



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"**

**FARMACOCINETICA DE INDOMETACINA EN UN  
MODELO EXPERIMENTAL DE LESIÓN MEDULAR A  
NIVEL T8 EN RATA**

**Proyecto PAPIIT IN221706**

**PRESENTA:**

**PUGA VILLAFAÑA EDITH  
Número de Cuenta 404029412**

Año de termino de la carrera: 2008

Orientación: Farmacia Industrial

Área Especifica del proyecto: Farmacología

Nombre del Director: Dra. Leticia Cruz Antonio

Nombre del Asesor: QFB. Irma Alejandre Razo

Lugar donde se desarrolla el trabajo experimental: PROYECTO  
CAMINA A. C. Proyecto para la cura de la parálisis. Calzada de Tlalpan 4430 Col.  
J. Toriello Guerra Del. Tlalpan

Opción de Titulación: Tesis Experimental



México, D. F. 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"**

**Farmacocinética de Indometacina en un  
Modelo Experimental de Lesión  
Medular a Nivel T8 en rata**

**Proyecto PAPIIT IN221706**

**TESIS**  
**Que para obtener el título de**  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
**PRESENTA**  
**Edith Puga Villafaña**

**Director:**  
**Dra. Leticia Cruz Antonio**  
**Asesor:**  
**QFB Irma Alejandre Razo**



MÉXICO, D. F.

2009



---

# AGRADECIMIENTOS

*Con orgullo y aprecio doy las gracias a quienes han contribuido a la realización de este trabajo.*

*A mis Padres y Hermanas por su cariño y aprecio y  
por toda la comprensión que me han brindado,  
gracias por acompañarme siempre  
en los momentos más difíciles  
de nuestras vidas y  
gracias por que en ellos he encontrado  
la fuerza para lograr mis objetivos.*

*A la Dra. Lety Cruz mi director de Tesis,  
Gracias por todas las enseñanzas profesionales y personales.  
Por su tiempo, apoyo y paciencia que siempre me brindo.  
Pero sobre todo doy le Agradezco por su motivación  
Confianza que me brindo para  
desarrollar esta tarea tan importante.*

*A todo el personal de la Planta Piloto,  
en especial a los señores Plata y a la señora Paty,  
por su apoyo y paciencia.*

*A mi tutora la Maestra Lulú Cervantes,  
por que durante toda la carrera conté  
con su apoyo y sus sabios consejos.*

*A mis profesores  
Quienes cada día me enseñaron  
algo nuevo y alimentaron mi espíritu por saber.*

---



---

*Al Programa Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica.  
Proyecto LA FOTON 221706*

*A PROYECTO FACHONA.*

*Por permitirme hacer uso de las instalaciones para el desarrollo experimental de este proyecto*

*A CADA UNO DE MIOS CONSEJEROS.*

*Por sus consejos, su disposición y paciencia para que este trabajo fuera terminado*

*Finalmente quiero dar las gracias a  
OSCAR PARDEÓN JUAREZ por que siempre ha estado a mi lado,  
gracias por creer todo el tiempo en mi y especialmente gracias por todo el amor brindado.*

*"Los científicos han descubierto con gran sufrimiento que el miedo del ser humano suprime la verdad  
del conocimiento"*

*"El conocimiento termina cuando,  
se limita la curiosidad"*

---



---

La parte experimental de esta tesis se llevo a cabo en el Centro de Investigación PROYECTO CAMINA A.C., respaldada por el programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica PAPIIT IN221706.



---

## ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	2
1. Farmacocinética	2
1.1 Definición	2
1.2 Absorción	2
1.2.1 Disposición Fisiológica de los Fármacos	3
1.2.2 Vías de administración	4
1.2.3 Cinética de absorción	7
1.2.4 Factores físicos que modifican la absorción	11
1.2.5 Biodisponibilidad	11
1.3 Distribución	14
1.3.1 Volumen de distribución	15
1.4 Metabolismo	16
1.4.1 Reacciones del metabolismo de fármacos	16
1.4.2 Circulación Enterohepática	18
1.5 Excreción	18
2. Indometacina	19
2.1 Nomenclatura	19
2.1.1 Nombre químico	19
2.1.2 Nombre comercial	19
2.2 Formulas	19
2.2.1 Fórmula empírica	19
2.2.2 Fórmula estructural	19
2.3 Propiedades	19
2.3.1 Físicas	19
2.3.1.1 Descripción	19
2.3.1.2 Peso molecular	19
2.3.1.3 pKa	19
2.3.1.4 Punto de fusión	19
2.3.1.5 Solubilidad	19
2.4 Químicas	20
2.4.1 Estabilidad	20
2.4.2 Espectro de absorción	20
2.5 Farmacología	20
2.5.1 Farmacocinética	20
2.5.2 Farmacodinamia.	22
2.6 Efectos adversos.	22
2.6.1 Indicaciones Medicamentosas	22
3. Sistema Nervioso (vegetativo) Autónomo	23
3.1 Sistema Nervioso Periférico.	24
3.2 Anatomía de la columna vertebral	25

---



---

3.3 Lesión medular	26
3.3.1 Localización de la lesión	28
4. Validación de métodos bioanalíticos	29
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
III. OBJETIVO GENERAL	31
IV. OBJETIVOS PARTICULARES	31
V. HIPOTESIS	31
VI. METODOLOGÍA	32
1. Material y equipo	32
2. Procedimiento general	34
VII. RESULTADOS	39
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
1. Validación del método analítico para la determinación de Indometacina	51
2. Farmacocinética de la Indometacina	53
IX. CONCLUSIONES	57
X. BIBLIOGRAFIA	58

---





---

## INTRODUCCIÓN

El estudio farmacocinético de los medicamentos es de suma importancia, ya que esto es la base para un buen tratamiento terapéutico. La farmacocinética es una rama de la farmacología, que estudia el trayecto temporal de los fármacos en el organismo. El conocimiento preciso de la farmacocinética tiene extraordinaria importancia y permite predecir la acción terapéutica o tóxica de los fármacos.

Cuando existe una lesión medular espinal el organismo de quien la padece se ve alterado, las alteraciones que se pueden presentar son: metabólicas, inmunológicas, desequilibrio electrolítico, etc, Esta discapacidad se considera como una de las más trágicas que afecta principalmente a la población económicamente activa, por lo que ha causado interés en diferentes disciplinas científicas y sociales. En un paciente con lesión medular se alteran muchas funciones fisiológicas, por lo que es de interés estudiar la farmacocinética de los fármacos en modelos experimentales con lesión medular, a diferentes niveles para saber su impacto sobre la farmacocinética de éstos.

La indometacina es un fármaco analgésico, antiinflamatorio, antipirético que se sintetizó a partir del indol en 1963, se usa en el tratamiento preventivo para la osificación heterotópica en pacientes con lesión medular y en el daño progresivo del tejido medular.

Este trabajo presenta el estudio de la influencia de una lesión traumática de médula espinal (LTME) a nivel torácico 8 en la etapa aguda, sobre la farmacocinética de la Indometacina en ratas macho Wistar. Posterior a determinar los perfiles plasmáticos de Indometacina administrada por vía oral en dos grupos de ratas, el primero considerado como control (ratas sin lesión medular) y el segundo grupo de animales con LTME, los cambios en los parámetros farmacocinéticos evaluados en ambos grupos no evidenciaron una diferencia significativa entre ellos, lo que sugiere que si bien las alteraciones sistémicas y metabólicas atribuidas a la presencia de una LTME a nivel T8 estuvieron presentes en el grupo con lesión medular, dichos cambios no impactaron considerablemente en el comportamiento farmacocinético de la indometacina en un modelo experimental de lesión traumática de médula espinal agudo a nivel T8.

---



---

## PREFACIO

Este trabajo se realizó en el Instituto de Investigación PROYECTO CAMINA, este lugar se encarga del estudio de diferentes modelos experimentales acerca de la lesión traumática de la médula espinal, sin embargo no solo se realizan trabajos de farmacología, sino también de inmunología, neurocirugías, etc. Este trabajo experimental presenta el estudio de la influencia de una lesión traumática de médula espinal (LTME) a nivel torácico 8 en la etapa aguda, sobre la farmacocinética de la Indometacina en ratas macho Wistar. Posterior a determinar los perfiles plasmáticos de Indometacina administrada por vía oral en dos grupos de ratas, el primero considerado como control (ratas sin lesión medular) y el segundo grupo de animales con LTME, los cambios en los parámetros farmacocinéticos evaluados en ambos grupos no evidenciaron una diferencia significativa entre ellos, lo que sugiere que si bien las alteraciones sistémicas y metabólicas atribuidas a la presencia de una LTME a nivel T8 estuvieron presentes en el grupo con lesión medular, dichos cambios no impactaron considerablemente en el comportamiento farmacocinético de la indometacina en un modelo experimental de lesión traumática de médula espinal agudo a nivel T8.

Este trabajo tiene el propósito de ayudar y/o completar las futuras investigaciones.

---



---

## PROLOGO

Este trabajo fue realizado con la intención de ayudar a los investigadores del tema, ya que en México existe un nivel considerable de personas con lesión medular, esta investigación apoyada de otras fuentes pretenden mejorar la calidad de vida de las personas con tetraplejía, paraplejía o cualquier trastorno de la medula espinal.

Las lesiones de la medula espinal se pueden dar ya sea por accidente y enfermedad, comúnmente las lesiones son provocadas por caídas, accidentes automovilísticos, contusiones por golpes, etc., es por ello que es de suma importancia estudiar dicho padecimiento.

---



---

## RESUMEN:

El estudio farmacocinético de los medicamentos es de suma importancia, ya que esto es la base para un buen tratamiento terapéutico.

La LTME ha capturado el interés de diferentes disciplinas científicas y sociales, como tal esta discapacidad, representa problemas médicos y socioeconómicos de gran magnitud. Su manejo integral es complejo, requiriendo la intervención de equipos multidisciplinarios y tecnología avanzada, esto es a partir del momento del accidente, hasta que el individuo está rehabilitado generalmente con secuelas neurológicas serias, siendo en algunos casos permanentes. Los porcentajes de mortalidad y morbilidad son considerablemente altos, incluso en centros especializados para tratar una LTME (Guizar- Sahagún *et al.*, 1998)

Cuando existe una lesión medular espinal el organismo de quien la padece se ve alterado, las alteraciones que se pueden presentar son: metabólicas, inmunológicas, desequilibrio electrolítico, etc, Esta discapacidad se considera como una de las más trágicas que afecta principalmente a la población económicamente activa, por lo que ha causado interés en diferentes disciplinas científicas y sociales. En un paciente con lesión medular se alteran muchas funciones fisiológicas, por lo que es de interés estudiar la farmacocinética de los fármacos en modelos experimentales con lesión medular, a diferentes niveles para saber su impacto sobre la farmacocinética de éstos.

La farmacocinética de algunos fármacos cambia en los pacientes con una lesión traumática de la médula espinal o en modelos experimentales, pero el proceso fisiopatológico involucrado no se entiende todavía completamente (Segal & Brunneman, 1989). Una LTME parece modificar la absorción de los fármacos, distribución y eliminación. Se reporta que la biodisponibilidad oral de los fármacos como la teofilina, el acetaminofèn y el dantroleno están reducidos en los pacientes con LTME como consecuencia de las alteraciones en motilidad y vaciamiento gástrico presentes durante la lesión medular (Segal *et al.*, 1985 y 1986, Segal., *et al.*, 1995). Así mismo se ha observado que existen modificaciones en la distribución de aminoglucósidos, como la amikacina (Segal *et al.*, 1988) y gentamicina (Gilman *et al.*, 1993). Además, se ha reportado una reducción significativa en la disposición del lorazepam, en los pacientes con LTME, sugiriendo el deterioro en la capacidad metabólica del hígado (Segal., *et al.*, 1991), por posibles cambios en el flujo sanguíneo hepático dependientes del nivel de lesión y vía de administración (Cruz-Antonio L., *et al.*, 2006).

Aproximadamente el 66 % de todos los pacientes con lesión medular han informado que presentan algún tipo de dolor, este tipo de dolor normalmente lo describen como una clase de quemazón, en aquellas partes del cuerpo debajo del nivel de la lesión. Se sugiere que el fármaco más eficaz para este tipo de dolor es la carbamazepina y la fenitoina (Kermani R., *et al.*, 2006), así también se ha reportado el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, como el paracetamol (García -López P., *et al.*, 1995). Otro AINE utilizado en el tratamiento del dolor es la indometacina, el cual además es prescrito en la terapia para la prevención de la osificación heterotópica, una complicación frecuente en pacientes con lesión medular completa (Banovac K., *et al.*, 2001). La indometacina por sus propiedades antiinflamatorias suele emplearse en combinación con un estimulador de la secreción de citosina, para reducir el impacto dañino presente en la lesión medular (Guth y Zhang *et al.*, 1994).

Se administro Indometacina por vía oral en dos grupos de ratas, el primero considerado como control (ratas sin lesión medular) y el segundo grupo de animales con LTME, los cambios en los parámetros farmacocinéticos evaluados en ambos grupos no evidenciaron una diferencia significativa entre ellos, lo que sugiere que si bien las alteraciones sistémicas y metabólicas atribuidas a la presencia de una LTME a

---



---

nivel T8 estuvieron presentes en el grupo con lesión medular, dichos cambios no impactaron considerablemente en el comportamiento farmacocinético de la indometacina en un modelo experimental de lesión traumática de médula espinal agudo a nivel T8.

---



## I. ANTECEDENTES

### 1. Farmacocinética

#### 1.1 Definición

La farmacocinética estudia el movimiento de los fármacos en el organismo y permite conocer su concentración en la biofase (se denomina biofase al medio en el cual el fármaco está en condiciones de interactuar con sus receptores para ejercer su efecto biológico, sea éste terapéutico o tóxico), en función de la dosis y del tiempo transcurrido desde su administración. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

La figura 1 resume el tránsito de los fármacos a través del organismo

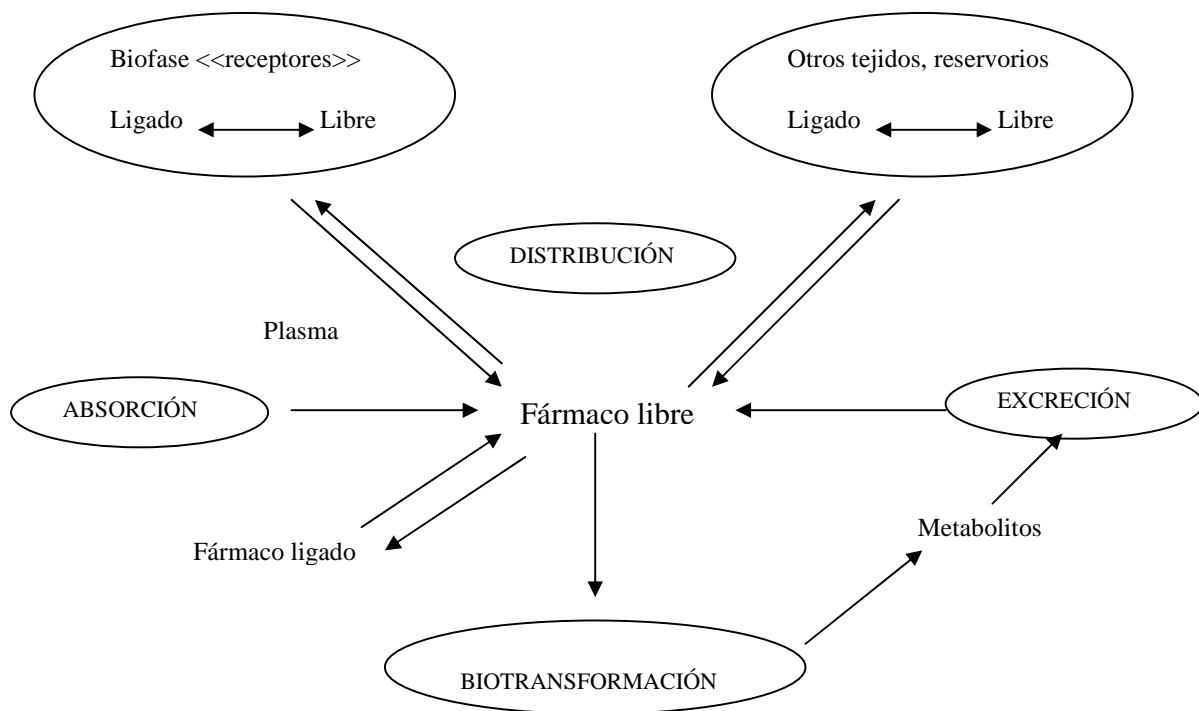


Figura 1. Tránsito de los fármacos a través del organismo (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005)

#### 1.2 Absorción

Se refiere al desplazamiento de un fármaco desde su sitio de administración a la sangre. La velocidad a la cual se absorbe, determina el comienzo de su acción, su dosificación y la vía apropiada de administración. Varios factores modifican el movimiento desde su sitio de entrada a la sangre. Se incluye la permeabilidad de la membrana al agente; es decir, los procesos de su paso a través de las membranas que rodean al sitio de su administración. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).



---

### 1.2.1 Disposición Fisiológica de los Fármacos

La absorción, distribución metabolismo y excreción son modificados por el movimiento del fármaco a través de las membranas celulares, que son estructuras lipoproteínicas. Estas membranas también pueden contener poros, que varían en número y tamaño en los diversos tejidos corporales. Los fármacos pueden atravesar las membranas por: filtración, difusión, transporte activo, difusión facilitada o pinocitosis. (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996).

- **Filtración.** Esta se realiza por los poros de las membranas celulares y en general delimita a sustancias hidrosolubles, no ionizadas, de peso molecular bajo. Los poros varían en tamaño pero en la mayor parte de las membranas es común un diámetro aproximado de 4 Å. Por tanto, solo moléculas pequeñas (100 daltons o menos) se moverán con facilidad a través de los poros. Cuando el movimiento ocurre con agua, es necesario que sean hidrosolubles. Debido a la diferencia de potencial entre los dos lados de la membrana, solo sustancias sin carga (no ionizadas) pueden desplazarse en los poros.

- **Difusión.** Este mecanismo al igual que la filtración es un proceso pasivo. El movimiento ocurre en dirección de la concentración menor del fármaco. Debido a que este movimiento es a través de membranas lipoproteínicas, las sustancias liposolubles (lipofílicas) se moverán a través de ellas con facilidad, en tanto que compuestos hidrosolubles (hidrofilicos) no cruzarán. Así, las sustancias no ionizadas tiene mayor probabilidad de cruzar las membranas; y los compuestos ionizados no atraviesan pasivamente.

Muchos fármacos son ácidos o bases débiles y por tanto, su grado de disociación es afectado por el pH de la solución en la que están. Con los ácidos débiles, su ionización disminuye cuando el pH decrece. Puesto que puede existir diferencias de pH a través de las membranas biológicas es posible que la concentración de un electrolito débil difiera en ambos lados de las membranas. Este fenómeno puede ocurrir debido a las diferentes solubilidades del fármaco ionizado y no ionizado de la membrana. La forma liposoluble no ionizada del agente se equilibrará a cada lado de la membrana. La forma ionizada que no cruza con facilidad la membrana, puede tener concentraciones diferentes en cada lado. Esto se debe a los distintos grados de ionización de un electrolito débil en soluciones de pH diferentes. Un ácido débil se ionizará más en el lado alcalino de la membrana que en el lado ácido. Por lo tanto la concentración total (ionizado y no ionizado) en el lado más alcalino será mayor que el lado más ácido. Lo contrario sucedería para las bases débiles; esto es, su concentración total será mayor en el lado más ácido que el más alcalino. Estas diferencias de concentración se crean sin consumo de energía. (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996).

En la figura 2, se representa de forma esquemática la difusión de una forma no ionizada de un ácido débil a través de una membrana lipídica (A) y la difusión de una forma no ionizada de una base débil a través de una membrana lipídica (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996).

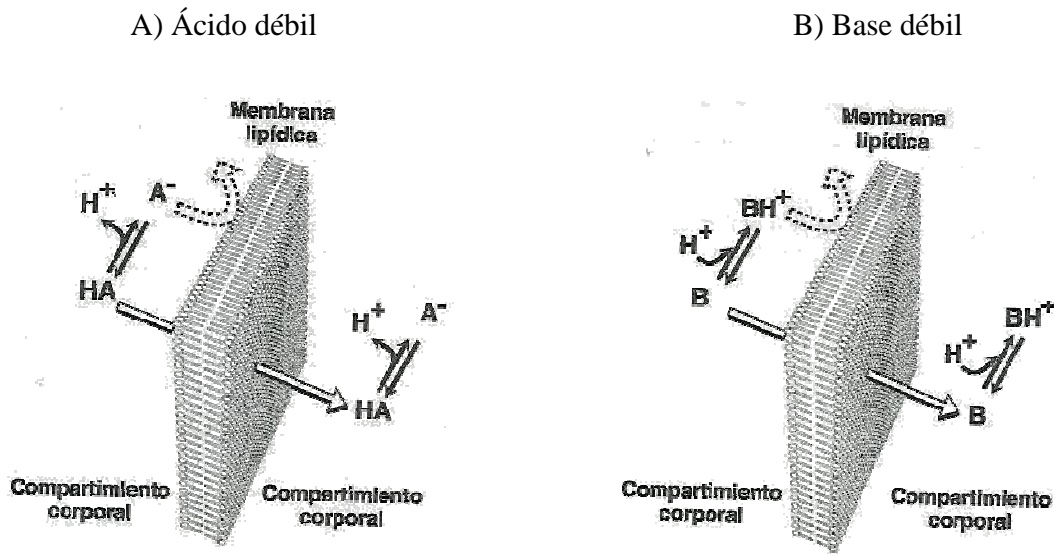


Figura 2. Difusión de una base débil y de un ácido débil  
Por la membrana lipídica. (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996)

- Transporte activo. Es un proceso que requiere energía y puede mover una sustancia contra gradiente de concentración o eléctrico. El movimiento es selectivo y puede saturarse (es decir, exhiben una velocidad máxima de transporte).
- Difusión Facilitada. Aunque el proceso utiliza un acarreador, no se requiere gasto de energía y por lo tanto, este transporte no puede ocurrir contra un gradiente de concentración. Es más rápido que la difusión simple para mover las sustancias.
- Pinocitosis. Este término describe un fenómeno por el cual gotitas de líquido atraviesan las membranas celulares.

