

113

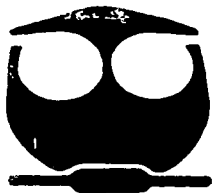


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

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

TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A N :
JESSICA PAOLA OVALLE RODRIGUEZ
DIANA ROMERO CHAVEZ



MEXICO, D.F.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

2002

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	M. en C. INES FUENTES NORIEGA
VOCAL	M. en C. SOFÍA MARGARITA RODRÍGUEZ ALVARADO
SECRETARIO	M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES
1er. sup:	M. en C. JOSÉ MANUEL MORALES HERNÁNDEZ
2do. sup.	M. en F. LUIS JESÚS GARCÍA AGUIRRE

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO DE FARMACOCINÉTICA
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

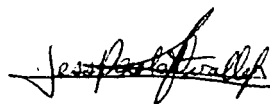

M. en F. LIZ JANNET MEDINA REYES

SUPERVISOR TÉCNICO:

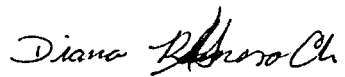

Q. F. B. JORGE ABRAHAM AYALA BAUTISTA

SUSTENTANTES:

JÉSSICA PAOLA OVALLE RODRÍGUEZ



DIANA ROMERO CHÁVEZ



DEDICATORIAS.

*Para la persona que siempre ha sido mi guía,
y mi guardián, mi madre:*

María Esther Rodríguez Parra.

Jéssica.

*Para aquellos seres que siempre
estarán en mi corazón y pensamiento:*

Francisco Barrera P.†

Hugo Chávez E.†

Bonfilia Romero Z.†

Luz Altamirano G.†

Diana.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme estar aquí y por todo lo que me ha dado.

A mis padres, María Esther Rodríguez y Oscar Ovalle, por su cariño, consejos y apoyo porque sin ellos no hubiera podido terminar una de las etapas más importantes de mi vida.

A Jannina, Nanyeli y Tania por todas las peleas, enojos, tristezas y sobre todo los momentos de alegría que hemos pasado juntas, las quiero mucho.

A mi Bifina por todo su cariño y por las vacaciones de cada año.

A Emis porque siempre ha estado al pendiente de nosotras, por los regaños, los consejos, por todos los momentos de cotorreo y de risa, pero principalmente por querernos tanto.

A mi Tita por su cariño y por ser tan linda conmigo.

A toda la Familia Tavera, especialmente a mi tía Raquel, Bardito, Raquelito, Ruthi, Carlos, Ruchita, Carlitos, Tino, Dany, Anel y papá Tino por recibimos siempre en su casa y darnos su cariño.

A todos mis amigos por haber hecho de mi estancia en la Facultad algo inolvidable.

A Patofin por haber estado conmigo en todo momento, especialmente cuando más lo he necesitado, dándome ánimos y alguno que otro jalón de orejas. Gracias por brindarme tu valiosa amistad. Te quiero mucho..

A Chris por haber sido mi primer y gran amigo en la Facultad, por todas esas risas, algunas por boberías y otras no tanto, por todos los chistes buenos y malos y porque a pesar de todo, siempre estuviste allí. Te quiero mucho.

A la Familia Aguilar Romero por haberme permitido formar parte de su hermosa y gran familia y especialmente por quererme tanto. Yo también los quiero mucho a todos.

A David por....todo.

A todos ustedes mil gracias por formar parte de mi vida y permitirme formar parte de la suya. Los quiero mucho.

Jéssica Paola Ovalle Rodríguez.

A mis padres, Jorge Romero y Débora Chávez, por todo su amor, su confianza y sus sacrificios para darme la oportunidad de estudiar esta carrera.

A mis hermanos, Erik y Jorge, por su apoyo y por enseñarme tantas cosas que han sido y serán útiles en mi vida personal y profesional.

A mi abuela Güicha y a mi tía Gloria Altamirano, por todas sus atenciones, sus cuidados y su compañía.

A Reyna y Emilio, por las nuevas experiencias que estamos pasando juntos.

A mis tíos: Fausto, Elizabeth, Humberto, Rocío y Hugo por demostrarme que el respeto, la honradez y la unión familiar son invaluableles.

A dos personas que confiaron en mí, me orientaron y apoyaron en los momentos difíciles de mi vida académica y al término de ésta: QFB. Alicia Cervantes Peredo y QFB. Xóchitl Martínez Lazcuráin.

A Vero, Elvira, Leti, Nelly y Josefina por compartir conmigo sus conocimientos, su amistad y buenos momentos en el Hospital General de México.

A Selene Reynoso, Magali Rodríguez, Luz Ma. García, Pati Soto, J. Augusto Aguilar, Octavio Rodríguez y Joel Vargas, porque los buenos amigos son difíciles de encontrar, más aún difícil de dejar e imposible de olvidar.

Diana Romero Chávez.

Queremos dar las gracias a tres personas que sin su ayuda, paciencia y conocimientos este trabajo no hubiera podido ser realidad:

Liz, Luis y Abraham.

Agradecemos todo el apoyo, la compañía, las fiestas, las simplezas y sobre todo la amistad, de todos los que en algún momento fuimos parte del laboratorio de Farmacocinética (el kinder):

Cindy

Erik

Fabiola

Iván

Maribel

Olivia

Selene

Yeriley

A la UNAM y a la Facultad de Química por la oportunidad que nos dieron de estar en sus aulas, bibliotecas, laboratorios, aprender de sus profesores y reforzar nuestros valores personales y profesionales.

Jéssica y Diana.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	6
1. RESUMEN.	8
2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.	11
3. GENERALIDADES	14
3.1. APARATO DIGESTIVO.	14
3.2. VACIAMIENTO GÁSTRICO.	22
3.2.1. Regulación del vaciamiento gástrico.	23
3.3. SÍNDROME DE COLON IRRITABLE (SCI).	24
3.3.1. Causas del síndrome de colon irritable (SCI).	24
3.3.2. Cuadro clínico.	26
3.3.3. Diagnóstico.	26
3.3.4. Tratamiento.	28
3.3.5. Distribución y frecuencia del síndrome de colon irritable.	29
3.4. TRIMEBUTINA.	30
3.4.1. Estructura.	30
3.4.2. Propiedades fisicoquímicas.	30
3.4.3. Propiedades farmacológicas.	31
3.4.4. Farmacocinética.	31
3.4.5. Farmacodinamia.	31
3.4.6. Indicaciones terapéuticas.	32
3.4.7. Efectos adversos.	33
3.4.8. Interacciones con otros fármacos.	33
3.4.9. Sobredosificación.	34
3.4.10. Formas farmacéuticas disponibles en México.	34
4. PARTE EXPERIMENTAL	37
4.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO.	37
4.1.1. Material, reactivos y equipo.	37
4.1.2. Preparación de soluciones.	39
4.2. PREPARACIÓN DE LA CURVA PATRÓN PARA CUANTIFICAR TRIMEBUTINA (TMB).	41
4.3. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).	41

4.3.1.	Optimización de la fase móvil.	42
4.3.2.	Optimización del método de extracción.	42
4.4.	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).	44
4.4.1.	Linealidad y precisión del sistema.	45
4.4.2.	Linealidad del método.	45
4.4.3.	Precisión.	46
4.4.4.	Exactitud.	47
4.4.5.	Recobro.	47
4.4.6.	Selectividad.	48
4.4.7.	Límite de cuantificación.	48
4.4.8.	Límite de detección.	48
4.4.9.	Estabilidad.	49
4.4.9.1.	<i>Estabilidad de la muestra a temperatura ambiente.</i>	49
4.4.9.2.	<i>Estabilidad de la muestra en congelación (-70°C).</i>	49
4.4.9.3.	<i>Estabilidad de la muestra en refrigeración (5°C).</i>	50
4.4.9.4.	<i>Estabilidad de la muestra procesada.</i>	50
4.5.	ESTUDIO DE ALGUNOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TRIMEBUTINA (TMB) EN POBLACIÓN MEXICANA.	51
4.5.1.	Tipo de estudio.	51
4.5.2.	Diseño del estudio.	51
4.5.3.	Voluntarios.	52
4.5.3.1.	<i>Selección de voluntarios.</i>	52
4.5.3.2.	<i>Criterios de inclusión para los voluntarios.</i>	53
4.5.3.3.	<i>Criterios de exclusión para los voluntarios.</i>	53
4.5.4.	Procedimiento.	54
4.6.	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.	55
4.6.1.	Criterios de validez de la corrida.	55
4.7.	CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DE BIODISPONIBILIDAD.	57
4.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	58
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	60
5.1.	OPTIMIZACIÓN DE LA FASE MÓVIL.	60

5.2.	OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE TRIMEBUTINA EN PLASMA	60
5.3.	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA CUANTIFICAR YMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)	63
5.4.	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA.	64
5.4.1.	Linealidad y precisión del sistema:	64
5.4.2.	Linealidad del método.	66
5.4.3.	Precisión y exactitud del método.	68
5.4.4.	Recobro.	70
5.4.5.	Selectividad.	71
5.4.6.	Límite de cuantificación.	72
5.4.7.	Límite de detección.	72
5.4.8.	Estabilidad.	72
5.4.8.1.	<i>Estabilidad de la muestra a temperatura ambiente.</i>	72
5.4.8.2.	<i>Estabilidad de la muestra en congelación (-70°C).</i>	73
5.4.8.3.	<i>Estabilidad de la muestra en refrigeración (5°C).</i>	74
5.4.8.4.	<i>Estabilidad de la muestra procesada.</i>	75
5.5.	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.	77
5.6.	RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE TRIMEBUTINA (TMB).	80
5.7.	ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.	83
5.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA BIODISPONIBILIDAD DE TMB.	84
6.	CONCLUSIONES.	87
7.	BIBLIOGRAFÍA.	89
8.	APÉNDICE I. DATOS DEMOGRÁFICOS DE VOLUNTARIOS	92
9.	APÉNDICE II. DATOS Y GRÁFICAS DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA VS TIEMPO PARA CADA VOLUNTARIO.	93
10.	APÉNDICE III. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TRIMEBUTINA POR VOLUNTARIO	117

**11. APÉNDICE IV. ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO
DE LOS PARÁMETROS
FARMACOCINÉTICOS ENTRE HOMBRES Y
MUJERES.**

118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de trimebutina (TMB).	30
Tabla 2. Cantidades utilizadas para realizar la curva patrón de trimebutina (TMB).	41
Tabla 3. Diseño estadístico del estudio.	52
Tabla 4. Condiciones cromatográficas finales para cuantificar TMB en plasma.	63
Tabla 5. Resultados correspondientes a la linealidad del sistema para cuantificar TMB.	65
Tabla 6. Resultados de precisión del sistema para cuantificar TMB.	65
Tabla 7. Resultados correspondientes a la linealidad del método para cuantificar TMB en plasma.	67
Tabla 8. Repetibilidad y exactitud del método analítico para cuantificar TMB en plasma.	68
Tabla 9. Reproducibilidad de método analítico para la cuantificación de TMB en plasma.	69
Tabla 10. Recobro de TMB de plasma humano.	70
Tabla 11. Estabilidad de TMB a temperatura ambiente.	73
Tabla 12. Estabilidad de TMB en congelación.	74
Tabla 13. Estabilidad de TMB en refrigeración.	75
Tabla 14. Estabilidad de la muestra procesada de TMB.	76
Tabla 15. Seguimiento de las muestras de control de calidad de TMB.	78
Tabla 16. Resultados de seguimiento de curvas de calibración para cuantificar TMB.	79
Tabla 17. Concentraciones plasmáticas promedio de TMB.	80
Tabla 18. Parámetros farmacocinéticos por grupo y promedio correspondientes a TMB.	83
Tabla 19. Efecto del género en la farmacocinética de TMB.	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aparato digestivo humano.	21
Figura 2. Estructura química de la trimebutina (TMB).	30
Figura 3. Método de extracción de trimebutina (TMB) optimizado.	43
Figura 4. Método de extracción de TMB en plasma.	61
Figura 5. Linealidad del sistema para cuantificar TMB.	66
Figura 6. Linealidad del método para cuantificar trimebutina (TMB) en plasma.	67
Figura 7. Cromatogramas de TMB en plasma, después de la extracción.	71
Figura 8. Gráfica de la concentración plasmática promedio de TMB (\pm D.E) vs tiempo.	81
Figura 9. Gráfica del logaritmo de la concentración plasmática promedio de TMB (\pm D.E) vs tiempo.	81
Figura 10. Gráfica de la concentración plasmática promedio de TMB en hombres y mujeres (\pm D.E.) vs tiempo.	82



RESUMEN



1. RESUMEN.

La finalidad de este trabajo fue conocer el comportamiento farmacocinético de Trimebutina (TMB) en población mexicana, evaluando un posible efecto del género.

El estudio se realizó en 24 voluntarios sanos (12 hombres y 12 mujeres) distribuidos aleatoriamente de acuerdo a un diseño en paralelo a los cuales se les administró una dosis única de 200 mg de trimebutina por vía oral, con un periodo de lavado de una semana entre cada tratamiento. Las muestras sanguíneas fueron colectadas a los tiempos cero, 20, 40, 60, 80, 100, 120 minutos, 4, 6, 8, 12, 24 y 48 horas después de su administración.

Los niveles de trimebutina en plasma se determinaron por un método de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) previamente validado, el cual fue lineal, preciso y exacto en el intervalo de concentraciones de 5-1000 ng/mL.

Los resultados obtenidos para ABC₀-t, ABC₀-inf, C_{máx}, t_{máx} y t_{1/2} para hombres fueron: 253.9075±175.4641 ngh/mL, 269.9708±176.3801 ngh/mL, 213.2983 ng/mL, 0.6058±0.1923 h y 1.0041±0.8788 h respectivamente, mientras que para mujeres los resultados fueron: 305.7133±254.1457 ngh/mL, 323.4308±265.0559 ngh/mL, 299.8358±262.3934 ngh/mL, 0.6066±0.2398 h y 1.4341±1.5717 h respectivamente.



Se realizó un análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos, utilizando el paquete computacional SigmaStat® y no se encontraron diferencias significativas en la evaluación del género.



INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS



2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

Un trastorno funcional intestinal muy común es el Síndrome de Colon Irritable (SCI), el cual se debe a factores nerviosos, endocrinos, nutricionales, psicológicos y a la función motora del tracto gastrointestinal.

Uno de los medicamentos más empleados para el tratamiento de dicho síndrome es la trimebutina (TMB) que por su estructura química, análoga a la acetilcolina, provoca un efecto regulador de la musculatura lisa intestinal, normalizando el tránsito digestivo cuando la motilidad se encuentra afectada.

Es importante destacar, que a pesar de que la venta al público de trimebutina fue autorizada desde hace varios años, hoy en día la bibliografía relacionada con su disposición en el organismo es escasa y contradictoria, sobretodo en lo que a materia de eliminación se refiere.

De acuerdo a lo anterior se plantearon los siguientes objetivos:

- Optimizar y validar un método analítico por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) para cuantificar TMB en plasma.



- Caracterizar la biodisponibilidad oral de trimebutina a través de los parámetros de concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima ($t_{m\acute{a}x}$), área bajo la curva de concentración plasmática con respecto al tiempo (ABC) y tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$).
- Evaluar el efecto del género en la biodisponibilidad de TMB en población mexicana.



GENERALIDADES

3. GENERALIDADES.

3.1. APARATO DIGESTIVO.

El aparato digestivo está constituido por un conjunto de órganos encargados de las funciones de ingestión, digestión y absorción de las sustancias nutritivas. Puede considerarse como un tubo muscular que se extiende desde la boca hasta el ano, teniendo una longitud aproximada de 11 metros, capaz de realizar las funciones de ingestión de alimentos, masticación de los mismos, insalivación, deglución, digestión, absorción y excreción. Los constituyentes básicos del aparato digestivo humano son la boca, la faringe, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso y ano. Por otra parte, las glándulas que segregan los jugos digestivos son las glándulas salivales, las glándulas gástricas, el páncreas, el hígado y, asociados a éste último, la vesícula biliar y los conductos biliares.^(1, 2)

© *Boca.*- Es la primera porción del tubo digestivo; se encuentra alojada entre las estructuras óseas de los maxilares inferior y superiores. Por delante se abre a través de la hendidura labial, y por atrás se pone en comunicación con la faringe. En su interior se encuentran un conjunto de estructuras que intervienen directamente en los fenómenos de la función digestiva. Tales órganos son: lengua (con gran cantidad de papilas gustativas) y músculos que la forman, mucosas, piezas dentarias, glándulas salivales y paladares duro y

blando. También presenta funciones relacionadas con la respiración y la articulación de palabras.^(2, 3)

☉ *Faringe*.- Es un conducto muscular que forma la parte posterior de la cavidad bucal y de la cavidad nasal. En el hombre mide unos 13 cm ubicándose delante de la columna vertebral y por abajo del cráneo. Entre sus funciones están los movimientos de la deglución y de la fonación.^(3, 4)

☉ *Esófago*.- Es el conducto músculo membranoso que une la faringe con el estómago. Está constituido por tres capas que son: la exterior, conjuntiva, la media, muscular y la interna o mucosa. Mide aproximadamente 25 cm de largo y su función principal es el transporte del alimento hacia el estómago mediante movimientos peristálticos.^(2, 3)

☉ *Estómago*.- Es una parte del tubo digestivo, dilatada, en forma de saco, en cuyo interior se hace una parte importante de la digestión. Está situado en la parte alta del abdomen, por debajo del diafragma. Está cubierto por delante por el peritoneo, y por atrás forma la retrocavidad peritoneal. Se comunica por arriba con el esófago a través del cardias y por abajo con el duodeno a través del píloro. El estómago se divide en tres partes: fondo, cuerpo y píloro. Tiene una longitud media de 25 cm, variando en relación con la edad. Produce el llamado jugo gástrico que está compuesto de agua,

ácido clorhídrico, pepsina y fermento lavo. Las glándulas del fondo del estómago sirven especialmente para la producción de ácido clorhídrico.⁽³⁾

Las funciones del estómago son las siguientes⁽²⁾:

- 1) Almacena la comida ingerida.
- 2) Secreta jugo gástrico, uno de los jugos cuyas enzimas digieren los alimentos.
- 3) Produce movimientos de batido o mezcla de los alimentos (peristaltismo), disgregándolos en partículas pequeñas y mezclándolos con el jugo gástrico.
- 4) Absorbe en cierta medida agua, alcohol y algunos fármacos.

