

0056:
2
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**DESARROLLO FARMACEUTICO Y BIOEQUIVALENCIA
DE TABLETAS DE FENCLOFENAC DE 600 mg.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN FARMACIA (BIOFARMACIA)
P R E S E N T A
SOFIA MARGARITA RODRIGUEZ ALVARADO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	111
LISTA DE TABLAS	v
1. INTRODUCCION.	1
2. CONSIDERACIONES TEORICAS.	
2.1 Tabletas.	4
2.2 Antiinflamatorios.	8
2.3 Monografía de Fenclofenac.	15
3. PARTE EXPERIMENTAL.	
<u>DESARROLLO FARMACEUTICO DE TABLETAS DE FENCLOFENAC DE 600 mg</u>	
3.1 Formulaciones propuestas para tabletas de 600 mg. ...	30
3.2 Criterios utilizados para aceptar una formulación. ...	31
3.3 Estudio de disolución de tabletas de Fenclofenac. ...	32
3.3.1 Procedimiento de disolución.	32
3.3.2 Influencia de la dureza de las tabletas sobre la velocidad de disolución.	34
3.3.3 Influencia del número de tabletas sobre la velo- cidad de disolución.	34
3.3.4 Comparación de la velocidad de disolución de ta- bletas de fenclofenac formulación desarrollada y formulación del producto innovador.	35

3.4 Pruebas de estabilidad acelerada.	36
3.5 Método analítico para la determinación de Fenclofenac en tabletas.	36
3.5.1 Descripción del método analítico.	36
3.5.2 Especificidad del método.	40
3.5.3 Tolerancia del sistema cromatográfico.	41
3.5.4 Linealidad y precisión del sistema cromatográfico.	42
3.5.5 Precisión y exactitud del método analítico.	42
3.5.6 Reproducibilidad del método analítico.	43
3.5.7 Estabilidad de la muestra extraída.	44

BIOEQUIVALENCIA DE TABLETAS DE FENCLOFENAC.

3.6 Método analítico para la determinación de Fenclofenac en plasma.	45
3.6.1 Descripción del método analítico.	45
3.6.2 Especificidad del método.	50
3.6.3 Linealidad del sistema cromatográfico.	51
3.6.4 Precisión del sistema.	51
3.6.5 Exactitud del método.	52
3.6.6 Precisión del método.	53
3.6.7 Número óptimo de extracciones.	55
3.6.8 Estabilidad de fenclofenac en muestras extraídas de plasma y reconstituidas	55

3.6.9	Estabilidad de fenclofenac en muestras extraídas de plasma sin ser reconstituidas.	56
3.6.10	Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma congeladas.	56
3.7	Estudio preliminar de Biodisponibilidad.	57
3.7.1	Selección de voluntarios.	57
3.7.2	Plan de estudio.	58
3.8	Estudio de Bioequivalencia de Fenclofenac en dos formulaciones de tabletas.	59
3.8.1	Control farmacéutico de las tabletas en estudio.	59
3.8.2	Selección de voluntarios.	60
3.8.3	Plan de estudio.	61

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1	Evaluación física y química de los comprimidos obtenidos de las formulaciones desarrolladas y estabilidad de la formulación final.	67
4.2	Estudio de disolución de comprimidos de fenclofenac.	70
4.2.1	Linearidad del método analítico utilizado en la prueba de disolución.	70
4.2.2	Influencia de la dureza de las tabletas sobre la velocidad de disolución.	73
4.2.3	Comparación de la disolución de una y dos - tabletas de fenclofenac de 300 mg.	73
4.2.4	Velocidad de disolución en tabletas de fenclofenac ..	77

	de la formulación desarrollada y la formulación del producto innovador.	77
4.3	Método analítico para fenclofenac en tabletas.	79
4.3.1	Especificidad del método.	79
4.3.2	Tolerancia del sistema cromatográfico.	79
4.3.3	Linealidad y precisión del sistema cromatográfico.	83
4.3.4	Precisión y exactitud del método.	86
4.3.5	Reproducibilidad del método analítico para tabletas de fenclofenac de 600 mg.	86
4.3.6	Estabilidad del fenclofenac en muestras extraídas y almacenadas a 5°C.	87
4.4	Método analítico para fenclofenac en plasma.	91
4.4.1	Especificidad del método.	91
4.4.2	Linealidad del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma.	91
4.4.3	Precisión del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma.	94
4.4.4	Exactitud del método para fenclofenac en plasma.	96
4.4.5	Precisión del método para fenclofenac en plasma.	96
4.4.6	Número óptimo de extracciones para la recuperación de fenclofenac en plasma.	98
4.4.7	Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y reconstituidas.	98

4.4.8	Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas sin reconstituir.	101
4.4.9	Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma congeladas.	101
4.5	Estudio preliminar de biodisponibilidad en voluntarios sanos.	101
4.6	Análisis estadístico modelo independiente de dos formulaciones de fenclofenac en voluntarios sanos. Dosis oral única de 600 mg.	109
4.6.1	Evaluación del área bajo la curva.	116
4.6.2	Evaluación de la concentración plasmática máxima.	117
4.6.3	Evaluación del tiempo a la máxima concentración.	120
4.6.4	Evaluación de las concentraciones plasmáticas a los diferentes tiempos de muestreo.	122
4.6.5	Evaluación de los resultados de las formulaciones en estudio.	122
5.	CONCLUSIONES.	128
6.	BIBLIOGRAFIA.	131
	APENDICES.	136

RESUMEN

DESARROLLO FARMACEUTICO Y BIOEQUIVALENCIA DE TABLETAS DE FENCLOFENAC DE 600 mg.

Fenclofenac es el ácido 2-(2,4-diclorofenoxi)fenilacético, un nuevo fármaco antiinflamatorio, analgésico, no esteroide. El intervalo de dosis es de 0.6 a 1.8 g por día, el régimen de dosificación tiene que ajustarse de acuerdo a las necesidades y respuesta individual del paciente. En este estudio se desarrolló una formulación para tabletas de 600 mg. Fue necesario cambiar los ingredientes inactivos y el procedimiento de manufactura. Se probó la biodisponibilidad relativa contra tabletas de 300 mg del innovador. Doce sujetos normales, sanos de sexo masculino ingirieron una dosis oral simple de fenclofenac de 600 mg en forma de tabletas siguiendo un diseño de cuadrado latino. Se midieron las concentraciones plasmáticas de fenclofenac por 120 horas seguidas a la dosificación, utilizando un método por cromatografía líquida de alta presión. Los parámetros asociados con la velocidad y cantidad de la absorción (C_{pmax} , t_{max} , ABC) no fueron diferentes significativamente ($p > 0.05$) entre las formulaciones de tabletas.

ABSTRACT

PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT AND BIOEQUIVALENCY OF 600 mg FENCLOFENAC TABLETS.

Fenclofenac, is 2-(2,4-dichlorophenoxy)phenylacetic acid, a new, non steroidal, analgesic, antiinflammatory drug. The doses range is 0.6 to 1.8 g daily, and the dosage regimen has to be adjusted according to the individual patient's need and response. In this study one tablet formulation of 600 mg was developed. It was necessary to change the previous inactive-ingredients and manufacturing procedure. Relative bioavailability was tested against the original innovator tablet of 300 mg. Twelve normal, healthy male subjects ingested a single oral dose of 600 mg fenclofenac in tablet in a latin square design. Fenclofenac plasma concentrations were measured for 120 hours following dosage, using a high performance liquid chromatography method. Parameters associated with rate and amount of absorption (i.e. C_{pmax}, t_{max}, AUC) were not significantly (p>0.05) different between different tablet formulation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1. Porcentaje de pacientes mantenidos satisfactoriamente a varios regímenes de dosificación con fenclofenac y porcentaje de pacientes dados de baja por efectos indeseables en cada nivel de dosificación -----	29
2. Curva estándar de fenclofenac en solución reguladora de fosfatos -----	74
3. Gráfica de velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac de 600 mg de la misma formulación, fabricadas a diferentes durezas -----	75
4. Gráfica de velocidad de disolución de diferente número de tabletas de fenclofenac de 300 mg -----	76
5. Gráfica de velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac de 300 mg lote No. 82-NREA-8 y tabletas de fenclofenac de 600 mg lote No. 14045-25 -----	78
6. Cromatogramas de muestras extraídas de comprimidos de fenclofenac y su placebo a temperatura ambiente, 55 y 75°C durante 14 días -----	81
7. Linearidad del sistema para tabletas de fenclofenac de 600 mg -----	84
8. Especificidad del método para fenclofenac en plasma -	92

FIGURA	Página
9. Linealidad del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma -----	93
10. Gráfica de \ln de concentración contra tiempo de 3 voluntarios después de una dosis oral de 600 mg de fenclofenac y promedio de 9 voluntarios después de la administración de la misma dosis -----	106
11. Gráfica de las curvas promedio de concentración plasmática contra tiempo para dos formulaciones de fenclofenac en tabletas, presentada en 10 voluntarios -----	119

LISTA DE TABLAS

TABLA	Página
I. Potencia comparativa del fenclofenac y otros agentes antiinflamatorios no esteroides -----	19
II. Ulceración gástrica en la prueba aguda en ratas ---	21
III. Parámetros farmacocinéticos para fenclofenac en varias especies animales -----	26
IV. Pruebas de control para comprimidos de fenclofenac de 300 y 600 mg -----	62
V. Diseño del estudio de bioequivalencia de 2 formulaciones de fenclofenac en comprimidos de 300 y 600 mg -----	63
VI. Pruebas de control farmacéutico efectuadas a los comprimidos de fenclofenac de 600 mg de las formulaciones desarrolladas utilizando un procedimiento de granulación húmeda -----	68
VII. Pruebas de control farmacéutico efectuadas a los comprimidos de fenclofenac de 600 mg de las formulaciones desarrolladas utilizando un procedimiento de compresión directa -----	69
VIII. Características de cinco lotes de comprimidos de fenclofenac de 600 mg usando la formulación seleccionada como la mejor -----	71

TABLA	Página
IX. Estabilidad acelerada de comprimidos de fenclofenac de 600 mg -----	72
X. Tolerancia del sistema cromatográfico al cambio en la proporción de la fase móvil -----	82
XI. Precisión del sistema cromatográfico para el análisis de tabletas de fenclofenac de 600mg -----	83
XII. Resultados experimentales de los % recuperados de fenclofenac en la determinación de precisión y exactitud del método analítico para tabletas de fenclofenac de 600 mg -----	85
XIII. Análisis de varianza para demostrar la precisión y exactitud del método analítico para fenclofenac en tabletas de 600 mg -----	88
XIV. Reproducibilidad del método analítico para fenclofenac en tabletas de 600 mg lote 12934-146 -----	89
XV. Estabilidad de fenclofenac en muestras de tabletas de 600 mg, extraídas y almacenadas en viales a 5°C -----	90
XVI. Precisión del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma -----	95
XVII. Exactitud del método analítico de fenclofenac en muestras plasmáticas -----	97

TABLA	Página
XVIII. Precisión del método para fenclofenac en muestras plasmáticas -----	99
XIX. Número óptimo de extracciones para la recuperación de fenclofenac en plasma -----	100
XX. Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y reconstituidas, almacenadas en viales a 5°C -----	102
XXI. Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y almacenadas en tubos a -14°C, sin reconstituir -----	103
XXII. Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma almacenadas a -14°C -----	104
XXIII. Concentraciones plasmáticas de fenclofenac en 3 voluntarios después de la administración oral de una tableta de 600 mg, lote No. 14045-25 -----	107
XXIV. Parámetros farmacocinéticos obtenidos para fenclofenac después de una dosis oral única de 600 mg, de la formulación desarrollada (lote No. 14045-25) en tres voluntarios -----	108
XXV. Características de los comprimidos de fenclofenac de 600 mg desarrollados, lote No. 14045 - 25: comparados con las tabletas de 300 mg, formulación del producto innovador, lote No. 82-NREA-8 -----	110

TABLA	Página
XXVI. Concentraciones plasmáticas obtenidas después de la administración de 2 tabletas de fenclofenac, formulación del producto innovador, Lote No. 82-NREA-8, a 10 voluntarios sanos -----	111
XXVII. Concentraciones plasmáticas obtenidas después de la administración oral de una tableta de fenclofenac, de la formulación desarrollada de 600 mg, Lote 14045-25 a 10 voluntarios sanos -----	112
XXVIII. Matriz de datos utilizada para el análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos -----	114
XXIX. Area bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo de 2 formulaciones de fenclofenac en tabletas, calculada para 10 voluntarios utilizando dos métodos diferentes -----	115
XXX. Análisis de varianza para el ABC de la concentración plasmática de fenclofenac contra tiempo en 10 voluntarios -----	118
XXXI. Concentración plasmática máxima de 10 voluntarios para fenclofenac en dos formulaciones -----	121
XXXII. Análisis de varianza para C_{pmax} entre las dos formulaciones de fenclofenac en 10 voluntarios -----	123
XXXIII. Tiempo a las máximas concentraciones plasmáticas de fenclofenac de dos formulaciones en 10 voluntarios -----	124

TABLA	Página
XXXIV. Análisis de varianza para t_{max} entre las formulaciones de fenclofenac en 10 voluntarios -----	125
XXXV. Resumen del análisis de varianza y relación de .. concentraciones de las formulaciones en estudio --	126
XXXVI. Relación de parámetros para las formulaciones de fenclofenac en estudio -----	127

1. INTRODUCCION .

La importancia del uso de fármacos antiinflamatorios en la medicina actual es indiscutible, debido a que en más del 80% de las enfermedades se presenta un proceso inflamatorio.

Son ejemplos de estos fármacos, los corticosteroides y los antiinflamatorios no esteroideos.

Debido a la toxicidad innegable de los corticosteroides, los antiinflamatorios no esteroideos, son en la actualidad los compuestos de mayor prescripción y la investigación farmacológica realizada durante los últimos años ha proporcionado un número cada vez mayor de estas sustancias, unas de las principales son : la aspirina, un fármaco ampliamente utilizado, --- ibuprofén, fenilbutazona, indometacina, naproxén, ketoprofén, - diclofenac, fenclofenac, etc.

Este grupo de fármacos, es una serie de compuestos heterogéneos, frecuentemente, no relacionados químicamente -- (aunque la mayoría son ácidos orgánicos), los cuales sin embargo comparten ciertas acciones terapéuticas y efectos colaterales (intolerancia gástrica). Sus dosis varían de acuerdo con el padecimiento y el grado de enfermedad, pudiendo variar de - 0.3 - 1 y de 4-8 g/día para la aspirina, 0.6-2.4 g/día para - fenilbutazona, 0.05- 0.2 g/día para indometacina, 0.1-0.4 g/día para ketoprofén y de 0.6-1.8 g/día para fenclofenac (11,16).

Cuando la dosis efectiva de un fármaco varía de -- acuerdo con el padecimiento y la variabilidad individual, es de gran utilidad contar con el medicamento conteniendo diferentes cantidades de fármaco, lo cual se logra, muchas veces, modificando las proporciones de los ingredientes en la formulación.

En ocasiones no es posible utilizar la misma fórmula ción y es necesario cambiar los ingredientes inactivos y en --

ocasiones el método de manufactura, lo cual puede afectar significativamente la liberación del fármaco y así modificar la absorción, ya sea en la cantidad absorbida o en la velocidad a la que se lleva a cabo, es decir en la biodisponibilidad. Es necesario entonces demostrar que la suma de los cambios efectuados en la formulación o en la manufactura, no van a repercutir de una manera negativa en la eficacia del fármaco en la nueva formulación, para lo cual, se deberán efectuar estudios clínicos o pruebas de biodisponibilidad. Los estudios clínicos muchas veces consumen gran cantidad de tiempo y/o resulta difícil cuantificar la respuesta farmacológica para poder determinar la eficacia, mientras que en los estudios de biodisponibilidad en los cuales se cuantifica el fármaco y/o sus metabolitos en algún fluido biológico, resultan ser más prácticos para determinar su efectividad y consumen en general menos tiempo.

El fenclofenac, es un nuevo antiinflamatorio de tipo no esteroide de eficacia clínica comprobada, el cual frente a otros fármacos antiinflamatorios tiene la ventaja de presentar mayor tolerancia gástrica y existe bajo la forma de tabletas de 300 mg. Dada la variabilidad de la dosis del mismo, se ha hecho necesario contar con tabletas de mayor contenido de fármaco, las que reducirían el número de tabletas por toma. Esta presentación resultaría de más fácil manejo tanto para el médico como para el paciente, además el fabricar tabletas de 600 mg resultaría más rentable en su proceso de fabricación y almacenaje.

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron :

1. Desarrollar una formulación para tabletas de fenclofenac de 600 mg, con características físicas, químicas y estabilidad aceptables.
2. Determinar la biodisponibilidad del fenclofenac en la formulación desarrollada para tabletas de 600 mg, en relación a la formulación del producto innovador de Reckitt y Colman, en tabletas de 300 mg.

2. CONSIDERACIONES TEORICAS .

2.1 TABLETAS

Las tabletas son formas de dosificación sólidas, preparadas por compactación de una formulación que contiene el fármaco y ciertos excipientes seleccionados para ayudar al proceso y mejorar las propiedades del producto. Se pueden obtener de diferentes formas y tamaños . Ofrecen ventajas sobre otras formas de dosificación oral como : precisión en la dosificación, durabilidad de las características físicas para prolongar los períodos de almacenamiento, estabilidad física y química del fármaco , conveniencia en la administración, etc. - (26).

El diseño de una tableta implica un compromiso para el formulador, puesto que debe tener las propiedades deseadas a través de la selección correcta y balance de excipientes para cada ingrediente activo o combinación de ingredientes en una formulación de tabletas para lograr la respuesta terapéutica deseada. Obteniendo un producto seguro y efectivo. Esto no significa que su meta sea fácil de lograr.

La formulación y diseño se puede describir como el proceso mediante el cual, el formulador asegura que la cantidad del fármaco en la forma correcta, sea liberada en el tiempo y velocidad adecuadas para que alcance el sitio de acción deseado, preservando además, su integridad física y química.

La técnica usada con mayor frecuencia para preparar tabletas involucra la conversión de partículas primarias de fármaco y excipientes a granulos por medio de un proceso húmedo .

Se adiciona un aglutinante para asegurar la formación del gránulo. Los gránulos preformados y secos, son entonces comprimidos. Además de la granulación húmeda, existen otros procesos - que también son muy usuales, como la compresión directa y la granulación seca. Las tabletas resultantes, cualquiera que sea el método de manufactura que se emplee, deben cumplir -- satisfactoriamente ciertas propiedades, siendo atributos de - una buena tableta :

1. Ser lo suficientemente fuerte y resistente a la abrasión - para tolerar el manejo durante la manufactura, almacena -- miento, traslado y uso. Esta propiedad se mide mediante : la prueba de dureza y la prueba de friabilidad.
2. El fármaco en la tableta debe ser biodisponible.
3. Ser uniformes en peso y contenido de fármaco.
4. Contener todos los atributos funcionales los cuales inclu- yen estabilidad y eficacia (28).
5. Apariencia homogénea y adecuada.

La desintegración de tabletas es un paso importante en el proceso de absorción de la mayoría de los fármacos. Una tableta- que requiere un periodo prolongado de tiempo para efectuar es- te proceso en el tracto gastrointestinal, muestra una pobre - disponibilidad del ingrediente o un retraso excesivo en la - intensidad del efecto terapéutico. Sin embargo, la velocidad de absorción es estrictamente una función de la velocidad de disolución del fármaco. Solo cuando la desintegración es el- paso más lento de la secuencia, influye significativamente en la velocidad de absorción.

El paso limitante en la absorción de la mayoría de los fármacos en una tableta es la velocidad de disolución del fármaco de los gránulos y de las partículas primarias.

Las bases para usar la prueba de desintegración de la USP -- como indicativo de la biodisponibilidad es la hipótesis de -- que la desintegración de una tableta es imprescindible para -- ser seguida por su disolución. Existen numerosos ejemplos que demuestran que algunas preparaciones en tabletas que satisfacen los estándares de disolución de la USP no son adecuados -- para el organismo por la falta de liberación de los gránulos. Estas consideraciones sugieren que la prueba de desintegración de tabletas está limitada al control de variaciones individuales de manufactura de productos de lote a lote y que -- por lo tanto, su uso como medida de disponibilidad está excluido. En este sentido la velocidad de disolución refleja la --- disponibilidad fisiológica de fármacos en tabletas.

La validez de una prueba de velocidad de disolución particular para un fármaco dado, solamente se puede asegurar demostrando la correlación entre los datos " in vitro " y pruebas clínicas y/o pruebas de biodisponibilidad (26).

Los factores determinantes de la acción farmacológica según -- Wagner (47) son: factores de introducción, de disposición, -- clínicos y según Riegelman y Rowland (38) son: factores fisiológicos y de forma farmacéutica.

De todos los factores responsables de la variación en la biodisponibilidad de medicamentos administrados oralmente, solo la formulación del producto, su proceso de manufactura y su ruta de administración son factores controlables.

La absorción de fármacos en el hombre es un proceso muy complejo influenciado por muchos factores. La mayoría de las variables de respuestas de paciente a paciente son debidas a variables en la absorción.

En la actualidad, la industria farmacéutica ha desarrollado procedimientos analíticos con los cuales es posible cuantificar los fármacos en los fluidos biológicos después de su administración. De esta manera, se puede conocer la relación -- que existe entre las concentraciones de fármaco en sangre y la magnitud del efecto biológico. La duración de tales concentraciones, generalmente determinan la duración de la respuesta farmacológica.

La potencia relativa de un medicamento, se ha observado, tanto por su eficacia clínica, como por su biodisponibilidad. Como es sabido, es muy difícil cuantificar la eficacia clínica, ya que existe gran variabilidad en la respuesta de sujeto a sujeto y de paciente a paciente. Estas pruebas clínicas resultan extremadamente costosas y consumidoras de tiempo. En los estudios de biodisponibilidad en el hombre se analizan las concentraciones de fármaco y/o sus metabolitos en fluidos corporales, como parámetros de medida. Estos estudios son menos costosos y consumen menos tiempo (47).

La biodisponibilidad de un producto farmacéutico esta definida en términos de cantidad de fármaco activo que alcanza la sangre y la velocidad a la cual llega a este fluido

2.2 ANTIINFLAMATORIOS

La inflamación es una respuesta inespecífica de los tejidos vivos, esencialmente protectora y normal ante cualquier estímulo nocivo motivada por diversas causas como son: lesión infecciosa, irritación, alergias, patología de enfermedades de etiología incierta, etc. Se caracterizan por los signos clínicos de: eritema, edema, sensibilidad (hiperalgesia) y dolor.

En más del 80% de las enfermedades se presenta un proceso inflamatorio, de aquí la importancia del uso de fármacos anti-inflamatorios.

Durante los últimos años se han efectuado numerosos estudios sobre la inflamación y el mecanismo de acción de los fármacos ya conocidos. Los descubiertos recientemente han incrementado el grupo de antiinflamatorios y han permitido un uso más racional de ellos.

Los antiinflamatorios son aquellos que modifican y regulan la respuesta inflamatoria, no alteran significativamente el curso de la enfermedad subyacente y contribuyen a una terapia sintomática

Los antiinflamatorios se pueden dividir de la siguiente manera (13,17):

A. Antiinflamatorios esteroides:

- Esteroides Naturales (Ejm. cortisol, cortisona, corticosterona).
- Esteroides Sintéticos (Ejm. prednisona, prednisona, betametasona).