Los últimos procesos son menos comunes en el movimiento de los fármacos a través de membranas biológicas que los tres primeros.

### 1.2.2 Vías de Administración

Para que los fármacos se pongan en contacto con los tejidos y órganos sobre los que actúan deben atravesar la piel y las mucosas (absorción mediata o indirecta) o bien ha de producirse una fracción de estos revestimientos (administración inmediata o directa). En la figura 3 se muestran las vías de administración utilizadas con más frecuencia para la aplicación de fármacos (Gibaldi M. 1991).



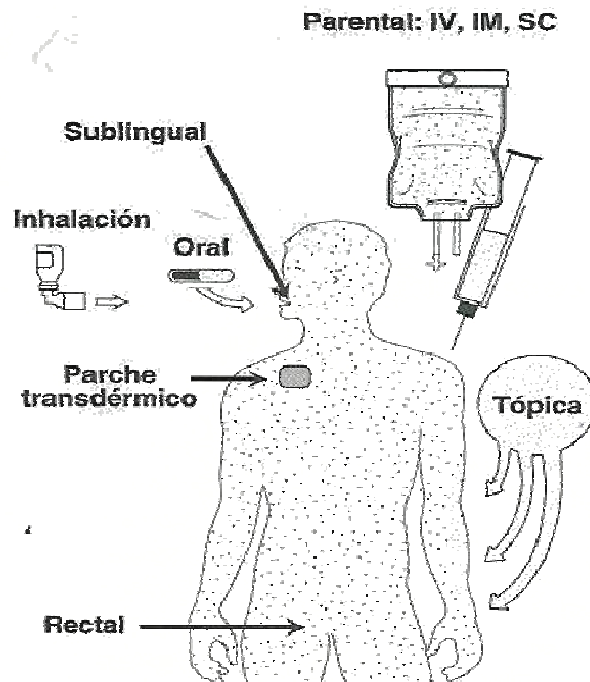


Figura 3. Vías de administración (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996)

◆ Vías mediatas o indirectas

- La vía oral es la más común por ser la más fácil de usar, es aceptable para los pacientes y es la vía de administración más económica. Las desventajas incluyen un comienzo más lento de acción, tasas variables de absorción e inactivación en las vías gastrointestinales (GI). Además después de su absorción, los fármacos pasan primero por el hígado, donde comienza el metabolismo (efecto del primer paso). Las sustancias irritantes no deben administrarse por vía oral ya que a algunas veces provoca náuseas y vómitos. Estos agentes pueden darse con los alimentos para reducir su irritación. La absorción de los fármacos desde el intestino, se lleva a cabo en forma primaria por movimientos pasivos a través de las membranas lipoproteínicas (Michael, C. P. y Gebbhart, G. 1999).

Después de deglutir una preparación oral, esta pasa con rapidez a través del esófago, al estómago donde el pH es de 1 a 2 en ayunas. En este entorno los ácidos débiles como los salicilatos pueden absorberse, ya que están de manera predominante sin ionizarse. Las bases débiles, están en mayor proporción en forma ionizada a este pH bajo, también los electrolitos fuertes no se absorben en el estómago de manera apreciable. Moléculas pequeñas hidrosolubles no electrolíticas, como etanol, se absorben en las vías gastrointestinales con facilidad. Pasan a través de las membranas, con agua, por los poros. En el intestino vacío el pH es mucho más alto y cercano a la mucosa puede ser de 5.5 a 6.0. A este pH, las condiciones favorecen la absorción de bases fuertes y otras sustancias con esta solubilidad en lípidos no se absorben de manera adecuada en el estómago o intestino (Gibaldi M. 1991).



---

Algunos otros factores que pueden modificar la absorción en la vía gastrointestinal, es el vaciamiento gástrico. Por ejemplo si se retarda la absorción de los medicamentos también el efecto se retarda. La razón de este fenómeno es la gran superficie de la mucosa intestinal. El alimento presente en el estómago retarda la absorción debido a que el estómago se vacía con más lentitud. Cuando hay alimento en el estómago, el tiempo medio del vaciamiento del contenido es de 20 a 25 minutos.

Para que la mayor parte del medicamento administrado con los alimentos pase al intestino, puede requerirse de 3 a 4 veces el  $t_{1/2}$  de vaciamiento. Los fármacos irritantes de la mucosa gástrica, pueden administrarse en formulaciones recubiertas con capa entérica estas pasan a través del estómago sin ponerse en contacto con el órgano. Por ser éstas quien requieren el pH alto del intestino para degradar la capa entérica,. Después de su absorción intestinal, los fármacos pasan a través del hígado antes de entrar a la circulación general. Donde, el metabolismo hepático puede inactivar a los fármacos. Por esta razón, la administración por vía oral, puede ser limitante para algunos fármacos (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).

◆ Vías inmediatas o directas (inyectables o parenterales)

Por estas vías, se permite que el fármaco alcance el medio interno sin necesidad de atravesar ninguna barrera epitelial. La absorción es regular y los fármacos llegan sin sufrir alteraciones a su lugar de acción.

Vía intradérmica. Se introduce una dosis pequeña en el interior de la piel y la absorción es prácticamente nula.

Vía subcutánea. El fármaco se inyecta debajo de la piel, desde donde difunde a través del tejido conectivo y penetra en el torrente circulatorio.

Vía intramuscular. En este caso, el líquido se disemina a lo largo de las hojas de tejido conectivo situadas en las fibras musculares. La absorción es más rápida y regular que con la vía subcutánea y, además, produce menos dolor.

Vía intravenosa. El fármaco se administra directamente en el torrente circulatorio y alcanza el lugar donde debe actuar sin sufrir alteraciones. Es por lo tanto, útil para emergencias. Con la administración intravenosa se evita el paso del fármaco por el tubo digestivo y el metabolismo del primer paso en el hígado. Este fenómeno se explica en la figura 4.



Figura 4. Metabolismo de primer pasó al suministrar Fármacos por vía oral (Kalant H. y Roschlaw W. H. 2002)

La forma mas rápida de introducir un medicamento en el torrente circulatorio suele ser la inyección intravenosa, generalmente en la vena cubital, aunque puede autorizarse otras. El efecto aparece al cabo de 15 segundos.

### 1.2.3 Cinética de absorción

La cinética de absorción cuantifica la entrada del fármaco en la circulación sistémica y estudia la velocidad de absorción, (cantidad de fármaco que se absorbe en la unidad de tiempo). Este valor ( $dc/dt$ ) representa la variación de la concentración en función del tiempo, y usualmente puede calcularse mediante una ecuación clásica de orden uno, semejante a la que rige muchos procesos fisicoquímicos (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005). Dicha ecuación es la siguiente:

$$\frac{dc}{dt} = -K_a A \quad [1]$$

La absorción depende de una constante  $K_a$ , que es la constante de velocidad intrínseca del proceso de absorción.  $K_a$  representa la probabilidad que tiene una molécula de absorberse en la unidad de tiempo. Relaciona la cantidad o concentración remanente en un tiempo dado con la que existe en la unidad de tiempo inmediatamente anterior. Cuanto mayor es  $K_a$ , mayor es la velocidad con la que se absorbe el fármaco.  $K_a$  se representa en tiempo recíproco. Por ejemplo si un fármaco tiene una  $k_a = 0.03 \text{ h}^{-1}$ , puede decirse que se absorbe el 3% de las moléculas disponibles en una hora. La velocidad de absorción es directamente proporcional al número de moléculas disponibles que están en solución para absorberse, es decir, la concentración remanente de fármaco que aun puede absorberse, a la que llamamos A. Así pues la velocidad de absorción es mayor al principio, cuando A es grande, y conforme va absorbiéndose el fármaco, dicha velocidad disminuye (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

Integrando la ecuación anterior, obtendremos:  $A = A_0 e^{-K_a t}$  [2]

Donde:

t: es el tiempo transcurrido desde que inicia el proceso

Ao: Es la concentración inicial de fármaco en el sustrato biológico en el tiempo cero.

La representación gráfica de esta ecuación en un eje de coordenadas cartesianas (concentraciones y tiempos en escala numérica) sería una curva exponencial. En todo proceso de primer orden, la curva que define los puntos experimentales se convierte en una recta si se toman en ordenadas de logaritmos de las concentraciones en lugar de sus valores numéricos. El proceso de absorción de primer orden se representa de forma gráfica en la figura 5. A) Curva que representa el proceso en un eje de coordenadas cartesianas cuando la escala es numérica. B) Recta que representa el proceso en un eje de coordenadas cartesianas cuando la escala es logarítmica (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

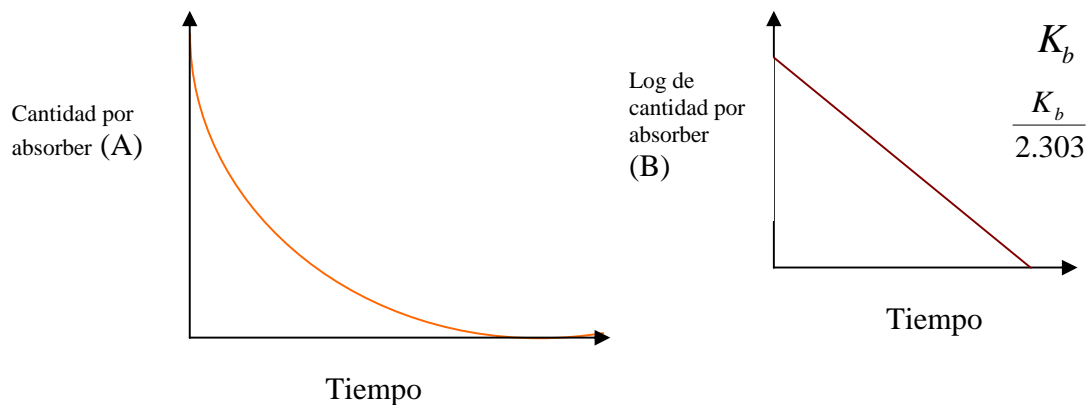


Figura 5. Representación grafica del proceso de absorción (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005)

Aplicando logaritmos naturales o decimales en la ecuación anterior se obtiene lo siguiente:

$$\ln A = \ln A_o - K_a t \quad [3]$$

$$\log A = \log A_o - \frac{K_a}{2.303} t \quad [4]$$

En la ecuación [3], la pendiente o inclinación equivale en valor absoluto a la constante de velocidad  $K_a$ . La ecuación [4], pendiente equivale en valor absoluto a  $K_a/2.303$ . El proceso es exponencial y suele expresarse como desaparición del fármaco del lugar de administración, y que se representa mediante una curva cuando la escala es numérica, y mediante una recta cuando es semilogarítmica.

La cinética de absorción se ocupa también del conocimiento de la vida media de absorción ( $t_{1/2}$ ), es decir el tiempo que tarda en reducirse a la mitad el número de moléculas disponibles para absorberse. Cuando mayor sea  $t_{1/2}$ , menor será la velocidad con que se absorbe el fármaco. La vida media puede relacionarse con la constante del proceso de absorción por lo que  $t_{1/2a}$  será  $A_o/2$ . Entonces la ecuación quedara de la siguiente manera:



$$\frac{A_0}{2} = A_0 e^{-K_a t_{1/2}}$$
$$\ln A_0 - \ln 2 = \ln A_0 - K_a t_{1/2}$$
$$\ln 2 = K_a t_{1/2}$$
$$0.693 = K_a t_{1/2}$$
$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K_a}$$

La mayor parte de los procesos de absorción son de primer orden, sin embargo, existen determinados procesos de absorción que pueden ajustarse a una cinética de orden cero, que se caracteriza por que la velocidad del proceso es constante e independiente de la concentración. En este caso, el número de moléculas disponibles para la absorción y la cantidad de fármaco que penetra en el organismo por unidad de tiempo permanecen constantes y son independientes de lo que quede por absorberse. Estos suceden con los preparados de liberación retardada que se administran por vía oral o parenteral, y con algunas formas de administración percutáneas. La administración en infusión continua (gota a gota) y la administración inhalatoria de gases anestésicos proporciona también cantidad fija de fármaco por unidad de tiempo y se rigen, por consiguiente, por una cinética de orden cero. En estos casos se provoca intencionalmente que el proceso sea orden cero controlando la liberación, pues interesa un aporte constante de fármaco (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

Este tipo de cinética se produce de forma natural, sólo en condiciones especiales cuando se rebasa la capacidad de transporte activo en un sistema.

Los procesos de orden cero cumplen la ecuación [6], ya que la velocidad del proceso es constante e independiente de la concentración.

$$\frac{dc}{dt} = K_{o_a} \quad [6]$$

Si se integra la ecuación, quedaría de la siguiente manera:

$$A = -K_{o_a} t + A_0 \quad [7]$$

El valor de A es la cantidad o la concentración de fármaco existente en el sustrato biológico en cualquier instante que se considere, Por lo tanto la representación grafica de un proceso de orden cero en un eje de coordenadas cartesianas en papel numérico es una recta en la que la ordenada al origen equivale a la concentración o cantidad inicial en el tiempo cero  $A_0$ , y la inclinación o pendiente es igual a la constante de velocidad  $K_{o_a}$ , que es la propia velocidad del proceso expresable en concentración / tiempo. Sin embargo, en la cinética de orden cero, a diferencia de lo que ocurría en la cinética de primer orden, la representación del logaritmo de A frente al tiempo en papel numérico, o de A con respecto al tiempo en papel semilogarítmico, se desvía de la realidad y es, en realidad una curva con la concavidad hacia abajo.



En la figura 6 se representa de forma grafica el proceso de absorción en una cinética de orden cero. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005). Recta que representa el proceso en un eje de coordenadas cartesianas cuando la escala es numérica (A). Curva que representa el proceso en un eje de coordenadas cartesianas cuando la escala es semilogarítmica (B).

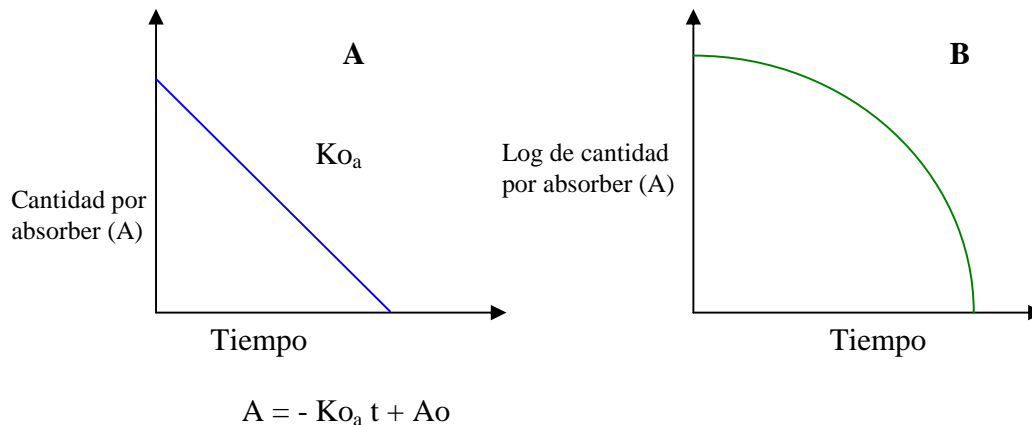


Figura 6. Proceso de absorción (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005)

También existen procesos activos de absorción con una cinética de orden mixto, que se rigen por la ecuación de Michaelis-Mentel [8]. Por esta ecuación se rigen todos los procesos saturables; es decir, los que pueden incluirse con propiedad dentro de la denominación de bioquímicos.

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{V_{m\acute{a}x} A}{K_m + A}$$

En la ecuación  $V_{m\acute{a}x}$  representa la velocidad máxima a la que puede desarrollarse el proceso (asociada a la saturación del portador o del mecanismo bioquímico actuante).  $K_m$  es la constante del proceso, que este caso representa la concentración del fármaco para la cual la velocidad del proceso equivale a la mitad de la máxima, es decir es la concentración para la que el proceso se encuentra saturado en un 50 %.  $A$  representa la concentración del fármaco que debe absorberse. Si se integra la ecuación [8], dará como resultado la siguiente expresión:

$$t = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \left( A_o - A + K_m \ln \frac{A_o}{A} \right) \quad [9]$$

Donde  $A_o$  representa la concentración inicial del sustrato.

La forma de las curvas representativas de un proceso que se ajusta a este tipo de cinética depende de la concentración de sustrato o fármaco. Si la concentración  $A$  es muy inferior a  $K_m$ , se encuentra lejos de la saturación y el proceso puede considerarse de primer orden, ya que



---

puede despreciarse.  $A$  en el denominador de la ecuación [8]. Esta podrá describirse de la siguiente forma:

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{V_{m\acute{a}x}A}{K_m} \cong -K_a A$$

Si  $A$  es muy superior a  $K_m$ , de modo que el sistema enzimático trabaja prácticamente en saturación desde que se inicia el proceso, puede considerarse que la contribución de la constante  $K_m$  a la suma del denominador resulta mínima y que la velocidad del proceso es constante y es la velocidad máxima. Entonces la cinética aparente del proceso es de orden cero y se obtiene:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{V_{m\acute{a}x} A}{A} \cong V_{m\acute{a}x}$$

El orden uno y el orden cero serían, los límites mínimo y máximo de la cinética de Michaelis-Mentel. Por encima y por debajo de estos límites (es decir, cuando  $A$  es comparable a  $K_m$ ), no es posible simplificación alguna.

En la cinética de absorción son, también importantes otros dos parámetros: la cantidad absorbida y la fracción de absorción (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

#### 1.2.4 Factores físicos que modifican la absorción

- Flujo sanguíneo en el sitio de absorción. El flujo sanguíneo hacia el intestino es mayor que en el estómago; por lo tanto la absorción intestinal es mayor que la gástrica.
- Área de superficie disponible para la absorción. Debido a que en la superficie del intestino abundan las microvellosidades, su área es de una 1 000 veces la del estómago; por ello que el proceso de absorción del fármaco en el intestino es más eficiente.
- Tiempo de contacto con la superficie de absorción. Un fármaco no se puede absorber de modo adecuado si se mueve a lo largo del tubo digestivo a gran ritmo, como en un caso de diarrea grave. Por el contrario, cualquier fenómeno que retrase el transporte de una sustancia desde el estómago hasta el intestino incrementa el tiempo de absorción, sin embargo los impulsos parasimpáticos aumenta la velocidad de vaciamiento gástrico, en tanto que los simpáticos (inducidos, como en el ejercicio o las emociones que cusan tensión) lo retrasan. De igual forma, la presencia de alimento en el estómago diluye el compuesto y antecede el vaciamiento gástrico. Así, un medicamento que se ingiere junto con los alimentos se absorbe con menor velocidad (Michael C. P. y Gebbhart G. 1999).

#### 1.2.5 Biodisponibilidad

Cuando se administra un fármaco la cantidad de principio activo y la velocidad con la que éste llega al organismo y desaparece están condicionados por diversos factores, fundamentalmente la forma farmacéutica, la vía de administración y las condiciones fisiopatológicas del paciente. La biodisponibilidad no sólo de la absorción, sino también de la

distribución y la eliminación, pero cuando estos dos últimos procesos se mantiene constantes, la biodisponibilidad refleja diferencias en la absorción, y expresa más concretamente la cantidad y la velocidad con la que se produce la absorción del principio activo, se mide por la cantidad absorbida. La biodisponibilidad se valora mediante el área bajo la curva (ABC) de las concentraciones plasmáticas (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

En la figura 7. Se observa como el ABC está condicionado por la vía de administración y por la forma farmacéutica.

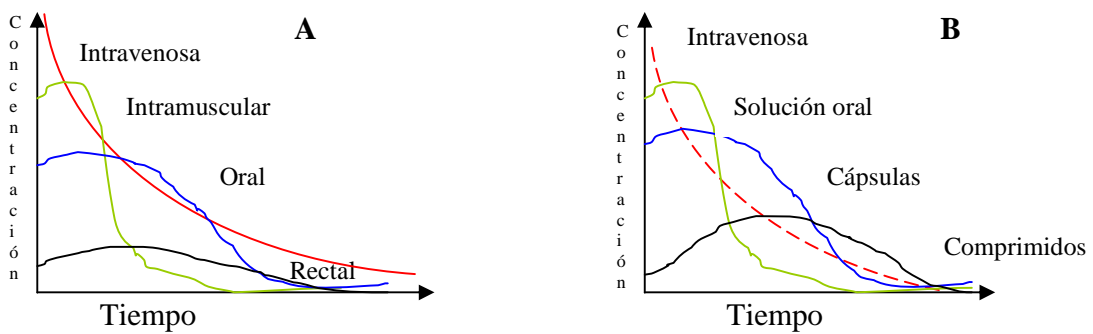


Figura 7. Influencia de la vía de administración (A) y de la forma farmacéutica (B) sobre la curva de concentración plasmática. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005)

Para calcular el valor de ABC en la fase no exponencial de la curva puede utilizarse el método trapezoidal, como se muestra en la figura 8.

