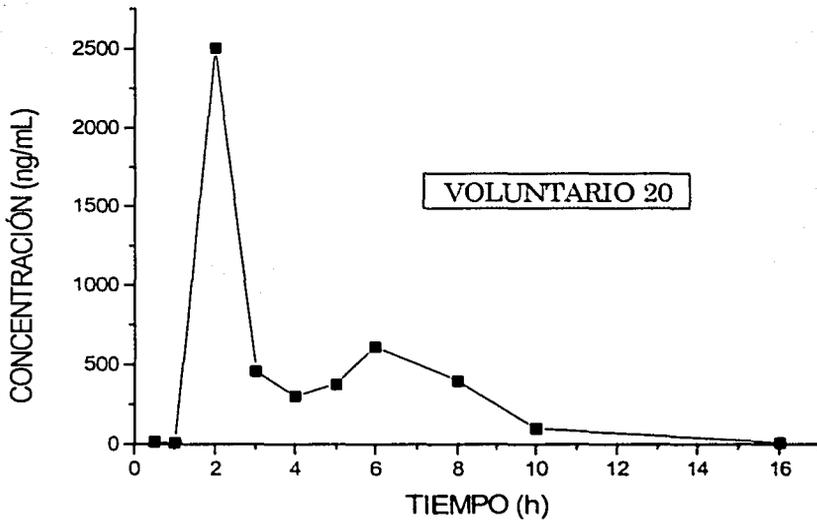
| VOLUNTARIO 18 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 1496.95               |
| 1             | 1174.74               |
| 2             | 623.71                |
| 3             | 470.01                |
| 4             | 350.08                |
| 5             | 174.83                |
| 6             | 89.45                 |
| 8             | 58.78                 |
| 10            | 24.47                 |
| 16            | 5.09                  |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



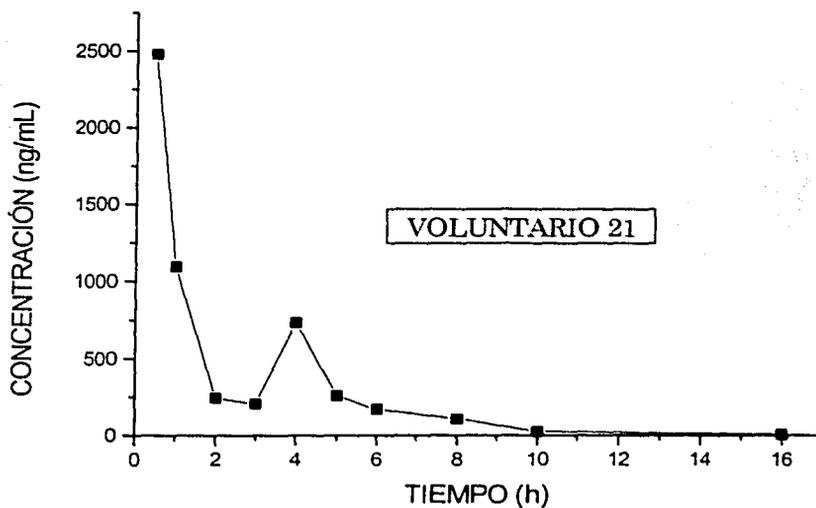
| VOLUNTARIO 19 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 687.36                |
| 1             | 421.16                |
| 2             | 271.61                |
| 3             | 1193.84               |
| 4             | 592.02                |
| 5             | 450.02                |
| 6             | 215.02                |
| 8             | 117.58                |
| 10            | 45.84                 |
| 16            | 22.83                 |
| 22            | 12.89                 |
| 48            | NC                    |



