

00570



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

3

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

2Ej

BIOEQUIVALENCIA DE TABLETAS CONTENIENDO
CLORHIDRATO DE AMBROXOL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

M. en C. QUIMICAS (FARM - QUIM - FARMACEU)

P R E S E N T A :

MELINA PEREZ URQUIZA

ASESOR: M. en C. HELGI JUNG COOK



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

México, D.F. 27 de febrero de 1995

Lic. Antonio Díaz García M.
Jefe de la Unidad de
Registro e Información
Ciudad Universitaria.
Presente.

Por medio de la presente me permito comunicarle que he revisado el trabajo de tesis intitulado
'Bioequivalencia de tabletas conteniendo Glorhidrato de Ambraxol', el cual apruebo para que la
C. F. D. Melina Riera Urequea obtenga el grado de Maestro en Ciencias.

Presidente


M. en C. Antonio Alonso Riera

Focal


M. en C. Juan Manuel Rodríguez

Secretaria


M. en C. Inés Fuentes Noriega

Segundo Suplente


M. en C. Marcela Hurtado Riera

En otro particular por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

México, D. F. 3 de febrero de 1995.

Lic. Antonio Díaz
Jefe de la Unidad de Registro e Información
P r e s e n t e

Estimado Lic. Díaz:

Por medio de la presente me permito comunicarle que he revisado el trabajo de tesis intitulado 'Estudio de Bioequivalencia de tabletas conteniendo clorhidrato de ambroxol', el cual apruebo para que la QFB Melina Pérez Urquiza, obtenga el grado de Maestro en Ciencias.

Sin más por el momento, agradezco la atención que se sirva prestar a la presente.

A T E N T A M E N T E

Benjamín Sandoval

Dedico esta tesis :

A Dios y a mi familia. Los amo.

AGRADEZCO A:

Los Laboratorios SYNTEX, S.A. DE C.V. por las facilidades prestadas para realizar este trabajo, en especial al M. en C. Vicente Alonso Pérez y al Departamento de Desarrollo Analítico.

Mis maestros, en especial a la M. en C. Helgi Jung Cook por su dedicación y apoyo.

Todas las personas que contribuyeron a la realización de esta tesis.

INDICE

CAPITULO I. INTRODUCCION	4
CAPITULO II. GENERALIDADES	5
CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL	18
Método analítico para la cuantificación de Clorhidrato de Ambroxol en plasma	18
Estudio de Bioequivalencia	23
CAPITULO IV. RESULTADOS	27
Método analítico para la cuantificación de Clorhidrato de Ambroxol en plasma	27
Estudio de Bioequivalencia	42
CAPITULO V. DISCUSION	49
CAPITULO VI. CONCLUSIONES	54

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla I. Parámetros farmacocinéticos reportados (6) para Clorhidrato de Ambroxol.	8
Tabla II. Parámetros farmacocinéticos reportados (7) para Clorhidrato de Ambroxol	9
Tabla III. Diseño experimental usado	24
Tabla IV. Programa para las comidas y administración del medicamento.	25
Tabla V. Linealidad del Sistema	28
Tabla VI. Linealidad del Método.	32
Tabla VII. Exactitud del Método.	34
Tabla VIII. Precisión del Método	35
Tabla IX. Límites de detección y cuantificación.	36
Tabla X. Estabilidad de Clorhidrato de Ambroxol en plasma congelado a -15 C.	40
Tabla XI. Estabilidad de Clorhidrato de Ambroxol en HCl 0.01N.	41
Tabla XII. Valores promedio de concentración plasmática vs tiempo (24 sujetos) para cada tiempo de muestreo.	42
Tabla XIII. Parámetros farmacocinéticos del Clorhidrato de Ambroxol después de la administración de la formulación D (Clorhidrato de Ambroxol en combinación con Naproxeno Sódico) y la formulación F (Clorhidrato de Ambroxol, producto innovador).	43
Tabla XIV. Valores promedio de los parámetros farmacocinéticos utilizados en el estudio de Bioequivalencia del Clorhidrato de Ambroxol, después de la administración de la formulación D (Clorhidrato de Ambroxol en combinación con Naproxeno Sódico) y la formulación F (Clorhidrato de Ambroxol, producto innovador).	44
Tabla XIV.(Parte II). Valores promedio de los parámetros farmacocinéticos del Clorhidrato de Ambroxol, después de la administración de la formulación D (Clorhidrato de Ambroxol en combinación con Naproxeno Sódico) y la formulación F (Clorhidrato de Ambroxol, producto innovador), obtenidos después de ajustar los datos a un modelo abierto de dos compartimientos.	45
Tabla XV. Tiempos Medios de Residencia para los 24 sujetos y las dos formulaciones (D y F).	48
Tabla XVI. Intervalo de confianza para los parámetros de AUC_INF y Cmax.	52
Tabla XVII. Prueba de t para diferencia de dos medias	52

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

FIGURAS

Figura 1. Clorhidrato de Ambroxol	5
Figura 2. Espectro de absorción infrarrojo del Clorhidrato de Ambroxol	5
Figura 3. Espectro de absorción UV del Clorhidrato de Ambroxol	6
Figura 4. Metabolismo del HCl Ambroxol.	9
Figura 5. Cromatograma típico de Estándar de Clorhidrato de Ambroxol en solución	27
Figura 6. Cromatograma típico de una Muestra plasmática conteniendo Clorhidrato de Ambroxol	27
Figura 7. Linealidad del sistema.	30
Figura 8. Linealidad del Método analítico para cuantificación de ambroxol en plasma.	33
Figura 9. Límite de detección y Cuantificación para clorhidrato de ambroxol en plasma.	37
Figura 10. Muestra plasmática conteniendo Heparina (Anticoagulante). Con tratamiento de extracción.	39
Figura 11. Muestra plasmática conteniendo Naproxén sódico. Con tratamiento de extracción.	39
Figura 12. Plasma blanco con tratamiento de extracción.	39
Figura 13. Niveles plasmáticos promedio de Clorhidrato de Ambroxol después de administración de los productos A y B en 24 voluntarios sanos.	47

APENDICES

APENDICE I. CARTAS DE CONTROL DE CALIDAD.	58
APENDICE II. Tabla A1-A11. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA	67
APENDICE III. Criterios de Exclusión	79
APENDICE IV. Comidas estandarizadas	81
APENDICE V. Manejo de reacciones adversas y efectos colaterales; Deserciones; Etiquetado y Manejo de las muestras.	93
APENDICE VI. ANALISIS ESTADISTICO POR BIOPAK ^R PARA: $1\frac{1}{2}$ Y β . COMPARACION DE LAS MEDIAS PARA LOS PARAMETROS FARMACOCINETICOS DE LAS DOS FORMULACIONES.	95

CAPITULO I

INTRODUCCION

En la actualidad existen numerosas preparaciones farmacéuticas diseñadas como auxiliares en el tratamiento sintomático de las infecciones respiratorias, entre las que se encuentran: Mucovibrol (Clorhidrato de Ambroxol), Mucovibrol C (Combinación de Clorhidrato de Ambroxol y Clenbuterol), Mucolin (Carbocisteína), Mucolin * Ampicilina (Combinación de Carbocisteína y Ampicilina).

En base a que en la práctica médica diaria se utiliza con frecuencia un anti-inflamatorio de las vías respiratorias como el naproxén sódico, administrado por separado pero simultáneamente con un mucolítico como el clorhidrato de ambroxol, en infecciones del aparato respiratorio inferior (bronquitis, bronquiolitis.), los laboratorios SYNTEX consideraron importante desarrollar una nueva combinación, no molecular, que consiste en la mezcla de estos dos medicamentos ampliamente estudiados y utilizados: naproxén sódico y clorhidrato de ambroxol. A estos fármacos los respalda una experiencia clínica por más de 15 años para el tratamiento sintomático de las infecciones respiratorias bajas lo que justifica su asociación fija.

Karam J., et al. del Hospital Infantil de México realizaron un estudio de 35 casos de niños con neumonía de 2 a 18 años de edad administrándoles la combinación, obteniendo buenos resultados en cuanto a la evolución sintomática de la enfermedad, ya que se reducía el número de días con fiebre y modificaban favorablemente las características de la tos y la expectoración. En este estudio que continua en progreso, no se ha informado de efectos secundarios o alteraciones de laboratorio imputables al tratamiento.

La combinación del Clorhidrato de Ambroxol con el Naproxén Sódico en una forma farmacéutica (en este caso particular en forma de tabletas) hace necesaria la evaluación de su bioequivalencia respecto a formulaciones con cualesquiera de los activos por separado, así como la evaluación de posibles interacciones farmacocinéticas en el tratamiento de esta nueva combinación.

En base a lo anteriormente mencionado se determinó la bioequivalencia de un nuevo producto conteniendo Clorhidrato de Ambroxol (30mg)+ Naproxén Sódico (275mg) tabletas, en relación a sus respectivos productos de referencia: Mucosolvan (Boehringer-Ingelheim) tableta de Clorhidrato de Ambroxol 30 mg/tableta y Flanax (SYNTEX) tableta de Naproxén sódico 275 mg/tableta. Siendo el objetivo de este trabajo de tesis presentar los datos obtenidos de la bioequivalencia del clorhidrato de ambroxol en la asociación mencionada anteriormente.

CAPITULO II

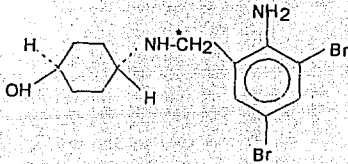
GENERALIDADES

I Monografía del Clorhidrato de Ambroxol.(1)

FORMULA.

Nombre químico NA 872, trans -4-(2-Amino-3,5-dibromobenzilamino) cyclohexanol.

La formula desarrollada se presenta en la figura 1.



^{*}HCl

Figura 1. Formula desarrollada del Clorhidrato de Ambroxol.

Formula Condensada: C₁₃H₁₉Br₂CIN₂O

Peso Molecular 414.6

Descripción: Polvo Blanco Cristalino

Identificación : El espectro de Absorción Infrarrojo se presenta en la figura 2:

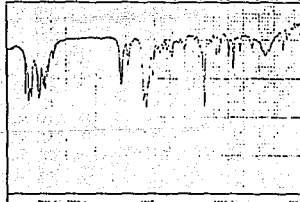


Figura 2. Espectro de absorción infrarrojo del Clorhidrato de Ambroxol.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambr oxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

En la figura 3 se presenta el espectro de absorción UV del Clorhidrato de Ambroxol.

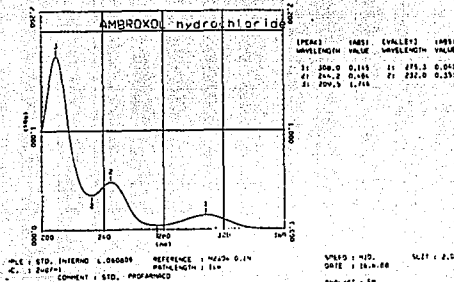


Figura 3. Espectro de absorción UV del Clorhidrato de Ambroxol

SOLUBILIDAD. En agua 10 % Solución Clara
 En metanol 4 % Solución Clara.
 En eter etílico en medio alcalino.

Valoración : Entre 98.0% y 101.5%.

Acidez (pH) 4.5/6.0 (1% Solución Acuosa)

Rango de fusión: 235 - 238 °C

EFEECTO FARMACOLOGICO

El Clorhidrato de Ambroxol, (Clorhidrato de trans-4-(2-amino-3,5-dibromo-bencitamina) ciclohexanol, (Fig. 1), es un agente mucolítico y expectorante que actúa a nivel de las vías respiratorias bajas, estimulando la síntesis y secreción del surfactante alveolar bronquial que normaliza la producción de moco. Es utilizado como auxiliar en el tratamiento sintomático de neumonía y otras enfermedades respiratorias infecciosas(1).

Investigaciones bioquímicas y morfométricas demuestran que el Ambroxol favorece la formación, almacenamiento y movilización de fosfolípidos superficiales activos, en el campo alveolar. De esta manera se estabiliza la función alveolar y bronquial (efecto antiatelectasia) y se mejora el proceso de transporte en la periferia pulmonar. El ambroxol demuestra un claro incremento de la frecuencia ciliar y por consecuencia un aumento en la velocidad de transporte mucoso.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

El efecto del ambroxol, después de la administración oral, se lleva acabo en promedio, a los 30 minutos. El efecto óptimo se alcanza generalmente al tercer día de tratamiento.

Efectos Secundarios

Trastornos gastrointestinales como diarrea, náuseas y vómito, cefalea. Elevación transitoria de transaminasas, bradicardia, edema facial y periorbitario, erupción cutánea, urticaria, hipotensión, somnolencia.

Metodos analíticos para cuantificar el Ambroxol en fluidos Biológicos.

Se reportó (2) un método por HPLC, utilizando como fase móvil Acetonitrilo: Metanol: Buffer fosfatos 0.01 M (pH=7): tetrahidrofurano (35:35:27.5:2.5), a una velocidad de flujo de 2ml/min con una columna Hipersil 5 ODS, y detección U.V. (242nm). Se realiza una extracción con eter etílico en medio básico y posteriormente una reextracción de la fase orgánica con HCL 0.01 M, lo cual es inyectado al sistema cromatográfico. El tiempo de retención es de 4.3 minutos y el intervalo de linealidad va de 5-194 ng/ml, con un porcentaje de recobro de 87 a 91 %.

Se han desarrollado otros métodos (3) en los que se determina en una columna Alltech RoSil CPS, 5 µm, se realiza una extracción con eter etílico en medio básico y una reextracción del solvente orgánico con ácido diluido. y como fase móvil Agua:Acetonitrilo:Metanol (1500g:300g:300g), a una velocidad de flujo de 1.6 ml/min. Se usa detección UV (230 nm) y como estándar interno propanolol. El tiempo de retención es de 6.18 minutos y el intervalo de linealidad de 5-250 ng/ml con un porcentaje de recobro promedio de 100%.

En otro se utiliza detección electroquímica (4) y la pelanserina derivado de quinazolinediona como estándar interno. Se realiza una extracción en medio básico con eter etílico, se evapora a 40 °C con nitrógeno, se reconstituye con 0.5 ml de n-heptano y finalmente se realiza una extracción con 0.5 ml de ácido clorhidrico 0.1M. Como fase móvil se utiliza Metanol-Buffer de fosfatos 0.1M pH 6.5 (65:35) y columna I.D. MCH-10 (40 C). El tiempo de retención es de 11.4 minutos y el intervalo lineal es de 9.12 a 136.8 ng/ml, con un porcentaje de recobró de 80-90 %.

FARMACOCINETICA

Existe poca información acerca de la disposición del ambroxol en el organismo. Se sabe que se absorbe rápida y completamente después de

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

su administración oral (5). La biodisponibilidad relativa de las tabletas en relación a la solución, es aproximadamente del 100%.

El ambroxol se transforma en diversos productos metabólicos inactivos que se eliminan en su mayor parte en forma de conjugados hidrosolubles fácilmente filtrables por el riñón, como glucurónidos y ácido dibromoantranílico. Aproximadamente el 90% de la dosis administrada se elimina por vía urinaria. Tras la administración del ambroxol por vía oral, una tercera parte de la dosis es metabolizada a nivel hepático y este efecto se mantiene al elevar la dosis.

Después de la administración de una dosis inicial de 30 mg de ambroxol, se obtienen elevados niveles plasmáticos rápidamente.

Después de la administración intravenosa, se confirma la linealidad de la dosis, después de la administración de dosis que van de 15 hasta 90 mg al día.

Si bien, el Clorhidrato de Ambroxol, se ajusta a un modelo de dos compartimientos, según Vergin, V. H. (6), otros investigadores sugieren que, el mejor modelo que explica las variaciones en las concentraciones individuales de plasma para Ambroxol, se ajustan a un modelo abierto de 3 compartimientos. Esta diferencia probablemente se debe al método analítico utilizado para cuantificar el ambroxol en plasma. (7).

Los parámetros farmacocinéticos reportados se resumen en las siguientes tablas, en las que se observa las diferencias obtenidas en el parámetro farmacocinético de vida media.

TABLA 1. PARAMETROS FARMACOCINETICOS REPORTADOS (6) PARA CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Estudio I (n=12)			
	Preparación i.v.	Tabletas	Gotas
D (mg)	30	30	30
t ½(t) (hr)	3.72 ± 1.8		
Cmax (ng/ml)		56 ± 25	86 ± 25
tmax (hr)		2	2
AUC 0.083- 24(32)h (ng/ml)hr	809 ± 362	508 ± 271	574 ± 114
f*100%	100	72.9 ± 39.4	80.8 ± 29.0
Vc (l/kg)	1.52 ± 0.48		
Cl (ml/min)	565.1 ± 230		
MTT(hr)	4.94 ± 1.86	6.8 ± 2.5	5.4 ± 2.1

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

TABLA 2. PARAMETROS FARMACOCINÉTICOS REPORTADOS (7) PARA CLORHIDRATO DE AMBROXOL

	30 mg IV	30 mg IM
AUC_{INF} (ng/ml)*hr	868 ± 66	994 ± 87
F		1.16 ± 0.06
C_{max} ng/ml		114 ± 9
t_{max} (hr)		0.96 ± 0.17
MAT (hr)		0.90 ± 0.59
Cl_t (ml/min)	622 ± 41	
t_{1/2} (hr)	9.96 ± 0.48	9.54 ± 0.62
MRT (hr)	10.49 ± 0.58	11.40 ± 0.65

Rutas de Biotransformación del Clorhidrato de Ambroxol:

El NA 872 (Clorhidrato de Ambroxol) se metaboliza por reacciones de fase I a NA 873 y finalmente a ácido dibromoantranílico, principalmente en ratas y perros. Las reacciones de fase II (conjugaciones), se presentan principalmente en el hombre, encontrándose elevados porcentajes de metabolitos en la orina, en la forma de conjugados del ácido glucurónico con agliconas básicas(5)(8).