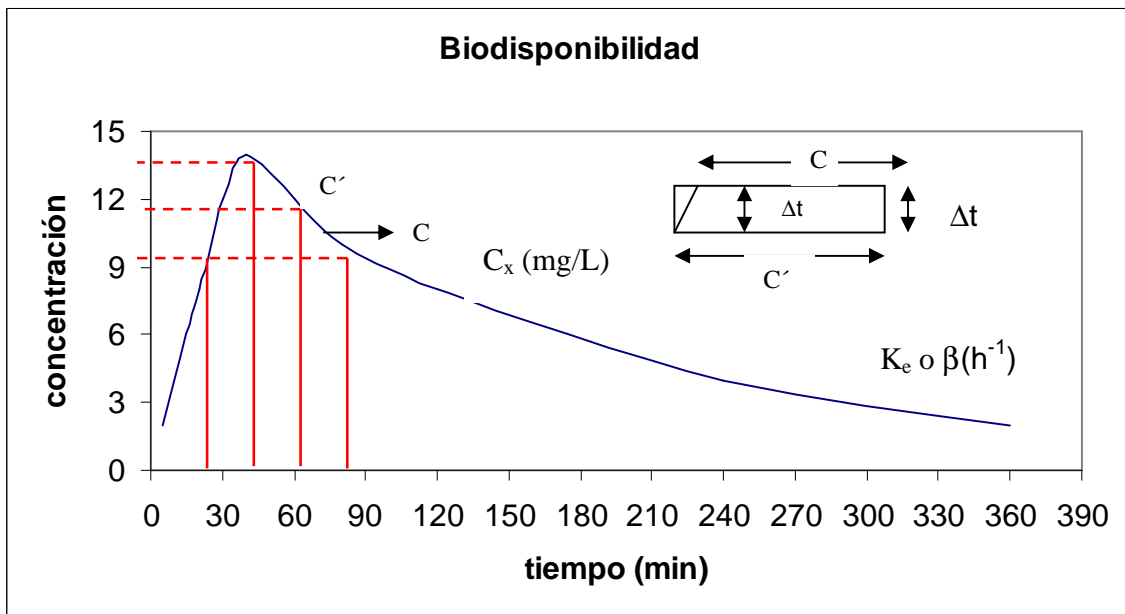


Figura 8. Determinación del área total bajo la curva de niveles plasmáticos después de una administración extravascular. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005)





---

Para determinar la biodisponibilidad absoluta se debe comparar las formas orales con una fórmula de referencia por vía intravenosa. La biodisponibilidad en términos absolutos se cuantifica mediante la fracción de absorción disponible ( $f$ ), que es la fracción de la dosis administrada que llega a la circulación sistémica en forma inalterada. El valor de  $f$  se obtiene dividiendo el ABC de las concentraciones plasmáticas después de la administración extravascular ( $ABC_{ev}$ ) por el ABC de las concentraciones plasmáticas después de administrar la misma dosis intravenosa ( $ABC_{IV}$ ). Se obtiene a sí la siguiente relación:

$$f = \frac{(ABC_{ev})}{(ABC_{IV})}$$

La cantidad absorbida por vía extravascular será el producto de la dosis administrada ( $D$ ) por la fracción de absorción correspondiente. Cuando se utiliza la vía extravascular, puede considerarse que la cantidad absorbida es igual a la cantidad administrada, y la curva de las concentraciones plasmáticas correspondientes refleja este valor. (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

$$\text{Cantidad absorbida} = D \times f$$

Las soluciones de referencia primarias para estas evaluaciones deben ser soluciones orales. El producto de referencia recomendado por la OMS, es una forma medicamentosa oral bien definida o que se absorba bien, y como referencia secundaria un producto existente en el mercado. La biodisponibilidad relativa viene entonces dada por la siguiente relación (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005):

$$\text{Biodisponibilidad relativa} = \frac{ABC_{problema}}{ABC_{referencia}}$$

Factores que modifican la biodisponibilidad.

- Metabolismo hepático de primer paso. Cuando se absorbe un fármaco en el tubo digestivo, ingresa a la circulación portal antes de llegar a la circulación sistémica. Si el fármaco se metaboliza con rapidez en el hígado, disminuye la cantidad que llega de fármaco a la circulación sistémica. Muchos compuestos, como la lidocaína y el propanolol, sufren una biotransformación intensa al pasar por primera vez por el hígado (Mycek M. J. y Harvey R. A. 2004).
- Solubilidad del fármaco. Las sustancias hidrofílicas se absorben en forma deficiente debido a su capacidad para cruzar las membranas celulares ricas en lípidos. En forma paradójica, los compuestos que son demasiado hidrofóbicos tampoco se absorben bien por que son insolubles por completo en los líquidos corporales y, por tanto, no pueden acceder a la superficie de las células. Para que un fármaco se absorba con facilidad debe ser relativamente hidrofóbico, pero debe conservar cierto grado de solubilidad en soluciones acuosas (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

- Inestabilidad Química. Algunos fármacos como la penicilina G, son inestables en el pH gástrico. Otros, como la insulina, pueden destruirse en el tubo digestivo por la acción de diversas enzimas.
- Tipo de formulación del fármaco. Diversos factores que no tiene relación con la composición química pueden alterar la absorción de un compuesto. Por ejemplo, el tamaño de las partículas, el tipo de sal, el polimorfismo de sus cristales y la presencia de excipientes, pueden modificar la facilidad con que se disuelve, a la vez que su velocidad de absorción.

### 1.3 Distribución

- El porcentaje de peso del agua corporal total oscila entre el 50 % y el 70 % y es algo menor en las mujeres que en los varones. Las moléculas farmacológicas se encuentran en forma libre o combinada en cada compartimiento, pero únicamente el fármaco libre puede moverse entre ellos (Michael C. P. y Gebbhart G. 1999). El agua corporal se reparte entre cuatro compartimientos fundamentales, tal como se observa en la figura 9.

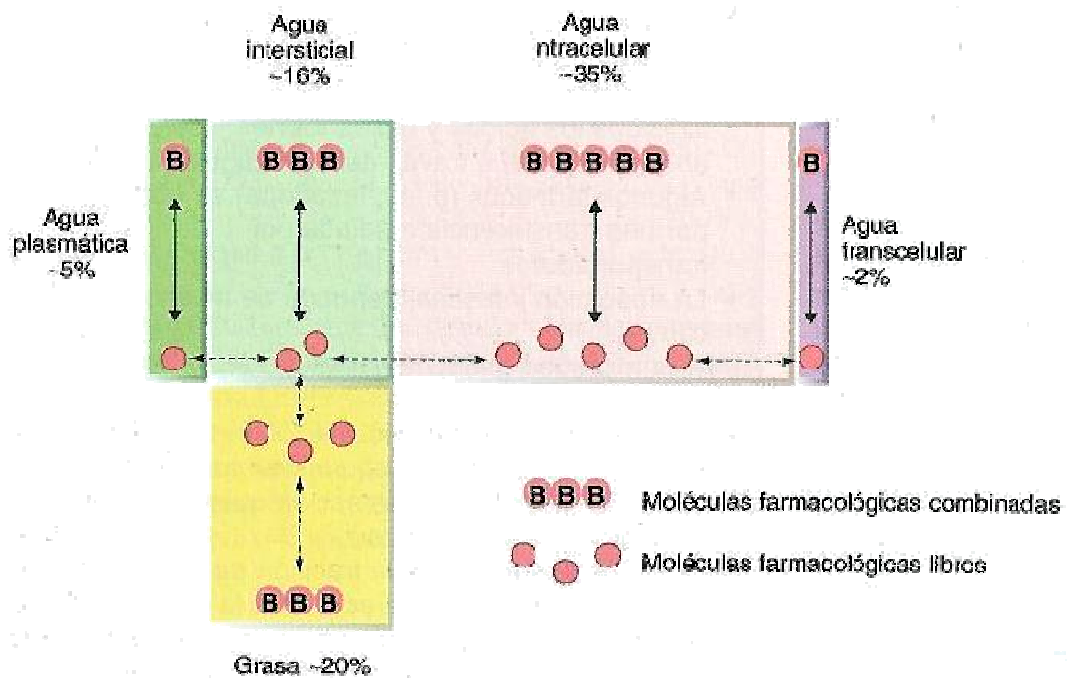


Figura 9. Principales compartimientos líquidos del organismo, expresados en forma de porcentajes del peso corporal. (Michael C. P. y Gebbhart G. 1999)

El líquido extracelular comprende el plasma sanguíneo (aproximadamente el 4.5 % del peso corporal) y la linfa (1.2 %). El líquido intracelular (30 % - 40%) representa la suma del contenido líquido de todas las células del organismo. El líquido transcelular (2.5%) incluye líquidos cefalorraquídeo, intraocular, peritoneal y sinovial, así como las secreciones digestivas.

El feto puede considerarse también un tipo especial de compartimiento transcelular. Dentro de cada uno de estos compartimientos acuosos, las moléculas farmacológicas suelen encontrarse en solución libre o en forma combinada; además los fármacos, que son ácidos o bases débiles existen en una mezcla en equilibrio de las formas cargadas y sin carga, cuyo punto de equilibrio depende del pH (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).

Por consiguiente el equilibrio de distribución entre diferentes compartimientos depende de:

- La permeabilidad a través de las barreras tisulares
- El grado de unión dentro de los compartimientos
- El reparto en función de pH
- El reparto grasa: agua

### 1.3.1 Volumen de distribución

El volumen de distribución (Vd) es una estimación del líquido en el que el fármaco se disemina. Aún cuando el volumen de distribución no tiene una base fisiológica ni física, en ocasiones resulta útil comparar la distribución de un fármaco con los volúmenes de agua en los compartimientos corporales (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996). Éste se puede representar en la figura 10.

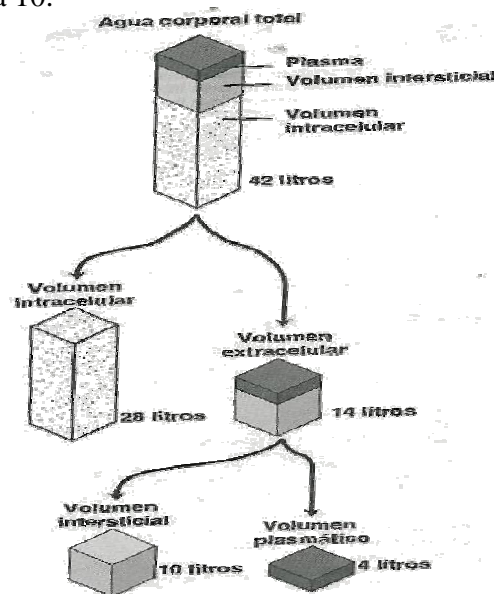


Figura 10. Tamaño relativo de varios compartimientos que demuestran el volumen (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996)

- Compartimientos corporales acuosos. Una vez que un compuesto entra en el organismo, sin importar cuál sea su vía de administración, tiende a distribuirse en cualquiera de los tres compartimientos funcionales de agua corporal o localizarse dentro de células de algún tipo.



- **Compartimiento plasmático.** Si un agente tiene un peso molecular alto o una gran unión a las proteínas de plasma, constituye una estructura muy grande para salir a través de las uniones del endotelio capilar y se mantiene atrapada en el compartimiento plasmático (vascular). Como consecuencia, el medicamento se distribuye en un volumen (el plasma) que representa alrededor del 6% del peso corporal o, en un individuo de 70 Kg, cerca de cuatro litros de líquido corporal. Los antibióticos amino glucósidos tiene este tipo de distribución.
- **Líquido extracelular.** Si el fármaco tiene peso molecular bajo pero hidrofílico, se puede mover a través de las uniones del endotelio capilar hacia el líquido intersticial. Sin embargo, los fármacos hidrofílicos no pueden cruzar las membranas para llegar al líquido en el interior celular. En consecuencia, estos agentes se distribuyen en un volumen que es la suma del líquido plasmático y el líquido intersticial, juntos forman el líquido extracelular. Este constituye alrededor del 20 % del peso corporal o cerca de 14 litros en un individuo de 70 Kg.
- **Agua corporal total.** Si el fármaco tiene peso molecular bajo y es hidrofóbo, no sólo se puede mover hacia el intersticio a través de las uniones, también puede pasar por las membranas hacia el líquido intracelular. Por lo tanto estos compuestos se distribuyen en un volumen que se aproxima al 60 % del peso corporal, es decir 42 litros en un individuo de 70 Kg.
- **Otros sitios.** Durante el embarazo, el feto puede captar algunos fármacos y por ello se incrementa el Vd. Los fármacos como el tiopental, que se almacena en la grasa, también pueden tener volúmenes de distribución elevados.

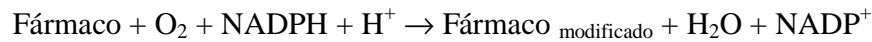
#### 1.4 Metabolismo

El metabolismo farmacológico depende de dos tipos de reacciones bioquímicas, conocidas como la fase I y de fase II. A menudo, aunque no siempre, se suceden de manera secuencial (Banet Z. L., Kroetz L. D. y Sheiner 1996).

##### 1.4.1 Reacciones del metabolismo del fármaco.

El riñón no puede eliminar de manera eficiente las sustancias lipofílicas que atraviesan con facilidad las membranas celulares y se reabsorben en los túbulos distales. Por esa razón, los fármacos liposolubles deben metabolizarse primero en el hígado por medio de dos tipos generales de reacciones, denominadas de fase I y fase II (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).

- **Fase I.** Las reacciones de fase I sirven para convertir las moléculas lipofílicas en moléculas más polares al introducir o exponer un grupo funcional polar, como  $-OH$  o  $-NH_2$ . el metabolismo de fase I puede incrementar, disminuir o dejar sin cambios la actividad farmacológica de una sustancia. Las reacciones de fase I referidas con mayor frecuencia en el metabolismo de fármacos las cataliza el sistema citocromo P-450 (también denominado oxidasa microsomial de función mixta).



La oxidación se lleva a cabo al unirse el fármaco a la forma oxidada del citocromo P-450, tras lo cual se introduce el oxígeno mediante un paso reductivo acoplado a NADPH – oxidoreductasa de citocromo P-450. La enzima del citocromo P-450 son hemoproteínas y configuran una familia muy extensa de enzimas relacionadas. Estas enzimas se diferencian entre sí por la secuencia de aminoácidos, por estar reguladas por productos inhibidores e inductores y por la especificidad de las reacciones que catalizan.

En la figura 11. Se observa el mecanismo del ciclo de la monooxigenasa P-450. La P-450, que contiene hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), se combina con una molécula de fármaco (DH), recibe un electrón de la NADPH-P450 reductasa, que reduce el hierro a  $\text{Fe}^{2+}$ , se combina con oxígeno molecular, un protón y un segundo electrón (procedente de la NADPH-P450 reductasa o del citocromo  $\text{b}_5$ ) para formar un complejo  $\text{Fe}^{2+}\text{OOH-DH}$ . Este se combina con otro protón para formar agua y un complejo óxido férrico  $(\text{FeO})^{2+}\text{DH}$ .  $(\text{Fe})^{3+}$  extrae un átomo de hidrógeno de DH y forma un par de radicales libres de vida corta, se libera del complejo de fármaco oxidado (DOH) y regenera la enzima P-450.

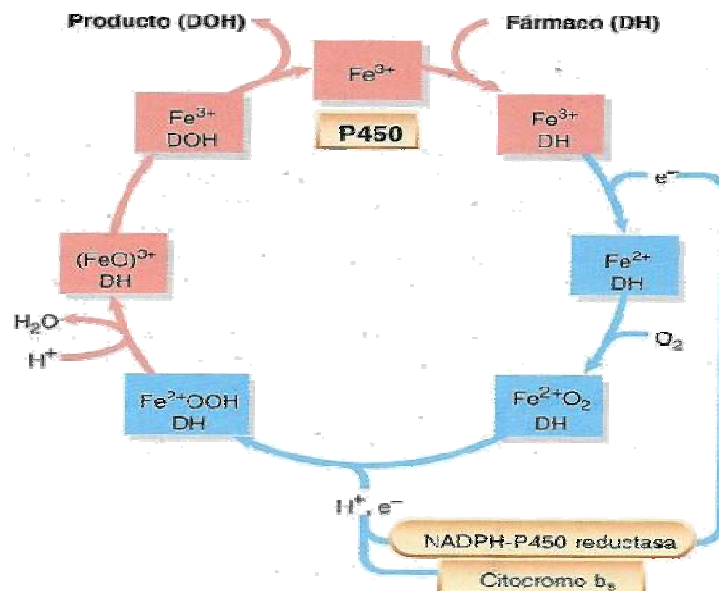


Figura 11. Ciclo de la monooxigenasa P-450 (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002)

Reacciones de fase I sin intervención del sistema P-450, incluyen la oxidación de aminas (por ejemplo la oxidación de catecolaminas o histamina), la deshidrogenación de alcoholes (por ejemplo oxidación de etanol) y la hidrólisis (procainamida, por ejemplo).

- Reacciones de Fase II. Esta fase consiste en reacciones de conjugación. Si el metabolito resultante de las reacciones de fase I tienen polaridad suficiente, pueden excretarlo los riñones. Sin embargo, muchos metabolitos son demasiado lipofílicos y los túbulos renales los retienen. Una reacción subsecuente de conjugación con un sustrato endógeno, como ácido glucorónico, ácido sulfúrico, ácido acético o algún aminoácido, producen compuestos polares que las más de veces son más solubles en agua y casi siempre

inactivos desde el punto de vista terapéutico. La glucoronidación es la reacción más común e importante. En resumen todos los fármacos que posean un grupo  $-OH$ ,  $-NH_2$  o  $-COOH$  pueden entrar de forma directa a la fase II y conjugarse sin metabolismo previo de fase I. los medicamentos conjugados muy polares pueden entonces eliminarse por el riñón.

- Inversión del orden de las fases: No todos los fármacos entran en las fases del orden I y II. Por ejemplo, la isoniacida se acetila primero (reacción II) y luego se hidroliza para formar ácido nicotínico; reacción fase I. (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).

#### 1.4.2 Circulación Enterohepática

Los fármacos o metabolitos vertidos por la bilis en el duodeno, pueden ser eliminados por las heces, o más frecuentemente, sufrir una reabsorción a nivel del intestino, si sus propiedades fisicoquímicas les permiten franquear la barrera intestinal y volver a la circulación (circulación enterohepática o ciclo enterohepático). Este fenómeno implica un incremento en la vida media biológica del fármaco en el organismo y su eliminación definitiva se realiza por el riñón (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002). En la figura 12 se ilustra esquemáticamente el llamado ciclo enterohepático.

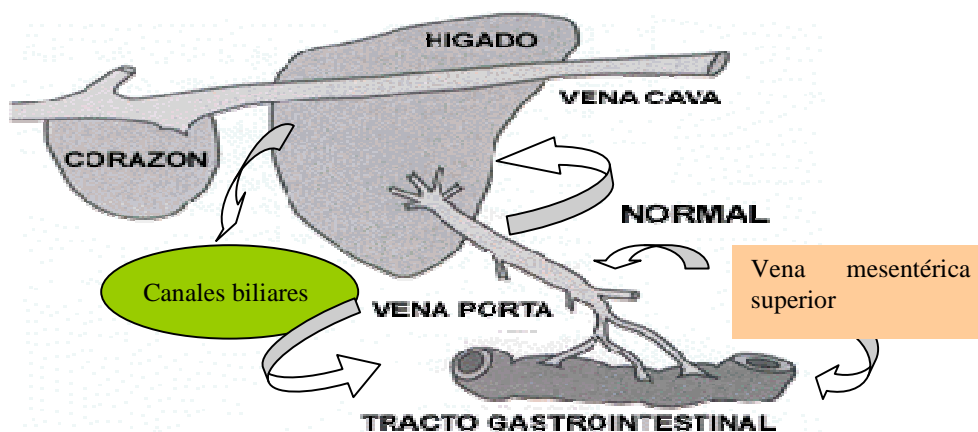


Figura 12. Ciclo Enterohepático (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002)

#### 1.5 Excreción

La remoción de un fármaco del organismo se puede lograr por distintas vías; la más importante es la renal, por medio de la orina. Otras vías de eliminación son la bilis, intestino, pulmón o leche en mujeres lactantes. Un paciente con insuficiencia renal puede someterse a diálisis extracorpórea para retirar moléculas pequeñas, por ejemplo fármacos (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).



## 2. Indometacina

### 2.1 Nomenclatura

2.1.1 Nombre químico: ácido 1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-acético, 1-(*p*-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-indol-3-acido acético (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

2.1.2 Nombre comercial: Antalgín ®, Indocid, Dohme, Malival, Stratasin (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

### 2.2 Fórmulas

2.2.1 Fórmula empírica:  $C_{19}H_{16}ClNO_4$

2.2.2 Fórmula estructural: Estructura química de Indometacina, se muestra en la figura 13.

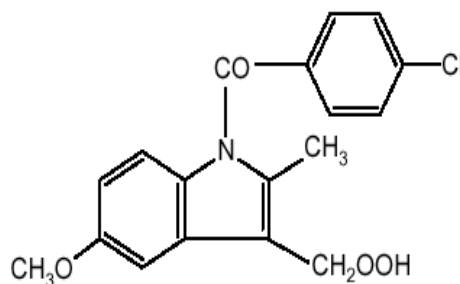


Figura 13. Fórmula estructural de Indometacina

### 2.3 Propiedades

#### 2.3.1 Físicas

##### 2.3.1.1 Descripción

Es un polvo amarillo pálido a amarillo tostado, cristalino, inodoro o con olor suave; sabor ligeramente amargo, sensible a la luz, estable en el aire y estable al calor, en las condiciones habituales de temperatura ambiente; una forma polimórfica se funde alrededor de 155° C; la otra alrededor de 162° C (Florey K. 1984).

2.3.1.2 Peso molecular: 357.81 g/mol.<sup>2</sup>

2.3.1.3 pKa: 4.25 en solución acuosa (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

2.3.1.4 Punto de fusión: 156 °C a 160 °C (Florey K. 1984).



### 2.3.1.5 Solubilidad

Es insoluble en agua y en hidrocarburos, pero soluble en alcoholes, acetona, dicloruro de etileno y acetonitrilo. Con los alcoholes forma solvatos cristalinos estables. Es soluble pero inestable en soluciones alcalinas. La solubilidad de 1 g del Indometacina se disuelve en 30 mL de cloroformo, 45 mL de éter y 50 mL de alcohol (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

Tanto la forma sólida como sus soluciones se deben proteger de la luz solar. La sal sódica en estado seco es bastante estable. (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

## 2.4 Químicas

### 2.4.1 Estabilidad

La indometacina sufre degradación en solución acuosa, la degradación sigue una cinética de primer orden a 25 °C. La hidrólisis se lleva a cabo en el grupo N-acil, del ácido carboxílico correspondiente a la amida (Clarke G. C. y Bloomsbury S. 1974).