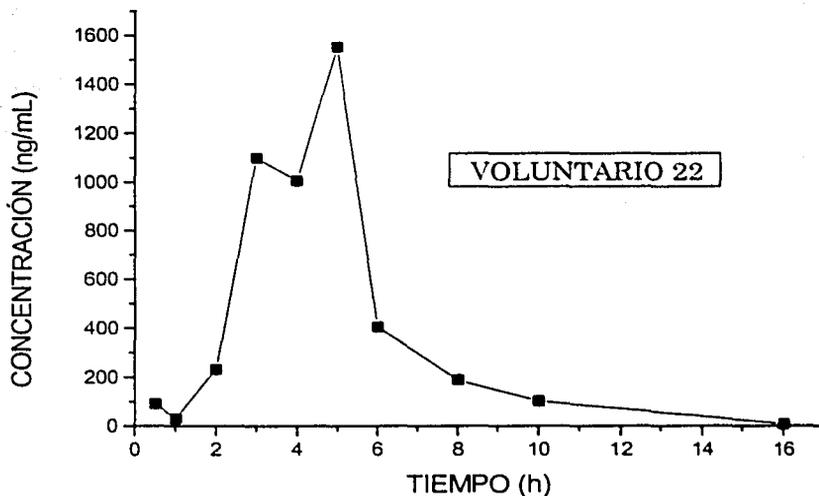
| VOLUNTARIO 20 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 14.27                 |
| 1             | 6.56                  |
| 2             | 2506.03               |
| 3             | 462.73                |
| 4             | 301.13                |
| 5             | 378.97                |
| 6             | 612.60                |
| 8             | 396.45                |
| 10            | 98.11                 |
| 16            | 8.99                  |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



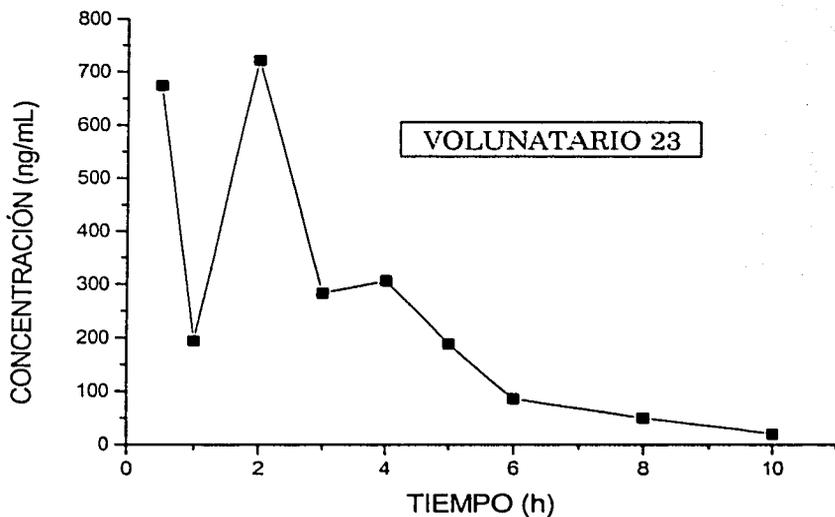
| VOLUNTARIO 21 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 2480.12               |
| 1             | 1098.68               |
| 2             | 244.15                |
| 3             | 205.86                |
| 4             | 735.32                |
| 5             | 259.25                |
| 6             | 173.11                |
| 8             | 106.98                |
| 10            | 27.03                 |
| 16            | 6.23                  |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



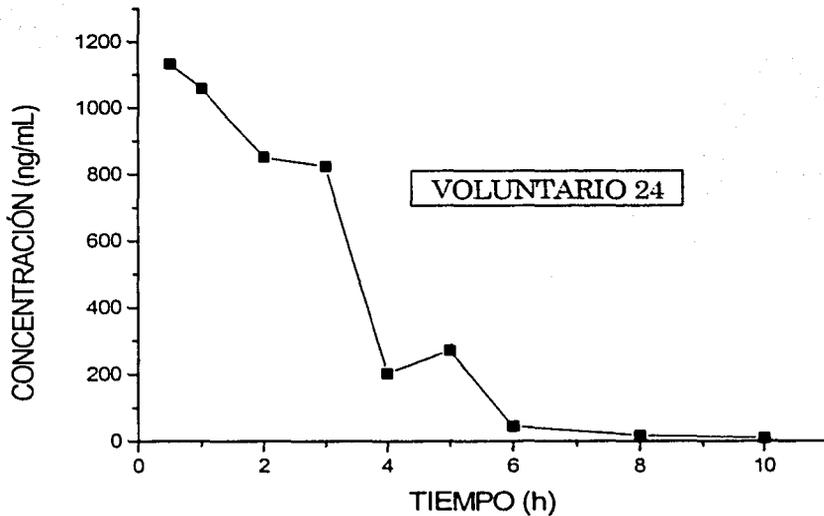
| VOLUNTARIO 22 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 6.03                  |
| 0.5           | 90.81                 |
| 1             | 29.15                 |
| 2             | 231.25                |
| 3             | 1101.39               |
| 4             | 1006.40               |
| 5             | 1553.67               |
| 6             | 404.68                |
| 8             | 189.89                |
| 10            | 101.24                |
| 16            | 7.41                  |
| 22            | NC                    |
| 48            | ND                    |