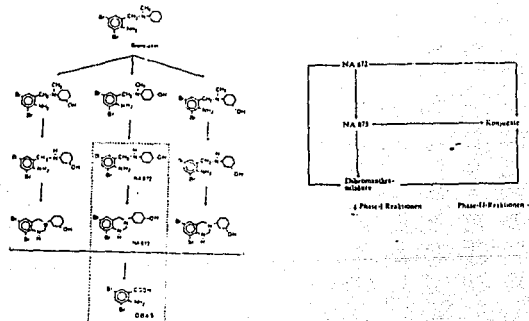


Figura 4. Ruta del metabolismo del HCL Ambroxol por Reacción de fase I a NA 873 (6,8 - Dibromo-3-(trans - 4 hydroxycyclohexyl)-1,2,3,4 - tetrahydroquinazolina).

BIOEQUIVALENCIA.

Aspectos recientes de los Estudios de Bioequivalencia.

Se entiende por productos bioequivalentes aquellos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, cuya velocidad y cantidad absorbida no muestran diferencias significativas cuando se administran en la misma dosis molar del principio activo, bajo condiciones experimentales similares, ya sea en dosis única o múltiple. Algunos equivalentes farmacéuticos ó alternativas farmacéuticas podrían ser equivalentes en la extensión de su absorción pero no en su velocidad de absorción y podrían ser aún considerados Bioequivalentes, porque tales diferencias en la velocidad de absorción son intencionales y no son esenciales para el logro de la efectividad en el uso crónico, ó son consideradas medicamente insignificantes para el fármaco estudiado en particular.(9)

CONCEPTOS BASICOS DE BIOEQUIVALENCIA PROMEDIO E INDIVIDUAL.

El término Bioequivalencia aplicado a diferentes formulaciones del mismo fármaco, se refiere a equivalencia con respecto a velocidad y cantidad absorbida.

Dos formulaciones en las cuales estos parámetros difieren 20 % ó menos son consideradas bioequivalentes (FDA 1977). Así, una formulación de prueba (T) y una referencia (R) serán consideradas bioequivalentes si en sus parámetros farmacocinéticos los valores μT y μR no difieren más de 20%. La información anterior se refiere a la localización de parámetros y , de esta manera, el termino "bioequivalencia promedio" es más apropiado.

Recientemente fue puntualizado por Anderson and Hauck 1990 (10) que la bioequivalencia promedio podría no ser suficiente para asegurar que un paciente individual encontrara la misma efectividad de la formulación de referencia que de la de prueba, por lo tanto sería necesaria la bioequivalencia intraindividual o intra-sujeto. La sugerida regla de decisión Test of Individual Equivalence Ratios (TIER) requiere la especificación del mínimo número de individuos para los cuales las razones de biodisponibilidad individual caen dentro de los rangos de bioequivalencia. De esta manera TIER se basa en consideraciones directas de las razones de biodisponibilidad individual, así como la descontinuada regla 75/75 de la FDA; aunque TIER es un proceso estadísticamente válido, no permite diferenciar efectos de período en el diseño cruzado

DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño de un estudio de Bioequivalencia es la parte medular del mismo, ya que la confiabilidad, así como la calidad de los resultados dependerá de la selección adecuada del diseño, el cual deberá cumplir con las suposiciones estadísticas predeterminadas y ser el apropiado para las formulaciones probadas. De esta manera se deberán tomar en cuenta varios puntos, los cuales se mencionan a continuación:

Para muchos fármacos se observa gran variabilidad interindividual en la depuración. El coeficiente de variación intra-sujeto (15%) es usualmente más pequeño que entre sujetos (30%) y, de esta manera, los diseños cruzados generalmente son recomendados para estudios de bioequivalencia.

Si el fármaco a investigar y/o sus metabolitos tienen una vida media extremadamente larga, un diseño en paralelo podría ser el indicado, así como en el caso de estudios farmacocinéticos en pacientes donde los perfiles farmacocinéticos repetidos son difíciles de obtener y donde el efecto farmacodinámico residual podría ser relevante.

ESTUDIOS DE DOSIS ÚNICA O MÚLTIPLE

La controversia sobre los estudios dosis única ó múltiple fue tratada en dos foros recientes, los cuales fueron organizados por la International Association for Pharmaceutical Technology (APV) y Central Laboratories of German Pharmacists (ZL) en Octubre de 1990 en Colonia (Oosterhuis & Jonkman 1991), y por la Drug Information Association en Agosto 1991 en Bethesda, Maryland (DIA 1991). Los estudios en dosis única se consideran suficientes para comparar formulaciones de liberación inmediata, durante el desarrollo de formulaciones de liberación controlada (11) y para investigar la influencia de los alimentos (12 y 13). Con la finalidad de estimar el efecto de los alimentos sobre formulaciones de liberación controlada, Blume (14) propone establecer la bioequivalencia entre la formulación de prueba y de referencia bajo condiciones de ayuno y con alimentos, y realizar también estudios en estado estacionario. Para el estudio de influencia de los alimentos proponen un estudio cruzado de 4 períodos o dos estudios cruzados de dos períodos. Cuando se haya demostrado que los alimentos no influyen en la absorción para el producto de referencia, un estudio de 3 períodos podría ser suficiente, en donde el producto de referencia se administraría solo bajo una condición. Tales estudios son necesarios, por ejemplo en el caso de formulaciones de teofilina de liberación sostenida donde se ha demostrado el efecto extremo de la comida en ambas direcciones (disminución e incremento de la biodisponibilidad).

En el caso de formulaciones de liberación controlada las autoridades regulatorias (15) requieren estudios en dosis única y múltiple. Los estudios combinados dosis única y múltiple permiten la detección de farmacocinética NO LINEAL después de administraciones repetidas. Los estudios en dosis múltiple reflejan mejor la realidad clínica y son fáciles de analizar porque la cuantificación se lleva a cabo en un intervalo de dosificación en el estado estacionario. En estudios de Dosis Múltiple, los perfiles séricos de concentración vs. tiempo pueden determinarse en 24 horas y así cuantificar posibles variaciones de día y noche.

CARACTERISTICAS FARMACOCINETICAS DE VELOCIDAD Y CANTIDAD ABSORBIDA

Generalmente se acepta que (con respecto a concentraciones séricas) el área bajo la curva caracterice la cantidad absorbida. Esto aplica a estudios de dosis única y múltiple, tanto para formulaciones de liberación inmediata como liberación controlada.

La elección de un parámetro farmacocinético apropiado para caracterizar la velocidad de absorción es aún tema de controversia y discusión (14 y 16). Esto no es de sorprender ya que el curso temporal de la absorción es un proceso complejo, particularmente en el caso de formulaciones de liberación controlada. La información completa sobre este proceso podría ser obtenida de la deconvolución del perfil de absorción, sin embargo es difícil obtenerlo. Otro método para caracterizar la velocidad de absorción podría ser el tiempo medio de absorción. En ambos casos es necesario un experimento adicional utilizando una solución oral o una infusión intravenosa, lo cual usualmente no se incluye en el estudio de Bioequivalencia, de manera que se elige como sustituto el tiempo medio de residencia (MRT). Sin embargo, para fármacos que tienen vidas medias de eliminación largas, el MRT estará dominado por este factor y, de esta manera, es menos factible caracterizar la velocidad de absorción.

La FDA aún considera el AUC y Cmax como las características primarias de cantidad y velocidad de absorción. Si las características farmacocinéticas no pueden ser determinadas, por ejemplo debido a la falta de sensibilidad del método, se pueden emplear las características farmacodinámicas considerando un diseño apropiado (paralelo vs cruzado).

Aunque las características individuales puntuales tales como Cmax y tmax son de tercera elección, tradicionalmente han sido requeridos como características de velocidad por muchas autoridades regulatorias. Ambas tmax y Cmax son dependientes del esquema de muestreo; y ambos son valores limitados para el caso de formulaciones de liberación controlada.

(17 y 18). De esta manera para formulaciones de liberación controlada, el tiempo para alcanzar el estado estacionario, se ha usado frecuentemente como una característica de velocidad. El tiempo para alcanzar el estado estacionario (plateau) es el tiempo para alcanzar una concentración constante (nivel en meseta), durante el cual el índice de fluctuación sea pequeño. En algunos casos se ha usado un porcentaje del valor plateau como característica de velocidad, tal es el caso del valor medio de duración (HVD) introducido por Meier (19), el cual representa el tiempo en el cual la concentración plasmática excede un 50 % al C_{max} . Boxenbaum (17) propone el uso del porciento de fluctuación del área bajo la curva como un indicador robusto de la velocidad, lo cual se indica como: % de fluctuación del AUC. La fluctuación del AUC relaciona el área de la curva de concentración-tiempo $C(t)$ y la línea horizontal C_{av} , la cual representa la concentración promedio en el estado estacionario, a el total del AUC durante un intervalo o ciclo de dosificación. El cálculo del % de fluctuación (Swing) ó índice de fluctuación = $100 \cdot (C_{max} - C_{min}) / C_{min}$ la cual relaciona la diferencia entre la concentración máxima y mínima a la concentración mínima es extremadamente sensible a cambios y/o errores en C_{min} (18). El porcentaje de fluctuación del pico (%PTF) el cuál se indica como: %PTF = $100 \cdot (C_{max} - C_{min}) / C_{av}$, donde $C_{max} - C_{min}$ se refiere a la característica de cantidad y $C_{av} = AUC / \text{intervalo de dosificación}$ provee características de cantidad y velocidad independientes (20). Ideas similares permitieron proponer el reemplazo de C_{max} por C_{max} / AUC en estudios de dosis única. (21).

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS.

El diseño, análisis y evaluación de estudios de Bioequivalencia ha recibido mayor atención de la academia, la Industria farmacéutica y autoridades de salud, que la década pasada, sin embargo, a pesar de los esfuerzos de varias corporaciones en establecer varias guías y recomendaciones (FDA 1977, 1988; Nordic Council of Medicines 1987, Skelly 1984), aún se carece de un estándar universal.

El análisis estadístico de los diseños cruzados de 2 periodos ha sido consolidado en años recientes, pero aún esta bajo discusión para diseños cruzados múltiples incluyendo la replicación de las formulaciones de prueba y referencia.

El análisis farmacocinético de los datos de un estudio de Bioequivalencia implica la determinación de diferencias entre las formulaciones de prueba y referencia dentro de un nivel predefinido de significancia estadística. Una prueba comunmente aplicada en esta determinación es el análisis de varianza para evaluar efecto de sujeto, tratamiento, periodo y secuencia.

Las suposiciones estadísticas son las siguientes:

- 1) Muestreo al azar
- 2) Homogeneidad de varianza
- 3) Aditividad (linealidad) del modelo estadístico
- 4) Independencia y normalidad de residuales.

Para evaluar la significancia de una observación estadística son necesarias pruebas tales como el análisis del intervalo de confianza y la prueba t de dos colas.

Entre los problemas discutidos durante una reunión reciente de la Drug Information Association (DIA) sobre "Biodisponibilidad Bioequivalencia: Consideraciones Estadísticas y Farmacocinéticas" (DIA 1991) se encuentra la transformación logarítmica de parámetros de Bioequivalencia y el correspondiente rango de bioequivalencia. Otras controversias concernientes al diseño del estudio de Bioequivalencia son: selección de la población de estudio (sujetos sanos/pacientes, fumadores/no fumadores, metabolismo normal/ metabolismo rápido y lento); postura (supina/ móvil); en condiciones de ayuno o con alimentos y tiempo entre la administración del fármaco y la ingesta de alimento; volumen de fluido administrado con el fármaco; dosis única o múltiple; la administración repetida de las formulaciones de prueba y referencia en el mismo estudio, lo cual permitiría investigar la reproducibilidad de las formulaciones de prueba y referencia, por ejemplo, comparación de la variabilidad dentro del sujeto para la formulación de prueba y referencia. Y la controversia más reciente de Bioequivalencia: Cuándo los valores promedio son criterio suficiente para permitir la intercambiabilidad de fármacos genéricos y cuándo los valores a individuales son una condición necesaria (10).

Los modelos que se emplean comúnmente son los siguientes:

Modelo aditivo vs Multiplicativo

Se han propuesto las siguientes estrategias:

- a) El uso rutinario de la escala original, con la suposición que AUC y C_{max} son valores normalmente distribuidos.
- b) El uso rutinario de la transformación logarítmica, con la suposición que AUC y C_{max} son valores log normalmente distribuidos..

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Esta transformación logarítmica ha sido recomendada por Schuirmann (22) para AUC y C_{max}., tomando como base que en un diseño cruzado, se asume que las observaciones son función de efectos aditivos debidos a sujeto, período y formulación. Tomando transformaciones logarítmicas de ecuaciones farmacocinéticas de carácter multiplicativo dentro de ecuaciones de modelo aditivo. Las ecuaciones serían las siguientes:

$$1) AUC = C_l^{-1} \cdot f \cdot \text{Dosis}$$

donde $0 < f \leq 1$ denota la fracción absorbida, es transformada en

$$2) \ln AUC = - \ln C_l^{-1} + \ln f + \ln \text{Dosis}$$

donde \ln denota el logaritmo natural así $\ln AUC$ es una función aditiva del efecto formulación $\ln f$ y el efecto sujeto $\ln C_l^{-1}$ (23). Se pueden dar razones similares para la transformación logarítmica de los datos de concentración (24). Por lo tanto se recomienda una transformación logarítmica para las características AUC, C_{max}, MRT, fluctuación a través del pico, y fluctuación AUC. En el caso de t_{max}, HVD, tiempo plateau y tiempo en la concentración promedio, la suposición de un modelo aditivo es apropiado, y en este caso el análisis estadístico se realiza sobre las observaciones sin transformar.

MÉTODOS PARA ASEGURAR BIOEQUIVALENCIA.

Entre los métodos para asegurar Bioequivalencia, el análisis estadístico de un diseño cruzado de 2 períodos ha sido consolidado en años recientes, a través de varios trabajos (24 y 25). Como el riesgo del consumidor de aceptar productos Bioinequivalentes es de interés primario para las autoridades de salud, los procedimientos estadísticos no excederán de un 5% de riesgo para el consumidor.

El procedimiento recomendado para establecer la Bioequivalencia se basa, en el uso de intervalos de confianza cortos (90%) para la razón (diferencia) de medias esperadas en el rango de Bioequivalencia respectivo, asumiendo un modelo multiplicativo (aditivo). Esta decisión es equivalente al rechazo de la hipótesis de dos colas para medias de prueba t en la aproximación paramétrica (26) o por la prueba Wilcoxon en el correspondiente análisis no paramétrico (25).

En el caso de que la distribución normal para los datos no transformados sea dudosa, se recomienda el uso de procedimientos no paramétricos. Se puede controlar el riesgo producido mediante el cálculo de un tamaño de muestra apropiado. Esto podría ser analizado antes de comenzar el estudio y ser estipulado en el protocolo.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Si se asume un modelo multiplicativo y si μ_t y μ_r denotan las medias esperadas para prueba y referencia respectivamente, el problema puede ser descrito como sigue:

$H_0: \mu_t/\mu_r \leq \phi_1$ ó $\mu_t/\mu_r \geq \phi_2$ BIOINEQUIVALENCIA

$H_1: \phi_1 < \mu_t/\mu_r < \phi_2$ BIOEQUIVALENCIA

donde ϕ_1 y ϕ_2 ($0 < \phi_1 < 1 < \phi_2$) denotan los límites inferior y superior del rango de Bioequivalencia:

Después de la transformación logarítmica esta prueba problema queda como:

$H_0: \ln \mu_t/\mu_r \leq \ln \phi_1$ ó $\ln \mu_t/\mu_r \geq \ln \phi_2$

$H_1: \ln \phi_1 < \ln \mu_t/\mu_r < \ln \phi_2$

En el caso de un modelo aditivo el problema se representa de la siguiente manera:

$H_0: \mu_t - \mu_r \leq \delta_1$ ó $\mu_t - \mu_r > \delta_2$ BIOINEQUIVALENTE

$H_1: -\delta_1 < \mu_t - \mu_r < \delta_2$ BIOEQUIVALENTE

donde $-\delta_1, \delta_2$ ($-\delta_1 < 0 < \delta_2$) denota los límites del rango de Bioequivalencia el cual podría ser expresado en diferencia absoluta en lugar de proporcionalidad y estará basado en el análisis clínico.

ESPECIFICACION DEL RANGO DE BIOEQUIVALENCIA.

La FDA recomienda la transformación logarítmica de AUC y Cmax, empleando 0.8 y 1.2 como rango de Bioequivalencia a un nivel de significancia del 90%, aunque en este caso el máximo poder del procedimiento de prueba de 2 colas no atañe $\mu_t/\mu_r=1$. La Canadian Health Protection Branch aún requiere un nivel de significancia del 95% en lugar de 90% y de esta manera el riesgo del consumidor de concluir incorrectamente Bioequivalencia es 2.5% en lugar del usualmente aceptado 5%. Con respecto a Cmax, la European CPMP (Committee on Proprietary Medicinal Products) ha propuesto un extenso rango de Bioequivalencia 0.7 y 1.43 para fármacos en contraste a 0.8 a 1.2 en los US. y 0.8 a 1.25 para la estimación puntual en Canadá.

COMBINACIONES DE FARMACOS

Los pacientes comunmente reciben 2 o más fármacos; un paciente recibe en promedio 5 fármacos durante su hospitalización. Las razones para politerapia

son varias, una razón es que la combinación de farmacos puede ser benéfica en el tratamiento de algunas condiciones, incluyendo una variedad de enfermedades cardiovasculares, infecciones y cáncer entre otras. Otra razón es que los pacientes frecuentemente sufren de varias enfermedades y condiciones y cada una podría requerir el uso de uno o más fármacos.