### 2.4.2 Espectro de absorción

Indometacina se caracteriza primero por tener los máximos de absorbancia en la región ultravioleta de 319 y 230 nm con una inflexión a 260 nm en metanol (Florey K. 1984).

## 2.5 Farmacología

### 2.5.1 Farmacocinética

La administración de Indometacina en cápsulas por vía oral tiene una biodisponibilidad de prácticamente 100%, y a las cuatro horas se ha absorbido 90% de la dosis administrada.

- ▶ **Absorción:** Después de la administración oral de la indometacina en dosis única de 25, 50 y 75 mg, se absorbe bien por el tracto digestivo y la concentración en plasma del medicamento es de 1.54, 2.65 y 4.92 µg /ml y se presenta, por lo general, a las 2.00 horas, la vida media del fármaco no metabolizado es de 2 a 3 horas (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).
- ▶ La concentración plasmática para lograr el efecto terapéutico es de 1 µg /ml y la concentración plasmática tóxica es a partir de los 6 µg /ml. Se une a las proteínas en 90 a 95% y se difunde bien por los líquidos corporales, pasa en forma lenta al líquido sinovial, 5 horas después de la administración las concentraciones en líquido sinovial y en plasma se igualan, y posteriormente, se incrementa la concentración en el líquido sinovial y va disminuyendo la concentración plasmática. Se encuentra en baja concentración en la leche materna, tejido cerebral, saliva y placenta (Mycek M. J. y Harvey R. A. 2004).





Se ha encontrado que en los estudio actuales realizados en humanos existen diferencia en los parámetros farmacocinéticos reportados en algunas referencias, en la figura 14 se presentan los valores de  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $t_{1/2}$  y  $ABC$ , así como las referencias de donde estos fueron tomados. Estos valores se presentan con la intención de demostrar que en cada uno de los estudios se reportan datos diferentes de los parámetros farmacocinéticos para Indometacina.

Referencia (Autores)	Dosis (mg)	$T_{max}$ (h)	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$ABC_t^0$ ( $\mu\text{g}^* \text{h/mL}$ )	$ABC_\infty^0$ ( $\mu\text{g}^* \text{h/mL}$ )
Li M.D., <i>al et</i> (2005)	90 mg	4.2 h $\pm$ 0.6	0.82 $\pm$ 0.08	10.1 $\pm$ 4.2	6.72 $\pm$ 0.99	8.56 $\pm$ 0.95
Jones R. W <i>al et.</i> (1991)	60 mg	3.4 $\pm$ 0.7	0.632 $\pm$ 0.178	601 $\pm$ 0.70	162.3 $\pm$ 91.7	-----
Adams K. R. H., <i>al et</i> (1982)	150 mg	3.1	2.5 $\pm$ 0.25	5.5 $\pm$ 0.9	14.75 $\pm$ 1.170	1.230 $\pm$ 0.095
	75 <sup>~</sup> mg	2.1	1.9 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.4	8.560 $\pm$ 0.860	1.070 $\pm$ 0.105
	100 <sup>~</sup> mg	2.0	2.0 $\pm$ 0.17	-----	-----	-----
Chávez P. A., <i>al et</i> (2007)	83.8 ( $\mu\text{mol Kg}^{-1}$ )	8.50 $\pm$ 0.73	64.40 $\pm$ 3.72	-----	1193 $\pm$ 51.32	-----
Emori H., <i>al et</i> (1976)	50 mg	1 – 2	2.0	1 – 4	-----	-----
Mannila A., <i>al et</i> (2008)	50 mg /mL	-----	0.090 – 2.20	-----	-----	-----
Pullar T., <i>al et</i> (1988)	50 mg	2.0 $\pm$ 1.1	2.69 $\pm$ 0.82	-----	10.0 $\pm$ 3.8	-----
Upton N., <i>al et.</i> (2008)	0.2 mg/Kg	0.666 – 0.833	2.5	-----	-----	-----
Vinagre E., <i>al et.</i> (1998)	1 mg/Kg	0.166	1.10	0.3541	3930.00	-----
Boggio J. C., <i>al et.</i> (2001)	1 mg/Kg	-----	3.18 $\pm$ 0.48	0.17 $\pm$ 0.02	3.40 $\pm$ 0.52	-----

<sup>~</sup> Cápsulas

<sup>~</sup>~ Supositorios

Tabla 1. Parámetros Farmacocinéticos de Indometacina.

- **Eliminación:** La indometacina es excretada por la orina en 60%, del cual 20% se elimina en forma activa y 40% en forma metabolizada, y por las heces en 33%, del cual 1.5 al 2% en forma activa y del 31 al 31.5% es metabolizada. La vida media de eliminación varía de 2 a 22 horas, debido a la circulación entero hepática (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).



---

### 2.5.2 Farmacodinamia

- La Indometacina es un medicamento, inhibidor de la síntesis de prostaglandinas que le proporciona una eficacia analgésica, antiinflamatoria y antipirética. Su mayor uso es en el tratamiento terapéutico para la Artritis Reumatoide, mejorando los síntomas de la enfermedad en un 66 % con dosis de 25 mg cada 8 – 12 horas o con dosis nocturnas (hasta 100 mg). También se usa en la Espondilitis anquilosante, artrosis y gota aguda por su potente efecto antiinflamatorio (Mycek M. J. y Harvey R. A. 2004). Otro de los usos terapéuticos de la indometacina es en el tratamiento de la Osificación Heterotópica en pacientes que padecen daño celular después de una lesión traumática medular (Banovac K. 2001).

### 2.6 Efectos adversos

No se debe administrar Indometacina a: pacientes que hayan presentado ataques asmáticos agudos, urticaria o rinitis (precipitados por ácido acetilsalicílico) provocados por otros medicamentos antiinflamatorios no esteroides. Indometacina puede causar úlcera péptica o irritación gastrointestinal y al igual que otros antiinflamatorios la indometacina puede ocultar los síntomas y signos de la úlcera péptica y por ello no debe ser administrada a pacientes con úlcera péptica activa o con antecedentes de ulceración gastrointestinal recurrente (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

#### 2.6.1 Interacciones medicamentosas

**Ácido acetilsalicílico o salicilatos:** No se recomienda el empleo simultáneo ya que el efecto terapéutico de esta combinación no es mayor que la administración de la indometacina sola, y los efectos colaterales aumentan significativamente con la combinación.

**Diuréticos:** No se recomienda el empleo simultáneo ya que pueden disminuir los efectos diurético y antihipertensivo de los diuréticos de asa, ahorradores de potasio o tiazídicos. Cuando se utilizan ambos medicamentos al mismo tiempo se debe tener en cuenta los efectos sobre la cinética de potasio y sobre la función renal.

**Anticoagulantes:** Aunque la indometacina no tiene efecto sobre la hipoprotrombinemia producida por los anticoagulantes, es importante vigilar cualquier cambio en el tiempo de protrombina.

**Metotrexato:** Cuando se usan al mismo tiempo, se ha reportado que existe una disminución en la secreción tubular, provocando un aumento en la toxicidad del metotrexato.

Indometacina aumenta la toxicidad si se administra con derivados cumarínicos, fenitoína, nifedipina y verapamilo. Se disminuyen los niveles sanguíneos de Indometacina con cefamandol, cefoperazona, dextran, dipiridamol, mezlocilina, carbenicilina parenteral, piperacilina, plicamicina, salicilatos, ácido valproico y otros antiinflamatorios (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

### 3. Sistema Nervioso (vegetativo) Autónomo

El sistema nervioso (vegetativo) autónomo se encarga fundamentalmente de regular las funciones de los órganos internos, se adecua a las necesidades de cada momento, por tanto, es el medio interno del organismo. La mayor parte de estas actividades están sometidas al control voluntario. El sistema nervioso vegetativo participa en arcos reflejos integrados por fibras aferentes viscerales o somáticas y por fibras eferentes autónomas y somáticas. Las fibras aferentes transmiten impulsos generados en la estimulación de los receptores del dolor y de los quimiorreceptores y receptores mecánicos del corazón, los pulmones, el tubo digestivo, la vejiga urinaria, los vasos sanguíneos, etc. Los nervios son los encargados de transportar impulsos nerviosos desde cada una de las partes de nuestro cuerpo al cerebro y de transmitir su respuesta a cada una de las zonas. Las fibras nerviosas tienen forma de cordón y están constituidas por axones, ramificaciones parecidas a una cola que salen desde el cuerpo de las neuronas. Los nervios viajan desde su origen en el sistema nervioso, hasta enlazarse a un lugar específico del cuerpo. Ver figura 15.

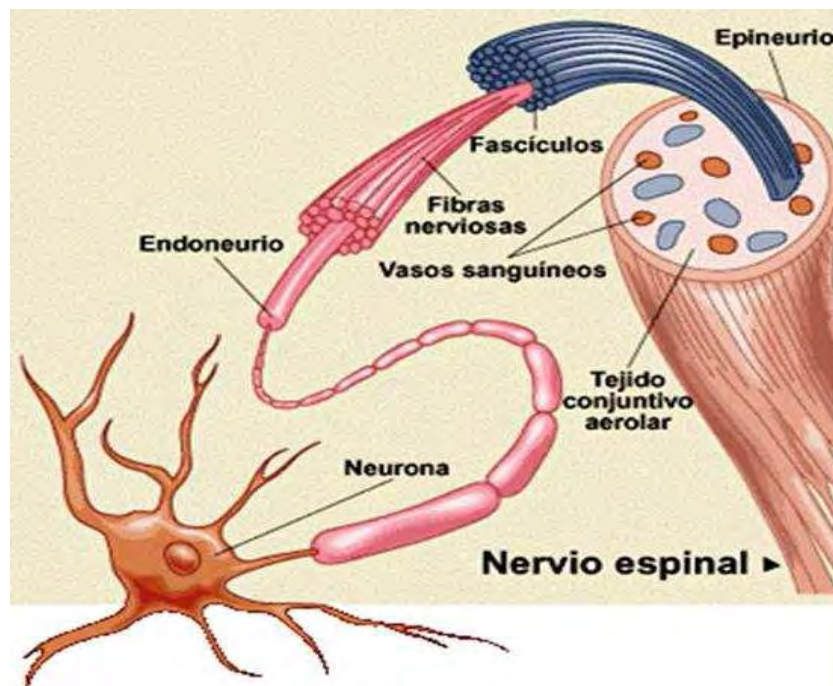


Figura 15. Nervios, conductores de la información (Encarta Windows media 2008)

El sistema nervioso vegetativo suministra las fibras eferentes que transmiten las órdenes o señales de la reacción refleja en respuesta a la información recogida por las fibras aferentes, provocando la contracción del músculo liso de los distintos órganos (Mosby & Doyma 1994).

### 3.1 Sistema Nervioso Periférico.

Está constituido por dos divisiones o ramas que están anatómica y funcionalmente diferenciadas: las divisiones simpática y parasimpática. Los centros de la división simpática se hallan situados en las regiones dorsal y lumbar de la médula espinal y los de la división parasimpática en la región sacra de la médula. Ambas divisiones contienen fibras preganglionares, que se continúan con fibras postganglionares. Los cuerpos celulares de las fibras preganglionares de carácter simpático se encuentran en el asta lateral de la médula espinal torácica y lumbar. Las fibras preganglionares del parasimpático salen del tronco encefálico junto con los nervios craneales para dirigirse a los músculos y glándulas de la cabeza, así como a los órganos situados en el tórax y el abdomen. La mayoría de los órganos reciben innervación de ambas divisiones.<sup>(DISCAPACINET)</sup>

Las respuestas frente a la estimulación por ambos tipos de fibras puede ser antagónico (por ejemplo en el corazón) o casi sinérgico (por ejemplo glándulas salivares). Ver figura 16.

## INERVACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

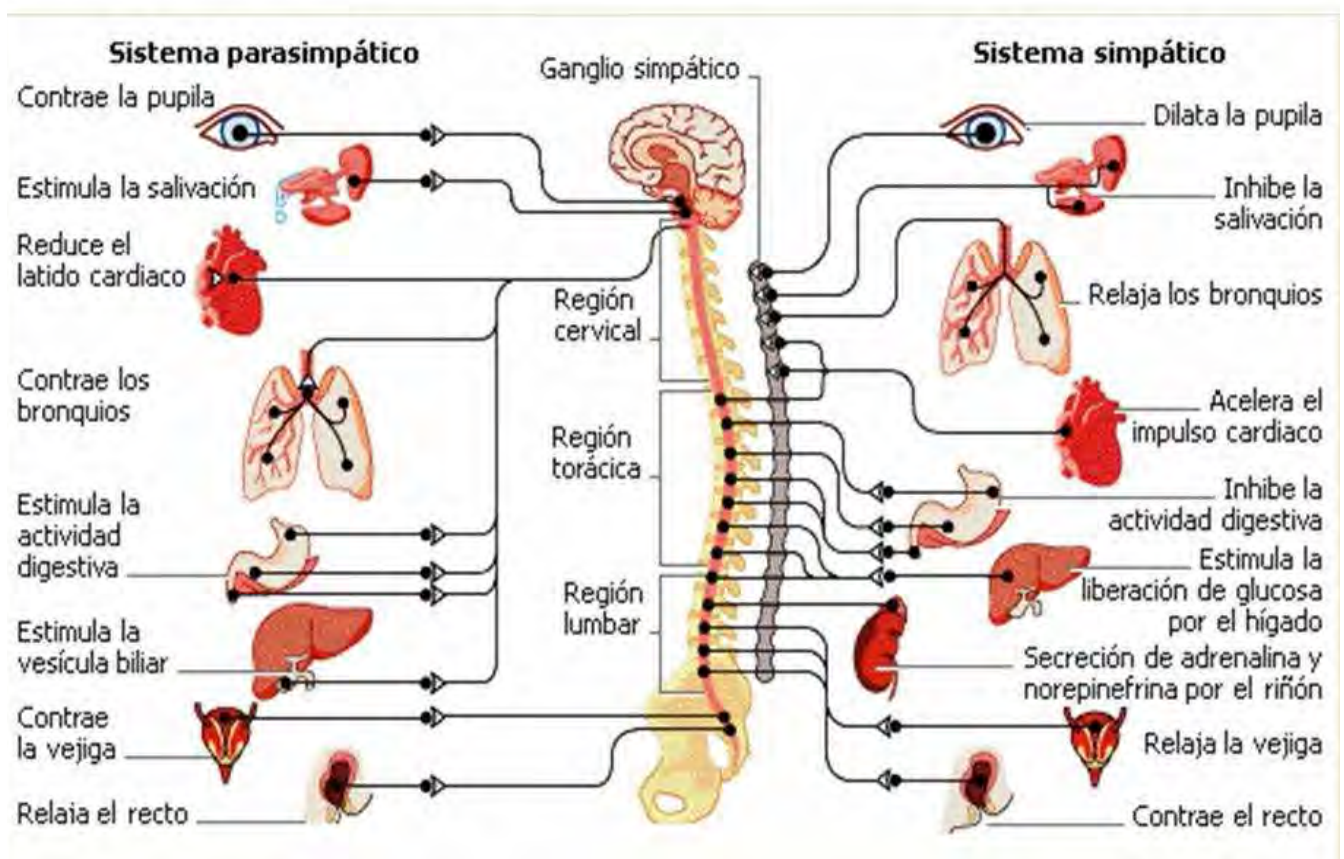


Figura 16. Sistema nervioso simpático y parasimpático (Encarta Windows media 2008)



---

### 3.2 Anatomía de la columna vertebral

La estructura blanda y gelatinosa de la médula espinal está protegida por la columna vertebral. La columna vertebral está compuesta de 33 huesos llamados vértebras, cada una con un orificio circular parecido al de una rosca (*Donet*). Los huesos están alineados uno encima del otro y se extienden a lo largo del canal hueco creado por la unión de esas vértebras (Mosby & Doyma. 1994).

Las vértebras pueden ser organizadas en secciones y son identificadas y enumeradas de arriba hacia abajo de acuerdo con su ubicación a lo largo de la espina dorsal:

*Vértebra cervical* (1-7) situada en el cuello

*Vértebra dorsal* ó torácica (1-12) parte superior de la espalda (unida a la caja torácica)

*Vértebra lumbar* (1-5) parte inferior de la espalda

*Vértebra sacra* (1-5) área de la cadera

*Vértebra coccígea* (1-4 fusionadas) en el cóccis.

A pesar de que la dureza de las vértebras protege de lesiones a la médula espinal la mayor parte del tiempo, la columna vertebral no está compuesta completamente de hueso sólido. Entre las vértebras se encuentran *discos* de cartílago semirígido, y en el espacio estrecho que hay entre estos discos se encuentran los conductos por donde salen los nervios raquídeos hacia el resto del cuerpo. Estos son los lugares donde la médula espinal es vulnerable a las lesiones directas. La médula espinal también está organizada en segmentos que están identificados y enumerados de arriba hacia abajo. Cada segmento marca el punto donde los nervios raquídeos salen de la médula para conectarse con regiones específicas del cuerpo. Las ubicaciones de los segmentos de la médula espinal no corresponden exactamente con la ubicación de las vértebras, pero son aproximadamente equivalentes.

*Nervios raquídeos cervicales* (C1 a C8) controlan las señales que van a la parte de atrás de la cabeza, al cuello y los hombros, a los brazos y las manos, y al diafragma.

*Nervios raquídeos dorsales* (T1 a T12) controlan las señales que van a los músculos torácicos, a ciertos músculos de la espalda y a partes del abdomen.

*Nervios raquídeos lumbares* (L1 a L5) controlan las señales que van a partes inferiores del abdomen y la espalda, a las nalgas, a algunas partes de los órganos genitales externos y a partes de las piernas.

*Nervios raquídeos sacros* (S1 a S5) controlan las señales que van a los muslos y a partes inferiores de las piernas, a los pies, a la mayoría de los órganos genitales externos y al área alrededor del ano.

El único nervio coccígeo de la médula espinal que transmite la información sensitiva proveniente de la piel de la región inferior de la espalda.

En la figura 17, se muestra la anatomía de la columna vertebral, señalando cada una de sus partes.

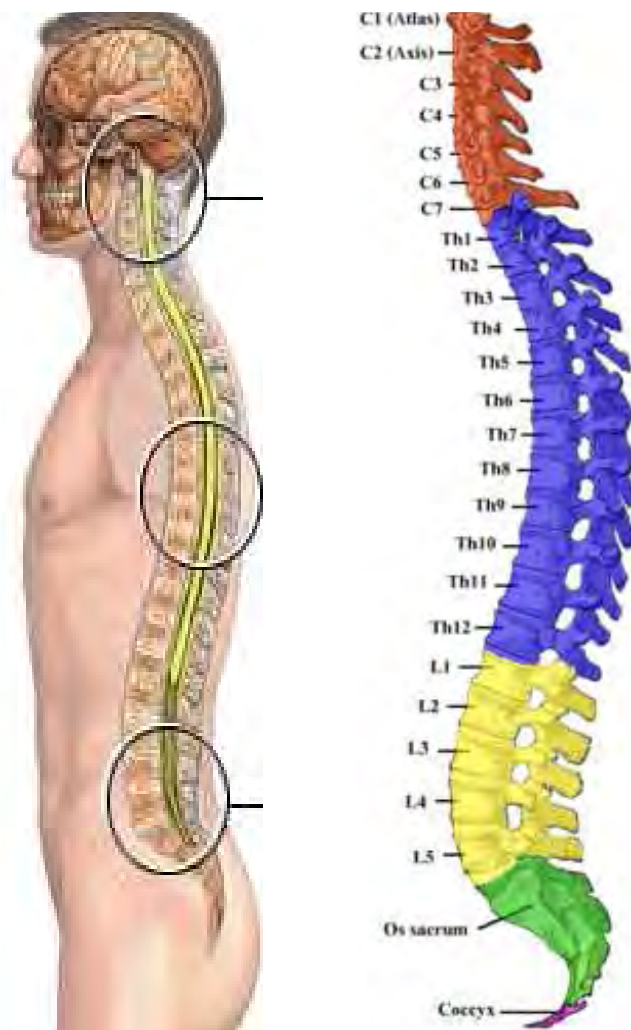


Figura 17. Anatomía de la columna vertebral (Encarta Windows media 2008)

### 3.3 Lesión Medular.

Una lesión medular se puede definir como un trauma o trastorno fisiopatológico a nivel neuromuscular, en la cual se ve afectada la transmisión de impulsos nerviosos del sistema motor, en la que los nervios por encima de la lesión funcionan normalmente, pero por debajo de ésta, presentan alteraciones en la transmisión de impulsos nerviosos.

La médula puede lesionarse por fractura de la columna vertebral o por luxación, por heridas penetrantes causadas por fragmentos metálicos de proyectiles o por otras causas traumáticas. Una sección horizontal completa causa pérdida de todo tipo de sensibilidad y movimientos



---

voluntarios debajo del sitio de lesión. El paciente queda cuadrapléjico (parálisis de ambos brazos y ambas piernas), si la parte cervical de la médula espinal esta seccionada o parapléjico (ambas piernas paralizadas), si la sección es entre las intumescencias cervical y lumbar.

Hay un periodo inicial llamado choque medular, que dura desde unos días hasta varias semanas, durante el cual esta abolida toda actividad refleja somática y visceral. Al regresar la actividad refleja hay una espasticidad muscular y reflejos tendinosos exagerados. Las funciones voluntarias de la vejiga y los intestinos quedan fuera de control (Das D. G., Das K.G., Brasko J., Riedl M., Raid P. y Rajeswari V. 1989)

Los efectos de una lesión de la médula espinal varían de acuerdo con el tipo y con el nivel de la lesión y se pueden dividir en dos tipos (Guizar S. G., Castañeda H. G., García L. P., Franco B. R., Grijalva I. y Madrazo I. 1998)

**Lesión Medular Completa:** Donde el individuo pierde el movimiento y toda sensibilidad por debajo del sitio de la lesión.