© *Intestino delgado*.- Es un conducto con longitud aproximada de 6 m. Está formado por el duodeno, yeyuno e íleon. El duodeno está fijo a la pared abdominal y se le llama así por medir unos "doce dedos" de longitud . Por arriba de él se encuentran la vesícula biliar y el hígado; por abajo se continúa con el yeyuno; por atrás está en contacto con la pared del abdomen, y por delante con el repliegue peritoneal llamado mesenterio. Tiene una forma de "U" invertida. La función del duodeno es digerir las proteínas, las grasas y los almidones para transformarlos en sustancias absorbibles. El yeyuno e íleon ocupan prácticamente toda la cavidad abdominal y se encuentran unidas a la pared posterior del abdomen a expensas del



mesenterio, una capa en cuyo seno corren arterias, venas y vasos linfáticos.^(2, 3)

El intestino delgado tiene una capa externa serosa, una media muscular y una interna mucosa en cuyo plano profundo abunda el tejido conectivo. La capa mucosa está constituida por un epitelio protector en cuyo seno existen estructuras de forma especial de las que se forman las glándulas intestinales, los folículos intestinales y las vellosidades intestinales. En toda la extensión del intestino delgado, la membrana mucosa está cubierta por vellosidades; hay de 20 a 40 vellosidades por mm^2 de mucosa. Cada vello intestinal es una proyección en forma de dedo de 0.5 a 1 mm de longitud, cubierta por una capa simple de epitelio cilíndrico, y que contiene una red de capilares y un vaso linfático. Hay extensiones finas del músculo liso de la submucosa a lo largo de cada una de las vellosidades hasta su punta. Los bordes libres de las células del epitelio de las vellosidades se dividen en microvellosidades. Estas a su vez están recubiertas por el glucocáliz, una capa amorfa rica en azúcares neutros y amino azúcares. Las microvellosidades y el glucocáliz forman el borde en cepillo. Las células están interconectadas por uniones apretadas. La capa exterior de la membrana celular de las células de la mucosa contienen muchas de las enzimas implicadas en el proceso digestivo iniciado por las enzimas salivales, gástricas y pancreáticas.⁽¹⁾

|||||

La superficie de absorción del intestino delgado aumenta cerca de 600 veces por pliegues similares a las válvulas en la membrana mucosa, las vellosidades y microvellosidades. Se ha estimado que el área de la superficie interior de un cilindro de mucosa del tamaño del intestino delgado sería de más o menos 3300 cm², que las válvulas aumentan el área de superficie a 10000 cm², que las vellosidades lo hacen a 100000 cm² y las microvellosidades a 2 millones de cm².⁽¹⁾

En el interior del intestino delgado hay tejido conectivo en medio del cual se encuentran los capilares sanguíneos, arteriales y venosos. A través de los vasos sanguíneos y linfáticos se realiza la absorción de los alimentos.⁽³⁾

Las funciones principales que desempeña el intestino delgado son⁽²⁾:

- 1) El avance del alimento procedente del estómago.
- 2) Realizar la fase terminal de la digestión con los jugos secretados por glándulas intestinales, hígado y páncreas.
- 3) Absorber los productos de la digestión llevándolos a la sangre.

@ *Intestino grueso*.- Es la última parte del tubo digestivo y se extiende del intestino delgado al ano. Tiene una longitud aproximada de 1.5 m y se divide en: ciego, colon y recto. El ciego es la parte

|||||

inicial del intestino grueso, es un saco que recibe en su cara lateral izquierda al íleon. El colon se subdivide en colon ascendente, transverso y descendente. El colon ascendente va de abajo hacia arriba hasta la zona inferior del hígado; el transverso tiene un recorrido horizontal de derecha a izquierda y se sitúa a la altura de la décima costilla y el descendente, dirigido de arriba hacia abajo y se ubica delante del riñón izquierdo. Los millones de bacterias del colon producen diferentes gases y vitaminas K y B. El recto tiene forma cilíndrica, excepto en su parte inferior, llamada ampolla. El ano está por debajo del recto y tiene dos fuertes hojas planas de músculos que actúan como válvulas y que se relajan durante la defecación.^(2, 3, 4)

El intestino grueso se encarga de^(2,4):

- 1) Absorber agua y determinados iones.
- 2) En el colon se crean anticuerpos correspondientes a la IgA
- 3) Excretar los materiales sólidos de desecho.

@ Hígado. Es el órgano interno más grande. Su peso es de 1.5 Kg y está localizado debajo del diafragma derecho. Recibe a la arteria hepática que es una rama del tronco celiaco. La vena porta lleva al hígado la sangre de retorno del estómago y del intestino.⁽³⁾

Las vías biliares son las excretoras del hígado, por ellas la bilis es conducida al duodeno. Normalmente salen dos conductos: derecho e izquierdo, que confluyen entre sí formando el conducto hepático, el cual se une al conducto cístico, que proviene de la vesícula biliar para formar así el colédoco, que desemboca al duodeno.⁽⁵⁾

Las funciones del hígado son⁽⁴⁾:

- 1) Producir colesterol, bilis y proteínas.
- 2) Almacenar glucógeno, hierro y algunas vitaminas.
- 3) Eliminar de la sangre las sustancias tóxicas para el organismo.

@ *Vesícula biliar*.- Es un reservorio musculomembranoso de forma ovalada en donde se almacena temporalmente la bilis que participará en la digestión de grasas en el intestino.⁽⁵⁾

@ *Páncreas*.- La glándula pancreática está situada detrás del estómago. Es un órgano de forma alargada que mide aproximadamente 16 cm con un peso de 80 a 90 g. Está constituido por un conjunto de racimos glandulares que desembocan en el canal pancreático central, el cual se comunica con el duodeno a través de la ampulla de Vater. En el seno del tejido pancreático se encuentran los islotes de Langerhans formados por células alfa y células beta.⁽³⁾

Las células del páncreas tienen como función⁽⁴⁾:

- 1) Secretar insulina por las células beta y glucagón por las células alfa, dos hormonas importantes para el metabolismo de carbohidratos.
- 2) Secretar jugo pancreático, rico en enzimas que descomponen las proteínas, grasas y ácidos nucleicos, por ello el páncreas tiene un papel importante en la digestión.

© *Apéndice cecal*.- Es un tubo a manera de fondo de saco que se desprende de la porción inferior del ciego.⁽³⁾

En la siguiente figura se muestra un esquema del aparato digestivo del ser humano.

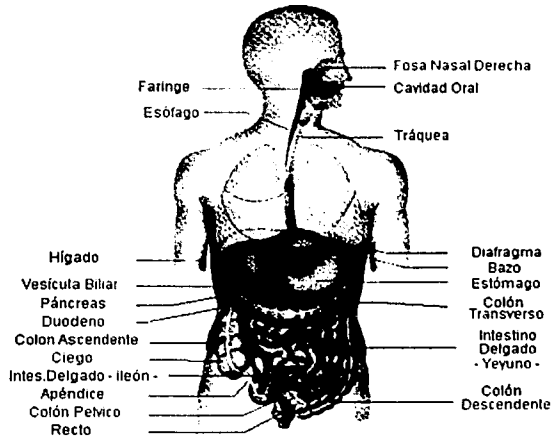


Figura 1. Aparato digestivo humano.⁽⁵⁾

3.2. VACIAMIENTO GÁSTRICO.

Cuando el alimento entra al estómago, el fondo y la porción superior del cuerpo se relajan y acomodan el alimento con muy poco o nulo aumento en la presión. En la porción inferior del cuerpo comienza el peristaltismo mezclando y triturando el alimento y permitiendo que pequeñas porciones semilíquidas pasen a través del píloro y entren al duodeno.⁽¹⁾

La relajación receptiva está mediada por el vago y se desencadena por la motilidad de la faringe y del esófago. Las ondas peristálticas comienzan poco después y se desplazan hacia el píloro. La contracción del estómago distal originada por cada onda puede durar hasta 10 segundos. Las ondas se producen 3 o 4 veces por minuto.⁽¹⁾

En la regulación del vaciamiento gástrico, el antro, el píloro y la parte superior del duodeno parecen funcionar como una unidad. La contracción del antro es seguida por una contracción secuencial de la región pilórica y del duodeno. En el antro, una concentración parcial al frente del contenido gástrico que está avanzando evita que masas sólidas pasen hacia el duodeno y asegura, en cambio, que sean mezcladas y trituradas. La porción más líquida del contenido gástrico se envía hacia el intestino delgado en forma de pequeñas expulsiones.⁽¹⁾

3.2.1. Regulación del vaciamiento gástrico.

La velocidad a la cual se vacía el estómago hacia el duodeno depende del tipo de alimento ingerido. Los alimentos ricos en carbohidratos salen del estómago en unas cuantas horas, los que son abundantes en proteínas lo hacen con mayor lentitud, y el vaciamiento más lento es después de la ingestión de una comida que contiene grasa. La velocidad de vaciamiento también depende de la presión osmótica del material que entra al duodeno.⁽¹⁾

Los productos de la digestión proteínica y los iones de hidrógeno que bañan la mucosa duodenal, inician una disminución en la motilidad gástrica, por mediación nerviosa, que es el reflejo enterogástrico. Se dice que la excitación acelera el vaciamiento gástrico y que el temor lo hace más lento.⁽¹⁾

Como las grasas son eficaces para inhibir el vaciamiento gástrico, algunas personas beben leche, crema, o aun aceite de oliva antes de una reunión social. La grasa mantiene al alcohol en el estómago durante un tiempo prolongado, donde su absorción es más lenta que en el intestino delgado, y penetra al intestino delgado en un flujo lento, regular, de modo que, cuando menos en teoría, se evita una elevación súbita en la sangre a un valor alto y la ebriedad vergonzosa consecuente.⁽¹⁾

3.3. SINDROME DE COLON IRRITABLE (SCI).

El síndrome de colon irritable es un desorden funcional gastrointestinal caracterizado por síntomas continuos o recurrentes de dolor o molestia intestinal, cambios en la consistencia de las deposiciones y alteraciones de frecuencia de la defecación, que se alteran por periodos de diarrea y estreñimiento, sensación de evacuación incompleta, presencia de moco y distensión abdominal que varían en severidad. Generalmente se presentan cambios de la motilidad intestinal.⁽⁶⁾

A través de los años, el SCI ha tenido diferentes nombres como: colitis, colitis mucosa y enfermedad funcional del intestino entre otras. La mayoría de estos términos son inapropiados. Colitis, por ejemplo, significa inflamación del intestino grueso (colon). Sin embargo, el SCI no provoca inflamación; la colitis ulcerativa no provoca daño permanente en los intestinos ni sangrado intestinal; tampoco se considera que el SCI sea causa de enfermedades serias como el cáncer.⁽⁷⁾

3.3.1. Causas del síndrome de colon irritable (SCI).

El SCI es una enfermedad multifactorial; en ella intervienen la función motora del tracto gastrointestinal, factores nerviosos, endocrinos, nutricionales y psicológicos.

La motilidad del colon es controlada por nervios y hormonas así como por actividad eléctrica en el músculo del colon. La actividad eléctrica sirve como un "marcapasos" similar al mecanismo que controla la función cardíaca.⁽⁷⁾

En cuanto a los factores psicológicos, se cree que SCI es causado por conflictos emocionales o estrés y pueden ser factores precipitantes o perpetuantes. La persona con SCI parece tener un colon más sensible y activo que lo usual, por lo cual responde fuertemente a estímulos que comúnmente no afectarían a otras personas.^(6, 7)

Los factores endocrinos pueden ser intrínsecos o extrínsecos. Es probable que la hipermotilidad y el dolor sean la reacción a la colecistocinina y prostiglina. Los síntomas del SCI pueden estar asociados a una reducción del tono muscular intestinal provocado por una respuesta a la progesterona. Esto aumenta la posibilidad de que las hormonas sexuales podrían tener un papel etiológico en el SCI.⁽⁶⁾

En el aspecto nutricional el uso inmoderado de café, alcohol, tabaco, picante, especias, grasas y carbohidratos refinados, chocolate y productos lácteos pueden desencadenar los síntomas del colon irritable. Algunos investigadores han encontrado que las mujeres con SCI presentan con más frecuencia los síntomas estando en su

periodo menstrual, sugiriendo que las hormonas pueden incrementar dichos síntomas.⁽⁷⁾

3.3.2. Cuadro clínico.

Los pacientes con SCI presentan dolor abdominal, predominantemente en el cuadrante inferior izquierdo, ruidos abdominales audibles y urgencia para defecar. En ocasiones existe dolor en el hombro izquierdo irradiado al brazo por síndrome del ángulo esplénico del colon (aire atrapado en ese lugar).⁽⁶⁾

Se acompaña en ocasiones de síntomas concomitantes de inestabilidad emocional, reacciones vasomotoras, palpitaciones, hiperventilación, sudoración, fatiga y cefalea. El 50% de los casos se observan cuadros psicológicos.⁽⁶⁾

El dolor abdominal puede precipitarse con la ingestión de alimentos y casi siempre se alivia al canaiizar gases por recto o con la evacuación. Son frecuentes los periodos de estreñimiento con diarrea, así como la presencia de moco. Algunas veces pueden presentar dispepsia, nausea o vómito.⁽⁶⁾

3.3.3. Diagnóstico.

En 1978 Manning y cols. realizaron un estudio en pacientes que proporcionó una lista de 15 síntomas, cuatro de ellos más comunes en el SCI.⁽⁸⁾

Los criterios de Manning para diagnosticar SCI son⁽⁶⁾:

- Dolor abdominal que se elimina con la defecación.**
- Evacuación frecuente con dolor.**
- Heces flojas y dolor.**
- Distensión abdominal visible.**
- Moco en las heces.**
- Sensación de vaciamiento incompleto después de la defecación.**

En 1988 se reunió un equipo internacional durante el 13^{er} Congreso Internacional de Gastroenterología en Roma y se acordó un nuevo conjunto de criterios diagnósticos (posteriormente actualizados como Roma II).⁽⁹⁾

Los criterios de Roma son⁽⁶⁾:

- Síntomas continuos o recurrentes de dolor abdominal que se alivia con defecación, acompañados de cambios de la frecuencia o consistencia de las heces.**
- Transtornos de la defecación: en la frecuencia, forma y emisión de las heces, sensación de evacuación incompleta, presencia de moco, sensación de plenitud o distensión abdominal.**

El SCI generalmente es diagnosticado por los médicos después de desechar la probabilidad de que se trate de otra enfermedad. Para ello, se debe hacer una historia clínica completa del paciente que incluya una descripción detallada de los síntomas. La exploración física minuciosa es indispensable y debe apoyarse en estudios mínimos rutinarios, como biometría hemática completa, química sanguínea, perfil tiroideo, examen general de orina, sangre oculta en heces, pruebas coproparasitoscópicas, coprocultivo, pruebas de tolerancia a la lactosa, colon por enema y videocolonoscopia. También deben realizarse estudios de rayos X y/o endoscopia como apoyo para el diagnóstico de este síndrome.^(6, 10)

3.3.4. Tratamiento.

Se recomienda restringir o suprimir de la dieta los alimentos que generan gas como: coliflor, col, frijol, manzana, uva y los de alto contenido en grasa. Es conveniente un mayor consumo de fibra, ya que da consistencia a las heces y es terapéutica en 10% de los pacientes con diarrea. Deben eliminarse cafeína, alcohol, tabaco y carbohidratos refinados.⁽⁶⁾

Se ha demostrado que el uso de la hormona liberadora de gonadotropina (acetato de leoprólido), a dosis terapéuticas, reduce los síntomas en la mujer, como náusea, vómito, dolor, saciedad temprana y anorexia.⁽⁶⁾

En el tratamiento de la diarrea se utiliza la loperamida, el difenoxilato y en ocasiones fibra (sin ingerir líquidos). En el estreñimiento se aconseja dieta, fibra insoluble, fibra suplementaria, procinéticos (cisaprida) y laxantes (hidróxido de magnesio o aceite mineral). Deben prescribirse dosis bajas de anticolinérgicos, antidepresivos y ansiolíticos como apoyo temporal para mejorar los síntomas.⁽⁶⁾

Los medicamentos utilizados con más frecuencia son los anticolinérgicos, que reducen la contractilidad del músculo liso (efecto antiespasmódico), los bloqueadores de los canales de calcio, la trimebutina y la mebeverina.⁽⁶⁾

3.3.5. Distribución y frecuencia del síndrome de colon irritable.

Se estima que el Síndrome del Colon Irritable (SCI) afecta alrededor de 1 de cada 5 mujeres y 1 de cada 10 varones, y que es una de las causas más frecuentes de consulta a los médicos generales y a los gastroenterólogos. La condición aparece a finales de la adolescencia y comienzo de la edad adulta. Esta afección se acentúa después de los 60 años y su prevalencia fluctúa entre la tercera y la cuarta décadas de la vida. Se estima que este síndrome afecta entre 16 y 21 % de la población en México; en E.U.A han sido reportados 4.7 millones de casos y que afecta arriba del 20% de la población mundial. A pesar de ello, es sorprendente la ausencia de

tratamientos efectivos y la escasez de información que contienen los libros de texto.⁽¹⁰⁾

3.4. TRIMEBUTINA.

3.4.1. Estructura.⁽¹¹⁾

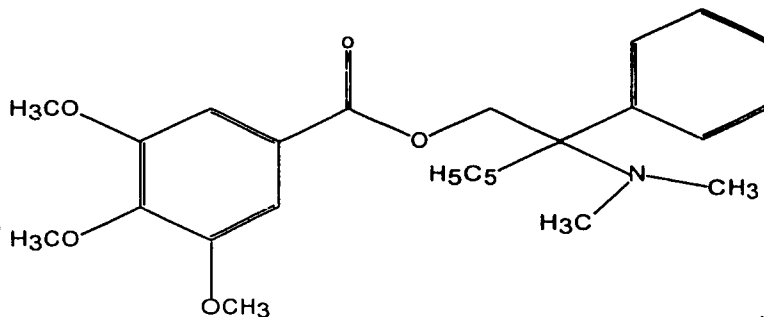


Figura 2. Estructura química de la trimebutina (TMB).