La interacción de fármacos puede ocurrir cuando las características farmacocinéticas o farmacodinámicas de un fármaco son alteradas por otro. La interacción terapéutica ocurre cuando la administración de un fármaco disminuye la eficacia terapéutica o aumenta la toxicidad del otro fármaco.

El ambroxol (mucolítico) ha sido administrado en combinación con Clenbuterol (Broncodilatador) y su farmacocinética no se ve modificada por la administración conjunta, por lo que su uso terapéutico es aceptado produciendo una mayor eficacia que cuando se utiliza sólo uno de los 2 fármacos en pacientes con asma o bronquitis crónica.

Hasta la fecha no hay datos de la asociación Naproxén Sódico-Clorhidrato de Ambroxol, sin embargo como se ha mencionado con anterioridad la combinación representa una ventaja para el paciente ya que reduce el número de días con fiebre y modifica favorablemente las características de la tos y la expectoración.

En la actualidad la FDA no cuenta con una reglamentación para la Biodisponibilidad de fármacos combinados.

Estudio de Bioequivalencia para FICI Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

MÉTODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE AMBROXOL EN PLASMA.

I EQUIPO

Baño de Ultrasonido, Branson

Microjeringa para cromatografía de 250 μ l de capacidad, Hamilton.

Cromatógrafo de líquidos modelo HP 1050, equipado con bomba cuaternaria, detector de longitud de onda variable, inyector automático, Hewlett-Packard

Integrador modelo HP 3396-A, Hewlett-Packard

Columna Pinkerton GFF II ISRP de 5 μ ; 150 x 4.6 mm., Pinkerton.

Precolumna empacada con GFF II ISRP de 20 x 4.6 mm, Pinkerton

II REACTIVOS

Clorhidrato de Ambroxol R.A., Sigma

Naproxén Sódico, estándar de referencia. (Materia prima obtenida de SYNTEX Cuernavaca Mor).

Fosfato de Potasio Monobásico R.A., J. T. Baker

Hidróxido de Potasio R.A., J. T. Baker

Acetonitrilo grado cromatográfico, Mallinckrodt

Agua deionizada grado cromatográfico, TECSIQUIM

Acido Clorhídrico R.A., J. T. Baker

Eter Etilico, R. A., J. T. Baker o equivalente.

Plasma Humano fresco, libre de antígenos de alto riesgo.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

III SOLUCIONES

Solución amortiguadora de Fosfatos 0,18 M. Pesar 24,75 g de Fosfato de Potasio Monobásico. Disolver y llevar a 1000ml con agua grado cromatográfico.

Solución de Hidróxido de Potasio 4M. En un matraz volumétrico de 50 ml colocar 8 g de Hidróxido de Potasio , disolver y aforar con agua grado cromatográfico.

Fase Móvil:(Acetonitrilo, solución de fosfatos 20:80) pH=5.5
Mezclar 200 ml de Acetonitrilo con 800 ml de solución amortiguadora de Fosfatos 0,18M , ajustar el pH de la fase móvil a $pH = 5.50 \pm 0.05$ con la solución de Hidróxido de Potasio 4M . Filtrar.

3.2 SOLUCIONES ESTANDAR

Solución estándar de Naproxén Sódico.

Pesar aproximadamente 15 mg de Naproxén Sódico y colocarlos en un matraz volumétrico de 25 ml de capacidad. Adicionar 10 ml de agua grado cromatográfico. Llevar al ultrasonido durante 10 minutos. Enfriar a T.A. y aforar.

Solución de amortiguadora de Fosfatos 0,02M pH = 10,0.

En un matraz volumétrico de 250 ml colocar, 0,68 g de Fosfato de Potasio Monobásico, disolver y aforar con agua grado cromatográfico. Ajustar el pH de esta solución a 10.0 ± 0.05 , con solución de Hidróxido de Potasio 4M.

Solución estándar de calibración.(Por duplicado).

Pesar 20,0 mg de Clorhidrato de Ambroxol, adicionar 50 ml de agua grado cromatográfico, llevar al ultrasonido durante 10 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente y aforar a 100 ml con el mismo disolvente. Solución A (200µg/ml).

De la solución A, tomar 5 ml y depositarlos en un matraz volumétrico de 100 ml de capacidad. Diluir y aforar con agua grado cromatográfico. Solución stock de calibración (10µg/ml)..

Preparar una curva de calibración a nueve concentraciones. Para ello tomar 0,7, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 y 15 ml, de la solución stock y depositarlos respectivamente en matraces volumétricos de 100 ml de capacidad. Diluir y aforar con agua grado cromatográfico. Soluciones de trabajo para las curvas de calibración.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

IV PROCEDIMIENTO

A 1 ml del plasma:

Agregar 1 mL de solución amortiguadora de Fosfatos 0.02M y agitar durante 30 segundos.

Agregar, 8 mL de Eter Etilico, agitar durante un minuto.

Centrifugar durante 6 minutos a 2500 r.p.m.

Transvasar la porción etérea con ayuda de una pipeta pasteur, a tubos de 15 ml de capacidad.

Agregar, 200 μ l de solución de Acido Clorhídrico 0.01N. Agitar durante un minuto.

Centrifugar durante 15 minutos a 2500 r.p.m. Transvasar, por lo menos 150 μ l de la fase ácida, a microviales de 250 μ l de capacidad.

inyectar cada una de las soluciones anteriores directamente al sistema cromatográfico bajo las siguientes condiciones:

Volumen de inyección: 100 μ L

Flujo: 1.0 ml/minuto.

Presión: 130-140 bar.

Temperatura: ambiente.

Detección: 246 nm.

Sensibilidad: 0.02 AUFS.

Nivel de Ruido: 0.01 AUFS.

Velocidad de carta: 0.2 cm/min.

Tiempo de corrida: 10 minutos.

V VALIDACION DEL METODO

Con el fin de establecer la validez del método se determinaron los siguientes parámetros:

5.1 Linealidad

Linealidad del Sistema. La linealidad del sistema se evaluó con dos curvas de calibración con 9 niveles cada una. Las curvas se elaboraron adicionando al plasma, Clorhidrato de Ambroxol, para obtener concentraciones de 7, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 y 150 ng/ml.

Linealidad del Método. Se usaron rectas de regresión para comparar el método analítico en diferentes días realizando la prueba para contrastar una pendiente significativamente diferente de 1.(27). Tal prueba se realizó determinando la pendiente con un 95% de nivel de significancia.

5.2 Precisión y Exactitud

Evaluación de la exactitud.(28, 29 y 30)

Los resultados obtenidos de 20 muestras de plasma adicionadas con Clorhidrato de Ambroxol en 4 niveles (20, 40, 60 y 150 ng/ml) se interpolaron en el promedio de dos curvas preparadas en plasma adicionadas con Clorhidrato de Ambroxol (7 - 150 ng/ml). Se calculó % de recobro, la media y desviación estándar.

Evaluación de la precisión.(28, 29 y 30)

Un pool de plasma cargado de una concentración equivalente a 80 ng/ml de Clorhidrato de Ambroxol, fue evaluado por dos analistas en dos días diferentes, analizando 24 muestras.

5.3 Límite de Detección (28) y Cuantificación (31)

El límite de detección (LOD) se determino en 2 curvas de calibración, usando la formula siguiente:

$$LLD= 2N$$

Siendo N nivel de ruido.

El límite de cuantificación (LOQ) se determinó evaluando la concentración de 5 muestras independientes, las cuales fueron adicionadas de 7 ng/ml de clorhidrato de ambroxol (31).

5.4 Selectividad

Se probó la selectividad de este método preparando muestras blanco conteniendo plasma, Heparina (anticoagulante) y naproxén sódico.

Estudio de Bioequivalencia para IICI Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

5.5 Estabilidad de la muestra.

Se prepararon muestras conteniendo Clorhidrato de Ambroxol a una concentración 80 ng/ml y Naproxén Sódico 60 µg/ml, se mantuvieron en congelación a - 15 ° C y se cuantificaron a los: 7, 14, 21 y 35 días.

5.6 Estabilidad de la muestra para inyección.

Se prepararon muestras conteniendo Clorhidrato de Ambroxol a una concentración de 80 ng/ml, las cuales se mantuvieron a temperatura ambiente y a 5 °C, cuantificandose diariamente por 3 días.

VI. SOLIDEZ DEL SISTEMA

Se efectuó la evaluación de los siguientes parámetros cromatográficos, utilizando una fase móvil de pH=5.50 y una proporción Acetonitrilo:Buffer de Fosfatos 0.18M, 20:80.

6.1 Número de Platos Teóricos (N).

$$N=16(t1/w1)^2$$

Donde:

t1= tiempo de retención del pico 1

w1= ancho en la base del pico, realizando triangulación del mismo.

6.2 Factor de Simetría (T).

$$T=w 0.05 / 2f$$

Donde:

w 0.05= ancho de la base del pico al 5% de altura con respecto a la línea base.

f= inicio del pico a la mitad de la anchura con respecto a w 0.05

6.3 Factor de Capacidad (k).

$$k= (t1-t0)/t0$$

Donde:

t1= tiempo de retención del pico 1

t0= tiempo de retención de un solvente no retenido*.

* metanol, acetonitrilo, agua, etc.

6.4 Factor de Resolución (R).

$$R= 2(tr2 - tr1)/(w2 + w1)$$

Donde:

tr2 = tiempo de retención del pico 2

tr1 = tiempo de retención del pico 1

W1ó2= ancho de la base del pico en la línea base, utilizando triangulación del pico

ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.

ESTUDIO IN VIVO SUJETOS

En el estudio participaron 24 voluntarios sanos, entre 18 y 37 años de edad y un peso corporal entre 51 y 77 Kg. Los sujetos se encontraron en condiciones aceptables de salud considerando su historial médico, exámen físico, pruebas de laboratorio incluyendo hematología, química sanguínea, análisis de orina, prueba para HIV, prueba para enfermedades venéreas y evaluación coproparasitológica.

Así mismo presentaron signos vitales normales dentro de los límites establecidos, para presión arterial sistólica (90 y 140 mmHg); diastólica (60 y 90 mmHg) y el pulso (55 y 100 latidos por minuto). Se les realizaron tales determinaciones a las 6, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas después de administrado el medicamento.

Los voluntarios fueron perfectamente informados sobre los posibles riesgos y beneficios de su participación y firmaron una hoja de consentimiento..

En el apéndice III se encuentran los criterios de exclusión.

El estudio se realizó de acuerdo a un diseño cruzado de dosis única, de dos periodos y seis secuencias. Los sujetos se asignaron al azar para seguir una de las seis secuencias. Ver Tabla III. El número de sujetos aleatorizados a cada secuencia fueron cuatro. La combinación de Clorhidrato de Ambroxol + Naproxen Sódico, se designó como formulación D. Mientras que el producto innovador para Clorhidrato de Ambroxol, se designó como formulación F.

Entre la administración de cada formulación se dejó un período "lavado" de 7 días.

TABLA III
DISEÑO EXPERIMENTAL USADO

SUBGRUPO	VOLUNTARIO No.	PERIODO	
		I	II
1	3,6,12,21,	D	F
2	2,16,18,23	D	F
3	4,8,19,24,	D	F
4	5,13,14,17	F	D
5	1,9,15,22	F	D
6	7,10,11,20	F	D

El estudio fué aprobado previamente por el Comité Institucional de Revisión (C.I.R.) del Hospital General S.S.A. de Pachuca, Hgo., México. El cegado en la identidad de las formulaciones se mantuvo durante todo el estudio. Los sujetos no fueron informados sobre la naturaleza de la formulación administrada en cada uno de los periodos. Además, el médico encargado de la evaluación de los eventos clínicos fue cegado a la identidad de las formulaciones. De la misma manera, se procedió para las muestras plasmáticas que se identificaron mediante una clave, por lo tanto, los analistas efectuaron la determinación de las concentraciones plasmáticas para Clorhidrato de Ambroxol sin conocer la secuencia de la administración de las formulaciones ni los tiempos de muestreo.

Los sujetos se concentraron en la Unidad de Investigación Clínica (AMIC) durante los periodos de dosificación. El medicamento se administró a todos los sujetos a las 08:00 horas aproximadamente, después de un ayuno de un mínimo de 10 horas. Cuatro horas más tarde se sirvió un desayuno estandar.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Los alimentos se programaron para ser administrados en el horario especificado en la Tabla IV.

TABLA IV

PROGRAMA PARA LAS COMIDAS Y *ADMINISTRACION DEL MEDICAMENTO		
*(DIA 1) 08:00 horas con 240ml de agua	DIA 1	DIA 2
	Desayuno 12:00 h	Desayuno 08:00 h
	Comida 15:00 h	Comida 14:00 h
	Cena 20:00 h	Cena 20:00 h
	DIA 3	DIA 4
	Desayuno 08:00 h	Desayuno 8:30 h
	Comida 14:00 h	
	Cena 20:00 h	

Se permitió beber agua ad libitum excepto una hora antes y una después de administrar el medicamento. No se consumió alcohol ni alimentos o bebidas conteniendo cafeína durante las 48 horas anteriores y hasta después de obtener la última muestra de sangre.

Los voluntarios se mantuvieron hospitalizados desde 12 horas antes de administrar el medicamento hasta 72 horas después.

Los voluntarios se abstuvieron de ingerir alimentos y bebidas a las 22:00 horas del día anterior a la administración del medicamento. Todas las comidas fueron estandarizadas por una Nutrióloga y para consumir cada una se permitió de 20 a 25 minutos. (*ver apéndice IV)

Se tomaron muestras de sangre de 10 ml por venopunción o a través de un cateter corto antes de administrar la dosis (hora 0) y a las 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48 y 72 horas después de

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

administrar los diferentes productos, utilizando un dispositivo con heparina para la toma repetida de muestras, las cuales se colocaron en tubos heparinizados. Las muestras de sangre se conservaron a 4 °C durante un máximo de 60 minutos antes de centrifugarlas. Se centrifugaron a 3000 rpm a 4 °C durante 30 minutos. El plasma se transfirió a tubos limpios de polipropileno y se congelaron a -15° C .

Análisis de muestras

Las muestras fueron analizadas utilizando el método descrito en el procedimiento.

Las concentraciones plasmáticas de Clorhidrato de Ambroxol y Naproxeno Sódico a los diferentes tiempos de muestreo, fueron determinadas por interpolación en la curva de calibración, utilizando el paquete computacional, "Excel[®]" 4.0a.

Métodos de control de calidad

La administración de las formulaciones y la codificación de las muestras de plasma, se efectuaron bajo procedimientos estándar de operación de AMIC, el centro responsable de la conducción de la parte clínica del estudio.

Durante la determinación de las concentraciones plasmáticas, se aplicaron las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Como parte del aseguramiento de calidad del sistema analítico utilizado, se intercalaron en cada seis muestras, muestras de control de calidad de concentraciones conocidas a niveles bajo, medio o alto, al azar.(30, 31 y 32). Los analistas se encontraron cegados a la identificación de las muestras provenientes de los voluntarios, así como, de los niveles de las muestras control. Se revisaron diariamente las cartas de control, demostrando que durante todo el proceso analítico, el sistema se mantuvo bajo control. Ver apéndice I.

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los paquetes computacionales utilizados para los cálculos farmacocinéticos y de bioequivalencia, fueron las versiones más recientes (BIOPAK[®] 2.2 y SAS 6.09), recomendados internacionalmente (33).

Para asegurar la exactitud de la entrada de datos, así como su análisis farmacocinético por BIOPAK[®] se realizó la entrada de datos por duplicado e independientemente por dos personas con un paso adicional de comparación que revisa las posibles discrepancias entre los dos archivos.

CAPITULO IV

RESULTADOS.

Los cromatogramas de plasma adicionado con 80 ng/mL de Clorhidrato de Ambroxol y muestra plasmática de un voluntario se muestran en la figura 5 y 6. El tiempo de retención para Clorhidrato de Ambroxol fue de 6.6 minutos. El cromatograma del voluntario presenta la señal cromatográfica al mismo tiempo de retención que la referencia.

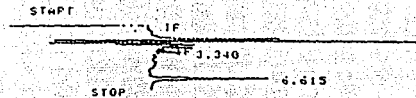


Figura 5. Plasma adicionado con Clorhidrato de Ambroxol.
TR = 6.61 min.

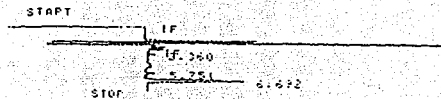


Figura 6. Muestra plasmática de un voluntario al cual se le administró Clorhidrato de Ambroxol. TR = 6.69 min.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Los resultados se encuentran en la tabla V, así como en la figura 7. Los resultados obtenidos demuestran que existe relación lineal entre la concentración y la respuesta en alturas, con un coeficiente de correlación lineal de 0.999.

TABLA V.

LINEALIDAD DEL SISTEMA. Día 1. Curvas de calibración de plasma adicionado con Clorhidrato de Ambroxol.

CURVA A		CURVA B	
ADICIONADO ng/ml	RESPUESTA (alturas en cuentas)	ADICIONADO ng/ml	RESPUESTA (alturas en cuentas)
7	1258	7	1157
10	1453	10.01	1319
20	2579	20.01	2510
30	3683	30.02	3495
40	4952	40.02	4821
60	7050	60.03	7334
80	9688	80.04	9806
100	11772	100.05	12806
150	17038	150.08	17892

Multiple R	0.9984
R Square	0.996803
Adjusted R Square	0.996603
Standard Error	313.4603
Observations	18

	Coefficients	Standard Error	t Statistic	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	274.6762	117.1938	2.343778	0.031501	26.23651	523.116
x1	116.3165	1.646924	70.62651	1.97E-22	112.8252	119.8078

$$Y = 116.3165X + 247.6762$$

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

TABLA V.(Continua)

LINEALIDAD DEL SISTEMA. Día 2. Curvas de calibración de plasma adicionado con Clorhidrato de Ambroxol.