B. Antiinflamatorios no esteroides:

- Salicilatos (Ejm. ácido salicílico, salicilato de sodio, salicilato de metilo, aspirina)
- Derivados de la pirazolona (Ejm. fenilbutazona, oxifenbutazona, antipirina, aminopirina, apazona).
- Derivados del p-aminofenol (Ejm. acetanilida, acetaminofén, fenacetina).
- Derivados del ácido propiónico (Ejm. ibuprofén, naproxén, fenoprofén, ketoprofén).
- Indometacina
- Sulindac
- Fenamatos
- Tolmetina
- Alclofenac
- Fenclofenac

C. Antiinflamatorios de acción lenta :

- Sales de oro (Ejm. tiomalato de sodio y oro, --

tioglucosa de oro, tiosulfato de sodio y oro,
tiopropanosulfato de sodio y oro)

- Colchicina
- Alopurinol

A. Antiinflamatorios Esteroides.

El cortisol y los análogos sintéticos de cortisol - tienen una gran diversidad de funciones fisiológicas y farmacológicas, entre las cuales esta la capacidad de prevenir o suprimir signos como calor local, enrojecimiento etc. por los cuales se reconoce la inflamación.

Los efectos antiinflamatorios de los esteroides dependen de la acción local directa, no requieren modificación metabólica.

Se han utilizado nuevos compuestos, pero en ningún caso se ha podido disminuir su toxicidad. Algunos de los efectos tóxicos durante la terapia con corticosteroides son : complicaciones gástricas como úlceras, miopatías, disturbios de la conducta, y osteoporosis principalmente.

Al retirarse la terapia de adrenocorticosteroides se presentan efectos tóxicos como: insuficiencia adrenal aguda, mialgia, artralgia, malasia y resultantes del uso continuado de grandes dosis son : disturbios electrolíticos y de fluidos, hiperglucemia, glicosuria, úlceras pépticas, osteoporosis, obesidad central , hipocalcemia, alcalosis y edema.

Algunos de los usos terapéuticos son en la artritis, osteoartritis, carditis reumática.

El criterio para iniciar una terapia con corticosteroideos es la progresión misma de la enfermedad a pesar del tratamiento intensivo con fármacos análogos de aspirina, oro y de otros agentes.

La decisión para empezar un programa de tratamiento con hormonas, debe realizarse con las debidas consideraciones ya que una vez iniciada la terapia con corticosteroides, debe continuarse durante muchos años o de por vida, con el riesgo de secuelas y serias complicaciones.

B. Antiinflamatorios no esteroides

Son un grupo de fármacos heterogéneos, que con frecuencia no están relacionados químicamente, aunque la mayoría de ellos son ácidos orgánicos los cuales, sin embargo comparten ciertas acciones y efectos colaterales. Estos compuestos están referidos, frecuentemente, como fármacos análogos de aspirina, por ser esta el prototipo.

Su actividad terapéutica parece depender de la inhibición de un camino bioquímico responsable de la biosíntesis de las prostaglandinas.

Estos compuestos ejercen sus efectos terapéuticos y colaterales probablemente como consecuencia de su biodistribución única. En la ausencia de receptores específicos puede haber tendencia para acumularse en ciertos tejidos y -

subsecuentemente permiten sus acciones específicas sobre funciones enzimáticas y fisiológicas por ejemplo inhibición de prostaglandina ciclo-oxigenasa, migración de células y aumento de la permeabilidad vascular. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos ácidos pueden ejercer un grado de especificidad relativamente grande al acumularse en compartimientos medianamente ácidos, incluyendo los tejidos inflamados, estómago y riñones. Esto parece ser una consecuencia de las propiedades ácidas y lipofílicas.

En el tejido inflamado la extravasación de fármacos unidos a proteínas también contribuye a la acumulación en esos sitios. Esta acumulación en los tejidos inflamados es obviamente una ventaja terapéutica, sin embargo la tendencia de estos fármacos a estar presente en altas concentraciones en la mucosa gástrica y riñones puede ser claramente un factor relevante en el desarrollo de efectos tóxicos en estos órganos (10).

Recientemente se han desarrollado algunos fármacos antiinflamatorios con estructura química novel, con el objeto de reducir la ocurrencia de efectos gastro-tóxicos y otros efectos colaterales. Entre ellos están :

1. Profármacos no ácidos que generan formas ácidas de los fármacos durante la absorción y la hidrólisis subsecuente. (ejem. meseclassona, la cual

se metaboliza a 5-cloro-salicilato).

2. **Profármacos que son metabolizados a formas activas (ejem. sulindac que se metaboliza a sulfuro de sulindac activo).**

3. **Compuestos ácidos con modificaciones de la estructura novel, cambiando alguno de los carbonos - alifáticos entre el grupo carboxilo y el núcleo aromático (ejemplo ácidos acético y propiónico), o el tipo, número o arreglo del núcleo aromático o substituyentes para influenciar las propiedades ácidas o electrónicas de esos fármacos (ejemplo benoxaprofén, diflunisal y fenclofenac).**

C. Antiinflamatorios de acción lenta.

A diferencia de otros fármacos antiinflamatorios, - estos fármacos no actúan rápidamente y no inhiben la respuesta inflamatoria en general.

La mayoría de los antiinflamatorios de acción lenta tienen una característica en común, contienen un grupo --tioI. Estos grupos afectan al sistema de las prostaglandinas, pero puesto que ellos son de acción lenta, su acción en artritis reumatoide no es probablemente sólo por este mecanismo (13).

Debido a la toxicidad innegable de los corticosteroides, los antiinflamatorios no esteroideos son en la actualidad los compuestos de mayor prescripción y la investigación farmacológica realizada durante los últimos años ha proporcionado un número cada vez mayor de sustancias, algunas - como el fenclofenac con muy buenas características en cuanto a su baja toxicidad ulcerogénica.

2.3 MONOGRAFIA DEL FENCLOFENAC

El fenclofenac es un antiinflamatorio y analgésico no esteroide, el cual, se sintetizó en 1967 por Reckitt y Colman(2). Los estudios clínicos efectuados para determinar la eficacia y seguridad de este fármaco en pacientes con un amplio intervalo de enfermedades reumatoides crónicas, se iniciaron a principios de 1974 en el Reino Unido.

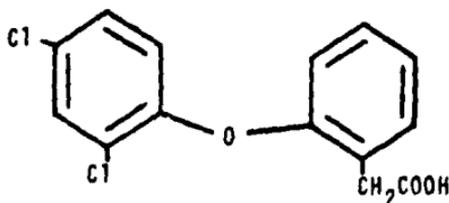
PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

Nombres Químicos:

- a) ácido fenilacético, 2-(2,4-diclorofenóxico)
- b) ácido bencenoacético, 2-(2,4-diclorofenóxico)
- c) ácido 2-(2,4-diclorofenoxi)fenilacético.

Fórmula Molecular : $C_{14}H_{10}Cl_2O_3$

Fórmula Estructural



Descripción :

Polvo cristalino de color blanco a color de ante.

Peso Molecular:

297.1

Punto de fusión:

135 - 137 °C

pKa:

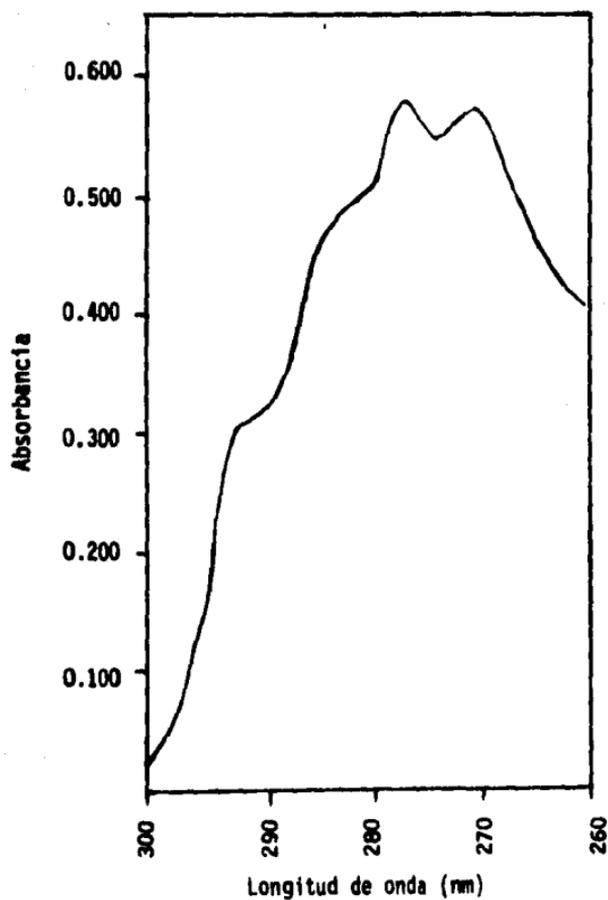
5.5

Coefficiente de partición :

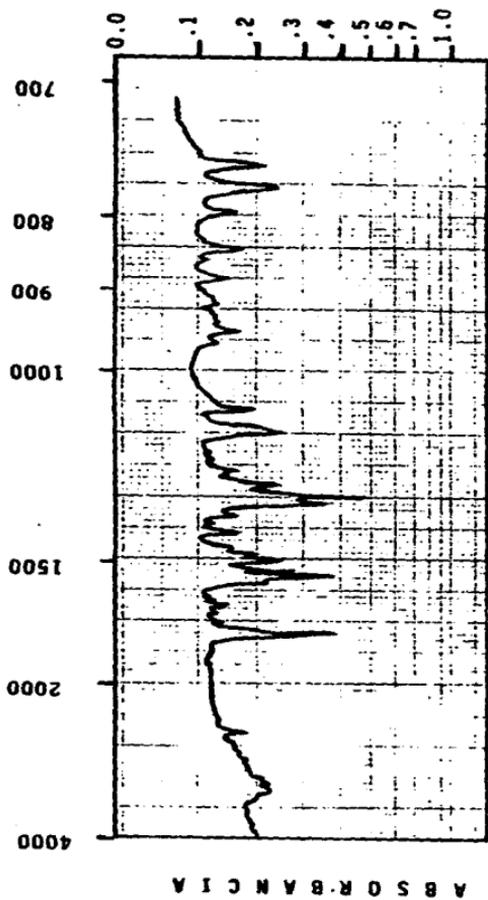
En solución amortiguadora pH 7.4/ciclohexano	34.00
En solución amortiguadora pH 7.4/n-octanol	0.35

Solubilidad: (a temperatura ambiente)

<u>Solvente</u>	<u>mg/ml</u>
agua	0.047
ciclohexano	1.0
eter de petroleo	0.05
percloroetileno	14.0
tolueno	26.0
tetracloruro de carbono	23.0
acetona	mayor de 100
acetato de etilo	mayor de 100
etanol	mayor de 100
eter diisopropilico	30.0
isopropanol	mayor de 100
n-propanol	mayor de 100
cloroformo	mayor de 100
n-butanol	mayor de 100
metanol	mayor de 100



Espectro UV de fenclorfenac ,concentración 100 mcg/ml, en un intervalo de longitud - de onda de 300-260 nm (máximos 277 y 270 nm).



Espectro infra-rojo de fenclofenac de 4000 a
700 cm⁻¹ utilizando pastilla de bromuro de
potasio.

FARMACOLOGIA.

Actividad Antiinflamatoria:

El fenclofenac solamente tiene potencia moderada en pruebas de eritema en cobayos o edema por carragenina en la pata de rata. Tabla No. I. El fenclofenac es aproximadamente -- tan potente como el ácido acetilsalicílico y marcadamente menos potente que el ibuprofén, la indometacina y la fenilbutazona (3).

Tabla No. I.- Potencia comparativa del fenclofenac y otros agentes antiinflamatorios no esteroides en pruebas de edema - por carragenina en la pata de rata y artritis establecida por adyuvantes.

Compuesto	Potencia Relativa	
	Edema por carragenina	Artritis por adyuvante
fenclofenac	1.0	1.0
aspirina	0.92	0.06
ibuprofén	20.0	0.12
indometacina	41.0	24.0
fenilbutazona	3.8	0.85
diclofenac sódico		61.0
fenoprofén cálcico		0.88
ketoprofén		38.0
naproxén		4.4

En contraste con su modesta potencia en pruebas de inflamación agudas, el fenclofenac es mucho más potente en pruebas de artritis inducida por adyuvantes en rata.

La acción de la mayor parte de agentes antiinflamatorios no esteroideos se considera relacionada con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, en cuyo aspecto el fenclofenac resulta ocho veces más potente que la aspirina (11). Desde el punto de vista clínico, el fenclofenac presenta una acción de duración relativamente prolongada, de modo que en el tratamiento de la rigidez matutina, la administración de una dosis oral por la noche, es tan eficaz como un supositorio de indometacina. Debe subrayarse que contrariamente al caso de otros agentes antiinflamatorios, se ha demostrado que el fenclofenac reduce la velocidad de sedimentación globular en numerosos pacientes con artritis reumatoidea. En general puede afirmarse que este fármaco es muy bien tolerado, incluso en pacientes -- sensibles a otros medicamentos.

En pruebas convencionales en ratas, el fenclofenac fue discretamente más potente que el ácido acetilsalicílico como inhibidor de dolor inflamatorio y de fiebre (3). No mostró acción hipotérmica en ratas normotérmicas. En el hombre existen evidencias clínicas de buenas propiedades analgésicas. Otras acciones farmacológicas.

El fenclofenac no tiene efectos significativos en -- pruebas animales diversas diseñadas para determinar la actividad nerviosa central o potencial cardiovascular; tampoco exhibe efectos en la propulsión gastrointestinal y no es un diurético. Es debilmente uricosúrico en las ratas (37).

Efectos gastrointestinales.

La dosis ulcerogénica mínima para fenclofenac fué mayor que otros fármacos antiinflamatorios no esteroides. En la tabla No. II se muestran las dosis ulcerogénicas mínimas, cuantificadas 3 horas después de una sola dosis oral en ratas (3). Se ha demostrado una relación entre la ulcerogenicidad de fármacos antiinflamatorios no esteroides y su capacidad de inhibir la incorporación de sulfato a las glicoproteínas de mucosa gástrica. Se utilizó sulfato de sodio radiactivo para estudiar en esta situación los efectos de fármacos antiinflamatorios no esteroides en ratas.

Tabla No. II.- Ulceración gástrica en la prueba aguda en ratas.

Compuesto	Dosis ulcerogénica mínima (mg/Kg) 3 horas	Dosis efectiva mínima (mg/Kg) oral
alclofenac	30 - 60	
aspirina	15 - 30	39.4
diclofenac sódico	4 - 8	
fenclofenac	400 - 800	23.8
fenilbutazona	40 - 80	7.2
fenoprofén cálcico	30 - 60	
ibuprofén	6 - 13	
indometacina	1.3 - 2.5	1.0
ketoprofén	0.6 - 1.35	
naproxén	2 - 4	

Otros efectos.

Se han registrado una gran variedad de efectos en el sistema nervioso central, incluyendo cefalea, mareo, depresión y astenia, pero solamente 2.1% de pacientes suspendieron el -

tratamiento por efectos en el sistema nervioso central.

El monitoreo oftalmológico reveló con frecuencia, patología ocular preexistente en forma asintomática, previa al inicio del tratamiento, la cual permaneció sin cambios a través del período de tratamiento. Se ha reportado edema macular en un paciente durante el curso de la terapia, el cual desapareció completamente al suspender el tratamiento.

En el sistema cardiovascular se han reportado efectos esporádicos, incluyendo inflamación de miembros inferiores, dolor torácico e hipotensión postural (en un paciente que recibía también metildopa).

Se han reportado ocasionalmente, elevaciones de enzimas hepáticas, pero éstas generalmente han sido mínimas y no han estado asociadas con daño hepático progresivo.

En el sistema genitourinario, se han reportado dos casos de síndrome nefrótico los cuales se recuperaron al suspenderse el tratamiento.

Interacciones con fármacos.

Los estudios en ratas, utilizando pruebas de edema por carragenina y artritis por adyuvante, indican que el ácido acetilsalicílico y la indometacina no interactúan con el fenclofenac, pero existe un efecto aditivo con la prednisolona (4). El fenclofenac no tiene efecto en las enzimas hepáticas metabolizadoras de fármacos en ratas (42). Debido a las propiedades del fenclofenac para unirse a las proteínas (9), exhibe alguna competencia con la warfarina por los sitios de unión, en concentraciones dentro del rango terapéutico de ambos fármacos.

TOXICIDAD.

Toxicidad crónica.- Tiene efecto en los riñones y en

menor grado en el hígado de rata. La dosis con la cual aparecen efectos tóxicos en ratas es de 200 mg/Kg; dosis mayor a aquellas reportadas para muchos agentes antiinflamatorios en esta misma especie (1,14,19,32).

Toxicidad aguda.- La dosis letal media oral del fenclofenac en ratón es de 1150 mg/Kg, en rata 2860 mg/Kg y en rata vía intravenosa 212 mg/Kg.

ABSORCION, DISTRIBUCION Y EXCRECION.

Se han hecho estudios de absorción, distribución y excreción de fenclofenac después de una administración oral, eliminándose principalmente por vía biliar en la rata, y por vía renal en el mandril y hombre, por ambas vías en el cobayo y perro. En rata con el conducto biliar canalizado, se obtuvo evidencia de la absorción del fármaco; la excreción acumulativa de bilis alcanzó de 80 a 84% de la dosis en 48 horas, después de una dosis de 200 mg/Kg (18). Una excreción fecal baja del fenclofenac en mandriles indicó buena absorción a 10 mg/Kg. -- Se confirmó una buena absorción del fenclofenac administrado -- por vía oral en ratas, mandriles, cobayos y perros mediante una comparación de áreas bajo la curva de niveles plasmáticos después de la administración intravenosa.

A cuatro voluntarios se les administró una dosis única de 500 mg, encontrándose que la recuperación media de fenclofenac en orina (0 - 72 horas después, de la hidrólisis de conjugados) fue de 59%, con aproximadamente 5% más como metabolito hidroxilado. En un estudio utilizando el fenclofenac C^{14} (500 mg) en un voluntario mostró que el fármaco fue bien absorbido; 93% de la dosis radiactiva fue excretada en orina y solo 8% en heces (18).

Se ha demostrado circulación enterohepática para fen-

clofenac en la rata. En el conejo, especie que se asemeja al hombre en relación al grado de excreción biliar de compuestos con pesos moleculares en el intervalo de 300 a 500, se encontró que esta vía de excreción fue pobre para el fenclofenac. Esto sugiere que, la excreción biliar y la circulación entero hepática del fenclofenac es de mínima importancia en el hombre.

Se ha estudiado la distribución del fármaco en los tejidos de la rata hasta siete días después de la dosificación oral de fenclofenac marcado de 10 mg/kg. La cantidad de radiactividad presente en el cerebro y la médula espinal fue menor que en otros tejidos, indicando que el fármaco no atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica. Se estudió también la distribución de C^{14} -fenclofenac en ratas preñadas, el fenclofenac atravesó la placenta a pesar que los niveles de radiactividad fueron en todo momento más bajos en el feto que en la madre.

METABOLISMO.

En la rata conejo, cobayo y mandrill, la principal ruta metabólica para el fenclofenac parece ser la conjugación -- con el ácido glucurónico (18), mientras que en el perro el conjugado taurico constituyó el 90% del total del material urinario relacionado con el fármaco (24). Además la hidroxilación del anillo del fenclofenac, para dar derivados mono y dihidroxilados, es una vía secundaria en el cobayo y mandrill. En el -- hombre el metabolito más importante es el glucurónido y en un pequeño porcentaje se convierte en un derivado 5-hidroxi y en un metabolito dihidroxi no identificado. Esto contrasta con el metabolismo de los fármacos estructuralmente emparentados -- diclofenac y fenoprofén, en los cuales la vía predominante de metabolismo es la hidroxilación de las posiciones de los anillos fenilamino y fenoxi, respectivamente (33,43). La hidroxilación en esta posición se previene por un átomo de cloro en

el caso de fenclofenac, y la conjugación se vuelve el paso de terminante del grado de eliminación.

Jordán en 1975 (25) determinó la excreción de fenclofenac y sus metabolitos en 3 voluntarios. Se administró una dosis única de 500 mg de fenclofenac y se analizó la orina, encontrándose fenclofenac libre de 8.4 - 26% de la dosis administrada, un metabolito conjugado 26.9 - 45.1%, un metabolito monohidroxilado de 3.1 - 4.8% lo que da un total de fármaco más sus - metabolitos de 38.4 - 75.9% de la dosis administrada.

UNION A PROTEINAS.

En rata, perro, mandril y cobayo, el fenclofenac se une intensamente a las proteínas plasmáticas (principalmente -- albúmina) (9). El plasma humano tiene la capacidad más alta -- para unirse al fenclofenac, siendo su unión mayor de 99.5% dentro del rango de concentración terapéutica.

El fenclofenac también se une a la globulina transportadora del tiroides y por lo tanto interfiere con los ensayos - de enlace competitivo, tales como los equipos de Thyopac para - hormonas tiroideas; sin embargo no interfiere con los métodos de radioinmunoensayo.

CONCENTRACIONES PLASMATICAS.

Se han cuantificado los niveles sanguíneos del fenclofenac, después de la administración oral e intravenosa del fármaco (5-10 mg/Kg), en animales de experimentación. Los valores de vida media para la fase de eliminación del fármaco en la sangre de rata, perro, cobayo y mandril se muestran en la tabla No. III (23).

Tabla No.III.- Parámetros farmacocinéticos para fenclofenac en varias especies animales.

ESPECIES	Dosis (mg/kg) oral ó I.V.	Via Oral	Via Oral	vida media (horas)	vfa I.V.
		concentración plasmática (mcg/ml)	tiempo de max.concentración max. (horas)		vida media (horas)
Rata	10	4.2	2.7	7.1	10.8
Perro	10	15.1	2.4	6.7	5.5
Cobayo	10	70.1a	2.0	b	0.24ca
Mandril	5	6.3	3.4	b	14.1c

a = considerado como nivel plasmático

b = datos insuficientes para calcular vida media

c = dosis i.v. de 10 mg/kg

todas las cifras son promedios de animales individuales en grupos

Datos obtenidos en estudios de toxicidad a largo plazo demostraron una relación lineal entre la dosis y los niveles plasmáticos tanto en ratas como en mandriles a dosis orales por arriba de 100 y 60 mg/Kg respectivamente. Con niveles más altos de dosificación, los datos indicaron que puede existir un límite máximo de absorción. No obstante, se alcanzaron niveles plasmáticos altos en estudios de toxicidad a largo plazo. En ratas a las que se les administraron 300 mg/Kg/dfa, las concentraciones plasmáticas promedio a las 2 horas, después de la ingestión, oscilaron entre 164-263 mcg/ml, durante un período de 5 meses, mientras que en mandriles a quienes se les administraron 180 mg/Kg/dfa, las concentraciones plasmáticas promedio oscilaron entre 150-482 mcg/ml, durante un período de 16 meses (37).