3.4.2. Propiedades fisicoquímicas.⁽¹¹⁾

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de trimebutina (TMB).	
Aspecto	Cristales blancos
Fórmula condensada	$C_{25}H_{29}NO_5$
Peso Molecular	387.48 g/mol
Nombre químico	Ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico-2-(dimetilamino)-2-fenilbutil éster
Nombre genérico	Trimebutina
Longitud de máxima absorción	267 nm
Solubilidad	Poco soluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno
Nombres comerciales	Debridat, Libertrim, Prescol

3.4.3. Propiedades farmacológicas.

La trimebutina tiene propiedades antiespasmódicas, analgésicas y aumenta la motilidad intestinal. Se comporta como un antagonista de calcio al nivel de la membrana celular elevando el AMP cíclico por inhibición de la fosfodiesterasa. En pacientes con gastritis crónica, la trimebutina aumenta el vaciamiento gástrico cuando éste se encuentra disminuido y viceversa.^(12, 13)

3.4.4. Farmacocinética.

La trimebutina se absorbe rápidamente después de su administración oral a través del tracto gastrointestinal, obteniéndose niveles significativos en plasma a los 45 minutos. Los niveles plasmáticos máximos se logran de una a dos horas después de su administración oral. Aproximadamente un 70% de la dosis se elimina en las primeras 24 horas por vía renal.⁽¹⁴⁾

En relación al tiempo de vida media, la poca información que existe resulta contradictoria, ya que se reportan valores de 5 a 9 horas ⁽¹⁵⁾ y de 2 a 3 horas ^(13, 16)

3.4.5. Farmacodinamia.

La trimebutina realiza efectos espasmolíticos musculotrópicos gracias a su estructura química análoga a la acetilcolina, por lo que tiene un efecto regulador de la musculatura lisa intestinal y actúa por competencia de sustrato a nivel de tracto digestivo. La trimebutina es

|||||

una sustancia que tiene acción específica en los plexos de Auerbach y Meissner permitiendo que la acetilcolina y la adrenalina actúen en la periferia. Actúa sobre los receptores escefalinérgicos responsables de la regulación peristáltica en el aparato gastrointestinal. Restablece la motilidad digestiva de manera fisiológica actuando tanto en la hipo como en la hiperomotilidad, deprimiendo o estimulando, y conduciendo a una normalización del tránsito digestivo cuando la motilidad se encuentra alterada, pero respetando la motilidad o secreciones fisiológicas.⁽¹⁴⁾

Posee actividad estimulante, analgésica, espasmódica y antiemética, favorece la absorción intestinal y ayuda a regular las evacuaciones.⁽¹⁴⁾

3.4.6. Indicaciones terapéuticas.

La trimebutina está indicada en problemas de tránsito digestivo causado tanto por hiper como por hipomotilidad como el síndrome de intestino irritable porque alivia los síntomas característicos de este padecimiento: dolor abdominal, dispepsia, distensión abdominal, constipación y/o diarrea, meteorismo, flatulencia. También está indicada en padecimientos de las vías biliares, dispepsia gástrica, pirosis, esofagitis, reflujo gastroesofágico, acalasia, piloroespasma, colitis específica, colitis nerviosa, colitis espasmódica, colopatías funcionales, hernia hiatal, diverticulosis, constipación crónica y duodenitis.⁽¹⁴⁾

También está indicada para trastornos funcionales de la motilidad gastroesofágica e intestinal en lactantes y niños ya que alivia los siguientes síntomas: dispepsia transitoria del lactante, disfunción o dolor abdominal, regurgitación, vómito.⁽¹⁴⁾

3.4.7. Efectos adversos.

Se han reportado en forma eventual la presencia de cefalea y leucopenia, reacciones cutáneas leves, vómito, boca seca, diarrea ligera, sensación de frío o calor, náusea y trastornos menstruales. La trimebutina está contraindicada en miastenia gravis.⁽¹⁴⁾

3.4.8. Interacciones con otros fármacos.

Se recomienda precaución en la administración simultánea de cisaprida y trimebutina ya que puede antagonizar los efectos de la cisaprida. Con procainamida pueden ocurrir efectos antivagales aditivos sobre la conducción auriculoventricular. El uso concomitante con otros anticolinérgicos puede incrementar los efectos colaterales de éstos, como agitación, insomnio y delirio. El uso con homatropina y otros antiespasmódicos puede inducir somnolencia. La trimebutina se puede administrar junto con antibióticos, antiparasitarios, antiulcerosos y tranquilizantes.⁽¹⁴⁾

3.4.9. Sobredosificación.

No se tienen reportes de intoxicación por sobredosis de trimebutina, sin embargo se recomienda la observación del paciente y un lavado gastrointestinal.⁽¹⁴⁾

3.4.10. Formas farmacéuticas disponibles en México.⁽¹⁴⁾

☒ DEBRIDAT Tabletas

SmithKline Beecham México S.A. de C.V.

Cada tableta contiene:

Trimebutina base.....200 mg

Excipiente c.b.p.....1 tableta

Presentación comercial: caja con 40 tabletas de 200 mg.

☒ DEBRIDAT Suspensión

SmithKline Beecham México S.A. de C.V.

Cada 100 mL de suspensión junior y suspensión pediátrica contienen:

Trimebutina base.....2.0 g

Vehículo c.b.p.....100 mL

Presentación comercial:

(Junior): frasco con 20 g de polvo para reconstituir con 100 mL de agua hervida y fría.

(pediátrico): frasco con 800 g de polvo para reconstituir con 40 mL de agua hervida y fría

LIBERTRIM Comprimidos

Aplicaciones Farmacéuticas S.A. de C.V.

Cada comprimido redondo contiene:

Trimebutina base.....100 mg

Excipiente c.b.p.....1 comprimido

Cada comprimido oblongo contiene:

Trimebutina base.....200 mg

Excipiente c.b.p.....1 comprimido

Presentación comercial:

comprimido redondo : caja con 20 y 50 comprimidos.

comprimido oblongo: caja con 24 y 48 comprimidos.

Cada 25 gotas (1 mL) contienen:

Trimebutina base.....23 mg

Vehículo c.b.p.....1 mL

Caja con frasco de 30 mL y dispensador.

PRESCOL Comprimidos

Atlantis S.A. de C.V.

Cada tableta contiene:

Trimebutina base.....200 mg

Excipiente c.b.p.....1 comprimido

Presentación comercial: caja con 30, 60 y 90 comprimidos de 200 mg



PARTE EXPERIMENTAL

- Carbonato de sodio anhidro, Baker Chemical.
- Metanol HPLC, Mallinckrodt.
- Plasma humano (EDTA como anticoagulante) con certificado de pruebas de grupo sanguíneo, factor Rh, VDRL y VIH procedente del banco de sangre del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INN y N).

Equipo:

- ☒ Balanza Analítica Ohaus Modelo AS1205
- ☒ Balanza Granataria Chyo, MJ-500
- ☒ Potenciómetro OAKTON
- ☒ Agitador Fisher Scientific
- ☒ Agitador Vortex Thermolyne Maxi Mix II
- ☒ Evaporador Fisher Scientific, Isotemp 220
- ☒ Micropipetas Eppendorf
- ☒ Pipeta repetidora Eppendorf
- ☒ Sonicador Cole-Palmer 8890
- ☒ Sistema de filtración Millipore
- ☒ Membranas para filtración Gelman Sciences, 47mm 0.45µm
- ☒ Centrífuga Sigma 3K30
- ☒ Centrífuga Sorvall SS3
- ☒ Ultracongelador Harris

Equipo cromatográfico:

Cromatógrafo de Líquidos Waters Millenium equipado con:

- Detector UV-VIS Waters, modelo 2487

- Automuestreador Waters 717 plus
- Bomba binaria Waters modelo 510
- Controlador automático de gradiente Waters, modelo 680-007396
- Paquete de integración Millenium 32

4.1.2. Preparación de soluciones.

- ⊗ SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE ACETATO DE SODIO TRIHIDRATADO 0.05 M CON ÁCIDO 1-HEPTANSULFÓNICO 5 mM, pH 5.5.

Pesar 6.80 g de acetato de sodio trihidratado y 1.01 g de sal sódica de ácido 1- heptansulfónico, transferir a un matraz volumétrico de 1 L, disolver con 500 mL de agua grado HPLC y llevar a volumen con la misma. Ajustar el pH a 5.5 con ácido acético glacial concentrado. Filtrar al vacío a través de una membrana Gleman Sciences de 0.45 μm y desgasificar 30 minutos.

- ⊗ SOLUCIONES ESTÁNDAR.

- Solución de trimebutina 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Pesar exactamente 10.0 mg de trimebutina base, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver con el mínimo volumen de mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v) y llevar a volumen con la misma para tener una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de trimebutina (Solución patrón A).

|||||

- Solución de trimebutina 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

De la solución patrón A tomar una alícuota de 1 mL transferir a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v) para tener una concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de trimebutina (Solución patrón B).

- Solución de estándar interno de clorhidrato de verapamilo 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Pesar exactamente 10.0 mg de clorhidrato de verapamilo, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar a volumen con mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v). Esta solución tiene una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de verapamilo (Solución patrón C).

- Solución de estándar interno de clorhidrato de verapamilo 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

De la solución patrón C tomar una alícuota de 15 mL, transferirla a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v) para tener una concentración final de 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Solución patrón D).

- Solución de carbonato de sodio al 5%.

Pesar 75.0 g de carbonato de sodio y disolver en 1.5 L de agua grado HPLC.

- Solución de ácido clorhídrico 0.1 M

Tomar con pipeta volumétrica 2.0 mL de ácido clorhídrico concentrado, transferir a un matraz volumétrico de 250 mL y llevar a volumen con agua grado HPLC.

4.2. PREPARACIÓN DE LA CURVA PATRÓN PARA CUANTIFICAR TRIMEBUTINA (TMB).

Tabla 2. Cantidades utilizadas para realizar la curva patrón de trimebutina (TMB).

Concentración de TMB (ng/mL)	μ L de TMB (Solución patrón B)	μ L de Verapamilo (Solución patrón D)	mL de plasma	Volumen final (fase móvil)
5	5	50	1	10
10	10	50	1	10
20	20	50	1	10
50	50	50	1	10
100	100	50	1	10
200	200	50	1	10
500	500	50	1	10
1000	1000	50	1	10

4.3. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).

El método para cuantificar trimebutina en plasma se basó en el trabajo realizado por Eun-Hee Joo y cols.⁽¹⁵⁾ con modificaciones para la optimización del mismo.

4.3.1. Optimización de la fase móvil.

Para la selección de la fase móvil se evaluó el efecto de la proporción de ACN:buffer de acetatos 0.05 M con heptansulfonato de sodio 5 mM, pH 5.5 sobre la simetría, la resolución y tiempo de retención de los picos de interés, evaluando las siguientes proporciones: 82:18 v/v, 80:20 v/v, 70:30 v/v y 77:23 v/v.

La mejor fase sería aquella que nos permitiera tener una simetría <2.0 , una $R >2.0$ y un tiempo de retención <10 minutos, para garantizar una separación aceptable de los picos, una adecuada integración y cuantificación de los mismos.

4.3.2. Optimización del método de extracción.

El método utilizado para la extracción en plasma de trimebutina y su estándar interno (E.I.) fue el siguiente (figura 3):

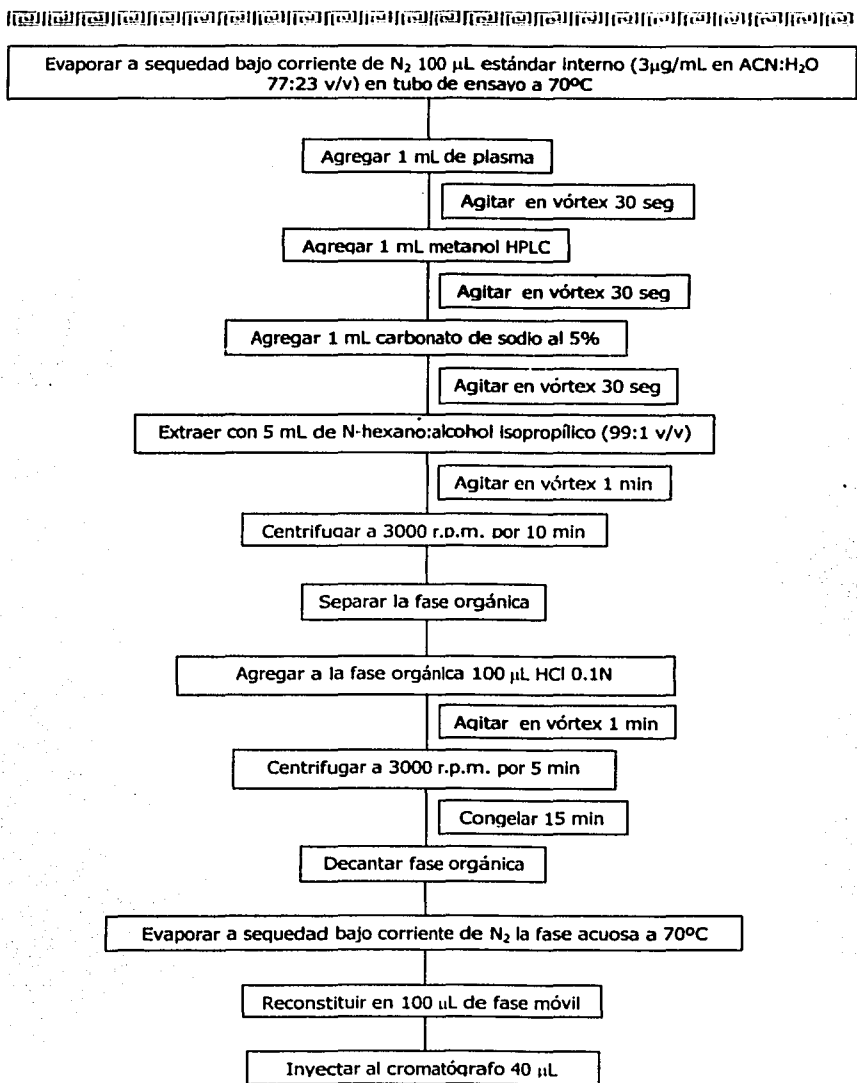


Figura 3. Método de extracción de trimebutina (TMB) optimizado.

4.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR).

Con las condiciones analíticas establecidas se llevó a cabo la validación del método en base a los criterios establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, en lo referente a la validación de métodos analíticos para realizar pruebas de bioequivalencia.