CURVA (A)		CURVA (B)	
Adicionado (ng/ml)	Respuesta (alturas en cuentas)	Adicionado (ng/ml)	Respuesta (alturas en cuentas)
7.01	1139	7.01	1054
10.01	1410	10.01	1434
20.02	2677	20.02	2694
30.03	3871	30.03	3942
40.04	5274	40.04	5062
60.06	7761	60.06	7364
80.08	9132	80.08	10301
100.1	12201	100.1	12410
150.15	18245	150.15	18615

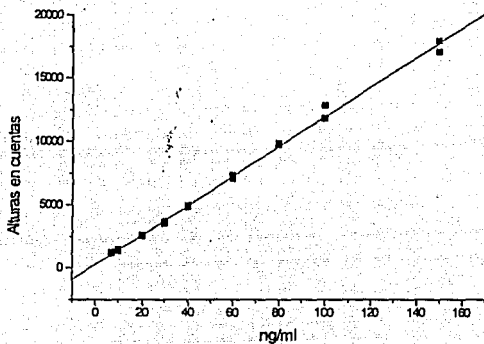
Regression Statistics

Multiple R	0.999058
R Square	0.998116
Adjusted R Square	0.997998
Standard Error	249.5292
Observations	18

	Coefficients	Standard Error	t Statistic	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	254.2491	93.29239	2.725293	0.014394	56.4781	452.0201
x1	120.6126	1.310068	92.06591	2.2E-24	117.8354	123.3898

$$Y = 120.6126X + 254.2491$$

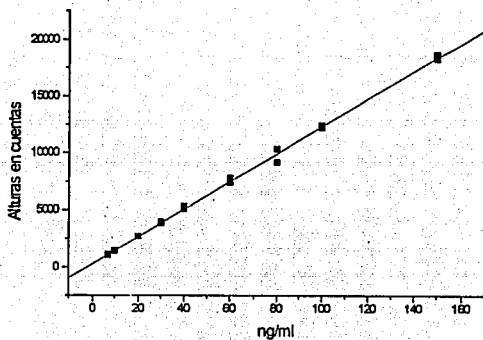
Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambrroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.



$$Y = 116.3165X + 247.6762$$

Figura 7. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.



$$Y = 120.6126X + 254.2491$$

Figura 7.(Continúa) LINEALIDAD DEL SISTEMA.(Día 2)

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

LINEALIDAD DEL METODO

Los resultados de la linealidad se presentan en la tabla VI y la figura 8.

TABLA VI.

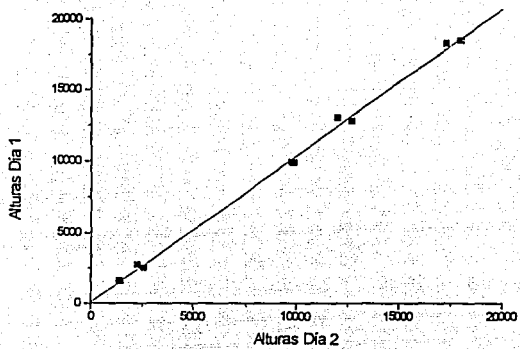
LINEALIDAD DEL METODO. Respuesta de las curvas de calibración de plasma adicionado con Clorhidrato de Ambroxol.

CONCENTRACION ng/ml	ALTURAS DIA 1	ALTURAS DIA 2
10	1441	1529
10	1390	1594
20	2581	2494
20	2279	2731
80	9787	9896
80	9906	9871
100	12710	12764
100	11997	12968
150	17281	18227
150	17984	18430

$$b = .029771 \pm (2.31)0.0182$$

$$r = 0.9988$$

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambr...ol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.



$$b = 1.029771 \pm (2.31)0.0182$$

Figura 8. LINEALIDAD DEL METODO.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

EXACTITUD

Los datos obtenidos que se encuentran en la tabla VII, demuestran la exactitud del método con un recobro promedio de 94.0103% y una DER = 8,31%.

**TABLA VII
EXACTITUD DEL METODO.**

NIVEL	ADICIONADO	RECUPERADO	% DE RECOBRO
1	20.02	19.0344	94.92698
1	20.02	23.6892	118.3275
1	20.02	19.6142	97.97321
1	20.02	19.6697	98.26014
1	20.02	17.6807	88.31528
2	40.04	36.5585	91.30493
2	40.04	33.3568	83.30859
2	40.04	36.6694	91.58186
2	40.04	38.1032	95.16464
2	40.04	34.916	87.20291
3	60.06	59.2201	98.60164
3	60.06	50.9039	84.75515
3	60.06	59.9686	99.84782
3	60.06	59.1439	98.47471
3	60.06	56.1224	93.44382
4	150.15	149.667	99.69134
4	150.15	127.829	85.13407
4	150.15	130.192	86.71257
4	150.15	141.266	94.08351
4	150.15	139.797	93.10503

PARAMETROS ESTADISTICOS TOMANDO EN CUENTA EL % DE RECOBRO PARA LOS 4 NIVELES.	
94.0103	MEDIA
7.81331	D.S
8.31112	Coficiente de Variación.

PARAMETROS ESTADISTICOS PARA EL % DE RECOBRO POR NIVEL			
NIVEL	MEDIA	STD	Coficiente de Variación
1	99.56	11.23	11.28
2	89.71	4.56	5.08
3	95.02	6.24	6.57
4	91.75	5.91	6.44

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

PRECISION

Los resultados se encuentran en la tabla VIII, en la que se puede ver una DER =4.09%.

TABLA VIII
PRECISION DEL METODO.(80 ng/ml)

DIA	ANALISTA I AMBROXOL. HCL (% RECUPERADO)	ANALISTA II AMBROXOL.HCL (% RECUPERADO)
1	99.52	100.26
	107.38	106.50
	100.96	105.76
	95.19	99.78
	101.79	105.19
	99.35	100.37
2	100.35	89.75
	102.61	98.97
	104.47	105.00
	103.12	106.93
	105.15	97.97
	99.83	96.82

n = 24

MEDIA = 101.38

DE = 4.15

DER = 4.09%

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

EL LIMITE DE DETECCION observado fue de 2ng/ml . (Tabla IX y fig. 9).

TABLA IX.
LIMITE DE DETECCION

CANTIDAD ADICIONADA (ng)	ALTURA DE RESPUESTA (mm)
2.00	1.00
2.00	1.00
3.00	1.50
2.99	1.60
4.00	1.90
3.99	1.80
5.00	2.20
4.99	2.20
10.01	3.30
9.98	3.70
15.02	5.00
14.96	4.50

n = 12

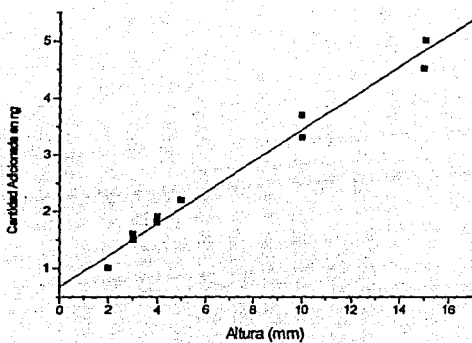
$$Y = 0.276872x + 0.678794$$

r = 0.9899

NIVEL DE RUIDO (N) = 2.6334(10⁻²)mV

LLD = 5.27(10⁻²) mV = 2 ng/ml

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.



$$Y = 0.276872x + 0.678794$$

Figura 9. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION PARA CLORHIDRATO DE AMBROXOL EN PLASMA.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Para el LIMITE DE CUANTIFICACION (7 ng/ml) se obtuvo una media = 5.85 y un Coeficiente de Variación. = 4.42%. Ver tabla IX.

TABLA IX.
(continuacion)

LIMITE DE CUANTIFICACION

PUNTOS PARA DETERMINAR LIMITE DE CUANTIFICACION			
ADICIONADO ng/ml	RESPUESTA altura (cuentas)	INTERPOLADO ng/ml	% DE RECOBRO
7.02	691	5.81	82.77
7.02	686	5.75	81.88
7.02	677	5.63	80.27
7.02	688	5.77	82.24
7.02	730	6.30	89.77

CON RESPECTO AL VALOR INTERPOLADO

MEDIA 5.85

D.S. 0.26

C.V. 4.42

CON RESPECTO A LA RESPUESTA

MEDIA 694.4

D.S. 20.57

C.V. 2.96

CON RESPECTO AL % DE RECOBRO

MEDIA 83.38

D.S. 3.69

C.V. 4.42

*C.V.= Coeficiente de Variación.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

SELECTIVIDAD. Se determinó que no existe interferencia del Clorhidrato de Ambroxol con heparina, componentes del plasma, ni con el naproxén sódico. (Ver figs. 10-12).

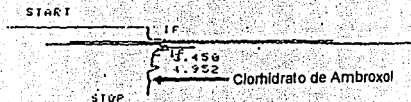


Figura 10. Plasma blanco adicionado de Heparina (Anticoagulante).
Con tratamiento de extracción.

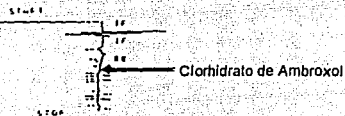


Figura 11. Plasma blanco adicionado de Naproxeno Sódico.
Con tratamiento de extracción.

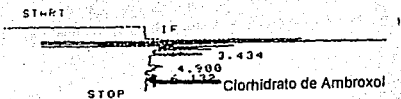


Figura 12. Plasma blanco con tratamiento de extracción.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

ESTABILIDAD.

Las muestras mantenidas en congelación fueron cuantificadas a los: 7, 14, 21 y 35 días.

Los resultados se presentan en la tabla X.

TABLA X.

Estabilidad de Clorhidrato de Ambroxol en plasma. Temperatura de congelación a -15 °C. Concentración inicial 75.70 ng/mL.

TIEMPO (DIAS)	% RECUPERADO DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL (%)
7	105.35
14	99.30
21	102.00
42	101.78

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Los resultados obtenidos al analizar las muestras listas para inyectarse a temperatura ambiente y 5° C se presentan en la tabla XI.

TABLA XI.

Estabilidad de Clorhidrato de Ambroxol en HCl 0.01N. Muestras plasmáticas tratadas listas para inyectarse. Concentración inicial = 76.34 ng/mL.

TIEMPO (días)	POTENCIA DE CLORHIDRATO DE AMBROXOL (%)	
	T.A	5°C
1	99.97	100.31
2	95.37	103.39
3	102.29	91.60
4	104.43	115.85

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

ESTUDIO EN HUMANOS

En la tabla XII se muestran las concentraciones promedio (24 sujetos) para cada tiempo de muestreo.

TABLA XII
Concentracion promedio (DE) de los 24 sujetos para cada tiempo de muestreo.

HORA	FORMULA	
	D - Producto de Prueba (ng/ml)	F - Producto Innovador (ng/ml)
0.0	-	-
0.25	-	-
0.5	9.7140 -	11.4060 (4.4548)
1.0	33.8608 (18.3044)	53.7908 (21.2196)
1.5	41.7555 (16.7408)	63.8736 (17.8909)
2.0	47.0171(18.2743)	58.7781 (17.2042)
3.0	48.3034 (10.6524)	49.7293 (16.4552)
4.0	42.5387 (8.5400)	43.4148 (11.7018)
6.0	29.8914 (6.4056)	28.4964 (10.1507)
8.0	22.7556 (5.3267)	22.3106 (10.7009)
12.0	15.1124 (3.8562)	15.1355 (6.2237)
18.0	9.4253 (2.3922)	10.5554 (3.8116)
24.0	8.6727 (1.1916)	9.3454 (3.8543)

1) El modelo farmacocinético al cual se ajustan los datos, es un modelo abierto de dos compartimientos.

$$C = Le^{-\alpha t} + Me^{-\beta t} + Ne^{-k t}$$

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

2) Parámetros farmacocinéticos individuales:

La tabla XIII muestra los parámetros farmacocinéticos, para los datos ajustados a un modelo de 2 compartimientos.

Tabla. XIII. Parámetros farmacocinéticos, para los datos ajustados a un modelo de 2 compartimientos

SUJETO	FORM	A	B	K01	ALFA	BETA
1	D			7.3046		
2	D	30.1274	27.9824	0.5823	0.0632	0.0961
3	D	148.3477	74.2551	0.6851	0.3003	0.0449
4	D			0.8487		
5	D	160.7456	4.7849	0.4181	0.2002	
6	D			0.1717		
7	D			0.5926		
8	D	113.0014	23.0015	0.4071	0.7711	0.1744
9	D	32.0013	42.0021	1.2832	0.1508	0.1850
10	D			0.3743		
11	D	72.3391	14.5593	1.2372	0.1517	0.1382
13	D	61.6200	81.6182	0.9235	0.4064	0.1501
14	D	62.217	92.2387	0.3271	0.2382	0.1593
15	D	198.5394	2.2128	0.4798	0.2101	
16	D	5.6144	46.9745	0.5475	0.0702	0.0907
17	D	516.4927	4.4958	0.4701	0.3743	
18	D	14.2665	54.7228	0.8698	0.3521	0.1127
19	D	162.5643	19.6717	0.5441	0.2765	0.0409
20	D			0.3173		
21	D	183.3643	38.4154	0.4689	0.2649	0.0767
22	D			0.2280		
23	D	78.2905	47.7143	0.6765	0.4124	0.1243
24	D	166.6962	66.4492	0.6247	0.8303	0.1902
	MEDA	131.6702	34.1026	0.7016	1.3774	0.1185
	SD	118.5529	22.2637	0.5135	4.5248	0.0418
	C.V.	90.0378	65.2846	73.2441	326.2048	35.3850

Tabla. XIII.(Continuación) Parámetros farmacocinéticos, para los datos ajustados a un modelo de 2 compartimientos

SUJETO	FORM	A	B	K01	ALFA	BETA
1	F	99.9261	36.7324	1.3162	0.4179	0.1257
2	F	157.9767	29.3175	0.5582	0.2802	0.0049
3	F			0.6348		
4	F	38.0123	28.0124	1.1181	0.1561	0.1395
5	F	84.6805	27.2987	0.2384	0.2607	0.1146
6	F	122.3067	4.3123	0.7814	0.2813	
7	F	129.6924	18.7433	2.7172	0.3272	0.1638
8	F	61.3910	35.3547	0.9452	0.2753	0.1922
9	F	294.8835	14.8223	0.6558	0.3222	0.1403
10	F	74.0243	17.0219	1.0027	0.2801	0.2413
11	F	103.5158	24.8463	0.3220	0.1932	0.1164
12	F	45.0263	21.2254	0.8643	0.1927	0.2265
13	F			0.6454		
14	F	129.3214	34.5043	0.2783	0.2168	0.0411
15	F	178.5795	12.0242	0.5828	0.2029	0.1428
16	F			0.5935		
17	F	785.2287	64.7217	0.6181	0.1781	0.2541
18	F	179.1979	64.4878	0.2431	0.4221	0.1139
19	F	66.0268	53.5223	0.9793	0.4159	0.1478
20	F	32.4235	26.7109	0.9144	0.2202	0.1681
21	F	69.5778	69.0214	1.0021	0.4373	0.1169
22	F	1120.2522	22.7173	0.7128	0.6182	0.1307
23	F			0.4109		
24	F	122.5481	27.4214	0.5202	0.3573	0.0693
	MEDIA	191.2712	35.2671	0.7236	0.3419	0.1243
	SD	269.6891	19.2711	0.1884	0.1120	0.0227
	C.V.	140.6312	54.6812	26.4454	33.0471	47.3280

Los parámetros farmacocinéticos AUC_LAST, AUC_INF y Cmax fueron calculados utilizando el paquete BIOPAK[®] 2.2, para cada uno de los 24 sujetos y las dos formulaciones con Clorhidrato de Ambroxol. Los valores promedio obtenidos de los 24 sujetos después de la administración de la tableta conteniendo HCl Ambroxol + Naproxeno Sódico (D) y la tableta de HCl Ambroxol (F) se presentan en la Tabla XIV. La concentración máxima (Cmax) fue de 54.93 ± 13.52 ng/ml para la formulación D y de 66.69 ± 19.24 ng/ml para la formulación F, en los tiempos 2.25 ± 0.77 horas y 1.58 ± 0.43 horas respectivamente. El área bajo la curva hasta el último tiempo de muestreo (AUC_LAST) fue 417.19

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

± 118.30 ng hr/ml para la formulación D y 440.01 ± 192.42 ng hr/ml para la formulación F. El área bajo la curva hasta infinito (AUC_INF) fue 507.15 ± 128.13 ng hr/ml para la formulación D y 536.23 ± 213.95 ng hr/ml para la formulación F. La tabla XIV parte II muestra los mismos parámetros farmacocinéticos que la tabla XIV pero calculados con los paquetes JANA Versión 2.1 y PCNONLIN Versión 3.0, en donde los datos se ajustaron a un modelo de 2 compartimientos. La Figura 10 muestra la curva promedio de concentración plasmática vs. tiempo para cada formulación.

TABLA XIV

Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros farmacocinéticos para el estudio de bioequivalencia de clorhidrato de ambroxol (n=24, media \pm desviación estándar). Modelo Independiente.

PARAMETROS	FORMULACION	
	PRUEBA Clorhidrato de Ambroxol más Naproxeno Sódico	REFERENCIA Clorhidrato de Ambroxol (innovador)
AUC_LAST	417.19 \pm 118.30 ng hr/ml	440.01 \pm 192.42 ng hr/ml
AUC_INF	507.15 \pm 128.13 ng hr/ml	536.23 \pm 213.95 ng hr/ml
Cmax_ALL	54.93 \pm 13.52ng/ml	66.69 \pm 19.24ng/ml
Tmax_ALL	2.25 \pm 0.77hr	1.58 \pm 0.43hr
BETA_ALL	0.1034 \pm 0.02hr ⁻¹	0.1049 \pm 0.0242hr ⁻¹
VIDA MEDIA	7.0028 \pm 1.5858hr	7.0016 \pm 1.9034hr

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxen Sódico.