Se determinaron las concentraciones plasmáticas en el hombre a dosis bajas; (100 a 200 mg/Kg), la eliminación del fármaco del plasma mostró una cinética de primer orden, después de completar la fase de absorción. La vida media de eliminación se estimó en 12 horas aproximadamente. A dosis más altas (400 y 500 mg/Kg), la cinética de eliminación del fármaco fué más compleja, requiriendo por lo menos de un modelo de dos compartimientos para su interpretación. La vida media en plasma, medida de la porción terminal de la curva aumentó en un intervalo de 19 a 38 horas.

Henson y colaboradores (21), reportaron un estudio para determinar la farmacocinética del fenclofenac siguiendo dosis únicas de 200, 500, 600 mg y para dosis múltiples de 600 mg cada 12 horas en plasma, en el cual utilizaron un método de cromatografía gas-liquido y un detector de captura de electrones. Se determinaron los parámetros farmacocinéticos modelo independiente, siendo respectivamente para la dosis de 200, 500, 600 y 600 mg al estado estacionario de: 2.8, 3.8, --

3.3 y 3.2 para el tiempo de máxima concentración; 18.2, 45.3, 63.5 y 86.9 mcg/ml, para las máximas concentraciones plasmáticas; las áreas bajo la curva fueron: 457, 1323, 1716 y 884 mcg/ml x hr; la vida media varió ligeramente con la dosis -- siendo: 24.2, 32.4, 27.3 y 25.9 horas (21).

A un grupo de 5 voluntarios sin ayuno, se les administraron 600 mg de fenclofenac 2 veces al día durante 5 días, - las concentraciones plasmáticas máximas de 40 mcg/ml aproximadamente, después de la primera dosis fueron más bajas que las obtenidas para los voluntarios en ayuno. (21).

RANGO TERAPEUTICO DE DOSIFICACION:

Los estudios en animales sugirieron que las dosis del orden de 200-600 mg diarios, deberfan producir efectos antiinflamatorios cuantificables en el hombre. El protocolo de estudio abierto proporcionó la aplicación de una fase inicial - para titulación de dosis, la cual permitió la individualización de la dosis para cada paciente y la selección de una dosis apropiada para terapia de mantenimiento a largo plazo. A los clínicos en cada centro se les permitió incrementar la dosis, dependiendo de las necesidades individuales de cada paciente, en ausencia de efectos indeseables de carácter subjetivo u objetivo o de desviaciones desfavorables en cualquiera de los parámetros de laboratorio registrados. Ya que los estudios en voluntarios sanos han demostrado una vida media final de más de 24 horas en el hombre, se empleó un régimen de dosificación de 2 veces al día durante esta fase de estudio.

En la figura No. 1 se muestra el porcentaje de pacientes mantenidos satisfactoriamente con un régimen de dosificación dado, como una función de la dosificación (46).

El rango de dosis terapéutica se determinó paulatinamente por medio de un monitoreo regular de esquemas de dosificación en un estudio abierto a medida que este se fué desarrollando. La mayoría de los pacientes parecieron mantenerse adecuadamente a dosis entre 600 - 1200 mg diarios; un pequeño porcentaje respondieron a dosis por fuera de este intervalo.

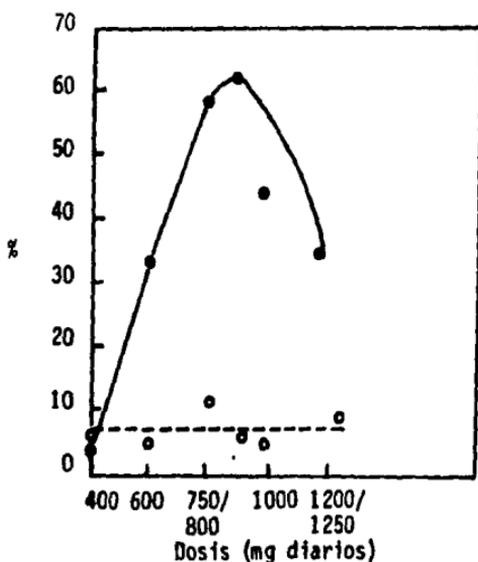


Figura No. 1.- Porcentaje de pacientes mantenidos satisfactoriamente a varios regímenes de dosificación con fenclufenac y porcentaje de pacientes dados de baja por efectos indeseables en cada nivel de dosificación (46).

3. PARTE EXPERIMENTAL

DESARROLLO FARMACEUTICO DE TABLETAS DE FENCLOFENAC DE -- 600 MG.

3.1. FORMULACIONES PROPUESTAS PARA TABLETAS DE FENCLOFENAC DE 600 MG.

Después de evaluar los diferentes métodos de fabricación y dadas las características de cada uno se decidió probar el método de compresión directa y el método de vía húmeda. Se diseñaron 15 formulaciones para tabletas de fenclofenac de 600 mg., 5 formulaciones por el procedimiento de granulación húmeda y 10 por el procedimiento de compresión directa. De acuerdo, a las características de compresión del activo, la fórmula base debería contener máximo 75% del activo y 25% de excipientes.

Excipiente (proveedor)	% Probado
Carboximetilcelulosa sódica (FMC Corporation)	1.2, 2.4, 2.5
Almidón de maíz (Productos de maíz).	1.8, 3.0, 4.8
Celulosa microcristalina (FMC de México)	1.9, 7.6, 8.0, 9.5, 11.3, 11.8, 11.9, - 12.0, 12.5, 13.8, - 13.9, 14.5
Sflica Coloidal (Cabot Corporation)	1.5, 2.0

Estearato de magnesio (Productos Corzo)	0.5, 0.8
Poliethylenglicol 8000 (Química Bermex, S.A.)	1.2, 8.1, 8.8, 9.3 12.5
Polivinilpirrolidona K30 (GAF Corporation de Méx.)	1.0, 1.8, 2.0, 4.0
Glicolato sódico de almidón (Generichem Corporation)	3.8, 4.0

Inicialmente se formularon lotes de 300 unidades-
utilizando una tableteadora unitaria (Montaño FJS)
con punzón plano de 0.5 pulgadas de diámetro.

Basándose en los criterios que se establecen en la
sección 3.2, se eligió la formulación No. 14045-22
por compresión directa como la mejor. Se fabrica-
ron 5 lotes de: 200, 300, 1000, 1500 y 3000 tabletas.

Para comprimir los lotes mayores de mil unidades -
se empleó una tableteadora rotativa (Manesty Beta -
press) con 16 punzones planos de 0.5 pulgadas de diá-
metro.

3.2

CRITERIOS UTILIZADOS PARA ACEPTAR UNA FORMULACION.

Criterios Farmacéuticos:

Ausencia de problemas durante el proceso de manufac-
tura (adherencia a los punzones y matrices, lamina-
ción), fabricación reproducible a nivel producción,
peso de las tabletas no mayor de 1 gramo, tamaño y -
forma adecuados para ser ingerida, elegancia farmacéu-
tica. resistencia en el manejo.

Criterios Biofarmacéuticos:

Desintegración y disolución aceptables; biodisponibilidad relativa $100 \pm 20\%$.

Se establecieron las siguientes pruebas de control farmacéutico para las tabletas, de acuerdo a los criterios farmacéuticos y biofarmacéuticos.

- Friabilidad:** No mayor de 1% determinada en un fragilizador tipo Erweka TA3.
- Desintegración:** En agua destilada a 37°C; no mayor de 15 minutos, según discos USP XX
- Dureza:** 14-18 Unidades Strong Cobb, determinada en un medidor de dureza -- Schleuniger-2E.
- Disolución:** Se comparan los porcentajes disueltos a diferentes tiempos según la sección 3.3.1

3.3 ESTUDIO DE DISOLUCION DE TABLETAS DE FENCLOFENAC

3.3.1 Procedimiento de disolución

Equipo:

Disolutor Hanson, (Research Corporation), modelo 72-RL-115 con agitadores de paleta recubierta con teflón, aparato No. 2 USP XX.
Espectrofotómetro Beckman Modelo - 1353 acta CIII.

Medio de disolución:

Sol. amortiguadora pH 8, consistente-

de una mezcla de 55 partes de una solución de ácido cítrico 0.2M y - 1945 partes de una solución de Na_2HPO_4 0.4M.

Condiciones:

Volumen del medio de disolución: - 500 ml; temperatura: $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$; velocidad de agitación: 100 rpm; altura de las paletas: 2.5 cm.

Método analítico:

Para la determinación de la concentración de fenclofenac en el medio de disolución, se utilizó un método espectrofotométrico (Schering - Corporation 1982). Se preparó una curva estándar de fenclofenac en medio de disolución, para comprobar su intervalo de linealidad y determinar si a las concentraciones a las que se analizan las muestras la respuesta es lineal. Las concentraciones probadas fueron: - 10, 20, 50, 100, 150 y 200 mcg/ml.

Procedimiento:

Se retiran muestras de 3 ml de los vasos disolutores a los siguientes tiempos: 5, 10, 15, 20 y 30, minutos, se recupera el - - - - -

volumen de las muestras retirado, con medio de disolución a temperatura de 37°C. Se filtran las muestras utilizando papel filtro (Whatman # 1) - soportado en swinnex de 1.2 cm de diámetro (catalogo SX00-13-00 Millipore). Se hace una dilución 1:10 con medio de disolución y se lee en el espectrofotómetro a 277nm, comparándose se con un estandar de fenclofenac en medio de disolución a 125 mcg/ml.

3.3.2 Influencia de la dureza de las tabletas sobre la velocidad de disolución.

Se prepararon cuatro lotes de tabletas de la formulación elegida como la mejor (14045 - 22) en máquina unitaria (Montaña FJS) a dureza de 12, 13, 15 y 16 USC . Se determinó el tiempo de desintegración y se efectuó la prueba de disolución descrita en 3.3.1 en 6 tabletas de los siguientes lotes: 12934-39, 14045-23, 12934-146 y 14045-25, cada uno con las durezas antes mencionadas.

3.3.3 Influencia del número de tabletas en la velocidad de disolución.

Dado que las tabletas desarrolladas eran de 600 mg y que el contenido corresponde a 2 tabletas de 300mg de la formulación del producto innovador fue necesario demostrar que la veloci-

dad de disolución era la misma, --- cuando se realizaba la prueba utilizando una o dos tabletas de la misma formulación de fenclofenac de 300 mg.

Siguiendo el procedimiento descrito en 3.3.1, se determinaron los porcentajes de fenclofenac disueltos a los 5, 10, 15, 20 y 30 min., empleando una y dos tabletas de fenclofenac de 300 mg (formulación del producto innovador).

3.3.4 Comparación de la velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac, formulación desarrollada y formulación del producto innovador.

Este estudio se llevó a cabo con el objeto de comparar las velocidades de disolución de ambas formulaciones, y así tener mayores bases para diseñar el estudio de bioequivalencia. Se determinó la velocidad de disolución empleando una tableta de la formulación desarrollada y dos tabletas de la formulación del producto innovador, siguiendo el procedimiento descrito en 3.3.1.

3.4 PRUEBAS DE ESTABILIDAD ACCELERADA

Con el objeto de determinar la estabilidad de las tabletas de fenclofenac de la formulación desarrollada, se preparó un lote de tabletas (No. 14045-23) y se prepararon muestras de 50 tabletas envasadas en frascos de vidrio color ambar. Dichas -- muestras permanecieron a temperatura ambiente, 45 y 60°C durante 15, 45 y 90 días. Se determinaron los siguientes controles farmacéuticos: contenido fenclofenac, velocidad de disolución, dureza, -- friabilidad y tiempo de desintegración para las -- muestras iniciales y las de 90 días mantenidas a temperatura ambiente, 45 y 60°C. Para la muestras de 15 y 45 días conservadas a 45 y 60°C: contenido de fenclofenac. Para determinar el contenido -- de las tabletas se siguió el procedimiento descrito en 3.5.1 y para los demás controles farmacéuticos se siguieron las pruebas descritas en 3.2.

3.5 METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE FENCLOFENAC EN TABLETAS.

Se utilizó el método sugerido por Schering Corp.- 1982 de cromatografía de líquidos, una vez que se optimizó y se validó estadísticamente.

3.5.1 Descripción del método analítico.

A. Sistema de cromatografía de líquidos.

1. Cromatógrafo de líquidos, Hew -

1let packard modelo 1084A, equipado con integrador electrónico modelo 79850.

2. Columna de acero inoxidable de 30 cm de longitud por 4mm de diámetro interno, empacada con un soporte enlazado a la fase octadecilsilano, uBonda-pak C₁₈ . Waters Assoc.
3. Flujo: 1.5 ml/minuto
4. Detector: Ultravioleta a la longitud de onda fija de 254 nm.
5. Fase móvil: Metanol absoluto (Photrex J.T. Baker 9069): solución de ácido acético al 1% (ácido acético glacial Merck México 15850), en proporción de 7 partes de metanol y 3 partes de ácido acético al 1% . La fase móvil así preparada, se filtró usando un filtro de acero inoxidable XX 40 047 40 y membrana FGLP 047 00 de Millipore y se - desgasificó utilizando un limpiador - ultrasónico de Mettler Electronics cor.

B. Soluciones Estandar.

1. Solución de estándar interno.
Pesar con exactitud aproximada -
mente 240 mg de butilparabeno
(proveedor : Inuiu Yakuhim
Kogyo Co. Lote 32) transferir -
cuantitativamente a un matraz -
volumétrico de 100 ml, disolver
y aforar con metanol. Rotular -
estandar interno.

2. Estándar analítico.
Pesar con exactitud aprox. 300 mg
fenclofenac (división farmacéu-
tica Reckitt y Colman lote --
1029/3) y transferir cuantitati-
vamente a un matraz volumétrico
de 100 ml. Adicionar 5 ml de so-
lución de estandar interno. Di-
solver y aforar con metanol.

C. Procedimiento.

1. Pesar 20 tabletas, registrar el
peso promedio y molerlas.

2. Pesar una porción del polvo ---
equivalente a 300 mg de fenclo-
fenac, transferir cuantitativa-
mente a un matraz volumétrico -
de 100 ml.

3. Adicionar 50 ml de metanol y 5-

ml de solución de estándar interno (2.4 mg/ml), tapar y agitar mecánicamente durante 20 min. Diluir al volumen con metanol. Mezclar bien y filtrar a través de papel (Whatman # 1).

4. Inyectar por duplicado 8 μ l de cada muestra y de estándar analítico.

5. Registrar las áreas (o alturas) del pico de fenclofenac del estándar analítico y de las muestras problema.

6. Cálculo fenclofenac.

a) Factor de respuesta

$$K = \frac{A'f \times P'b \times 5 \times 100}{A'b \times 100 \times 100 \times P'f}$$

b) Ensayo

$$\text{mg fenclofenac/tableta} = \frac{A'f \times P'b \times 5 \times 100 \times PPT \times I}{A'b \times 100 \times 100 \times P_m \times K}$$

K = Factor de respuesta para fenclofenac.

A'f = Área del pico de fenclofenac en el estándar analítico.

A'b = Área del pico de estándar

dar interno en el estándar analítico.

- P' b= Peso del estándar interno (mg).
 P' f= Peso del estándar analítico fenclofenac (mg)
 A f= Área del pico de fenclofenac en la muestra
 A b= Área del pico del estándar interno en la muestra.
 P m= Peso de la muestra (mg)
 PPT= Peso promedio de las tabletas (mg).

c) Tiempos de retención aproximados.

estándar interno	3	minutos
fenclofenac	5	minutos

3.5.2 Especificidad del método.

Nueve muestras de 10 tabletas de fenclofenac de 600 mg lote No. 12934-146 y nueve muestras de placebo de tabletas de fenclofenac lote No. 12934-155, se envasaron por separado en frascos de vidrio ambar a temperatura ambiente, 55° y 75°C durante 3, 7 y 14 días. Se analizaron mediante el método analítico descrito en 3.5.1, sin agregar estándar interno, tanto a las muestras de tabletas como a las de placebo. Se determinó la presencia de picos extraños a los tiempos de retención del fenclofenac y del estándar interno en las muestras ana-

lizadas. Se inyectó también una muestra - de estandar analítico, para determinar -- los tiempos de retención del fenclofenac - y del estandar interno.

- 3.5.3 Tolerancia del sistema cromatográfico al cambio en la proporción de fase móvil. Se preparó la fase móvil variando la proporción de metanol de la siguiente manera:

Fase No.	% variado de MeOH *	Partes de MeOH	Partes de solución de ácido acético 1%
1	+ 10	77	30
2	0	70	30
3	- 10	63	30

* Considerando como 100% las 70 partes -- del procedimiento normal.

Se preparó un estandar de fenclofenac en metanol, de 3 mg/ml, adicionado de estandar interno 0.12 mg/ml. Se inyectó por -- triplicado 8 mcl de la muestra estandar - preparada, utilizando como fase móvil, ca da una de las antes mencionadas. La carta se corrió a una velocidad de 5 cm/min para poder determinar la resolución y se -- cuantificó el fenclofenac en la muestra -

al variar la fase móvil.

3.5.4 Linearidad y precisión del sistema cromatográfico.

Se probó la conducta lineal de fenclofenac en un intervalo de concentraciones de 1.8 a 4.2 mg/ml (60 al 140% del procedimiento normal de análisis).

Se pesó con exactitud y por duplicado aprox. 180, 240, 300, 360 y 420 mg de estandar de fenclofenac y se siguió el método analítico descrito en 3.5.1. Las concentraciones finales obtenidas fueron de 1.8, 2.4, 3.0, 3.6 y 4.2 mg/ml. Se inyectaron 8 mcl de cada uno de los estandares preparados. Para determinar la precisión del sistema cromatográfico, se inyectó 6 veces 8 mcl del estandar de 3 mg/ml.

3.5.5 Precisión y exactitud del método.

La precisión y exactitud del método analítico se efectuó, determinando los % recuperados de fenclofenac en muestras, en las que se varió el contenido de fenclofenac y el contenido de excipientes de la siguiente manera:

- Variando el tamaño de muestra en un \pm 20% del peso utilizado en el procedimiento normal de análisis. Se preparó una mezcla de 3 g de fenclofenac y se adicionó 1 g de placebo lote No. ----

12934-156; se homogeneizó la mezcla perfectamente en un mortero y se tamizó por malla No. 60. Se hicieron pesadas por triplicado de 320 y 480 mg (80 y 120% del procedimiento normal) y cada muestra se trató como se describe en 3.5.1; se efectuaron 2 inyecciones de 8 ml de cada muestra.

- Variando la cantidad de excipiente \pm 20% del contenido normal en la formulación. Se prepararon 2 mezclas: la primera conteniendo 3 g de fenclofenac y 0.8 g (80%) de placebo lote No. 12934-156. La segunda de 3 g de fenclofenac y 1.2 g (120%) de placebo -- del mismo lote. Se hicieron pesadas por triplicado de 380 y 420 mg de cada una de las mezclas. Cada muestra, conservando constante la concentración de fenclofenac del procedimiento analítico, se trató como se describe en 3.5.1, efectuando 2 inyecciones de 8 ml por muestra.

3.5.6 Reproducibilidad del método analítico.
La reproducibilidad del método se llevó a cabo analizando por el método en estudio, 6 muestras de tabletas de fenclofenac lote No. 12934-146 en dos días diferentes. Se efectuó una inyección de 8 ml por cada muestra.

3.5.7 Estabilidad de la muestra extraída.

Seis muestras, ya extraídas y depositadas en viales de vidrio, se analizaron inicialmente y se almacenaron a 5°C, para ser inyectadas posteriormente en el cromatógrafo a las 24 y 72 hrs.

Para este análisis se utilizaron las muestras empleadas en la determinación de exactitud del método, en las que se inyectaron por duplicado - - 8 mci y se obtuvo la concentración promedio.

BIOEQUIVALENCIA DE LAS TABLETAS DESARROLLADAS

Con el objeto de asegurar la eficacia de las tabletas desarrolladas, se realizó el estudio en tabletas de fenclofenac de 600mg (formulación desarrollada) y como referencia tabletas de fenclofenac de 300 mg (formulación del producto innovador, de eficacia clínica comprobada).

En esta parte se describe el estudio preliminar realizado en 3 voluntarios y el estudio de bioequivalencia en 12 voluntarios, para lo cual se desarrolló y validó un método analítico para la cuantificación del fármaco en plasma.

3.6 METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE FENCLOFENAC EN PLASMA.

3.6.1 Descripción del método analítico.

A. Sistema cromatográfico.

1. Cromatógrafo de líquidos de alta presión Waters Associates modelo 6000, equipado con integrador electrónico, módulo de datos modelo número 730 Waters Assoc., automuestreador con "loop" de volumen variable modelo 710B Waters Assoc.
2. Detector UV de longitud de onda fija con filtro de 254 nm Waters Assoc.
3. Columna de acero inoxidable de 30 cm de longitud y 4mm de diámetro interno, empacada

con un soporte enlazado a una fase de ---
octadecilsilano, microbondapak C₁₈ Waters
Assoc.

4. Flujo: 1.8 mililitros/minuto.
5. Fase móvil: metanol: solución de ácido -
acético al 1% en proporción de 65:35 ;
filtrada a través de filtro FGLP-025-00
Millipore corp. y degasificada.

B. Reactivos

- Metanol absoluto Photrex J.T. Baker 9069
- Acido acético glacial Merck México 15850
- Estándar de fenclofenac división farmacéu-
tica Reckit y Colman lote 1029/3
- Acido 2-(2,4-dicloro-3,5-dimetilfenoxil)-
fenilacético, como estándar interno, división
farmacéutica Reckitt y Colman lote 39.
- Acetato de etilo J.T. Baker 9280
- Fosfato dibásico de potasio J.T. Baker
3285
- Acido sulfúrico J.T. Baker 9681

C. Soluciones estándar

1. Estándar interno

En un matraz volumétrico de 25 ml, pesar con exactitud aproximadamente 25 mg de estándar interno, 2-(2,4-dicloro-3,5-dimetilfenoxi)-fenilacético, disolver y llevar a volumen con metanol. Concentración 1mg/ml.

Colocar 4ml de esta solución en un matraz volumétrico de 100 ml y ajustar al volumen con solución amortiguadora de fosfato dibásico de potasio K_2HPO_4 0.2M , pH 9 . Concentración 0.04 mg/ml.

2. Estándar Analítico

En un matraz volumétrico de 50 ml pesar con exactitud aproximadamente 50 mg de estándar de fenclofenac , disolver y llevar a volumen con metanol. Concentración 1 mg/ml

En un matraz volumétrico de 100 ml colocar una alícuota de 4 ml de la solución anterior y 4ml de solución -

de estándar interno de concentración - 1 mg/ml, mezclar y llevar al volumen - con metanol. Etiquetar "estándar analítico".

D. Procedimiento.

1. A 1 ml de muestra de plasma, adicionar 1 ml de estándar interno (concentración 0.04 mg/ml) y 0.2 ml de ácido sulfúrico 0.1 N.
2. Llevar a cabo cuatro extracciones con 5 ml de acetato de etilo cada una. Separar en cada extracción la capa superior de acetato de etilo, utilizando una jeringa de 10 ml y reunir los extractos en un tubo de centrifuga de 50 ml.
3. Evaporar a sequedad los extractos, utilizando un baño de vapor y corriente de nitrógeno.
4. Al residuo seco, adicionar con pipeta volumétrica 3 ml de fase móvil y agitar la solución perfectamente.
5. Filtrar esta solución a través de una membrana de 0.22 μ m (Millipore).