Tanto el sistema cromatográfico como el método analítico fueron validados para demostrar la confiabilidad de los resultados. En el caso del sistema fueron analizadas dos series independientes de curvas patrón en un día de trabajo; mientras que el método analítico fue validado analizando tres series independientes de curvas patrón y cinco series independientes de muestras de control de calidad cuyas concentraciones fueron de 30 ng/mL(bajo), 300 ng/mL(medio) 700 ng/mL(alto) en el primer día de trabajo y analizando series independientes de muestras de control de calidad (control bajo, medio y alto) por duplicado en el segundo y tercer día de trabajo respectivamente. Los parámetros de la validación serán discutidos a continuación.

4.4.1. Linealidad y precisión del sistema.

La linealidad del sistema se determinó preparando dos soluciones stock de trimebutina a partir de pesadas independientes con las que se prepararon 2 curvas patrón en mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v), en un intervalo de concentraciones de 5 a 1000 ng/mL como se muestra en la tabla 2.

Se graficó la relación de alturas de trimebutina/estándar interno (factor de respuesta) con respecto a la concentración de TMB evaluándose el coeficiente de correlación, pendiente (m), ordenada al origen (b), error relativo debido a la regresión y coeficiente de variación (C.V.%) del factor de respuesta.

El sistema se consideró lineal si el coeficiente de correlación fue mayor o igual que 0.99 y el error relativo no mayor al 2%.

La precisión del sistema se evaluó a partir de los datos de linealidad, en donde el coeficiente de variación del factor de respuesta por nivel de concentración no debió ser mayor al 2%.

4.4.2. Linealidad del método.

La linealidad del método se determinó preparando 3 soluciones stock de trimebutina a partir de pesadas independientes con las cuales se prepararon 3 curvas con 8 concentraciones distintas en plasma como se muestra en la tabla 2. Las muestras fueron

procesadas e inyectadas de acuerdo al método optimizado (figura 3). Se graficó la relación de alturas (TMB/E.I) con respecto a la concentración de TMB, determinándose el coeficiente de correlación (r), la pendiente (m) y la ordenada al origen (b).

La linealidad fue evaluada tratando la relación de alturas (TMB/E.I.) de cada punto de la curva patrón como desconocidos e introduciéndolos en la ecuación derivada por la regresión lineal por mínimos cuadrados para obtener los valores de "concentración recuperada".

El método se consideró lineal si el coeficiente de correlación fue mayor o igual a 0.99.

4.4.3. Precisión.

La precisión se evaluó como repetibilidad o precisión intradía y reproducibilidad o precisión interdía. Para la repetibilidad se prepararon por quintuplicado tres concentraciones conocidas de TMB en plasma: baja (30 ng/mL), media (300 ng/mL) y alta (700 ng/mL), diferentes a los puntos de la curva de calibración pero incluidas en el intervalo de la misma. En cuanto a la reproducibilidad, estas mismas concentraciones se analizaron por duplicado durante 3 días. Los valores de relación de alturas se introdujeron en la ecuación de la línea recta generada mediante un análisis por mínimos cuadrados y el

valor interpolado correspondió a los valores de concentración recuperada. El criterio de aceptación consistió en que el coeficiente de variación no fuera mayor al 15%.

4.4.4. Exactitud.

La exactitud se evaluó a partir de los datos de precisión (repetibilidad y reproducibilidad), determinando la desviación absoluta de la concentración recuperada promedio con respecto a la concentración nominal correspondiente:

$$\text{Desv. abs. \%} = 100 \times \frac{\left| \text{Concentración adicionada} - \text{Concentración recuperada} \right|}{\text{Concentración adicionada}}$$

El valor promedio de cada concentración debe estar dentro del 15% del valor nominal.

4.4.5. Recobro.

Para calcular el recobro se prepararon por triplicado en plasma dos curvas de calibración. Las muestras plasmáticas fueron procesadas según el método optimizado (figura 3). Así mismo, se compararon con soluciones preparadas a las mismas concentraciones de TMB pero usando como disolvente la mezcla ACN:H₂O (77:23 v/v) (estándar no extraído). Los resultados de TMB en plasma y en ACN:H₂O (77:23 v/v), fueron comparados para cada concentración, tomando la respuesta del estándar de TMB no extraído como el 100%. El porcentaje de esta relación pudo no ser del 100% pero debió ser reproducible para cada concentración.

4.4.6. Selectividad.

La selectividad del método fue determinada, analizando muestras blanco de la matriz biológica (plasma) proveniente de cada voluntario (muestras predosis), muestras plasmáticas con fármacos adicionados de uso común y muestras de plasma obtenido con heparina, evaluando el método contra posibles interferencias en los tiempos de retención de TMB y del estándar interno.

4.4.7. Límite de cuantificación.

La sensibilidad del método fue determinada como la concentración mínima cuantificable (CMC) ó límite de cuantificación (LC).

Se analizó por quintuplicado la concentración más baja del rango de trabajo. El límite de cuantificación fue válido si su valor promedio estuvo dentro del 20% del valor nominal, con un coeficiente de variación no mayor que 20%.

4.4.8. Límite de detección.

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

4.4.9. Estabilidad.

La estabilidad se determinó a distintas condiciones de temperatura y tiempo, a las cuales la TMB podría permanecer estable en plasma, durante su manejo, almacenamiento y procesamiento.

Se preparó una cantidad suficiente de muestra plasmática a tres concentraciones de 30, 300 y 700 ng/mL de TMB por duplicado, posteriormente se dividieron en partes iguales para cada una de las diferentes condiciones de prueba que se describen a continuación.

4.4.9.1. Estabilidad de la muestra a temperatura ambiente.

Las muestras plasmáticas se procesaron e inyectaron según el método optimizado (tiempo cero). El volumen restante de plasma se conservó a temperatura ambiente, procesándose e inyectándose a las 24 y 48 horas posteriores a su preparación.

4.4.9.2. Estabilidad de la muestra en congelación (-70°C).

Las muestras plasmáticas fueron procesadas y inyectadas según el método optimizado (tiempo cero) y el volumen de plasma restante se dividió en dos partes y se conservó a -70°C para procesarlo e inyectarlo de nueva cuenta, a los 15 y a los 30 días.

4.4.9.3. Estabilidad de la muestra en refrigeración (5°C).

Las muestras plasmáticas se procesaron e inyectaron según el método optimizado (tiempo cero). El volumen de plasma restante se conservó a 5°C. Las muestras en refrigeración se analizaron a los 15 y 22 días.

4.4.9.4. Estabilidad de la muestra procesada.

Los tres puntos de concentración conocida se procesaron según el método optimizado y posteriormente se inyectaron a las 0, 2,5, 4, 8 y 12 horas .

Los valores de concentración recuperada para cada concentración se obtuvieron introduciendo sus respectivos valores de relación de alturas en la ecuación de la recta obtenida de la regresión lineal por mínimos cuadrados a partir de la curva de calibración, analizada el mismo día de su procesamiento.

La estabilidad de las muestras se determinó en base a la desviación absoluta de cada concentración recuperada promedio, obtenida en cada concentración con respecto al valor inicial correspondiente, la cual debía ser menor del 15%.

4.5. ESTUDIO DE ALGUNOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TRIMEBUTINA (TMB) EN POBLACIÓN MEXICANA.

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

4.5.1. Tipo de estudio.

Estudio de dosis única de 200 mg de TMB, administrada por vía oral bajo condiciones de ayuno.

DEBRIDAT Tabletas

SmithKline Beecham México S.A. de C.V.

No. Lote 37035

4.5.2. Diseño del estudio.

El diseño estadístico utilizado para este estudio fue un diseño paralelo con dos grupos constituidos cada uno por 12 voluntarios sanos; 12 hombres (Grupo I) y 12 mujeres (Grupo II); los cuales recibieron una dosis única de 200 mg de TMB el día del estudio de acuerdo a la tabla 3 .

Tabla 3. Diseño estadístico del estudio.

VOLUNTARIOS	
GRUPO I (Hombres)	GRUPO II (Mujeres)
1	13
2	14
3	15
4	16
5	17
6	18
7	19
8	20
9	21
10	22
11	23
12	24

4.5.3. Voluntarios.

En el apéndice I se muestran los datos demográficos de los voluntarios participantes en el estudio de trimebutina.

4.5.3.1. Selección de voluntarios.

En base a los lineamientos propuestos en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, todos los sujetos participaron de manera voluntaria en el estudio, para lo cual firmaron una carta de aceptación y una de consentimiento, de igual forma, se les informó de la naturaleza y fines del estudio, de los efectos secundarios del fármaco y las indicaciones a seguir durante la realización del mismo.

El estado de salud de los voluntarios participantes, se determinó mediante un historial clínico, pruebas de gabinete

(examen físico y electrocardiograma), pruebas de laboratorio (química sanguínea, biometría hemática, examen general de orina, VDRL, detección de virus de hepatitis y VIH), detección de drogas de abuso (ABUSIGN) y prueba de embarazo.

4.5.3.2. Criterios de inclusión para los voluntarios.

■ Se incluyeron únicamente voluntarios clínicamente sanos, del sexo masculino y femenino con edades entre 20 y 40 años.

■ Los voluntarios no debieron ingerir ningún medicamento, por lo menos dos semanas previas al estudio y hasta completarlo, ni consumir alcohol, café, tabaco o bebidas de cola por lo menos 48 horas antes del estudio o durante el mismo.

4.5.3.3. Criterios de exclusión para los voluntarios.

■ Se eliminó del estudio a todo aquel voluntario que no cumplió con los criterios de inclusión propuestos.

■ Fueron rechazados los sujetos que manifestaron sensibilidad o alergia a la TMB.

■ No se aceptaron los individuos que presentaron alguna alteración en sus signos vitales.

■ Se rechazaron los participantes que presentaron trastornos gastrointestinales, hipertensión arterial e insuficiencia renal o hepática.

■ No se incluyeron los sujetos que mostraron antecedentes de drogadicción o de abuso de fármacos así como los que dieron resultados positivos a la prueba de embarazo o al estudio cualitativo de fármacos de abuso en orina.

■ También fueron rechazados los sujetos con algún padecimiento médico actual o pasado que pudiera afectar el comportamiento farmacodinámico o farmacocinético de la TMB.

4.5.4. Procedimiento.

Después de un ayuno de 12 horas, se administró a cada voluntario una tableta de 200 mg de TMB junto con 250 mL de agua.

Se colectaron de 8 a 10 mL de sangre venosa con equipo Vacutainer estéril y rotulado a los 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 min, 4, 6, 8, 12, 24 y 48 horas después de la administración del compuesto por vía oral. Asimismo, se llevó un registro de los signos vitales durante cada una de las tomas de muestra. El plasma de cada muestra se separó por centrifugación y se almacenó a -70°C hasta su análisis.

Los sujetos recibieron una dieta de 1,800 Kcal, dividida entre el desayuno (proporcionado dos horas después de la administración del medicamento), la comida a las 14:00 y la cena a las 21:00 horas.

4.6. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.

Se analizaron la curva patrón y las muestras del estudio individualmente. Las muestras de control de calidad se analizaron en réplicas (una serie de controles por voluntario), colocando una muestra control cada 9 muestras de voluntario. Se procesaron 3 voluntarios por día y se analizaron en la misma corrida. Se utilizó un integrador computacional Millenium de Waters S.A. para determinar las alturas de los picos de TMB y estándar interno.

Las relaciones de alturas (y) de TMB/E.I y las concentraciones se ajustaron por medio de un análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados a la ecuación $y = b + mx$, donde "b" es la ordenada al origen (intercepto y) y "m" es la pendiente de la curva de calibración. Las relaciones de alturas de picos de los controles y las muestras del estudio se interpolaron en la curva patrón para obtener las concentraciones plasmáticas a cada tiempo.

4.6.1. Criterios de validez de la corrida.

La validez de cada corrida durante el procesamiento de las muestras fue determinada examinando los resultados obtenidos de la

curva patrón y las muestras de control de calidad. Una corrida analítica fue aceptada si:

- a) Una curva de calibración es considerada aceptable si contiene al menos 6 valores de concentraciones estándar (de cada 8 utilizados), cuyos valores se encuentren dentro del límite del $\pm 15\%$ con respecto a su valor nominal y el valor del coeficiente de correlación (r) es ≥ 0.99 .

- b) Si al menos 65% de los valores de control de calidad se encuentran dentro del límite $\pm 20\%$ de los valores esperados. Al menos una muestra de control de calidad de cada nivel de concentración, debe estar dentro del criterio del $\pm 20\%$ para que la corrida sea aceptada. Las concentraciones para las muestras de control de calidad baja, media y alta deben ser diferentes de las usadas en la curva de calibración para proveer más puntos de verificación.

- c) Si más del 75% del total de muestras analizadas en la corrida presentaron un coleo en los picos cromatográficos de interés menor a 2 (calculado por el integrador Millennium de Waters con el método USP) repitiendo el análisis de aquellas muestras que no cumplen con dicho criterio.

4.7. CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DE BIODISPONIBILIDAD.

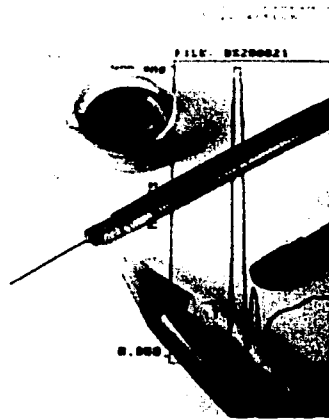
Los siguientes parámetros farmacocinéticos fueron calculados utilizando el paquete computacional Biopak® 2.0:

- 1) Área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración hasta el último "t" (ABC_{0-t}), se determinó con el método trapezoidal.
- 2) Área bajo la curva de concentración plasmática extrapolado desde el tiempo "t" a infinito ($ABC_{t-\infty}$), se determinó dividiendo la última concentración plasmática entre la pendiente terminal (β).
- 3) El área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración (tiempo cero) a infinito ($ABC_{0-\infty}$) se calculó sumando los parámetros de ABC_{0-t} y $ABC_{t-\infty}$.
- 4) La concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) se determinó directamente de la curva de concentración plasmática vs tiempo.
- 5) El tiempo al cual se alcanza la concentración plasmática máximo ($T_{m\acute{a}x}$) se determinó directamente de la curva de concentración plasmática vs tiempo.
- 6) La vida media de eliminación ($t_{1/2}$) se obtuvo del ajuste logarítmico lineal por mínimos cuadrados de la

porción terminal de las curvas de concentración plasmática vs tiempo.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos se llevó a cabo aplicando las pruebas de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov), prueba de t, ANOVA y pruebas no paramétricas como la de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, las cuales fueron realizadas utilizando el paquete computacional SigmaStat®.



RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

5.1. OPTIMIZACIÓN DE LA FASE MÓVIL.

Después de probar las diferentes proporciones de fase móvil, se decidió utilizar aquella cuya proporción de ACN:Buffer de acetatos 0.05 M con ácido 1-heptansulfónico 5 mM, pH 5.5 fuera 77:23 v/v debido a que con dicha proporción se obtuvo la mejor respuesta tanto de la trimebutina (TMB) como del estándar interno, además de cumplir con la simetría, sensibilidad y tiempo de retención necesarios para una apropiada cuantificación.

5.2. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE TRIMEBUTINA EN PLASMA.

El método de extracción para cuantificar TMB en plasma se basó en el trabajo realizado por Eun-Hee Joo y cols. ⁽¹⁵⁾

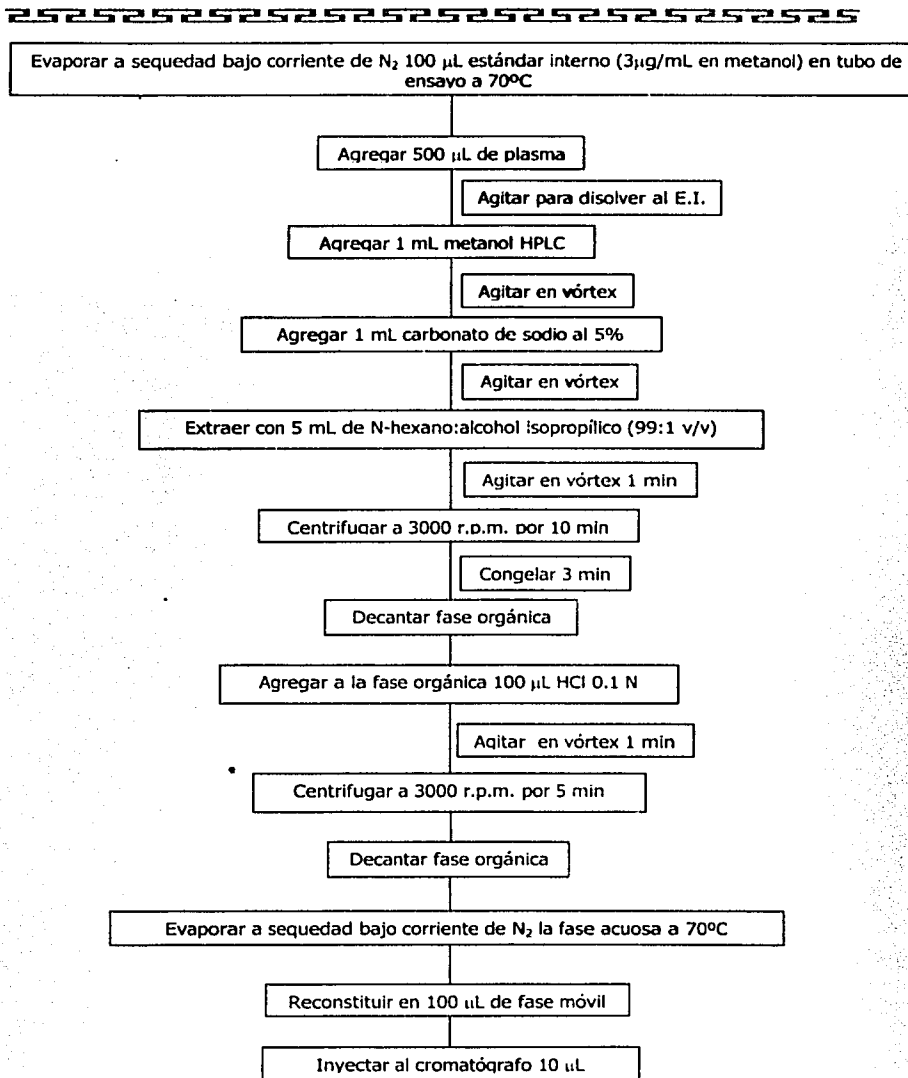


Fig. 4. Método de extracción de TMB en plasma.⁽¹⁵⁾

252525252525252525252525252525252525

Las modificaciones fueron las siguientes:

- ▣ En la solución de estándar interno de 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se sustituyó el metanol como disolvente por una mezcla de ACN:H₂O 77:23 v/v debido a que el primero provocaba interferencias para la determinación tanto de TMB como del estándar interno (E.I.).