TABLA XIV.(PARTE II) PARAMETROS FARMACOCINETICOS DEL CLORHIDRATO DE AMBROXOL OBTENIDOS AL ADMINISTRAR LAS FORMULACIONES D (COMBINACION DE NAPROXEN SODICO + CLORHIDRATO DE AMBROXOL) Y F (CLORHIDRATO DE AMBROXOL - PRODUCTO INNOVADOR). MODELO DEPENDIENTE..

PARAMETROS	FORMULACION D		FORMULACION F	
	MEDIA	SD	MEDIA	SD
AUC_LAST (ng hr/ml)	417.19	118.30	422.28	106.99
AUC_INF (ng hr/ml)	504.02	130.0699	509.44	122.36
Cmax_ALL (ng/ml)	54.93	13.51	57.23	14.46
Tmax_ALL (hr)	2.25	0.76	2.13	0.76
BETA_ALL (hr ⁻¹)	0.10	0.02	0.10	0.02
VIDA MEDIA (hr)	6.88	1.51	6.92	1.83

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CONCENTRACIONES PROMEDIO DE SUJETOS PARA CADA TIEMPO DE MUESTREO

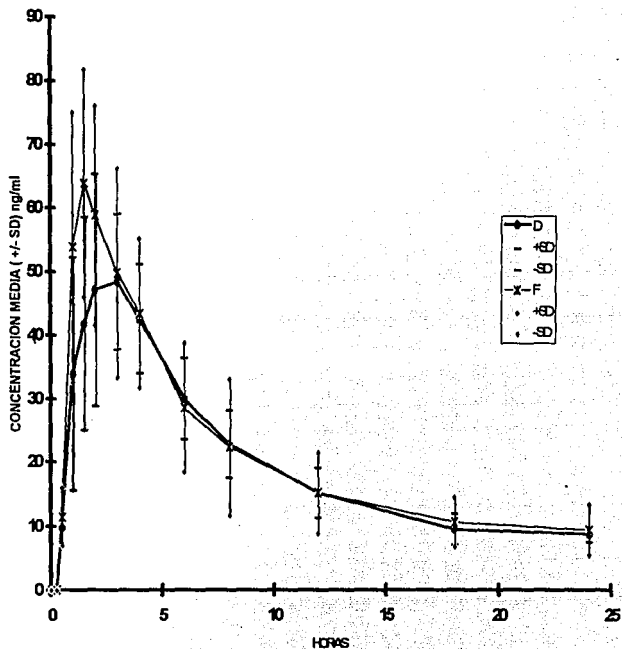


Figura 13. Niveles plasmáticos promedio de Clorhidrato de Ambroxol después de administración de los productos D (Clorhidrato de Ambroxol + Naproxeno Sódico) y F (Clorhidrato de Ambroxol) para 24 voluntarios sanos. (Las barras representan la desviación estándar de la media)

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

La tabla XV muestra los MRT (tiempos medios de residencia) y la CI oral (Depuración oral) para los 24 sujetos y las dos formulaciones.

Sujeto	Formula	periodo	frecuencia	MRT	Cl oral (ml)
1	F	1	FD	9 705996	59 41632
1	D	2	FD	9 921025	71 55660
10	F	1	FD	8 982490	136 7445
10	D	2	FD	8 282504	118 5882
11	F	1	FD	9 945701	61 28302
11	D	2	FD	8 854123	56 25050
12	D	1	DF	9 197970	88 87741
12	F	2	DF	8 619875	115 3349
13	F	1	FD	9 524512	78 74615
13	D	2	FD	8 658770	82 77851
14	F	1	FD	8 811154	53 28549
14	D	2	FD	8 492577	53 21697
15	F	1	FD	10 548873	57 32571
15	D	2	FD	15 43395	47 14883
16	D	1	DF	11 37178	10 12721
16	F	2	DF	9 380725	58 7520
17	F	1	FD	12 66645	22 8367
17	D	2	FD	14 99226	40 23114
18	D	1	DF	9 321456	55 34453
18	F	2	DF	9 704165	49 32340
19	D	1	DF	12 91302	47 33451
19	F	2	DF	9 450709	68 11863
2	D	1	DF	14 18549	53 38278
2	F	2	DF	12 60224	43 867
20	F	1	FD	7 981105	81 65485
20	D	2	FD	11 47184	78 7511
21	D	1	DF	12 51782	45 97013
21	F	2	DF	9 262266	46 52356
22	F	1	FD	7 448404	81 00785
22	D	2	FD	8 924328	85 08767
23	D	1	DF	9 233776	50 14781
23	F	2	DF	12 33843	43 49780
24	D	1	DF	10 01198	54 29106
24	F	2	DF	15 23318	61 95928
3	D	1	DF	10 74834	49 24432
3	F	2	DF	9 817336	39 37452
4	D	1	DF	6 333783	63 09931
4	F	2	DF	7 483929	73 81327
5	F	1	FD	12 07415	45 63119
5	D	2	FD	12 454	43 4327
6	D	1	DF		
6	F	2	DF	11 84391	47 80356
7	F	1	FD	7 21336	56 12273
7	D	2	FD	6 902945	106 0115
8	D	1	DF	9 822522	83 45927
8	F	2	DF	9 244014	53 12054
9	F	1	FD	7 155473	76 18993
9	D	2	FD	9 276643	69 24983

PARAMETROS	D	D	F	F
	MEDIA	SD	MEDIA	SD
MRT	10.44	2.00	10.39	2.31
Cl oral (l/hr)	64.13	19.60	63.40	20.60

CAPITULO V.

DISCUSION

5.1 METODO ANALITICO

Los resultados obtenidos demuestran que existe relación lineal entre la concentración adicionada y la respuesta en alturas, con un coeficiente de regresión lineal de 0.999.

Al analizar los resultados provenientes del método analítico se encontró que:

El método presenta relación lineal entre la concentración adicionada y la respuesta en alturas, en un rango de concentración de 7 a 150 ng/ml, con un coeficiente de correlación de 0.999. (Fig. 8)

La exactitud del método con respecto a plasma es aceptable con una media igual a 94 % de recobro de los 4 niveles analizados (20, 40, 60 y 150 ng/ml) y un coeficiente de variación de 8.31, siendo los porcentajes de recobro igual a 11.28, 5.08, 6.57, 6.44 y los coeficientes de variación igual a 11.27, 5.079, 6.57, y 6.44 para cada nivel respectivamente. (Tabla VII)

El método es preciso con un Coeficiente de Variación = 7.47%

El límite de cuantificación (7ng/ml) presentado por el método resultó satisfactorio, ya que la concentración en las muestras fué mayor a dicho valor.

Las muestras mantenidas en congelación son estables durante 35 días. (Tabla X)

La cuantificación del Clorhidrato de Ambroxol en muestras listas para inyectarse a temperatura ambiente y 5 °C, muestran que es posible almacenarlas bajo esas condiciones durante 3 días, ya que como se puede ver en la tabla XI, el cuarto día se cuantificó un 116 %.

Es importante mencionar que durante el estudio se llevó a cabo un riguroso Control de Calidad intercalando cada 6 muestras un punto control, de concentración alta, media o baja (al azar), monitoreando diariamente las cartas de control, lo que avala la confiabilidad de los resultados obtenidos (Ver apéndice I).

Los resultados analíticos se obtuvieron a través de la técnica de estandarización externa, esto fué posible ya que el volumen de inyección es alto (100 µl) y el equipo utilizado reporta una precisión de inyección de 0.3% para un loop parcialmente lleno y 0.05% para un loop completamente lleno, además como se puede observar en los resultados para precisión en plasma, se tiene un buen control de la extracción, por lo tanto la calibración por estándar externo fué más ventajosa que una calibración por estándar interno, ya que de esta última

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

(aplicando la ley de propagación del error) (33) se demostró que afectaba la reproducibilidad del análisis cromatográfico.

En base a lo anterior, se observa que el método cumple con los criterios para ser utilizado en estudios de Bioequivalencia, y por otro lado es sencillo y se pueden analizar aproximadamente 96 muestras diariamente (tiempo de corrida 10 minutos).

5.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Un estudio de Bioequivalencia debe tener suficiente poder estadístico para detectar al menos un 20% de diferencia entre los 2 tratamientos con $\alpha = 0.05$ y $\beta = 0.2$. Un poder de 0.8 o mayor para asegurar la aceptabilidad del estudio estadísticamente. Considerando que el poder del estudio depende de la variabilidad interindividual el número de sujetos empleado en este estudio fué de 24.

Para realizar el análisis estadístico de los datos se utilizó un diseño experimental cruzado de 2 x 2, es decir 2 tratamientos involucrando dos períodos y dos secuencias.

5.3 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

Después de la administración oral de las Tabletas, conteniendo 30 mg de Clorhidrato de ambroxol, se encontró que la absorción es rápida, con una vida media de eliminación promedio de 7 horas (Ver tabla XIV), observándose que no existe gran variabilidad interindividual para este parámetro, lo cual sustenta que la administración del medicamento sea cada 8 horas. En el caso del tiempo medio de residencia fue de 10.44 ± 2 hr.

Al realizar el ajuste de los datos, 37 sujetos se ajustaron a un MADC (Modelo abierto de dos compartimientos) mientras que los 11 restantes a un MAUC (Modelo abierto de un compartimiento)..

Al comparar los datos obtenidos con los reportados en la literatura se encontró que los valores de C_{max} , t_{max} y Area bajo la curva son muy semejantes.

De los parámetros Farmacocinéticos y de Biodisponibilidad del Clorhidrato de Ambroxol innovador y el Clorhidrato de Ambroxol en la combinación con el Naproxén Sódico podemos observar que son muy similares, lo cual se ve reflejado en el análisis estadístico de las medias de los datos, el cual no muestra diferencias estadísticamente significativas (Ver tabla XVII).

En cuanto a los datos individuales para la vida media de absorción (k_01) se observa que para el producto innovador (F, $n=17$) el valor es ligeramente más largo que para el producto de prueba y que el MRT es ligeramente mayor ($n=17$) para el producto de prueba -combinación-, así mismo las concentraciones plasmáticas individuales, también son ligeramente mayores para la formulación F en los primeros tiempos de muestreo (0.5 a 2 horas), sin embargo como se muestra en el apéndice VI no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias. Podemos observar además de

la tabla XIII que existe mayor variabilidad interindividual en K01 para el producto de prueba que para el producto de referencia.

5.4 ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.

Se usaron los intervalos de confianza para probar la hipótesis de bioequivalencia de las dos formulaciones con Clorhidrato de Ambroxol según el procedimiento universalmente aceptado (26, 34, 35 y 36). Se utilizó PROC GLM de SAS^R para calcular los intervalos de confianza, los cálculos de los ANOVAS se muestran en el Apéndice II. Los resultados principales se muestran en la Tabla XVI. Para AUC_LAST, la estimación puntual del cociente de medias de la formulación de prueba (D) y la formulación de referencia (F) fué igual a 98.0% con intervalo de confianza del 90% igual a (89.9%, 106.8%). Para AUC_INF, la estimación puntual del cociente de medias de la formulación de prueba (D) y la formulación de referencia (F) fué igual a 97.3% con intervalo de confianza del 90% igual a (90.8%, 104.3%). Para Cmax, la estimación puntual del cociente de medias es igual a 82.7% con intervalo de confianza del 90% igual a (75.5%, 90.6%). para Cmax/AUC_INF, la estimación puntual del cociente de medias es igual a 85.0% con intervalo de confianza del 90% igual a (80.4%, 89.9%). Para los análisis anteriormente mencionados se utilizaron datos transformados

En base a los acuerdos reglamentarios armonizados en E.U.A., CE. y Canadá (34,35) se consideró un intervalo de aceptación de 80% a 125% para el cociente de medias de las formulaciones de cada uno de estos dos parámetros. Como los intervalos de confianza están contenidos en dicho rango se concluye la bioequivalencia con respecto a cantidad absorbida de Clorhidrato de Ambroxol. Para los parámetros farmacocinéticos de interés secundario, Cmax y Cmax /AUC-INF, que son indicadores de la velocidad de absorción, los resultados son similares para las dos formulaciones aunque la formulación prueba se absorbe a una velocidad ligeramente menor. Debido a que el parámetro Cmax es el más variable que los cuatro parámetros farmacocinéticos considerados para la decisión de bioequivalencia (35), las agencias sanitarias difieren en su reglamentación. La Comunidad Europea utiliza un intervalo de 70% a 143% mientras que Canadá requiere que la estimación puntual se encuentre entre 80% y 125% para establecer la Bioequivalencia utilizando datos transformados. La FDA utiliza un rango de 80% a 125% (datos transformados) para el intervalo de confianza. De los resultados obtenidos se observa que Cmax es ligeramente inferior al rango en el límite inferior del intervalo (Ver tabla XVI). Este último resultado tiene una importancia menor para Cmax ya que el ambroxol es un medicamento que se utiliza en dosis múltiples para lograr su efecto terapéutico. Cabe mencionar que el parámetro Cmax /AUC-INF se considera, como el más indicativo de la velocidad de absorción (35) con

un rango de aceptación de 80% a 125% de acuerdo a los reglamentos armonizados vigentes. Como el intervalo de confianza está contenido en dicho intervalo, se concluye la bioequivalencia.

TABLA XVI.

Intervalo de confianza clásico al 90% para probar la hipótesis de Bioequivalencia de las formulaciones de Prueba y Referencia para los parámetros de AUC_INF y Cmax, usando un rango de aceptación de 80 % a 125% (basados sobre datos log transformados).

PARAMETRO	ESTIMACION PUNTUAL μ_{test}/μ_{refer}	INTERVALO DE CONFIANZA CLASICO DE 90% μ_{test}/μ_{refer}	DECISION ACERCA DE BIOEQUIVALENCIA
AUC_LAST	98.0%	89.9%,106.8%	BIOEQUIVALENTE
AUC_INF	97.3%	(90.8%,104.3%)	BIOEQUIVALENTE
Cmax	82.7%	(75.5%,90.6%)	BIOEQUIVALENTE SEGUN NORMAS C.E. Y CANADA

- 5.5 Dado que los parámetros farmacocinéticos y de Biodisponibilidad de las dos formulaciones no muestran diferencias estadísticamente significativas (Ver tabla XVII), se puede decir que no existe interacción farmacocinética en la administración del producto combinado.

TABLA XVII
PRUEBA t PARA DIFERENCIA DE DOS MEDIAS

	Parámetro farmacocinético				
	β	tiempo de vida media	Depuración oral	MRT	K01
t	0.1698	0.0025	0.1601	0.0707	0.6936
s	0.0222	1.7518	20.1007	2.1644	0.3895
t < t tablas	Si	Si	Si	Si	Si
Se rechaza Ho.*	Si	Si	Si	Si	Si

*Ho = La media de los resultados dada por ambas formulaciones es diferente

5.6 Intervalo de Dosificación.

Considerando que las vidas medias de ambos fármacos son diferentes, Clorhidrato de Ambroxol 7 hrs y Naproxén Sódico 19 hrs, fue necesario establecer el intervalo de dosificación adecuado para la administración de la combinación, por lo que se utilizaron las siguientes formulas para establecer el mejor regimen de dosificación:

Las ecuaciones utilizadas fueron las siguientes asumiendo F= 1:

$$C = (FD)/(C \cdot \tau)$$

$$C_i = D/ABC$$

$$C = ABC/\tau$$

$$R_{AC} = (1.44 \cdot t_{1/2})/\tau$$

$$C_{ss \text{ máx}} = (FD_M)/v(1 - e^{-k\tau})$$

$$C_{ss \text{ mín}} = C_{ss \text{ máx}} e^{-k\tau}$$

$$\tau_{\text{max}} = \ln(C_{\text{max}}/C_{\text{min}})/k$$

Para los cálculos se seleccionaron los sujetos con la vida media más corta y más larga, para así establecer las diferencias en Cmax y Cmin. Los resultados se resumen en las siguientes tablas:

Clorhidrato de Ambroxol

	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 6 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 6 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 6 \text{ hr}$
Vida Media	Promedio (7 hr)					
$C = A/BC \tau = \text{ng/ml}$	62.42	81.52	37.15	49.54	78.28	104.38
$C_{ss \text{ máx}} = \text{ng/ml}$	93.08	113.31	67.98	77.34	114.91	139.92
$C_{ss \text{ mín}} = \text{ng/ml}$	52.21	61.08	17.40	26.76	50.41	75.42
$R_{AC} =$	1.25	1.68	0.702	0.9408	2.38	2.4

Naproxén Sódico

	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 6 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$	$\tau = 8 \text{ hr}$
Vida Media	Promedio (19 hr)					
$C = A/BC \tau = \text{ng/ml}$	132.5	176.66	104.95	139.94	146.23	194.96
$C_{ss \text{ máx}} = \text{ng/ml}$	152.04	195.70	128.04	162.32	163.10	212.3
$C_{ss \text{ mín}} = \text{ng/ml}$	113.67	157.54	84.38	118.65	129.18	178.37
$R_{AC} =$	3.56	4.75	2.36	3.15	4.21	5.62

Considerando que la concentración mínima efectiva para el clorhidrato de ambroxol es de 30 ng/ml y para el Naproxén Sódico de 30 µg/ml, se puede observar que con un intervalo de 9/8 horas ambos fármacos presentan niveles mínimos en el estado estacionario dentro del margen terapéutico. En el caso de administrar cada 6 horas se observa que la acumulación del Naproxén Sódico sería alta, lo cuál podría ocasionar efectos secundarios, por lo que el intervalo de dosificación recomendado es administrar esta combinación cada 8 horas. Dado que en el presente estudio no se administró el clorhidrato de ambroxol por vía intravenosa y considerando que la biodisponibilidad reportada es de 0.8, al hacer los cálculos con este factor, en todos los casos los valores se encontraron también dentro del intervalo terapéutico.