6. Inyectar en el cromatógrafo 90 microlitros en el caso de la muestra y 30 microlitros en el caso de la solución estándar.

7. Registrar las áreas de los picos de interés que tienen aproximadamente los siguientes tiempos de retención:

fenclofenac	6 minutos
estándar interno	13 minutos

8. Cálculos

$$K = \frac{A_F}{A_{SI}} \times \frac{W_{SI}}{25} \times \frac{4}{100} \times \frac{50}{W_F} \times \frac{1000}{4}$$

$$\text{mcg fenclofenac / ml} = \frac{A'_F}{A'_{SI}} \times \frac{W_{SI}}{25} \times \frac{4}{100} \times \frac{1}{3} \times \frac{3}{V} \times \frac{1}{K} \times 100$$

Donde:

K = Factor de respuesta del fenclofenac

A_F = Promedio de las áreas del pico de fenclofenac en el estándar analítico.

A_{SI} = Promedio de las áreas del pico del-

estándar interno en el estándar analítico.

A^i_F = Area del pico de fenclofenac en la muestra

A^i_{SI} = Area del pico del estándar interno en la muestra

W_{SI} = Peso del estándar interno, mg

W_F = peso del estándar de fenclofenac, mg

V = Volumen de muestra de plasma, l ml

1000 = factor de conversión de mg a mcg

3.6.2 Especificidad del método

La especificidad del método se determinó analizando muestras de plasma de 8 voluntarios, antes y después (8 Hrs.) de la administración de una tableta de fenclofenac de 600 mg

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción; se extrajeron 10 ml de sangre de cada voluntario y se depositaron en tubos preparados con 143 unidades de heparina (B & D) , se centrifugaron, se separó el plasma y se trató de la siguiente manera :

- a) Muestras de plasma antes y después de administración de una tableta de fenclofenac -----

fenac de 600 mg analizadas como se indica en la sección 3.6.1, sin adicionar la solución de estándar interno.

- b) Muestras de plasma después de la administración de una tableta de fenclofenac de 600 mg, analizadas como se describe en 3.6.1.

Los cromatogramas obtenidos en cada caso se comparan con el de un estándar de referencia.

3.6.3 Linearidad del sistema cromatográfico.

La conducta lineal del fenclofenac, se probó inyectando soluciones estándar de fenclofenac en metanol, en un intervalo de concentración de 2 a 80 mcg/ml (2, 5, 10, 20, 40 y 80 mcg/ml). La concentración del estándar interno: ácido 2-(2,4-dicloro-3,5-dimetilfenoxi) fenilacético, fue constante en todas las concentraciones estándar (40 mcg/ml). Se inyectó por duplicado 30 µl de cada muestra, siguiendo las condiciones cromatográficas citadas en el método analítico.

3.6.4 Precisión del sistema.

La precisión del sistema se probó efectuan-

do inyecciones de soluciones estándar de -- fenclofenac preparadas por triplicado: 2, 40 y 80 mcg/ml, manteniendo constante la concentración del estándar interno. Se inyectaron por duplicado 30 mcI de cada serie. Se determinó el promedio y las desviaciones estándar de la relación de áreas del fenclofenac entre el estándar interno.

3.6.5 Exactitud del método.

La exactitud del método se probó preparando una curva estándar de fenclofenac en plasma en un intervalo de concentraciones de 2 a - 80 mcg/ml, para lo cual se pesaron 25 mg de fenclofenac y se depositaron en un matríz - volumétrico de 25 ml, se disolvió con el mínimo volumen de NaOH 0.1 N y se llevó al volumen con plasma. Se hizo una dilución --- 1:10 con plasma, obteniéndose una concentración del estándar de 100 mcg/ml. A partir de esta solución se preparó una curva estándar como se indica en la siguiente hoja.

Las muestras así obtenidas se analizaron por el método descrito en 3.6.1, efectuándose -- dos inyecciones de cada una.

ml de estándar de fenclofenac de -- 100 mcg/ml	ml de volumen final con plasma.	Concentración (mcg/ml)
0.5 (20 mcg/ml)	5	2
0.5	10	5
0.5	5	10
1.0	5	20
2.0	5	40
3.0	5	60
4.0	5	80

3.6.6 Precisión del método.

La precisión del método se determinó analizando soluciones estándar de fenclofenac en plasma de 2, 5, 40 y 80 mcg/ml. Para preparar estas soluciones estándar se pesaron 25 mg de estándar de fenclofenac y se disolvieron en el mínimo volumen de solución de NaOH 0.1 N y se llevó a 25 ml con plasma. Se hizo una dilución 2:10 con plasma y con esta solución estándar de concentración final de 200 mcg/ml, se prepararon los estándares de la siguiente manera:

ml de solución estándar de -- fenclofenac - (conc. mcg/ml)	ml de volumen -- final con plasma	Concentración (mcg/ml)
0.5 (40.)	10	2
0.5 (200)	10	10*
5.0 (10)	10	5
2.0 (200)	10	40
4.0 (200)	10	80

*Esta solución se preparó para utilizarla en la -- solución de concentración de 5 mcg/ml pero no para la prueba de precisión.

Una muestra de cada concentración, se analizó -- por el método analítico para fenclofenac en plasma (3.6.1), utilizando como estándar de referencia una solución metanólica de fenclofenac de 40 mcg/ml y estándar interno de 40 mcg/ml. Se analizaron por quintuplicado las muestras , inyectándose 180 mcl de las muestras extraídas para -- la concentración de 2 mcg/ml y 90 mcl para las -- muestras restantes.

3.6.7 Número óptimo de extracciones.

Se determinó el número óptimo de extracciones analizando muestras por triplicado realizando 1, 2, 3, 4 y 5 extracciones. Para la prueba, se preparó una solución estándar de 90 mcg/ml de fenclofenac y 40 mcg/ml de estándar interno en solución reguladora de K_2HPO_4 0.2 M, pH 9. La solución estándar se preparó adicionando 10 ml de una solución metanólica de fenclofenac de 900 mcg/ml, 4 ml de una solución metanólica del estándar interno de ácido 2-(2,4-dicloro 3,5-dimetilfenoxi)fenilacético de 1000 mcg/ml y aforando a 100 ml con la solución reguladora de fosfatos.

Se colocó 1 ml de plasma más 1 ml de la solución estándar preparada, en un tubo de ensayo de 15 ml con tapón esmerilado. Se siguió el procedimiento de extracción con acetato de etilo como se describe en 3.6.1. Se inyectaron por duplicado 60 μl de cada muestra, y se compararon con un estándar en metanol de fenclofenac de 40 mcg/ml y estándar interno de 40 mcg/ml.

3.6.8 Estabilidad de Fenclofenac en muestras extraídas de plasma y reconstituidas.

Para esta prueba se utilizaron las muestras plasmáticas de 6 de los voluntarios partici-

pantes en la prueba de especificidad del método. Las muestras se extrajeron utilizando el método descrito en la sección 3.6.1, - se almacenaron en frascos viales cerrados y se conservaron en refrigeración a 5°C. Estas muestras se analizaron a los 0, 3 y 17 días, inyectando por duplicado 90 µl y utilizando como referencia un estándar de fenclofenac de 40 µg/ml y estándar interno de 40 µg/ml en metanol, del que se inyectó por duplicado 30 µl.

3.6.9 Estabilidad de fenclofenac en muestras extraídas de plasma sin ser reconstituidas.

Para esta prueba se utilizaron muestras plasmáticas de los voluntarios participantes en el estudio de biodisponibilidad. Las muestras se extrajeron por duplicado mediante el procedimiento descrito en 3.6.1, dejando inicialmente, una de las muestras sin reconstituir con la fase móvil (Metanol/Ac Acético - 70:30). Las muestras sin reconstituir se guardaron a congelación a -14°C en tubos de vidrio tapados (en donde se llevó a cabo la evaporación) y se analizaron después de 8 ó 12 días de almacenamiento.

3.6.10 Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma congeladas.

En esta prueba se utilizó plasma de 4 voluntarios obtenido a las 3 horas de tomar una tableta de fenclofenac de 600 mg (Lote:14045-25).

En 2 tubos de ensayo adicionados cada uno de heparina (143 unidades) y 10 mcl de KF al 50% p/v), se recibieron las muestras sanguíneas (20 ml). El plasma obtenido por centrifugación se almacenó en 4 tubos de ensayo con tapón de hule y se conservó a -14°C . Las muestras se analizaron a los 0, 4, 6 y 12 días utilizando el método descrito en 3.6.1 y se inyectaron en el cromatógrafo 90 mcl.

3.7 Estudio preliminar de biodisponibilidad en administración oral unidosis.

3.7.1 Selección de voluntarios.

Tres voluntarios de 23 a 32 años, 64 a 68 -- kg, sexo masculino se seleccionaron (Apendice No. 1) bajo los siguientes criterios para establecer diagnóstico de salud clínica: exploración física, electrocardiograma, biometría hemática, química sanguínea, análisis de orina y ausencia de sangrado intestinal (Apendice No. 2). Se excluyeron del estudio aquellos voluntarios que presentaran anomalías gastrointestinales, hepáticas, ---

renales, cardiovasculares y aquellos que estuvieran bajo tratamiento médico o que hubieran ingerido algún medicamento o alcohol, - una semana antes de la iniciación del estudio.

3.7.2 Plan de estudio.

El estudio se llevó a cabo en un solo grupo de 3 voluntarios, los cuales recibieron una dosis de 600 mg, de la formulación desarrollada de fenclofenac, comprimidos de 600mg lote 14045-25. Durante la semana anterior al estudio se efectuaron las pruebas clínicas y de laboratorio para la selección de los voluntarios.

Los voluntarios permanecieron en ayuno a partir de las 22:00 hrs. del día anterior a la administración del fármaco. El primer día, los voluntarios permanecieron en la Unidad Metabólica de la S.S.A.; los cuatro días siguientes, los voluntarios realizaron sus actividades normales, pero sometidos a una - misma dieta balanceada. Se determinaron diariamente, signos vitales por el médico responsable. Durante la semana de estudio los voluntarios se abstuvieron de ingerir algún otro fármaco o alcohol.

El día de inicio del estudio, se instaló en el antebrazo de los voluntarios un cateter -

antes de la administración del fenclofenac. El cateter se mantuvo permeable durante las cuatro horas siguientes a la administración del fenclofenac. Se obtuvieron 11 muestras de sangre de cada voluntario, que se depositaron en tubos heparinizados (143 unidades - USP) con 10 mcl de una solución de KF al 50% (p/v). El horario para las tomas de muestra fue: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 22, 46, 70 y - 96 horas después de la administración del medicamento.

Las muestras sanguíneas se centrifugaron inmediatamente a 1200 rpm durante 15 a 20 minutos. El plasma se separó en tubos de ensayo de 10 ml con tapón de hule, los tubos se identificaron con el nombre del voluntario, fecha y hora correspondiente, y se almacenaron a --
-14°C.

Las muestras se analizaron por el procedimiento descrito en la sección 3.6.1.

3.8 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE FENCLOFENAC EN DOS FORMULACIONES DE TABLETAS.

3.8.1 Control Farmacéutico de las tabletas en estudio.

En el estudio se utilizaron dos formulaciones de tabletas.

Formulación "A".- Formulación del producto --

innovador en forma de tabletas de 300 mg -
lote No. 82-NREA-8.

Formulación "B".- Formulación desarrollada
en este trabajo, en forma de tabletas de 600
mg, lote 14045-25.

Las pruebas de control farmacéutico efectuá-
das a las tabletas y las especificaciones es
tablecidas (39,40,41) se mencionan en la ta-
bla No. IV.

3.8.2 Selección de voluntarios.

De un grupo de voluntarios participantes, se
seleccionaron 12 voluntarios sanos del sexo
masculino (Apendice No. 3). Se excluyeron -
del estudio a aquellos voluntarios que pre--
sentaron anomalías significativas de los
sistemas: gastrointestinal, renal, hepático,
cardiorespiratorio y hematopoyético. Estas
anomalías se determinaron por medio de:
historia clínica, examen físico, electrocar-
diograma y las siguientes pruebas de labora-
torio (Apendice No. 4).

Hematología: recuento de eritrocitos, hemoglo
bina, hematocrito, leucocitos (con
recuento diferencial), plaquetas
y velocidad de sedimentación.

Química Sangüínea: Calcio, fósforo inorgánico, urea, ácido úrico, colesterol, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, dehidrogenasa láctica, -- transaminasa glutámica oxalacética y creatinina.

Urianálisis: Densidad específica, pH, glucosa, hemoglobina, cetonas, bilirrubina, urobilinógeno, exámen microscópico del sedimento.

Heces: Sangre oculta y exámen coproparasitológico.

Se excluyeron del estudio aquellos voluntarios que estuviesen bajo tratamiento médico o que -- hubieren ingerido algún medicamento, o alcohol, una semana antes de la iniciación del estudio.

3.8.3 Plan de estudio.

Diseño y Administración.

El estudio se llevó a cabo en forma de un diseño cruzado el cual se presenta en la tabla No. V.

Se le administró a cada voluntario una dosis oral única de la formulación "A" (2 tabletas - de 300 mg) y de la formulación "B" (una tableta

Tabla No. IV .- Pruebas de control y especificaciones para comprimidos de fenclofenac de 300 y 600 mg.

PRUEBA	ESPECIFICACIONES DE LAS TABLETAS	
	300 mg	600 mg
Descripción	Comprimidos redondos de color blanco, biconvexos libres de materia extraña	Comprimidos redondos de color blanco, planos, libres de materia extraña
Peso Promedio	525 mg \pm 5%	800 mg \pm 5%
Peso Unitario	Peso promedio \pm 10%	Peso promedio \pm 10%
Dureza	4-12 U.S.C.	14-18 U.S.C.
Friabilidad	Menor de 1%	Menor de 1%
Desintegración	Menos de 15 min (agua a 37°C)	Menos de 15 min (agua a 37°C)
Disolución	% Disuelto a los 5, 10, 20 y 30 min	% Disuelto a los 5, 10, 20 y 30 min
Identificación de fenclofenac por CLAR	Positiva	Positiva
Contenido de fenclofenac por CLAR	90 - 110%	90 - 110%

Tabla No. V .- Diseño del estudio de bioequivalencia de 2 formulaciones de --
fenclofenac en comprimidos de 300 mg (A) y 600 mg (B).

GRUPO No.	VOLUNTARIO No.	SEMANA DE ESTUDIO			
		I	II	III	IV
1	101, 102, 103	A		B	
2	104, 105, 106	B		A	
3	201, 202, 203		A		B
4	204, 205, 206		B		A

ta de 600 mg), dejando un período de 14 días entre una administración y otra, ingiriéndose con 250 ml de agua.

Se informó a los voluntarios acerca de los objetivos y riesgos del estudio y se obtuvo una carta de autorización firmada (Apéndice No. V). Durante la semana anterior a la fecha de inicio del estudio se les practicó a los voluntarios, pruebas de laboratorio clínico, estas pruebas se repitieron antes de la administración de la primera dosis, segunda dosis y al término del estudio.

Los voluntarios permanecieron hospitalizados en la Unidad Metabólica del Hospital General de México, de la S.S.A., durante dos períodos de siete días cada uno, registrándose sus signos vitales (presión arterial, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura). Permanecieron en ayuno a partir de las 20:00 horas del día anterior a la administración del fármaco y hasta las 10:00 horas (dos horas después) de la administración.

Durante el tiempo de estudio los voluntarios se sometieron a una dieta uniforme, balanceada de 2000 a 2500 cal/día.

Obtención de las muestras biológicas y horarios.

Se colectaron un total de 16 muestras sanguíneas de 10 ml. Para la obtención de las -- muestras correspondientes a las 4 primeras -- horas posteriores a la administración, se instaló intravenosamente un cateter (N° 21) en la vena cefálica, y se mantuvo permeable, mediante pulsaciones de aproximadamente 0.1 ml de una solución de heparina en agua destilada esterilizada (10 U USP/ml), cada 15 a 20 minutos. Las nueve muestras siguientes se -- obtuvieron por punción utilizando una jeringa heparinizada (1 gota de sol heparina 10 -- U USP/ml).

Todas las muestras se colectaron en tubos de ensayo "vacutainer", heparinizados con 143 -- U USP (B & D tapón verde) y adicionados de -- 10 mcl de una solución conservadora de KF -- al 50% (p/v).

Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre, se separó el plasma por centrifugación a 1200 rpm durante 20 minutos. El plasma obtenido se depositó en tubos de ensayo de 10 ml con tapón de hule, perfectamente identificados con el nombre, número -- de voluntario, formulación y lote, N° de -- muestra, tiempo de muestreo y fecha; y se --

almacenó a -14°C inmediatamente.

El horario de toma de muestra fue: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96 y 120 horas después de la administración del medicamento.

De las muestras plasmáticas obtenidas se extrajo el fenclofenac dentro de las 24 horas posteriores a la obtención de la muestra, utilizando el método descrito en 3.6.1. El extracto obtenido se almacenó a -14°C , durante un periodo no mayor de 7 días. Los extractos se reconstituyeron y se guardaron en viales, almacenándose en refrigeración a 5°C durante un día máximo, para posteriormente analizarse en el cromatógrafo de líquidos. Todas las muestras de un solo voluntario se inyectaron el mismo día. Se efectuaron dos inyecciones de cada muestra. El volumen de inyección fue de 180 μl para las muestras correspondientes a los siguientes tiempos de toma: 0, 0.25, 0.5, 48, 72, 96 y 120 horas y de 90 μl para las muestras a los tiempos de 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 y 36 horas, por razones evidentes de concentración.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 EVALUACION FISICA Y QUIMICA DE LOS COMPRIMIDOS OBTENIDOS DE LAS FORMULACIONES DESARROLLADAS.

En la tabla No. VI se muestran los resultados obtenidos de las pruebas de friabilidad, dureza, tiempo de desintegración y porcentaje disuelto, efectuadas a los comprimidos de fenclofenac de las formulaciones desarrolladas, que se prepararon utilizando un procedimiento de granulación húmeda. Como se puede ver, los comprimidos obtenidos no cumplen con los criterios establecidos en la sección 3.2. Además, los comprimidos fabricados por este procedimiento se laminan durante la compresión. La laminación se redujo al disminuir la dureza, sin embargo, aumento la friabilidad a más de 1%. También se observó adherencia a los punzones, por tales motivos se decidió abandonar este procedimiento de manufactura y se probó la compresión directa.

El procedimiento por compresión directa es difícil, ya que el fenclofenac es un fármaco con bajas propiedades de compresión. Los resultados de las pruebas de control farmacéutico efectuadas a los comprimidos para las formulaciones obtenidas por este procedimiento de manufactura se muestran en la tabla No. VII. Los comprimidos de las formulaciones 14045 - 11 y 14045 - 19 no pasaron la prueba de friabilidad. Los comprimidos de las formulaciones 14045 - 7, 14045 - 11 y 14045 - 17 no pasaron la prueba de desintegración, obteniéndose resultados mayores a los límites establecidos de 15 minutos.

Otros problemas observados durante el desarrollo de la

Tabla No. VI .- Pruebas de control farmacéutico efectuadas a los comprimidos de fenclofenac de 600 mg de las formulaciones desarrolladas utilizando un procedimiento de granulación húmeda.

PRUEBA	FORMULACION No.					Límites establecidos
	14045-4	14045-5	14045-6	14045-12	14045-16	
Friabilidad (%)	2.1	2.1	1.5	0.5	0.9	menor de 1%
Dureza (USC)	8.0	17.5	12.0	14.1	13.7	4 - 12 USC
Desintegración (min)	1.5	2.9	3.3	0.9	---	menor de 15
Disolución (% 20 min)	-	---	---	96.0	---	---
(% 30 min)	-	---	---	97.9	---	---
Problemas durante la manufactura						
Laminación	+	+	+	+	+	No debe haber
Adherencia a los punzones	±	±	±	±	±	No debe haber

Tabla No. VII.- Pruebas de control farmacéutico efectuadas a los comprimidos de fenclofenac de 600 mg de las formulaciones desarrolladas utilizando un procedimiento de compresión directa.

Formulación No.	14045 -7	14045 -10	14045 -11	14045 -13	14045 -17	14045 -18	14045 -19	14045 -20	14045 -21	14045 -22	Límites establecidos
Friabilidad (%)	0.35	0.85	3.9	0.38	0.63	0.65	1.23	0.67	0.50	0.85	Menor de 1%
Dureza (USC)	15.3	14.8	7.5	16.5	14.7	17.0	12.2	14.3	17.6	14.3	14 - 18 USC
Desintegración (min)	19.8	9.7	15.8	2.5	16.8	13.0	11.7	5.0	11.7	4.2	Menor de 15 min
Disolución (% 20 min)	63.5	72.4	----	----	----	----	----	----	----	96.9	
(% 30 min)	78.6	84.1	---	---	----	----	----	----	----	97.9	
Problemas durante la manufactura											
Laminación	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	No debe haber
Adherencia a los punzones	++	++	++	+++	++	++	+	+	+	-	No debe haber

formulación para comprimidos de 600 mg, fueron problemas de adherencia a los punzones principalmente y de laminación en un solo caso.

De la formulación considerada como la mejor (Lote: -- 14045 - 22), se fabricaron cuatro lotes adicionales de diferentes tamaños y en la tabla No. VIII se presentan sus características de friabilidad, dureza, desintegración y disolución. Como puede observarse, cumplen con los requisitos establecidos en la sección 3.2 cuyas características fueron reproducibles de acuerdo al tamaño del lote probado.

En la tabla No. IX se presentan los resultados de estabilidad obtenidos al someter los comprimidos de fenclofenac - desarrollados (lote No. 14045 - 23), a temperatura ambiente 45 y 60°C durante 3 meses. Se puede observar en las 3 temperaturas que el contenido de fenclofenac y la dureza se mantienen prácticamente constantes durante 90 días; la friabilidad tiende a disminuir conforme aumenta la temperatura; el tiempo de desintegración tiende a aumentar con el incremento de la temperatura, aunque permaneciendo dentro del rango permitido. En el % disuelto se observa una tendencia a disminuir conforme aumenta la temperatura, esto es más claro a los 15 y 20 min de muestreo, siendo prácticamente constante a los 30 min. Esto puede explicarse en función de que aumenta el tiempo de desintegración conforme aumenta la temperatura y a la forma en que se lleva a cabo el proceso de desintegración.

4.2 Estudio de disolución de comprimidos de fenclofenac.

4.2.1 Linearidad del método analítico utilizado para la-

TABLA NO. VIII.- Características de cinco lotes de comprimidos de fenclofenac de 600 mg, usando la formulación seleccionada como la mejor.

Lote No. (No. de tabletas)	14045-22 (200)	14045-23 (300)	14045-39 (1000)	14045-146 (1500)	14045-25 (3000)
Friabilidad (%)	0.25	0.86	0.87	0.21	0.43
Dureza (USC)	14.8	13.2	12.1	15.0	16.1
Desintegración (min)	9.15	4.92	5.3	12.8	11.0
Disolución (% 20 min)	---	99.37	95.59	---	---
Disolución (% 30 min)	---	99.95	94.59	102.94	97.29

Tabla No. IX.- Estabilidad acelerada de comprimidos de fenclofenac de 600 mg (lote No. 14045 - 23).