| VOLUNTARIO 23 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 674.06                |
| 1             | 194.67                |
| 2             | 721.96                |
| 3             | 283.22                |
| 4             | 306.87                |
| 5             | 189.08                |
| 6             | 86.37                 |
| 8             | 50.22                 |
| 10            | 19.85                 |
| 16            | NC                    |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



| VOLUNTARIO 24 |                       |
|---------------|-----------------------|
| Tiempo (h)    | Concentración (ng/mL) |
| 0             | 0.00                  |
| 0.5           | 1132.75               |
| 1             | 1057.97               |
| 2             | 852.95                |
| 3             | 824.82                |
| 4             | 203.57                |
| 5             | 273.18                |
| 6             | 45.36                 |
| 8             | 17.65                 |
| 10            | 10.24                 |
| 16            | ND                    |
| 22            | ND                    |
| 48            | ND                    |



# APÉNDICE

## II

**8.- APÉNDICE II**

**PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE DICLOFENACO PARA CADA VOLUNTARIO.**

| SEXO MASCULINO |                    |                      |                  |                  |                |
|----------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------|----------------|
| VOLUNTARIO     | ABC <sub>0→t</sub> | ABC <sub>0→inf</sub> | C <sub>max</sub> | T <sub>max</sub> | t <sub>½</sub> |
| 1              | 3614.22            | 3836.99              | 1055.48          | 4                | 1.55           |
| 2              | 4333.57            | 4393.29              | 1332.11          | 3                | 2.15           |
| 3              | 2875.18            | 2894.48              | 1483.71          | 3                | 0.77           |
| 4              | 3497.82            | 3601.78              | 1090.34          | 3                | 1.71           |
| 5              | 1654.52            | 1704.25              | 366.07           | 3                | 2.24           |
| 6              | 2006.59            | 2035.35              | 1368.70          | 3                | 0.87           |
| 7              | 3274.80            | 3325.94              | 1434.31          | 3                | 1.41           |
| 8              | 2703.53            | 2868.32              | 844.97           | 3                | 4.01           |
| 9              | 3053.86            | 3113.09              | 845.58           | 3                | 1.46           |
| 10             | 3876.38            | 3922.72              | 737.98           | 3                | 3.22           |
| 11             | 2669.45            | 2700.77              | 832.53           | 1                | 2.98           |
| 12             | 2085.94            | 2162.09              | 577.32           | 3                | 2.71           |

| SEXO FEMENINO |                    |                      |                  |                  |                |
|---------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------|----------------|
| VOLUNTARIO    | ABC <sub>0→t</sub> | ABC <sub>0→inf</sub> | C <sub>max</sub> | T <sub>max</sub> | t <sub>½</sub> |
| 13            | 4262.41            | 4294.09              | 712.33           | 0.5              | 2.60           |
| 14            | 2401.33            | 2461.16              | 917.35           | 0.5              | 1.91           |
| 15            | 2023.84            | 2052.79              | 657.45           | 4                | 1.67           |
| 16            | 4417.28            | 4438.18              | 3177.91          | 1                | 1.69           |
| 17            | 2650.38            | 2669.20              | 680.05           | 0.5              | 2.40           |
| 18            | 3613.05            | 3627.39              | 1496.95          | 0.5              | 1.85           |
| 19            | 4083.74            | 4205.66              | 1193.84          | 3                | 2.99           |
| 20            | 5792.13            | 5811.84              | 2506.03          | 2                | 2.08           |
| 21            | 4109.09            | 4127.46              | 2480.12          | 0.5              | 2.01           |
| 22            | 5373.97            | 5392.42              | 1553.67          | 5                | 1.55           |
| 23            | 2234.01            | 2282.74              | 721.96           | 2                | 1.62           |
| 24            | 3627.95            | 3655.47              | 1132.75          | 0.5              | 1.25           |

Ramírez Reséndiz Maribel

# APÉNDICE

## III

## 9.- APÉNDICE III.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE DICLOFENACO ENTRE DIFERENTES GÉNEROS EMPLEANDO EL PROGRAMA ESTADÍSTICO SIGMA STAT.