- ▣ Se utilizaron 1000 μL de plasma porque se obtuvo mejor respuesta de TMB y del E.I.

- ▣ La agitación en vórtex fue de 30 segundos para permitir una adecuada incorporación del E.I. al plasma.

- ▣ La primera centrifugación fue de 5 minutos para permitir una mejor separación de la TMB y E.I. del plasma.

- ▣ El primer tiempo de congelación se omitió porque al decantar la fase orgánica se arrastraban muchas impurezas del plasma, provocando interferencias en las determinaciones de TMB y disminuciones en la concentración recuperada del E.I.

- ▣ Para la segunda centrifugación se manejó un tiempo de 10 minutos para mejorar la recuperación de la TMB y E.I. contenido en la fase orgánica.



■ En la segunda congelación el tiempo fue mayor debido a que la fase acuosa no se congelaba en un minuto.

■ Se inyectaron 40 μL para obtener una mejor respuesta.

Después de estas modificaciones, el método de extracción de TMB en plasma fue el mostrado en la figura 3.

5.3. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

Detector	UV-VIS
Longitud de onda	267 nm
Columna	Waters Nova Pack C ₁₈ (3.9 x 300 mm)
Fase móvil	ACN/Buffer de acetatos 0.05 M con ácido 1-heptansulfónico 5 mM pH 5.5 (77:23 v/v)
Velocidad de flujo	1.0 mL/min



Con las condiciones cromatográficas de la tabla 4 se obtuvo un tiempo de corrida de 9 minutos. Los tiempos de retención para TMB y estándar interno fueron 6.67 y 3.57 minutos respectivamente. Los valores de K' para TMB estuvieron entre 6.5-6.7, la selectividad fue de 2.2 y se obtuvo una simetría de 1.2-1.4 para este mismo compuesto. Para el estándar interno el valor de K' fue 3.05 y una simetría de 1.4-1.5.

5.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR TMB EN PLASMA.

5.4.1. Linealidad y precisión del sistema.

El sistema fue lineal en el rango de concentraciones de 5 a 1000 ng/mL ya que todos los valores del coeficiente de regresión obtenidos fueron de 0.9999 o mayores; el valor promedio para la pendiente (m) fue de 0.0034 y para la ordenada al origen (b) fue de 0.0008 y el error relativo debido a la regresión fue menor que el 2%. La tabla 5 muestra los resultados de la linealidad del sistema para la cuantificación de TMB, mientras que la figura 4 ilustra la curva patrón promedio correspondiente. Así mismo, el sistema fue preciso en el mismo rango de concentraciones debido a que el coeficiente de variación del factor de respuesta tuvo un valor 1.92% (tabla 6).



Tabla 5. Resultados correspondientes a la linealidad del sistema para cuantificar TMB.

Curva	Relación de alturas (TMB / E.I.)								r	m	b	Error*
	5	10	20	50	100	200	500	1000				
1	0.0171	0.0357	0.0692	0.1707	0.3415	0.6850	1.7040	3.4128	1.0000	0.0034	0.0006	0.0069
2	0.0167	0.0355	0.0712	0.1724	0.3382	0.6776	1.6978	3.3951	1.0000	0.0034	0.0009	0.0089
Promedio	0.0169	0.0356	0.0702	0.1715	0.3399	0.6813	1.7009	3.4040	1.0000	0.0034	0.0008	

*Error relativo debido a la regresión

**Tabla 6. Precisión del sistema para cuantificar TMB.
Factor de respuesta (Rel. de alturas/concentración).**

0.00342
0.00357
0.00346
0.00341
0.00342
0.00342
0.00341
0.00341
0.00334
0.00355
0.00356
0.00345
0.00338
0.00339
0.00340
0.00340
D.E 6.61885×10^{-5}
Promedio 0.00344
C.V.% 1.926

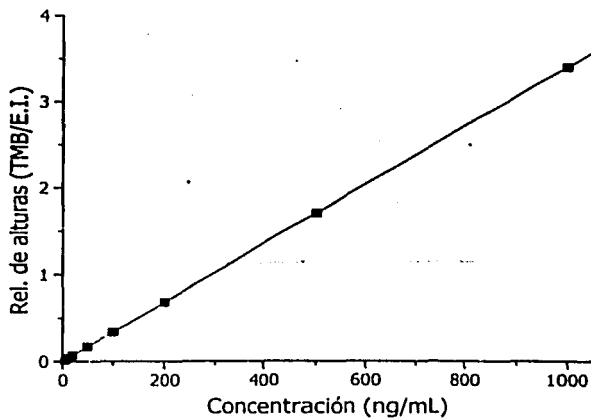


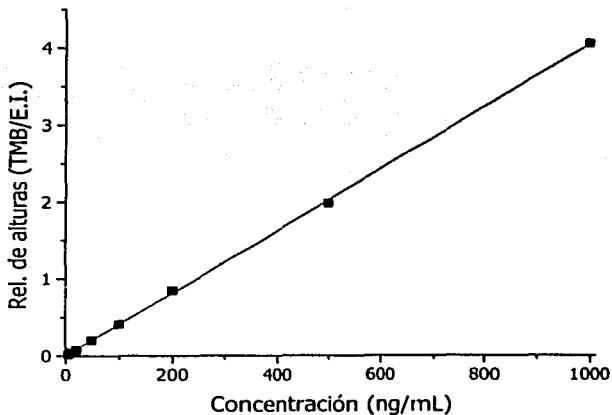
Figura 5. Linealidad del sistema para cuantificar TMB.

5.4.2. Linealidad del método.

El método fue lineal en el rango de concentraciones de 5 a 1000 ng/mL; todos los valores de r obtenidos fueron de 0.999 o mayores. El valor promedio para la pendiente (m) fue de 0.0040 y para la ordenada al origen (b) fue de 0.0017. La tabla 7 muestra los resultados de la linealidad del método para la cuantificación de TMB en plasma, mientras que la figura 6 ilustra la curva patrón promedio correspondiente.

Tabla 7. Resultados correspondientes a la linealidad del método para cuantificar TMB en plasma.

Curva	TRIMEBUTINA CONCENTRACIÓN RECUPERADA (ng/mL)								r	m	b
	5	10	20	50	100	200	500	1000			
1	4.26	9.53	18.02	46.55	97.72	223.41	479.47	1006.03	0.9994	0.0042	0.0001
2	5.01	10.67	19.8	51.14	102.41	199.25	493.74	1002.98	0.9995	0.0037	0.0037
3	5.28	9.32	18.19	50.13	101.34	203.01	496.88	1000.86	1.0000	0.0042	0.0014
Prom.	4.85	9.84	18.67	49.27	100.49	208.56	490.03	1003.29			
D.E.	0.53	0.73	0.98	2.41	2.46	13.00	9.28	2.60			
C.V.%	10.90	7.38	5.26	4.90	2.45	6.23	1.89	0.26			

**Figura 6.** Linealidad del método para cuantificar trimebutina (TMB) en plasma.



5.4.3. Precisión y exactitud del método.

En la tabla 8 se encuentran los resultados correspondientes a la repetibilidad del método, en los que el coeficiente de variación en cada uno de los niveles de concentración evaluados fue menor que 7.8%, mientras que para determinar la exactitud, la desviación absoluta (Desv.abs%) fue menor del 5.6% en los niveles de concentración estudiados.

Tabla 8. Repetibilidad y exactitud del método analítico para cuantificar TMB en plasma.			
Muestra	Concentración recuperada (ng/mL)		
1	29.58	260.18	624.58
2	32.85	296.57	713.31
3	28.89	288.26	623.84
4	29.96	308.90	674.01
5	30.53	319.76	669.83
Promedio	30.36	294.73	661.12
D.E.	1.51	22.73	37.72
C.V.%	4.98	7.71	5.70
Cantidad adicionada (ng/mL)	30	300	700
Desv.abs %	1.20	1.76	5.55



En la tabla 9 se muestran los resultados de la reproducibilidad del método, en donde se observa que el coeficiente de variación entre los diferentes días de trabajo fue de 3.02 a 4.24%, mientras que la desviación absoluta % fue menor a 1.55%, en las diferentes concentraciones evaluadas.

De acuerdo a los resultados anteriores el método se consideró preciso y exacto ya que cumplió con el criterio especificado del $\pm 15\%$.

Tabla 9. Reproducibilidad de método analítico para la cuantificación de TMB en plasma.				
Día	Réplica número	Concentración recuperada (ng/mL)		
1	1	29.96	296.57	713.31
	2	30.52	308.90	669.83
2	1	28.59	292.44	680.72
	2	29.53	287.47	691.98
3	1	31.04	303.44	729.79
	2	31.24	286.42	649.44
Promedio		30.15	295.87	689.18
D.E.		0.997	8.935	29.203
C.V.%		3.31	3.02	4.24
Cantidad adicionada (ng/mL)		30	300	700
Desviación absoluta %		0.49	1.38	1.55

5.4.4. Recobro.

El recobro fue definido como el porcentaje de la altura de TMB recuperada después de la extracción de las muestras de la matriz biológica, comparada con la alturas de un estándar no extraído. Durante la validación, el recobro de TMB fue del 88.6 al 76.5 % determinado en el rango de concentraciones de 5-1000 ng/mL respectivamente. Los resultados se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Recobro de TMB de plasma humano.			
Concentración	Estándar en plasma (extraído) Altura de TRIMEBUTINA	Estándar en fase móvil (no extraído) Alturas de TRIMEBUTINA	Recobro %
5 ng/mL	229 263	277 278	
Promedio	246	277.5	88.6
10 ng/mL	482 505	598 578	
Promedio	494	588	83.9
20 ng/mL	958 935	1135 1193	
Promedio	946.5	1164	81.3
50 ng/mL	2307 2237	2871 2793	
Promedio	2272	2832	80.2
100 ng/mL	4524 4580	5677 5453	
Promedio	4552	5565	81.8
200 ng/mL	9013 8827	11545 10751	
Promedio	8920	11148	80.0
500 ng/mL	22219 23482	28661 27060	
Promedio	22851	27860.5	82.0
1000 ng/mL	43560 41486	56784 54400	
Promedio	42523	55592	76.5

5.4.5. Selectividad.

En los resultados obtenidos para la selectividad no se observó ninguna interferencia con TMB ni con el estándar interno, como se muestran en la figura 7:

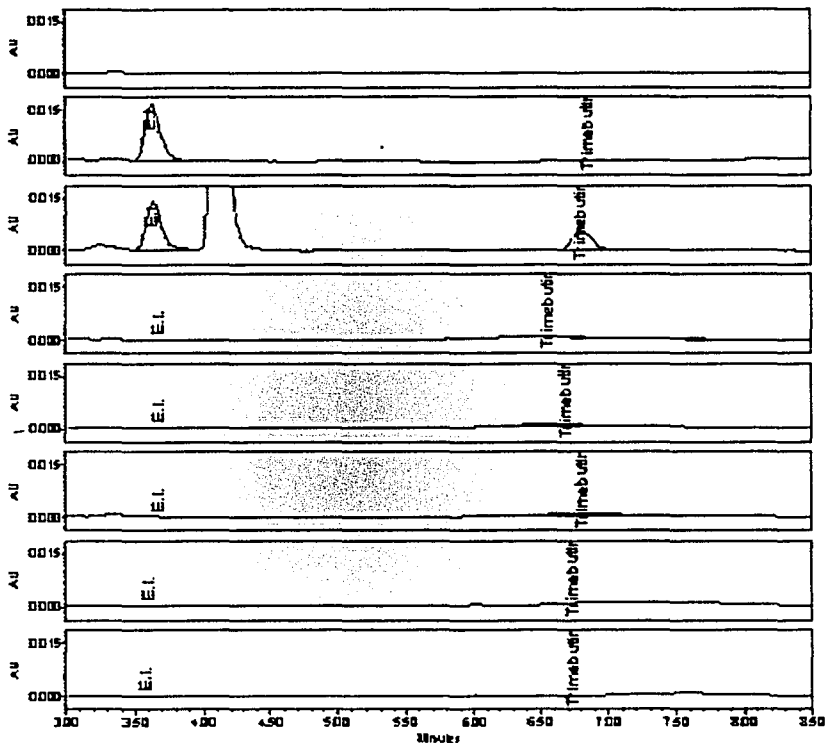
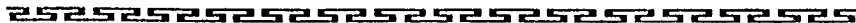


Figura 7. Cromatogramas de TMB en plasma, después de la extracción. (A) Blanco de plasma; (B) plasma de un voluntario sano 1 hora después de una administración oral de 200 mg de TMB; (C) estándar en plasma con 200 ng/mL de TMB; (D) plasma añadido con heparina; (E) plasma añadido con ac. salicílico; (F) plasma añadido con ranitidina; (G) plasma añadido con naproxén; (H) plasma añadido con paracetamol.



5.4.6. Límite de cuantificación.

Para TMB el LC fue de 5 ng/mL. En este nivel, la precisión interdía fue de 11.2% y la exactitud (desviación absoluta %) fue de 5.02.

5.4.7. Límite de detección.

El LD para TMB fue de 3.0 ng/mL.

5.4.8. Estabilidad.

5.4.8.1. *Estabilidad de la muestra a temperatura ambiente.*

Los resultados del análisis de las muestras de plasma almacenadas a temperatura ambiente durante 48 horas, presentaron una desviación absoluta menor al 15% con respecto al valor original, por lo que se considera que TMB es estable bajo estas condiciones (tabla 11).

Tabla 11. Estabilidad de TMB a temperatura ambiente.			
Tiempo 0			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	29.22	286.63	676.49
	29.99	292.06	681.27
Promedio	29.61	289.34	678.88
24 horas			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	33.74	301.03	686.52
	33.53	282.11	665.13
Promedio	33.63	291.57	675.82
Desv.abs%	13.61	0.77	0.45
48 Horas			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	26.57	273.21	629.16
	29.44	283.52	489.62
Promedio	28.00	278.37	559.39
Desv.abs%	5.41	3.79	17.60

5.4.8.2. Estabilidad de la muestra en congelación (-70°C).

En la tabla 12 se muestran los resultados del análisis de las muestras sometidas a congelación a los 15 y 30 días. Se puede observar que los valores obtenidos, cumplen con el límite de $\pm 15\%$ del valor original, por lo que se concluye que la trimebutina (TMB) es estable a -70°C durante 30 días.

Tabla 12. Estabilidad de TMB en congelación.			
Día 0			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	29.22	286.63	676.49
	29.99	292.06	681.27
Promedio	29.61	289.34	678.88
Día 15			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	29.32	299.15	694.84
	29.13	301.01	659.30
Promedio	29.23	300.08	677.07
Desv.abs%	1.28	3.71	0.27
Día 30			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	31.41	319.02	714.11
	29.52	335.84	642.39
Promedio	30.47	327.43	678.25
Desv.abs%	2.90	13.16	0.09

5.4.8.3 Estabilidad de la muestra en refrigeración (5°C).

El monitoreo de la estabilidad de TMB en plasma bajo condiciones de refrigeración se presenta en la tabla 13, en la cual se puede observar que los valores obtenidos cumplen con el límite del $\pm 15\%$ del valor original, con lo cual se demuestra que TMB es estable a 5°C durante 22 días.