PRUEBA	Inicial T.A.	15 días		45 días		90 días		
		45°C	60°C	45°C	60°C	T.A.	45°C	60°C
Contenido de fenclofenac	98.44	97.50	94.95	98.01	97.38	99.66	98.87	98.52
% disuelto a los 15 min	99.68	----	----	----	----	98.63	94.45	89.31
% disuelto a los 20 min	99.37	----	----	----	----	97.92	93.86	93.52
% disuelto a los 30 min	99.95	----	----	----	----	98.73	94.80	97.77
Dureza (USC)	12.14	----	----	----	----	12.95	12.98	14.43
Friabilidad (%)	0.86	----	----	----	----	0.91	0.50	0.00
Desintegración (min)	4.92	----	----	----	----	4.45	6.46	8.91

prueba de disolución.

Se determinó la linealidad del método espectrofotométrico utilizado para la determinación de fenclofenác en el medio de disolución, en un intervalo de concentración de 10 a 200mg/ml. Al graficar absorbancia contra concentración, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9998, una pendiente de 0.005 y un intercepto de 0.023 (Fig. No. 2), esto indica que la respuesta es lineal en el intervalo de concentraciones probadas, en el que están comprendidas las lecturas obtenidas al realizar la prueba de disolución de tabletas de fenclofenác.

4.2.2 Influencia de la dureza sobre la velocidad de disolución de tabletas de fenclofenác de 600mg.

Con el objeto de determinar el efecto de la dureza sobre la disolución, se prepararon cuatro lotes de tabletas utilizando la misma formulación y se comprimieron a diferentes niveles de dureza. Se observó, que a mayor dureza, es mayor el tiempo de desintegración y a menor tiempo de desintegración, la velocidad de disolución es mayor, como se puede ver en la fig. No. 3.

Se determinó que la dureza afecta a la velocidad de disolución, pero no al porcentaje total disuelto a los 30 minutos, en los cuatro lotes de tabletas de fenclofenác.

4.2.3 Comparación de la velocidad de disolución entre una y dos tabletas de fenclofenác de 300 mg.

En la fig. No. 4, se grafican los resultados obtenidos al realizar la prueba de velocidad de disolución de tabletas de fenclofenác de 300 mg de un mismo lote utilizando ---

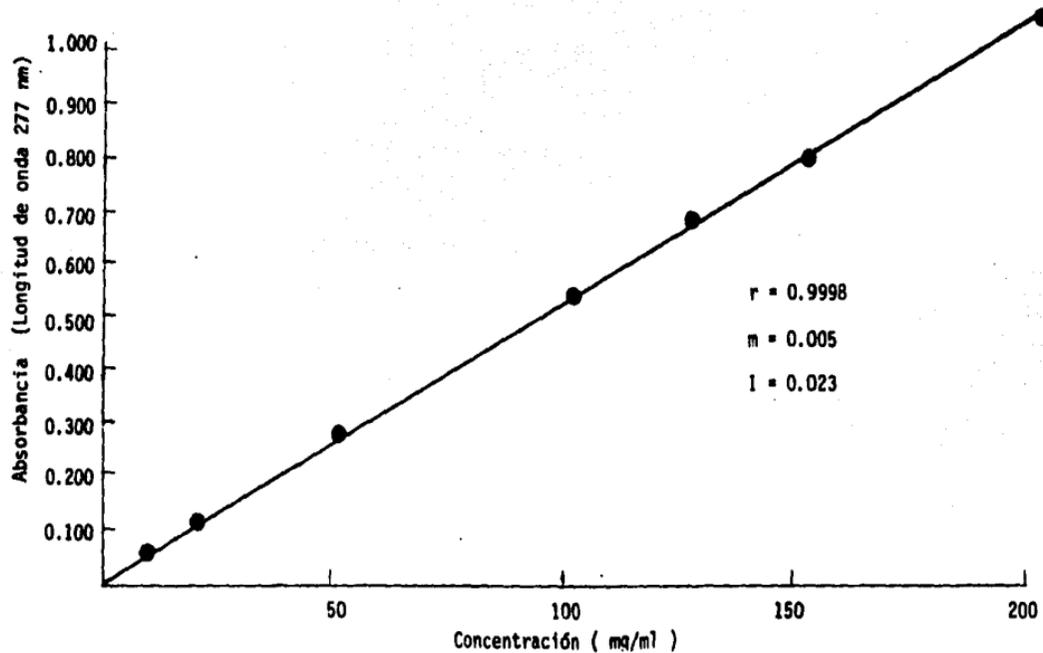


Figura No. 2.- Curva estándar de fenclorfenac en solución reguladora de fosfatos (medio de disolución)

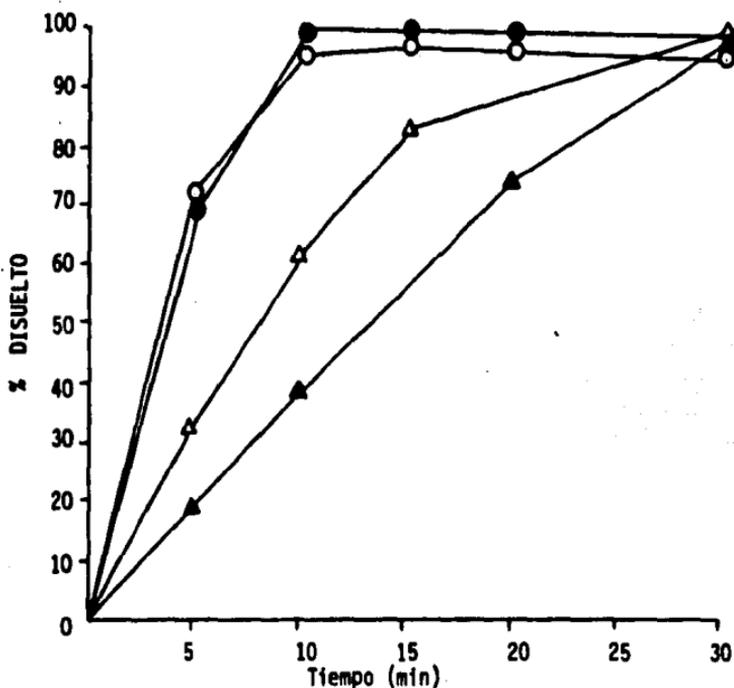


Fig. No. 3.- Gráfica de velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac de 600 mg de la misma formulación, fabricadas a diferentes durezas.

Dureza (USC) Desintegración (min) Lote No.

○	12.1	5.3	12934-39
●	13.2	4.9	14045-23
△	15.0	12.8	12934-146
▲	16.1	11.0	14045-25

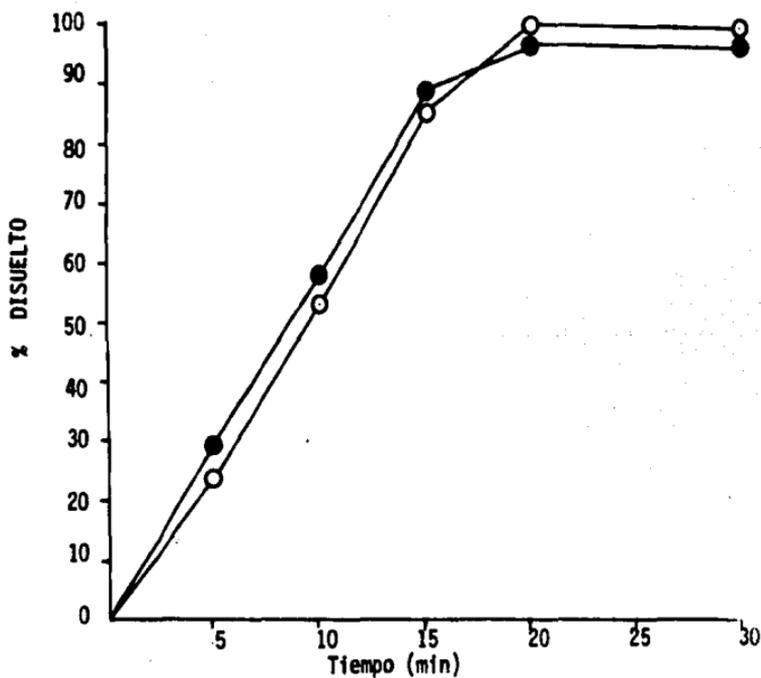


Figura No. 4.- Gráfica de velocidad de disolución de diferente número de tabletas de fenclofenac de 300 mg.
(formulación del producto innovador).

- 1 tableta de 300 mg
- 2 tabletas de 300 mg

una y dos tabletas. Se puede observar que los porcentajes disueltos de fenclofenac son los mismos y que la velocidad de disolución no se altera. De esta manera se puede asegurar que al realizar la prueba de disolución utilizando una o dos tabletas de fenclofenac, no va a tener algún efecto sobre el porcentaje disuelto, pudiendo utilizar como referencia dos tabletas de 300 mg para poder compararla contra una tableta de 600 mg de la formulación desarrollada y así establecer diferencias de disolución en diferentes formulaciones de prueba, aún no teniendo la misma cantidad de activo por tableta.

4.2.4 Velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac de 600 mg, formulación desarrollada y tabletas de 300 mg, formulación del producto innovador.

Habiendo demostrado en el experimento anterior que el utilizar 1 ó 2 tabletas de fenclofenac de 300 mg no modifica el porcentaje disuelto, en la figura No. 5 se presentan las curvas de disolución comparativas en las que se usaron 1 tableta de 600 mg de la formulación desarrollada y 2 tabletas de 300 mg de la formulación del producto innovador. Como se puede observar, los porcentajes disueltos a los 30 minutos son los mismos para las dos formulaciones de tabletas, aunque la velocidad de disolución es menor en este caso para el lote de tabletas de 600 mg, no sucediendo esto si se compara con otros lotes de la misma formulación de 600 mg, ver figura No. 3.

Estos dos lotes de tabletas mencionados en la figura No. 5, fueron los empleados en el estudio de bioequiva

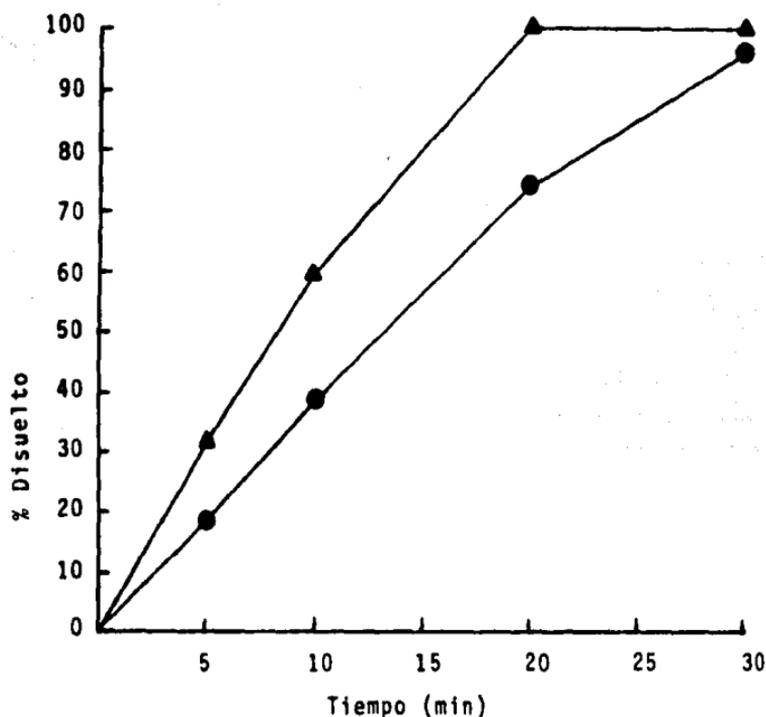


Figura No. 5.- Gráfica de velocidad de disolución de tabletas de fenclofenac de 300 mg Lote No. 82-NREA-8 -- y tabletas de fenclofenac de 600 mg Lote No. 14045-25

- ▲ 2 tabletas de 300 mg (formulación del producto innovador)
- 1 tableta de 600 mg (formulación desarrollada)

lencia (sección 3.8). Se decidió utilizar este lote que - presenta menor velocidad de disolución, para comprobar que aún teniendo este perfil de disolución la biodisponibilidad de las tabletas desarrolladas es adecuada.

4.3 METODO ANALITICO PARA DETERMINAR FENCLOFENAC EN TABLETAS

4.3.1 Especificidad del método.

El estudio de especificidad en tabletas y en placebo de tabletas de fenclofenac a temperatura ambiente, almacenadas a 55 y 75°C durante 3,7 y 14 días se realizó para determinar si los excipientes, sus productos de degradación o de interacción con el fármaco o los productos de degradación de este, interfieren con el análisis de fenclofenac.

En la figura No.6 se presentan los cromatogramas obtenidos de las muestras de fenclofenac (b,d y f) y del placebo de los comprimidos de fenclofenac (a,c y e), en los cuales no se observa la presencia de picos extraños en los tiempos de retención del fenclofenac y del estándar interno, por lo que se puede decir, que no se presentan interferencias en el método.

4.3.2 Tolerancia del sistema cromatográfico.

En la tabla No. X se presentan los factores de resolución y los tiempos de retención resultantes al variar la proporción de metanol en la fase móvil. Se observa un aumento en el tiempo de retención del fenclofenac y del estándar interno al disminuir en 10% el metanol y una disminución en el tiempo de retención de ambos al aumentar en 10% el metanol de la fase -

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

móvil, no mostrando un cambio significativo en el factor de resolución, siendo óptimo aún con los cambios mencionados de la fase móvil y eligiendo como porcentaje la proporción de 70:30 para el metanol / ácido acético al 1%

Se probó la influencia del cambio en la proporción de uno de los componentes del sistema, ya que se pueden presentar pequeñas variaciones en el suministro de ésta cuando se trabaja con dos bombas o durante su preparación, los cuales podrían traer como consecuencia una resolución poco apropiada y por lo tanto errores en la cuantificación.

Como los cambios que pudieran ocurrir en nuestro sistema son mucho menores de $\pm 10\%$, podemos asegurar que el sistema - cromatográfico soporta cambios en la proporción de metanol en $\pm 10\%$, sin tener efecto sobre el factor de resolución.

El factor de resolución se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$R = \frac{t_2 - t_1}{1/2 ((A_1 + A_2) / V)}$$

t = tiempo de retención

1 = estándar interno

2 = fenclofenac

A = ancho del pico (cm)

V = velocidad de la carta (cm/min)

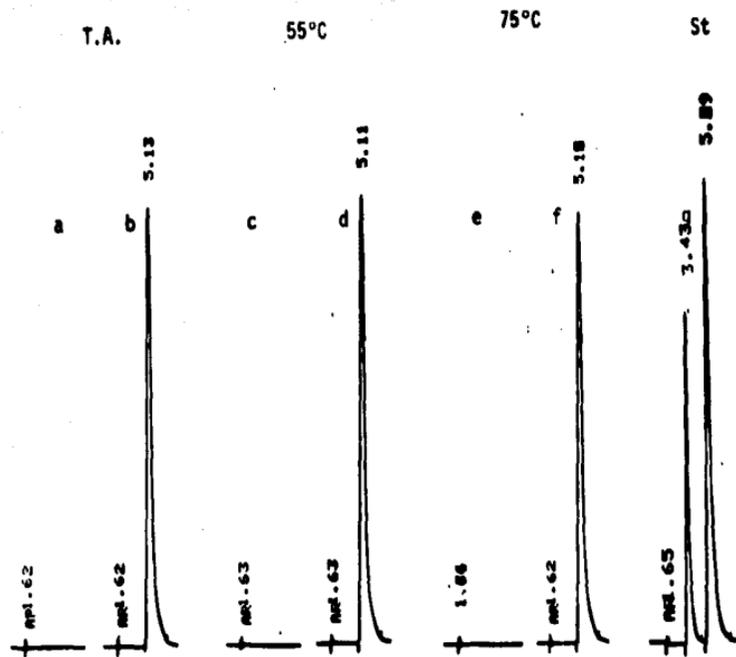


Figura No. 6.- Cromatogramas de muestras extraídas de comprimidos de fenclofenac (b,d,f) y su placebo (a,c,e) a temperatura ambiente, 55 y 75°C durante 14 días, (g) estándar de referencia

Tabla No. X.- Tolerancia del sistema cromatográfico al cambio en la proporción de la fase móvil.

% de cambio de metanol (MeOH/Ac. Acético 1%)	Factor de resolución	Tiempo de retención (min)	
		Fenclofenac	Estándar Interno
+ 10% (77:30)	3.07	6.09	3.91
0% (70:30)	3.38	5.15	3.51
- 10% (63:30)	3.88	4.73	3.40

4.3.3 Linearidad y precisión del sistema cromatográfico.

La respuesta fue lineal en un rango de concentraciones de 1.8 - 4.2 mg/ml, correspondiente a un intervalo de 60% a 140% del procedimiento de análisis (3.5.1). El coeficiente de correlación obtenido de la concentración vs la respuesta (dada por la relación de áreas de fenclofenac y estándar interno), fue de 0.9999, como se puede observar en la figura No. 7.

Para demostrar la precisión del sistema cromatográfico se efectuaron 6 inyecciones del estándar de fenclofenac en metanol (concentración 3mg/ml), en la tabla No. XI se presenta el coeficiente de variación encontrado, siendo de 0.352%

Tabla No. XI .- Precisión del sistema cromatográfico para el análisis de tabletas de fenclofenac de 600mg.

Estándar de fenclofenac (3 mg/ml) No. de inyección	Relación de áreas fenclofenac/estándar interno
1	1.6858
2	1.6810
3	1.6767
4	1.6869
5	1.6755
6	1.6903
\bar{X}	1.6827
D.E.	0.0059
Coeficiente de variación %	0.3523

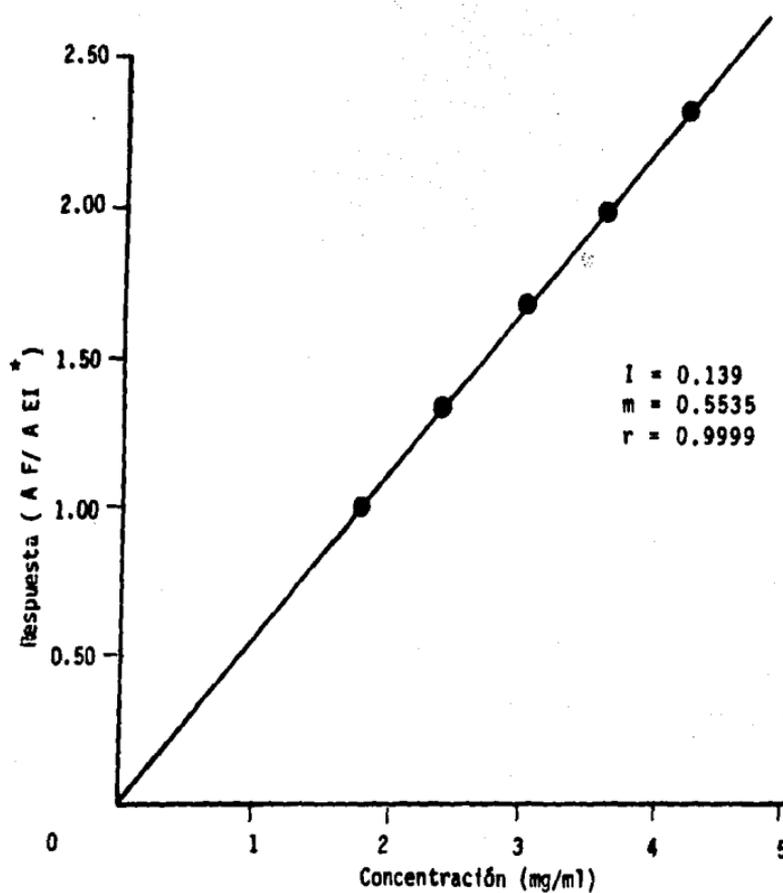


Figura No. 7.- Linearidad del sistema para tabletas de fenclofenac de 600 mg.

* AF/ A EI = Area del fenclofenac/area del estándar in terno

Tabla No. XII.- Resultados experimentales de los % recuperados de fenclofenac en la determinación de precisión y exactitud del metodo analítico para - tabletas de fenclofenac de 600 mg.

Inyección-muestra	T ₁ *	T ₂ *	T ₃ **	T ₄ **
	80 %	120 %	80 %	120 %
1 - 1	98.89	100.99	98.10	100.01
2 - 1	100.09	99.87	99.55	99.92
3 - 2	100.07	100.17	99.42	100.02
4 - 2	100.87	100.26	99.70	99.70
5 - 3	101.02	100.06	100.57	99.71
6 - 3	100.89	100.05	99.03	99.17

* T₁, T₂ = % de fenclofenac recuperado al variar \pm 20% el tamaño de la muestra del - procedimiento normal de analisis (400 mg equivalentes a 300 mg). Pesos de las muestras respectivamente 320 y 480 mg.

** T₃, T₄ = % de fenclofenac recuperado al variar \pm 20% el contenido de excipientes - de la formulación normal de tabletas de fenclofenac. Peso de las muestras respectivos: 380 y 420 mg.

4.3.4 Precisión y exactitud del método.

La precisión del método se determinó calculando la variación existente en los porcentajes recuperados de fenclofenac al variar el peso de las muestras en $\pm 20\%$ del procedimiento normal de análisis y al variar $\pm 20\%$ el contenido de excipientes en las muestras (Tabla No. XII).

Se efectuó un análisis de varianza para determinar si las variaciones encontradas eran o no significativas; ob^uteniendo un valor de 1.6 para el estadígrafo "F" el cual -- fue menor al reportado en tablas de 2.27 con 10 % de significancia, por tanto no existen diferencias estadísticamente significativas y podemos decir que nuestro método analítico utilizado para determinar fenclofenac en tabletas de 600 mg, es preciso, ver tabla No. XIII.

La exactitud del método se determinó calculando la variabilidad entre los tratamientos mencionados anteriormente. Se calculó el valor de F mediante un análisis de varianza, encontrando un valor de 1.37, menor a 2.49 reportado en tablas con el 10 % de significancia, por lo tanto el método es exacto, ya que se recupera el 100 % de fenclofenac y la variación no es estadísticamente significativa, -- ver tablas XII y XIII.

4.3.5 Reproducibilidad del método analítico para tabletas de fenclofenac de 600 mg.

La tabla No. XIV muestra los porcentajes recuperados de fenclofenac al analizar 6 muestras de un mismo lote de -

tabletas de fenclofenac en dos días diferentes. El análisis estadístico para los datos del primer día tuvieron un promedio de 100.64% y un coeficiente de variación de 0.47% . Para el segundo día los valores encontrados fueron 99.74 % y 0.47% para el promedio y el coeficiente de variación respectivamente. De acuerdo a estos resultados, en donde la recuperación de fenclofenac es muy buena y el coeficiente de variación muy pequeño, podemos decir que el método analítico es reproducible.

4.3.6 Estabilidad del fenclofenac en muestras extraídas y almacenadas en viales a 5°C.

Las muestras se analizaron según el método descrito en la sección 3.5.1. Los resultados aparecen en la tabla - No. XV. Se pudo observar que a las 72 horas no hay disminución del % de fenclofenac recuperado inicialmente. Además las variaciones en el % recuperado fueron propiamente despreciables, como lo muestran las desviaciones estándar, menores del 1% , por lo cual, se puede asegurar que las muestras - extraídas son estables al menos durante 72 horas cuando se almacenan en viales cerrados y a 5°C.