**Lesión Medular Incompleta:** Donde puede presentarse pérdida de movimiento, sin que exista pérdida de sensibilidad

En una lesión traumática de médula espinal (LTME), además de perderse toda actividad motora y sensibilidad, también se presentan alteraciones sistémicas y metabólicas, provocando trastornos en el sistema cardiovascular, gastrointestinal, renal, endocrino y sistema inmune; alteraciones atribuidas a la presencia de un desequilibrio en el sistema vegetativo (simpático y parasimpático), llegando a provocar cambios significativos para mantener la homeostasis del sistema. (Gopal D. Das 1989)

Dependiendo de la intensidad y nivel de la lesión medular, se puede presentar un mal funcionamiento de la vejiga y los intestinos. Las funciones sexuales frecuentemente también se ven afectadas y, en el caso de la eyaculación, el hombre ve disminuido sus capacidades normales. Esto conlleva problemas en fertilización, caso contrario a la mayoría de las mujeres.

Las lesiones producidas en un nivel muy alto de la espina dorsal (C1-C2) suelen dar como resultado la pérdida de muchos movimientos involuntarios, como la respiración, lo que lleva al enfermo a necesitar respiradores mecánicos. Otros efectos pueden incluir la incapacidad de regulación del ritmo cardiaco (y por tanto la presión sanguínea), la reducción del control de la temperatura del cuerpo, la imposibilidad de sudar por debajo del nivel de la lesión así como dolor crónico o incontinencia. La terapia física así como el uso de instrumentos ortopédicos (p. e., sillas de ruedas) son necesarios, dependiendo del la localización de la lesión. (Gopal D. Das 1989).



---

### 3.3.1 Localización de la lesión

Conocer el nivel exacto de la lesión en la médula espinal es importante para predecir que partes del cuerpo pueden verse afectadas por la parálisis y por la pérdida de sensibilidad. En las siguientes líneas se mencionan los efectos típicos de la lesión espinal según la localización de ésta. Hay que tener en cuenta que sólo es posible el pronóstico de las lesiones completas, las lesiones incompletas pueden ser muy variables y pueden diferir de lo que se explica a continuación. (DISCAPACINET)

#### **Lesiones cervicales**

Las lesiones a nivel cervical (cuello) usualmente tienen como resultado una tetraplejía total o parcial. Dependiendo de la localización exacta de la lesión, un individuo con una lesión cervical puede retener algunas funciones como se detalla a continuación, de lo contrario permanecerá completamente paralizado.

#### **Vértebras:**

- **C3 y superiores:** Pérdida de la función del diafragma y necesidad de un ventilador mecánico para respirar.
- **C4:** Puede retener algún control sobre bíceps y hombros, pero débilmente.
- **C5:** Capacidad de uso de hombros y bíceps, pero no de muñecas ni manos.
- **C6:** Generalmente conservan algún control sobre las muñecas pero no tienen funcionalidad en la mano.
- **C7 y T1:** Pueden usualmente enderezar sus brazos pero aún conservan problemas de destreza en manos y dedos.

#### **Lesiones torácicas**

Las lesiones a nivel torácico e inferior tienen como resultado la paraplejía. Las manos, los brazos, la cabeza y la respiración no se suelen ver afectadas.

- **T1 a T8:** A menudo presentan control de manos pero carecen de control sobre los músculos abdominales, por lo que el control del tronco es difícil o imposible. Los efectos son menos severos si el nivel de la lesión es más bajo.
- **T9 a T12:** Permite un buen control del tronco y de los músculos abdominales por lo que el balance sentado es muy bueno.

#### **Lesión en la zona lumbar y sacra**

Los efectos de una lesión en la región lumbar o sacra de la médula espinal son la disminución del control de las piernas y de la cadera, así como del sistema urinario y del ano. (DISCAPACINET)





---

#### 4. Validación de Métodos Bioanalíticos

La validación de un método analítico es el procedimiento para demostrar que éste es confiable para su uso. Los procedimientos deben describir en detalle los pasos necesarios para realizar cada prueba analítica. (FDA, CDER y CVM 2001). Los parámetros fundamentales para la validación de un método bioanalítico son: linealidad, exactitud, precisión, selectividad, sensibilidad, reproducibilidad y estabilidad de la muestra. (Shah V. P. 1992)

**Linealidad.** La linealidad de un sistema o método analítico es la habilidad para asegurar los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, estos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

**Selectividad.** Es la habilidad del método analítico para diferenciar y cuantificar el analito en presencia de otros componentes en la muestra.

**Exactitud.** Describe la proximidad del resultado obtenido del método al valor verdadero del analito. La exactitud es determinada por el análisis duplicado de las muestras conteniendo cantidades conocidas del analito. Los valores deben ser menores al 15 % del valor verdadero y el valor el calculado, excepto en los valores mínimos de cuantificación que no deben exceder el 20 %.

**Precisión.** Describe la proximidad de la medida individual de un analito cuando el procedimiento es aplicado repetidamente a múltiples alícuotas de un sólo volumen homogéneo de la matriz biológica. La precisión de cada nivel de concentración no debe exceder el 15 % del coeficiente de variación excepto los valores mínimos de cuantificación donde este no debe exceder el 20 % CV.

**El recobro de una analito en un ensayo** es la respuesta obtenida de una cantidad de analito añadido y el extraído de la matriz biológica, comparando con la respuesta obtenida de una concentración verdadera del estándar puro.

**Estabilidad.** La estabilidad de un fármaco en un fluido biológico esta en función de condiciones de almacenamiento, las propiedades químicas del fármaco, la matriz y del sistema de contención. Las condiciones usadas en experimentos de estabilidad deben reflejar situaciones probables en las que se encuentran realmente la muestra y el análisis.

**Limite de detección.** Es la mínima concentración de una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

**Limite de cuantificación.** Es la menor cantidad de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.



---

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La LTME ha capturado el interés de diferentes disciplinas científicas y sociales, como tal esta discapacidad, representa problemas médicos y socioeconómicos de gran magnitud. Su manejo integral es complejo, requiriendo la intervención de equipos multidisciplinarios y tecnología avanzada, esto es a partir del momento del accidente, hasta que el individuo está rehabilitado generalmente con secuelas neurológicas serias, siendo en algunos casos permanentes. Los porcentajes de mortalidad y morbilidad son consideradamente altos, incluso en centros especializados para tratar una LTME (Guizar- Sahagún *et al.*, 1998)

La lesión de la médula espinal es una aflicción devastadora, ya que trae como consecuencias alteraciones funcionales y psicológicas sumamente significantes. Una LTME no sólo produce pérdida del movimiento y deterioro de sensibilidad debajo del sitio de la lesión, también produce alteraciones sistémicas y metabólicas importantes asociadas a complicaciones en la calidad de vida del paciente, rehabilitación tardada y una terapéutica inadecuada (Guizar - Sahagún *et al.*, 1998; Segal y Brunneman, 1989; Cruz-Antonio *et al.*, 2006)

La mayoría de las alteraciones sistémicas y metabólicas están asociadas con disturbios en las funciones reguladas por el sistema nervioso autónomo, y ocurre en la mayoría de los casos como una consecuencia de lesiones severas por arriba de la actividad simpática es decir, a nivel T6 y raramente ocurre en aquellas lesiones por debajo de un nivel torácico 10 (T10). (Guizar-Sahagún *et al.*, 1998).

Las complicaciones como la pulmonía, las infecciones del tracto urinario, o infecciones de heridas por presión, son comunes, principalmente en las fases tempranas de la lesión medular, a pesar del tratamiento farmacológico. Es posible que tales fracasos terapéuticos se deban por lo menos en parte, a las estrategias impropias de dosificación. (Reihani-Kermani R., *et al.*, 2006).

La farmacocinética de algunos fármacos cambia en los pacientes con una lesión traumática de la médula espinal o en modelos experimentales, pero el proceso fisiopatológico involucrado no se entiende todavía completamente (Segal & Brunneman, 1989). Una LTME parece modificar la absorción de los fármacos, distribución y eliminación. Se reporta que la biodisponibilidad oral de los fármacos como la teofilina, el acetaminofèn y el dantroleno están reducidos en los pacientes con LTME como consecuencia de las alteraciones en motilidad y vaciamiento gástrico presentes durante la lesión medular (Segal *et al.*, 1985 y 1986, Segal., *et al.*, 1995). Así mismo se ha observado que existen modificaciones en la distribución de aminoglucósidos, como la amikacina (Segal *et al.*, 1988) y gentamicina (Gilman *et al.*, 1993). Además, se ha reportado una reducción significativa en la disposición del lorazepam, en los pacientes con LTME, sugiriendo el deterioro en la capacidad metabólica del hígado (Segal., *et al.*, 1991), por posibles cambios en el flujo sanguíneo hepático dependientes del nivel de lesión y vía de administración (Cruz-Antonio L., *et al.*, 2006).

Aproximadamente el 66 % de todos los pacientes con lesión medular han informado que presentan algún tipo de dolor, este tipo de dolor normalmente lo describen como una clase de quemazón, en aquellas partes del cuerpo debajo del nivel de la lesión. Se sugiere que el fármaco



---

más eficaz para este tipo de dolor es la carbamazepina y la fenitoina (Kermani R., *et al.*, 2006), así también se ha reportado el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, como el paracetamol (García –López P., *et al.*, 1995). Otro AINE utilizado en el tratamiento del dolor es la indometacina, el cual además es prescrito en la terapia para la prevención de la osificación heterotópica, una complicación frecuente en pacientes con lesión medular completa (Banovac K., *et al.*, 2001). La indometacina por sus propiedades antiinflamatorias suele emplearse en combinación con un estimulador de la secreción de citosina, para reducir el impacto dañino presente en la lesión medular (Guth y Zhang *et al.*, 1994). No obstante el uso de la indometacina en pacientes con lesión medular, no existe reporte alguno del comportamiento farmacocinético de la Indometacina en clínica o en modelo experimental durante la fase aguda de la lesión traumática de médula espinal. Por lo que se considero de interés estudiar si existe alguna alteración en el comportamiento farmacocinético de Indometacina en un modelo experimental de lesión medular en la fase aguda a nivel T8.

### **III. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la influencia de la lesión traumática de la médula espinal aguda (LTME) a nivel T8, sobre la farmacocinética de Indometacina en Ratas Wistar macho, como modelo experimental.

### **IV. OBJETIVOS PARTICULARES**

- A. Validar el método analítico para la cuantificación de Indometacina en micromuestras de plasma de rata macho Wistar
- B. Determinar la farmacocinética de Indometacina administrada por vía oral en rata macho Wistar sin lesión medular, como parte de la farmacocinética.
- C. Determinar los parámetros farmacocinéticos de Indometacina en rata macho Wistar con lesión medular.
- D. Determinar la influencia de Indometacina en lesión medular a nivel T8 en rata macho Wistar.

### **V. HIPOTESIS**

La LTME a nivel de la vértebra torácica T8 provoca alteraciones a nivel gastrointestinal que pueden reflejarse como una disminución de la absorción de Indometacina administrada por vía oral en las ratas macho Wistar con lesión medular en estado agudo a este nivel



---

## VI. METODOLOGÍA

### 1. Material

- Matraz volumétrico de 10, 25, 100, 250 y 1000 mL
- Probeta graduada de 25, 500 y 1000 mL
- Micropipeta eppendorf de 100 – 1000  $\mu$ L
- Micropipeta multidosis eppendorf
- Combitips para micropipeta eppendorf de 5 mL
- Puntas para micropipeta de 1000  $\mu$ L
- Vasos de precipitado de 50, 250 y 600 mL
- Matraz erlenmeyer de 50, 250 y 500 mL
- Tubos eppendorf de 1.5 mL
- Espátula
- Papel Glacil y Papel parafilm
- Gradilla para tubos eppendorf
- Sonda nasogastrica del # 8

### Equipo:

- Vortex Genie 2
- Agitador mecánico IKA ® MS 3 digital
- Balanza analítica Ohaus
- Bomba para vacío X GAST Benton Harbor, Mi
- Equipo de filtración Millipore
- Membranas de filtración Millipore con tamaño de poro de 0.45  $\mu$ m
- Parrilla de agitación Thermolyne <sup>(S/P)</sup> Scientific Products Type 1000
- Centrífuga Fisher Scientific Marathon 26KM.
- Equipo desionizador de agua System MILLI-Q Water.
- Cromatógrafo de líquidos Waters.
  - ♣ Detector waters 486
  - ♣ Bomba Waters 510
  - ♣ Inyector manual.
  - ♣ Columna Zorbax SB - C 18 4.6 X 75 mm, 3.5  $\mu$ m
  - ♣ Precolumna Zorbax 4.6 mm ID x 12.5 mm
- Cronómetro.

### Reactivos:

- Metanol grado HPLC (Diferentes lotes)
- Fosfato monobásico de potasio en cristales (Grado Reactivo)
- Hidróxido de sodio (Grado reactivo)
- Indometacina (Materia Prima valorada)



- 
- Carbamazepina (Sustancia de Referencia)

**Programas computacionales**

- Winnonlin Versión 2.1
- Sigma Stat Versión 2.03



---

## 2. Procedimiento General

- Validar el método analítico para la determinación de Indometacina en plasma de rata macho Wistar
- Elaboración de curvas de calibración para indometacina por triplicado en plasma de rata macho Wistar con las concentraciones de 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.2  $\mu\text{g/mL}$ , utilizando como estándar interno Carbamazepina con concentración de 0.6  $\mu\text{g/mL}$ .
- El estudio farmacocinético de Indometacina se evaluó en cinco ratas macho Wistar con lesión medular y cinco ratas Wistar macho sin lesión medular. Con una dosis administrada por vía oral de 3.1 mg/Kg, El estudio contempla el muestreo de una muestra blanco, antes de la administración del fármaco, y después de la administración de indometacina la toma de muestras sanguíneas a los 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 310, 420, 600, 1440, 1620 y 1800 minutos.
- La cuantificación de Indometacina se llevo acabo mediante CLAR utilizando como detector un espectrofotómetro de luz UV a una longitud de onda de 260 nm.
- Con los datos obtenidos se procederá a calcular los parámetros farmacocinéticos de las muestras mediante el programa Winnolin Profesional<sup>®</sup>, para posteriormente realizar el análisis de resultados.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

- **Validación del Método Analítico para la cuantificación de Indometacina en Plasma de rata Wistar**

**Linealidad del Método.** Se prepararon cinco curvas de calibración con siete niveles de concentración (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2  $\mu\text{g/mL}$ ) partiendo de cinco soluciones independientes con una concentración de 10 y de 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , utilizando como matriz biológica, plasma de rata.

**Exactitud del método.** De los datos de precisión se determinó la exactitud, calculando el por ciento referido al valor nominal de cada determinación.

**Precisión del método.** Se analizaron tres curvas de calibración con siete niveles de concentración (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2  $\mu\text{g/mL}$ ) por triplicado, se analizaron los puntos de concentración bajo (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ), medio (0.6  $\mu\text{g/mL}$ ) y alto (1.2  $\mu\text{g/mL}$ ) de la curva cada uno de ellos por quintuplicado.

**Estabilidad de la Muestra.** Se sometieron a congelación (-20 °C) por siete, catorce y veintiocho días, los puntos de concentración bajo (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ), medio (0.6  $\mu\text{g/mL}$ ) y alto



---

(1.2  $\mu\text{g/mL}$ ). Y fueron analizados por quintuplicado antes de ser sometidos a las condiciones mencionadas y posteriormente en los tiempos preestablecidos.

**Tolerancia.** Se cambiaron condiciones cromatográficas críticas de la metodología analítica para determinar la tolerancia del método. Velocidad de flujo de 0.9, 1.0 y 1.1 ml/min, pH 5, 6 y 7, longitud de onda de 255, 260 y 265 nm, proporción de fase móvil (MeOH:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.025 M pH 6) 55:45, 50:50 y 45:55 v/v.

**Selectividad.** Se analizaron seis muestras de plasma de rata de diferente origen, también soluciones de indometacina y carbamazepina de forma independiente y en mezcla para determinar las posibles interferencias.

**Límite de cuantificación.** Se analizaron por quintuplicado la concentración más baja de la curva estándar (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ).

**Límite de detección.** Se analizaron por quintuplicado concentraciones de Indometacina por debajo del límite de cuantificación establecido (0.1, 0.09, 0.08, 0.07, 0.06  $\mu\text{g/mL}$ ).

- **Manejo de las ratas macho Wistar sometidas a investigación**

- a. **Tratamiento Quirúrgico**

- I. **Anestesia:** La anestesia consistió en la administración intramuscular de una mezcla de Ketamina (7.9 mg/Kg) y Cloruro de Xilazina (300 mg/Kg), para cada rata de acuerdo a su peso.
- II. **Cirugía:** Grupo Control (laminectomía). A los animales de experimentación previamente anestesiados y bajo condiciones asépticas se les realizó una incisión longitudinal a nivel de la vértebra torácica T8, hasta exponer la médula espinal a través de una laminectomía, posteriormente se suturo la incisión por planos anatómicos. Después de la cirugía se colocaron los animales en una caja de acrílico, una vez recuperados de la anestesia les fue evaluada su actividad motora, estos no debieron presentar paraplejia (los miembros inferiores flácidos). Los animales de experimentación se mantuvieron en ayuno durante 24 horas, antes de la administración del fármaco.

Grupo con LTME (lesión por corte medular). Los animales previamente anestesiados, y bajo condiciones asépticas se les realizó una incisión longitudinal a nivel de la vértebra torácica T8, se expuso la médula espinal y se realizó un corte en el plano transversal con tijeras de microcirugía, finalmente se suturo la incisión por planos anatómicos. Posteriormente los animales fueron colocados en una caja de acrílico y supervisados hasta su recuperación. Los animales de experimentación se mantuvieron en ayuno durante 24 horas, antes de la administración del fármaco y verificando que previo al estudio farmacocinético manifestaran una paraplejia flácida completa.



---

**III. Confinamiento:** Pasadas las 24 horas, a las ratas (ambos grupos) se les realizó una canulación de la arteria caudal. Aproximadamente 3 cm por debajo de la base de la cola les fue insertando un catéter de polietileno PE-10 directo a la vena y en el extremo libre se colocó un catéter PE-50 el cual se mantuvo heparinizado para facilitar el muestreo farmacocinético.

Una vez colocado el catéter, se procedió a colocar al animal de experimentación en una trampa para roedores, de esta forma se inmovilizó al animal, para facilitar el muestreo de la sangre en los diferentes tiempos.

- ◆ Administración del fármaco: Una dosis única de Indometacina (3.1 mg/Kg de peso) se administró oralmente con ayuda de una sonda orogástrica a los animales de experimentación.
- ◆ Esquema de muestreo: Muestras de 200  $\mu$ L de sangre se recolectaron, antes y después de la administración del fármaco, a los tiempos 5, 10, 20, 40, 60, 120, 240, 310, 420, 600, 1440, 1620 y 1800 minutos. Las muestras fueron recibidas en tubos eppendorf heparinizados y etiquetados para separar el plasma respectivo por centrifugación, mismo que se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

- **Preparación de la Curva de calibración previa al estudio farmacocinético.**

**Preparación de la solución madre de indometacina y carbamazepina (estándar interno).**

1. Pesar con precisión y exactitud la cantidad necesaria de Indometacina para lograr una solución final de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Hacer las diluciones necesarias para lograr otra solución de 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .
2. Pesar con precisión y exactitud la cantidad mínima necesaria para preparar una solución de Carbamazepina de 0.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (estándar interno)

**Curva de Calibración.** El intervalo de concentraciones de Indometacina para la curva de calibración constó de siete puntos: 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y la concentración utilizada de estándar interno fue de 0.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Para la preparación de la curva estándar se tomaron los volúmenes indicados en la tabla 1, para cada uno de los puntos de concentración de indometacina, se llevaron a un volumen de 1000  $\mu\text{L}$  con metanol.





## Curva de calibración

Tabla 2. Curva de Calibración de Indometacina

Volumen de Indometacina ( $\mu\text{L}$ ) [2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	Volumen de Indometacina ( $\mu\text{L}$ ) [10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	Volumen de Estándar Interno de [0.6 $\text{mg}/\text{mL}$ ] ( $\mu\text{L}$ )	Volumen de matriz biológica ( $\mu\text{L}$ )	Volumen de metanol ( $\mu\text{L}$ )	Concentración final ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
40	----	75	100	785	0.1
80	----	75	100	745	0.2
----	40	75	100	785	0.4
----	60	75	100	765	0.6
----	80	75	100	745	0.8
----	100	75	100	725	1.0
----	120	75	100	705	1.2

Posteriormente los tubos se agitaron por 120 segundos, al termino de la agitación se centrifugaron por 10 minutos a una velocidad de 12 000 rpm, se extrajo la fase orgánica que contenía la indometacina y la carbamazepina en tubos eppendorf. Para la cuantificación se inyectaron 60  $\mu\text{L}$  al cromatógrafo, de lo extraído.

### Preparación de la Fase móvil

Solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.025 M pH 6. Se pesaron 3.402 g de fosfato monobásico de potasio se colocaron en un matraz volumétrico de 250 mL y se disolvió con agua destilada y se aforo a 250 mL, previamente se preparo una solución de hidróxido de sodio al 0.1 M, de esta solución se tomaron 25 mL y se llevo a un matraz volumétrico de 1000 mL, donde se mezclo con los 250 mL de la solución de fosfato monobásico de potasio, para que la solución de fosfatos tuviese un pH de 6. Finalmente se aforo a 1000 mL con agua destilada.

Se preparo una mezcla de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.025 M pH 6: Metanol en una proporción de 55:45 v/v la cual fue usada como fase móvil.