#### Parámetro de ABC <sub>0-t</sub>

##### One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P > 0.200)  
Equal Variance Test: Passed (P = 0.195)

| Group Name  | N  | Missing | Mean     | Std Dev  | SEM     |
|-------------|----|---------|----------|----------|---------|
| ABC 0-t -M. | 12 | 0       | 2970.488 | 802.549  | 231.676 |
| ABC 0-t -F  | 12 | 0       | 3715.765 | 1209.104 | 349.038 |

| Source of Variation | DF | SS           | MS          |
|---------------------|----|--------------|-------------|
| Between Groups      | 1  | 3332623.859  | 3332623.859 |
| Residual            | 22 | 23166173.967 | 1053007.908 |
| Total               | 23 | 26498797.827 |             |

| Source of Variation | F     | P     |
|---------------------|-------|-------|
| Between Groups      | 3.165 | 0.089 |
| 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 = 0.089).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.276

The power of the performed test (0.276) is below the desired power of 0.800.  
You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test**

Normality Test: Passed (P > 0.200)  
 Equal Variance Test: Passed (P = 0.195)

| Group Name  | N  | Missing | Mean     | Std Dev  | SEM     |
|-------------|----|---------|----------|----------|---------|
| ABC 0-t -M. | 12 | 0       | 2970.488 | 802.549  | 231.676 |
| ABC 0-t -F  | 12 | 0       | 3715.765 | 1209.104 | 349.038 |

Difference -745.277  
 t = -1.779 with 22 degrees of freedom. (P = 0.089)

95 percent confidence interval for difference of means: -1614.082 to 123.528

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 = 0.089).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.276

The power of the performed test (0.276) is below the desired power of 0.800.  
 You should interpret the negative findings cautiously.

**Parámetro de ABC  $0-\alpha$**

**One Way Analysis of Variance**

Normality Test: Passed (P > 0.200)  
 Equal Variance Test: Passed (P = 0.208)

| Group Name         | N  | Missing | Mean     | Std Dev  | SEM     |
|--------------------|----|---------|----------|----------|---------|
| ABC 0- $\alpha$ -M | 12 | 0       | 3046.589 | 818.977  | 236.418 |
| ABC 0- $\alpha$ -F | 12 | 0       | 3751.533 | 1204.348 | 347.665 |

| Source of Variation | DF | SS           | MS          |
|---------------------|----|--------------|-------------|
| Between Groups      | 1  | 2981677.669  | 2981677.669 |
| Residual            | 22 | 23332970.983 | 1060589.590 |
| Total               | 23 | 26314648.651 |             |

| Source of Variation | F     | P     |
|---------------------|-------|-------|
| Between Groups      | 2.811 | 0.108 |
| 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 ( $P = 0.108$ ).

Power of performed test with  $\alpha = 0.050$ : 0.237

The power of the performed test (0.237) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously

### t-test

Normality Test: Passed ( $P > 0.200$ )  
Equal Variance Test: Passed ( $P = 0.208$ )

| Group Name         | N  | Missing | Mean     | Std Dev  | SEM     |
|--------------------|----|---------|----------|----------|---------|
| ABC 0- $\alpha$ -M | 12 | 0       | 3046.589 | 818.977  | 236.418 |
| ABC 0- $\alpha$ -F | 12 | 0       | 3751.533 | 1204.348 | 347.665 |

Difference -704.944  
 $t = -1.677$  with 22 degrees of freedom. ( $P = 0.108$ )

95 percent confidence interval for difference of means: -1576.871 to 166.983

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 ( $P = 0.108$ ).

Power of performed test with  $\alpha = 0.050$ : 0.237

The power of the performed test (0.237) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously

**Parámetro de  $C_{max}$**

**One Way Analysis of Variance**

Normality Test: Passed (P > 0.200)  
Equal Variance Test: Passed (P = 0.079)

| Source of Variation | DF | SS           | MS          |
|---------------------|----|--------------|-------------|
| Between Groups      | 1  | 1153390.955  | 1153390.955 |
| Residual            | 22 | 9322817.097  | 423764.413  |
| Total               | 23 | 10476208.052 |             |

| Source of Variation | F     | P     |
|---------------------|-------|-------|
| Between Groups      | 2.722 | 0.113 |
| 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 = 0.113).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.228

The power of the performed test (0.228) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test**

Normality Test: Passed (P > 0.200)  
Equal Variance Test: Passed (P = 0.079)

| Group Name | N  | Missing | Mean     | Std Dev | SEM     |
|------------|----|---------|----------|---------|---------|
| Cmax-M     | 12 | 0       | 997.425  | 357.403 | 103.173 |
| Cmax - F   | 12 | 0       | 1435.868 | 848.406 | 244.914 |

Difference -438.443  
t = -1.650 with 22 degrees of freedom. (P = 0.113)

95 percent confidence interval for difference of means: -989.591 to 112.706

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 = 0.113).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.228

The power of the performed test (0.228) is below the desired power of 0.800.  
You should interpret the negative findings cautiously.