Tabla 13. Estabilidad de TMB en refrigeración.			
Tiempo 0			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	29.22	286.63	676.49
	29.99	292.06	681.27
Promedio	29.61	289.34	678.88
15 días			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	29.96	296.89	689.06
	28.27	272.65	616.61
Promedio	29.12	284.77	652.84
Desv.abs%	1.66	1.58	3.84
22 días			
	Bajo 30 ng/mL	Medio 300 ng/mL	Alto 700 ng/mL
	28.69	261.50	728.15
	31.95	296.03	677.93
Promedio	30.32	278.77	703.04
Desv.abs%	2.42	3.66	3.56

5.4.8.4. Estabilidad de la muestra procesada.

Los resultados se presentan en la tabla 14, en la cual se puede observar que el TMB fue estable en la solución de inyección durante 0, 2.5, 4, 8, y 12 h después de su preparación ya que su desviación absoluta no fue mayor del 15% con respecto al valor original.



Con base en los resultados anteriores, se consideró que el método analítico es confiable para el análisis de TMB en plasma y para su aplicación en un estudio de biodisponibilidad.

5.5. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.

Los resultados de las muestras de control de calidad de todas las corridas del estudio están resumidos en la tabla 15, mientras que los resultados de las curvas de calibración de todas las corridas del estudio están resumidas en la tabla 16.

Los valores de r mostrados a lo largo del estudio fueron de 0.9999 o mayor; mientras que la reproducibilidad de los estándares fue del 5.5% o mejor. La exactitud fue del 2.36% o mejor para todos los puntos.

Las concentraciones de las muestras por debajo del límite de cuantificación no se incluyeron en los cálculos.



Tabla 15. Seguimiento de las muestras de control de calidad de TMB.

TRIMEBUTINA en plasma (ng/mL)			
Voluntarios	Control Alto 700 ng/mL	Control Medio 300 ng/mL	Control Bajo 30 ng/mL
1,2,3	735.96	301.21	30.12
	712.22	290.36	28.77
	*	*	32.17
4,5,6	700.99	307.97	30.76
	717.38	308.77	30.24
	692.59	307.34	27.58
7,8,9	694.58	308.45	29.95
	662.03	298.75	29.30
	722.86	*	28.75
10,11,12	707.58	306.19	29.83
	699.12	299.81	29.15
	704.97	314.34	30.84
13,14,15	694.03	318.67	30.12
	729.50	319.16	28.95
	703.88	307.02	30.44
16,17,18	710.02	296.95	31.12
	770.38	298.97	31.93
	720.43	296.55	35.03
19,20,21	754.34	315.92	33.30
	729.31	314.31	31.10
	703.76	327.15	34.18
22,23,24	716.29	308.59	31.33
	707.17	305.79	29.85
	723.24	311.61	31.56
Promedio	713.59	307.45	30.68
D.E.	22.06	8.75	1.75
C.V.%	3.09	2.85	5.70
Conc. nominal	700	300	30
Desv. Abs (%)	1.94	2.85	5.70

Nota: * valores que excedieron el límite de $\pm 20\%$ del valor nominal

252525252525252525252525252525252525

Tabla 16. Resultados de seguimiento de curvas de calibración para cuantificar TMB.

Voluntarios	TRIMEBUTINA en Plasma (ng/mL)								Intercepto (b)	Pendiente (m)	Coefficiente de correlación (r)
1,2,3	5.4	10.4	19.8	48.0	101.2	198.1	503.6	998.6	-0.0001	1.0000	1.0000
4,5,6	5.2	9.2	19.3	49.7	100.1	195.3	510.3	995.8	-0.0002	1.0000	0.9999
7,8,9	4.1	8.9	18.7	48.0	93.2	211.0	505.0	996.1	-0.0007	1.0000	0.9999
10,11,12	5.6	10.1	18.9	49.4	99.4	199.2	504.4	998.1	-0.0056	1.0000	1.0000
13,14,15	4.4	8.7	19.7	50.4	104.5	*	495.5	1001.8	-0.0007	1.0000	1.0000
16,17,18	5.5	9.7	19.2	48.1	*	204.2	498.2	1000.2	0.0004	1.0000	1.0000
19,20,21	5.6	11.0	19.8	49.2	*	201.1	*	1000.0	0.3433	0.9997	1.0000
22,23,24	4.3	9.1	18.8	50.7	101.3	*	501.9	999.0	-0.0004	1.0000	1.0000
Promedio	5.0	9.6	19.3	49.2	100.0	201.5	502.7	998.7			
D.E.	0.6	0.8	0.5	1.1	3.7	5.5	4.8	2.0			
C.V.%	12.7	8.4	2.3	2.2	3.7	2.7	1.0	0.2			
Conc. Nominal	5	10	20	50	100	200	500	1000			
Desv. Abs. %	0.25	3.62	3.62	1.62	0.05	0.74	0.54	0.13			

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

5.6. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE TRIMEBUTINA (TMB).

En la tabla 17 se presentan los valores de las concentraciones plasmáticas promedio de TMB por grupo y del total de voluntarios a cada tiempo de muestreo, después de la administración de la formulación (ver figuras 8-10).

En el Apéndice II se presentan los datos de concentración plasmática encontrados en cada voluntario, así como sus gráficas de concentración plasmática vs tiempo.

Tabla 17. Concentraciones plasmáticas promedio de TMB.			
Tiempo (h)	Concentración plasmática Grupo I Hombres (ng/mL)	Concentración plasmática Grupo II Mujeres (ng/mL)	Concentración promedio de trimebutina
0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0
0.33	88.34 ± 99.93	214.14 ± 310.34	148.51 ± 229.99
0.66	196.94 ± 99.90	219.99 ± 153.72	200.15 ± 131.40
1	110.47 ± 60.30	122.77 ± 72.60	111.99 ± 68.23
1.33	76.34 ± 44.76	75.11 ± 42.53	72.75 ± 44.37
1.66	48.9 ± 25.42	57.11 ± 33.17	50.95 ± 30.38
2	36.47 ± 19.42	46.42 ± 32.37	39.87 ± 27.20
4	10.26 ± 4.65	14.43 ± 8.40	12.10 ± 7.22
6	5.84 ± 4.25	13.29 ± 7.15	10.32 ± 5.80
8	N.D.	10.19 ± 4.31**	10.19 ± 4.31**
12	N.D.	6.99 ± 1.38*	6.99 ± 1.38*
24	N.D.	N.D.	N.D.
48	N.D.	N.D.	N.D.

*n=2
**n=3

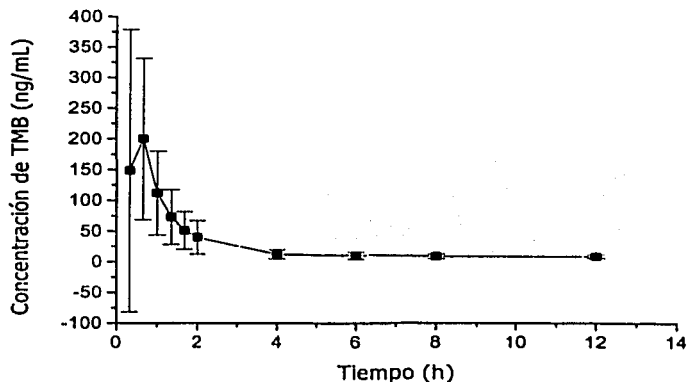


Figura 8. Gráfica de la concentración plasmática promedio de TMB (\pm D.E) *versus* tiempo, después de la administración de una formulación oral de TMB.

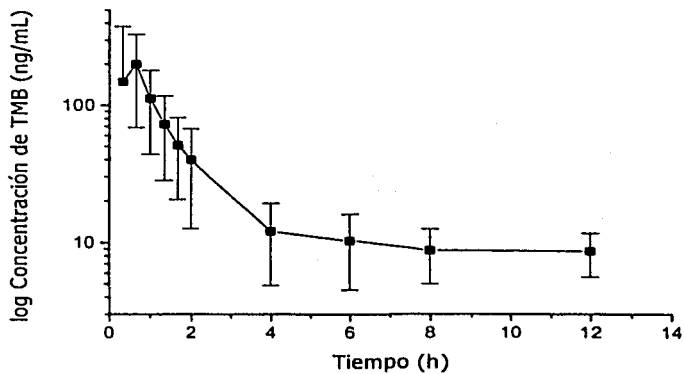


Figura 9. Gráfica del logaritmo de la concentración plasmática promedio de TMB (\pm D.E) *versus* tiempo, después de la administración de una formulación oral de TMB.

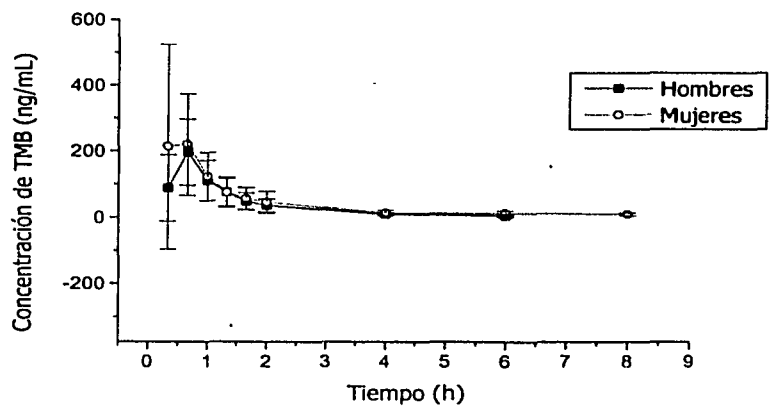


Figura 10. Gráfica de la concentración plasmática promedio de TMB en hombres y mujeres (\pm D.E.) vs tiempo.

En las gráficas anteriores se observa que el proceso de absorción es rápido y que la concentración plasmática máxima de TMB se alcanza 40 minutos después de la administración de dicho fármaco, mientras que la bibliografía⁽¹⁴⁾ menciona que el $C_{m\acute{a}x}$ se alcanza entre la primera y segunda horas después de la administración del fármaco, lo cual nos indica que la absorción es más rápida en los grupos de este estudio.

Como se observa en la tabla 17 y en la figura 10, existió una gran variabilidad interindividual con respecto a la velocidad de absorción de TMB.

5.7. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.

Los parámetros farmacocinéticos por grupo y promedio obtenidos de 24 voluntarios para el medicamento de referencia de trimebutina, se presentan en la tabla 18. En el apéndice II se muestran las concentraciones plasmáticas para cada participante.

Tabla 18. Parámetros farmacocinéticos por grupo y promedio correspondientes a TMB.			
Parámetro farmacocinético (promedio \pm D.E.)	Hombres	Mujeres	Promedio
ABC ₀₋₄ (ng*h/mL)	253.9075 \pm 175.4641	305.7133 \pm 254.1457	279.81 \pm 215.21
ABC ₀₋₈ (ng*h/mL)	269.9708 \pm 176.3801	323.4308 \pm 265.0559	296.70 \pm 221.87
Cmáx (ng/mL)	213.2983 \pm 88.7088	299.8358 \pm 262.3934	256.57 \pm 196.58
tmáx (h)	0.6058 \pm 0.1923	0.6066 \pm 0.2398	0.61 \pm 0.21
t _{1/2} (h)	1.0041 \pm 0.8788	1.4341 \pm 1.5717	1.22 \pm 1.26

Estudios realizados por Joo y cols.⁽¹⁵⁾ mostraron un tiempo de vida media para trimebutina de 7.38 \pm 2.01 h, ajustando los datos a un modelo abierto de dos compartimientos; sin embargo, la fase descendente de eliminación únicamente fue caracterizada por dos puntos, por lo que dicha conclusión tiene que tomarse con las reservas correspondientes; cabe mencionar que el límite de cuantificación de su método analítico fue de 10 ng/mL, mientras que en el método desarrollado para este proyecto fue de 5 ng/mL, precisamente, con la intención de caracterizar de forma más adecuada la fase de eliminación del fármaco. Como se puede observar en la tabla anterior, el tiempo de vida media obtenido para la población mexicana en estudio fue de 1.22 \pm 1.26 h, lo cual se asemeja a los resultados obtenidos por otros investigadores como



Astier y cols.⁽¹⁶⁾, en cuyo estudio el tiempo de vida media de trimebutina fue de 2.68 ± 0.62 h.

Lo anterior solo confirma la necesidad de estudiar más a fondo la farmacocinética de trimebutina, de preferencia utilizando métodos analíticos todavía más sensibles.

5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA BIODISPONIBILIDAD DE TMB.

Se aplicó un análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos, empleando el programa computacional SigmaStat® para evaluar el efecto del género en la farmacocinética de TMB. Los resultados se muestran en la tabla 19.

Tabla 19. Efecto del género en algunos parámetros farmacocinéticos de TMB.

Parámetro farmacocinético	Prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov)	Prueba de t (Mann-Whitney)	ANOVA (Kruskal-Wallis)
ABC $0 \rightarrow t$	No cumplió (P=0.0375)	No hay diferencias P= 0.436 $\alpha = 0.05$	No hay diferencias P= 0.419
ABC $0 \rightarrow \text{inf}$	No cumplió (P=0.0350)	No hay diferencias P= 0.507 $\alpha = 0.05$	No hay diferencias P= 0.488
C _{máx}	No cumplió (P=0.0168)	No hay diferencias P= 0.707 $\alpha = 0.05$	No hay diferencias P= 0.686
t _{máx}	No cumplió (P=0.0001)	No hay diferencias P= 0.977 $\alpha = 0.05$	No hay diferencias P= 0.948
t _{1/2}	No cumplió (P<0.0001)	No hay diferencias P= 0.707 $\alpha = 0.05$	No hay diferencias P= 0.686

De las pruebas estadísticas efectuadas a los parámetros farmacocinéticos de hombres y mujeres, se obtuvo lo siguiente:

Los resultados de la prueba de normalidad y ANOVA nos indican que nuestros datos no están distribuidos normalmente, por lo que se efectuaron las pruebas de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis (pruebas no paramétricas), las cuales nos muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de tratamiento.



CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES.

■ El método analítico para la cuantificación de TMB en plasma por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), fue lineal, exacto, preciso y selectivo en el intervalo de concentraciones de 5 a 1000 ng/mL.

■ Los parámetros farmacocinéticos promedio encontrados en población mexicana son los siguientes: ABC_{0-t} 279.81 ± 215.21 ng/mL; $ABC_{0-\infty}$ 296.70 ± 221.87 ng/mL; $C_{m\acute{a}x}$ 256.57 ± 196.58 ng/mL; $t_{m\acute{a}x}$ 0.61 ± 0.21 horas.

■ El tiempo de vida media encontrado para la población en estudio fue de 1.22 ± 1.26 horas; sin embargo, se sugiere desarrollar un método más sensible que permita caracterizar adecuadamente la fase de eliminación de la trimebutina.

■ No se encontraron diferencias significativas entre géneros al evaluar la biodisponibilidad de trimebutina.

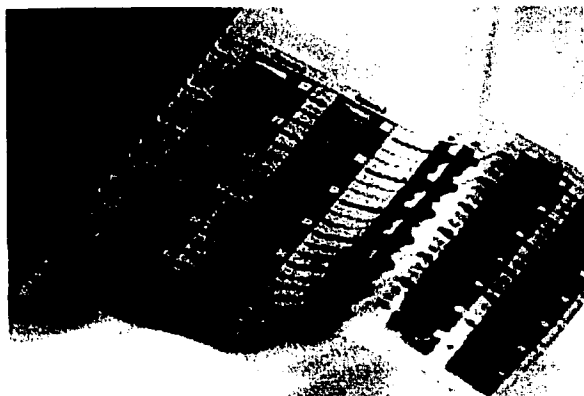


BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Ganong, W.F. Fisiología Médica. 16ª edición, El Manual Moderno, México, 1998, pp. 551-554, 564-565.
2. Testut L., Latarjet A. Anatomía Humana. Órganos del Sistema Digestivo. Salvat, España, 1997, pp. 150-521.
3. Rodríguez, M. Anatomía, fisiología e higiene. 9ª edición, Editorial Progreso, México, 1993, pp. 147-163.
4. Enciclopedia Icarito. Cuerpo Humano. Sistema Digestivo. Tercera, Chile, 2001, 807, pp. 1-12.
5. <http://www.salud-latina.com/primerosauxilios/anato2.htm>
6. Vargas, D. Gastroenterología. 2ª edición, McGraw Hill Interamericana, México, 1998, pp. 231-235.
7. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Irritable Bowel Syndrome. National Digestive Diseases Information, USA, November, 2000.
8. Drossman, D.A. Psychosocial factors in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 1998, 95:701-708.
9. Thompson W.G. Irritable bowel syndrome: Guidelines for the diagnosis. *Gastroenterology Intl.*, 1980, 2: 92-95.
10. Jailwala J., Imperiale T.F., Kroenke K. Pharmacologic treatment of the irritable bowel syndrome. *Annals of Internal Medicine*, 2000, 13: 136-137.
11. Merck & Co., Inc. The Merck Index. 9th edition, Rahaway, N.J., U.S.A., 1980.
12. <http://www2.biam2.org/www/Spe7637.html>

13. Cerekinon tablets. Tanabe Seiyaku Co, Japan, 1998, pp. 1-3.
14. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas (PLM). CD ROM, 45ª edición, 1999.
15. Joo E. H., Chang W. I., Oh I., Shin S. C., Na H. K., Lee Y. B. High-performance liquid chromatographic determination of trimebutine and its major metabolite, N-monodesmethyl trimebutine, in rat and human plasma. J. Chromatogr. B, 723 (1999), 239-246.
16. Astier A., Deutsch A.M. Quantitative high performance liquid chromatographic determination of antispasmodic trimebutine in human plasma. J. Chromatogr., 224 (1981), 149-155.
17. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Diario Oficial de la Federación, Primera Sección, viernes 7 de mayo de 1999.