### Sistema Cromatográfico

- Columna Zorbax SB - C 18 4.6 X 75 mm, 3.5  $\mu\text{m}$
- Precolumna Zorbax 4.6 mm ID x 12.5 mm
- Longitud de onda 260 nm
- Velocidad de flujo 1.0 mL/min.
- Volumen de loop de 20  $\mu\text{L}$ .



---

### **Manejo y análisis de las muestras biológicas de rata Wistar obtenidas, en cada tiempo de muestreo.**

Las muestras de plasma obtenidas de las ratas Wistar macho fueron descongeladas a temperatura ambiente para su análisis.

En tubos eppendorf, donde se encontraban los 100  $\mu$ L de plasma, se adicionaron 75  $\mu$ L de estándar interno (Carbamazepina de concentración 0.6  $\mu$ g/mL) y se llevo a un volumen final de 1000  $\mu$ L con metanol grado HPLC, se taparon y se agitaron por 120 segundos, al término de la agitación se centrifugaron por 10 minutos a una velocidad de 12 000 rpm, se extrajo la fase orgánica que contenía la indometacina y la carbamazepina en tubos eppendorf. Para la cuantificación se inyectaron 60  $\mu$ L de lo extraído al cromatógrafo.

Los datos obtenidos de la relación de alturas (Indometacina/Carbamazepina) se interpolaron en una curva de calibración promedio, construida a partir de tres curvas calibración, preparadas el día del análisis. Con los resultados se construyeron las gráficas de Concentración vs. Tiempo y se determinaron los parámetros farmacocinéticos.



## VII. RESULTADOS

### 1. Validación del Método Analítico para la cuantificación de Indometacina en Plasma de rata

#### Linealidad del Método.

La linealidad del método es la proporcionalidad entre las concentraciones de Indometacina contenida en la matriz biológica (plasma) y la relación de alturas (respuesta medida). Los resultados presentados en la tabla 3 y Figura 18, evidencian que el % de CV para cada nivel de concentración cumple con los criterios de aceptación para este parámetro (NOM- 177- SSA1- 1998 ).

Tabla 3. Muestra la relación de alturas de cada nivel de concentración, el promedio, su desviación y el coeficiente de variación (CV) para cada nivel de concentración.

Concentración (µg/mL)	Relación de alturas	Relación de alturas	Relación de alturas	Relación de alturas	Relación de alturas	Promedio de Alturas	Desvest	% CV
0.1	0.2058	0.1940	0.2058	0.2205	0.2352	0.2123	0.0159	7.4968
0.2	0.3529	0.3676	0.3676	0.4117	0.4264	0.3852	0.0318	8.2746
0.4	0.7058	0.6911	0.6911	0.6617	0.6764	0.6852	0.0167	2.4467
0.6	1.1029	1.1176	1.1323	1.1029	1.1323	1.1176	0.0147	1.3157
0.8	1.455	1.4558	1.441	1.4264	1.4411	1.4441	0.0123	0.8519
1	1.7647	1.7941	1.8088	1.8088	1.8088	1.7970	0.0191	1.0669
1.2	2.2058	2.2205	2.1911	2.2238	2.2352	2.2153	0.0171	0.7726

Tabla 4. Muestra los valores obtenidos y los parámetros establecidos para la linealidad del método

Parámetro	Valor obtenido	Criterio
$r^2$	0.9984	$\geq 0.99$
CV %	Ver tabla 3	$\leq 15\%$ y $\leq 20\%$ en el nivel de concentración más bajo
<b>Ecuación de la recta</b> $y = 1.8117x + 0.0095$ $S_m = 0.4082$		

Grafica de Linealidad del método para Indometacina

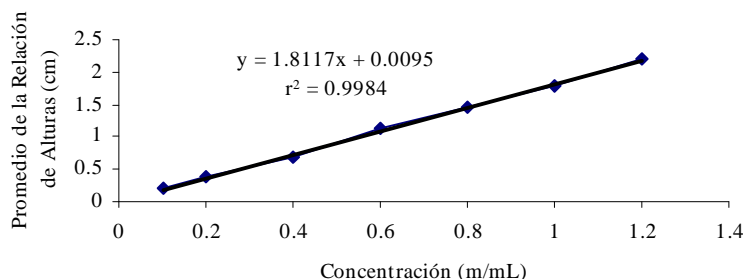


Figura 18. Representación gráfica del promedio de la linealidad del método para la determinación de Indometacina en plasma de rata, en el intervalo de concentración de 0.1 – 1.2 µg/mL.



## Precisión del método

### Reproducibilidad

La precisión del método en términos de reproducibilidad evaluada en tres niveles de concentración (bajo, medio y alto de la curva) y en tres días diferentes bajo las mismas condiciones, demostró un CV menor al 15 % para los tres niveles de concentración estudiados, cumpliendo con el criterio de aceptación establecido en NOM- 177- SSA1-1998, como puede observarse en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de la precisión del método en términos de reproducibilidad para la determinación de Indometacina

Día del análisis	Concentración exp de indometacina 0.1 µg/mL	Concentración exp de indometacina 0.6 µg/mL	Concentración exp de indometacina 1.2 µg/mL
1	0.1167	0.5826	1.2155
	0.1054	0.5826	1.2373
	0.1280	0.5935	1.2103
	0.1133	0.6044	1.2295
	0.1133	0.6044	1.2295
2	0.1129	0.5952	1.2378
	0.1047	0.6140	1.2197
	0.1303	0.5952	1.2385
	0.1047	0.5952	1.2197
	0.1145	0.6045	1.2385
3	0.1032	0.6135	1.2331
	0.1109	0.6049	1.2280
	0.1032	0.6135	1.2355
	0.1046	0.6124	1.2331
	0.1019	0.6135	1.2234
Promedio	0.1112	0.6019	1.2286
Desviación estándar	0.0088	0.0108	0.0090
% CV	7.8803	1.7998	0.7343
<b>Criterio de aceptación %CV ≤ 15 %</b> (NOM-177-SSA1-1998)			

La precisión del método valorada como la repetibilidad del mismo, se determinó por medio del % CV obtenido en tres niveles de concentración (bajo, medio y alto de la curva) analizados por quintuplicado bajo las mismas condiciones experimentales el mismo día. En la tabla 6 se muestran los valores promedio y el coeficiente de variación para cada uno de los niveles. Los resultados expresan que el método es repetible ya que el % de CV obtenido en cada uno de los niveles de concentración está por debajo del criterio establecido (% CV ≤ 15 %, NOM- 177- SSA1-1998 ).



Tabla 6. Repetibilidad del método para la determinación de indometacina en plasma de rata

Día del análisis	Concentración exp de indometacina 0.1 µg/mL	Concentración exp de indometacina 0.6 µg/mL	Concentración exp de indometacina 1.2 µg/mL
1	0.1032	0.6135	1.2331
	0.1109	0.6049	1.2280
	0.1032	0.6135	1.2355
	0.1046	0.6124	1.2331
	0.1019	0.6135	1.2234
<b>Promedio</b>	0.1048	0.6116	1.2306
<b>Desviación estándar</b>	0.0035	0.0038	0.0049
<b>% CV</b>	3.3675	0.6135	0.3955
<b>El criterio de aceptación para el %CV es que sea <math>\leq 15</math> %</b>			

### Exactitud.

La exactitud intra- día y entre días determinada en tres niveles de concentración (bajo, medio y alto) de Indometacina se presenta en la tabla 7 y 8. La exactitud fue determinada como el porcentaje del valor nominal del activo obtenido en cada uno de los niveles de concentración analizados. El criterio de aceptación para esta prueba establece que el valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad deben estar dentro del +/- 15 % del valor nominal (NOM- 177- SSA1-1998).

Tabla 7. Resultados de exactitud intra día del método para la determinación de Indometacina en plasma de rata

Cantidad Teórica (µg/mL)	Cantidad recuperada (µg/mL)	% de valor nominal
0.1	0.1032	103.2423
0.1	0.1109	110.8580
0.1	0.1032	103.2423
0.1	0.1046	104.5862
0.1	0.1019	101.9367
0.6	0.6135	102.2494
0.6	0.6049	100.8169
0.6	0.6135	102.2494
0.6	0.6124	102.0681
0.6	0.6135	102.2494
1.2	1.2331	102.7544
1.2	1.2280	102.3314
1.2	1.2355	102.9570
1.2	1.2331	102.7544
1.2	1.2234	101.9491



En la tabla 8 se presentan los datos de exactitud (exactitud entre días) obtenidos a partir de los resultados de la reproducibilidad del método en la determinación de Indometacina en plasma de rata. De acuerdo al criterio de aceptación establecido, el % de valor nominal se debe encontrar entre 85 - 115 %, para cada uno de los niveles de concentración.

Tabla 8. Resultados de la exactitud de los datos de reproducibilidad de la determinación de Indometacina en plasma de rata.

Día del análisis	Concentración exp de indometacina	% de valor nominal	Concentración exp de indometacina	% de valor nominal	Concentración exp de indometacina	% de valor nominal
	0.1 µg/mL		0.6 µg/mL		1.2 µg/mL	
1	0.1137	113.72	0.5826	97.0928	1.2155	101.2885
	0.1054	105.4315	0.5826	97.0928	1.2373	103.1072
	0.1133	113.3334	0.5935	98.9115	1.2103	100.8555
	0.1133	113.3334	0.6044	100.7302	1.2295	102.4619
	0.1133	113.3334	0.6044	100.7302	1.2295	102.4619
<b>Promedio</b>	0.1118	111.83034	0.5935	98.9115	1.22442	102.035
<b>Desviación estándar</b>	0.0036	3.2029	0.0109	1.8187	0.0111	0.9304
2	0.1129	112.8747	0.5952	99.1971	1.2378	103.1494
	0.1047	104.6807	0.614	102.3336	1.2197	101.6416
	0.1047	104.6807	0.5952	99.1971	1.2385	103.2083
	0.1047	104.6807	0.5952	99.1971	1.2197	101.6416
	0.1145	114.4814	0.6045	100.7528	1.2385	103.2083
<b>Promedio</b>	0.1083	108.2796	0.6008	100.1355	1.2308	102.5698
<b>Desviación estándar</b>	0.0050	4.9607	0.0084	1.4013	0.0102	0.8477
3	0.1032	103.2423	0.6135	102.2494	1.2331	102.7544
	0.1109	110.858	0.6049	100.8169	1.228	102.3314
	0.1032	103.2423	0.6135	102.2494	1.2355	102.957
	0.1046	104.5862	0.6124	102.0681	1.2331	102.7544
	0.1019	101.9367	0.6135	102.2494	1.2234	101.9491
<b>Promedio</b>	0.1048	104.7731	0.6116	101.9266	1.2306	102.5493
<b>Desviación estándar</b>	0.0036	3.5282	0.0038	0.6253	0.0049	0.4056
<b>Criterio de aceptación % R 85 -115 %</b>						

### Estabilidad de la Muestra.

La estabilidad a largo plazo de la muestra se realizó a los 1, 7, 14 y 28 días, las muestras fueron sometidas a congelamiento (- 20°C), los resultados obtenidos se encuentran en la tabla 9 y su representación gráfica en la figura 19. El criterio de aceptación para este parámetro establece que los resultados obtenidos en las condiciones de estabilidad analizadas, deben cumplir los



criterios de exactitud y repetibilidad, es decir %CV igual o menor al 15% y % de valor nominal de 85 a 115% (NOM- 177- SSA1-1998 ).

Tabla 9. Por ciento del valor nominal de indometacina contenidas en plasma de rata resguardadas a -20°C, por 1, 7, 14 y 28 días antes de su análisis.

<b>Día 1</b>	<b>Día 7</b>	<b>Día 14</b>	<b>Día 28</b>
<b>% de Valor nominal</b>	<b>% de Valor nominal</b>	<b>% de Valor nominal</b>	<b>% de Valor nominal</b>
112.545	89.608	107.384	106.067
112.545	89.608	107.384	100.194
112.355	103.97	107.384	107.655
100.735	97.423	102.807	108.708
103.887	97.743	102.807	107.24
104.238	98.052	101.314	107.24
92.827	103.051	95.466	103.54
100.815	107.644	96.213	104.274
99.238	100.112	96.96	103.54

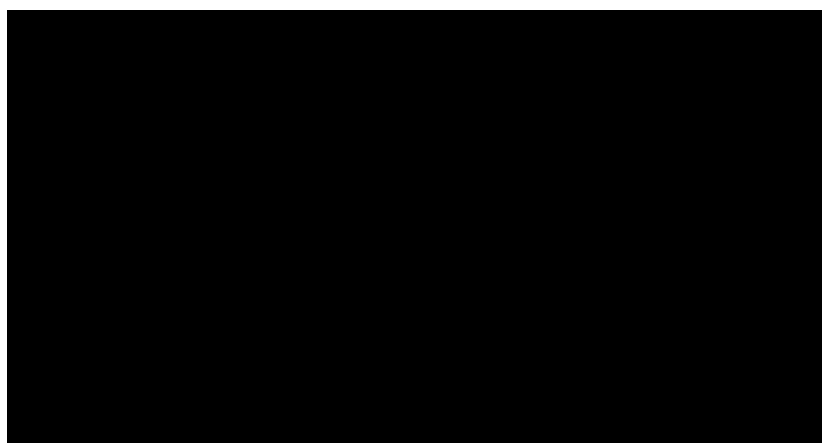


Figura 19. Gráfica Control de Estabilidad de la muestra

### Selectividad

El análisis de seis muestras blanco de la matriz biológica (plasma de rata) obtenidas de diferente origen, no presentaron interferencia alguna por componentes endógenos como se observa en las siguientes figuras. En la figura 20 Se presenta un cromatograma tipo de la muestra blanco (plasma de rata sin fármaco), en la figura 21 se muestra una matriz cargada con indometacina (10 µg/mL) En la figura 22 se muestra el cromatograma de una matriz cargada con carbamazepina (8 µg/mL) y en la figura 23 se muestra el cromatograma de una matriz cargada con la mezcla de Indometacina y Carbamazepina (10 y 8 µg/mL respectivamente).

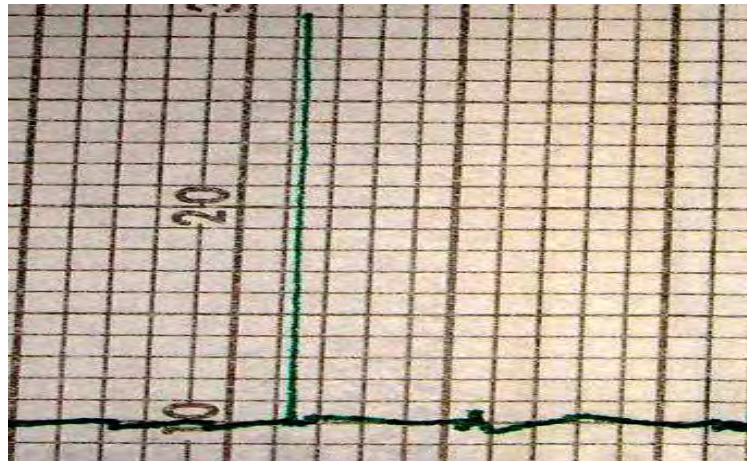


Figura 20. Cromatograma de la muestra blanco (plasma de rata)



Figura 21. Cromatograma de la matriz cargada con indometacina en una concentración de 10 µg/mL

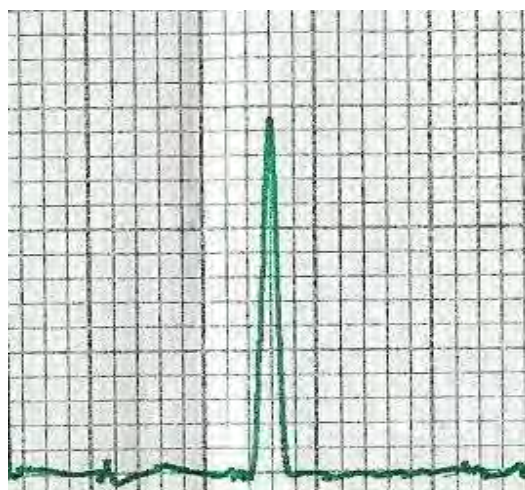


Figura 22. Cromatograma de la matriz cargada con Carbamazepina a una concentración de 8 µg/mL.



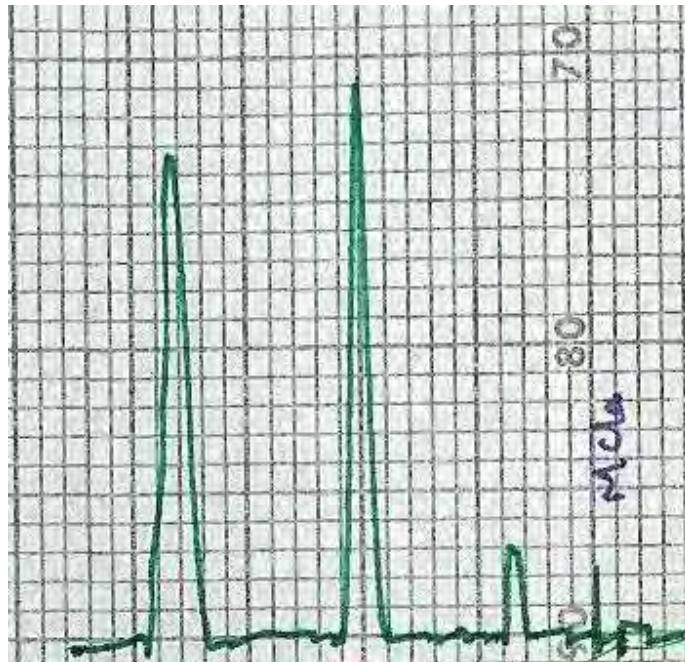


Figura 23. Cromatograma de la mezcla de Indometacina y Estándar Interno en plasma de rata

### Límite de detección.

En este parámetro se determinó que la señal mínima detectable y diferenciable de la señal de ruido generado por el equipo, en el método analítico el límite de detección se encuentra en una concentración de  $0.06 \mu\text{g/mL}$  y esto se puede apreciar en la figura 24, que corresponde por tanto al límite de detección del método.

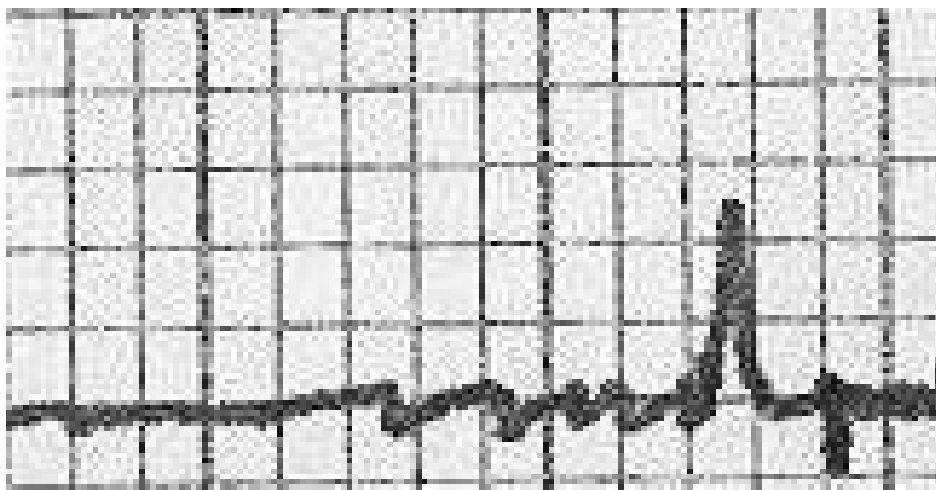


Figura 24. Cromatograma del límite de detección de Indometacina en plasma en una concentración de  $0.06 \mu\text{g/mL}$ .



### Límite de cuantificación.

Los resultados de este parámetro demostraron que el límite de cuantificación en 0.1  $\mu\text{g/mL}$  cumple con los criterios de precisión y exactitud establecidos. (Ver tabla 10) Para ser exacto y preciso debe estar el % del valor nominal en el rango de 80 - 120 % y el %CV debe ser  $\leq 20\%$ , (NOM- 177- SSA1-1998).

Tabla 10. Resultados del límite de cuantificación de la determinación de Indometacina en plasma de rata. (\*extrapolada)

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Relación de alturas (cm)	Concentración exp* ( $\mu\text{g/mL}$ )	% de valor nominal
0.1	0.1698	0.1019	101.9120
0.1	0.1579	0.0954	95.4033
0.1	0.1481	0.0901	90.0799
0.1	0.1379	0.0845	84.4994
0.1	0.1724	0.1033	103.3334
<b>Promedio</b>	0.1572	0.0950	95.0456
<b>Desvest</b>	0.0145	0.0079	7.9348
<b>%CV</b>	9.2392	8.3484	8.3484

### Tolerancia.

Para determinar la tolerancia del método se cambiaron condiciones críticas del método como la longitud de onda ( $\lambda$ ), el pH, la velocidad de flujo y proporción de la fase móvil. En la tabla 11 se muestran los resultados del cambio de longitud de onda, para cada cambio se determinó su pendiente, la desviación estándar y el % CV y la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición ( $|di|$ ) a partir de la media aritmética inicial de cada cambio de condición ( $\bar{y}$ ), como se observa en la Tabla 12, el método no es tolerante en cuanto al cambio de longitud de onda ya que excede el criterio de aceptación, que establece que el valor de  $|di|$  no debe exceder el 2% (Guía de Validación del Colegio de QFB 2002).