### Parámetro de $t_{max}$

#### One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = 0.003)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun  
Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

| Group    | N  | Missing | Median | 25%   | 75%   |
|----------|----|---------|--------|-------|-------|
| Tmax-M   | 12 | 0       | 3.000  | 3.000 | 3.000 |
| T max -F | 12 | 0       | 0.750  | 0.500 | 2.500 |

H = 6.007 with 1 degrees of freedom. (P = 0.014)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.014)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

| Comparison         | Diff of Ranks | q     | P<0.05 |
|--------------------|---------------|-------|--------|
| Tmax-M vs T max -F | 80.000        | 3.266 | Yes    |

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

#### t-test

Normality Test: Failed (P = 0.003)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

| Group    | N  | Missing | Median | 25%   | 75%   |
|----------|----|---------|--------|-------|-------|
| Tmax-M   | 12 | 0       | 3.000  | 3.000 | 3.000 |
| T max -F | 12 | 0       | 0.750  | 0.500 | 2.500 |

T = 190.000 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.022)

*Ramírez Reséndiz Maribel*

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ( $P = 0.022$ )

### Parámetro de $t_{1/2}$

#### One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed ( $P = 0.113$ )  
Equal Variance Test: Passed ( $P = 0.396$ )

| Group Name | N  | Missing | Mean  | Std Dev | SEM   |
|------------|----|---------|-------|---------|-------|
| t 1/2-M    | 12 | 0       | 2.090 | 0.986   | 0.285 |
| T max -F   | 12 | 0       | 1.667 | 1.572   | 0.454 |

| Source of Variation | DF | SS     | MS    |
|---------------------|----|--------|-------|
| Between Groups      | 1  | 1.075  | 1.075 |
| Residual            | 22 | 37.859 | 1.721 |
| Total               | 23 | 38.934 |       |

| Source of Variation | F     | P     |
|---------------------|-------|-------|
| Between Groups      | 0.625 | 0.438 |
| 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 ( $P = 0.438$ ).

Power of performed test with  $\alpha = 0.050$ : 0.048

The power of the performed test (0.048) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

#### t-test

Normality Test: Passed ( $P = 0.113$ )  
Equal Variance Test: Passed ( $P = 0.396$ )

| Group Name | N  | Missing | Mean  | Std Dev | SEM   |
|------------|----|---------|-------|---------|-------|
| t 1/2-M    | 12 | 0       | 2.090 | 0.986   | 0.285 |
| T max -F   | 12 | 0       | 1.667 | 1.572   | 0.454 |

Difference 0.423

t = 0.790 with 22 degrees of freedom. (P = 0.438)

95 percent confidence interval for difference of means: -0.687 to 1.534

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 = 0.438).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.050

The power of the performed test (0.050) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

# APÉNDICE

## IV

**10.- APÉNDICE IV.**

**PESO DE CADA VOLUNTARIO Y FACTOR DE CORRECCIÓN PARA  
LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE DICLOFENACO.**

| <b>VOLUNTARIO</b> | <b>PESO (Kg)</b> | <b>Factor de corrección<br/>Dosis/Peso (mg/kg).</b> |
|-------------------|------------------|---|
| 1                 | 63               | 1.59  |
| 2                 | 63               | 1.59  |
| 3                 | 62               | 1.61  |
| 4                 | 64               | 1.56  |
| 5                 | 98               | 1.02  |
| 6                 | 89               | 1.12  |
| 7                 | 68               | 1.47  |
| 8                 | 73.5             | 1.36  |
| 9                 | 64               | 1.56  |
| 10                | 80.5             | 1.24  |
| 11                | 83.5             | 1.20  |
| 12                | 64               | 1.56  |
| 13                | 52.5             | 1.90  |
| 14                | 57               | 1.75  |
| 15                | 53.5             | 1.87  |
| 16                | 56               | 1.78  |
| 17                | 58.5             | 1.71  |
| 18                | 53.5             | 1.87  |
| 19                | 54               | 1.85  |
| 20                | 62               | 1.61  |
| 21                | 57               | 1.75  |
| 2                 | 58               | 1.72  |
| 23                | 66.5             | 1.50  |
| 24                | 49               | 2.04  |