APÉNDICES

8. APÉNDICE I.

DATOS DEMOGRÁFICOS DE VOLUNTARIOS

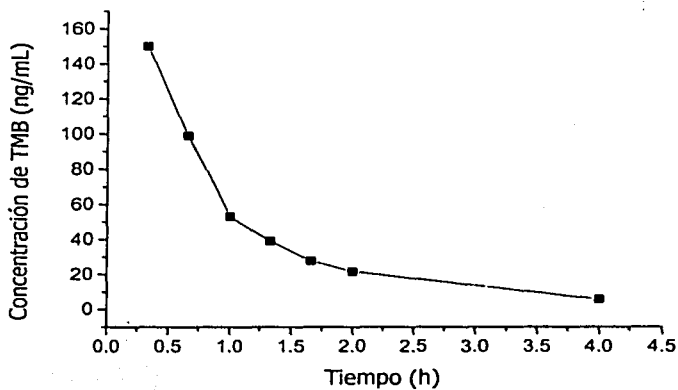
SEXO MASCULINO			
VOLUNTARIO	PESO (Kg)	TALLA (m)	IMC (Kg/m²)
1	63.5	1.68	22.5
2	75	1.73	25
3	79.5	1.70	27.4
4	63	1.71	21.5
5	70	1.70	24.2
6	73.5	1.77	23.4
7	68.5	1.76	22.1
8	85.5	1.75	27.9
9	69	1.74	22.8
10	88	1.72	29.8
11	69	1.71	23.6
12	78.5	1.86	22.7
PROMEDIO	73.6	1.7	24.4
DESV. ESTÁNDAR	8.0	0.04	2.6
C.V.%	10.9	2.7	10.7

SEXO FEMENINO			
VOLUNTARIO	PESO (Kg)	TALLA (cm)	IMC (Kg/m²)
13	64	1.56	26.7
14	54	1.63	20
15	47.5	1.53	20.7
16	50.5	1.57	20.2
17	66	1.66	23.6
18	58.8	1.60	22.6
19	56	1.67	20
20	54	1.62	20.8
21	54.5	1.63	20.2
22	57.5	1.73	19.2
23	69.5	1.62	26.2
24	50.5	1.54	21
PROMEDIO	56.9	1.6	21.8
DESV. ESTÁNDAR	6.7	0.1	2.5
C.V.%	11.7	3.6	11.5

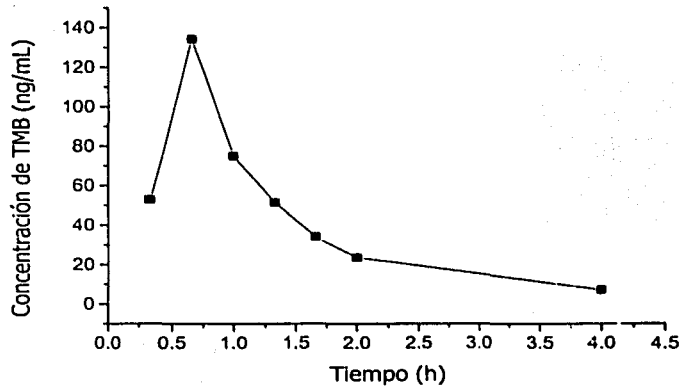
9. APÉNDICE II.

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

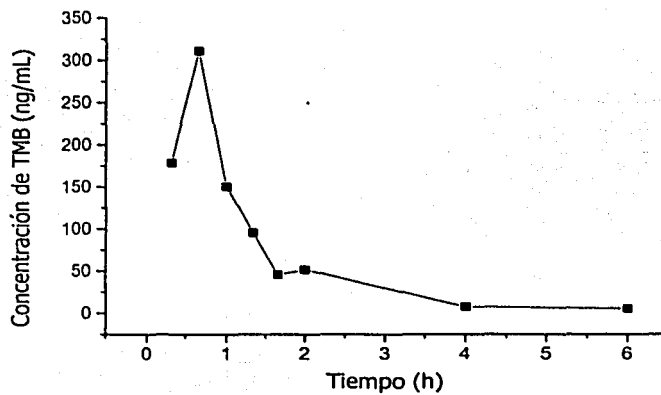
VOLUNTARIO 1	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	150.05
0.66	99.02
1	53.15
1.33	39.18
1.66	27.88
2	21.72
4	5.79
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



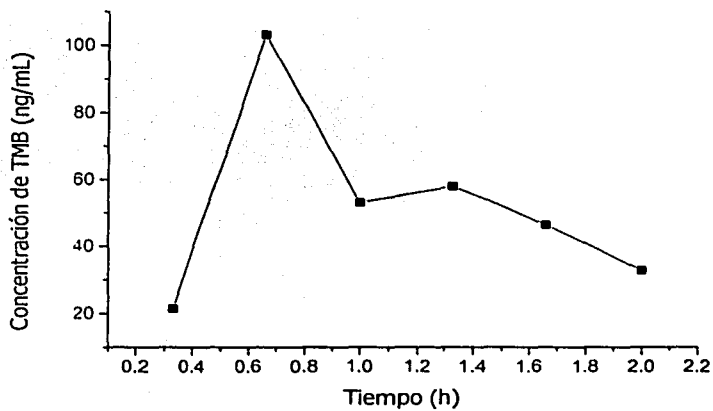
VOLUNTARIO 2	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	52.98
0.66	134.43
1	75.09
1.33	51.63
1.66	34.26
2	23.64
4	7.28
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



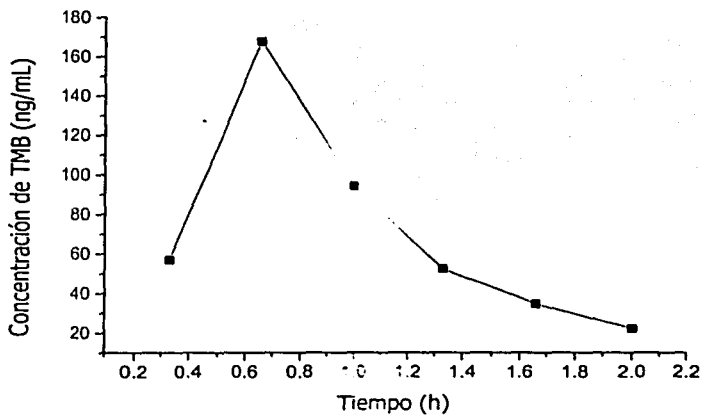
VOLUNTARIO 3	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	178.59
0.66	311.11
1	150.41
1.33	95.59
1.66	45.88
2	51.87
4	7.73
6	5.62
8	N.C.
12	N.C.
24	N.D.
48	N.D.



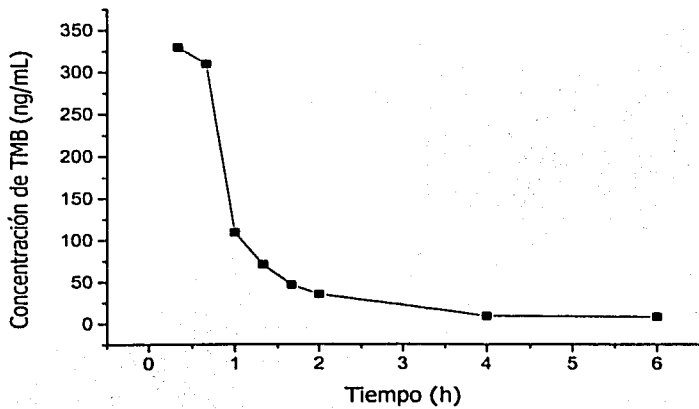
VOLUNTARIO 4	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	21.43
0.66	103.03
1	53.06
1.33	57.99
1.66	46.40
2	32.78
4	N.D.
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



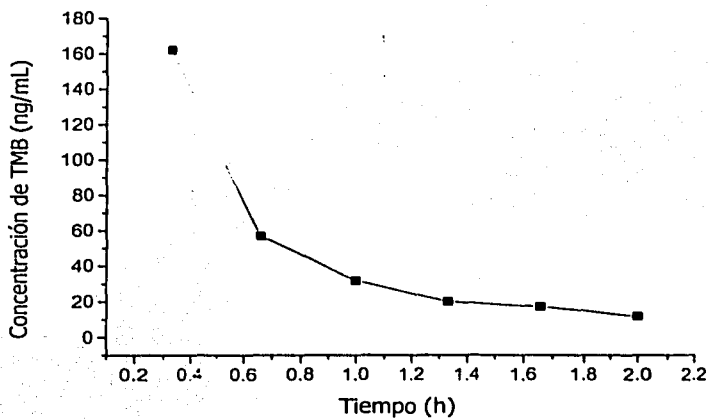
VOLUNTARIO 5	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	56.94
0.66	167.67
1	94.22
1.33	52.31
1.66	34.69
2	22.37
4	N.C.
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



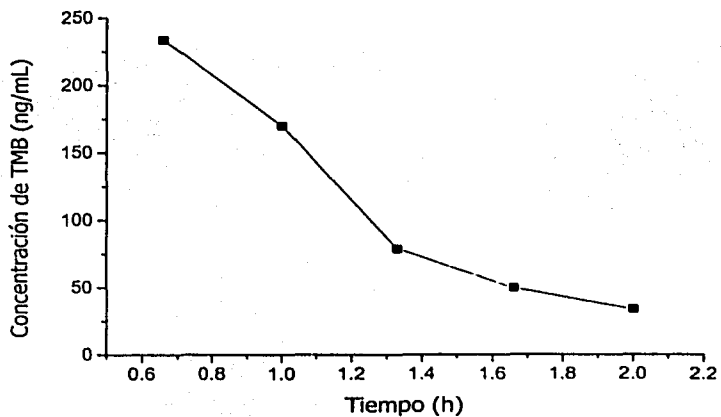
VOLUNTARIO 6	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	329.33
0.66	309.51
1	109.06
1.33	70.64
1.66	46.25
2	34.84
4	9.11
6	7.94
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



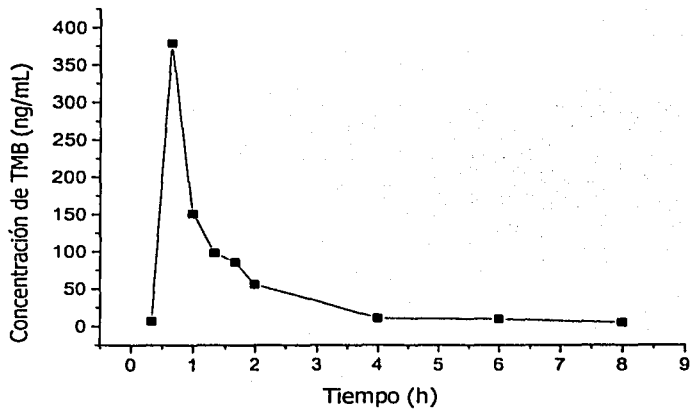
VOLUNTARIO 7	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	162.24
0.66	57.03
1	31.96
1.33	20.06
1.66	17.21
2	11.85
4	N.C.
6	N.C.
8	N.C.
12	N.C.
24	N.D.
48	N.D.



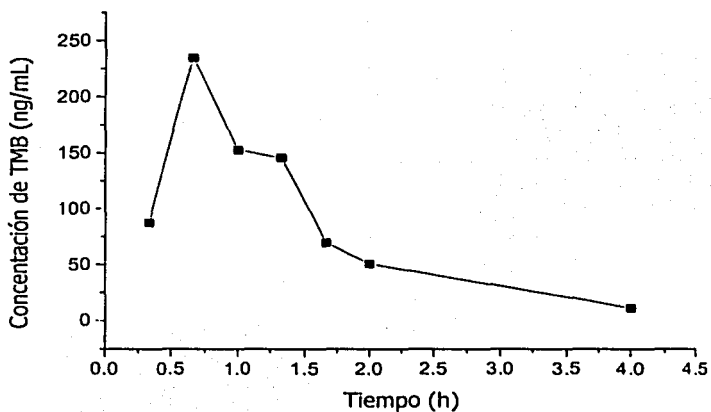
VOLUNTARIO 8	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	N.D.
0.66	233.62
1	169.88
1.33	78.84
1.66	49.92
2	34.13
4	N.C.
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



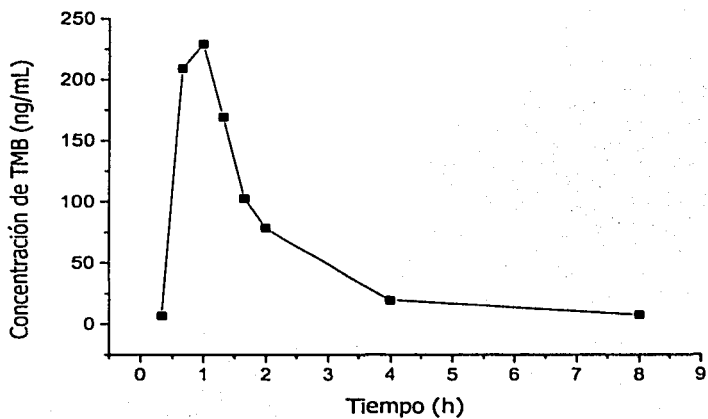
VOLUNTARIO 9	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	6.99
0.66	379.21
1	151.29
1.33	98.27
1.66	85.93
2	56.73
4	10.91
6	9.80
8	5.05
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



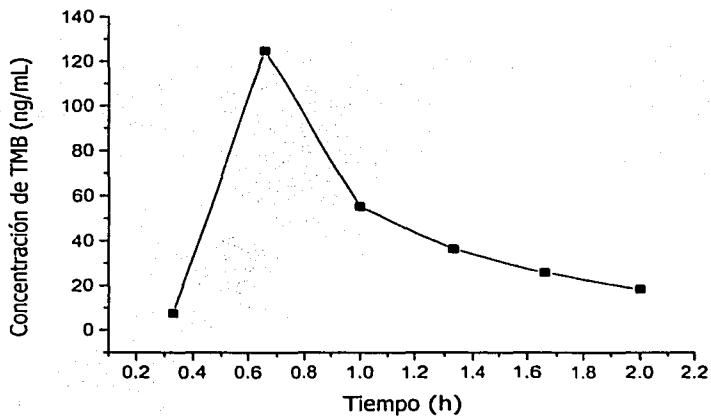
VOLUNTARIO 10	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	87.45
0.66	234.64
1	152.75
1.33	145.77
1.66	69.83
2	50.75
4	11.12
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



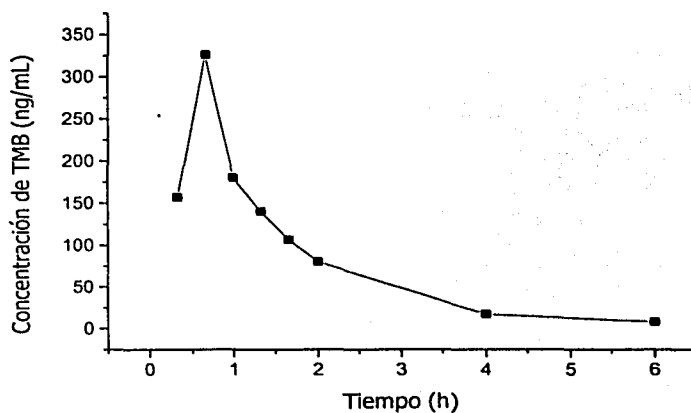
VOLUNTARIO 11	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	6.46
0.66	209.09
1	229.33
1.33	169.41
1.66	102.66
2	78.48
4	19.86
6	N.D.
8	7.59
12	N.C.
24	N.D.
48	N.D.