Tabla No. XIII.- Analisis de varianza para demostrar la precisión y exactitud del método analítico para fenclofenac en tabletas de 600 mg.

Fuente de variación	gl - 1	Variación Cuadrática	Cuadrado medio	F Calculada	F Tablas 10%
Total	23	11.163	0.485		
Tratamientos(Exactitud)	3	1.689	0.563	1.37	2.49
Muestras (Precisión)	5	3.295	0.659	1.60	2.27
Residual	15	6.179	0.412		

Tabla No. XIV .- Reproducibilidad del método analítico para fenclofenac en tabletas de 600 mg. Lote : 12934-146.

Muestra No.	% Recuperado dfa 1	% Recuperado dfa 2
1	99.90	99.46
2	101.05	100.17
3	101.04	99.63
4	100.65	99.63
5	100.96	99.86
6	100.27	99.73
\bar{X}	100.64	99.74
D.S.	0.47	0.25
C.V. (%)	0.47	0.25

Tabla No. XV.- Estabilidad de fenclofenac en muestras de tabletas de 600 mg, extraídas y almacenadas en viales a 5°C.

Muestra-% pesado	Inicial	24 hrs.	72 hrs.	\bar{x}	DS
1 - 80	99.53	99.49	99.65	99.56	0.08
2 - 80	99.10	100.47	99.55	99.70	0.70
3 - 80	98.91	100.95	100.82	100.53	0.62
4 -120	100.47	100.43	100.31	100.40	0.08
5 -120	99.50	100.21	100.28	100.13	0.21
6 -120	99.53	100.05	99.89	99.82	0.27

4.4 METODO ANALITICO PARA FENCLOFENAC EN PLASMA.

4.4.1 Especificidad del método.

En la figura No. 8 se presentan los cromatogramas - obtenidos del plasma tratado, por el método desarrollado - (sección 3.6.1) de uno de los 7 voluntarios, que participa ron en esta prueba.

Como se puede observar, con este método no se extraen componentes del plasma que interfieran con el método. En el cromatograma de plasma, libre de fenclofenac, no se presenta absorción a los tiempos de retención del fenclofenac y del - estándar interno (cromatograma b), tampoco existen productos metabólicos en el cromatograma de plasma después de la administración de una tableta de fenclofenac (cromatogramac y d)

Los cromatogramas obtenidos para el plasma en las mismas condiciones que en la figura No. 8 de los siete -- voluntarios restantes, tampoco presentaron interferencias, por lo que podemos decir que el método desarrollado es - específico para fenclofenac en plasma.

4.4.2 Linearidad del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma.

En la figura No. 9 se presenta la gráfica resultante de los datos de concentración contra respuesta obtenidos para fenclofenac en un intervalo de concentración de - - 2 a 80 mcg/ml.

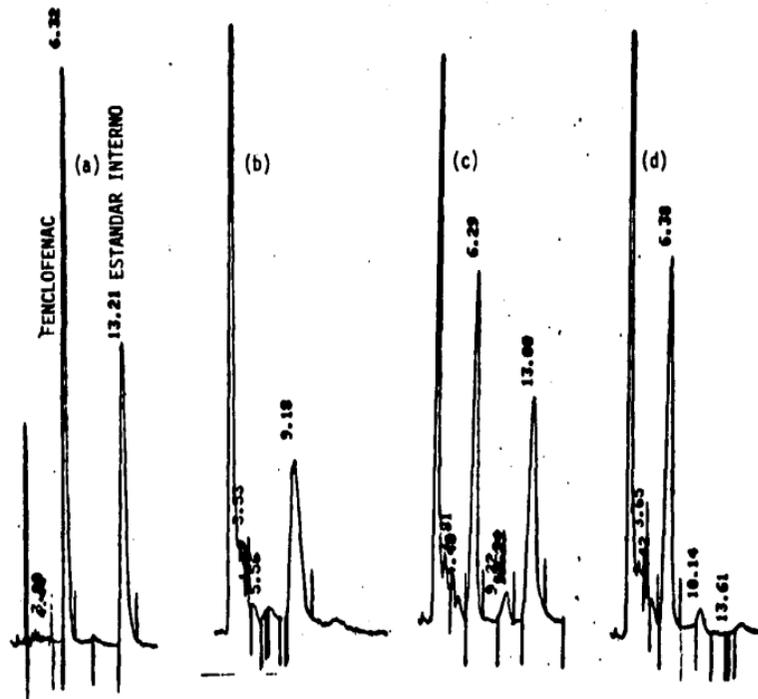


Figura No. 8.- Especificidad del método para fenclofenac en plasma. (a) Cromatograma del estándar de referencia de fenclofenac más estándar interno. (b) Cromatograma de plasma humano libre de fenclofenac. (c) Cromatograma de plasma de un voluntario después de la administración de una tableta de fenclofenac, adicionando a la muestra estándar interno. (d) Cromatograma de plasma del mismo voluntario, después de la administración de una tableta de fenclofenac (muestra sin adicionar estándar interno)

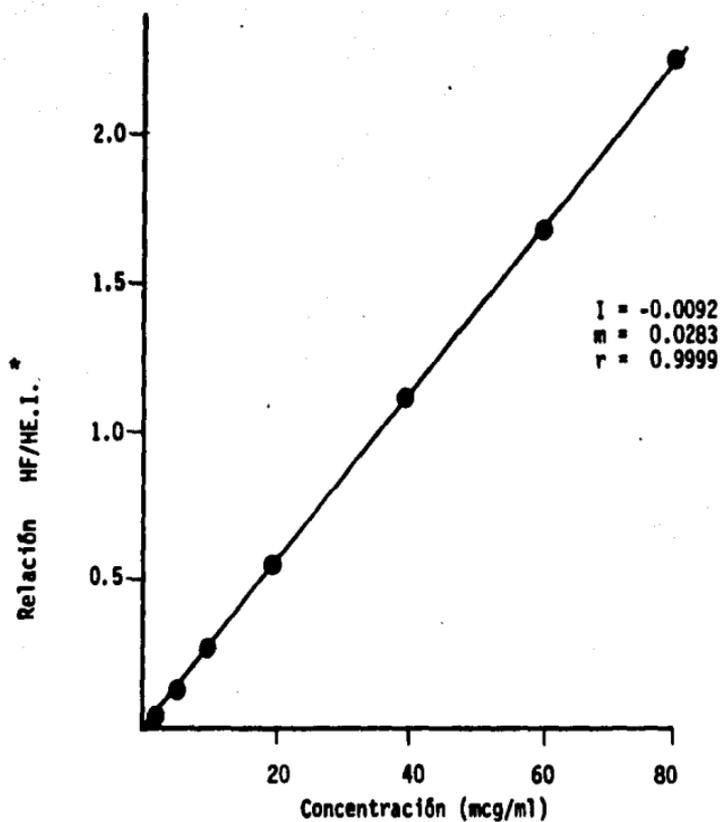


Figura No. 9.- Linearidad del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma

* HF/HE.I. = Altura del pico de fenclofenac/altura del pico del estándar interno

Al efectuar el análisis de regresión de los datos, se encontró que la respuesta fue lineal, obteniéndose una pendiente de 0.0283, un intercepto de -0.0092 y un coeficiente de correlación de 0.9999; siendo la ecuación de la recta : $Y = 0.0283 X - 0.0092$, con lo cual demostramos que nuestro sistema es lineal en el intervalo de concentración probado.

4.4.3 Precisión del sistema para la determinación de fenclufenac en plasma.

En la tabla No. XVI se reportan las respuestas obtenidas de 5 muestras de estándares de fenclufenac a concentraciones de 2, 40, y 80 mcg/ml (sección 3.6.4), las respuestas están dadas por la relación de áreas obtenidas de fenclufenac entre el estándar interno y se obtienen coeficientes de variación de 2.163, 3.395 y 3.229% para las concentraciones de 2, 40 y 80 mcg/ml respectivamente, de esta manera podemos decir que el sistema es preciso.

Tabla No. XVI. Precisión del sistema para la determinación de fenclofenac en plasma.

No. de muestra	Respuesta	(AF/AEI)*	
	2 mcg/ml	40 mcg/ml	80 mcg/ml
1	0.0490	1.1164	2.2442
2	0.0478	1.1421	2.2799
3	0.0477	1.1421	2.3618
4	0.0493	1.0529	2.1927
5	0.0502	1.0843	2.1831
X	0.0488	1.1076	2.2523
D.E.	0.0011	0.0387	0.0727
C.V. (%)	2.1638	3.3948	3.2290

*Relación de áreas de fenclofenac entre el estándar interno.

4.4.4 Exactitud del método para fenclofenac en plasma.

En la Tabla No. XVII se muestran los datos del análisis de las muestras de plasma adicionadas de fenclofenac a concentraciones de 2 a 80 mcg/ml. El promedio del % recuperado de fenclofenac fue 102.5% y el coeficiente de variación de 5.48%. Al realizar la prueba de hipótesis " t de Student " se obtuvo un valor de 1.1769, menor al valor obtenido en tablas con un 90% : 1.943, concluyendo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones teóricas y las recuperadas y que por tanto nuestro método es exacto. Además al efectuar el análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados a los valores de la tabla No. XVII, se obtiene un coeficiente de correlación de 0.9979 con un intercepto de 0.3579 y una pendiente de 0.9988 por lo que, se puede decir también, que el método es lineal en el intervalo de concentraciones probadas.

4.4.5 Precisión del método analítico para fenclofenac en plasma.

En la tabla No. XVIII se muestra el porcentaje de recuperación obtenido al extraer muestras plasmáticas de fenclofenac a concentraciones de 2, 5, 40 y 80 mcg/ml. Se calculó el promedio del % recuperado, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada una de las concentraciones siendo el último parámetro de 11.1, 1.59, 3.42 y 3.67 respectivamente para las concentraciones plasmáticas de 2, 5, 40 y 80 mcg/ml.

Como se puede observar el método es preciso ya que los

Tabla No. XVII.- Exactitud del método analítico de fenclofenac en muestras plasmáticas.

Concentración de fenclofenac (mcg/ml)		% recuperado
Téorica	Recuperada	
2	1.97	98.7
5	5.04	100.7
10	11.22	112.2
20	21.70	108.5
40	39.87	99.7
60	56.70	94.5
80	82.76	103.4
		-
		X
		102.5
		DE
		5.62
		CV(%)
		5.48

coeficientes de variación fueron aceptables.

4.4.6 Número óptimo de extracciones para la recuperación de fenclofenac en plasma.

Para asegurar la óptima recuperación de fenclofenac, se extrajeron muestras plasmáticas de fenclofenac de concentración conocida; en la tabla No. XIX se presentan los resultados --- obtenidos al efectuar, por triplicado 1,2,3,4 y 5 extracciones.

Al efectuar la 1a. y 2a. extracción se puede observar - una mayor variabilidad en los resultados que cuando se hacen - 3,4 ó 5 extracciones.

De acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que al extraer por cuadruplicado las muestras plasmáticas se puede asegurar una buena recuperación de fenclofenac.

4.4.7 Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y almacenadas a refrigeración.

En la tabla No. XX se presentan los resultados obtenidos de muestras plasmáticas de fenclofenac extraídas , reconsti--- tuidas y almacenadas en viales a refrigeración.

Tabla No. XVIII.- Precisión del método para fenclofenac en muestras plasmáticas.

Conc. adicionada de fenclofenac (mcg/ml)	Conc. recuperada de fenclofenac (mcg/ml)	% recuperado de fenclofenac
2.0	1.93	96.4
2.0	1.90	94.8
2.0	1.88	94.2
2.07	2.07	99.8
5.0	4.86	97.2
5.0	4.94	98.7
40.0	39.61	99.0
40.0	41.83	104.6
40.0	43.41	108.5
40.7	42.97	105.6
40.7	43.43	106.7
80.0	85.91	107.4
80.0	79.21	99.0
81.4	81.34	99.9
81.4	81.74	100.4

Conc. de Fenc. (mcg/ml)	% de fenclofenac promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
2	96.3	2.51	2.61
5	97.2	1.55	1.59
40	104.9	3.59	3.42
80	102.4	3.76	3.67

Tabla No. XIX.- Número óptimo de extracciones para la recuperación de fenclofenac en plasma.

	% de fenclofenac recuperado				
	No. de extracciones				
	1	2	3	4	5
	109.35	100.96	102.04	99.83	103.59
	90.43	97.40	103.02	102.42	103.34
-	91.40	100.32	103.49	102.66	104.91
X	97.06	99.46	102.85	101.66	103.95
DE	9.69	2.23	1.09	1.49	1.06

Al efectuar el análisis estadístico de los datos, se puede decir que las muestras son estables 17 días bajo refrigeración.

4.4.8 Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas, sin reconstituir.

Se extrajeron muestras plasmáticas de fenclofenac y se almacenaron secas a -14°C , en tubos tapados durante 8 y 12 días, no se observó diferencia en las concentraciones recuperadas de fenclofenac, como se puede ver en la tabla No. XXI.

4.4.9 Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma congeladas.

En la tabla No. XXII se presentan los datos de cuatro voluntarios después de recuperar el fenclofenac de muestras plasmáticas, las cuales se extrajeron a los 0, 4, 6 y 12 días después de almacenarse a -14°C . Como puede observarse del análisis estadístico, las muestras se mantuvieron estables -- durante 12 días, siendo los coeficientes de variación menores de 5% para cada una de las muestras.

4.5 Estudio preliminar de biodisponibilidad en voluntarios.

En la tabla No. XXIII se presentan los datos de concentración plasmática de 3 voluntarios sanos, obtenidos -- después de la administración oral de 600 mg de fenclofenac lote 14045 - 25, los cuales sirvieron para ajustar los tiempos de muestreo en el estudio de bioequi ---

Tabla No. XX.- Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y reconstituidas, almacenadas en viales a 5°C.

Vol. No.	Concentración de fenclofenac (mcg/ml)				
	Analisis Inicial	3 días	17 días	\bar{x}	CV(%)
1	41.12	40.72	39.80	40.50	1.67
2	33.69	33.38	33.04	33.37	0.97
3	40.37	41.32	40.16	40.61	1.52
4	36.68	36.20	35.77	36.22	1.26
5	46.42	46.17	44.56	45.72	2.21
6	44.14	43.94	42.35	43.48	2.25
7	30.53	30.58	30.01	30.37	1.04

Tabla No. XXI.- Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma extraídas y almacenadas en tubos a -14°C, sin reconstituir.

Voluntario No.	Muestra tiempo (hrs)	Concentración inicial (mcg/ml)	Conc. después del almacenamiento (mcg/ml)	tiempo de almacenamiento (días)
1	2	3.49	3.63	8
1	4	46.99	44.31	8
2	4	56.35	54.67	8
2	1	30.24	29.64	8
3	2	48.92	47.31	12
3	3	56.59	56.42	12

Tabla No. XXII.- Estabilidad de fenclofenac en muestras de plasma almacenadas a -14°C.

Vol.		Concentración de fenclofenac (mcg/ml)				
No.	Inicial	4 días	6 días	12 días	\bar{X}	CV(%)
1	76.93	82.24	83.40	83.71	81.57	3.87
2	80.01	85.60	80.76	79.89	81.57	3.33
3	71.30	69.23	72.46	77.26	72.56	4.69
4	54.16	56.19	53.52	54.22	54.52	2.12

valencia de tabletas de fenclofenac y para determinar si las concentraciones plasmáticas de las muestras obtenidas durante dicho estudio, estaban dentro del intervalo de concentraciones establecidas en la curva patrón (2-80 mcg/ml).

La Figura No. 10 presenta la gráfica de \ln de la concentración contra tiempo de los datos reportados en la Tabla No. XXIII para cada voluntario y en la Tabla No. XXIV se reportan los parámetros t_{max} , C_{pmax} , obtenidos directamente de los datos, el ABC Q-t, calculado por la regla de los trapezoides, la β obtenida por el análisis de regresión por mínimos cuadrados y la $t_{1/2}$.

De acuerdo a los resultados observados se determinó que era necesario aumentar los tiempos de muestreo proponiéndose como tiempos de muestreo adicionales 3, 6, 12, 36 y 120 horas.

Los voluntarios No. 1 y 2 presentaron concentraciones plasmáticas de fenclofenac muy similares a cada tiempo de muestreo, no sucediendo lo mismo con el voluntario No. 3 en donde se observa un retraso en la absorción.

Los resultados obtenidos en el estudio preliminar se compararon con un estudio farmacocinético reportado por Henson y col. en 1980 (21), observándose que los parámetros encontrados fueron similares a los de nuestro estudio preliminar.

Se comprobó que las concentraciones de fenclofenac en las muestras plasmáticas después de una dosis oral de 600 mg se encontraban en el intervalo de linealidad establecido en el método analítico 4.4.4 por tanto no fue necesario efectuar diluciones de la

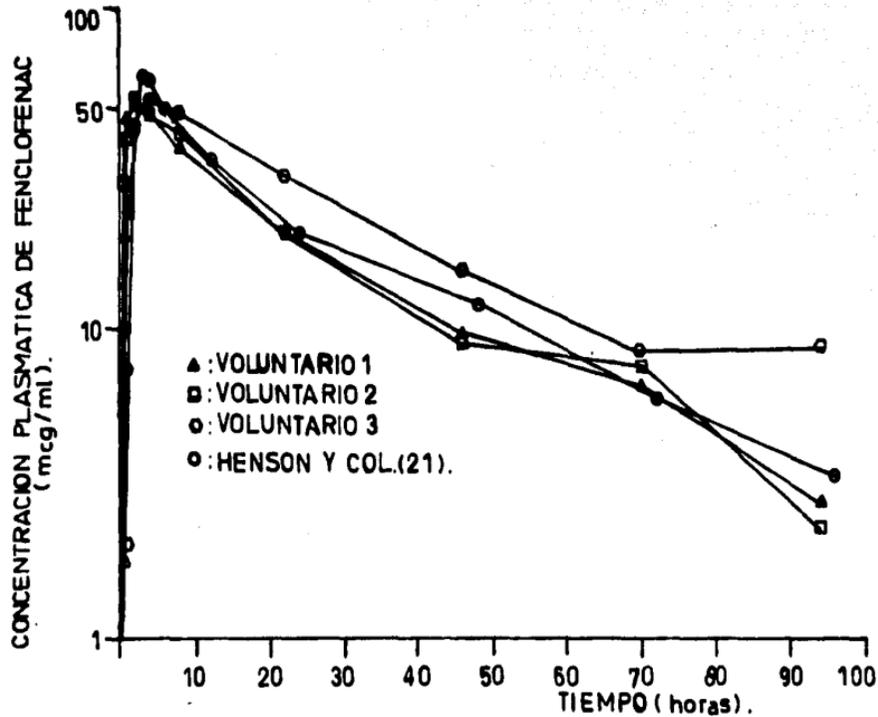


Figura No.10.- Grafica de ln de concentración contra tiempo de 3 voluntarios despues de una dosis oral de 600 mg de fenclofenac y promedio de 9 voluntarios despues de la administracion de la misma dosis reportado por Henson y col.(21).

Tabla No. XXIII.- Concentraciones plasmáticas de fenclofenac en 3 voluntarios después --
de la administración oral de una tableta de 600 mg Lote No. 14045-25

Tiempo de muestreo (Hrs)	Concentración (mcg/ml)		
	Voluntario No.1	Voluntario No.2	Voluntario No.3
0.25	1.78	5.96	0.8
0.5	19.84	29.33	2.03
1.0	47.54	40.00	7.71
2.0	51.44	57.95	46.51
4.0	48.58	48.34	54.05
8.0	37.29	41.62	50.67
22.0	21.55	19.85	30.79
46.0	9.53	8.75	15.09
70.0	6.31	7.60	8.40
94.0	2.70	2.20	8.80

Tabla No. XXIV. Parámetros farmacocinéticos obtenidos para fenclofenac después de una dosis oral única de 600 mg, de la formulación desarrollada (Lote No. 14045-25) en tres voluntarios.

Parámetro	(Unidad)	Voluntario No. 1	Voluntario No. 2	Voluntario No. 3
$ABC_{0-94 \text{ hrs.}}$	(mcg/mlxhr)	1482.9	1504.92	2030.52
$C_{p_{\max}}$	(mcg/ml)	51.44	57.95	54.05
t_{\max}	(hrs)	2.0	2.0	4.0
$t_{1/2}$	(hrs)	23.9	25.48	36.48
β	(hrs ⁻¹)	0.029	0.027	0.019

El ABC se calculó utilizando la regla de los trapezoides. $\int_{t=0}^{t=n} ((C_1+C_2)/2) (t_2-t_1)$

$C_{p_{\max}}$ se obtuvo directamente de los valores obtenidos.

t_{\max} se obtuvo directamente de los valores obtenidos.

$$t_{1/2} = 0.693/\beta$$

β se calculó a partir de la pendiente correspondiente de los datos de \ln de la concentración contra tiempo de las 22 a 94 horas.

muestra.

4.6 Análisis estadístico modelo independiente de dos formulaciones de fenclofenac en voluntarios.

Dosis oral única.

En la tabla No. XXV se dan las características de los comprimidos de 600 y 300mg, utilizados para este estudio.

Los datos de concentración plasmática de fenclofenac - obtenidos después de la administración oral de 600 mg en dos formulaciones de tabletas de fenclofenac se muestran en las tablas XXVI y XXVII.

Después de la administración de la primera dosis de fenclofenac el voluntario No. 202 preguntó si debería seguir tomando mebendazol. El voluntario 204, un día anterior a la segunda administración de la dosis de fenclofenac ingirió alcohol.

Para cumplir con el protocolo establecido se excluyeron del análisis estadístico las concentraciones plasmáticas de estos voluntarios.

Tabla No. XXV.- Características de los comprimidos de fenclofenac de 600 mg desarrollados, lote No. 14045 -25 ; --- comparados con las tabletas de 300 mg, formula -- ción del producto innovador, lote No. 82-NREA-8. Especificaciones tabla No. IV.

PRUEBA	FORMULACION DESARROLLADA Comprimidos de 600 mg	FORMULACION DEL INNOVADOR Comprimidos de 300 mg
Descripción	Comprimidos redondos- de color blanco, bicon- vexos, libres de mate- ria extraña.	Comprimidos redondos de color blanco, planos y libres de materia --- extraña.
Peso promedio	801.23 mg	519.9 mg
Dureza	16.07 USC	10.50 USC
Friabilidad	0.43%	0.40%
Desintegración	11.0 min	4.3 min
Disolución		
5 min	18.69 %	33.01 %
10 min	38.08 %	58.89 %
20 min	74.19 %	100.79 %
30 min	97.29 %	99.96 %
Identificación de fenclofenac	Positiva	Positiva
Contenido de fenclofenac	99.47 %	96.15 %

Tabla No. XXVII Concentraciones plasmáticas obtenidas después de la administración oral de 1 tableta de fenclofenac, de la formulación desarrollada de 600 mg Lote 14045-25 a 10 voluntarios sanos.