CAPITULO VI.

CONCLUSIONES

El método analítico utilizado para cuantificar Clorhidrato de ambroxol en plasma fue lineal en el rango de 7 a 150 ng/ml, reproducible, selectivo, sensible con un límite de detección de 2 ng/ml, preciso y exacto.

Considerando los límites establecidos para los parámetros Area bajo la curva a 24 horas (AUC_LAST), Area bajo la curva a tiempo infinito (AUC_INF) y Concentración máxima (Cmax) aceptados por las farmacopeas Europea, Canadiense y de los E.U.A. y el empleo clínico del medicamento, el presente estudio demostró la bioequivalencia de la combinación, Tableta (SYNTEX) de Naproxén sódico 275 mg/tableta más clorhidrato de ambroxol 30 mg/tableta vs. la formulacion de referencia: Mucosolvan (Boehringer-Ingelheim) tableta de Clorhidrato de Ambroxol 30 mg/tableta, producto innovador para Clorhidrato de Ambroxol.

Se encontró una constante de absorción de 0.7796 ± 0.1984 , una contante global de disposición del fármaco de 0.1049 ± 0.0242 , un tiempo de vida media de 7 ± 1.9 horas, y una depuración oral de 1056.6287 ± 343.25 ml/min después de la administración oral de 30mg de Clorhidrato de Ambroxol.

Los parámetros farmacocinéticos Cmax, tmax y Area bajo la curva hasta las 24 horas concuerdan con los reportados en la literatura (6).

Los parámetros Farmacocinéticos y de Biodisponibilidad del Clorhidrato de Ambroxol Innovador vs Prueba no muestran diferencias estadísticamente significativas.

El intervalo de dosificación para la nueva formulación deberá ser cada 8 horas, tomando en cuenta las vidas medias de ambos principios activos y la acumulación de estos en el organismo.

REFERENCIAS

- (1) Martindale. The Extra Pharmacopeia. 28th Edition. p. 686. London 1993.
- (2) Botterblom, M. H. A., Janseen, T. J., Guelen, P. J. M., Vree, T. B. Rapid and sensitive determination of Ambroxol in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography. Biomedical Applications* 421 (1987) 211-215.
- (3) Nieder, M. Jaeger, H. Selective quantification of ambroxol in human plasma by HPLC. *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* (9) 10:561-565 (1986).
- (4) F.J. Flores Murrieta, C. Hoyo-Vadillo, E. Hong y G. Castañeda Hdez.. Assay of Ambroxol in human plasma by HPLC Chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography. Biomedical Applications.* 490 (1989) 464-469.
- (5) Hammer, R., Bozler, G., Jauch, R. y Koss, F. W. Speziesvergleich in pharmakokinetik und metabolismus von NA 872 CL Ambroxol bei Ratte, Kaninchen, Hund und Mensch. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 28 (I) 5a:899-903 (1978).
- (6) Vergin, V. H. Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Bioäquivalenz unterschiedlicher Darreichungsformen von Ambroxol. *Arzeim., Forsch./Drug. Res.*, 35,II, 1591-1595 (1985).
- (7) Mainguy. Study in healthy volunteers of the absolute bioavailability and Pharmacokinetics of Ambroxol after intramuscular and intravenous administrations of a single dose of 30 mg. *Laboratoires BOEHRINGER at Reims.*(1986).
- (8) Von R. Jauch, G. Bozler, R. Hammer und F. W. Koss. Ambroxol, Untersuchungen zum Stoffwechsel beim Menschen und zum quantitativen Nachweis in Biologischen Proben. *Arzneim.-Drug Res.* 28 (I), Heft 5a (1978)
- (9) Bioavailability and Bioequivalence Requirements. 21 CFR 320. 1992
- (10) Anderson S. Hauck W W. A new procedure for testing equivalence in comparative bioavailability and other clinical trials. *Communications in Statistics A12: 2663-2692, 1983*
- (11) Benedikt G, Steinijans V W. Dietrich R. Galenical development of a new sustained-release theophylline pellet formulation for once-daily administration. *Arzneimittel-Forschung* 38: 1203-1209, 1988.
- (12) Karim A, Burns T, Janky D, Hurwitz A. Food-induced changes in theophylline absorption from controlled release formulations, part II : importance of meal composition and dosing time relative to meal intake in assesing changes in absorption. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 38: 642-647 , 1985 b
- (13) Schulz H-U, Karlsson S, Sahner- Ahrens Y, Steinijans V W, Beier W. Effect of drug intake prior to or after meals on serum theophylline concentrations: single-dose studies with Euphylong. *International Journal of Clinical Pharmacology Therapy and Toxicology* 25 :222-228, 1987.

- (14) Blume H, Siewert M, Steinijans V W, Stricker H. Bioäquivalenz von per os applizierten Retard-Arzneimitteln: Konzeption der Studien und Entscheidung über Austauschbarkeit, *Pharmazeutische Industrie* 51: 1025-1033, 1989
- (15) Skelly JP. Guidance for conducting studies on theophylline controlled release products. Food and Drug Administration, Division of Biopharmaceutics (0928X-4/84), 1984
- (16) Steinijans VW Pharmacokinetic characterization of controlled release formulations. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 15: 173-181, 1990
- (17) Boxenbaum H. Pharmacokinetic determinants in the design and evaluation of sustained-release dosage forms. *Pharmaceutical Research* 2: 82-88, 1984.
- (18) Steinijans VW, Trautmann H, Johnson E, Beier W. Theophylline steady-state pharmacokinetics: recent concepts and their application in chronotherapy of reactive airway diseases. *Chronobiology International* 4 : 331-347, 1987.
- (19) Meier J, Nuesch E, Schmidt R. Pharmacokinetic criteria for the evaluation of retard formulations. *European Journal of Clinical Pharmacology* 7: 429-432, 1974
- (20) Schylz H-U, Steinijans VW, Striving for standards in bioequivalence assessment: a review. *International Journal of Clinical Pharmacology Therapy and Toxicology* 29: 293-298, 1991
- (21) Endrenyi L, Fritsch S, Yan W. C_{max}/AUC is a clearer measure than C_{max} for absorption rates in investigations of bioequivalence *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology* 29: 394-399, 1991.
- (22) Schuirmann DJ. Use of logarithmic transformation for analysis of bioavailability / bioequivalence data. Paper presented at the DIA-Workshop on Bioavailability / Bioequivalence: Pharmacokinetic and Statistical Considerations, Bethesda, Md., August 5-7, 1991, Audio Transcripts Ltd, Alexandria , 1991.
- (23) Steinijans V W, Hauschke D. Update on the statistical analysis of bioequivalence studies. *International Journal of Clinical Pharmacology Therapy and Toxicology* 28: 105-110, 1990
- (24) Westlake WJ. Bioavailability and bioequivalence of pharmaceutical formulations. In Peace (De.) *Biopharmaceutical statistics for drug development*, pp. 329-352. Marcel Dekker, New York, 1988
- (25) Hauschke D, Steinijans V W, DiIetti E. A distribution-free procedure for the statistical analysis of bioequivalence studies. *International Journal of Clinical Pharmacology Therapy and Toxicology*, 28: 72-80, 1990
- (26) Shuirmann D.J. A comparison of the two One-Sided Tests Procedure and Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability. *J. Pharmacokin. Biopharm.* (15) 657-680 (1987).

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

- (27) Miller J.C., Miller J.N. Estadística para Química Analítica ADDISON-WESLEY IBEROAMERICANA U.S.A 1993 pp.106-110.
- (28) Shah P. Vinod. Analytical methods used in Bioavailability studies: a regulatory viewpoint. Clin. Res. Practices & Drug Reg. Affairs, 5(1), 51-60 (1987)
- (29) Karnes and March. Precision, Accuracy, and Data Acceptance Criteria in Biopharmaceutical Analysis. Pharmaceutical Research, 10(10), 1420-1426 (1993).
- (30) Brooks A. Marvin, Weinfeld E. Robert . A validation process for data from the analysis of drugs in biological fluids. Drug Development and Industrial Pharmacy, 11(9&10), 1703-1728 (1985)
- (31) Shah, Midha, Dighe et al. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies. Pharmaceutical Research, 9(4), 588-592 (1992).
- (32) Bioanalytical Methods . Pharmaceutical Research, 8(4), 421-426 (1991)
- (33) Haefelfinger P. Limits of the Internal Standard technique in Chromatography. Journal of Chromatography, 218 (1981) 73-81.
- (34) FDA. Guidance: Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design. (1992).
- (35) Steinijans VW, Hauschke D, Johkman JHG. Controversies in Bioequivalence Studies. Clinical Pharmacokinetics. 1992; 22: 247-253.
- (36) Westlake W.J. Bioavailability of Pharmaceutical Formulations. In: Peace ed. Biopharmaceutical Statistics for Drug Development. New York, N.Y. Marcel Dekker. (1988) 329-352.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

APENDICES

APENDICE I

CARTAS DE CONTROL DE CALIDAD PARA CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL A-NIVEL BAJO CLORHIDRATO DE AMBROXOL

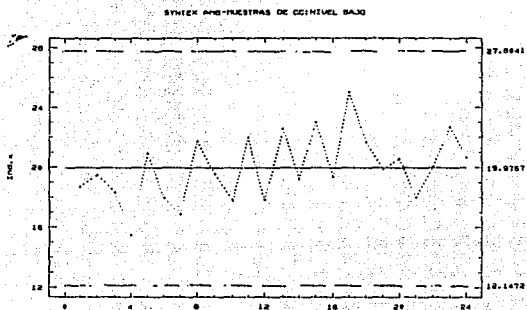
```
-----
Ind.x and MR(2) - Initial Study
-----
SYNTEX AMB-MUESTRAS DE CC:NIVEL BAJO

Ind.x                                     MR(2)
-----                                     -----
UCL:      + 3.0 sigma = 27.8041           UCL:      + 3.0 sigma = 9.62113
Centerline = 19.9757                       Centerline = 2.94349
LCL:      - 3.0 sigma = 12.1472           LCL:      - 3.0 sigma = 0
out of limits = 0                           out of limits = 0
-----
Chart: Both      Normalize: No
24 subgroups, size 1                          0 subgroups excluded

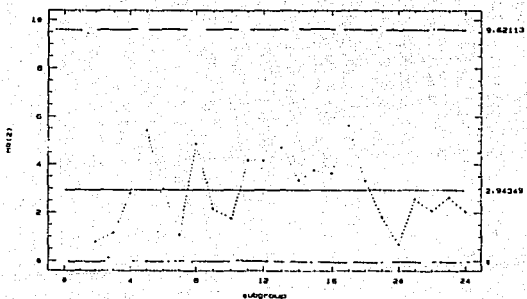
Estimated
process mean = 19.9757
process sigma = 2.60947
mean MR(2)    = 2.94349
```

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL A2-NIVEL BAJO CLORHIDRATO DE AMBROXOL



VOLUNTARIO



CARTA DE CONTROL B-NIVEL MEDIO CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Ind.x and MR(2) - Initial Study

SYNTEX AMB-RUESTRAS DE CC:NIVEL MEDIO

Ind.x	MR(2)
UCL: + 3.0 sigma = 49.8478	UCL: + 3.0 sigma = 12.4871
Centerline = 39.6875	Centerline = 3.82029
LCL: - 3.0 sigma = 29.5272	LCL: - 3.0 sigma = 0
out of limits = 0	out of limits = 0

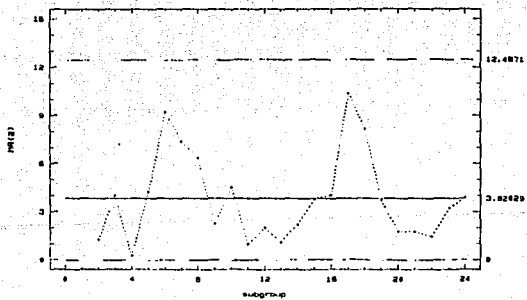
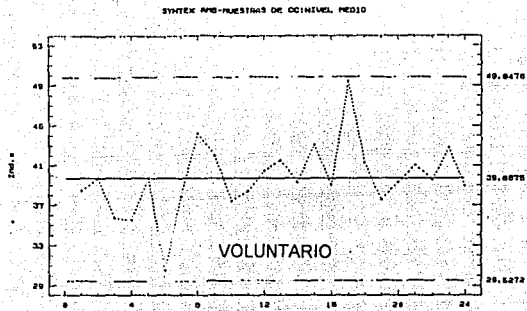
Chart: Both Normalize: No

24 subgroups, size 1 0 subgroups excluded

Estimated
process mean = 39.6875
process sigma = 3.38678
mean MR(2) = 3.62029

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL B2-NIVEL MEDIO CLORHIDRATO DE AMBROXOL



CARTA DE CONTROL C1-NIVEL ALTO CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Ind.x and MR(2) - Initial Study

SYNTEX

Ind.x		MR(2)	
-----		-----	
UCL: + 3.0 sigma = 190.856		UCL: + 3.0 sigma = 37.3811	
Centerline = 160.44		Centerline = 11.4364	
LCL: - 3.0 sigma = 130.024		LCL: - 3.0 sigma = 0	
out of limits = 0		out of limits = 0	

Chart: Both Normalize: No

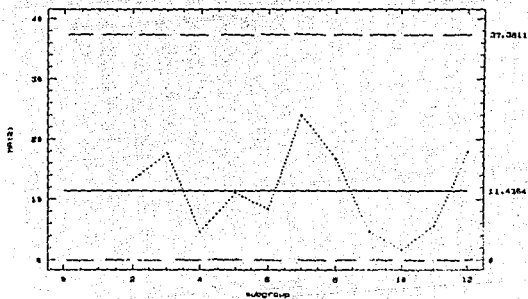
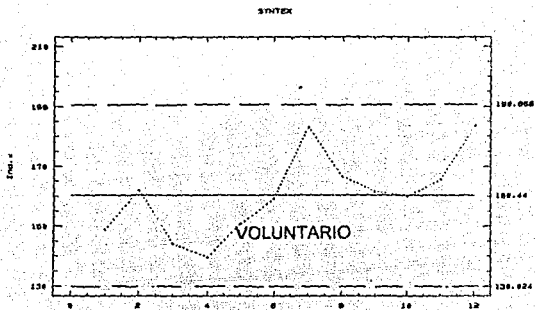
12 subgroups, size 1

0 subgroups excluded

Estimated
process mean = 160.44
process sigma = 10.1386
mean MR(2) = 11.4364

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL C2-NIVEL ALTO CLORHIDRATO DE AMBROXOL



FALLA DE ORIGEN

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL C3-NIVEL ALTO CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Ind.x and MR(2) - Initial Study

SYNTEX AMB-HUESTRAS DE CC:UPPER LEVEL

Ind.x	MR(2)
-----	-----
UCL: + 3.0 sigma = 70.9509	UCL: + 3.0 sigma = 12.4785
Centerline = 60.7976	Centerline = 3.81767
LCL: - 3.0 sigma = 50.6442	LCL: - 3.0 sigma = 0
out of limits = 0	out of limits = 0

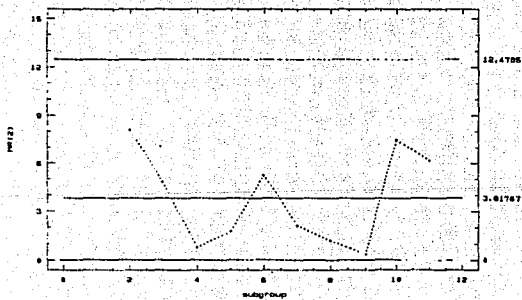
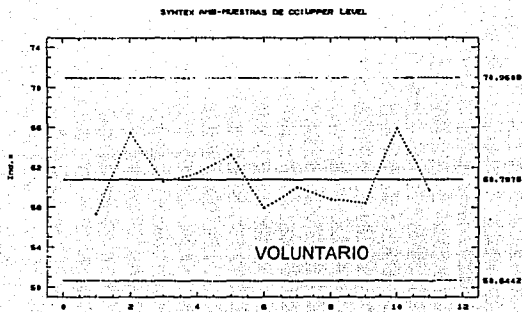
Chart: Both Normalize: No

11 subgroups, size 1 0 subgroups excluded

Estimated
process mean = 60.7976
process sigma = 3.38446
mean MR(2) = 3.81767

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CARTA DE CONTROL C4-NIVEL ALTO CLORHIDRATO DE AMBROXOL



APENDICE II

RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA DE PROC GLM (General Linear Models Procedure) DE SAS PARA CLORHIDRATO DE AMBROXOL

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A1

Sop 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE		Page 2	
Syntex Naproxen-Ambroxol Tabletas: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 2 Analisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia 05:52 Wednesday, September 14, 1994					
General Linear Models Procedure					
Dependent Variable: LMAUC_L Loge de ABC HASTA ULTIMA HUESTRA (72 H.)					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	26	5.28058113	0.20309927	6.78	0.0001
Error	21	0.62864870	0.02993565		
Corrected Total	47	5.90922983			
	R-Square	C.V.	Root MSE	LMAUC_L Mean	
	0.893616	2.884969	0.17101922	5.99912580	
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.00506200	0.00506200	0.17	0.6851
PERIODO	2	0.44173824	0.22086912	7.38	0.0037
SECUCIEN1	5	1.66643777	0.33328755	11.13	0.0001
SUJETO(SECUCIEN1)	10	1.16734312	0.11673431	5.88	0.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.00506200	0.00506200	0.17	0.6951
PERIODO	2	0.07501814	0.03750907	1.25	0.3061
SECUCIEN1	5	1.66643777	0.33328755	11.11	0.0001
SUJETO(SECUCIEN1)	10	1.16714312	0.11671431	5.88	0.0001
Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
FORMULA D VS F	-0.02053658	-0.41	0.6851	0.04994615	
Datos de Ambroxol: D = Asociacion Fija, F = Innovador					