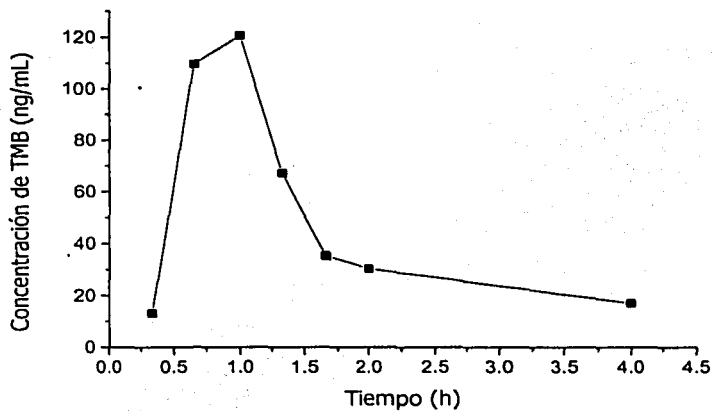
VOLUNTARIO 12	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	7.57
0.66	124.92
1	55.45
1.33	36.43
1.66	25.98
2	18.45
4	N.C.
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



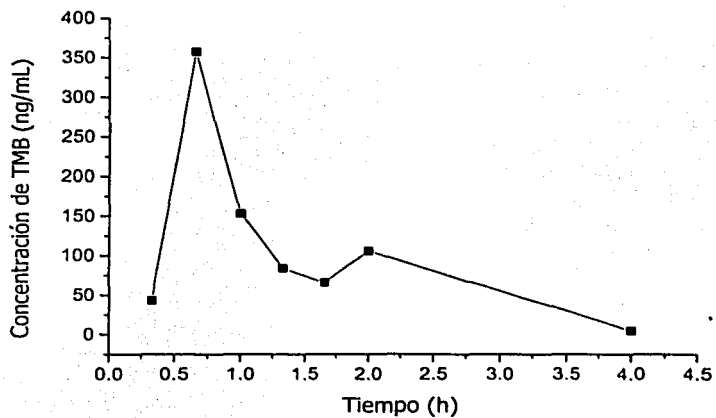
VOLUNTARIO 13	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	157.17
0.66	325.96
1	180.24
1.33	140.22
1.66	106.41
2	80.15
4	17.20
6	8.02
8	N.C.
12	N.C.
24	N.C.
48	N.D.



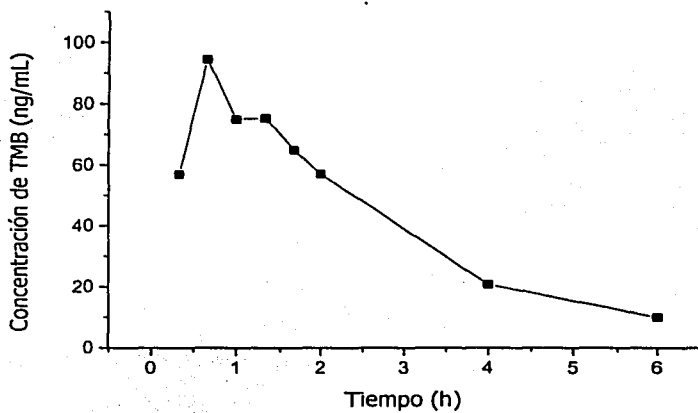
VOLUNTARIO 14	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	13.15
0.66	109.86
1	120.71
1.33	67.21
1.66	35.34
2	30.35
4	17.09
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



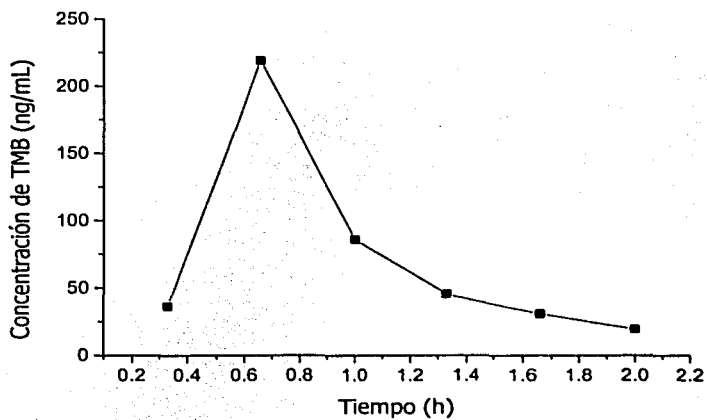
VOLUNTARIO 15	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	43.61
0.66	357.81
1	153.30
1.33	84.35
1.66	66.05
2	106.06
4	5.13
6	N.C.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



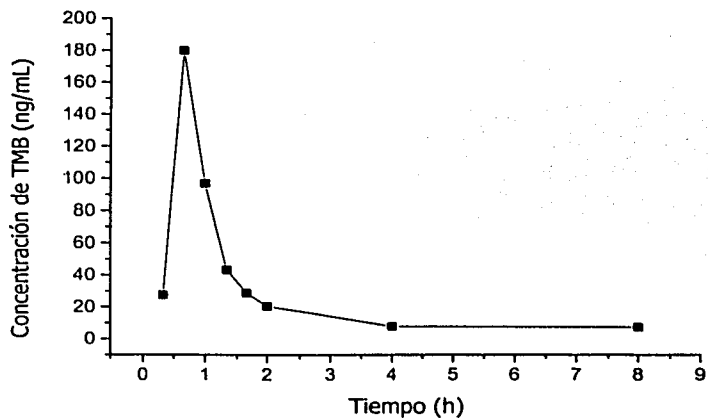
VOLUNTARIO 16	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	56.94
0.66	94.39
1	74.95
1.33	75.25
1.66	64.95
2	57.07
4	20.80
6	9.89
8	N.C.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



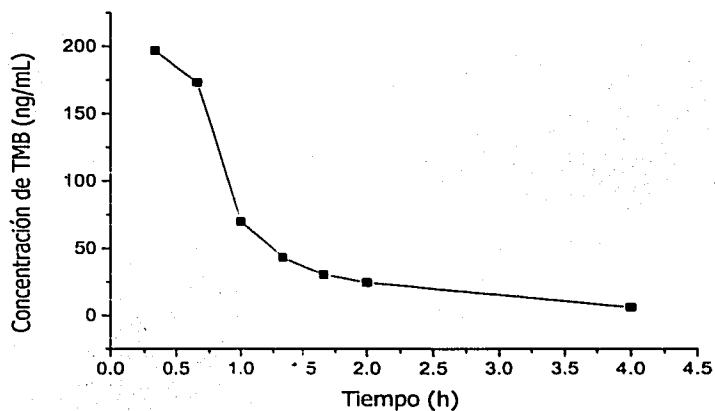
VOLUNTARIO 17	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	36.39
0.66	219.04
1	85.91
1.33	45.60
1.66	30.87
2	19.42
4	N.D.
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



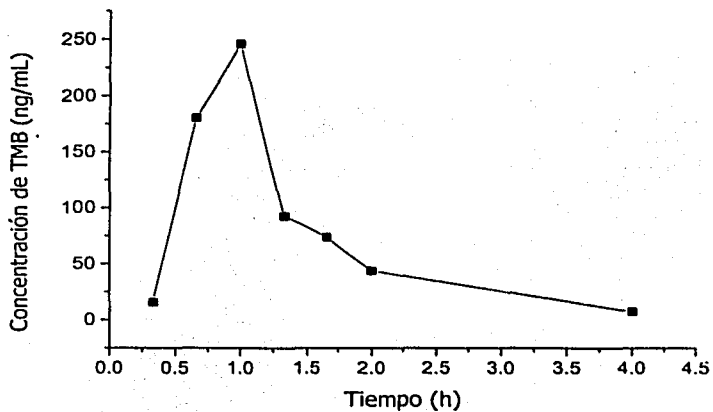
VOLUNTARIO 18	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	27.49
0.66	179.96
1	96.90
1.33	43.25
1.66	28.80
2	20.55
4	7.69
6	N.D.
8	7.36
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



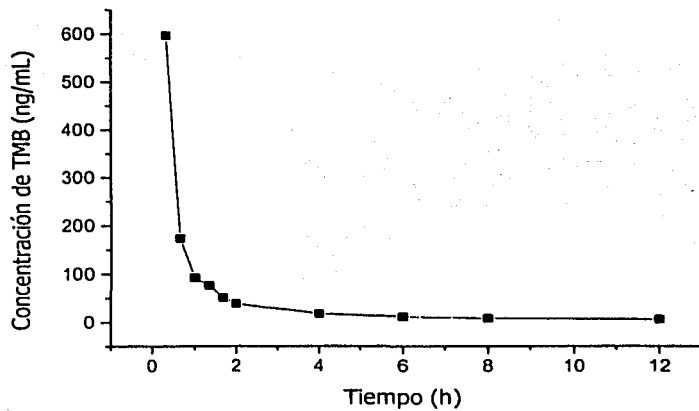
VOLUNTARIO 19	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	196.67
0.66	173.15
1	69.94
1.33	43.40
1.66	30.66
2	24.71
4	6.38
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



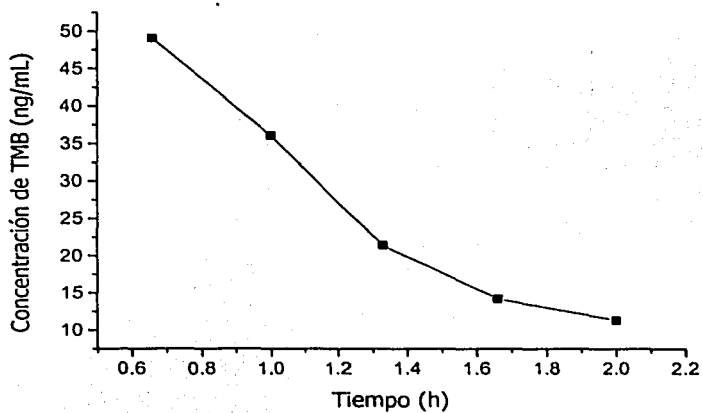
VOLUNTARIO 20	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	15.62
0.66	180.48
1	245.98
1.33	92.02
1.66	73.93
2	43.76
4	7.56
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



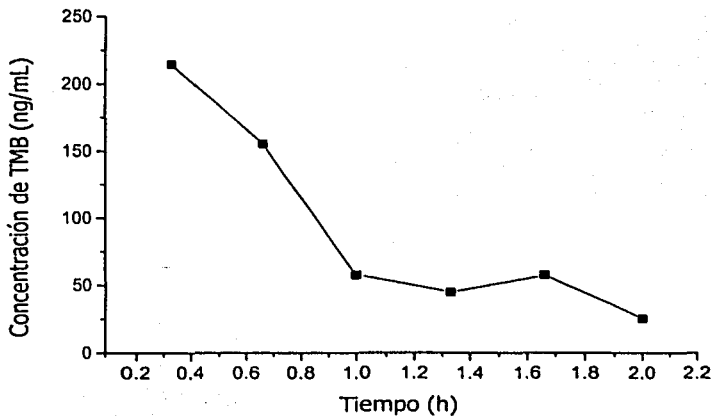
VOLUNTARIO 21	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	596.80
0.66	173.62
1	91.93
1.33	76.56
1.66	50.86
2	38.64
4	17.61
6	11.45
8	8.06
12	6.02
24	N.C.
48	N.D.



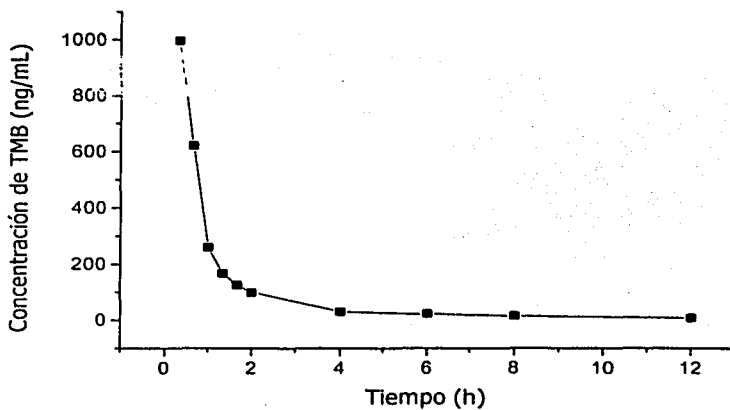
VOLUNTARIO 22	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	N.C.
0.66	49.06
1	36.06
1.33	21.42
1.66	14.23
2	11.33
4	N.C.
6	N.D.
8	N.D.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



VOLUNTARIO 23	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.0	0.00
0.33	214.52
0.66	155.42
1	57.59
1.33	44.65
1.66	57.44
2	25.26
4	N.C.
6	N.C.
8	N.C.
12	N.D.
24	N.D.
48	N.D.



VOLUNTARIO 24	
Tiempo	Concentración de trimebutina ng/mL
0.00	0.00
0.66	997.13
1	621.13
1.33	259.67
1.66	167.40
2	99.73
4	30.42
6	23.80
8	15.15
12	7.97
24	N.C.
48	N.C.



10. APÉNDICE III.

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TRIMEBUTINA POR VOLUNTARIO

SEXO MASCULINO					
Voluntario	ABC $0 \rightarrow t$	ABC $0 \rightarrow \infty$	Cmáx	Tmáx	t $\frac{1}{2}$
1	153.97	161.98	150.05	0.33	0.96
2	151.13	157.38	134.43	0.66	0.59
3	680.96	699.87	311.11	0.66	1.25
4	99.61	138.08	103.03	0.66	0.81
5	139.21	154.07	167.67	0.66	0.46
6	354.63	363.05	329.33	0.33	0.73
7	97.75	105.82	162.24	0.33	0.47
8	222.26	243.84	233.62	0.66	0.44
9	354.08	380.31	379.21	0.66	3.60
10	300.63	313.12	234.64	0.66	0.78
11	405.88	421.91	229.33	1.00	1.46
12	86.78	100.22	124.92	0.66	0.50

SEXO FEMENINO					
Voluntario	ABC $0 \rightarrow t$	ABC $0 \rightarrow \infty$	Cmáx	Tmáx	t $\frac{1}{2}$
13	439.56	456.49	325.96	0.66	1.20
14	168.20	182.65	120.71	1.00	0.59
15	364.80	368.94	357.81	0.66	0.56
16	240.37	262.69	94.39	0.66	1.56
17	142.86	153.90	219.04	0.66	0.39
18	157.47	166.26	179.96	0.66	0.79
19	206.22	215.70	196.67	0.33	1.03
20	261.91	269.94	245.98	1.00	0.74
21	467.75	513.81	596.80	0.33	5.30
22	50.37	60.10	49.06	0.66	0.59
23	161.05	176.26	214.52	0.33	0.42
24	1008.00	1054.43	997.13	0.33	4.04

11. APÉNDICE IV.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS ENTRE HOMBRES Y MUJERES.

Comparación del parámetro ABC_{0-t}

Mann-Whitney Rank Sum Test

Normality Test:	Failed	(P = 0.0375)	
Group	N	Missing	
ABC _{0-t} H	12	0	
ABC _{0-t} M	12	0	
Group	Median	25%	75%
ABC _{0-t} H	188.1	119.4	354.4
ABC _{0-t} M	223.3	159.3	402.2

T = 136.0 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.4357)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.436)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = 0.0375)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing
ABC _{0-t} H	12	0
ABC _{0-t} M	12	0

Group	Median	25%	75%
ABC _{0..H}	188.1	119.4	354.4
ABC _{0..M}	223.3	159.3	402.2

H = 0.653 with 1 degrees of freedom. (P = 0.4189)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.419)

Comparación del parámetro ABC_{0..∞}

t-test

Normality Test: Failed (P = 0.0350)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing
ABC _{0..H}	12	0
ABC _{0..M}	12	0

Group	Median	25%	75%
ABC _{0..H}	202.9	146.1	371.7
ABC _{0..M}	239.2	171.3	412.7

T = 135.0 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.5067)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.507)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = 0.0350)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	
ABC _{0-∞} H	12	0	
ABC _{0-∞} M	12	0	
Group	Median	25%	75%
ABC _{0-∞} H	202.9	146.1	371.7
ABC _{0-∞} M	239.2	171.3	412.7

H = 0.480 with 1 degrees of freedom. (P = 0.4884)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.488)

Comparación del parámetro C_{máx}

t-test

Normality Test: Failed (P = 0.0168)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing	
C _{máx} H	12	0	
C _{máx} M	12	0	
Group	Median	25%	75%
C _{máx} H	198.5	142.2	272.9
C _{máx} M	216.8	150.3	341.9

T = 143.0 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.7075)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.707)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = 0.0168)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing		
CmáxH	12	0		
CmáxM	12	0		
Group	Median	25%	75%	
CmáxH	198.5	142.2	272.9	
CmáxM	216.8	150.3	341.9	

H = 0.163 with 1 degrees of freedom. (P = 0.6861)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.686)

Comparación del parámetro tmáx

t-test

Normality Test: Failed (P = <0.0001)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing		
tmáxH	12	0		
tmáxM	12	0		
Group	Median	25%	75%	
tmáxH	0.660	0.495	0.660	
tmáxM	0.660	0.330	0.660	

T = 151.0 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.9769)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.977)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = <0.0001)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing
tmáxH	12	0
tmáxM	12	0

Group	Median	25%	75%
tmáxH	0.660	0.495	0.660
tmáxM	0.660	0.330	0.660

H = 0.00430 with 1 degrees of freedom. (P = 0.9477)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.948)

Comparación del parámetro t1/2

t-test

Normality Test: Failed (P = <0.0001)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing
-------	---	---------

t1/2H	12	0	
t1/2M	12	0	
Group	Median	25%	75%
t1/2H	0.755	0.485	1.11
t1/2M	0.765	0.575	1.38

T = 143.0 n(small)= 12 n(big)= 12 (P = 0.7074)

The differences in the median values among the two groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.707)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P = <0.0001)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	
t1/2H	12	0	
t1/2M	12	0	
Group	Median	25%	75%
t1/2H	0.755	0.485	1.11
t1/2M	0.765	0.575	1.38

H = 0.164 with 1 degrees of freedom. (P = 0.6858)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.686)