Voluntario No.	Iniciales	Dosis (mg/kg)	Concentraciones plasmáticas (mcg/ml)														
			Tiempo (hrs)														
			0.25	0.50	1	2	3	4	6	8	12	24	36	48	72	96	120
101	A.E.	9.5	0.60	14.7	60.7	68.5	67.0	66.9	62.4	57.3	43.5	32.6	30.0	20.5	11.8	7.58	3.70
102	F.A.	10.6	19.2	55.1	79.3	81.6	83.4	77.1	68.1	60.0	50.0	44.8	32.8	22.7	13.8	8.07	4.64
103	R.G.	8.7	1.12	26.4	46.5	58.1	59.5	63.0	50.4	46.5	36.2	25.4	18.5	15.4	8.16	4.01	3.44
104	J.M.	10.7	1.08	1.11	3.10	4.10	69.1	66.7	59.9	55.4	42.2	28.3	18.8	14.9	5.97	2.85	1.69
105	B.H.	10.2	0.40	0.47	6.10	47.6	59.6	56.0	48.2	46.4	40.1	19.7	15.0	12.3	4.99	2.44	1.42
106	A.P.	7.1	5.49	36.4	44.2	46.5	47.4	36.7	34.3	31.9	27.2	15.8	11.7	7.93	4.68	1.77	1.16
201	M.R.	9.4	2.73	12.0	27.1	45.6	52.7	50.9	37.3	31.2	27.5	16.0	10.5	6.60	3.75	2.02	1.24
203	MA C	9.7	0.00	0.69	2.96	13.6	61.7	58.3	49.2	44.5	33.5	17.4	14.7	10.1	5.23	3.90	1.75
205	W.B.	8.6	0.00	0.31	7.59	31.7	44.5	41.0	35.2	33.1	31.3	17.7	13.7	10.3	5.36	2.17	1.42
206	J.W.	11.5	28.1	43.1	59.5	65.5	57.6	40.7	32.4	30.1	23.4	12.7	6.40	4.26	1.51	0.91	0.55
X		9.6	5.87	19.0	33.7	46.3	60.3	55.7	47.7	43.6	35.5	23.0	17.2	12.5	6.52	3.57	2.10
S			9.74	20.2	28.1	24.3	11.3	13.3	12.8	11.5	8.44	9.88	8.34	5.93	3.73	2.43	1.36

X = Valor Promedio

S = Desviación estandar

Con los datos originales de concentración plasmática de fenclofenac (16 puntos entre las 0 y 120 hrs.) se obtuvieron puntos intermedios, cada 15 minutos, utilizando el método descrito por J. Fried y S. Zeits (15). De esta manera, se obtuvieron 481 puntos interpolados para cada una de las curvas de los voluntarios utilizando una computadora CROMEMCO SISTEMA 3.

Para evaluar la bioequivalencia de las dos formulaciones de fenclofenac en estudio, se utilizaron los parámetros farmacocinéticos modelo independiente : área bajo la curva de 0 a 120 hrs. (ABC_0^{120}) concentración plasmática máxima ($C_p \max$) tiempo a la máxima concentración ($t \max$), a los cuales se les aplicó un análisis de varianza ANOVA (8) de acuerdo a la Tabla XXVIII, en este se consideró una matriz de datos. Se utilizó un cuadrado latino de 2 x 2. En este análisis se consideraron como fuente de variación: la variación entre sujetos, grupo, sujeto/grupo, semana y formulación.

Como no se incluyó una administración intravenosa de fenclofenac en este estudio y para evitar hacer suposiciones injustificadas, no se contempló un modelo farmacocinético específico , aunque las curvas individuales en la mayoría de los voluntarios presentaban un comportamiento bicompartamental aparente , correspondiente al reportado en la literatura (21).

**Tabla No. XXVIII. Matriz de datos utilizada para el análisis de
varianza de los parámetros farmacocinéticos.**

	SEMANA 1	SEMANA 2
GRUPO 1	101-A	101-B
	102-A	102-B
	103-A	103-B
	201-A	201-B
	203-A	203-B
GRUPO 2	104-B	104-A
	105-B	105-A
	106-B	106-A
	205-B	205-A
	206-B	206-A

A: Formulación del producto innovador.

B: Formulación desarrollada.

**101...106: Voluntarios 1 al 6 hospitalizados las semanas
1 y 3 del estudio.**

**201...206: Voluntarios 1 al 6 hospitalizados las semanas
2 y 4 del estudio.**

Tabla No. XXIX.- Area bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo de 2 formulaciones de fenclofenac en tabletas, calculada para 10 voluntarios utilizando dos métodos diferentes.

Voluntario	Formulación A*		Formulación B**		
	No.	Simpson	Trapezoide	Simpson	Trapezoide
	101	2356.99	2369.18	2529.23	2529.42
	102	2889.94	2889.97	2972.62	2972.86
	103	1782.04	1781.96	1894.95	1895.68
	104	1884.08	1884.10	1830.09	1830.03
	105	1692.58	1692.84	1559.00	1558.98
	106	1120.73	1121.13	1197.11	1198.02
	201	1072.66	1072.56	1161.76	1161.86
	203	1409.30	1409.28	1436.57	1436.58
	205	1568.02	1558.61	1306.64	1306.64
	206	1086.66	1086.87	946.18	945.42
	\bar{X}	1687.30	1687.63	1683.41	1683.55
	DE	587.79	587.79	642.41	642.53
	CV(%)	34.83	34.83	38.16	38.17

* 2 tableta de 300 mg (formulación del producto innovador)

** 1 tableta de 600 mg (formulación desarrollada)

X = Promedio DE = desviación estandar CV(%) = coeficiente de variación

4.6.1 Evaluación del área bajo la curva (ABC).

De cada una de las curvas obtenidas en los datos interpolados, se determinó el ABC de 0 a 120 hrs. utilizando el método de los trapecoides (16) y por el método de Simpson (12), para cada uno de los voluntarios. En la Tabla No. XXIX se presentan los datos de ABC calculados por los métodos antes mencionados.

Se reporta también, el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para cada formulación, siendo los valores para la formulación "A" de 1687.30, 587.79 y 34.83 por el método de Simpson y de 1687.64, 587.79 y 34.83 por el método del trapecoide. Para la formulación "B" de 1683.42, 642.41 y 38.16 por el método de Simpson y de 1683.55, 642.53 y 38.17 por el método del trapecoide respectivamente.

Para algunos autores el método de Simpson es más exacto en ausencia de una función definida que permita obtener la integral de una curva aunque se puede observar los datos obtenidos por un método u otro, son los mismos. De acuerdo con esto, los análisis estadísticos realizados con este parámetro se calcularon utilizando las áreas obtenidas con el método de Simpson.

Al aplicar el análisis de varianza ANOVA (8) a los datos calculados de ABC, se obtuvo la tabla No. XXX en donde se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas en las fuentes de variación consideradas.

Se aplicó también la prueba "t de Student" considerando en este caso una matriz de datos generada por dos muestras provenientes de la misma población y asumiendo que la variación entre los sujetos de un mismo grupo se debe total y únicamente a la variación biológica y la variación entre los dos grupos de la matriz se debe únicamente a la formulación. Se obtuvo así, un valor de "t" de 0.01411 con una p = 0.986 con 18 grados de libertad, la cual no fue significativa para una prueba bilateral, es decir, no existen diferencias en las ABC de las formulaciones.

Se determinó la biodisponibilidad relativa de la formulación "B" respecto a la formulación "A" utilizando los datos interpolados por el método de Fried y Zietz (15) y el ABC promedio calculada por el método de Simpson.

$$\begin{aligned}
 \text{Biodisponibilidad} &= \frac{\text{ABC formulación "B"}}{\text{ABC formulación "A"}} \\
 \text{Relativa} &= \frac{1683.41}{1687.30} \\
 &= 0.9977
 \end{aligned}$$

En la Figura No. 11 se presenta la gráfica de las curvas promedio de las formulaciones.

4.6.2 Evaluación de la concentración plasmática máxima (Cp max).

Este parámetro se obtuvo directamente de las concentraciones

Tabla No. XXX. Análisis de varianza para el ABC de la concentración plasmática de fenclofenac contra tiempo en 10 voluntarios.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} $\alpha=0.05$
Total	19	262929745.1923			
Sujeto	9	129796243.4337	14421804.8260	1.0955	3.39
Grupo	1	23170529.8340	23170529.8340	1.7602	5.32
Sujeto/Grupo	8	106625713.5997	13328214.2000	1.0125	3.44
Semana	1	14766650.6737	14766650.6737	1.1218	5.32
Formulación	1	13055906.9209	13055906.9209	0.9918	5.32
Error	8	105310944.1640	13163868.0205		

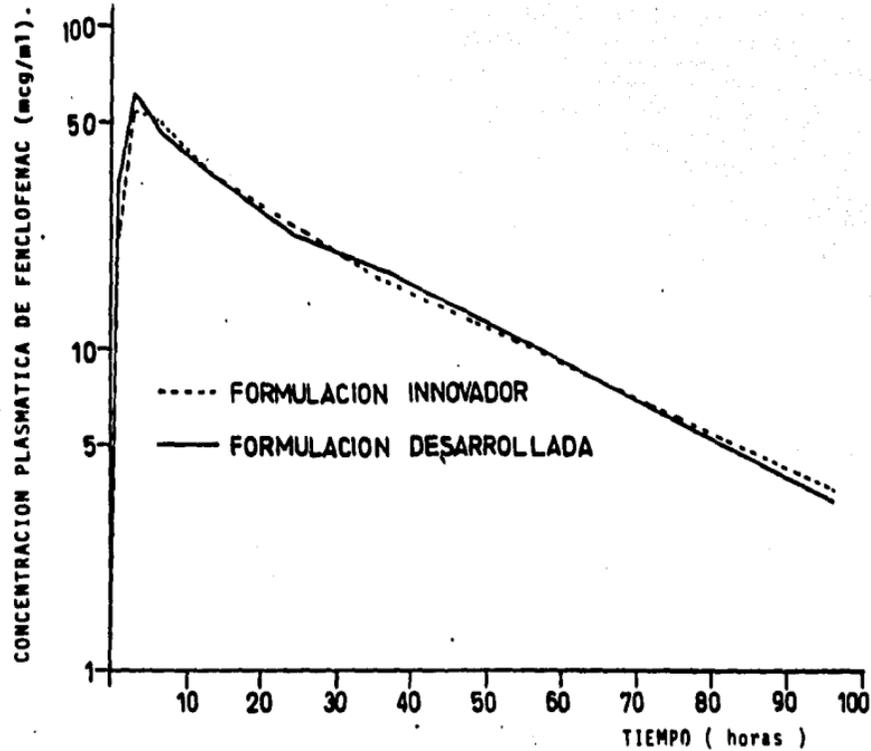


Figura No. 11 .- Gráfica de las curvas promedio de concentración plasmática contra tiempo para dos formulaciones de fenclorfenac en tabletas, presentada en 10 - voluntarios.

observadas y se utilizó el mismo análisis de varianza, que se utilizó para el ABC. En la tabla No. XXXI se presentan los datos individuales encontrados de concentración plasmática máxima así como su promedio, desviación estandar y coeficiente de variación, siendo estos respectivamente de 64.04 mcg/ml, 12.11 y 18.91% para la formulación "A" y de 61.60 mcg/ml, 11.44 y 18.57 por ciento para la formulación "B".

Al aplicar el análisis de varianza se obtuvieron los valores dados en la tabla XXXII. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las semanas con un valor de alfa de 0.025 y entre sujetos y sujeto/grupo con un valor de alfa de 0.01; no encontrando diferencias significativas en la formulación.

4.6.3 Evaluación del tiempo a la máxima concentración (t_{max}).

Este parámetro, se obtuvo de los datos individuales observados a los cuales se alcanzó la máxima concentración. Como en los casos anteriores se aplicó el mismo análisis de varianza - ANOVA. En la tabla No. XXXIII se presentan los datos individuales encontrados de t_{max} , su promedio, desviación estandar y coeficiente de variación para cada formulación, siendo respectivamente los siguientes: 3.6 hrs., 1.11 y 30.92% para la formulación "A" y 2.88 hrs., 0.67 y 23.27% para la formulación "B".

Al realizar el análisis de varianza de este parámetro se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre grupos con un valor de alfa de 0.05, no encontrando diferencias en la formulación.

Tabla No. XXXI. Concentración plasmática máxima de 10 voluntarios para fenclofenac en dos formulaciones.

Voluntario No.	Concentración plasmática máxima* (mcg/ml)	
	Formulación "A"	Formulación "B"
101	64.37	68.67
102	87.17	83.42
103	57.60	62.96
104	81.69	69.06
105	65.58	59.60
106	57.03	47.42
201	47.17	52.77
203	61.78	61.72
205	54.55	44.50
206	63.47	65.84
\bar{X}	64.04	61.60
D.E.	12.11	11.44
C.V. (%)	18.91	18.57

*Este parámetro se obtuvo de los niveles sanguíneos máximos encontrados de los datos experimentales.

lación (Tabla XXXIV).

4.6.4 Evaluación de las concentraciones plasmáticas a los diferentes tiempos de muestreo (0.25 - 120 horas).

Como en los casos anteriores se aplicó un análisis de varianza a los datos correspondientes de concentración plasmática a cada diferente tiempo de muestreo (0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120 horas). Los resultados correspondientes se muestran en el apéndice No.6 y los valores resumidos para el valor de F_{calc} para la formulación aparecen en la tabla No. XXXV. En el apéndice No. 6 se observan diferencias estadísticamente significativas entre semanas con un valor de alfa de 0.05 a los tiempos 2 y 36 horas y con un valor de alfa de 0.025 a los tiempos de 3 y 4 horas.

También se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos, grupos y los sujetos/grupos, con un valor de alfa de 0.01.

La diferencia entre sujetos muy probablemente se debe a la variación biológica. La diferencia de grupos se debe también, probablemente, a la forma de la matriz de datos utilizada en el análisis; en donde se unió en un solo grupo a los subgrupos del diseño, sin considerar el tiempo de hospitalización como una fuente de variación. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la formulación, en ningún tiempo de muestreo.

4.6.5 Evaluación de los resultados de las formulaciones.

Se determinó la relación C_{pmax} , t_{max} y ABC de la formulación desarrollada con respecto a la formulación del producto innovador, tabla No. XXXVI. Se puede observar una biodisponibilidad relativa de 99.7% al relacionar las ABC, y con C_{pmax} y t_{max} una relación cercana a la unidad, en donde, el valor de F del análisis de varianza no presenta diferencias significativas en la formulación, esto muestra que hay equivalencia entre las formulaciones estudiadas.

Tabla No. XXXII. Análisis de varianza para C_{max} entre las dos formulaciones de fenclofenac en 10 voluntarios.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} α=0.05
Total	19	2507.1659			
Sujetos	9	2242.5416	249.1713	18.4749	3.39 ***
Grupo	1	68.0067	68.0067	5.0424	5.32
Sujeto/Grupo	8	2174.5349	271.8169	20.1540	3.44 ***
Semana	1	121.7218	121.7218	9.0251	5.32 **
Formulación	1	35.0066	35.0066	2.5956	5.32
Error	8	107.8959	13.4870		

Estadísticamente significativo

* α = 0.05

** α = 0.025

*** α = 0.01

Tabla No. XXXIII. Tiempos para alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas de fenclofenac de dos formulaciones en 10 voluntarios.

Voluntario	Tiempo (Horas). *	
	Formulación "A"	Formulación "B"
No.		
101	3.75	1.75
102	6.00	3.00
103	5.25	4.00
104	3.00	3.00
105	3.00	3.00
106	2.75	3.00
201	3.25	3.25
203	3.00	3.00
205	3.00	3.00
206	3.00	1.75
\bar{x}	3.60	2.88
D.E.	1.11	0.67
C.V. (%)	30.92	23.27

* Este parámetro se obtuvo directamente de las concentraciones plasmáticas observadas.

Tabla No. XXXIV. Análisis de varianza para t max entre las formulaciones de fenclofenac en 10 voluntarios.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} $\alpha=0.05$
Total	19	17.8094			
Sujetos	9	9.7156	1.0795	2.1129	3.39
Grupo	1	3.0031	3.0031	5.8777	5.32*
Sujeto/Grupo	8	6.7125	0.8391	1.6422	3.44
Semana	1	1.3781	1.3781	2.6972	5.32
Formulación	1	2.6281	2.6281	5.1437	5.32
Error	8	4.0875	0.5109		

Estadísticamente significativo

* $\alpha = 0.05$

** $\alpha = 0.025$

*** $\alpha = 0.01$

Tabla No. XXXV. Resumen del análisis de varianza y relación de concentraciones de las formulaciones en estudio.

Tiempo de Muestreo (hrs.)	Conc. Plasmática Promedio (mcg/ml) Formulación A	Conc. Plasmática Promedio (mcg/ml) Formulación B	Relación de concentraciones B/A	Valor F _{calc} para la Formulación
0.25	3.53	5.87	1.66	0.6158
0.5	13.4	19.0	1.42	0.6321
1	22.3	33.7	1.51	1.5279
2	32.2	46.3	1.44	3.4876
3	58.5	60.3	1.03	0.2231
4	55.3	55.7	1.01	0.0191
6	52.3	47.7	0.91	3.7054
8	44.2	43.6	0.99	0.1439
12	37.3	35.5	0.95	2.7438
24	23.7	23.0	0.97	0.4583
36	16.7	17.2	1.03	0.4928
48	12.1	12.5	1.03	0.8849
72	6.62	6.52	0.98	0.1083
96	3.72	3.57	0.96	0.3571
120	2.46	2.10	0.85	1.5087

$$F_{0.05,1,8} = 5.32$$

Tabla No. XXXVI. Relación de parámetros para las formulaciones de fenclofenac en estudio.

Parámetro Farmacocinético	Formulación A	Formulación B	Relación B/A	Valor F_{calc} para la formulación
ABC_0^{120}	1687.30	1683.41	0.997	0.9918
Cp_{max}	64.04	61.60	0.962	2.5956
T_{max}	3.60	2.88	0.800	5.1437

$$F_{0.05, 1, 8} = 5.32$$

5. CONCLUSIONES.

Desarrollo farmacéutico de tabletas de fenclofenac de 600 mg.

El procedimiento de manufactura por granulación húmeda no fue seleccionado, ya que, las tabletas obtenidas no cumplían las especificaciones establecidas en la sección 3.2. El procedimiento de manufactura por compresión directa permitió la fabricación de tabletas de fenclofenac de 600 mg. La formulación No. 14045 - 22 se consideró como la mejor, ya que las tabletas obtenidas cumplieron con las especificaciones establecidas en la sección 3.2, se mantuvieron estables y fue factible su producción a nivel industrial. Su comportamiento -- de disolución frente a las tabletas de la formulación del producto innovador, fue semejante.

El método analítico utilizado en la prueba de disolución para tabletas de fenclofenac es lineal en un intervalo -- de concentraciones de 10 a 200 mg/ml.

La validación del método analítico para la determinación -- de fenclofenac en tabletas de 600 mg demostró que el sistema es lineal en un intervalo de concentraciones de 1.8 a 4.2 mg/ml con una correlación de 0.9999 ; tolera los cambios en la proporción de los componentes de la fase móvil en un 10%. El método es específico y demostró ser exacto, al variar el -- tamaño de la muestra de análisis en un rango de 80 a 120% del procedimiento normal y al trabajar en un rango de 80 a 120% del contenido normal de excipientes en las tabletas; preciso y reproducible. Finalmente las muestras extraídas fueron estables durante 72 horas a 5°C.

Para la determinación de fenclofenac en plasma se desarrolló un método analítico por cromatografía de líquidos de alta eficiencia. El método analítico es específico para determinar fenclofenac en plasma. La respuesta del sistema cromatográfico es lineal en un intervalo de concentraciones de 2 a 80 mcg/ml con un coeficiente de correlación de 0.9999 y preciso ya que el coeficiente de variación fue de 2.16, 3.39 y 3.22 a las concentraciones de 2, 40 y 80 mcg/ml respectivamente. El método analítico es exacto en un intervalo de 2 a 80 mcg/ml, con un coeficiente de variación de 5.48% ; preciso ya que, para las concentraciones plasmáticas de fenclofenac de 2, 5, 40, y 80 mcg/ml el coeficiente de variación es de 2.61, 1.59, 3.42 y 3.67 respectivamente. El fenclofenac fue estable en muestras plasmáticas extraídas y reconstituidas, almacenadas a 5°C durante 17 días; sin reconstituir y almacenadas a -14°C durante 12 días.

Las concentraciones de fenclofenac de las muestras de los voluntarios obtenidas entre las 0 y 120 horas se encontraron -- dentro del intervalo de linealidad del método analítico validado.

Para determinar la bioequivalencia se utilizaron los parámetros farmacocinéticos modelo independiente ABC_0^t , C_{pmax} y t_{max} , a los que se les aplicó análisis estadístico de varianza, para establecer si había o no diferencias significativas -- entre los valores individuales resultantes de cada formulación de esta manera, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la formulación con los tres parámetros estudiados. De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que

las formulaciones en estudio son equivalentes, comparables tanto en la cantidad absorbida como en la velocidad de absorción. Para la formulación desarrollada se obtuvo una biodisponibilidad relativa de 99.77%.

De esta manera, es fácil observar, que el producto desarrollado puede salir al mercado y cumplir su cometido para la terapia a la cual fue destinado, ya que, cumple con los criterios de -- calidad, de estabilidad y biofarmacéuticos, además, de que es factible su producción de manera reproducible a escala industrial.

6. BIBLIOGRAFIA.

1. Adams, S.S., et al. "Absorption, distribution and toxicity of ibuprofen". Toxicology and Applied Pharmacology. 15: 310-330 (1969).
2. Atkinson, D.C. Godfrey, K.E. et al. "2-(2,4-dichlorophenoxy) Phenylacetic acid (fenclofenac): one novel series of anti-inflammatory compounds with low ulcerogenic potential". Journal of Pharmacy and Pharmacology; 26: 357-359 (1974).
3. Atkinson, D. and Leach, E. "Anti-inflammatory and related properties of 2-(2,4-Dichlorophenoxy)Phenylacetic acid (fenclofenac)" Agents and Actions; 6 [5]: 657-666 (1976).
4. Atkinson, D.C. Report to Reckitt & Colman Pharmaceutical division (1977).
5. Ariens, E.J.
Experimentation Drug Design
Academic Press
New York-London, 1971.
6. Association of life insurance directors and actuarial Society of America
New York, 1912.
7. Banker, G.S. and Rhodes Ch.T.
Modern Pharmaceutics Volume 7
Inc. New York, 1979.
8. Box, G., Hunter, W. and Hunter, J.S.
Statistics for Experimenters
Wiley Interscience, 1978.
9. Brewster, D. & Muir, N.C. Report to Reckitt & Colman Pharmaceutical Division (1978).
10. Brune, K., Schweitzer, A. and Eckert, H. "Parietal cells of the stomach trap salicylates during absorption". Biochem. Pharmacol. 26: 1735-1740 (1977).
11. Collins, A.J. Report to Reckitt & Colman Pharmaceutical Division (1976).