FALLA DE ORIGEN

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A2

Sep 14 1994 10:40 OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE Page 3

Syntax Naproxen-Ambroxol Tabletas: Estudio de Bioequiv. Mayo/94
 Analisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia
 09:52 Wednesday, September 14, 1994

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: LNAUC_I Loge de ABC extrapolado hasta Infinito

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	26	4.18490121	0.16095774	8.18	0.0001
Error	21	0.41340814	0.01968610		
Corrected Total	47	4.59830935			

R-Square	C.V.	Root MSE	LNAUC_I Mean
0.910096	1.259918	0.14030717	6.20814265

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.00893436	0.00893436	0.45	0.5079
PERIODO	2	0.14051791	0.17052896	8.65	0.0018
SECUENCIA I	5	1.12871013	0.26574203	13.50	0.0001
SUJETOS(SECUENCIA I)	18	2.50673875	0.13926327	7.07	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.00893436	0.00893436	0.45	0.5079
PERIODO	2	0.07114330	0.03657165	1.88	0.1808
SECUENCIA I	5	1.12871013	0.26574203	13.50	0.0001
SUJETOS(SECUENCIA I)	18	2.50673875	0.13926327	7.07	0.0001

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate
FORMULA D VS F	-0.02728608	-0.67	0.5079	0.04050319

Datos de Ambroxol: D = Asociacion Fija, F = Innovador

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A3

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 4	
Syrtec Naproxen-Ambroxol Tablets: Estudio de Bioequiv. Mayo/94						
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia						
09:52 Wednesday, September 14, 1994						
General Linear Models Procedure						
Dependent Variable: LNCHAX Loge de Concentracion Maxima observada						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	26	3.09276200	0.11895238	3.53	0.0022	
Error	31	0.70788733	0.03770892			
Corrected Total	47	3.80064933				
	R-Square	C.V.	Root MSE	LNCHAX Mean		
	0.813746	4.512494	0.18359989	4.05870125		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
FORMULA	1	0.43303765	0.43303765	12.85	0.0017	
PERIODO	2	0.04466938	0.02233019	0.66	0.5260	
SECUENCI	5	0.73406240	0.14681248	4.36	0.0073	
SUJETO(SECUENCI)	18	1.68100157	0.10450009	3.10	0.0073	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
FORMULA	1	0.43303765	0.43303765	12.85	0.0017	
PERIODO	2	0.03986493	0.01993246	0.59	0.5626	
SECUENCI	5	0.73406240	0.14681248	4.36	0.0073	
SUJETO(SECUENCI)	18	1.68100157	0.10450009	3.10	0.0073	
Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate		
FORMULA D US F	-0.18996439	-3.58	0.0017	0.05306072		

Datos de Ambroxol D = Asociacion Fija, F = Innovador

FALLA DE ORIGEN

Tabla A4

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 5	
Syntax Naproxen-Ambroxol Tabletas: Estudio de Bioequiv. Mayo/94						
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia						
09:52 Wednesday, September 14, 1994						
General Linear Models Procedure						
Dependent Variable: QUTCA Quotient of Cmax over AUC ₀₋₁						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	26	0.02650464	0.00101941	4.95	0.0002	
Error	21	0.00432588	0.00020599			
Corrected Total	47	0.03083051				
	R-Square	C.V.	Root MSE	QUTCA Mean		
	0.859688	11.93087	0.01435250	0.12029719		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
FORMULA	1	0.00482475	0.00482475	23.42	0.0001	
PERIODO	2	0.00386687	0.00193344	7.01	0.0047	
SECUNCI	5	0.00749260	0.00149852	7.27	0.0004	
SUJETO(SUCUNCI)	18	0.01130042	0.00062780	3.05	0.0080	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
FORMULA	1	0.00482475	0.00482475	23.42	0.0001	
PERIODO	2	0.00350217	0.00175108	8.69	0.0018	
SECUNCI	5	0.00749260	0.00149852	7.27	0.0004	
SUJETO(SUCUNCI)	18	0.01130042	0.00062780	3.05	0.0080	
Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate		
FORMULA D VS F	-0.02005149	-4.84	0.0001	0.00414321		

Data: Je Ambroxol; D = Asociación Fija; * = Innovador

Tabla A5

Sep 14, 1994 10:40 **OUTPUT STAMB2T3-SOURCE** Page 6

Syntax Naproxen-Ambroxol Tablets: Estudio de Bioequiv, Mayo/94 6
 Analisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia
 09:52 Wednesday, September 14, 1994

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: LNQUOTCAL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	26	1.84193256	0.07084356	5.61	0.0001
Error	21	0.26516627	0.01262697		
Corrected Total	47	2.10709883			

	R-Square	C.V.	Root MSE	LNQUOTCAL Mean
	0.874156	-5.251804	0.11216977	-2.13964139

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.31757079	0.31757079	25.15	0.0001
PERIODO	2	0.14406145	0.07203072	5.70	0.0105
SECUCNCI	5	0.48797457	0.09759491	7.73	0.0003
SUJETO(SECUCNCI)	18	0.89232575	0.04957365	3.93	0.0017

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FORMULA	1	0.31757079	0.31757079	25.15	0.0001
PERIODO	2	0.19684141	0.09842071	7.79	0.0039
SECUCNCI	5	0.48797457	0.09759491	7.73	0.0003
SUJETO(SECUCNCI)	18	0.89232575	0.04957365	3.93	0.0017

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate
FORMULA D VS F	-0.16267831	-5.01	0.0001	0.03243836

Datos de Ambroxol: D = Asociacion Fija, F = Innovador

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A6

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 8
Systec Naproxen-Ambroxol Tablets: Estudio de Bioequiv. Mayo/94					
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia					
09:52 Wednesday, September 14, 1994					
General Linear Models Procedure					
Dependent Variable: LNAIK_L Loge de ABC HASTA ULTIMA MUESTRA (72 H.)					
Tests of Hypotheses using the Type I SS for SUJETO(SECUENCIA) as an error term					
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value Pr > F	
SECUENCIA	5	1.66643777	0.33327755	1.89 0.1654	

Datos de Ambroxol: D = Asociación Fija, F = Inovador

FALLA DE ORIGEN

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A7

Sep 14 1994 10:40:00 OUTPUT-STAMB2T3.SOURCE Page 9

Syntax Naproxen-Ambroxol Tabletas: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 9
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia
09:52 Wednesday, September 14, 1994

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: LNAUC_I Loge de ABC extrapolado hasta infinito

Tests of Hypotheses using the Type I MS for SUJETO(SECUENCI) as an error term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SECUENCI	5	1.32871013	0.26574203	1.91	0.129

Datos de Ambroxol: D = Asociación Fija, F = Invariante

FALLA DE ORIGEN

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

Tabla A8

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 10	
Syntex Naproxen-Ambroxol Tabletas: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 10						
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia 09:52 Wednesday, September 14, 1994						
General Linear Models Procedure						
Dependent Variable: LMC04X Loge de Concentracion Maxima observada						
Tests of Hypotheses using the Type I SS for SUJETO(SECUNDI) as an error term						
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SECUNDI	5	0.73406240	0.14681248	1.40	0.2695	
Datos de Ambroxol. D = Asociación Fija. F = Innovador						

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletts conteniendo Clorhidrato de Ambroxol -
Naproxén Sódico.

Tabla A9

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 11	
Systex Naproxen-Ambroxol Tabletts: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 11						
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia						
09:52 Wednesday, September 14, 1994						
General Linear Models Procedure						
Dependent Variable: OUTCA Quotient of Cmax over AUC_1						
Tests of Hypotheses using the Type III SS for SUBJECT(SEQUENC1) as an error term						
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SEQUENC1	5	0.00749260	0.00149852	2.11	0.0732	
Datos de Ambroxol: D = Asociación Fija, F = Invariante						

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

Tabla A10

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE			Page 12	
Omnex Naproxen-Ambroxol Tablets: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 12						
Análisis de Varianza para calcular IC para probar Bioequivalencia 09:52 Wednesday, September 14, 1994						
General Linear Models Procedure						
Dependent Variable: LNOUTCA1						
Tests of Hypotheses using the Type III SS for SUJETO(SECUENCIA) as an error term						
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SECUENCIA	5	0.48797457	0.09759491	1.97	0.1325	

Datos de Ambroxol: D = Asociación Fija, F = Innovador

Tabla A11

Sep 14 1994 10:40		OUTPUT-STAMB2T3-SOURCE		Page 7	
Syntex Naproxen-Ambroxol Tablets: Estudio de Bioequiv. Mayo/94 Analisis de Varianza para Calcular IC para Probar Bioequivalencia 09:52 Wednesday, September 14, 1994					
General Linear Models Procedure Least Squares Means					
FORMULA	LSMEAN	Std Err LSMEAN	Pr > T HO:LSMEAN=0	T / Pr > T HO: LSMEAN1=LSMEAN2	
D	5.98886651	0.03531740	0.0001	-0.41321	0.6851
F	6.00940509	0.03531740	0.0001		
FORMULA	LSMEAN	Std Err LSMEAN	Pr > T HO:LSMEAN=0	T / Pr > T HO: LSMEAN1=LSMEAN2	
D	6.19469960	0.02864008	0.0001	-0.67368	0.5079
F	6.22198569	0.02864008	0.0001		
FORMULA	LSMEAN	Std Err LSMEAN	Pr > T HO:LSMEAN=0	T / Pr > T HO: LSMEAN1=LSMEAN2	
D	3.97371906	0.03747717	0.0001	-3.58418	0.0017
F	4.16368345	0.03747717	0.0001		
FORMULA	LSMEAN	Std Err LSMEAN	Pr > T HO:LSMEAN=0	T / Pr > T HO: LSMEAN1=LSMEAN2	
D	0.11027144	0.00292969	0.0001	-4.8396	0.0001
F	0.13032293	0.00292969	0.0001		
FORMULA	LSMEAN	Std Err LSMEAN	Pr > T HO:LSMEAN=0	T / Pr > T HO: LSMEAN1=LSMEAN2	
D	-2.22098055	0.02293738	0.0001	-5.015	0.0001
F	-2.05830224	0.02293738	0.0001		
Datos de Ambrox... C = Asociacion Fija, F = Inovador					

APENDICE III

Criterios de Exclusión.

-Sujetos con antecedentes de hipersensibilidad a cualquier medicamento (en especial a los fármacos bajo estudio, naproxén sódico o clorhidrato de ambroxol, o con padecimientos importantes cardiovasculares, renales, hepáticos, metabólicos, gastrointestinales, neurológicos (incluidos epilepsia y enfermedad mental), endocrinos o en otro sistema u órgano, o cualquier clase de anemia.

-Sujetos que requieren algún medicamento durante el estudio, ajeno al producto de prueba.

-Sujetos cuyos valores de laboratorio clínico se desvian de los límites normales, a menos que, a juicio del investigador, se considere que tal desviación carece de importancia clínica. Ello se reportará en las formas de reporte de caso.

Las pruebas de laboratorio en ayunas que deben efectuarse al inicio del estudio y en las 24 horas siguientes a su terminación e incluyen:

Hematología: Hemoglobina, hematocrito, cuenta de glóbulos rojos, cuenta de glóbulos blancos con diferencial y cuenta plaquetaria o estimado.

Química sanguínea: sodio, potasio, urea, ácido úrico, creatinina, fosfatasa alcalina, TGO, TGP, GGT., bilirrubina total, glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina y hepatitis (además de otros analitos informados como parte de un perfil computarizado).

Solo al inicio. VIH. VDRL/RPR y coproparasitoscópico.

Análisis de orina: gravedad específica, pH, proteínas, cetonas, urobilinógeno, glucosa y examen microscópico (cilindros/campo microscópico (cm), eritrocitos/cm, leucocitos/cm).

Electrocardiograma de 12 derivaciones al final del estudio.

-Sujetos que por alguna razón fueron hospitalizados en las 8 semanas anteriores al estudio o que sufrieron una enfermedad clínicamente importante en las cuatro semanas anteriores al estudio.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

-Sujetos tratados con algún medicamento experimental en las cuatro semanas anteriores al inicio del estudio.

-Sujetos que han tomado medicamentos (excepto aspirina) durante los 14 días o 5 vidas medias (lo que sea más prolongado) antes de iniciarse el estudio, o cualquier producto que no requiere receta en los tres días anteriores al estudio o que han sido tratados en los tres meses anteriores con cualquier medicamento con toxicidad potencial conocida.

-Sujetos que hayan tomado hipnóticos, sedantes, antihistamínicos u otros fármacos inductores enzimáticos 15 días antes de iniciar el estudio.

-Sujetos que ingirieron cafeína o alcohol en las 48 horas anteriores al inicio del periodo de confinamiento del estudio. Esto se debe a que se ha informado que la cafeína modifica la farmacocinética de diversos medicamentos, incluyendo analgésicos.

-Sujetos que hayan donado o perdido 450 ml o más de sangre en los dos meses anteriores al estudio.

-Sujetos con antecedentes de farmacodependencia o alcoholismo.

-Tabaquismo en cualquiera de sus formas antes de iniciar el estudio.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

APENDICE IV

ALIMENTOS ADMINISTRADOS DURANTE EL ESTUDIO

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tablas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C E N A

- 1 VASO DE LECHE CON FRESA
- 2 HOT DOGS
- 1 PORCION DE ENSALADA
- 1 1/2 TAZA DE COCTEL DE FRUTAS

P R E P A R A C I O N E S :

1. LECHE CON FRESA

Leche descremada	240 ml.	1 taza
Polvo sabor fresa	5 g.	1 cucharadita cafetera
Azúcar	10 g.	2 cucharadas

2. HOT DOGS

Pan "medias noches"	100 g.	2 piezas
Salchichas de pavo		2 piezas
Jitomate	210 g.	1 pza
Mostaza	10 g.	1 cucharada
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita
Catsup	5 g.	1 cucharadita

3. ENSALADA ZANAHORIA

Zanahoria cruda rallada	80 g.	1/2 taza
Pasitas	15 g.	2 cucharadas
Piña fresca	20 g.	2 cucharadas
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita

4. COCTEL DE FRUTAS

Melón	85 g.	1/4 taza
Sandía	150 g.	1/4 taza
Papaya	60 g.	1/4 taza
Plátano	20 g.	1/4 taza
Manzana	25 g.	1/4 taza
Limón		1/2 pieza

H. de C. 104 g. Prot. 27 g. Lip. 15 g. Energía 700 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A E L D E S A Y U N O

- 1 TORTA ALEMANA
- 1 PORCION DE ENSALADA MIXTA
- 1 MANZANA AL HORNO
- 1 TAZA DE BEBIDA CALIENTE DE COCO
- 1 BIZCOCHO

P R E P A R A C I O N E S:

1. TORTA ALEMANA

Barra de pan	50 g.	1/4 de pieza
Jamón de pavo	45 g.	1 reb.
Queso s/grasa	40 g.	1 reb.
Lechuga	50 g.	1/2 taza
Jitomate	30 g.	1 pieza
Pepino	50 g.	4 reb.
Mostaza, vinagre, sal		al gusto
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita

2. ENSALADA MIXTA

		1 1/2 taza
Chícharo	20 g.	1/4 taza
Chayote	20 g.	1/2 taza
Zanahoria	20 g.	1/4 taza
Papa	40 g.	1/4 taza
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita
Leche descremada	60 g.	1/8 taza
Sal, etc.		

3. MANZANA AL HORNO

Manzana	180 g.	1 pieza
Azúcar	10 g.	1 cucharadita
Canela		al gusto

4. BEBIDA CALIENTE DE COCO

Leche descremada	240 g.	1 taza
Fécula de maíz s/coco	10 g.	1 cucharada
Azúcar	10 g.	2 cucharaditas

5. BIZCOCHUELO

	50 g.	1 pieza
--	-------	---------

H.de C. 102.5 g. Prot. 28 g. Lip. 13.3 g. Energía 642 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C O M I D A

- 1 PORCIÓN DE ARROZ BLANCO
- 1 PORCIÓN DE ENSALADA DE POLLO
- 6 GALLETAS SALADAS
- 2 VASOS DE AGUA DE LIMON

P R E P A R A C I O N E S :

1. ARROZ BLANCO

Arroz blanco	65 g.	3/4 taza
Consomé , sal		cant. suf.

2. ENSALADA DE POLLO

Pollo cocido en cubitos	40 g.	1/2 taza
Mayonesa Light	14 g.	1 cucharada
Chicharos	45 g.	1/2 taza
Zanahoria	40 g.	1/2 taza
Apio	5 g.	1/4 cucharadita
Almendros picados	2 g.	2 semillas
Jitomate p/adornar	30 g.	3 reb.

3. GALLETAS SALADAS

60 g.	6 piezas
-------	----------

4. AGUA DE LIMON

Jugo de limón		cant. suf.
Azúcar	20 g.	4 cucharadas

H. de C. 100 g. Prot. 19 g. Lip. 7.5 g. Energía 545 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C E N A

- 1 VASO DE LECHE CON VAINILLA
- 2 HAMBURGUESAS
- 1 PORCION DE ENSALADA VERDE
- 1 NARANJA EN FLOR
- 1 BIZCOCHUELO

P R E P A R A C I O N E S:

1. LECHE CON VAINILLA

Leche descremada	240 ml.	1 taza
Polvo sabor vainilla	10 g.	1 cucharada
Azúcar	10 g.	1 cucharadita

2. HAMBURGUESAS

Bollo para hamburguesas	100 g.	2 piezas
Pechuga de pollo aplanada	80 g.	1/4 pieza
Mostaza	10 g.	1 cucharada
Lechuga	10 g.	1 hoja
Mayonesa light	10 g.	1 cucharada
Jitomate	10 g.	1/4 pieza
Queso amarillo	20 g.	2 reb.
Catsup	10 g.	1 cucharada

3. ENSALADA VERDE

Lechuga	50 g.	1/2 taza
Jitomate	30 g.	1 pieza
Vinagre		1 cucharada
Mostaza		1 cucharada
Especiés		cant. suf.