Tabla 11. Cambio de longitud de onda ( $\lambda$ ) del método analítico

Determinación	Condición: Cambio de $\lambda$		
	255 nm ( $Y_1$ )	260 nm ( $Y_0$ )	265 nm ( $Y_2$ )
	Pendiente	Pendiente	Pendiente
1	1.785952341	1.80351282	1.462010605
2	1.765099835	1.805759363	1.494649181
3	1.762388706	1.816329176	1.480169972
Promedio	1.7711	1.8085	1.4789
Desv. Estándar	0.01289	0.0068	0.0164
% CV	0.7279	0.3784	1.1058



Tabla 12. Valores de la diferencia absoluta de la media Aritmética de cada condición (di), a partir de la media aritmética de la condición normal ( $\bar{y}$ )

$di1 = \bar{y}1 - \bar{y}0$	3.5796
$di2 = \bar{y}2 - \bar{y}0$	3.2874

En la tabla 13, se reportan los datos obtenidos para el cambio de velocidad de flujo, en esta tabla se reporta el cambio de la pendiente, la desviación estándar y el coeficiente de variación en porcentaje y en la tabla 14 se reporta la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición (di), a partir de la media aritmética de la condición normal ( $\bar{y}$ ). El método no es tolerante para el cambio de la velocidad de flujo ya que el valor de  $|di|$  excede el 2% (Guía de Validación del Colegio de QFB, 2002). En el caso de  $|di|$ , el resultado es cero pero por que no hubo comparación ya que no se obtuvieron señales en los cromatogramas en el cambio de velocidad de flujo de 0.9 mL/ min.

Tabla 13. Valores de cambio de velocidad de flujo del método analítico para la determinación de Indometacina

Determinación	Condición: Cambio de vel. Flujo		
	0.9 mL/min	1.0mL/min	1.1mL/min
	Pendiente	Pendiente	Pendiente
1	***	1.8397	1.8424
2		1.8534	1.8612
3		1.8799	1.8411
Promedio		1.8576	1.8482
Desv. Estándar		0.0204	0.0112
% CV		1.0994	0.6076

Tabla 14. Valores de la diferencia absoluta de la media Aritmética de cada condición (di), a partir de la media aritmética de la condición normal ( $\bar{y}$ ), para el cambio de la velocidad de flujo del método analítico

$di1 = \bar{y}1 - \bar{y}0$	0
$di2 = \bar{y}2 - \bar{y}0$	3.7058

No se reportan cromatogramas para el cambio de pH, debido a que en el análisis del principio activo empleando fase móvil pH 5 y fase móvil pH 7, no generó señal alguna, indicando que el método no tolera cambios de pH.

Ligeros cambios en la proporción en la fase móvil 50:50 y 45:55 v/v de MeOH: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.025 M pH6, mostraron una pérdida de resolución y aumento del tiempo de retención respectivamente, al presentarse un traslape de señales del estándar interno y la indometacina al usar la fase móvil en proporción 50:50, en tanto que la proporción de fase móvil 45:55 aumenta el tiempo de retención en casi el doble de tiempo (7.5 min vs. 15min), con respecto a la proporción indicada en el método.



## 2. Farmacocinética de Indometacina

Todos los animales sometidos al estudio, exhibieron una actividad locomotora normal antes de la iniciación de los tratamientos (laminectomía o lesión medular). 24 horas posteriores al procedimiento quirúrgico, las ratas lesionadas mostraron paraplejía completa, en tanto los animales con el grupo control (sólo con laminectomía) presentaron una actividad locomotora normal una vez que se recuperaron de la anestesia

En la figura 25, se presenta el curso temporal promedio de las concentraciones plasmáticas de indometacina en plasma de rata contra el tiempo, posterior a una administración oral de indometacina (3.1 mg/kg) en el grupo sin lesión traumática de médula espinal (grupo control o sólo sometidas a laminectomía). Observándose claramente las fases de absorción y disposición del fármaco.

### Farmacocinética de Indometacina de Ratas control

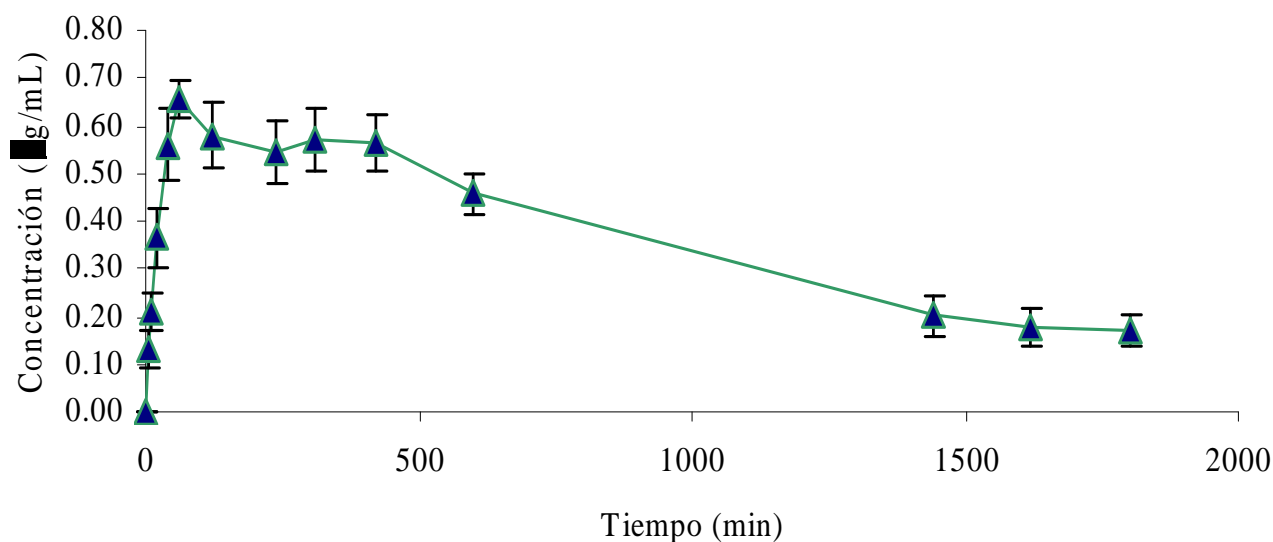


Figura 25. Gráfica del comportamiento plasmático de Indometacina en rata Wistar del grupo control.

Tabla 15. Valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el grupo control.

CONTROL	$C_{m\acute{a}x}$ (µg/mL)	$T_{m\acute{a}x}$ (min)	$ABC_0^t$ (µg/mL)*min	$ABC_0^\infty$ (µg/mL)*min	$t_{1/2}$ (min)
1	0.7531	120	684.5040	842.938	887.6148
2	0.5496	40	486.8399	587.348	591.8222
3	0.8205	40	690.8565	885.993	847.1429
4	0.5958	60	526.1424	640.909	702.9591
5	0.7929	60	910.5991	1332.994	1054.2848



En la tabla 15 y 16 se muestran los resultados de los parámetros farmacocinéticos de indometacina obtenidos a partir de las muestras tomadas a diferentes tiempos de las ratas control y de las ratas que se sometieron a una LTME. En esta tabla se presentan los valores de  $T_{m\acute{a}x}$  (tiempo máximo), el  $C_{m\acute{a}x}$  (Concentración plasmática máxima del fármaco),  $ABC_0^{\infty}$  (área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada a infinito),  $ABC_0^t$  (área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración hasta el tiempo t) y por ultimo la  $t_{1/2}$  (tiempo de vida media). En la tabla 16 se exponen los valores del promedio y el error estándar de cada uno de los grupos (Control y LTME).

En la figura 26 se presenta el curso temporal plasmático promedio de la indometacina obtenida posterior a una administración oral de 3.1 mg /kg del fármaco, en el grupo con una lesión traumática de médula espinal a nivel torácico 8. Se observa que las concentraciones circulantes de indometacina después de la administración del fármaco tienen un comportamiento similar a lo observado en el grupo control, es decir las fases de absorción y eliminación del fármaco se presentan claramente.

### Farmacocinética de Indometacina en un modelo con LTME

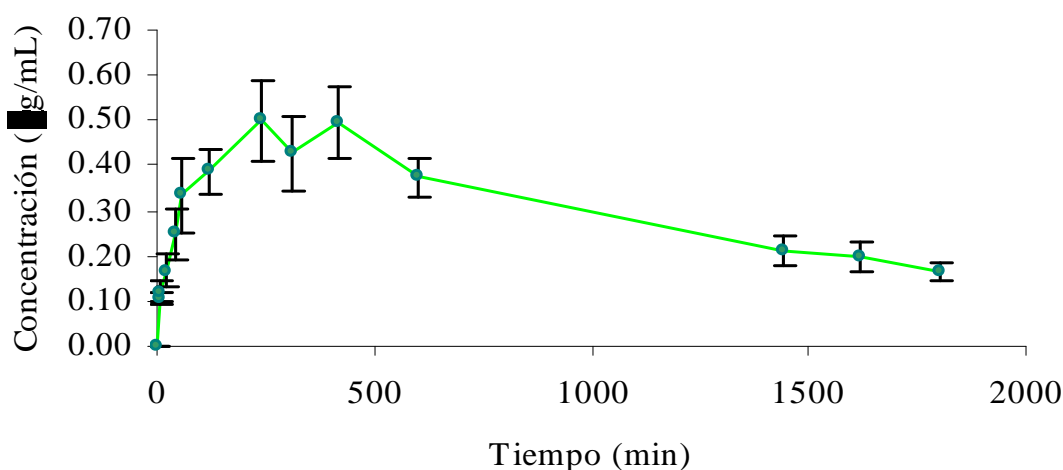


Figura 26. Gráfica del comportamiento plasmático de Indometacina en rata Wistar del grupo con LTME

Tabla 16. Valores de los parámetros farmacocinéticos de Indometacina para el grupo con LTME

LTME	$C_{max}$ (µg/mL)	$T_{max}$ (min)	$ABC_0^t$ (µg/mL)*min	$ABC_0^{\infty}$ (µg/mL)*min	$t_{1/2}$ (min)
1	0.260	120	443.975	511.175	500.924
2	0.461	240	519.378	777.112	1036.787
3	0.561	120	558.181	971.900	1525.247
4	0.418	120	660.026	887.284	915.375
5	0.799	240	633.041	891.910	863.866



Tabla 17. Muestra el promedio  $\pm$  error estándar (n=5) de los parámetros farmacocinéticos determinados en el grupo control y el grupo con LTME.

Parámetros Farmacocinéticos	C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	T <sub>max</sub> (min)*	ABC <sub>0</sub> <sup>t</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )*min	ABC <sub>0</sub> <sup><math>\infty</math></sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )*min	t <sub>1/2</sub> (min)
Control	0.702 $\pm$ 0.055	64.000 $\pm$ 14.697	659.788 $\pm$ 74.918	858.036 $\pm$ 131.721	816.765 $\pm$ 79.344
LTME	0.500 $\pm$ 0.089	168.000 $\pm$ 29.394 <sup>#</sup>	562.920 $\pm$ 38.995	807.876 $\pm$ 80.389	968.440 $\pm$ 165.383

<sup>#</sup>P < 0.05 con respecto al control

En la figura 27, se presenta la comparación de los cursos temporales promedio de la indometacina, posterior a la administración oral de la misma, en el grupo sin lesión medular (control) y el grupo con lesión medular (LTME). Aparentemente existe diferencia entre la disposición del fármaco con y sin lesión medular, sin embargo no se alcanza evidenciar diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos evaluados, excepto para el t<sub>max</sub> (tabla 17), cuando es comparado grupo control contra grupo con lesión.

### Cinética de Indometacina en Ratas Control y LTME

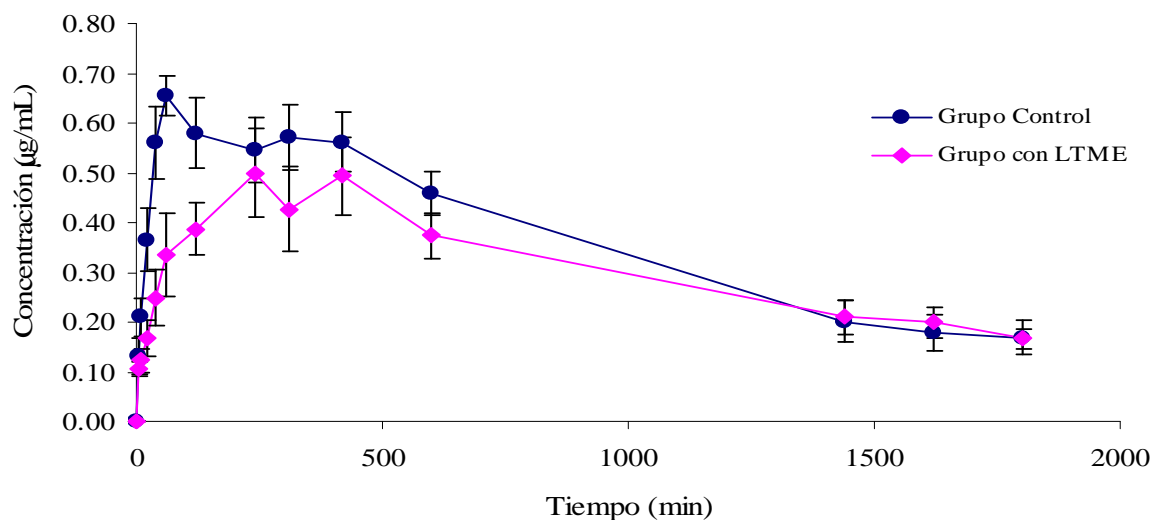


Figura 27. Perfil plasmático de Indometacina en el grupo control y en el grupo con LTME, tras la administración oral de 3.1 mg/kg de peso.



---

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### A. Validación del método analítico para la determinación de Indometacina

Para el análisis de indometacina en muestras de plasma de rata, fue propuesto y validado un método por CLAR fase reversa, usando una modificación del método reportado por Chávez-Piña AE., et al. (2007). El método propuesto presenta principalmente la ventaja de emplear un volumen pequeño de muestra para el análisis (200  $\mu$ L de plasma), el cual es recompensado con la administración intravenosa del mismo volumen de solución salina a los animales de experimentación, lo que facilita obtener cursos temporales de la cinética del fármaco en un mismo animal y no correr el riesgo de provocar cambios hemodinámicos que pudieran afectar la determinación de los parámetros farmacocinéticos, a determinar durante el estudio.

En la figura 20, se presenta el cromatograma obtenido del análisis de una muestra de plasma libre de indometacina (blanco), otra con la inclusión de de la indometacina y el estándar interno (Carbamezepina) y una más obtenida después de la administración de la indometacina, los tiempos de retención para la indometacina (indo) 4 - 5 min y carbamazepina (2-3 min) indican una resolución adecuada (mayor a 1.5, Guía de Validación del Colegio de QFB 2002) y como se aprecia en los cromatogramas es mínima la presencia de sustancias endógenas que interfieren con las señales de la indometacina y/o carbamazepina, considerándose selectivo el método para cuantificar indometacina en plasma de rata.

Con el fin de evaluar la linealidad del método, se llevaron a cabo curvas de calibración para la indometacina, obteniéndose curvas de calibración con un comportamiento del tipo  $y = mx + b$ , para relacionar las concentraciones de indometacina presentes en el plasma de rata con la respuesta del sistema (relación de alturas del pico de Indometacina y el estándar interno), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) entre la cantidad adicionada de la indometacina con la relación de alturas de las señales de interés fue mayor a 0.98, cumpliendo con el criterio de aceptación junto con los otros parámetros (NOM- 177- SSA1-1998), como se observa en la tabla 4.

El grado de concordancia de los resultados experimentales obtenidos bajo las mismas condiciones de análisis en los tres niveles de concentración, propuestos: bajo, medio y alto 0.1, 0.6 y 1.2  $\mu$ g/mL respectivamente, reflejan la precisión del método en términos de repetibilidad, al obtener coeficientes de variación menores al 15% en las concentraciones evaluadas (tabla 6), donde los errores sistemáticos que pudieron presentarse en el desarrollo del método analítico fueron controlados.

Del mismo modo, la determinación de Indometacina en plasma de rata es preciso en términos de reproducibilidad, al evidenciar que en los tres niveles de concentración (bajo, medio y alto) estudiados en tres días diferentes bajo las mismas condiciones, presentaron un %CV que se encuentra por debajo de los criterios de aceptación establecidos para el método analítico (ver tabla 5, NOM- 177- SSA1-1998). Lo que representa que el método analítico es reproducible bajo las mismas condiciones de análisis en días diferentes.



---

La exactitud del método evaluada a partir de los valores promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad (tabla 7 y 8), no reflejó un valor mayor al  $\pm 15\%$  del valor nominal de concentración (NOM- 177- SSA1-1998), para cada nivel de concentración, indicando que los valores determinados experimentalmente están próximos al valor de referencia en cada nivel de concentración, por lo que el método para cuantificar indometacina se considera exacto y preciso bajo las condiciones de análisis realizadas.

Para asegurar la integridad de la sustancia de la indometacina desde la toma de la muestra hasta su análisis final, después de almacenarse durante un tiempo determinado, se realizó la estabilidad de la muestra. Las muestras de plasma adicionadas con tres concentraciones diferentes de indometacina, conservadas por un lapso de hasta 28 días y posteriormente procesadas para el análisis como lo indica el método, fueron estables a  $-20^{\circ}\text{C}$  por un período de 28 días.

La concentración fijada como límite de cuantificación ( $0.1 \mu\text{g/mL}$ ) de indometacina, cumple con el criterio de aceptación de exactitud y precisión del método (NOM- 177- SSA1-1998), en tanto la cantidad mínima detectable en plasma de rata a través de diluciones consecutivas por debajo del límite de concentración fue de  $0.06 \mu\text{g/mL}$ .

Al evaluarse la tolerancia del método, esto es, la capacidad del resultado de no sufrir alteraciones por pequeñas modificaciones en los parámetros de análisis (NOM- 177- SSA1-1998), se determinó que cambios de longitud de onda en el detector, proporción de componentes de la fase móvil y cambios en el pH de la misma, interfieren en el análisis cuantitativo de la indometacina al no mantenerse dentro de los parámetros de aceptación (Tabla 11, 12, 13 y 14. Guía de Validación del Colegio de QFB 2002). El cambio de longitud de onda (255 y 265 nm) en el método resultó un cambio de la pendiente en la curva de calibración (Tabla 11) que indica cambio de sensibilidad del método en función a la relación de la respuesta del compuesto de interés y el estándar interno, explicada por el hecho que el máximo de absorbancia de indometacina es de 260 nm en metanol, que significa que en esta región los electrones tienen un máximo grado de excitabilidad, por lo que emite una mayor señal con respecto a la longitud de onda de 255 y 265 nm estudiadas para la tolerancia.

En el cambio de pH en la fase móvil, no se reporta cromatograma alguno, debido a que no se obtuvo señal alguna en el registrador, esto se puede explicar por que un pH de 5 y 7 no favorecen al estado no disociado de la indometacina, ya que ésta se disocia con la fase móvil, lo que provoca que la sustancia de interés eluya rápidamente con la fase móvil y el detector no registre alguna señal, este fenómeno de disociación también se está presentando en el cambio de la proporción de fase móvil, cuando se tiene mayor proporción de fosfato monobásico de potasio (45:55 V/V) el metabolito se disocia con la fase móvil pero en menor proporción que en el caso del cambio de pH, lo que provoca que las señales registradas en el cromatograma (picos) se traslapen sin dar tiempo de que lleguen a generar la resolución deseada, caso contrario a lo que sucedió cuando se cambió la proporción de fase móvil 50 : 50 V/V, donde el tiempo de retención aumentó de 7 min a 15 minutos aproximadamente, explicado por la afinidad que existe entre fase móvil y la columna, como indometacina es arrastrada por el metanol, este





---

disolvente es polar y la columna apolar lo que hace que se retrase su salida. La velocidad de flujo tampoco favorece el análisis adecuado de la indometacina, ya que una disminución ligera en la velocidad de flujo (0.9 mL/min) en el método provocó una gran retención de los componentes en la fase estacionaria obteniendo respuesta en el registrador posterior a 15 minutos sin resolución alguna, con un ligero incremento en la velocidad de flujo (de 0.1 mL/min), se obtiene respuestas y resolución similares a las obtenidas en condiciones normales (1.0 ml/min), no obstante el parámetro de evolución di, es mucho mayor al criterio de aceptación para este parámetro (Tabla 13 y 14, Guía de Validación del Colegio de QFB 2002).

### **B. Farmacocinética de la Indometacina**

Para el grupo control (grupo con laminectomía) la concentración máxima encontrada fue de  $0.702 \pm 0.055 \mu\text{g/ml}$  y alcanzada a los  $64.00 \pm 14.697 \text{ min}$  ( $p < 0.05$ ).

Las concentraciones plasmáticas máximas de indometacina encontradas en el grupo control exhibieron una alta variación interindividual, propia del hecho de que la indometacina tras una administración oral sufre un proceso de absorción complejo, dado que existen múltiples sitios para su absorción en el tracto gastrointestinal y presenta un ciclo enterohepático (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005). La absorción de la indometacina ocurre tanto a nivel gástrico como en nivel intestinal. En el estómago, donde el pH del medio es bajo se facilita su absorción por difusión pasiva, y además porque una fracción de la dosis de indometacina esta presente en su forma no ionizada, por considerar a la Indometacina como ácido débil ( $pK_a = 4.5$ ) (Gibaldi M. 1991). En el intestino delgado, donde los valores de pH son mayores, la indometacina se encuentra principalmente presente en su forma ionizada, sin embargo el proceso de absorción también ocurre, debido a la gran superficie de la pared intestinal (Gibaldi M. 1991). La indometacina se metaboliza formando metabolitos inactivos en su mayoría y metabolitos conjugados al sufrir el fármaco el ciclo enterohepático (Kalant H. y Roschlau W. H. 2002).

Varios reportes han expuesto como una LTME, produce cambios sobre la biodisponibilidad de fármacos administrados de forma oral, debido a efectos sobre el tracto gastrointestinal, tales como el decremento en la motilidad, vaciamiento gástrico y secreción gástrica (Leite C, Aquino et al, 2001). Como resultado de estas alteraciones, se propuso estudiar la probable alteración de la absorción de la indometacina posterior a su administración oral en presencia de una LTME, ante la nula información respecto a este hecho, no obstante el uso clínico de este fármaco en pacientes con lesión medular (Banovac K, Williams JM et al. 2001).

Los reportes donde una LTME experimental en estado agudo a nivel T8 produce la reducción significativa de la  $C_{\text{max}}$  y ABC de ácido salicílico o paracetamol posterior a la administración oral de la aspirina o paracetamol respectivamente, que sugirieron que la LTME puede afectar la velocidad o magnitud de absorción de los fármacos (García – López P, Pérez-Urizar et al. 1995), parecen diferir con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde a diferencia a los mencionado anteriormente, la LTME no influyo en la disminución de la  $C_{\text{max}}$  y ABC de la indometacina.



---

Los resultados del presente estudio mostraron que la administración oral de una dosis de 3.1 mg/kg de peso de indometacina en ratas con lesión traumática de medula espinal, produjo un significativo prolongamiento del tiempo en el que se alcanza la concentración máxima absorbida ( $t_{max}$ ), por otro lado se observó una reducción de la concentración máxima de absorción alcanzada ( $C_{max}$ ) evidenciándose de forma gráfica (Figura 27) pero sin alcanzar diferencia estadística significativa, de la misma forma para la cantidad total de fármaco en torrente sanguíneo (ABC) no se alcanzó diferencia estadísticamente significativa, cuando todos éstos parámetros son comparados con el grupo sin lesión medular.

La LTME experimental a nivel T8 en este estudio, evidencio un modesto efecto sobre la biodisponibilidad de la indometacina, al obtener que los valores de  $ABC_t^0$  y  $ABC_\infty^0$  indicadores de la magnitud de la absorción del fármaco (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005) fueron menores, aunque no significativamente reducidos, cuando éstos se comparan contra los obtenidos en el grupo de sin lesión (tabla 17). El prolongamiento significativo en el  $t_{max}$  y la tendencia a la reducción de  $C_{max}$  observado (Figura 27, tabla 17), pudieran estar sugiriendo que la LTME experimental provoca una disminución en la velocidad de absorción de la indometacina, no obstante esta sugerencia debe tomarse con cautela debido al hecho de que si bien se demuestra una diferencia estadísticamente significativa en el  $t_{max}$  cuando se comparan los grupos con lesión y sin lesión, el  $t_{max}$  no es considerado un indicador adecuado para la biodisponibilidad de fármacos (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005).

Estudios previos han reportado que el vaciamiento gástrico esta impedido por la LTME (Cruz-Antonio., et al., 2006), probablemente debido a la estimulación de la liberación de oxido nítrico como resultado de la inhibición de la motilidad gastrointestinal. Esto significa que, probablemente, bajo estas condiciones, fármacos pocos solubles en agua tal como la indometacina, tome más tiempo para ser absorbido en el tracto gastrointestinal (explicado esto por el aumento significativo del  $t_{max}$  en el grupo con LTME), de forma similar a lo reportado para carbamazepina, un fármaco ácido débil e igualmente insoluble en agua como la indometacina (Clarke G. , y Bloomsbury 1974). Por otro lado, también se ha reportado que la LTME provoca una constricción de varios tejidos, incluyendo la pared gastrointestinal, (Leite C, Aquino., et al, 2001), lo que puede modificar la velocidad de difusión de los fármacos a través de las membranas capilares de la pared gastrointestinal, modificando por lo tanto su absorción, ya que está en función del gradiente de concentración a través de la membrana (lumen GI- C Sangre), lo anterior implica que una LMTE puede incrementar el  $t_{max}$  y disminuir la  $C_{max}$  de un fármaco posterior a una administración oral, planteamientos que no contradicen lo reportado para algunos fármacos analgésicos no esteroideos como, aspirina, acetaminofén, diclofenaco, acemetacina (Chavez Piña ., et al., 2007).

Para nuestro estudio el no encontrar un decremento significativo en la  $C_{max}$  de indometacina en presencia de una LTME, no indica que no se estén llevando a cabo todos los escenarios descritos anteriormente para alterar la velocidad de absorción del fármaco, por el contrario los resultados obtenidos sugieren que si bien es cierto la alteración en motilidad, vaciamiento gástrico y alteración en flujo sanguíneo gastrointestinal, presentes posterior a una LTME (Guizar- Sahagún et al., 1998), éstos no están impactando considerablemente en el valor de la



---

$C_{max}$  de la indometacina obtenida, debido probablemente a la diferencia en el mecanismo fisiológico de la absorción de la indometacina.

La indometacina, es un fármaco ácido débil susceptible de absorberse en el estómago, implicando que su absorción no depende de vaciamiento gástrico y por tanto su absorción podría estar menos afectada por la LTME. Aunado a lo anterior, para la indometacina se reporta la presencia del ciclo enterohepático (Moreno, P. L. y Leza, J. C. 2005), es decir la indometacina llega a circulación sanguínea, pasa al hígado por el sistema porta, y una fracción de ésta se dirige nuevamente a circulación mientras que otra esta siendo eliminada, bajo éste contexto, se explicaría entonces el por que no se observa el decremento significativo de las concentraciones plasmáticas del fármaco en el grupo con lesión medular, como en el caso de los otros AINES previamente reportados, donde para el caso de acetaminofén, diclofenaco son absorbidos en el duodeno y su absorción en el estómago es casi nula, de forma similar para la aspirina y la acemetacina las cuales si bien es cierto pueden ser absorbidas en parte en el estómago, por ser ácidos débiles, al ser la acemetacina un pro-fármaco de la indometacina ésta se convierte rápidamente a indometacina y su absorción se lleva a cabo mayormente en el duodeno, de forma similar a lo que sucede con la aspirina la cual es convertida rápidamente en salicilatos (Chavez Piña ., *et al.*, 2007).

La reducción de las concentraciones plasmáticas máximas de indometacina en el grupo de animales lesionados no tuvo un significativo efecto sobre el  $ABC_t^0$  y  $ABC_\infty^0$ , probablemente debido a que las concentraciones de indometacina a tiempos mayores a 600 minutos en el grupo control fueron muy similares a las obtenidas en el grupo de animales con LTME (figura 27), por lo que no se presenta diferencia estadística alguna, y por lo tanto los datos obtenidos sugieren que la magnitud de la absorción de Indometacina no fue demostrativamente alterada por una LTME experimental a nivel T8 en la etapa aguada, sugiriendo que LTME a este nivel, no induce alteraciones en la biodisponibilidad de la indometacina dependientes de la velocidad de la absorción y/o eliminación del fármaco.

La poca diferencia en las concentraciones plasmáticas de la indometacina desde los 600 minutos hasta el final del estudio entre el grupo control y el grupo con lesión, resultó en que la vida media de la indometacina, fuera ligeramente incrementada en el grupo de animales con LTME, pero no se alcanzó una diferencia estadística significativa cuando se comparan sus valores con los obtenidos en el grupo control (Tabla 17). Estos resultados están sugiriendo que los mecanismos del deterioro del proceso de eliminación de los fármacos atribuidos a una LTME por alteraciones en el flujo sanguíneo microvascular en varios tejidos y órganos tales como: hígado, riñón, bazo (Guizar- Sahagún *et al.*, 2004), pudieran no estarse presentando de forma importante, para evidenciarse como cambios en la vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) y/o en la magnitud del fármaco absorbido (ABC) de la indometacina, resultado que pudiera no estar contradiciendo a lo previamente reportando. El impacto en la alteración del flujo sanguíneo microvascular sobre los mecanismos de eliminación de los fármacos, parece depender no solamente del nivel e intensidad de la lesión medular si no también del fármaco involucrado en el estudio y la vía de administración (Guizar- Sahagún *et al.*, 2004). Aparentemente en fármacos de media o alta extracción administrados por vía intravenosa en presencia de una LTME en



---

niveles altos (T1) presentan una mayor reducción en su vida media de eliminación, que en fármacos administrados por vía oral (Cruz-Antonio., *et al.*, 2006).

En este estudio la LTME experimental, se llevo a cabo a nivel de la vértebra torácica 8 (T8) 24 horas posterior a la lesión, conociendo que las alteraciones sistémicas y metabólicas de una LTME a nivel T8 pudieran ser menos intensas que las obtenidas en una LTME a niveles altos (T1) y que la LTME no es un proceso estático, es decir, la lesión primaria producida por el trauma mecánico es seguido por una lesión secundaria, la cual incrementa el daño neuronal original, atribuido a la presencia de múltiples sustancias endógenas tóxicas en el área de la lesión, interrupción de la microcirculación, cambios reparativos, entre otros, que incluyen al sistema nervioso central y autónomo (Guizar- Sahagún *et al.*, 2004), alteraciones en el comportamiento farmacocinético de la indometacina administrada por vía oral en presencia de una LTME a nivel más alto y en estado crónico pueden no descartarse.

En resumen, los resultados globales en este estudio muestran que el comportamiento farmacocinético de la indometacina administrada por vía oral no fue significativamente alterado por una LTME. El estudio del efecto de un LTME experimental sobre la farmacocinética de los fármacos es un proceso complejo, que esta dado no por la suma de las alteraciones en la absorción, distribución y eliminación del fármaco en cuestión, si no también esta dependiendo de los mecanismos fisiológicos, ruta de administración, magnitud, localización y tiempo posterior a la LTME, como lo sugieran varios reportes (Guízar - Sahagún *et al.*, 1998; Segal y Brunneman, 1989; Cruz-Antonio *et al.*, 2006).



---

## IX. CONCLUSIONES

- ☑ El método cromatográfico propuesto para la cuantificación de indometacina en micromuestras de plasma de rata, cumple con los criterios de validación en el rango de 0.1 – 1.2  $\mu\text{g/mL}$ , lo cual lo hace confiable para poder ser utilizado en estudios de biodisponibilidad y farmacocinética.
- ☑ La administración oral de 3.1 mg /kg de peso de indometacina a ratas con lesión traumática de médula espinal experimental a nivel torácico 8 en fase aguda, produce un significativo prolongamiento del tiempo al que se alcanza la concentración máxima absorbida de la indometacina, el cual no modifica significativamente el comportamiento farmacocinético en los procesos de absorción y disposición de la Indometacina en el modelo experimental.



---

## X. BIBLIOGRAFIA

- Adams KR, Halliday LD, Sibeon CR, Baber GN, Littler T and Orme LM. A Clinical and Pharmacokinetic Study of Indomethacin in Standard and show release formulations Br. J. Clin. Pharmac. 1982; 14: 286 – 289.
- Arauz C. J. I. Caracterización de la farmacocinética de Diclofenaco en la Lesión Traumática Medular Espinal Experimental. Tesis de Maestría. CINVESTAV, IPN. 2006.
- Banovac K, Williams JM, Patrick LD and Hani YM Prevention of heterotopic ossification after spinal cord injury with Indomethacin. Spinal Cord. 2001; 39: 370 - 374.
- Benet ZL, Kroetz LD y Sheiner LB. Farmacocinética. En Goodman & Gilman (Eds). Las bases Farmacológicas de la Terapéutica 9<sup>a</sup> Ed, Mc. Graw Hill, Interamericana; 1996 .p. 3 - 28.
- Boggio JC, Valtorta SE, Sanchez S and McKellar Q. Chronobiological variations of indomethacin pharmacokinetic parameters in sheep. J. Vet Pharmacol. Therap. 2001; 24: 261 – 265
- Cervantes NAN. Estudio Farmacocinético de la Acemetacina en un modelo de Lesión Traumática de Médula Espinal Aguda en rata a nivel de la Torácica 8. CINVESTAV (IPN) México D.F., 2005.
- Chavez PA, McKnight W, Dickey M, Castañeda HG and Wallace JL. Mechanisms underlying the anti-inflammatory activity and gastric safety of Acemethacin. British Journal of Pharmacology 2007; 152: 930 – 938.
- Clarke GC and Bloomsbury Square WCI E. Isolation and Identification of Drugs, in pharmaceuticals, body fluids and post – mortem 17<sup>th</sup> London: The Pharmaceutical Press; 1974. p. 381 – 402
- Cruz-Antonio L, Flores-Murrieta JF, García-López P, Guizar-Sahagún G and Castañeda-Hernández G. Understanding Drug Disposition Alterations Induced by Acute Spinal Cord Injury: Role of Injury Level and Route of Administration for Agents Submitted to Extensive Liver Metabolism. Journal of Neurotrauma. 2006; 23 (1) : 75- 85
- Das DG, Das KG, Brasko J, Riedl M, Raid P and Rajeswari V. Spinal traumas: some postoperative complications in experimental animals. Brain Research Bulletin. 1989; 22: 33 - 37.



- 
- Das DG. Perspectives in Anatomy and Pathology of Paraplegia in Experimental animals. *Brain Research*. 1989; 22: 7- 32.
  - Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation U.S. 2001; 1 – 20
  - Dong-Mei L., Wan-Liang L., Xue-Qing W., Jian-Cheng W., Hua Z., Rui-Juan Z., Gui-Lin W., Xuan Z., and Quian Z. Pharmacokinetics of Indomethacin, a Metabolite of Acemetacin, Following a single dose and multiple doses Administered as Acemetacin Sustained-Release Tablets in Healthy Male Volunteers. *Journal Health Sciences*. 2005., 3: 308- 316
  - Emori HW, Paulus H, Rodney BG, Champion D and Pearson C. Indomethacin serum concentrations in man. Effects of dosage, food and antacid. *Ann. Rheum. Dis* 1976; 35 : 333-338.
  - Florey Klaus. Analytical Profiles of Drug Substances .Vol. 13. United States of America Academia Press; 1984. p. 213 – 231
  - Fuentes LG, Guízar SG and García LP. Effect of experimental spinal cord injury on salicylate bioavailability after oral aspirin. *Journal of Pharmacology* 1999; 152: 930 – 938.
  - García LP, Pérez UJ, Ibarra A, Guizar SG, Flores MF, Grijalva I. and Castañeda HG. An Experimental Model for the Study of Pharmacokinetic Alterations Induced by Spinal Cord Injury in the Rat. *Pharmaceutical Sciences* 1995; 1: 133 - 135.
  - García MA, Soberan E, Rodríguez R. Métodos Analíticos. Guía de Validación. México. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A. C; 2002. p. 19 – 54
  - Gibaldi Milo. Biopharmaceutic and Clinical Pharmacokinetics. 4<sup>th</sup>. Ed. Philadelphia Lea & Febiger; 1991. p. 6 – 9
  - Guizar SG, Velazco HG, Martinez CA, Castañeda HG, Bravo G, Rojas G and Hong E Systemic Microcirculation after Complete High and Low Thoracic Spinal Cord Section in Rats. *Journal of Neurotrauma* 2004; 2 (21): 1614 – 1623.
  - Guizar SG, Castañeda HG, Garcia LP, Franco BR, Grijalva I. and Madrazo I. Pathophysiological Mechanisms Involved in Systemic and Metabolic Alterations secondary to spinal cord injury. *West. Pharmacol. Soc.* 1998; 41:237 – 240



- 
- Guth L, Zhang Z, and Roberts E. Key Role For pregnenolone in combination Therapy that Promotes Recovery After Spinal Cord Injury. *Neurobiology* 1994; 91 : 12308 -12312
  - Jones RW, Collins AJ, Notarianni JL and Sedman E. The Comparative Pharmacokinetics of Acemethacin in young subjects and elderly patients. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1991; 31: 543 – 545.
  - Kalant H and Roschlau WH. *Principios de Farmacología Médica*. 6<sup>a</sup>. Ed. México Oxford University Press; 2002. p. 418 – 420
  - Kermani R, Ansari M and Karamousian S. The influence of experimental spinal cord injury on Carbamazepine pharmacokinetics. *Arch Iranian Med.* 2006; 9 (3) : 231 – 235
  - Leite C, Aquino F, Lacerda P, Duarte F. Gastric Emptying and Gastrointestinal Transit of liquid throughout the first month after thoracic spinal cord transection in awake rats. *Digestive diseases and Sciences.* 2001; 46: 1604 – 1609.
  - Lesión medular Espinal en DISCAPACINET (en linea) disponible en: <http://www.physiol.utmem.edu/~jjaggar/lectures/dental-pharmacy/NEUROPHYSIOLOGY/and2.pdf>.
  - Mannila A, Kumpulainen E, Lehtonen M, Heikkinen M, Laisalmi M, Salo T, Rautio J, Savolainen J and Kokki H. Plasma and Cerebrospinal Fluid Concentrations of Indomethacin in Children After Intravenous Administration. *J. Clin. Pharmacol.* 2008; 47: 94 – 100.
  - Michael Conn P and Gebbhart G. *Principios de Farmacología*. México El Manual Moderno S. A. de C. V; 1999. p. 3 – 24
  - Moreno PL y Leza JC. Velásquez *Farmacología Básica y Clínica*. 17<sup>a</sup>. Ed. México Medica Panamericana, S. A; 2005. p. 15 – 38
  - Mosby & Doyma. *El cerebro Humano introducción a la anatomía funcional* 3<sup>a</sup> ed. Madrid; 1994. p . 119 – 151.
  - Mycek MJ and Harvey RA. *Farmacología*. 2<sup>a</sup>. Ed. México Mc Graw-Hill Interamericana; 2004. p. 1- 28.
  - Upton RN, Rasmussen M, Grant C, M Martinez A, Cold GE and Ludbrook GL. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Indomethacin: Effects on cerebral blood flow in anaesthetized sheep. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2008; 35: 317 – 323.





- 
- Norma Oficial Mexicana NOM-177-1998, “Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud.
  - Pullar T, Myall, Haigh JR., Lowe JR, Dixon JS and Bird A. The effect allopurinol on the steady-state pharmacokinetics of Indomethacin. *Br. J. Clin. Pharmac* 1988; 25: 755 – 757.
  - Reihani KH, Ansari M, Karamousian S. The Influence of experimental spinal cord injury on Carbamazepine Pharmacokinetics. *Arch Iranian Med.* 2006; 9 (3): 231 – 235.
  - Segal JL, Brunnemman SR y Gordon SK. Decrease theophylline bioavailability and impaired gastric empty in spinal cord injury. *Curr Ther Res.* 1985; 38(6): 831-846.
  - Segal JL, Brunnemman SR, Gordon SK y Eltorai IM. The absolute Bioavailability of oral theophylline in patients with spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1986; 6(1): 26-29.
  - Segal JL, Milne N and Brunnemman SR. Gastric emptying is Impaired in Patients with Spinal Cord Injury. *Am J Gastrol* 1995; 90(3): 466-470.
  - Segal JL, Brunnemman SR, Eltorai IM and Vulpe M. Decreased systemic clearance of lorazepam in human with spinal cord injury. *J Clin Pharmacol.* 1991; 37(7): 651-656.
  - Segal JL, Brunnemman SR, Gordon SK, Ibrahim M and Eltorai IM. Amikacin Pharmacokinetics in Patients with Spinal Cord Injury. *Pharmacotherapy* 1988; 8(2): 79-81.
  - Shah VP, Midha KK, Dighe S, McGilveray Iain, Skelly JP, Yacobi A, Layloff T, Viswanathan CT, Cook CE, McDowall RD, Pittman KA. and Spector Sidney. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies. *Journals of Pharmaceutical Sciences* 1992; 81 (3) : 309 – 312.
  - Vinagre E, Rodriáquez C and San Andrea MI. Pharmacokinetics of Indomethacin in sheep after intravenous and intramuscular administration. *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 1998; 21: 309 – 314.



---

## GLOSARIO

- Lesión traumática de la medula espinal (LTME): Es una afección de la medula espinal, y esta se puede dar a varios niveles, la afección depende del nivel, del grado y del tiempo de exposición. Esta puede ser aguda o crónica.
  - Validación. a la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones de calidad establecidas.
  - Medula espinal. La médula espinal es la región del Sistema Nervioso Central que se halla alojada en el conducto raquídeo encargada de llevar impulsos nerviosos a los nervios raquídeos, comunicando el encéfalo con el cuerpo, mediante dos funciones básicas: la aferente, en la que son llevadas sensaciones sensitivas del tronco, cuello y las cuatro extremidades hacia el cerebro, y la eferente, en la que el cerebro ordena a los órganos efectores realizar determinada acción, llevando estos impulsos hacia el tronco, cuello y extremidades. Entre sus funciones también encontramos el control de movimientos inmediatos y vegetativos, como el acto reflejo, el Sistema Nervioso Simpático y el Parasimpático.
  - Dosis. Es el contenido de principio activo de un medicamento, expresado en cantidad por unidad de toma, por unidad de volumen o de peso, en función de la presentación, que se administrará de una vez.
  - Concentración. Cantidad del fármaco presente en el medicamento expresada como peso/peso, peso/volumen o unidad de dosis/volumen.
  - Biodisponibilidad, a la proporción del fármaco inalterado o su metabolito activo que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que requiere para hacerlo
  - Curva de calibración, al conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se cuantifica el compuesto por analizar.
  - Estabilidad de la muestra, a la propiedad del compuesto por analizar, de conservar sus características, desde el momento del muestreo hasta su análisis.
  - Exactitud, a la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia
  - Linealidad, a la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener una respuesta proporcional a la concentración del compuesto en la muestra
  - Límite de cuantificación, a la concentración más baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo con la precisión y exactitud establecidas en el método.
  - Matriz biológica, al material de origen biológico en el cual se encuentra la sustancia de interés
-



- 
- 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.
  - Repetibilidad, Expresa la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo
  - Productos bioequivalentes, a los equivalentes farmacéuticos en los cuales no se observa diferencia significativa en la velocidad y cantidad absorbida del fármaco, cuando son administrados ya sea en dosis única o dosis múltiple bajo condiciones experimentales similares.
  - Selectividad, a la capacidad de un método analítico para diferenciar y cuantificar el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos que pudieran estar en la muestra.
-



---

## ABREVIATURAS

+ /-	Más, menos
%	Por ciento.
$ABC_{0-\infty}$	Área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada a infinito
$ABC_{0-t}$	Área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración hasta el tiempo t.
$C_{m\acute{a}x}$	Concentración plasmática máxima
$t_{1/2}$	Vida media de eliminación
$t_{m\acute{a}x}$	Tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima desde la administración del medicamento.
.	
.	
.	
.	

---