12. Daniels, F.
Mathematical Preparation for Physical Chemistry
Mc. Graw Hill Book Co.
New York, 1956.
13. Eimar Munthe "Some new aspects of the pharmacotherapy of --
rheumatoid arthritis" Scand. J. Rheumatology Suppl. 38: 36
-43.
14. Emmerson, J.L. et al. "Preclinical toxicology of fenopro-
fen" Toxicology and Applied Pharmacology 25: 444 (1973).
15. Fried J. and Ziets S. "Curve fitting by Spline and Akima -
methods: Possibility of interpolation error and its suppres-
sion" Phys. Med. Biol. 18 [4]: 550-558 (1973).
16. Gibaldi M. and Perrier D.
Pharmacokinetics
M. Dekker Inc.
New York and Basel, 1975.
17. Goodman and Gilman's
The Pharmacological Basis of Therapeutics
Sixth Edition
Mac. Millan Publishing Co. Inc.
New York, 1980.
18. Greenslade, D. et al. "Species differences in the metabolism
and excretion of fenclofenac. Xenobiotica (in press). 1980.
19. Hallesy, D.W., Shott, L.D. & Hill, R. "Comparative toxicolo-
gy of naproxen" Scand. J. Rheumatology (Supplement 2): 20-
28 (1973).
20. Henson R. et al. "The stability of human plasma samples --
containing fenclofenac and its ester glucuronide" Interna-
tional Regulatory Affairs Report No. 31000/4 January (1977)
Schering Corporation.
21. Henson R. et al. "Pharmacokinetics of fenclofenac following
single and multiple doses" Eur. J. Drug Metab. Pharmacoki-
net". 5 [4]: 217-223 (1980).
22. Hopkins, S. J. "Fenclofenac" Drugs of Today 15 [3]:91-97 (1979).
23. Humphrey, M.J., Capper, S.J. & Kurtz, A.B. "Fenclofenac and

- thyroid hormone concentrations" Lancet i: 487-488 (1980).
24. Jordan, B.J. & Rance, N.J. "Taurine conjugation of the fenclofenac in the dog" Journal of Pharmacy and Pharmacology 26: 359-361 (1974).
 25. Jordan B.J. et al. "Excretion of drug and metabolites after a single dosis of 500 mg of fenclofenac". International Regulatory Affairs. Schering Corporation Report No. 406/14 - June (1975).
 26. Lachman L. et.al.
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy
Lea & Feibiger
Philadelphia. 1976.
 27. Lambert, J.R. "Therapeutic dosage range of fenclofenac" Proc. Roy. Soc. Med. 70: 16-17 (1977).
 28. Lieberman, H.A. and Lachman, L.
Pharmaceutical Dosage Forms: Tablet Volume I
Marcel Dekker, Inc.
New York and Basel, 1980.
 29. Mc. Nally, P.H. et al. Report to Reckitt & Colman Pharmaceutical Division (1972).
 30. Martindale
The Extra Pharmacopoeia
Twenty seven edition
The Pharmaceutical Press, June 1977.
 31. Martio, J. and Peltola, P. "Mechanisms of action, pharmacokinetics and the side effects of drugs used in the treatment of rheumatic diseases" Scand. J. Rheumatology Suppl 38:49-50.
 32. Nicoloff, D.M. "Indomethacin. Effect on gastric secretion, -parietal cell population and ulcer provocation in the dog" Archives of Surgery (Chicago) 97 [5]: 809-815 (1968).
 33. Nickander, R., et al. "Fenoprofen. In Pharmacological and --biochemical properties of drug substances"
Volume 1 Goldberg, M.E. pp 183-213 Washington: American Pharmaceutical Association (1977).
 34. Rance M.J. et al. "The binding of fenclofenac to plasma pro-

teins of various species" International Regulatory Affairs Vol. III Report No. 5342/1 July (1973) Schering Corporation.

35. Rainsford, K. "The effects of aspirin and other non-steroid anti-inflammatory/analgesic drugs on gastrointestinal mucus glycoprotein biosynthesis in vivo: relationship to ulcerogenic actions" *Biochem. Pharmacol.* 27 [6]: 877-885 (1978).
36. Rainsford, K.D., Schweitzer A. and Brune K. "Autoradiographic and biochemical observations on the distribution of -- non-steroid anti-inflammatory drugs" *Arch. Int. Pharmacodyn.* 250: 180-194 (1981).
37. Reckitt & Colman (1979) Flenac Technical Brochure.
38. Riegelman S. and Rowland M. "Effect of route of administration on drug disposition" *J. Pharmacokinetic. Biopharm.* 1 [5]: 419-434 (1973).
39. Schering Corporation.
Monografía de Investigación de tabletas de fenclofenac de -- 600 mg p 1-20 Agosto de 1982.
40. Schering Corporation
R & D No. 343 Code NREA p 14-18 Date Typed Aug 27 (1979).
41. Schering Corporation
R & D No. 345 Code NREA p 14-17 Date Typed Jun (1980).
42. Shillingford, J.S. Report to Reckitt & Colman Pharmaceutical Division (1976).
43. Stierlin, H. & Faigle, J.W. "Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren) in animals and man. II. Quantitative determination of the unchanged drug and principal phenolic metabolites, in urine and bile" *Xenobiotica* 9: 611 (1979).
44. United States Pharmacopeia XX
1980.
45. Wagner, J.G.
Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. Fortran program for Loo-Riegelman method with additional interpolated points only. Drug Intelligence Publications, Inc.
Hamilton, Illinois, second Printing 1979.

46. Tudor, R., Goldberg, A.A.J. & Clarke, D.R. "The methodology of the fenclofenac clinical research programme and results obtained with particular reference to the therapeutic dose range." Royal Society of Medicine 70 (Supplement 6) -- 11-15 (1977).
47. Wagner J.G.
Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics
Illinois, E.U.A.
Drug Intelligence Publications, 1975.

APENDICE NO. 1

Datos demográficos de los voluntarios participantes en el estudio preliminar de biodisponibilidad de tabletas de fenclofenac de 600 mg.

Voluntario No.	Nombre (iniciales)	Edad (años)	Estatura (metros)	Peso (kg)
1	I.D.V.	29	1.66	68
2	C.N.B.	32	1.73	64
3	R.V.M.	23	1.77	67

APENDICE No. 2

Pruebas de laboratorio realizadas a los voluntarios participantes en el estudio preliminar de biodisponibilidad de tabletas de fenclofenac de 600 mg.

DETERMINACION	VALORES NORMALES (Unidades)	VOL. No. 1	VOL. No. 2	VOL. No. 3
QUIMICA SANGUINEA				
Creatinina	0.8 - 1.5 (mg/dl)	1.0	1.25	1.3
Urea	20 - 40 (mg/dl)	23	32	28
Acido Urico	2.5 - 7.5 (mg/dl)	5.8	4.0	5.3
Glucosa	65 - 110 (mg/dl)	77	72	68
BIOMETRIA HEMATICA				
Eritrocitos	5 - 6 (millones / mmc)	5.46	6.36	5.82
Hemoglobina	15.5-20(gr/100 ml. sangre)	16.5	17.4	17.4
Vol. Globular porcentual	47 - 55 (%)	49	51	51
Sedimentación globular	0 - 5 (mm en una hora)	8	1	1
Vol. Globular medio	84 - 103 (micrones)	92	82	89
Conc. Media de Hemoglobina	31 - 37 (g)	33	33	33
Reticulocitos	0.5 - 1.5 (%)	0.8	0.6	0.6
Leucocitos	4000 - 12000 (mmc)	5500	4300	7500
Monocitos	1 - 13 (%)	3	1	5
Linfocitos	12 - 46 (%)	39	44	42
Eosinófilos	0 - 7 (%)	1	1	3
Basófilos	0 - 3 (%)	0	2	0
Neutrófilos	40 - 88 (%)	57	52	50
Mielocitos	0 (%)	0	0	0
Metamielocitos	0 - 2 (%)	0	0	0
En banda	0 - 11 (%)	1	2	2
Segmentados	40 - 74 (%)	66	50	46
LIPIDOS COLESTEROL TOTAL	SEGUN LA EDAD (mg/100 ml)	250 normal	190 normal	100 bajo
SANGRE OCULTA EN HECEAS	NEG	NEG	NEG	NEG
EXAMEN DE ORINA				
Densidad	1.013 - 1.030	1.024	1.018	1.025
pH	5 - 8	5	5	5
Albumina	NEG	NEG	NEG	NEG
Hemoglobina	NEG	NEG	NEG	NEG
Bilirrubina	NEG	NEG	NEG	NEG
Glucosa	NEG	NEG	NEG	NEG
Acetona	NEG	NEG	NEG	NEG
Leucocitos	NEG	NEG	NEG	NEG
Cilindros	NEG	NEG	NEG	NEG
Eritrocitos	NEG	NEG	NEG	NEG

APENDICE NO. 3

Datos demográficos de los voluntarios participantes en el estudio de bioequivalencia de dos formulaciones de tabletas de fenclofenac.

Voluntario No.	Nombre (Iniciales)	Edad (Años)	Estatura (Metros)	Peso (Kg)	Peso Ideal* (Kg)	% del peso ideal(Kg)
101	A.E.	24	1.83	63.50	74.90	85.00
102	F.A.	18	1.61	55.90	54.90	102.00
103	R.G.	24	1.66	67.90	62.20	109.00
104	J.M.	18	1.59	56.20	54.90	102.00
105	B.A.	22	1.59	58.70	57.70	102.00
106	A.P.	25	1.79	85.70	73.50	117.00
201	M.R.	18	1.68	63.10	59.90	105.00
202	JCV	21	1.65	58.10	60.80	96.00
203	MAC	21	1.68	61.60	72.70	85.00
204	A.C.	26	1.70	64.50	66.30	97.00
205	W.B.	26	1.75	70.00	69.90	100.00
206	J.M.	27	1.51	52.00	56.30	92.00

*Según: association of life insurance directors and actuarial society of America New York 1912.

APENDICE No. 4

Pruebas de laboratorio de los voluntarios participantes en el estudio de bioequivalencia de dos formulaciones de tabletas de Fenclonafes.

DETERMINACION	VALORES NORMALES (Unidades)	VOL. NO. 101	VOL. NO. 102	VOL. NO. 103	VOL. NO. 104	VOL. NO. 105	VOL. NO. 106	VOL. NO. 201	VOL. NO. 202	VOL. NO. 203	VOL. NO. 204	VOL. NO. 205	VOL. NO. 206
HEMATOLOGIA													
Eritrocitos	4.0-5.0 (millones/mm ³)	5.01	5.06	5.7	5.00	5.02	5.05	5.04	5.53	5.57	5.00	5.00	5.41
Hematocrito	47-55 (%)	51.4	52.9	51.4	53.2	52.1	53.1	54.5	51.2	54.7	49.3	49.3	49.3
Hemoglobina	15-18 (g/dl)	16.9	17.3	17.4	17.6	17.5	17.5	17.8	17.0	18	16.7	16.2	16.1
Volumen glomerular medio	83-108 (microm ³)	91	89	90	89	89	94	92	93	87	87	94	90
Conc. media de hemoglobina	27-31 (g/l)	29.0	28	28	28	29.9	31.5	31.2	30.4	32.1	27.1	30.4	29.3
Leucocitos totales	4-10 (mil/mm ³)	5.0	6.9	6.7	6.4	6.4	9.7	6.9	6	6.2	5.2	5.9	7.8
Basófilos	0-1 (%)	0	0	0	0	0	0	0	11	2	2	4	11
Eosinófilos	1-4 (%)	3	3	6	2	2	10	0	0	0	0	0	0
Mielocitos	0-0 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
En banda	1-6 (%)	1	4	1	2	1	0	2	0	1	0	0	0
Neutrófilos	50-70 (%)	44	60	45	52	50	52	53	51	54	40	42	23
Linfocitos	18-40 (%)	41	19	46	43	52	19	42	29	25	42	10	23
Monocitos	3-9 (%)	9	8	3	3	7	10	5	9	8	7	8	4
Juveniles	0-2 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Segmentos neutrófilos	45-65 (%)	43	64	44	50	37	62	51	51	63	47	59	56
Plaquetas	200-400 (mil)	295	296	275	363	275	240	260	251	330	294	375	235
Velocidad de sedimentación	0-7 (mm en una hora)	4	4	7	3	4	7	6	5	3	3	5	2
QUIMICA SANGUINEA													
Proteínas totales	6-8 (g/l)	7.7	8	8.1	7.2	7.30	7.35	8	7.52	6.95	7.05	6.9	7.4
Albumina	3.8-5.1 (g/l)	4.0	5.1	5.1	4.95	4.8	4.56	4.82	4.6	4.9	4.5	4.9	4.2
Calcio	8.2-10.9 (mg/dl)	9.4	9.2	9.6	8.9	9.8	8.96	9.4	8.9	9.2	8.8	8.7	9.6
Fosforo	1.90-4.00 (mg/dl)	2.8	4.1	2.8	3.2	3.5	3.22	2.8	2.7	3.1	3.05	2.6	3.4
Glucosa	65-115 (mg/dl)	80	75	90	85	87	85	80	74	75	80	82	85
Nitrogeno no proteico	7-24 (mg/dl)	19	8	11.5	9	11	11	8	15	7	16	7	11
Acido Urico	3.00-8.00 (mg/dl)	6.2	6.0	6.5	6.1	6.2	7.5	6.65	4.4	7	6	4.9	4.6
Creatinina	0.70-1.5 (mg/dl)	1.5	1	1	.8	.9	.3	1	1.1	1	1.05	.8	.8
Bilirrubina total	0.15-1.2 (mg/dl)	.8	.4	1	.6	.6	1.1	.92	1.2	.35	.73	.6	.7
Fosfatasa alcalina	30-90 (u/ml)	57	94	56	95	62	73	95	60	75	58	70	70
Deshidrogenasa láctica	100-225 (u/ml)	170	207	196	173	200	80	180	180	146	185	155	270
Transaminasa glutamica aspartica	8-40 (u/ml)	30	45	25	13	30	22	29	23	25	40	38	35
Coesterol	141-295 (mg/dl)	170	181	157	215	149	235	218	251	180	234	220	270
EXAMEN DE ORINA													
pH	4.5-6.5	5.5	5	5	5	5	5	6.5	5.5	5	5	8	5.5
Densidad	1.015-1.030	1.020	1.005	1.025	1.033	1.015	1.022	1.010	1.022	1.013	1.013	1.011	1.015
Proteínas	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	TRAZAS	NEGATIVO	NEGATIVO
Glucosa	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Hemoglobina	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Cetones	NEGATIVO	NEGATIVO	TRAZAS	NEGATIVO									
Bilirrubina	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Urobilinogeno	NEGATIVO	NORMAL											
Células blancas	0-5 /campo	0-2	0-1	3-5	0-2	0-1	0-2	0-1	0-1	0-1	1-2	0-1	0-1
Eritrocitos	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Cristales	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
SANGRE OCULTA EN HECE	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
EXAMEN COPROPARASITOSCOPICO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

APENDICE No. 5

CARTA DE AUTORIZACION

Yo declaro que los médicos de la Unidad Metabólica del Servicio de Medicina Experimental del Hospital General de México, S.S.A., me han informado detalladamente en que consiste el estudio "BIDEQUIVALENCIA DE DOS FORMULACIONES DE FENCLOFENAC EN TABLETAS", así como los riesgos que implica mi participación y acepto participar.

Conozco que el objetivo de este estudio es el probar una nueva formulación de tabletas de FENCLOFENAC, un medicamento antirreumático que se encuentra en el mercado, con objeto de lograr una absorción gastrointestinal más íntegra y con esto conseguir un mejor efecto terapéutico en los enfermos en quienes esta indicada la administración de este medicamento.

Me han indicado que permaneceré internado en la Unidad Metabólica durante siete días consecutivos siempre y cuando los exámenes clínicos y de laboratorio que se me practiquen se encuentren dentro de los límites normales.

Si así ocurre, después del primer período de hospitalización de siete días debo asistir diariamente, como Externo, a la Unidad Metabólica con objeto de que se me practique una exploración física, el registro de mis signos vitales y una prueba de sangre oculta en materias fecales.

Después de transcurridos siete días en los que asistiré como Externo, volveré a hospitalizarme durante siete días consecutivos.

Durante los períodos de hospitalización me tomarán 10 ml de sangre antes de recibir la primera y la segunda dosis de FENCLOFENAC, y después de recibir la medicación a los 15 y 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96 y 120 horas, para hacer un total de 16 muestras de sangre (160 ml) en cada período de hospitalización.

Declaro que me han informado que mi participación en el estudio es totalmente voluntaria y que estoy en libertad de retirarme en cualquier momento si juzgo que mi dignidad o mi integridad personal esta siendo transgredida.

ACEPTO PARTICIPAR

INFORMO

TESTIGO

APENDICE No. 6

Tablas de análisis de varianza para las concentraciones plasmáticas de fenclofenac a cada tiempo de muestreo en 10 voluntarios.

TIEMPO 0.25 HS.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} α=0.05
Total	19	989.0593			
Sujeto	9	605.3067	67.2563	1.5127	3.39
Grupo	1	35.2717	35.2717	.7933	5.32
Sujeto/grupo	8	570.0350	71.2544	1.6027	3.44
Semana	1	.6919	.6919	.0156	5.32
Formulación	1	27.3780	27.3780	.6158	5.32
Error	8	355.6827	44.4603		

TIEMPO 0.5 HS.

Total	19	5252.7360			
Sujeto	9	2562.0876	284.6764	1.1329	3.39
Grupo	1	110.8263	110.8263	.4411	5.32
Sujeto/grupo	8	2451.2613	306.4077	1.2194	3.44
Semana	1	521.6290	521.6290	2.0759	5.32
Formulación	1	158.8225	158.8225	.6321	5.32
Error	8	2010.1969	251.2746		

TIEMPO 1 hr.

Total	19	11232.8895			
Sujeto	9	5459.8787	606.6532	1.4132	3.39
Grupo	1	3.7584	3.7584	.0088	5.32
Sujeto/grupo	8	5456.1203	682.0150	1.5888	3.44
Semana	1	1683.0620	1683.0620	3.9208	5.32
Formulación	1	655.8560	655.8560	1.5279	5.32
Error	8	3434.0927	429.2616		

TIEMPO 2 HS.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} $\alpha=0.05$
Total	19	10356.1895			
Sujeto	1	5247.6142	583.0682	2.0564	3.39
Grupo	1	117.2732	117.2732	.4136	5.32
Sujeto/grupo	8	5130.3410	641.2926	2.2618	3.44
Semana	1	1851.4652	1851.4652	6.5300	5.32 *
Formulación	1	988.8398	988.8398	3.4876	5.32
Error	8	2268.2702	283.5338		

TIEMPO 3 HS.

Total	19	2281.8780			
Sujeto	9	1191.7580	132.4176	1.9973	3.39
Grupo	1	7.4420	7.4420	.1123	5.32
Sujeto/grupo	8	1184.3160	148.0395	2.2330	3.44
Semana	1	544.9680	544.9680	8.2203	5.32 **
Formulación	1	14.7920	14.7920	.2231	5.32
Error	8	530.3600	66.2950		

TIEMPO 4 HS.

Total	19	2130.6575			
Sujeto	9	1410.1425	156.6825	3.5564	3.39**
Grupo	1	208.0125	208.0125	4.7215	5.32
Sujeto/grupo	8	1202.1300	150.2662	3.4108	3.44
Semana	1	367.2245	367.2245	8.3354	5.32 **
Formulación	1	.8405	.8405	.0191	5.32
Error	8	352.4500	44.0563		

TIEMPO 6 HS.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} $\alpha=0.05$
Total	19	3698.2600			
Sujeto	9	3374.9800	374.9978	13.6023	3.39***
Grupo	1	620.4980	620.4980	22.5073	5.32***
Sujeto/grupo	8	2754.4820	344.3102	12.4891	3.44***
Semana	1	.5780	.5780	.0210	5.32
Formulación	1	102.1520	102.1520	3.7054	5.32
Error	8	220.5500	27.5687		

TIEMPO 8 HS.

Total	19	2454.5900			
Sujeto	9	2358.7400	262.0822	22.4193	3.39***
Grupo	1	397.8320	397.8320	34.0318	5.32***
Sujeto/grupo	8	1960.9080	245.1135	20.9678	3.14***
Semanas	1	.6480	.6480	.0554	5.32
Formulación	1	1.6820	1.6820	.1439	5.32
Error	8	93.5200	11.6900		

TIEMPO 12 HS.

Total	19	1411.1695			
Sujeto	9	1343.2445	149.2494	24.9998	3.39***
Grupo	1	190.3445	190.3445	31.8835	5.32***
Sujeto/grupo	8	1152.9000	144.1125	24.1394	3.44***
Semanas	1	3.7845	3.7845	.6339	5.32
Formulación	1	16.3805	16.3805	2.7438	5.32
Error	8	47.7600	5.9700		

TIEMPO 24 HS.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} α=0.05
Total	19	1606.4295			
Sujeto	9	1559.2945	173.2549	40.0146	3.39***
Grupo	1	241.5125	241.5125	55.7798	5.32***
Sujeto/grupo	8	1317.7820	164.7228	38.0444	3.44***
Semana	1	10.5125	10.5125	2.4280	5.32
Formulación	1	1.9845	1.9845	.4583	5.32
Error	8	34.6380	4.3297		

TIEMPO 36 HS.

Total	19	1076.0048			
Sujeto	9	1035.9544	115.1060	45.3816	3.39***
Grupo	1	195.6877	195.6877	77.1505	5.32***
Sujeto/grupo	8	840.2667	105.0333	41.4097	3.44***
Semana	1	18.5089	18.5089	7.2972	5.32**
Formulación	1	1.2500	1.2500	.4928	5.32
Error	8	20.2915	2.5364		

TIEMPO 48 HS.

Total	19	632.2753			
Sujeto	9	625.6952	69.5217	93.8974	3.39***
Grupo	1	130.2541	130.2541	175.9222	5.32***
Sujeto/grupo	8	495.4411	61.9301	83.6433	3.44***
Semana	1	.0016	.0016	.0022	5.32
Formulación	1	.6552	.6552	.8849	5.32
Error	8	5.9233	.7404		

TIEMPO 72 HS.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calc}	F _{teo} α=0.05
Total	19	286.5156			
Sujeto	9	282.8870	31.4319	75.4124	3.39***
Grupo	1	73.0766	73.0766	175.3079	5.32***
Sujeto/grupo	8	209.8104	26.2263	62.9158	3.44***
Semana	1	.2486	.2486	.5965	5.32
Formulación	1	.0451	.0451	.1083	5.32
Error	8	3.3348	.4168		

TIEMPO 96 HS.

Total	19	119.8055			
Sujeto	9	117.1225	13.0136	44.2038	3.39***
Grupo	1	41.3856	41.3856	140.5750	5.32***
Sujeto/grupo	8	75.7369	9.4671	32.1570	3.44***
Semana	1	.2226	.2226	.7561	5.32
Formulación	1	.1051	.1051	.3571	5.32
Error	8	2.3552	0.2944		

TIEMPO 120 HS.

Total	19	56.0456			
Sujeto	9	51.6423	5.7380	13.5107	3.39***
Grupo	1	19.5229	19.5229	45.9635	5.32***
Sujeto/grupo	8	32.1194	4.0149	9.4525	3.44***
Semana	1	.3645	.3645	.8582	5.32
Formulación	1	.6408	.6408	1.5087	5.32
Error	8	3.3980	.4247		

Estadísticamente significativo

- * α = 0.05
- ** α = 0.025
- *** α = 0.01