4. NARANJA EN FLOR

Naranja	160 g.	1 pieza
---------	--------	---------

5. BIZCOCHUELO

	50 g.	1 pieza
--	-------	---------

H. de C. 117 g. Prot. 43 g. Lip. 24.2 g. Energia 882 Kcal

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A E L D E S A Y U N O

- 1 VASO DE JUGO DE ZANAHORIA
- 2 HOT CAKES CON CAJETA
- 1 PERA
- 1 VASO DE LECHE DESCREMADA

P R E P A R A C I O N E S:

1. JUGO DE ZANAHORA

Jugo de zanahoria	240 ml.	1 vaso
Limón		1 rebanada

2. HOT CAKES

Harina para hot cakes	80 g.	1/4 taza
Margarina	5 g.	1/2 cucharada
Leche descremada	60 ml.	1/4 taza
Huevo	10 g.	1/5 pieza
Polvos de hornear		cant. suf.
Cajeta	20 g.	2 cucharadas

3. PERA 160 g. 1 pieza

4. LECHE DESCREMADA 240 ml. 1 taza

H. de C. 124 g. Prot. 23 g. Lip. 8 g. Energía 703 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C O M I D A

- 1 TAZON DE SOPA JULIANA
- 1 PORCION DE LASAÑA DE ESPINACAS
- 1 RACION DE POLLO AL HORNO
- 2 REBANADAS DE PAN DE TRIGO
- 1 PORCION DE DURAZNO CON NATILLA
- 2 VASOS DE AGUA DE LIMON

P R E P A R A C I O N E S:

1. SOPA JULIANA

Ejotes	40 g.	1/4 taza
Zanahoria	20 g.	1/4 taza
Chicharo	10 g.	1/4 taza
Espinacas	30 g.	1/4 taza
Papa	5 g.	1 cucharada
Jitomate	30 g.	1 pieza
Consomé desgrasado	240 ml.	1 taza

2. LASAÑA DE ESPINACAS

Calabacitas en medallón	150 g.	1 pieza chica
Espinaca finamente picada	30 g.	1 hoja
Cebolla muy finamente picada	6 g.	1/2 cucharadita
Margarina	5 g.	1/2 cucharadita
Harina de trigo	10 g.	1 cucharada
Sal y pimienta		al gusto

3. POLLO AL HORNO

Pechuga de pollo s/piel	80 g.	1/2 pieza
Miel de abeja	10 g.	1 cucharada
Margarina		1/4 cucharadita
Sal y pimienta		al gusto

4. BARRA DE PAN DE TRIGO

30 g. 2 rebanadas

5. DURAZNOS CON NATILLA

Maicena	10 g.	1 cucharada
Leche descremada	120 ml.	1/2 taza
Canela y vainilla		al gusto
Azúcar	10 g.	2 cucharadas
Yema de huevo	10 g.	1/3 pieza

6. AGUA DE LIMON

Jugo de limón		al gusto
Azúcar	10 g.	2 cucharadas

H. de C. 69.5 g. Prot. 31.2 g. Lip. 19.2 g. Energía 598 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol -
Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C E N A

- 1 VASO DE BATIDO DE VAINILLA
- 1 RACION DE MOUSSE DE VERDURAS
- 1 PORCION DE ENSALADA DE CHICHARO CON ELOTE
- 1 COPA DE GELATINA MULTICOLOR
- 1 BIZCOCHUELO

P R E P A R A C I O N E S :

1. BATIDO DE VAINILLA

Leche descremada	240 ml.	1 taza
Plátano	70 g.	1/2 taza
Azúcar	10 g.	1 cucharada

2. MOUSSE DE VERDURAS

Barra de pan	50 g.	1/4 de pieza
Brócoli	20 g.	2 floretes
Coliflor	20 g.	2 floretes
Pimiento rojo y verde	20 g.	2 cucharadas
Chicharo picado	10 g.	1/8 taza
Zanahoria en juliana	10 g.	2 cucharadas
Jitomate rojo en cubitos	10 g.	1/8 taza
Queso crema	15 g.	2 cucharaditas
Queso sin grasa	55 g.	2 cucharadas
Salsa worcestershire	5 ml.	1 cucharada

3. ENSALADA DE CHICHAPO Y ELOTE

Chicharos	20 g.	1/4 taza
Granos de elote	80 g.	1/3 taza
Margarina	10 g.	1 cucharada

4. COPA DE GELATINA MULTICOLOR

Gelatina de limón	15 g.	1/3 taza
Gelatina de cereza	15 g.	1/3 taza
Gelatina de piña	15 g.	1/3 taza
Crema batida	10 g.	1 cucharadita

5. BIZCOCHUELO

50 g.	1 pieza
-------	---------

H. de C. 109 g. Prot. 28 g. Lip. 28 g. Energía 802 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A E L D E S A Y U N O

- 1 VASO DE JUGO DE NARANJA
- 1 CLUB SANDWICH
- 1 PORCION DE ENSALADA DE PEPINO
- 1 TAZA DE BEBIDA CALIENTE DE ARROZ

P R E P A R A C I O N E S:

1. JUGO DE NARANJA

Jugo de naranja	240 ml.	1 vaso
Limón		1 rebanada

2. CLUB SANDWICH

Pan integral	90 g.	3 rebanadas
Mostaza	10 g.	1 cucharada
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita
Lechuga	10 g.	1 hoja
Jitomate	20 g.	1 rebanada
Jamón de pavo	45 g.	1 rebanada
Queso sin grasa	40 g.	1 rebanada
Aguacate para adornar	10 g.	2 rebanadas

3. ENSALADA DE PEPINOS

Pepino en rebanadas	100 g.	1/4 de pieza
Yoghurt descremado nat.	30 g.	3 cucharadas
Yerbabuena picada		1/4 cucharada
Sal y pimienta		al gusto

4. BEBIDA CALIENTE DE ARROZ

Leche descremada	240 ml.	1 taza
Arroz	20 g.	2 cucharadas
Canela		al gusto
Azúcar	10 g.	2 cucharadas

H. de C. 84 g. Prot. 28 g. Lip. 11.2 g. Energía 572 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol. Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol -
Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C O M I D A

- 1 PORCION DE SOPA CAMPESINA
- 1 PORCION DE PASTEL DE CARNE A LA "ANTIGUA"
- 1 PORCION DE EJOTES LARGOS
- 2 RACIONES DE BARRA DE TRIGO
- 1 PORCION DE SALSA DE DURAZNO
- 1 VASO DE AGUA DE PIÑA

P R E P A R A C I O N E S :

1. SOPA CAMPESINA

Caldo de pollo	120 ml.	1/2 tazón
Caldo de res	120 ml.	1/2 tazón
Salsa de tomate sazonado	60 ml.	1/4 taza
Margarina	5 g.	1 cucharadita
Calabacita picada en 4	30 g.	1/4 taza
Berenjena en cubitos	30 g.	1/4 taza
Pimientos rojos	20 g.	2 cucharadas
Pimiento amarillo	20 g.	2 cucharadas

2. PASTEL DE CARNE A LA "ANTIGUA"

Carne de res molida	125 g.	
Hojuelas de avena	20 g.	2 cucharadas soperas
Sal, pimienta, etc.		al gusto
Cebolla picada	10 g.	1 cucharada
Huevo batido	10 g.	1/5 pieza
Leche descremada	20 ml.	2 cucharadas
Salsa Worcesteshire	5 ml.	1 cucharadita

3. EJOTES LARGOS

Ejotes	160 g.	1 porción
Mayonesa light	10 g.	1 cucharada
Yoghurt natural descremado	30 g.	3 cucharadas
Queso parmesano	5 g.	1/2 cucharadita

4. BARRA DE TRIGO

50 g. 1/4 pieza

5. SALSA DE DURAZNO

Duraznos en almíbar	100 g.	1/2 pieza
Queso cottage	55 g.	2 cucharadas

6. AGUA DE PIÑA

Jugo de piña	100 ml.	1/2 taza
Azúcar	10 g.	2 cucharada

H. de C. 81.2 g. Prot. 49.3 g. Lip.36 g. Energía 857 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia: para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A L A C E N A

- 1 TAZA DE BEBIDA CALIENTE DE NUEZ
- 1 SANDWICH DE POLLO
- 1 PORCION DE ENSALADA FRESCA
- 1 RACION DE PAPAYA EN ABANICO

P R E P A R A C I O N E S:

1. BEBIDA CALIENTE DE NUEZ

Leche descremada	240 ml.	1 taza
Fécula de maíz sabor nuez	10 g.	1 cucharada
Azúcar	10 g.	1 cucharada

2. SANDWICH DE POLLO

Pan de caja blando	54 g.	2 rebanadas
Pollo s/ piel	30 g.	1/2 taza
Mayonesa light	7 g.	1 cucharada
Jitomate	100 g.	2 rebanadas
Lechuga	50 g.	1 hoja

3. ENSALADA FRESCA

Lechuga romanita	50 g.	1 taza
Espinacas	50 g.	1 taza
Chícharos	20 g.	1/4 taza
Mostaza	5 g.	1 cucharadita
Queso cheddar canadiense	30 g.	3 cucharadas
Cebolla picada		1 pizca
Tocino en trocitos	10 g.	1 cucharada
Mayonesa light	7 g.	1 cucharadita
Yoghurt nat. descremado	30 g.	3 cucharadas
Pimiento rojo	2 g.	1 tirita

4. PAPAYA EN ABANICO

Papaya	120 g.	1 rebanada
--------	--------	------------

ii. de C. 79 g. Prot. 35 g. Lip. 24 g. Energía 650 Kcal.

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

M E N U P A R A E L D E S A Y U N O

- 1 VASO DE BATIDO DE PLATANO
- 2 WAFFLES CON MIEL
- 1 REBANADA DE JAMON ASADO
- 1 PORCION DE SANDIA

P R E P A R A C I O N E S :

1. BATIDO DE PLATANO

Plátano	70 g.	1 pieza
Leche descremada	240 ml	1 vaso
Azúcar	10 g.	2 cucharadas

2. WAFFLES CON MIEL

Harina preparada	80 g.	1/4 taza
Margarina	5 g.	1/2 cucharada
Huevo	10 g.	1/5 pieza
Miel de maple	30 g.	2 cucharadas

3. JAMON ASADO

Jamón de pavo	45 g.	1 rebanada
---------------	-------	------------

4. SANDIA

	280 g.	1 1/2 taza
--	--------	------------

H. de C. 99 g. Prot. 24 g. Lip. 8 g. Energía 591 Kcal.

APENDICE V

MANEJO DE REACCIONES ADVERSAS Y EFECTOS COLATERALES

Se comunicarán en detalle, en la forma de reporte de caso; tal descripción incluirá la naturaleza de los signos y/o síntomas, la fecha en que ocurrieron, la hora de su presentación en relación con la administración del medicamento, el tiempo de duración de los efectos, la gravedad, la necesidad o no de tratamiento y a que se atribuyen los signos o síntomas (es decir, si se considera que la administración del medicamento es o no la causa). Tendrán conocimiento del caso las comisiones de Etica e Investigación, así como el monitor y el director médico.

DESERCIONES.

Los voluntarios abandonarán el estudio por no cumplir con los requisitos del protocolo o a discreción del investigador, por razones médicas (reacciones adversas), previo: historia clínica completa y examen físico; perfil de laboratorio y electrocardiograma de 12 derivaciones.

ETIQUETADO Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Cada etiqueta debe mostrar el número del estudio, la identificación de la muestra (p=plasma), el número de voluntario del estudio, período, fecha y tiempo codificado en que se tomó la muestra. Para todos estos datos se utiliza tinta negra indeleble. Antes del envío, las muestras congeladas se empaquetan bien en bioxido de carbono sólido (hielo seco dentro de un contenedor aislado).

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

CAPITULO VI

BIOPAK ANOVA

Dependent variable: BETA_ALL

Total Observations: 48 Observations Used: 48

Model Sum of Squares: 0.0204691 df 25
Error Sum of Squares: 0.0060157 df 22
Mean Square Error: 0.0002734

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
secuencia	0.0013093	1	4.7883	0.0396
sujeto(secuencia)	0.0191345	22	3.1807	0.0045
periodo	0.0000111	1	0.0406	0.8422
formula	0.0000142	1	0.0520	0.8218

Weighted Squares of Means (Type 3)

secuencia	0.0013093	1	4.7883	0.0396
sujeto(secuencia)	0.0191345	22	3.1807	0.0045
periodo	0.0000111	1	0.0406	0.8422
formula	0.0000142	1	0.0520	0.8218

Contrasts

Weighted Squares of Means (Type 3) Contrast
d vs f 0.0000142 1 0.0520 0.8218
Contrast: 1 -1

Hypothesis Tests

Weighted Squares of Means (Type 3) Test
secuencia 0.0013093 1 1.5054 0.2328
Using sujeto(secuencia) as error term

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

1/ 2/95
13:28:13

BIOPAK ANOVA

Least Squares Means

Dependent variable: BETA_ALL

FORMULA	Value	Std. Error
D	0.103862	0.00337542
F	0.104951	0.00337542

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

1/ 2/95
13:28:13

BIOPAK ANOVA

Bioavailability Statistics

Dependent variable: BETA_ALL

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.250
Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: FORMULA

Formulation reference: F

Reference : Least squares mean 0.104951, s.e. 0.003375

Test : D Least squares mean 0.103862, s.e. 0.003375

Difference = -0.0011, s.e.d. 0.0048, df 22
Ratio = 98.9630

	Classical	Westlake
C.L. 80%	= (92.9526 , 104.9734)	(93.8399 , 106.1601)
C.L. 90%	= (91.1509 , 106.7750)	(92.0051 , 107.9949)
C.L. 95%	= (89.5279 , 108.3980)	(90.3574 , 109.6426)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0002 Prob(> 120%)=0.0001 Max=0.0002 Total=0.0003

A.H. p-value = 0.0002
Power = 0.9851

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambr oxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

1/ 2/95
13:28:13

BIOPAK ANOVA

Dependent variable: HALF_ALL

Total Observations: 48 Observations Used: 48

Model Sum of Squares: 110.8980878 df 25
Error Sum of Squares: 30.2708051 df 22
Mean Square Error: 1.3759457

Sequential Analysis of Variance (Type 1)

Effect	SS	df	F	Prob
secuencia	5.3247994	1	3.8699	0.0619
sujeto(secuencia)	104.7671791	22	3.4610	0.0026
periodo	0.8060893	1	0.5858	0.4522
formula	0.0000199	1	0.0000	0.9970

Weighted Squares of Means (Type 3)

secuencia	5.3247994	1	3.8699	0.0619
sujeto(secuencia)	104.7671791	22	3.4610	0.0026
periodo	0.8060893	1	0.5858	0.4522
formula	0.0000199	1	0.0000	0.9970

Contrasts

Weighted Squares of Means (Type 3) Contrast				
d vs f	0.0000199	1	0.0000	0.9970
Contrast: 1 -1				

Hypothesis Tests

Weighted Squares of Means (Type 3) Test				
secuencia	5.3247994	1	1.1182	0.3018
Using sujeto(secuencia) as error term				

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambroxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

1/ 2/95
13:28:13

BIOPAK ANOVA

Least Squares Means

Dependent variable: HALF_ALL

FORMULA	Value	Std. Error
D	7.00281	0.239439
F	7.00153	0.239439

Estudio de Bioequivalencia para HCl Ambr oxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol +
Naproxén Sódico.

BIOPAK ANOVA

Bioavailability Statistics

Dependent variable: HALF_ALL

Alpha = 0.0500 Bioequivalence Limits: Lower = 0.800 Upper = 1.250
Transformation = NONE Percent of Reference to Detect = 0.20

Formulation variable: FORMULA

Formulation reference: F

Reference : Least squares mean 7.001526, s.e. 0.239439

Test : D Least squares mean 7.002814, s.e. 0.239439

Difference = 0.0013, s.e.d. 0.3386, df 22
Ratio = 100.0184

	Classical	Westlake
C.L. 80%	(93.6275 , 106.4093)	(93.6100 , 106.3900)
C.L. 90%	(91.7118 , 108.3250)	(91.6952 , 108.3048)
C.L. 95%	(89.9860 , 110.0508)	(89.9700 , 110.0300)

Two One Sided T-tests

Prob(< 80%)=0.0002 Prob(> 120%)=0.0002 Max=0.0002 Total=0.0004

A.H. p-value = 0.0002
Power = 0.9743

Estudio de Bioequivalencia para HCl Amib .oxol, Tabletas conteniendo Clorhidrato de Ambroxol + Naproxén Sódico.

APENDICE VI

PRUEBA DE T PARA DIFERENCIA DE DOS MEDIAS.

$n = 48$

$g.l. = 46$

$t_{tablas} (P=0,05) = 2.01$

$H_0 =$ La media de los resultados dada por ambas formulaciones es diferente

$H_a =$ La media de los resultados dada por ambas formulaciones es la misma

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) / (s^2 * ((1/n_1) + (1/n_2)))^{1/2}}$$

$$s^2 = \frac{((n_1 - 1) * s_1^2 + (n_2 - 1) * s_2^2)}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

	Parámetro farmacocinético				
	β	tiempo de vida media	Depuración oral	MRT	K01
t	0.1698	0.002531	0.160149	0.070723	0.693669
s	0.022204	1.751812	20.100731	2.16449	0.3895
Se rechaza H_0	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí